

# 马铃薯品种大西洋试管苗愈伤诱导研究

贺学勤, 蒙美莲, 李巧玲

(内蒙古农业大学 农学院 内蒙古 呼和浩特 010019)

**摘要:** 为筛选适合加工型马铃薯大西洋试管苗诱导愈伤的器官来源和培养基, 以大西洋试管苗的叶和茎段为材料, 分别在 3 种培养基上进行愈伤诱导, 比较接种后 10、20 和 40 d 的出愈率及愈伤组织外观。结果表明: 在接种 10 d 和 20 d 时大西洋茎段诱导愈伤的速度和出愈率均高于叶片的, 在接种 40 d 时 3 种培养基均可诱导出大量的愈伤, 但以 MS 添加 3 mg/L 2, 4-D 和 0.2 mg/L KT 的培养基上诱导产生的愈伤速度快、颜色亮黄、外观疏松且在随后的继代培养中不随培养时间延长而产生褐化现象。

**关键词:** 马铃薯; 愈伤组织; 诱导

**中图分类号:** S 532.035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)02-0101-03

大西洋(Atlantic)是目前国内外主要的马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)炸片加工用品种之一, 具有产量高、食味好、油炸成品质量好等优良性状, 但同时也表现出晚疫病抗性差、适应性差、大薯空心等明显缺陷<sup>[1]</sup>。由于马铃薯栽培种基因库贫乏, 缺乏抗逆性基因, 因此用常规方法已很难选育出高水平的品种<sup>[2]</sup>。通过采用辐射和化学诱变大西洋体细胞无性系, 对改良大西洋不良性状具有广阔的应用前景。

愈伤组织是辐射及化学诱变的材料来源之一, 由于愈伤组织是大量的单个细胞组成, 诱变后由愈伤组织上长出的小苗为同质突变体, 因此获得良好的愈伤组织是前提。目前以不同马铃薯品种的茎<sup>[3-5]</sup>、叶<sup>[4,6]</sup>、块茎<sup>[5,7]</sup>等为材料在不同的培养基上诱导出了愈伤组织, 但对于大西洋而言, 采用何种器官何种培养基才能快速诱导出高质量的愈伤组织, 尚无可供参考的资料。因此研究以大西洋试管苗的茎段和叶片为材料, 分别在 3 种培养基上进行愈伤诱导, 以期明确大西洋试管苗不同器官诱导愈伤的效果, 以及诱导愈伤的合适培养基。

**第一作者简介:** 贺学勤(1970-), 女, 博士, 副教授, 现从事作物遗传育种研究工作。E-mail: hexueqin2002@yahoo.com.cn.

**基金项目:** 内蒙古农业大学博士启动基金资助项目(BJ04-46); 内蒙古自治区高等学校科学研究资助项目(NJ06103)。

**收稿日期:** 2008-09-19

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以内蒙古农业大学农学院马铃薯研究室保存的大西洋脱毒试管苗为材料。

[5] 周萍, 司少鹏, 嘎啦苹果的茎尖组织培养[J]. 江苏林业科技 1996 23 (4): 51-52.

## Shoot-Tip Tissue Culture of Cold-Resistant *Malus Xinguan*

ZHANG Hu-ping<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-ming<sup>1</sup>, FAN Xian-wei<sup>2</sup>, ZHANG Lu-xia<sup>1</sup>, MA Bing-gang<sup>1</sup>

(1. Department of Horticulture, College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 2. Guangxi Key Laboratory Subtropical Bioresources Conservation and Utilization, College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530005, China)

**Abstract:** The effect of different phytohormone ration on the multiplication and rooting of shoot-tip explants from *Malus Xinguan* were studied. The results indicated that the most suitable induced medium was MS+0.1 mg/L NAA+1.5 mg/L 6-BA; the most suitable multiplication medium was MS+1.0 mg/L 6-BA+0.05 or 0.08 mg/L NAA, the multiplication index was 7.4; the best rooting media was 1/2MS+0.2 mg/L IBA+0.6 mg/L IAA, the rooting rate was 90.5%.

**Key words:** *Malus Xinguan*; Shoot-tip tissue culture; Multiplication culture; Rooting culture

### 1.2 试验方法

配制 3 种培养基用于大西洋试管苗愈伤诱导, 以 MS 为基本培养基, 1 号添加 3 mg/L 2, 4-D 和 0.2 mg/L KT; 2 号添加 2 mg/L 2, 4-D 和 0.4 mg/L 6-BA; 3 号添加 2 mg/L 6-BA 和 0.2 mg/L NAA。

取生长健壮的大西洋试管苗, 剪取茎段 1 cm 和带叶柄的叶片, 将茎段和叶片分别接种到培养基中, 每种培养基接种 6 瓶, 每瓶接种 6~7 块外植体, 在温度 23~25℃, 光照 3 000 lx, 光照时间 12 h/d 的条件下进行愈伤组织诱导。

### 1.3 观察与统计

分别于诱导愈伤的 10 d 和 20 d 统计产生愈伤组织的外植体数, 计算出愈率, 出愈率 = (愈伤组织块数 / 接入外植体数) × 100%。在诱导愈伤的 20 d 和 40 d 进行拍照, 记录愈伤组织生长状况。

## 2 结果与分析

### 2.1 大西洋不同器官在不同培养基上的出愈率

大西洋不同器官诱导愈伤的速度和出愈率不同, 叶

片在接种后 10 d 未诱导出愈伤组织, 在接种后 20 d 诱导愈伤的比例达 60% 以上; 而茎段在接种后 10 d 的出愈率最低为 27%, 最高达 56%, 在接种后 20 d 诱导出愈率最高 93%, 最低 83% (表 1)。

从不同培养基诱导愈伤的效果看, 在接种后 10 d 1 号诱导大西洋茎段愈伤的速度是 2 号和 3 号的 2 倍, 在接种后 20 d, 除 2 号外, 1 号和 3 号诱导的出愈率皆达 93%。3 种培养基对叶片的诱导速度无明显差异, 皆表现为接种后 10 d 出愈率为 0, 接种后 20 d 出愈率在 60% 以上 (表 1)。

### 2.2 不同培养基上诱导的愈伤组织生长状况

将茎段接入 3 种培养基 10 d 后, 皆表现为茎段两端发白、膨大。在接种 20 d 后, 1 号上的茎段两侧膨大显著, 茎段中部增粗, 愈伤组织表现为外观疏松, 增殖速度快, 颜色呈亮黄色; 2 号上的茎段整体均匀增粗, 愈伤组织量较少且质地较紧密, 颜色呈黄色; 3 号上的茎段整体增粗在 3 种培养基中最显著, 但愈伤组织质地紧密且出现颜色变褐的现象 (图 1)。



图 1 不同培养基诱导大西洋茎段 20 d 后形成的愈伤组织



图 2 不同培养基诱导大西洋叶片 20 d 后形成的愈伤组织



图 3 不同培养基诱导大西洋茎段 40 d 后形成的愈伤组织

注 A. MS+3 mg/L 2, 4-D+0.2 mg/L KT; B. MS+2 mg/L 2, 4-D+0.4 mg/L 6-BA; C. MS+2 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA。

表 1 大西洋茎段和叶片在接种 10 d 和 20 d 后的出愈率 %

培养基编号	接种后 10 d		接种后 20 d	
	茎段/%	叶片/%	茎段/%	叶片/%
1	56	0	93	63
2	27	0	83	67
3	27	0	93	67

将叶片接入 3 种培养基 20 d 后, 1 号上在叶缘周围形成的愈伤组织, 质地疏松且颜色呈亮黄色, 但叶片整体增大不明显; 2 号上在叶缘周围形成的愈伤组织, 质地较紧密且呈黄白色, 整个叶片增大明显; 3 号上叶缘周围形成的愈伤组织质地紧密、颜色变褐, 整个叶片增大最显著(图 2)。

由于叶片的愈伤增殖速度远远慢于茎段的, 因此在诱导 40 d 的愈伤生长状况来进一步比较 3 种培养基的诱导效果, 从图 3 可以看出, 1 号和 2 号培养基在 40 d 时均可诱导出大量的愈伤组织, 质地疏松且颜色亮黄为主, 但 1 号诱导愈伤的增殖体积总体大于 2 号, 3 号培养基在 40 d 时也诱导出了大量的愈伤组织, 但质地紧密、颜色变褐。

### 3 讨论

愈伤组织是植物离体培养的良好试验体系, 来源于植物体上的不同器官由于各自的分化进程不同, 故在外界诱导条件下进入分生状态的快慢和程度不同, 产生的愈伤组织增殖速度也不同, 所以材料的选择是非常重要的起始步骤。在前人的研究中, 以块茎<sup>[8]</sup>、茎段<sup>[9]</sup>、叶片<sup>[10]</sup>等为材料都曾诱导出愈伤组织, 但未对这些材料的诱导速度和增殖速度进行比较。在研究中, 大西洋试管苗茎段在诱导愈伤培养基上进入分生状态的速度和产生愈伤组织的增殖速度均快于叶片的。

诱导良好的愈伤组织, 培养基的选择也是十分重要的一个环节, 合适的生长素和细胞分裂素比例诱导率高, 且诱导的愈伤组织增殖明显, 外观疏松。在该研究中尽管 1 号和 2 号培养基在茎段诱导 40 d 后均可产生大量的亮黄色愈伤组织, 但 1 号诱导愈伤的速度快, 且增殖体积大, 因此采用 1 号培养基对马铃薯加工品种大西洋试管苗的茎段进行诱导可以产生大量高质量的愈伤组织作为辐射或化学诱变的材料来源。

### 参考文献

- [1] 戴朝曦. 生物工程技术在马铃薯育种研究中的应用[J]. 马铃薯杂志, 1991, 5(3): 161-166.
- [2] 张铁强, 孙清华, 石瑛, 等. 马铃薯品种大西洋不同杂交组合后代的产量表现[J]. 中国马铃薯, 2007, 21(2): 73-77.
- [3] 王清, 王蒂, 戴朝曦, 等. 萘乙酸、2, 4-D 对马铃薯愈伤组织细胞染色体倍性的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 1997, 32(4): 304-307.
- [4] 叶彦, 缪树华. 长期继代培养马铃薯愈伤组织的植株再生[J]. 应用与环境生物学报, 1995, 1(1): 26-33.
- [5] 张宁, 戴朝曦. 建立高质量马铃薯细胞悬浮培养物的研究[J]. 中国马铃薯, 2000, 14(4): 195-197.
- [6] 祁新, 王权, 顾德峰, 等. 马铃薯悬浮细胞培养[J]. 吉林农业大学学报, 1996, 18(1): 21-24.
- [7] 王萍, 王罡, 季静. 马铃薯两个基因型外植体的组织培养[J]. 中国马铃薯, 2006, 20(6): 326-328.
- [8] Hagen S R, Letoumeau D, Muneta B, et al. Initiation and culture of potato tuber callus tissue with picloram [J]. Plant Growth Regulation, 1990 (9): 341-345.
- [9] Lindeque J M, Mescht A, Skabber M M, et al. Variation in phenotype and protein in plants regenerated from cell suspensions of potato cv. BP1 [J]. Euphytica, 1991, 54: 41-44.
- [10] 李娟, 程智慧, 张国裕. 马铃薯耐盐突变体的离体筛选[J]. 西北农林科技学报(自然科学版), 2004, 32(8): 43-48.

## Study on Inducing Calluses of Potato cv. Atlantic in Vitro

HE Xue-qin, MENG Mei-lian, LI Qiao-ling

(Agronomy Faculty, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010019, China)

**Abstract:** In order to select suitable callus medium of potato cv. Atlantic in vitro and compare to the effect of calluses derived from different organs, attempts were made to induce calluses derived from stem segments and leaves on three different media, respectively. The results showed that stem segments of Atlantic took less time to produce calluses and the frequency of stem segment-derived calluses was higher than that of leaf-derived calluses after 10 and 20 days. The calluses derived from stem segments and leaves of Atlantic were achieved on all the three media tested after 40 days, but the calluses produced on MS with 3 mg/L 2, 4-D and 0.2 mg/L KT was friable, light yellow and did not turn brown under long-term culture.

**Key words:** Potato; Callus; Induce