

马铃薯脱毒试管苗促壮研究

郑 萍^{1,2}, 朱淑婉¹, 王火旭^{1,2}

(1. 辽宁师范大学 生命科学院 辽宁 大连 116029; 2. 辽宁省植物生物技术重点实验室, 辽宁 大连 116029)

摘 要: 在无菌条件下长时间保存培养马铃薯脱毒试管苗往往会导致其长势弱, 易倒伏, 因此对其进行了促壮研究。以 MS 为基本培养基, 研究了 3 种植物生长调节剂在马铃薯试管苗壮苗中的作用。结果表明: 在 MS 培养基中附加 0.3~0.6 mg/L 的烯效唑可以使试管苗根和茎增粗, 叶片增大; 可以延缓试管苗的生长, 延长培养时间, 减少继代次数。

关键词: 马铃薯; 烯效唑; 试管苗; 壮苗

中图分类号: S 532 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)01-0186-03

马铃薯组培苗在移栽过程中, 试管苗的健壮程度是影响移栽成活率的关键因素之一^[1], 同时马铃薯脱毒试管苗在实验室无菌条件下培养, 随培养时间延长和继代次数增多, 表现出长势弱, 易倒伏, 这将会直接影响后期移栽成活率以及微型薯的质量和数量。为了提高试管苗移栽成活率, 降低生产成本, 增大繁殖系数, 延长培养时间, 降低继代次数, 研究了烯效唑、生长素和细胞分裂素对马铃薯试管苗壮苗的影响。烯效唑(s3307)为植物生长延缓剂, 它通过参与植株的代谢而改变其正常的营养生长过程, 抑制植物亚顶端分生组织生长。它能抑制节间伸长而不抑制顶芽生长, 在生产中被广泛使用, 通过影响贝壳杉烯氧化酶和吲哚乙酸氧化酶活性分别抑制内源赤霉素的合成, 氧化游离的生长素, 降低内源生长素水平, 从而减弱顶端优势, 促进侧芽滋生, 还可以通过影响超氧化物歧化酶的活性提高植物的抗逆性^[2]。6-苄基腺嘌呤(6-benzyl adenine, 6-BA)是人工合成的细胞分裂素物质, 具有促进细胞分裂、扩大, 诱导芽的分化, 延迟衰老, 打破某些种子休眠, 叶片保绿、防止落果和促进同化物运输等多种生理作用。生长素(auxin, IAA)是最早被发现的植物激素, 主要可促进细胞伸长, 促进生根、引起顶端优势、诱导花芽分化、促进光合产物的运输。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验采用辽宁师范大学辽宁省植物生物技术重点实验室 1 号和 3 号马铃薯试管苗品种。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基的设计与配制

第一作者简介: 郑萍(1982-), 女, 在读硕士, 研究方向: 植物学专业。

基金项目: 辽宁省教育厅高等学校科学研究资助项目(05L213)

收稿日期: 2007-08-20

培养基, 琼脂用量 6 g/L, 蔗糖 30 g/L, pH 调至 5.8, 采用常规灭菌方法。试验中培养基附加 3 种植物激素或生长调节物质: IAA、6-BA 和烯效唑, 每种设计了 3 个浓度梯度, 见表 1。

表 1		培养基的设计方案		ng/L
处理号	IAA	6-BA	烯效唑	
M1	0.0	0.0	0.0	
M2	0.0	1.0	0.3	
M3	0.0	2.0	0.3	
M4	0.0	0.0	0.3	
M5	0.0	0.0	0.6	
M6	0.25	1.0	0.0	
M7	0.50	2.0	0.0	
M8	0.25	0.0	0.3	

1.2.2 接种和培养 接种所用材料取自 M1 培养基中生长一致的试管苗, 采用带有一个叶片的单节茎段, 将茎段插在培养基上(顶芽单独接入一瓶培养基中), 每个处理 3 瓶, 每瓶接 10 个茎段。

2 结果与讨论

2.1 不同处理对试管苗生长的影响

8 种培养基培养 19 d 后的观测结果见表 2 和图 1, 从表 2 和图 1 可以看出: 在 M2 与 M3 处理中, 试管苗的茎端切口处产生愈伤组织, 没有根系产生, 节间短, 叶片绿; 在 M6 和 M7 处理中, 无主根产生, 有部分不定根; 可见当细胞分裂素浓度高于生长素浓度时利于地上部分的生长, 不利于生根, 细胞分裂素抑制主根和部分抑制不定根的形成, BA 浓度在 1.0~2.0 mg/L 可以促进试管苗结小薯, 特别是 3 号品种, 小薯生长较快; 在 M4 和 M5 处理中, 根系发达, 植株节间短, 叶片浓绿, 烯效唑能有效促进马铃薯试管苗生根, 保持马铃薯试管苗的正常生长, 使试管苗茎段加粗, 叶片数增多, 叶色变浓, 在 M8 处理中, 试管苗生根但较短, 可见生长素可部分解除烯效唑的作用。在试管苗壮苗试验中, 烯效唑的浓度应控制在 0.3~0.6 mg/L 范围内。

表 2 不同处理对试管苗生长的影响

品种	处理	根	叶色	茎色	叶片	愈伤组织
1 号	M1	有(较细、长)	绿	浅绿	小、薄	无
	M2	无(仅腋芽处根)	绿	浅绿	小、厚	根和茎部切口处
	M3	无(仅腋芽处根)	绿	浅绿	小、厚	根和茎部切口处
	M4	有(较粗、长)	浓绿	绿	宽大、厚	无
	M5	有(较粗、长)	浓绿	绿	宽大、厚	无
	M6	无(仅腋芽处根)	绿	浅绿	小、薄	根和茎部切口处
	M7	无(仅腋芽处根)	绿	浅绿	小、薄	根和茎部切口处
	M8	有(粗壮、短)	浓绿	绿	稍大、厚	无
3 号	M1	有(较细、长)	绿	浅绿	小、薄	无
	M2	无(仅腋芽处根)	深绿(背面深紫)	深紫	小、厚	根和茎部切口处
	M3	无	深绿(背面深紫)	深紫	小、厚	根和茎部切口处
	M4	有(较粗、长)	深绿	浅紫	大、厚	无
	M5	有(较粗、长)	深绿	浅紫	大、厚	无
	M6	无(仅腋芽处根)	绿(背面深紫)	紫	小、薄	根和茎部切口处
	M7	无(仅腋芽处根)	绿(背面深紫)	紫	小、薄	根和茎部切口处
	M8	有(粗壮、短)	深绿(背面深紫)	浅紫	小、薄	无

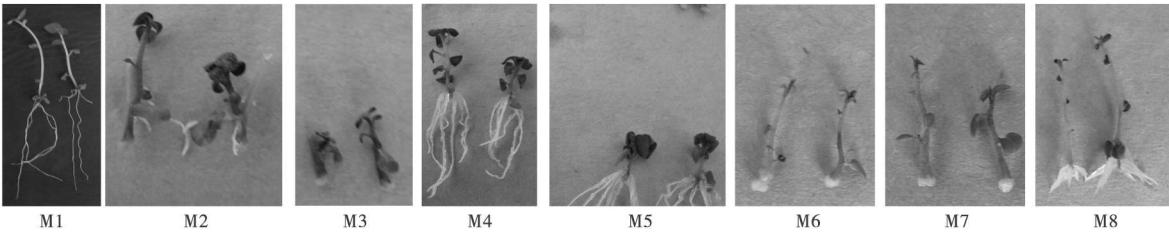


图 1-a 8 种处理对 3 号品种马铃薯脱毒试管苗生长情况的影响

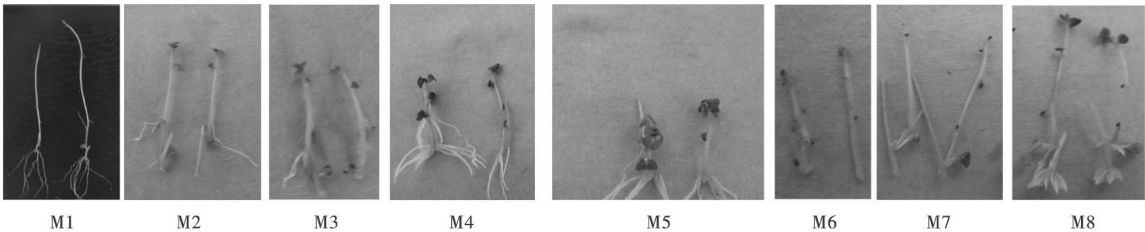


图 1-b 8 种处理对 1 号品种马铃薯脱毒试管苗生长情况的影响

图 1 不同处理对 1 号和 3 号品种马铃薯试管苗生长情况的影响

2.2 不同处理对马铃薯试管苗根的影响

试管苗经过快速繁殖培养后需要进行移栽, 试管苗是否健壮直接影响到移栽的成活率。试管苗根的长势可以反映出试管苗的健壮程度, 根的长度、粗细和根毛的多少都是重要的衡量指标。根比较长、同时根毛多有利于营养物质的吸收, 较短不利于吸收, 但是根特别长且较细容易折断, 移栽时不易成活。

试验中观察到 1 号和 3 号品种的 M1 处理中根比较细弱, 表面根毛较少。M4 和 M5 处理中根长度较为适中, 为 M8 处理的 5 倍左右, 外表根毛较多, 较粗。M8 处理中平均根长度较前 3 种处理短, 且特别粗壮。可以看出烯效唑可以使根的数量增加、伸长生长延缓, 同时也

使根变粗。烯效唑和 IAA 的共同作用对根的影响也较大, 根长度明显变短, 数量增加(见表 3 和图 1)。

表 3 不同处理对试管苗根长度和根数量的影响

品种	M1		M4		M5		M8	
	根长 /cm	根数量 /条	根长 /cm	根数量 /条	根长 /cm	根数量 /条	根长 /cm	根数量 /条
1 号	3.026	6.5	1.355	7	1.579	8.5	0.352	15.5
3 号	4.875	4.0	2.271	7	2.738	8.0	0.581	8.0

试验中 M2、M3、M6 和 M7 的处理试管苗 6-BA 的使用浓度高于 IAA 的使用浓度, 明显抑制了主根的形成, 但部分植株可在腋芽处萌发出不定根, 这与最近通过反向遗传学研究细胞分裂素受体得出的细胞分裂素的生理功能是一致的, 即抑制根的生长和不定根的形成。

2.3 不同处理对马铃薯试管苗茎的影响

马铃薯试管苗不同处理之间株高、节间距离以及茎粗存在明显差异,这些指标直接反映了植株的健壮程度。试验结果(见表4)表明,在利于试管苗生根的范围内,随着烯效唑使用量的增加,1号和3号品种的试管苗的平均株高降低,平均节间距离变小;1号试管苗的平均节数也变少。不同品种对烯效唑的敏感程度不同。M8处理中试管苗的平均株高和平均节间距离较大,这与IAA的作用有关。

表4 不同处理对试管苗株高、节数和节间长度的影响

品种	处理号	株高/cm	节数/节	节间长度/cm
1号	M1	8.2	5	1.64
	M4	1.4	4	0.35
	M5	0.55	3	0.183
	M8	2.85	4	0.713
3号	M1	5.2	4.5	1.156
	M4	2.15	5.5	0.391
	M5	1.15	3	0.383
	M8	2.3	4.5	0.511

表5 不同处理对叶片叶绿素含量的影响 mg/L

品种	处理	Ca	Cb	Ct
1号	M1	7.363	2.383	9.746
	M4	6.033	1.918	7.951
	M5	3.711	1.196	4.907
3号	M1	8.321	15.001	23.322
	M4	5.196	9.346	14.542
	M5	5.454	8.910	14.364

2.4 不同处理对马铃薯试管苗叶片叶绿素含量的影响

叶片是植物进行光合作用的主要场所。叶绿素的含量可以反映出试管苗光合作用的强弱以及体内酶的活性,因此叶片叶绿素含量也可以反映试管苗的生长势。试验中观察到M4和M5的处理可以使1号和3号试管苗的叶片变大,颜色变得浓绿,为此对M1、M4和

M5处理的1号和3号试管苗进行了叶绿素含量的测定,采用未经分离的叶绿素溶液中测定叶绿素a和b的方法^[3]。试验结果表明,未加烯效唑的M1处理的试管苗叶绿素含量较多,随着烯效唑浓度的增加,叶绿素含量减少(见表5)。其原因和机理还有待进一步试验分析。

3 结论分析

烯效唑(uniconazole)是20世纪80年代推出的一种三唑类植物生长调节剂,其作用机理与PP₃₃₃相似,可以减弱顶端生长优势,促进侧芽生长^[2],延缓植株根茎的纵向生长,促进生根、壮苗,增强抗逆性。试验初步摸索了烯效唑在马铃薯试管苗上的应用,观察到一定浓度的烯效唑(0.3~0.6 mg/L)应用于马铃薯的组织培养中,对试管苗有抑制顶芽生长,促进侧芽伸长、增大叶片面积、增加根的数量、壮苗的作用。BA是一种细胞分裂素,试验中发现BA可使试管苗产生愈伤组织,还发现适宜浓度的BA有利于试管薯的诱导。IAA可以明显增加根的数量,利于试管苗的伸长。

在MS培养基中附加0.3 mg/L的烯效唑可保证试管苗的正常生长,使试管苗变得粗壮,同时大大延长了试管苗室温下的保存时间,因此,可以将烯效唑用于马铃薯试管苗的壮苗。

参考文献

[1] 何桂红,吕国华,贾晓鹰,等.脱毒马铃薯试管苗扦插成活率的影响因素研究[J].农业科学与技术,2005(1):105-107.
[2] 王熹,俞美玉,陶龙兴.烯效唑的生理活性及应用研究初报[J].作物杂志,1993(2):33-34.
[3] 张志良.植物生理学实验指导[M],北京:高等教育出版社,1990.
[4] 徐自尚,王树勋,肖炳麟,等.烯效唑的作用机理及应用效果[J].安徽农业科学,2000(3):339-340.
[5] 朱木兰,何觉民.烯效唑对农作物的生理效应及应用效果[J].作物研究,1999(2):40-43.

Strengthening of the Virus-free Potato Test-tube Plantlet

ZHENG Ping^{1,2}, ZHU Shu-wan¹, WANG Huo-xu^{1,2}

(1. College of Life Science, Liaoning Normal University Dalian, Liaoning 116029, China; 2. Key Laboratory of Plant Biotechnology of Liaoning Province, Dalian, Liaoning 116029, China)

Abstract: Virus-free plantlets of potato are weak and tend to lodge when they are cultured in test-tubes for a long time. The present study aimed to invest the roles of three kinds of plant growth regulators on the strengthening of potato test-tube plantlets. The results indicated that 0.3~0.6 mg/L of uniconazol supplemented in the MS medium could thicken the roots and the stems and enlarge the leaves of the potato plantlets; the growth of the plantlets could be retarded, so the subculture time could be prolonged and the subculture times could be reduced.

Key words: Potato; Uniconazole; Test-tube plantlets; Strengthening