

全粉加工兼早熟菜用马铃薯品种LK99再生体系的建立

胡 霞

(甘肃省农业科学院林果花卉研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以马铃薯品种LK99试管苗茎段为外植体, 分别在6种培养基上进行愈伤组织的诱导, 比较接种28 d时的出愈率及愈伤组织的形态, 并将胚性愈伤接到8种不同分化培养基上进行再生苗的分化。结果表明, 在接种28 d后, 6种培养基均可诱导出大量的愈伤组织, 以MS+2.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+3 mg/L GA₃+0.5 mg/L 2,4-D培养基上胚性愈伤诱导率最高, 生长状态最好。胚性愈伤在MS+2.5 mg/L 6-BA+1.0 mg/L ZT+3.5 mg/L GA₃培养基上分化率最高, 并且分化苗健壮。

关键词: 马铃薯; LK99; 愈伤组织; 再生体系

中图分类号: S532 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2015)01-0014-03

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2015.01.006](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2015.01.006)

Establishment of Plant Regeneration System of Early Vegetable Potato Variety LK99 with Whole Powder Processing

HU Xia

(Institute of Fruit and Floriculture, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: To establish high efficient regeneration system of potato (*Solanum tuberosum* L.) variety LK99, stem segments of LK99 tube seedlings are inoculated on 6 kinds of culture media to induce callus. After 4 weeks from inoculation, the frequency of callus induction and callus morphology are compared. The embryonic callus is inoculated on 8 different differentiation media for differentiation of seedlings. The result shows that after 4 weeks from inoculation, a lot of callus are induced from all 6 kinds of media. The frequency of embryonic callus from the medium E (MS+2.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+3 mg/L GA₃+0.5 mg/L 2,4-D) is highest, and the growth conditions of embryonic callus is best. The frequency of differentiated seedlings from the medium (MS+2.5 mg/L 6-BA+1 mg/L ZT+3.5 mg/L GA₃) is highest, and the differentiation seedlings is stout.

Key words: Potato; LK99; Callus; Regeneration system

LK99 是甘肃省农业科学院马铃薯研究所选育的全粉加工兼早熟菜用型马铃薯品种, 薯块长椭圆

收稿日期: 2014-10-21

基金项目: 国家自然科学基金 (31060200); 甘肃省自然科学基金项目 (145RJZA088); 甘肃省农业科学院中青年基金 (2014GAAS20) 部分内容

作者简介: 胡霞 (1972—), 女, 甘肃民勤人, 主要从事科研管理工作。联系电话: (0)15002626825。

的效果差异不大, 但均与堆肥的效果略有差异, 可能是因为堆肥的基础物料或微生物活性不同所致。

参考文献:

- [1] 沈宏, 曹志洪. 长期施肥对不同农田生态系统土壤有效碳库及碳素有效率的影响[J]. 热带亚热带土壤科学, 1998, 7(1): 1-5.
- [2] 李娟, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期有机无机肥料配施对土壤微生物学特性及土壤肥力的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(1): 144-152.
- [3] 王晶, 张仁陟, 李爱宗. 耕作方式对土壤活性有机碳和碳库管理指数的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(6): 8-12.
- [4] 蔡立群, 齐鹏, 张仁陟, 等. 不同保护性耕作措施对麦-豆轮作土壤有机碳库的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(1): 1-6.
- [5] 董博, 张东伟, 郭天文. 长期定位施肥对土壤有机碳和微生物量碳的影响[J]. 土壤通报, 2012, 43(6): 1467-1472.
- [6] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1999, 99.
- [7] 董博, 郭天文, 曾骏, 等. 免耕对土壤有机碳和微生物碳含量及作物产量的影响[J]. 甘肃农业科技, 2010(10): 15-18.
- [8] VANCE E D, BROOKES P C, JENKINSON D S. An extraction method for measuring soil microbial C[J]. Soil Biology Biochemistry, 1987, 19(6): 703-707.
- [9] 迟风琴. 黑土中有机物料分解规律研究[J]. 黑龙江农业科学, 2003(5): 6-8.
- [10] 洪震, 王丽宏, 尤金成, 等. 长期施肥管理对红壤稻田土壤微生物量碳和微生物多样性的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(16): 3340-3347.

(本文责编: 陈伟)

圆形，芽眼少而浅，白皮白肉，表皮光滑，结薯集中，单株结薯 4~5 个，薯形整齐美观，商品率高，上市早，深受农户和市场欢迎。马铃薯是植物组织培养和细胞培养的模式作物之一，其组织和细胞培养技术已经比较完善，尤其是脱毒快繁已经形成产业化并取得了很好的经济效益。目前，我国在马铃薯细胞和组织培养上已经取得较多成果，并已证明马铃薯试管苗茎段是组织培养中常用的材料，能诱导植株再生。但由于马铃薯茎段胚性愈伤的产生受遗传因素的影响，不同基因型胚性愈伤诱导率差异很大。研究人员已成功建立了马铃薯品种夏波蒂、大西洋、费乌瑞它、陇薯 3 号、陇薯 6 号和陇薯 10 号等的再生体系^[1]。笔者以 LK99 试管苗茎段为外植体，在含不同植物激素的培养基上进行培养，旨在选择最佳培养基，建立高效的再生体系，为进一步开发、利用马铃薯品种 LK99 奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

LK99 马铃薯试管苗由甘肃省农业科学院马铃薯研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 外植体制备 取带有 4~6 个茎节的脱毒马铃薯试管苗，在无菌条件下切成带 1 个腋芽的单节茎段，转接到容积为 150 mL、盛有 35~40 mL 经高压灭菌的固体 MS 培养基的三角瓶中，将三角瓶置于温度(25±1)℃、光照强度 2 000 Lx、光照时间 16 h/d 的培养箱中培养，待试管苗长至 4~6 个茎节时，在同样条件下进行扩繁。

1.2.2 再生体系的建立 将生长健壮的试管苗切割成 0.5~0.8 cm 长的茎段，接种于以 MS 为基本培养基，附加 3%蔗糖、0.45%琼脂和不同配比植物激素的愈伤诱导培养基(表1)上，共设 6 个组合，每组合 6 个重复，每重复接种 20~22 个茎段，在(25±1)℃、2 000 Lx 光照 16 h/d 的条件下培养 28 d，统计愈伤组织的诱导率。将培养基 E (MS+2.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+3.0 mg/L GA₃+0.5 mg/L 2,4-D) 上获得的胚性愈伤组织接种于以 MS 为基本培养基，附加 3%蔗糖、0.45%琼脂和不同植物激素配比的分化培养基(表2)上，共设 8 个组合，每组合 6 个重复，每重复接种 12 个愈伤组织。在(25±1)℃、2 000 Lx、光照 16 h/d 培养条件下诱导芽分化，7 d 以后观察统计分化情况。芽

长 1~2 cm 时，将其切下转入 MS 培养基上诱导生根。愈伤组织 14 d 继代 1 次。

诱导率=(愈伤组织块数/接入外植体数)×100%。

表 1 愈伤组织诱导培养基的成分及配比^①

培养基代号	基础培养基	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	GA ₃ (mg/L)	2,4-D (mg/L)
A	MS	2.5	0.2	2.5	0.5
B	MS	2.0	0	2.5	0.5
C	MS	2.5	0.5	2.0	0.5
D	MS	2.0	0.2	3.0	0.5
E	MS	2.5	0.5	3.0	0.5
F	MS	0	0.2	2.0	0.5

①培养基 pH 为 5.8，下表同。

表 2 芽分化培养基的成分及配比

培养基编号	基础培养基	6-BA (mg/L)	ZT (mg/L)	GA ₃ (mg/L)
1	MS	0	0	0
2	MS	0	0.5	3.0
3	MS	0.5	1.0	3.5
4	MS	1.0	2.0	3.5
5	MS	2.5	0	0
6	MS	1.0	0.5	3.0
7	MS	0	0.5	3.5
8	MS	2.5	1.0	3.5

2 结果与分析

2.1 不同培养基愈伤诱导率比较

从表 3 及试验观察看出，接种 28 d 时，培养基 A 上形成的大部分愈伤组织发粘、发软、排列松散、呈水渍状，为非胚性愈伤，胚性愈伤诱导率仅为 12.70%。培养基 B 上非胚性愈伤诱导率为 54.26%，胚性愈伤为 36.34%，但大部分胚性愈伤组织颜色浅黄，色泽黯淡，两端膨大不明

表 3 不同培养基上愈伤组织的诱导率

培养基代号	接种数 (个)	诱导率(%)	
		非胚性愈伤	胚性愈伤
A	126	35.83±1.01 b	12.70±0.40 e
B	120	54.26±1.41 a	36.34±0.78 d
C	132	6.03±0.65 d	89.58±0.32 a
D	128	25.03±1.03 c	61.76±2.03 b
E	122	5.30±0.56 d	91.58±0.23 a
F	126	27.03±1.03 c	63.67±2.03 b

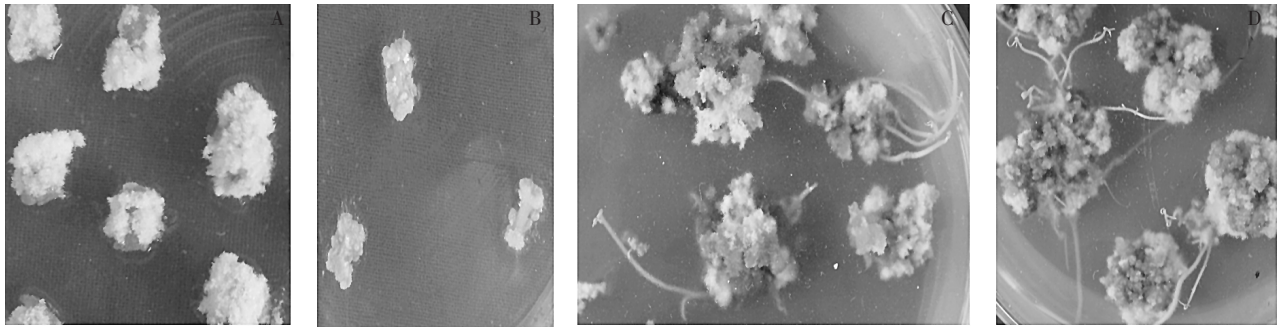


图 1 胚型愈伤在分化培养基上的生长情况

显, 整体状态不良。在 D 和 F 两种培养基上, 一部分茎段膨大后形成白色须状物, 非胚性愈伤诱导率分别为 25.03% 和 27.03%, 胚性愈伤分别为 61.76% 和 63.67%, 部分胚性愈伤组织颜色浅黄, 两端膨大不明显。培养基 C 和 E 上胚性愈伤诱导率分别为 89.58% 和 91.58%, 非胚性愈伤分别为 6.03% 和 5.30%, 仅个别茎段膨大后褐化, 形成的胚性愈伤深绿, 组织致密、呈哑铃状, 整体状态良好。

2.2 胚性愈伤在不同分化培养基上的分化情况

将培养基 E 上诱导的胚性愈伤组织分别转接到不同的芽分化培养基上后观察到, 在 1 号、2 号和 7 号培养基上, 胚性愈伤表面出现白色霜状物, 无分化苗(图1A)。在 3 号、4 号和 5 号培养基上, 胚性愈伤颜色逐渐枯黄, 没有光泽, 无分化苗(图 1B)。6 号和 8 号培养基上的胚性愈伤均有再生苗分化, 其中 6 号培养基上的愈伤组织颜色浅绿, 14 d 后生长缓慢, 愈伤不再分化, 21 d 后就有老化现象出现(图 1C); 8 号培养基上的愈伤组织 35 d 后出现老化现象, 较 6 号推迟约 14 d, 且颜色鲜嫩(图1D)。无论从植株再生率还是从外观形态特征来看, 8 号培养基的效果都好于其余几种培养基。

3 小结与讨论

1) 研究发现, 将马铃薯脱毒试管苗茎段接种至 MS+2.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+3.0 mg/L GA₃+0.5 mg/L 2,4-D 培养基上时, 胚性愈伤诱导率最高, 且该培养基诱导的愈伤组织颜色正常, 保持鲜绿色, 两端膨大明显, 成哑铃状, 生活力强, 是本研究筛选的适合 LK99 胚性愈伤组织诱导的最佳培养基。

2) 将愈伤诱导培养基上获得的胚性愈伤接种至芽分化培养基上时发现, 6-BA 的存在对于芽的分化

与增殖具有决定性的影响。当 6-BA 为 0 mg/L 时, 没有芽的分化; 当 6-BA 浓度较小(0.5 ~ 1.0 mg/L) 时, 芽的分化极少; 当 6-BA 浓度为 2.5 mg/L 时, 芽分化率最高。适当浓度 ZT(1.0 mg/L) 的加入对芽的分化有一定的促进作用。两种生长调节剂的共同作用对芽的分化具有明显的协同促进作用, 分化率可达 53.03%, 而两者单独存在时, 都没有芽的发生。说明适合 LK99 胚性愈伤芽分化的最佳培养基为 MS+2.5 mg/L 6-BA+1.0 mg/L ZT+3.5 mg/L GA₃。

3) 愈伤组织的形成和形态发生是外植体再生的关键^[2]。而通常情况下所接种的外植体, 其细胞都是处于静止状态下的并具有分裂潜能的成熟细胞。若要激活这些静止状态下的细胞, 就需通过一些外源生长激素及细胞分裂素的诱导, 使其重新参加代谢并进行旺盛分裂。对于不同植物、基因型及外植体的诱导, 所需的生长素及细胞分裂素的种类和量也不一样^[3~5]。

参考文献:

- [1] 贾小霞, 文国宏, 齐恩芳, 等. 马铃薯新品种陇薯 10 号再生体系的建立[J]. 甘肃农业科技, 2013(11): 5-7.
- [2] 方贯娜, 庞淑敏. 马铃薯愈伤组织再生体系的研究进展中国马铃薯[J]. 中国马铃薯, 2012, 26(5): 307-310.
- [3] 栾时雨, 徐品三, 夏秀英, 等. 适于马铃薯茎段再生的植物激素配比选择[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(3): 143-144.
- [4] 李风云, 盛万民, 于天峰, 等. 马铃薯不同品种茎段再生系统的筛选[J]. 中国农学通报, 2005, 21(8): 99-100.
- [5] 李红梅, 王义强. 银杏胚芽组织培养试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2008(3): 37-39.

(本文责编: 陈 伟)