

张艳萍,裴怀弟,石有太,等. 大量元素的浓度改变对彩色马铃薯试管薯诱导的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):38-40.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.010

大量元素的浓度改变对彩色马铃薯试管薯诱导的影响

张艳萍,裴怀弟,石有太,陈玉梁

(甘肃省农业科学院生物技术研究所,甘肃兰州 730070)

摘要:以彩色肉质马铃薯 03-1 品种为试材,在原有的试管薯诱导体系的基础上,进一步研究 MS 培养基中大量元素各成分浓度改变对试管薯形成的影响,探讨试管诱导结薯的高效繁殖技术,以期为工厂化生产彩色马铃薯试管薯提供参考。结果表明:为增加试管薯产量,在试验模式中,可在原标准 MS 诱导结薯培养基基础上对大量元素成分进行修正,增加硝酸铵 2 475 mg/L(A₂ 水平)、硝酸钾 2 850 mg/L(B₂ 水平)浓度,保持硫酸镁(370 mg/L,C₁ 水平)、磷酸二氢钾(170 mg/L,D₁ 水平)浓度。

关键词:大量元素;浓度改变;彩色马铃薯;试管薯;诱导

中图分类号:S532.043 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)12-0038-03

选育无病毒种薯是目前防止马铃薯退化的最有效措施。马铃薯试管微型薯是利用脱毒试管苗生产出来的无病毒种薯,是继脱毒试管苗之后发展出的保存种质和生产无病毒种薯的新形式^[1]。试管薯作为马铃薯种质资源的重要保存方式、交换及脱毒种薯的生产方式而得到应用,但是在实际应用过程中,不同品种在外源激素、营养液配方以及诱导方式等上

仍然存在着较大差别。迄今有关试管薯的形成报道很多^[2-14],但多数研究仅在肉色为黄色、白色的马铃薯品种上开展,关于彩色马铃薯试管薯诱导的研究尚很少见。

彩色马铃薯试管薯诱导体系虽然已经形成,但试管薯小、质量轻,限制了彩色马铃薯试管薯的生产应用。本研究试图改变 MS 培养基中大量元素的各成分浓度,通过正交试验找出各成分的最佳浓度组合,分析对彩色马铃薯试管薯诱导的影响,旨在解决试管诱导结薯的高效繁殖技术难题,为工厂化生产彩色马铃薯试管薯提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

无菌脱毒彩色肉质马铃薯 03-1 试管苗由甘肃省农业科学院生物技术研究所繁育、保存。

genes are preferentially expressed in flowers[J]. Plant Molecular Biology, 1998, 36(6): 909-915.

[13] Yang T, Poovaiah B W. Molecular and biochemical evidence for the involvement of calcium/calmodulin in auxin action[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(5): 3137-3143.

[14] Jain M, Tyagi A K, Khurana J P. Genome-wide analysis, evolutionary expansion, and expression of early auxin-responsive SAUR gene family in rice (*Oryza sativa*) [J]. Genomics, 2006, 88(3): 360-371.

[15] Wang S K, Bai Y H, Shen C J, et al. Auxin-related gene families in abiotic stress response in *Sorghum bicolor* [J]. Functional & Integrative Genomics, 2010, 10(4): 533-546.

[16] 赵敬会,王瑞雪,李荣冲,等. 白菜 SAUR 基因家族的生物信息学分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(22): 130-137.

[17] Knauss S, Rohmeier T, Lehle L. The auxin-induced maize gene *ZmSAUR2* encodes a short-lived nuclear protein expressed in elongating tissues[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(26): 23936-23943.

[18] Gee M A, Hagen G, Guilfoyle T J. Tissue-specific and organ-specific expression of soybean auxin-responsive transcripts GH3 and SAURs[J]. The Plant Cell, 1991, 3(4): 419-430.

[19] McClure B A, Guilfoyle T. Rapid redistribution of auxin-regulated RNAs during gravitropism [J]. Science, 1989, 243(4887): 91-93.

[20] Spartz A K, Lee S H, Wenger J P, et al. The SAUR19 subfamily of SMALL AUXIN UP RNA genes promote cell expansion [J]. The Plant Journal, 2012, 70(6): 978-990.

[21] Sato M, Mitsuhashi W, Watanabe K, et al. PCR detection of mulberry dwarf disease - phytoplasmas in mulberry tissues, phloem sap collected by laser stylectomy and insect vector *Hishimonus sellatus* [J]. Journal of Sericultural Science of Japan, 1996, 65: 352-358.

[22] Yu C S, Chen Y C, Lu C H, et al. Prediction of protein subcellular localization [J]. Proteins - Structure Function and Bioinformatics, 2006, 64(3): 643-651.

[23] Pollastri G, Mclysaght A. Porter; a new, accurate server for protein secondary structure prediction [J]. Bioinformatics, 2005, 21(8): 1719-1720.

[24] Kelley L A, Sternberg M J. Protein structure prediction on the web: a case study using the Phyre server [J]. Nature Protocols, 2009, 4(3): 363-371.

[25] 程嘉翎,肖龙云,汪萍,等. 一种苗木的立体育苗方法及其产品: 中国, 200710132106.7[P]. 2010-06-02.

1.2 试验方法

1.2.1 试管苗的扩繁 将带有 1 个腋芽的试管苗茎段接种于装有 30 mL 固体 MS 培养基(含 3% 白糖)的培养瓶中,每瓶 15 个茎段,pH 值 5.8。培养室温度为(25±1)℃,光照强度 2 000 lx,光照 16 h/d,培养约 30 d。

1.2.2 试管薯的诱导 试管薯诱导的固液诱导方式:将生长健壮、来源一致的试管苗剪成单叶单节茎段,无菌条件下接种到含有不同剂量大量元素的培养基(含 3% 白糖)中,每瓶 10 个茎段,每个处理 10 瓶重复,先在(25±1)℃、光照强度 2 000 lx 下,光照 16 h/d,培养 20 d 后,加入 20 mL 的 8% 蔗糖诱导液体,然后放于黑暗条件,温度(19±1)℃下诱导结薯,60 d 后进行测量统计数据。

1.2.3 正交试验 通过正交设计分析培养基中大量元素的变化对试管薯的形成和产量影响。试验采用 $L_9(3^4)$ 4 因素 3 水平正交组合设计,各因素、水平具体见表 1。试验处理组合为 9 组,根据处理配置好相应培养基,并标号,每个处理重复 10 瓶,每瓶 10 个茎段。

1.2.4 测定项目及方法 试验统计内容包括:结薯数量(≥ 3 mm)(粒/瓶)、结薯株数(株/瓶)、薯质量(g/瓶)、薯块直径(cm/粒)、大薯率(每瓶大薯数/每瓶结薯总数,单位为%)等;

表 1 正交试验中各因素和水平

水平	因素(mg/L)			
	A: NH_4NO_3	B: KNO_3	C: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	D: KH_2PO_4
1	1 650	1 900	370	170
2	2 475	2 850	555	255
3	825	950	185	85

薯块直径用游标卡尺测量;利用 Excel 和 DPS(7.0)软件处理与分析数据。

2 结果与分析

2.1 不同浓度大量元素对彩色马铃薯试管薯诱导的影响 对各处理进行了方差分析比较(表 2)。处理 2 的试管薯结薯数最高,与处理 5、6、7 之间没有显著差异,与其他处理差异显著;处理 5 薯质量最高,与处理 1、2、8 没有显著差异,与其他处理均差异显著;处理 1 的薯直径最高,与处理 2、4、5、8、9 之间没有显著差异,与其他处理均差异显著;处理 2 的大薯数最高,与处理 1、5、6、7、8 之间没有显著差异,与其他处理差异显著。综合比较,处理 2、5 这 2 个组合对试管薯的诱导结果较好,其因素水平组合为 $\text{A}_1\text{B}_2\text{C}_2\text{D}_2$ 和 $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}_3\text{D}_1$ 。

表 2 各处理对彩色马铃薯试管薯诱导的影响

处理	因素				结果			
	A: NH_4NO_3	B: KNO_3	C: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	D: KH_2PO_4	结薯数 (粒/瓶)	薯质量 (g/瓶)	直径 (cm/粒)	大薯数 (粒/瓶)
1	1	1	1	1	7.8bcBCD	1.296 7abAB	0.644 5aA	7.0aAB
2	1	2	2	2	10.7aA	1.133 4abAB	0.552 1abcA	7.9aA
3	1	3	3	3	2.0eE	0.377 2cC	0.518 6cA	1.9dD
4	2	1	2	3	5.3dD	0.900 6bBC	0.612 0abcA	4.1cCD
5	2	2	3	1	9.3abAB	1.521 0aA	0.619 0abA	7.7aA
6	2	3	1	2	9.7abAB	0.896 8 bBC	0.523 0bcA	6.8aAB
7	3	1	3	2	9.6 abAB	0.918 0 bBC	0.524 1bcA	6.2abABC
8	3	2	1	3	8.4bcABC	1.301 8abAB	0.619 5abA	6.9aAB
9	3	3	2	1	6.6cdCD	0.926 4 bBC	0.582 9abcA	4.6bcBC

注:同列数据后不同的小写字母、大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)。

2.2 筛选最优组合

不同因素水平对彩色马铃薯试管薯诱导的影响见图 1。从结薯数看,各因素最好的水平分别为 A_3 、 B_2 、 C_1 、 D_2 ;从薯质量看,各因素最好的水平分别为 A_2 、 B_2 、 C_1 、 D_1 。从薯直径看,各因素最好的水平分别为 A_2 、 B_2 、 C_1 、 D_1 。从大薯数看,各因素最好的水平分别为 A_2 、 B_2 、 C_1 、 D_2 。

从表 3 各因素方差分析结果看,因素 A 仅在结薯数上有显著性影响;因素 B 对结薯数、薯质量和大薯数有极显著影响;因素 C 对结薯数和大薯数有显著性影响;因素 D 对结薯数、薯质量、薯直径和大薯数均有显著或极显著的影响。综合对各结果的影响显著性看,因素显著顺序为 $\text{D}>\text{B}>\text{C}>\text{A}$ 。对于结薯数的最优组合为 $\text{D}_2\text{B}_2\text{C}_1\text{A}_3$;在薯质量方面,因素 C、A 水平间影响的差异不显著,但是从结果上看 C_1 和 A_2 较高些,故对于薯质量的最优组合为 $\text{D}_1\text{B}_2\text{C}_1\text{A}_2$;在薯直径方面,因素 B、C、A 水平间影响的差异不显著,但是从结果上看 B_2 、 C_1 和 A_2 较高些,故对于薯直径的最优组合为 $\text{D}_1\text{B}_2\text{C}_1\text{A}_2$;在大薯数方面,因素 A 水平间影响的差异不显著,但是从结果上看

A_2 较高些,故对于大薯数的最优组合为 $\text{D}_2\text{B}_2\text{C}_1\text{A}_2$ 。从综合结果看,因素 B、C、A 分别选择水平 $\text{B}_2\text{C}_1\text{A}_2$ 为最优,对于因素 D,比较了 D_1 和 D_2 所显著影响的参数结果,其中薯质量是试管薯诱导工作中追求的一个重要参数,故 D 因素选择水平 D_1 为最佳。通过上述分析,对于培养基中大量元素的成分含量最佳组合为 $\text{D}_1\text{B}_2\text{C}_1\text{A}_2$ 。

3 讨论与结论

在马铃薯矿质营养中氮、磷、钾吸收量最多,是促进根系、茎叶和块茎生长的主要元素,对马铃薯产量形成起着最重要的作用^[13]。氮、磷、钾必须合理配合才能有效促进马铃薯产量形成。本研究结果表明,在离体条件下,采用试管苗茎段直接诱导试管薯形成体系中,氮、磷、钾各营养配合施用同样对马铃薯试管薯产量形成有重要影响。

试验结果表明,培养基中适当增加氮和钾的供应,在很大程度上能促进试管薯产量的提高,将原 MS 诱导结薯培养基中的硝酸铵和硝酸钾浓度适当增加,试管薯的结薯数量和单

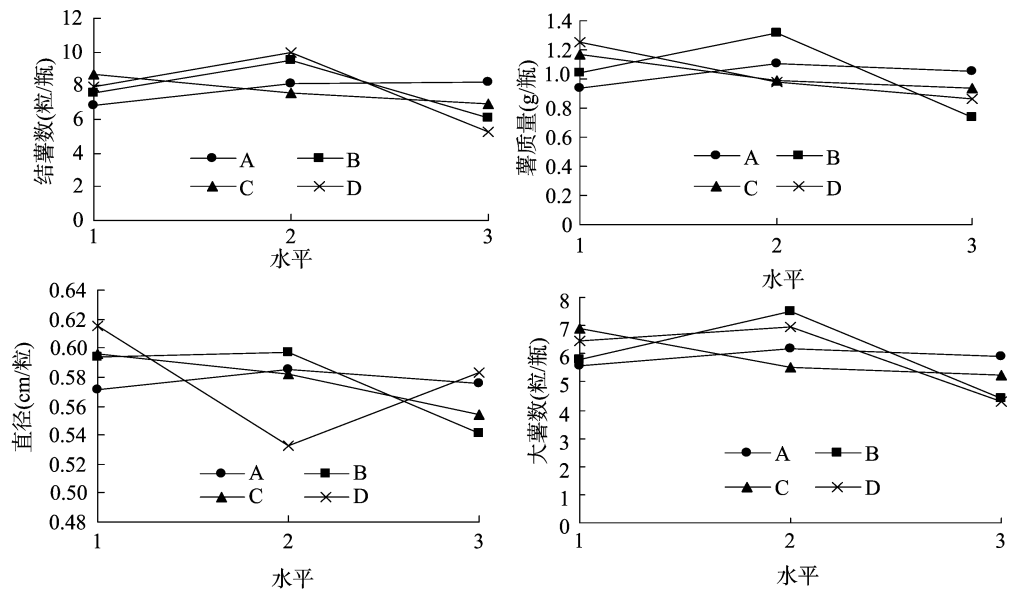


图1 不同因素水平对彩色马铃薯试管薯诱导的影响

表3 各因素方差分析及显著性差异

因素	结薯数 (粒/瓶)	薯质量 (g/瓶)	直径 (cm/粒)	大薯数 (粒/瓶)
A(NH ₄ NO ₃)	17.411 1 *	0.225 4	0.001 3	2.700 0
B(KNO ₃)	85.477 8 **	2.570 6 **	0.028 9	70.933 3 **
C(MgSO ₄ · 7H ₂ O)	21.544 4 *	0.426 6	0.013 7	23.033 3 *
D(KH ₂ PO ₄)	171.211 1 **	1.180 7 **	0.051 8 *	59.733 3 **

注：“*”表示影响显著；“**”表示影响极显著。

瓶结薯鲜质量都有所提升,这与张志军^[15]研究的氮过多不利于试管薯块茎形成的结果相反,这可能与不同马铃薯品种的氮需求量不同有关。镁是叶绿素结构的核心,是保持茎叶正常生长的重要营养成分^[15],但本试验系统中,试管薯的形成是在黑暗条件下进行的,叶绿素作用很小,因此镁在本试验系统中对试管薯产量作用不显著,保持原 MS 培养基中的 MgSO₄ · 7H₂O 浓度即可。磷对块茎合成淀粉作用很大,理论上提高磷的供应,有利于试管薯产量的提高^[15],但试验结果显示增加或减少磷的供应都没有原 MS 培养基中的磷浓度效果好,说明原有的磷浓度是满足试管薯生长所需的最佳浓度。综上所述,为增加试管薯产量,在本试验模式中,可在原标准 MS 诱导结薯培养基基础上对大量元素成分进行修正,增加硝酸铵和硝酸钾浓度,保持硫酸镁和磷酸二氢钾浓度,即添加 2 475 mg/L 硝酸氨 (A₂ 水平)、2 850 mg/L 硝酸钾 (B₂ 水平)、370 mg/L 硫酸镁 (C₁ 水平)、170 mg/L 磷酸二氢钾 (D₁ 水平)。

参考文献:

[1] 郝文胜,赵永秀,张铁峰,等. 我国马铃薯微型薯诱导研究进展[J]. 内蒙古农业科技,2002(6):4-7.

[2] 胡云海,蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响[J]. 中国马铃薯,1992,6(1):14-22.

[3] Hussey G, Stacey N J. Factors affecting the formation of *in vitro* tuber of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Annals of Botany, 1984, 53 (6):565-578.

[4] Slimmon T, Machado V, Coffin R. The effect of light on *in vitro* microtuberization of potato cultivars [J]. American Potato Journal, 1989, 66(12):843-848.

[5] 罗丽萍,杨柏云,蔡奇英. 马铃薯试管微型薯诱导的研究[J]. 南昌大学学报:理科版,2002,26(4):372-374.

[6] 王瑞斌,王 蒂,司怀军. 食用白糖和活性炭互作诱导马铃薯试管薯的研究[J]. 甘肃农业大学学报,2006,41(4):35-40.

[7] 白淑霞,安忠民,王 静,等. 不同培养方式对马铃薯试管苗生长与试管薯诱导的影响[J]. 中国生态农业学报,2002,10(2):40-41.

[8] 冯文豪,苏 跃,胡 虎,等. 糖浓度及光照条件对试管薯诱导的影响[J]. 种子,2011,30(10):77-78,81.

[9] 赵佐敏. 马铃薯组培中不同因素对诱导试管薯的影响[J]. 中国马铃薯,2005,19(5):26-28.

[10] 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.

[11] 陈永波,吕世安,赵清华,等. 大量元素对脱毒马铃薯试管苗块茎形成的影响[J]. 中国马铃薯,2005,19(2):81-82.

[12] 岳 红,卢其能,赵昶灵,等. 蔗糖浓度和外源激素对马铃薯微型薯诱导的影响[J]. 江苏农业科学,2012,40(7):58-60.

[13] 王 濛,王西瑶,刘 帆,等. 大量元素不同浓度组合对试管马铃薯结薯的影响[J]. 中国农学通报,2007,23(2):65-69.

[14] 石 茹,王 芳,王 舰. 马铃薯离体茎尖玻璃化法超低温保存[J]. 江苏农业学报,2013,29(2):272-277.

[15] 张志军. 马铃薯试管薯快繁及其调控机理研究[D]. 杭州:浙江大学,2004.