

不同激素类型对马铃薯液体诱导试管薯的影响

刘璇, 巩楠, 张丽, 聂峰杰, 甘晓燕, 宋玉霞*

(宁夏农林科学院农业生物技术研究中心/宁夏农业生物技术重点实验室, 银川 750002)

摘要: 试管薯是马铃薯脱毒原种薯的生产基础。本研究选用马铃薯栽培品种大西洋和陇薯3号, 运用固体培养壮苗、液体培养诱导的方式形成试管薯, 诱导过程中添加植物激素 CCC、NAA 和 6-BA 的单一或配比组合。结果表明, 使用单一激素 10 mg/L 的 CCC 或复合激素组合 0.4 mg/L NAA、0.5 mg/L 6-BA 和 9 mg/L CCC 能够有效提高马铃薯试管薯的大薯率、大薯平均重量和单株最终产量, 缩短结薯周期。本研究探索了马铃薯试管薯诱导的培养方法, 为脱毒微型薯的开发应用提供理论依据。

关键词: 马铃薯; 试管薯; 植物激素; 培养基

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)03-0075-04

Effects of Different Hormone Types on Potato Microtuber Induction with Liquid Medium

LIU Xuan, GONG Lei, ZHANG Li, NIE Fengjie, GAN Xiaoyan, SONG Yuxia*

(Agricultural Bio-Technology Centre, Ningxia Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Yinchuan 750002, China)

Abstract: Potato microtuber induction is the basis of original-original seeds with virus-free production. In this study, the potato cultivar Atlantic and Longshu 3 was selected to form tubers in vitro by solid cultivation of strong seedlings and liquid cultivation induction. Single or matching combinations of CCC, NAA and 6-BA were added in the induction process. The results showed that the use of 10 mg/L hormone CCC or the combination of 0.4 mg/L NAA, 0.5 mg/L 6-BA and 9 mg/L CCC could effectively increase the percentage of large tubers, average weight of large tubers and final yield per plant, and shorten the tuber setting period. The study explored the culture method of microtuber induction in vitro, which provided theoretical basis for the development and application of microtuber with virus-free.

Key words: Potato; Microtuber; Plant hormone; Medium

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 为茄科一年生草本植物, 也是全球第四大粮食作物。块茎中富含淀粉、糖类、蛋白质、维生素、有机酸和矿物质等多种营养成分, 具有作为主粮独特的优势^[1-2]。马铃薯脱毒处理后生成组培苗, 进而诱导形成试管薯, 能够有效改善种薯退化及由于自身生理导致减产的问题。试管薯的形态结构、生长发育性状和遗传稳定性与常规种薯一致且不携带疾病, 可以极大地提高其产量和质量, 节约种薯和农田,

增加农业生产效益^[3-4]。因此, 脱毒微型薯研究对马铃薯的生产发展具有重要意义。

马铃薯试管薯的诱导受光照、培养方式、生长激素、温度、矿质营养多重因素影响^[5-7], 不同培养基类型直接影响试管薯的结薯率、结薯大小和结薯时间。相同浓度条件下, 液体培养基诱导的试管薯在结薯率、薯块重量、薯块直径方面优于固体培养基^[8-9]。外源生长激素的添加能够有效提高结薯产量和品质, 缩短生产周期。常用的试管薯诱导激素有 6-苄氨基嘌呤 (6-BA)、萘乙酸 (NAA)、丁酰肼 (B9)、赤霉素 (GA_3) 等^[10-12], 而使用低浓度的矮壮素 (CCC) 作为植物激素添加到诱导培养基的研究较少。本研究使用固体培养基壮苗、液体培养基诱导, 通过添加单一激素 CCC 或 NAA、6-BA 和 CCC 不同浓度的激素配比组合, 获

收稿日期: 2019-11-07

基金项目: 宁夏回族自治区农业育种专项 (2019NYYZ01-2); 宁夏回族自治区自然科学基金项目 (2020AAC03295)

作者简介: 刘璇 (1990-), 女, 研究实习员, 硕士, 主要从事植物分子生物学研究。

通讯作者: 宋玉霞, 女, 硕士, 研究员, E-mail: songyx666@163.com

得的试管薯在大薯率、大薯平均重量和单株最终产量方面均有所提升,并能有效缩短结薯周期。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

马铃薯栽培品种大西洋、陇薯3号组培苗各70株,由国家马铃薯改良中心固原分中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 组培苗的繁殖与壮苗

以MS为基础培养基,配制半固体壮苗培养基。具体成分如下:30 g/L蔗糖、2.5 g/L琼脂和0.05 mg/L NAA, pH 5.8。采用高压蒸汽灭菌法,灭菌温度为121 °C,压力1.2 kg/cm²,灭菌时间15~20 min。无菌条件下,剪取含2个腋芽的组培苗中部茎段(4~5 cm)接种至半固体壮苗培养基,每种受试材料接种200根茎段。置于(20±1)°C、光照强度2 000 lx、光照时间8 h/d的条件下培养10~15 d,供试验备用。

1.2.2 试管薯的诱导

以MS为基础培养基,配制液体诱导培养基。添加如下成分:80 g/L蔗糖,单一植物激素NAA、6-BA或CCC(表1),或添加NAA、6-BA和CCC不同浓度的配比组合(表2),调节pH 5.8。采用高压蒸汽灭菌法,灭菌温度为121 °C,压力1.2 kg/cm²,灭菌时间15~20 min。

表1 试管薯单一激素液体诱导培养基

处理	培养基	蔗糖(g/L)	植物激素		
			NAA(mg/L)	6-BA(mg/L)	CCC(mg/L)
CK			-	-	-
A ₁			0.5	-	-
A ₂			1	-	-
A ₃			1.5	-	-
A ₄	MS	80	-	2	-
A ₅			-	3	-
A ₆			-	4	-
A ₇			-	-	5
A ₈			-	-	10
A ₉			-	-	15

将上述液体培养基分装至规格为18 mm×180 mm的试管中,每管20 mL。无菌条件下,将生长10~15 d的完整带根组培苗分别转接至不同试验处理组的液体诱导培养基试管中,每支试管接种1株苗,每个组别接种10株苗。置于(18±1)°C、全黑暗环境,培养20 d后收获进行指标测定。

1.3 测定指标

结薯率=结薯株数/总株数×100%;单株结薯

表2 试管薯复合激素液体诱导培养基

处理	培养基	蔗糖(g/L)	植物激素		
			NAA(mg/L)	6-BA(mg/L)	CCC(mg/L)
CK			-	-	-
B ₁			0.1	0.5	3
B ₂			0.1	1	6
B ₃			0.1	2	9
B ₄	MS	80	0.2	0.5	6
B ₅			0.2	1	9
B ₆			0.2	2	3
B ₇			0.4	0.5	9
B ₈			0.4	1	3
B ₉			0.4	2	6

数(个/株)=结薯总数/结薯株数;大薯率=大薯数/结薯总数×100%;中薯率=中薯数/结薯总数×100%;小薯率=小薯数/结薯总数×100%;薯块平均直径(mm)=结薯直径总和/结薯总数;薯块平均重量(g)=结薯重量总和/结薯总数;大薯平均重量(g)=大薯重量总和/大薯数;单株最终产量(g)=单薯重量×单株结薯数。匍匐茎发生时期(d):从诱导第一天至第一个匍匐茎发生的天数;初始结薯天数(d):从诱导第一天至第一个微型薯形成的天数;试管薯快速增长时期(d):微型薯快速增多增大的时间范围。试管薯大小标准为:大薯直径≥5 mm、3 mm≤中薯直径<5 mm、小薯直径<3 mm。

1.4 数据处理与分析

所有数据用SPSS 24.0软件统计、方差分析,并用LSD法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 试管薯结薯指标的统计分析

向试管薯诱导培养基中添加不同浓度的单一激素NAA、6-BA或CCC,统计大西洋和陇薯3号试管薯的结薯率、单株结薯数、大薯率、中薯率、小薯率、薯块平均直径、薯块平均重量、大薯平均重量和单株最终产量。结果显示,添加单一激素10 mg/L CCC的培养基(见表3 A₈₋₁组及表4 A₈₋₂组),其大薯率、大薯平均重量和单株最终产量均呈显著最高水平。大西洋试管薯的大薯率为62.5%,大薯平均重量为0.2385 g,单株最终产量为0.3198 g;陇薯3号试管薯的大薯率为59.9%,大薯平均重量为0.1993 g,单株最终产量为0.3876 g。因此,添加单一激素10 mg/L CCC有助于试管薯大薯的形成,提高产量。

为比较单一激素与复合激素组合对试管薯结

表3 单一激素处理对大西洋试管薯诱导影响统计分析

处理	结薯率 (%)	单株结薯数 (个/株)	大薯率 (%)	中薯率 (%)	小薯率 (%)	薯块平均直径 (mm)	薯块平均重量 (g)	大薯平均重量 (g)	单株最终产量 (g)
CK	91.3	1.33	40.8j	28.6	30.6	4.14	0.0623	0.1206g	0.1452e
A ₁₋₁	81.8	1.34	58.3c	16.7	25.0	5.23	0.1208	0.1388f	0.1619d
A ₂₋₁	81.0	1.53	50.0g	30.8	19.2	4.84	0.0646	0.1066h	0.1988c
A ₃₋₁	80.0	1.25	60.7b	20.0	13.3	5.46	0.1057	0.1502d	0.1321f
A ₄₋₁	92.0	1.74	45.0i	37.5	17.5	4.70	0.0733	0.1278g	0.1275f
A ₅₋₁	89.7	1.62	54.8e	40.5	4.7	5.30	0.1002	0.1545d	0.1623d
A ₆₋₁	89.3	1.72	55.8d	30.2	14.0	5.17	0.0949	0.1438e	0.1632d
A ₇₋₁	92.0	1.83	47.6h	28.6	23.8	4.96	0.1079	0.1898c	0.1975c
A ₈₋₁	92.3	2.00	62.5a	16.7	20.8	5.77	0.1599	0.2385a	0.3198a
A ₉₋₁	92.0	1.96	53.1f	20.4	26.5	5.16	0.1310	0.2190b	0.2568b

注:表中小写字母不同表示差异显著($P<0.05$),大写字母不同表示差异极显著($P<0.01$),下同

表4 单一激素处理对陇薯3号试管薯诱导影响统计分析

处理	结薯率 (%)	单株结薯数 (个/株)	大薯率 (%)	中薯率 (%)	小薯率 (%)	薯块平均直径 (mm)	薯块平均重量 (g)	大薯平均重量 (g)	单株最终产量 (g)
CK	96.0	1.11	38.3f	28.3	13.3	4.41	0.0586	0.0940f	0.1106e
A ₁₋₂	100	1.85	47.8e	22.5	22.5	5.29	0.1266	0.1508e	0.2251b
A ₂₋₂	100	1.34	40.6f	16.4	16.4	4.15	0.1392	0.0931f	0.1294e
A ₃₋₂	96.1	1.89	50.5d	28.9	28.9	5.39	0.0508	0.1148e	0.2373b
A ₄₋₂	100	1.29	56.4b	17.5	17.5	4.12	0.1257	0.1016f	0.1579d
A ₅₋₂	100	1.22	52.7c	31.3	31.3	5.43	0.1347	0.1758b	0.2310b
A ₆₋₂	100	1.74	52.6c	32.9	32.9	5.36	0.1285	0.0931f	0.1655cd
A ₇₋₂	95.8	1.33	46.9e	26.5	26.5	5.65	0.0944	0.1294d	0.1755c
A ₈₋₂	100	2.15	59.9a	29.5	29.5	5.68	0.1792	0.1993a	0.3876a
A ₉₋₂	96.0	1.18	52.9cd	31.3	31.3	4.32	0.1417	0.1792b	0.2210b

薯效果的影响,向诱导培养基中添加不同组合及浓度的NAA、6-BA和CCC。结果显示,添加0.4 mg/L NAA、0.5 mg/L 6-BA和9 mg/L CCC(见表5 B₇₋₁组及表6 B₇₋₂组)的培养基,其大薯率、大薯平均重量和单株最终产量处于显著最高水平。大西洋试管薯的大薯率为47.7%,大薯平均重量为

0.1541 g,单株最终产量为0.2119 g;陇薯3号试管薯的大薯率为56.1%,大薯平均重量为0.2270 g,单株最终产量为0.3179 g。由此得出,添加单一激素10 mg/L CCC培养基的多项结薯指标优于复合激素组,对大薯的形成具有明显的促进作用,但同时添加多种激素可能抑制CCC的作用效果。

表5 复合激素处理对大西洋试管薯诱导影响统计分析

处理	结薯率 (%)	单株结薯数 (个/株)	大薯率 (%)	中薯率 (%)	小薯率 (%)	薯块平均直径 (mm)	薯块平均重量 (g)	大薯平均重量 (g)	单株最终产量 (g)
CK	91.3	1.33	40.8b	28.6	30.6	4.14	0.0623	0.1206d	0.1452d
B ₁₋₁	82.6	2.32	34.1e	36.4	29.5	4.37	0.0737	0.1527a	0.1710bc
B ₂₋₁	84.0	2.19	39.1c	30.4	30.4	4.42	0.0551	0.1188d	0.1464d
B ₃₋₁	96.3	2.12	40.0bc	30.9	29.1	4.30	0.0796	0.1512a	0.1688bc
B ₄₋₁	85.7	2.67	37.5d	37.5	25.0	4.25	0.0673	0.1245d	0.1797bc
B ₅₋₁	85.0	2.18	40.5bc	40.5	18.9	4.35	0.0523	0.1540a	0.1794bc
B ₆₋₁	90.9	2.25	37.8d	33.3	28.9	4.44	0.0696	0.1414b	0.1566cd
B ₇₋₁	92.0	2.21	47.7a	29.5	22.7	4.59	0.0900	0.1541a	0.2119a
B ₈₋₁	85.7	2.54	37.7d	39.3	23.0	4.37	0.0722	0.1323c	0.1834b
B ₉₋₁	86.2	2.16	27.0f	37.0	35.2	3.99	0.0648	0.1101e	0.1700bc

表6 复合激素处理对陇薯3号试管薯诱导影响统计分析

处理	结薯率 (%)	单株结薯数 (个/株)	大薯率 (%)	中薯率 (%)	小薯率 (%)	薯块平均直径 (mm)	薯块平均重量 (g)	大薯平均重量 (g)	单株最终产量 (g)
CK	96.0	1.11	38.3h	28.3	13.3	4.41	0.0586	0.0940iG	0.1106f
B ₁₋₂	73.8	1.67	39.0h	34.1	26.8	4.58	0.1350	0.1360fgEF	0.2160d
B ₂₋₂	90.9	2.24	45.5e	35.5	8.8	5.17	0.1906	0.1262hF	0.2569c
B ₃₋₂	90.4	1.59	50.9c	32.1	16.9	5.32	0.1334	0.1481eD	0.2335d
B ₄₋₂	95.2	1.60	51.8b	24.0	24.2	5.14	0.1548	0.1631dC	0.1825e
B ₅₋₁	86.9	2.26	44.9f	19.6	25.4	5.07	0.1350	0.1421fDE	0.2770b
B ₆₋₂	100	1.13	43.7g	35.1	11.1	5.23	0.1586	0.2043cB	0.2648bc
B ₇₋₂	100	2.03	56.1a	27.1	6.7	6.15	0.1990	0.2270aA	0.3179a
B ₈₋₂	96.3	1.55	47.1d	20.6	22.2	5.24	0.1425	0.1305ghEF	0.2278d
B ₉₋₂	88.8	1.36	43.5g	25.0	21.4	4.84	0.1260	0.2163bB	0.2646bc

2.2 试管薯结薯时间的比较分析

分别使用单一激素(10 mg/L CCC)和复合激素(0.4 mg/L NAA、0.5 mg/L 6-BA和9 mg/L CCC)培养基诱导大西洋和陇薯3号试管薯,并对其主要生长期进行记录分析(图1)。两个处理组均可在接种至液体诱导培养基1 d后产生匍匐茎。单一激素处

理组在第2~3天开始发生微型薯,第6~7天进入快速增长期,进而迅速进入快速膨大期;复合激素处理组在第5~6天发生微型薯,第9~11天进入快速增长期,第12~14天快速膨大期。结果表明,两者与未添加激素的对照组相比,均能有效缩短结薯期,但添加单一激素的结薯天数较短,作用效果更为明显。

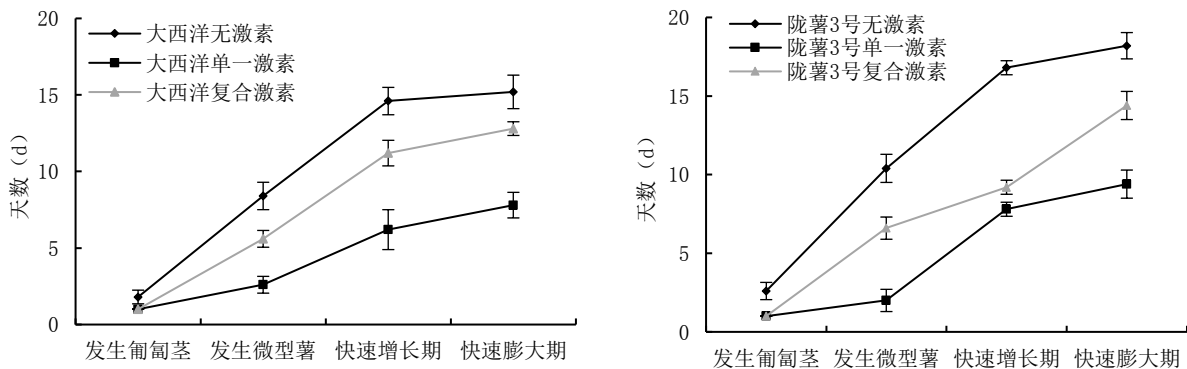


图1 大西洋和陇薯3号单一激素与复合激素处理组的结薯生长点对比图

3 讨论与结论

植物激素对马铃薯试管薯的诱导具有重要的调节作用。CCC是一种植物生长延缓剂,能够使组培苗节间缩短,增加叶片数、茎粗和有效扩繁节段数,但使用浓度过高会对植物造成毒害,出现植株低矮,叶片黄化、反卷或脱落等现象^[13-14]。现有研究中,使用CCC诱导马铃薯试管薯的浓度高达300~500 mg/L,测得单株薯重为0.1931 g,结薯数为1.10个^[15]。本研究使用低浓度的CCC(10 mg/L)即可获得较高的大薯率和大薯重量。此外,已有研究关于复合激素的添加组合多为6-BA和NAA^[16-17]。6-BA与NAA的协同作用有助于改变马铃薯组培苗腋芽处茎尖的生长方向,促进腋芽处膨大生成试管薯。本研究在添加0.4 mg/L NAA和0.5 mg/L 6-BA的基础上加入9 mg/L CCC,同样

可以有效提高大薯率、大薯重量和单株最终产量,进一步验证了低浓度的CCC对试管薯的诱导具有良好的促进作用。

马铃薯试管薯的诱导方式多为固体或液体培养。液体培养具有结薯数目多、时间短的优势,有利于商品薯的生产和开发。而传统的液体培养方式是将茎段直接浸泡于锥形瓶中,植株的直立茎与根部容易缠绕,茎粗且不能垂直生长。若使用滤纸桥等装置固定幼苗,耗时繁琐花费成本高,增加污染概率^[18]。本研究的试管培养方式操作简便,利于单株试管薯形态性状的研究,同时展现出良好的结薯效果。

本研究通过固体培养壮苗、液体培养诱导的方式形成马铃薯试管薯,并辅助添加植物激素CCC、NAA或6-BA。探讨了马铃薯试管薯诱导培养基激素添加的最适类型为10 mg/L(下转第155页)

- dynamic equilibrium of the electron transport chain and protecting mitochondrial structure and function[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 147: 206–213.
- [25] Harb J Y, Streif J. Controlled Atmosphere Storage of Highbush Blueberries cv. 'Duke'[J]. *European Journal of Horticultural Science*, 2004, 69(2): 66–72.
- [26] Jessica Rodriguez, Juan Pablo Zoffoli. Effect of sulfur dioxide and modified atmosphere packaging on blueberry postharvest quality[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 117: 230–238.

(责任编辑:王 昱)

(上接第78页)的单一激素 CCC 或 0.4 mg/L NAA、0.5 mg/L 6-BA 和 9 mg/L CCC 的复合激素组合。此种培养方式能够有效地缩短试管薯的结薯周期,提高大薯率、大薯平均重量和单株最终产量。

参考文献:

- [1] Bártová V, Bárta J, Jarošová M, et al. Antifungal and antimicrobial proteins and peptides of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers and their applications[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(14): 5533–5547.
- [2] 焦 峰, 彭东君, 翟瑞常. 不同氮肥水平对马铃薯蛋白质和淀粉合成的影响[J]. *吉林农业科学*, 2013, 38(4): 38–41.
- [3] 陈佳宁, 王 娟, 李立芹. 马铃薯试管薯诱导体系的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(23): 12377–12379.
- [4] Li M J, Li J H, Liu W, et al. A protocol for in vitro production of microtubers in Chinese yam (*Dioscorea opposita*) [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2014, 78(6): 1005–1009.
- [5] 梁俊梅, 贾立国, 秦永林, 等. 马铃薯试管薯形成因素的研究进展[J]. *北方农业学报*, 2016, 44(4): 105–108.
- [6] Radouani A, Lauer F I. Effect of NPK media concentrations on in vitro potato tuberization of cultivars Nicola and Russet Burbank [J]. *American Journal of Potato Research*, 2015, 92(2): 294–297.
- [7] 韩忠才, 张胜利, 徐 飞, 等. 雾培马铃薯产量性状相关性分析[J]. *东北农业科学*, 2018, 43(6): 36–39.
- [8] 欧建龙, 黄振霖, 赵雨佳, 等. 几种因素对马铃薯试管薯诱导的影响[J]. *中国马铃薯*, 2009, 23(2): 94–95.
- [9] Piao X C, Chakrabarty D E J, et al. A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor system[J]. *Current Science*, 2003, 84(8): 1129–1132.
- [10] Cheng L X, Wang D X, Wang Y P, et al. An integrative overview of physiological and proteomic changes of cytokinin-induced potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber development in vitro[J]. *Physiologia Plantarum*, 2020, 168: 675–693.
- [11] 杨明贺, 朱 旭, 李 楠, 等. 马铃薯茎段高频再生体系的建立[J]. *东北农业科学*, 2019, 44(1): 57–62.
- [12] Cheng L X, Wang Y P, Liu Y S, et al. Comparative proteomics illustrates the molecular mechanism of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization inhibited by exogenous gibberellins in vitro[J]. *Physiologia Plantarum*, 2018, 163(1): 103–123.
- [13] 吴艳清, 王游游, 赵旭鹏, 等. 不同浓度 CCC 对 R6 抗性基因马铃薯试管苗生长的影响[J]. *韶关学院学报*, 2015, 36(4): 41–45.
- [14] 方志荣, 周才懿, 李佩华, 等. “固液双层”培养法诱导马铃薯‘米拉’试管薯的研究[J]. *广西植物*, 2018, 38(9): 1172–1182.
- [15] 马 力, 魏一江, 杨庆东, 等. 外源激素和活性炭对试管薯形成和产量的影响[C]//中国作物学会马铃薯专业委员会. 2016年中国马铃薯大会论文集. 哈尔滨: 哈尔滨地图出版社, 2016: 241–246.
- [16] 顾瑞霞, 张小川, 张国辉, 等. 激素配比对马铃薯试管薯诱导和块茎形成的影响[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(13): 4355–4362.
- [17] 杜宏辉, 王惠文. 不同外源激素对马铃薯脱毒试管苗保存及试管薯诱导的影响[J]. *农业科技与信息*, 2016(20): 60–61.
- [18] 曾文丹, 曹 升, 周慧文, 等. 液体培养诱导木薯试管块根发生技术[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(15): 5015–5022.

(责任编辑:王丝语)