

马铃薯新品种‘吉薯1号’茎尖脱毒及组培快繁研究

李 闯, 张海燕, 谭 化, 王 洋, 王 凤, 张 海, 王忠伟*

(吉林省农业科学院经济植物研究所, 吉林 公主岭 136105)

摘 要: 马铃薯茎尖脱毒技术是克服病毒侵害及解决马铃薯退化最为有效的途径。为保持马铃薯新品种‘吉薯1号’的品质, 本研究以马铃薯新品种吉薯1号茎尖为外植体, 对其脱毒方式和组织快繁培养基组分进行了优化。确定了以0.1% 升汞8 min+75% 酒精30 s对马铃薯茎尖脱毒后, 用MS+6-BA 2 mg·L⁻¹+GA₃ 0.2 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹培养基进行茎尖分化培养, 再经MS+PIX 1.0 mg·L⁻¹培养基继代, 可满足工厂化育苗需要。

关键词: 马铃薯; 吉薯1号; 茎尖; 脱毒; 快繁

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)06-0062-03

Research on Stem Tips Virus-free and Tissue Rapid Propagation Technology of New Potato Variety ‘Jishu 1’

LI Chuang, ZHANG Haiyan, TAN Hua, WANG Yang, WANG Feng, ZHANG Hai, WANG Zhongwei*

(Economic Plants Institute of Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136105, China)

Abstract: The technology of potato meristem detoxification is the most effective method to prevent the virus invasion and to solve the degradation of potato. To maintain the quality of the new potato variety ‘Jishu 1’, the meristem of the new potato variety ‘Jishu 1’ was used as explants, the different disinfection methods and the tissue rapid propagation medium were optimized in this study. The potato meristem were first sterilized in 0.1% HgCl₂ for 8 min and 75% alcohol for 30 s, and then MS+6-BA 2 mg·L⁻¹+GA₃ 0.2 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹ medium were used for meristem induction, and MS+PIX 1.0 mg·L⁻¹ medium were used for subculture, these can meet the factory demand of reproduction

Key Words: Potato; Jishu 1; Meristem; Disinfection; Propagation

马铃薯是一种粮、菜、饲料和工业原料兼用型经济作物, 随着中国农业产业结构调整, 将进一步扩大马铃薯种植面积。但马铃薯在连年的种植过程中, 由于病毒的侵染和积累, 产量和品质会逐年下降^[1]。目前采用茎尖脱毒技术重新获得无毒种薯, 是恢复马铃薯品质的最有效措​​施^[2]。而在茎尖脱毒培养过程中, 脱毒方式和培养基中添加的植物生长调节剂种类和配比是影响茎尖成活、成苗及脱毒效率的主要因素, 且不同品种马铃薯茎尖脱毒培养条件具有显著差异^[3-6]。‘吉薯1号’马铃薯是吉林省农业科学院经济植物研究所

选育的新品种, 具有抗逆性强, 营养高, 食味好等特点, 但该品种叶原基较小、芽势较弱, 对培养条件要求严格^[7]。本研究对‘吉薯1号’马铃薯脱毒方式和组织快繁培养基组分进行了优化, 建立了吉薯1号脱毒快繁技术体系, 为实现‘吉薯1号’马铃薯的工厂化育苗提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

将马铃薯品种‘吉薯1号’置于室温催芽, 待芽长至约3 cm时, 切取长约1 cm的茎芽用作外植体材料。

1.2 试验方法

1.2.1 培养条件

组织培养过程中, 基础培养基均为MS(3%蔗糖+6%琼脂, pH5.8); 培养在23℃, 每天2 000 lx光照16 h的温室。

1.2.2 消毒处理

分别使用0.1% 升汞(3、6、9 min)和2% 次氯

收稿日期: 2019-02-23

基金项目: 吉林省农业委员会项目(3190104); 吉林省农业科学院创新工程项目(C72083102)

作者简介: 李 闯(1984-), 男, 助理研究员, 硕士, 主要从事马铃薯育种研究。

通讯作者: 王忠伟, 男, 硕士, 研究员, E-mail: 13756127666@163.com

酸钠(10、15、20 min)消毒马铃薯茎芽,再用75%乙醇消毒30 s后,无菌水冲洗6次。然后在解剖镜下剥离带1~2个叶原基约0.3 mm长的茎尖用作外植体,接种到MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+GA₃0.1 mg·L⁻¹培养基上,一周后统计染菌和成活情况。

1.2.3 茎尖诱导

在MS培养基中添加不同浓度配比的6-BA(1、2、3 mg·L⁻¹)、NAA(0.1、0.2、0.3 mg·L⁻¹)和GA₃

(0.1、0.2、0.3 mg·L⁻¹),30 d后观察记录成苗率,以筛选茎尖诱导的最佳培养基配方。

1.2.4 茎段快繁

将诱导获得的脱毒小苗切成带单个腋芽的茎段,插入添加不同浓度多效唑PP₃₃₃(1.0、2.0 mg·L⁻¹)、矮壮素CCC(0.5、1.0 mg·L⁻¹)、比久B₉(20、40 mg·L⁻¹)或助壮素PIX(0.5、1.0 mg·L⁻¹)的MS培养基上进行增殖培养,以MS培养基作为对照,25 d后观察分析茎段的生长状况。

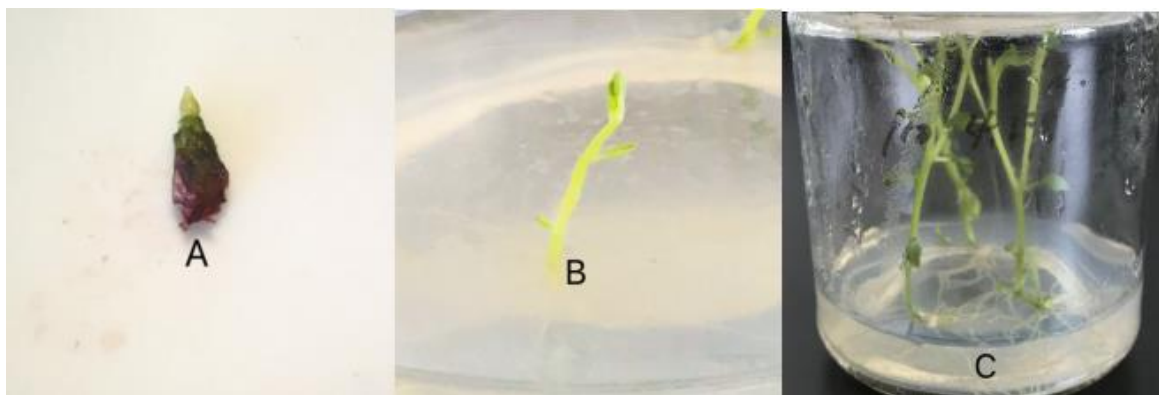


图1 茎尖培养过程

注:A.显微镜下茎尖剥离状态(呈圆锥状);B.茎尖膨大;C.茎尖脱毒生根苗

1.2.5 统计分析

上述每处理做50个生物重复,结果以平均值表示,使用Excel和SPSS 17.0统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方式对马铃薯茎尖的去毒效果

表1 不同消毒组合对马铃薯茎尖的去毒效果

编号	消毒方式	染菌率(%)	死亡率(%)	成活率(%)
1	0.1%升汞4 min+75%乙醇30 s	32	20	48
2	0.1%升汞8 min+75%乙醇30 s	16	32	52
3	0.1%升汞12 min+75%乙醇30 s	12	38	50
4	2%次氯酸钠8 min+75%乙醇30 s	36	20	44
5	2%次氯酸钠12 min+75%乙醇30 s	26	26	48
6	2%次氯酸钠16 min+75%乙醇30 s	16	38	46

2.2 植物激素种类和浓度对芽分化的影响

采用L9(3⁴)正交设计在MS培养基中添加不同浓度的6-BA、NAA和GA₃三种生长调节剂,根据成苗率筛选适宜马铃薯茎尖诱导分化的最佳培养基。结果见表2,根据极差的大小得出影响芽诱导率的生长调节剂主次顺序为6-BA>GA₃>NAA。各激素的最优水平为:6-BA 2 mg·L⁻¹、GA₃ 0.2 mg·

选用0.1%升汞和2%次氯酸钠两种灭菌剂配合75%乙醇对马铃薯茎芽进行不同时间的消毒处理,结果如表1所示,随着灭菌时间的延长,染菌率呈下降趋势,但死亡率呈上升趋势。根据各消毒处理组合对成活率的影响,推荐0.1%升汞6 min+75%乙醇30 s用于“吉薯1号”马铃薯茎芽消毒处理。

L⁻¹、NAA 0.2 mg·L⁻¹。此外,由表3方差分析结果可知,6-BA、NAA、GA₃对马铃薯茎尖的诱导分化影响显著($P \leq 0.05$),且6-BA对茎尖诱导分化作用及其显著($P \leq 0.01$)。本实验选用的马铃薯茎尖诱导苗分化的最佳培养基组合为:MS+6-BA 2 mg·L⁻¹+GA₃ 0.2 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹。

2.3 马铃薯茎段增殖情况分析

在MS培养基中,添加不同浓度的多效唑

(PP₃₃₃)、矮壮素(CCC)、比久(B₉)或助壮素(PIX)生长延缓剂,诱导马铃薯带芽茎段快速成苗。由表4结果可知,在添加各种生长延缓剂的培养中,虽然吉薯1号马铃薯试管苗生根有些变短,但平均生根率、茎段增殖倍数及茎粗均显著增加,并且株系变得矮而粗壮,都利于移栽及试管薯的诱导。其中,当PIX浓度为1.0 mg·L⁻¹时,对促进马铃薯脱毒苗生根,增加茎粗,抑制徒长,促进壮苗

表2 正交实验方案及结果

编号	6-BA(mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	GA ₃ (mg·L ⁻¹)	成苗率(%)
1	1(1)	1(0.1)	1(0.1)	52
2	1(1)	2(0.2)	2(0.2)	60
3	1(1)	3(0.3)	3(0.3)	56
4	2(2)	1(0.1)	2(0.2)	76
5	2(2)	2(0.2)	3(0.3)	78
6	2(2)	3(0.3)	1(0.1)	68
7	3(3)	1(0.1)	3(0.3)	68
8	3(3)	2(0.2)	1(0.1)	64
9	3(3)	3(0.3)	2(0.2)	68
均值1	56.000	65.333	61.333	
均值2	74.000	67.333	68.000	
均值3	66.667	64.000	67.333	
极差	18.000	3.333	6.667	

表3 方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
6-BA	491.56	2	245.8	553.0	0.002
NAA	16.89	2	8.4	19.0	0.050
GA ₃	80.89	2	40.4	91.0	0.011
误差	0.89	2	0.4		
总和	590.22				

表4 不同培养基对马铃薯茎段的增殖效果

培养基	生根率(%)	根长(cm)	株高(cm)	增殖倍数	茎粗(mm)
MS	58aA	14.6aA	12.5aA	3.4aA	0.84aA
MS+PP ₃₃₃ 1 mg·L ⁻¹	90cC	10.9dC	5.3dC	5.1bB	1.33dD
MS+PP ₃₃₃ 2 mg·L ⁻¹	84bB	11.8bB	6.1cC	4.8bB	1.29dD
MS+ CCC 0.5 mg·L ⁻¹	88cC	11.9bB	8.0bB	5.2bB	0.94bB
MS+ CCC 1.0 mg·L ⁻¹	94dC	12.2bB	8.5bB	5.3bB	0.92bB
MS+ B ₉ 10 mg·L ⁻¹	90cC	12.0bB	6.8cC	4.9bB	1.26d
MS+ B ₉ 20 mg·L ⁻¹	96dC	11.8bB	6.0cC	5.3bB	1.15cC
MS+PIX 0.5 mg·L ⁻¹	90cC	11.5cB	4.4eD	5.6cB	1.44eE
MS+ PIX 1.0 mg·L ⁻¹	96dC	12.3bB	3.7fD	6.3dC	1.32dD

注:增殖倍数=新长出的单芽节数/接种腋芽数;大、小写字母分别表示在P<0.01、P<0.05水平上差异显著

等综合效果最佳。

3 讨 论

马铃薯通常可采取薯块繁殖,但随着种植年份增长,病毒会在种薯中累积,导致种薯退化而失去原有的优良性状^[8]。利用茎尖细胞分裂活

跃,病毒不能寄生的特点,通过组织培养技术获得无毒试管苗,进而培育脱毒种薯,是解决马铃薯种薯退化的有效途径^[9]。其中,外植体的消毒是马铃薯茎尖脱毒技术取得成功的基本前提。对于茎尖的消毒处理,既要使其不受污染,又要确保其成活状态。前人研究证明,氯化汞或次氯酸

繁殖羊补贴、饲料补贴、优良品种补贴等可以提高养殖户的积极性,缓解供给不足的状况。另外为养殖户扩大融资渠道,如为养殖户提供无息或低息贷款、鼓励企业为养殖户做担保等措施对肉羊养殖业的发展也会起到重要的支持作用。

(3)优化羊肉产业链,规范畜产品交易市场。在肉羊产业发展的过程中,加强产业链各环节之间的联系与合作,缩减供应链环节,提高产品流通效率,节约流通成本,强化羊肉价格对肉羊养殖的导向作用,将价格信息及时反馈到产业链的各个环节。在羊肉市场方面,建立健全市场监测与调控体系,将基础母羊的变动情况和羊肉市场价格变动情况作为监测重点,当市场供求出现矛盾时要及时作出反应,稳定羊肉的市场价格,同时也要顾及市场上其他肉类产品的价格,避免具有替代关系及互补关系的肉类产品在价格上相互

冲击而产生大幅波动^[7],保障肉羊产业发展平稳推进。

参考文献:

- [1] 常倩,王士权,乔娟. 2014~2015年我国羊肉价格下跌原因及其影响分析[J]. 现代畜牧兽医, 2015(9): 50-55.
- [2] 王纪元,肖海峰. 我国羊肉价格波动特征及影响因素研究[J]. 农业经济与管理, 2015(6): 76-84.
- [3] 丁存振,肖海峰. 我国羊肉价格波动特征及替代品价格冲击效应分析[J]. 农林经济管理学报, 2017, 16(3): 316-322.
- [4] 韩星焕,姜天龙. 我国活鸡价格波动成因分析—以2000—2011年为例[J]. 中国畜牧杂志, 2012, 48(12): 46-49.
- [5] 张贺. 牛肉价格波动特征及原因分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014(16): 22-25.
- [6] 周晓媛. 我国猪肉价格波动影响因素及影响效应研究[D]. 重庆: 重庆工商大学, 2012.
- [7] 王明利,刘玉凤,吕官旺,等. 我国羊肉价格波动的周期测定及政策启示[J]. 中国农业科技导刊, 2016, 18(2): 182-191.

钠与75%乙醇组合对马铃薯茎尖(下转第73页)(上接第64页)的消毒效果较好^[3]。此外,在MS培养基上添加适宜配比的生长调节剂,可促进马铃薯茎尖分化及茎段快繁。据报道,赤霉素GA₃能抑制愈伤组织的形成,且有助于马铃薯茎尖生长和分化;细胞分裂素6-BA可诱导芽的分化,但不利于茎的伸长;生长素NAA可促进苗的增高,但不利于芽的分化增殖^[4-6]。多效唑(PP₃₃₃)、矮壮素(CCC)、比久(B₉)和助壮素(PIX)等生长延缓剂,可增强试管苗的适应性和抗性,能显著提高移栽成活率^[10-11]。鉴于已有的研究报道结果,本研究以马铃薯新品种吉薯1号茎尖为外植体,对其消毒方式和组织快繁培养基组分进行了优化。确定了以0.1%升汞8 min+75%酒精30 s对马铃薯茎芽消毒后,污染率降至16%;用MS+6-BA 2 mg·L⁻¹+GA₃ 0.2 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹培养基诱导茎尖分化成丛生苗,成苗率高于78%;再经MS+PIX 1.0 mg·L⁻¹培养基继代,可获得大量健壮的马铃薯无菌种苗,满足工厂化育苗的需要。

参考文献:

- [1] 杨帅,闵凡祥,高云飞,等. 新世纪中国马铃薯产业发展现状及存在问题[J]. 中国马铃薯, 2014, 28(5): 311-316.
- [2] 陈玉霞,邱建辉,张朝臣,等. 甘薯茎尖脱毒培养技术研究[J]. 安徽农业科学, 2016(13): 135-137, 219.
- [3] 李东方,张爱萍,赵亮,等. 马铃薯脱毒微型薯网室繁育技术[J]. 中国马铃薯, 2013, 27(5): 275-277.
- [4] 常立国,范惠玲,刘建超,等. 马铃薯试管苗壮苗和生根培养影响因素的研究[J]. 作物杂志, 2016(2): 129-132, 173.
- [5] 徐茜,黎华,梁峰铭,等. 渝马铃薯3号新品种茎尖脱毒及快繁技术[J]. 南方农业学报, 2015(12): 2093-2099.
- [6] 赵光磊,吴凌娟,张雅奎,等. 马铃薯脱毒试管苗壮苗培养体系的优化[J]. 中国马铃薯, 2012, 26(4): 199-205.
- [7] 王忠伟,刘峰,王凤,等. 马铃薯新品种——‘吉薯1号’[J]. 中国马铃薯, 2014, 28(1): 63-64.
- [8] 汪沛,熊兴耀,雷艳,等. 马铃薯土传病害的研究进展[J]. 中国马铃薯, 2014, 28(2): 111-116.
- [9] 杨帅,闵凡祥,高云飞,等. 中国马铃薯产业标准现状分析及建议[J]. 中国马铃薯, 2014, 28(6): 372-378.
- [10] 杨喜珍. 不同马铃薯品种试管薯苗对植物生长调节剂的响应及应用技术研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [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.