

马铃薯试管薯形成的影响因素研究

刘尚前¹, 王晓春¹, 栗占芳², 袁 丁¹, 刘志增³

(1. 河北北方学院南校区农业科学系, 河北宣化 075131; 2. 张北县农业局, 河北张北 076400;

3. 河北农业大学, 河北保定 071001)

摘 要: 以马铃薯品种大西洋脱毒试管苗为材料, 研究了切段苗龄、温度、激素、光照对马铃薯试管薯诱导的影响, 在此基础上, 进一步研究了蛭石覆盖茎节代替黑暗条件的不同培养方式对马铃薯试管薯诱导的影响。结果表明, 结薯与切段的苗龄有关, 用培养 100 d 左右的苗即老的切段、白天 25℃, 夜间 18℃ 的室温变温、培养基中添加激素 6-BA 浓度为 2.5~5.0 mg/L 时, 试管薯诱导率高; 在上述条件下, 将蛭石灭菌后按每瓶 30 mL 直接倒入原来的培养瓶覆盖试管苗下部茎节 2~4 节, 简称“固体+蛭石”培养方式, 能够使覆盖茎节处快速生出匍匐茎, 最终形成块茎, 平均单株结薯 1.9 个。

关键词: 马铃薯; 蛭石覆盖试管苗下部茎节; 试管薯诱导

中图分类号: S532.035.3

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2007)05-0109-04

The Effect of Several Factors on the Formation Potato Microtuber *in Vitro*

LIU Shang-qian¹, WANG Xiao-chun¹, LI Zhan-fang², YUAN Ding¹ and LIU Zhi-zeng³

(1. The North University of Hebei, Xuanhua Hebei 075131, China; 2. The Agricultural Bureau of Zhangbei County,

Zhangbei Hebei 076400, China; 3. Hebei Agricultural University, Baoding Hebei 071001, China)

Abstract: The formation of potato microtuber *in vitro* was reported in china. They were almost induced in the darkness. This not only forced the plantlets yellow, but also the inducing rate of microtuber and the potato microtuber weight decreased. This experiment used virus-free plantlets of the Atlantic Ocean. The effects of several factors on the formation of potatoes microtuber were studied. The results showed that the shape and growth of potatoes microtuber are related to the seedling age, and around 100 d was the best seedling age; the optimal temperture was 25℃ in the daylight, and 18℃ in the night; the optimal exogenous hormone 6-BA was 2.5~5 mg/L. In these conditions, put sterilized vermiculite 30 mL per bottle into the original medium covered the 2~4 stem instead of darkness, the cultivate method was called the “solid” medium, The results also indicated that the inducing rate of potato microtuber was significantly higher than liquid medium. , and about 1.9 potato microtubers were formed per plantlet.

Key words: The new potato microtuber induction; Potato; Vermiculite covering the stem

马铃薯试管薯(Microtuber)是由试管苗直接诱导形成的微型块茎, 质量等同于其脱毒苗, 是继脱毒试管苗之后发展起来的脱毒种薯生产的新形式。1988 年, Vander Zaay^[1]第一次予以明确定

义, 以后逐渐应用于种质资源保存、交换, 无毒种薯的生长、运输以及在当今马铃薯基因工程研究中基因转移的受体等等, 它的研究和利用已引起各国的重视。马铃薯试管块茎即试管薯的形成受

收稿日期: 2007-03-14 修回日期: 2007-04-10

基金项目: 张家口市科技局 2006~2008 年科技攻关项目“马铃薯快繁体系优化及试管薯诱导技术研究”。

作者简介: 刘尚前(1972-), 男, 讲师, 硕士, 河北张家口人, 主要从事作物栽培与遗传育种工作与研究。

到很多因素的影响,如基因型、试管苗的健壮程度、矿质营养、碳源、外源激素、植物生长延缓剂以及环境因素(温度、光照)^[2~4]等,目前我国有很多诱导成功的报道,主要是通过培养基中添加细胞分裂素和试管苗直接置于黑暗条件下诱导试管薯,黑暗条件是试管薯形成的必须条件。柳俊等^[5]认为黑暗处理有利于匍匐茎的发生,刘梦芸等^[6]研究发现,长时间的暗处理使块茎形成显著提早,但结薯数少,植株茎叶生长受阻,块茎淀粉含量降低。沈清景等^[7]研究表明,全黑暗条件对试管薯形成、结薯数量和平均鲜重具有极显著的促进作用。但是暗培养导致试管苗的黄化,使试管苗的结薯率和单薯重降低;另外,诱导试管薯成本高、方法设备复杂等问题阻碍着试管薯的大范围应用。为了实现工厂化批量生产优质试管薯,本试验就新的诱导方法进行探讨,采用灭菌的蛭石覆盖试管苗下部茎节创造黑暗条件并外加外源激素来诱导试管薯,探索出一条高质量、高效率、低成本、工厂化生产试管薯的新途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为大西洋脱毒试管苗。

1.2 试验设计与方法

取带有 4~5 个茎节的试管苗,在无菌条件下切成单节茎段或 3~4 个腋芽的多茎节切段,接种于培养基 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA1.0 mg/L 上,pH5.8,温度 20~25℃,光照为 16 h/d,光照强度 2 500~3 000 lx,3~4 周后,待试管苗长至 5 个茎节左右,在同样条件下进行扩繁,诱导出足够的、来源一致的基础苗。

1.3 试管薯的诱导

待试管苗长成壮苗后再进行切段,用单切段或 3~5 个腋芽的多茎节切段做试验。先置于基本诱导培养基 MS+CCC500 mg/L,白糖 8%,(试管薯诱导培养基内加入一定量的植物生长延缓剂,能加速试管薯的形成,用于试管薯诱导的植物生长延缓剂中用得最多的是 CCC[21~22])。在培养条件为 pH 5.8,光照 2 000 lx,培养温度为 (25±1)℃下培养 7 d,待新苗长至 2 cm 以上时,转入以下试验的诱导培养基培养,40 d 后收获。试验结果以直径大于 3 mm 的微型薯进行统计,直径大于 5 mm 的微型薯称为大薯。统计微型薯

产量和大薯率(大薯占结薯总数百分数)等指标,并对其差异显著性用 Duncan 法测定。

1.3.1 温度对试管薯形成的影响 试验在 2005-06~2005-07 进行,设置 20℃、25℃和白天 25℃、夜间 18℃的室温变温 3 个处理,每处理 10 瓶试管苗,3 次重复,黑暗条件诱导培养,40 d 后调查各处理的诱薯率和平均薯重。

1.3.2 不同苗龄对试管薯诱导的影响 在试验 1.3.1 的基础上,当试管苗长到 4~5 个茎节即试管苗长成壮苗进行切段,经过培养后,将培养 40 d,60 d,80 d,110 d 的试管苗,在无菌条件下按照试验 1.3.1 确定的最适温度条件培养。其他条件与试验 1.3.1 相同,再培养 40 d 后调查各处理的诱薯率和平均薯重。

1.3.3 激素对试管薯形成的影响 选取 0,2.5,5 和 10 mg/L 4 个不同浓度的 BA 进行了试验,于试验 1.3.1 确定的最适合温度下培养,50 d 后观察平均每瓶结薯数。

1.3.4 蛭石覆盖茎节代替黑暗条件诱导试管薯试验 在试验 1.3.1、1.3.2 和 1.3.3 的基础上,当试管苗长到 4~5 个茎节后,用 3 种培养方式培养:①直接进行固体培养基暗培养。培养条件为试验 1.3.1 和试验 1.3.2 的基础上确定出的最佳诱导培养基和温度。②将蛭石灭菌后按每瓶 30 mL 直接倒入原来的培养瓶,培养诱导试管薯,简称“固体+蛭石”培养方式,蛭石覆盖量分二节,三节和四节。③将长好的试管苗取出后接种于下列培养基中,即用试验 1.3.2 最佳激素 BA 浓度的液体培养基倒入灭菌好的蛭石的培养瓶内,即液体+蛭石诱导试管薯,蛭石覆盖量分二节,三节和四节 3 种。

3 种方式各处理 10 瓶,每瓶 10 株苗。3 次重复,于试验一得出的最佳温度条件下培养,处理 40 d 后,调查 3 种方式的诱导率和平均结薯数。

2 结果与分析

2.1 不同温度对试管薯诱导的影响

从表 1 可以看出,本试验设置的 3 个温度条件下诱导的试管薯平均单株结薯个数以室温变温最高为 1.4 个,室温变温条件下结薯率、大薯率、块茎直径显著高于 20℃和 25℃恒温条件下结薯率。试验还发现结薯与切段的年龄有关,老的切断比幼年的易形成试管薯。

表 1 不同温度对试管薯诱导的影响

Table 1 Effect of cultural temperature on inducing microtubers

温度条件/℃ Temperate	结薯数/(个/瓶) Potato number	单株薯数/个 Potatos per bottle	大薯块茎直径/mm The diameter of big potatos	大薯数/(个/瓶) Big potato numbers	大薯率/% Big potatos percentage
20	9A	0.9A	6.2A	3.6A	40.0A
25	11B	1.1B	7.3B	4.3B	39.1A
室温变温	14C	1.4B	7.5B	5.8C	44.2B

2.2 不同苗龄对试管薯诱导的影响

用试验 1.3.1 确定的诱导试管薯培养基为 MS+CCC500 mg/L,白糖 8%,培养温度为白天 25℃,夜间 18℃的室温变温进行本试验。不同苗龄的试管苗产生的试管薯大薯率(直径>5 mm)及差异显著性比较见表 2。由表 2 可知,80 d 苗

龄的试管苗中结薯数、大薯率均处于最大值,110 d 苗龄的试管苗与 80 d 苗龄的试管苗相比结薯数量、大薯率均减少。说明在马铃薯试管薯诱导中,块茎的形成和发育与试管苗的生理年龄和健壮程度有关,生理年龄老的切段比幼的切段易于结薯,但年龄老的切段也要有一定的界限。

表 2 不同苗龄对试管薯诱导的影响及差异显著性比较

Table 2 The effect of the different seedling age on potato microtubes inducing and signifceant difference

苗龄/天 Planet age	结薯数/(个/瓶) Potato number per bottle	单株薯数/个 Potato number per plant	大薯数/(个/瓶) Big potato numbers	大薯率/% Big potato percentage
40	13A	1.1	5.0A	38.5A
60	17B	1.7	7.0B	41.2B
80	18C	1.8	8.0C	44.4C
110	14	1.4	6.0	42.8

2.3 激素 BA 对试管薯形成的影响

不同浓度激素及不同处理的结果表明,随着 BA 浓度的提高,结薯数、薯块直径和单株薯数增加,大薯率无显著差别,但是超过一定的界限,结

薯数、单株薯数、大薯率反而下降,在培养基中添加 2.5~5 mg/L BA 能显著提高试管薯的大薯率和结薯数量。这说明细胞分裂素 6-BA 有助于提高试管薯的诱导率。

表 3 不同浓度激素 BA 处理对试管薯形成的影响

Table 3 The effect of different concentrations of BA treatment on the formation of the potato tube

BA 浓度/(mg/L) 6-BA consistency	结薯/(个/瓶) Potato number	单株薯数/个 Potato number per plant	大薯块茎直径/mm The diameter of large potato	大薯数/(个/瓶) Bigpotato numbers	大薯率/% Big potato percentage
0	13A	1.3A	5.3A	4.7A	36.15A
2.5	15B	1.5B	7.8b	5.5B	36.7A
5	17C	1.7C	7.0B	6.2C	36.5A
10	10D	1.0D	6.5C	3.2D	32.0B

表 4 不同培养方式对试管薯诱导的影响

Table 4 The Effect of cultural methods on inducing of microtubers

培养方式 Cultivate method	结薯数/(个/瓶) Potato number per bottle			单株薯数 /个 Potato number per plant	大薯数 /(个/瓶) Big potato numbers per bottle	大薯率 /% Big potato percentage	大薯块茎直径 /mm The diameter of big potato
	覆盖 2 节 Cover two stems	覆盖 3 节 Cover three stems	覆盖 4 节 Cover three stems				
固体+蛭石 Solid+ vermiculite	18	20	19	1.9	7.8	41.05	7.2
液体+蛭石 Squid+ vermiculite	17	18	18	1.8	7.0	38.9	6.8
固体培养基暗培养 Solid medium in darkness		15		1.5	5.4	38.75	6.0

2.4 不同培养方式对试管苗诱导的影响

试验 1.3.1 和试验 1.3.2 确定了诱导试管薯的培养基为 MS+CCC500 mg/L+5.0~10 mg/LBA,白糖 8%,培养温度为白天 25℃,夜间 18℃的室温变温,以下不同培养方式试验在此培养基和培养条件上进行,试验结果见表 4。结果表明,“固体+蛭石”培养方式最好,单株薯数 1.9

个,大薯率 41.05%,高于其他 2 种培养方式;而蛭石覆盖 2、3、4 个茎节结薯数差异不显著。另外,“固体+蛭石”培养方式操作简单、快捷,液体+蛭石培养方式在转接苗时,试管苗易被折断,操作难度大。试验还发现黑暗条件下试管苗黄化现象很严重,灭菌的蛭石覆盖试管苗下部二到四个茎节以后,苗的长势长相与对照原来的基础苗相

比,表现弱,但是强于黑暗条件下苗的长相。可能是培养条件的不完善引起的。

3 讨论

马铃薯试管薯的形成受到很多因素的影响,如基因型、试管苗的健壮程度、矿质营养、碳源、外源激素、酚类物质水杨酸、植物生长延缓剂以及环境因素(温度、光照)^[8~13]等。对于 BA 在试管薯诱导中的作用,胡云海等人报道它起着重要的协调作用^[10],本研究表明合理地加入 BA 可提高试管薯的产量;罗玉等认为,结薯与外植体切段的生理年龄和健壮程度有关,越老的茎段越易形成试管薯,本文通过苗龄试验表明生理年龄老的切段比幼的切段易于结薯,但苗龄最多 100 d。这一结果与罗玉的结果不同。

前人的研究表明黑暗条件对试管薯形成、结薯数量和平均鲜重具有极显著的促进作用,但是暗培养导致试管苗的黄化,使试管苗的结薯率和单薯重降低。通过本试验,总结出一条诱导马铃薯试管薯低成本、简单快速的方法为:当试管苗长到 6~7 片叶时,用灭菌的蛭石覆盖试管苗下部 2~4 个茎节,并模拟马铃薯大田的环境,白天 25℃、夜间 18℃的室温变温,同时在蛭石或培养基中加 2.5~5 mg/L 的激素 6-BA,使覆盖茎节处快速生出匍匐茎,最终形成块茎。此方法平均单株结薯 1.9 个,与黑暗条件平均单株结薯 1.5 个相比,解决了暗培养试管苗的黄化问题,既提高

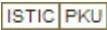
了试管苗的长势,又提高了试管薯诱导率。

参考文献:

- [1] Vander Zaag D E. Recent trend in development, production and utilization of potato crop in the world[M]. APA Proceedings, 1988. 12~19.
- [2] 王春林,程天庆. 利用试管薯快速繁殖马铃薯[J]. 马铃薯杂志, 1992, 6(2): 82~85.
- [3] 胡云海,蒋先明. 氮素对马铃薯微型薯的影响[J]. 马铃薯杂志, 1991, 5(4): 199~203.
- [4] 胡云海,蒋先明. 不同糖类和 BA 对马铃薯试管薯影响[J]. 马铃薯杂志, 1989, 3(4): 203~206.
- [5] 刘梦芸,蒙美莲,门福义,等. 光周期对马铃薯块茎形成的影响及对激素的调节[J]. 马铃薯杂志, 1994, 8(4): 193~197.
- [6] 柳俊,谢从华. 马铃薯块茎发育机理及其基因表达[J]. 植物学通报, 2001, 18(5): 531~539.
- [7] 沈清景,叶贻勋,凌水胜. 马铃薯试管薯诱导因素研究[J]. 福建农业学报, 2001, 16(1): 54~56.
- [8] 王春林,程天庆. 利用试管薯快速繁殖马铃薯[J]. 马铃薯杂志, 1992, 6(2): 82~85.
- [9] 胡云海,蒋先明. 氮素对马铃薯微型薯的影响[J]. 马铃薯杂志, 1991, 5(4): 199~203.
- [10] 胡云海,蒋先明. 不同糖类和 BA 对马铃薯试管薯影响[J]. 马铃薯杂志, 1989, 3(4): 203~206.
- [11] 刘梦芸,蒙美莲,门福义,等. 光周期对马铃薯块茎形成的影响及对激素的调节[J]. 马铃薯杂志, 1994, 8(4): 193~197.
- [12] 柳俊,谢从华. 马铃薯块茎发育机理及其基因表达[J]. 植物学通报, 2001, 18(5): 531~539.
- [13] 陈耀锋,李春莲,任慧利. 水杨酸对马铃薯试管薯形成的影响研究[J]. 西北农业学报, 1999, 19(3): 48~52.

作者：[刘尚前](#)，[王晓春](#)，[栗占芳](#)，[袁丁](#)，[刘志增](#)，[LIU Shang-qian](#)，[WANG Xiao-chun](#)，[LI Zhan-fang](#)，[YUAN Ding](#)，[LIU Zhi-zeng](#)

作者单位：[刘尚前, 王晓春, 袁丁, LIU Shang-qian, WANG Xiao-chun, YUAN Ding \(河北北方学院南校区农业科学系, 河北宣化, 075131\)](#)，[栗占芳, LI Zhan-fang \(张北县农业局, 河北张北, 076400\)](#)，[刘志增, LIU Zhi-zeng \(河北农业大学, 河北保定, 071001\)](#)

刊名：[西北农业学报](#) 

英文刊名：[ACTA AGRICULTURAE BOREALI-OccIDENTALIS SINICA](#)

年，卷(期)：2007, 16 (5)

被引用次数：4次

参考文献(13条)

- [1. Vander Zaag D E Recent trend in development, production and utilization of potato crop in the world 1988](#)
- [2. 王春林;程天庆 利用试管薯快速繁殖马铃薯 1992 \(02\)](#)
- [3. 胡云海;蒋先明 氮素对马铃薯微型薯的影响 1991 \(04\)](#)
- [4. 胡云海;蒋先明 不同糖类和BA对马铃薯试管薯影响 1989 \(04\)](#)
- [5. 刘梦芸;蒙美莲;门福义 光周期对马铃薯块茎形成的影响及对激素的调节 1994 \(04\)](#)
- [6. 柳俊, 谢从华 马铃薯块茎发育机理及其基因表达 \[期刊论文\]-植物学通报 2001 \(5\)](#)
- [7. 沈清景, 叶贻勋, 凌永胜 马铃薯试管薯诱导因素研究 \[期刊论文\]-福建农业学报 2001 \(1\)](#)
- [8. 王春林;程天庆 利用试管薯快速繁殖马铃薯 1992 \(02\)](#)
- [9. 胡云海;蒋先明 氮素对马铃薯微型薯的影响 1991 \(04\)](#)
- [10. 胡云海;蒋先明 不同糖类和BA对马铃薯试管薯影响 1989 \(04\)](#)
- [11. 刘梦芸;蒙美莲;门福义 光周期对马铃薯块茎形成的影响及对激素的调节 1994 \(04\)](#)
- [12. 柳俊, 谢从华 马铃薯块茎发育机理及其基因表达 \[期刊论文\]-植物学通报 2001 \(5\)](#)
- [13. 陈耀锋;李春莲;任慧利 水杨酸对马铃薯试管微薯形成的影响研究 1999 \(03\)](#)

本文读者也读过(10条)

- [1. 王瑞斌. 王蒂. 司怀军. WANG Rui-bin. WANG Di. SI Huai-jun 食用白糖和活性炭互作诱导马铃薯试管薯的研究 \[期刊论文\]-甘肃农业大学学报 2006, 41 \(4\)](#)
- [2. 刘尚前. 袁丁. 张凤英. 栗占芳 马铃薯试管薯诱导影响因子的研究 \[期刊论文\]-安徽农业科学 2007, 35 \(21\)](#)
- [3. 党玉丽. 刘忠玲. 宁爱民. 宛新生. 周占芳 不同苗龄及碳源对马铃薯试管薯诱导的影响 \[期刊论文\]-河南农业大学学报 2004, 38 \(3\)](#)
- [4. 张天宇. 张俊莲. 王蒂. 王丽. 崔炎森. 杜喜梅. 刘玉汇. 李有忠. Zhang Tianyu. Zhang Junlian. Wang Di. Wang Li. Cui Yansen. Du Ximei. Liu Yuhui. Li Youzhong 不同品种马铃薯试管薯诱导体系的优化 \[期刊论文\]-中国农学通报 2006, 22 \(10\)](#)
- [5. 马伟清. 董道峰. 陈广侠. 刘芳. 杨元军. 王培伦. MA Weiqing. DONG Daofeng. CHEN Guangxia. LIU Fang. YANG Yuanjun. WANG Peilun 光照长度、强度及温度对试管薯诱导的影响 \[期刊论文\]-中国马铃薯 2010, 24 \(5\)](#)
- [6. 欧建龙. 黄振霖. 赵雨佳. 廖新宇. 姜黎 几种因素对马铃薯试管薯诱导的影响 \[期刊论文\]-中国马铃薯 2009, 23 \(2\)](#)
- [7. 帅正彬. 郭江洪. 杨斌. 陈征昊 不同培养条件对马铃薯试管薯诱导的影响 \[期刊论文\]-西南农业学报 2004, 17 \(2\)](#)
- [8. 霍凤兰. 栾清业. 尹玉花. HUO Feng-lan. LUAN Qin-ye. YIN Yu-hua 蔗糖浓度和光照对马铃薯试管薯诱导的影响 \[期刊论文\]-甘肃农业科技 2009 \(11\)](#)
- [9. 刘尚前. 王晓春. 刘志增. Liu Shangqian. Wang Xiaochun. Liu Zhizeng 马铃薯试管薯诱导方法改进 \[期刊论文\]-](#)

10. 张武, 齐恩芳, 王一航, 李玉萍, 张勇, ZHANG Wu, QI Enfang, WANG Yihang, LI Yuping, ZHANG Yong [马铃薯试管薯诱导集成优化研究](#)[期刊论文]-[长江蔬菜](#)2008(16)

引证文献(4条)

1. 曾述容, 付文进, 对三汗, 范宏迪 [植物生长调节剂及诱导方式对马铃薯试管薯的影响](#)[期刊论文]-[广东农业科学](#) 2012(15)
2. 赵桂芳, 张利霞 [不同因素对马铃薯紫薯一号试管薯诱导的影响](#)[期刊论文]-[现代农业科技](#) 2015(14)
3. 张利霞, 赵桂芳, 黄金泉 [马铃薯试管薯生产条件和成本分析](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2015(11)
4. 李冠男 [GO基因和PAP基因转化马铃薯的研究](#)[学位论文]硕士 2008

引用本文格式: 刘尚前, 王晓春, 栗占芳, 袁丁, 刘志增, LIU Shang-qian, WANG Xiao-chun, LI Zhan-fang, YUAN Ding, LIU Zhi-zeng [马铃薯试管薯形成的影响因素研究](#)[期刊论文]-[西北农业学报](#) 2007(5)