

马铃薯腋芽快繁微型薯技术研究

王梦飞,田宏先,裴荣信,马涛,白灵
(山西省农业科学院高寒区作物研究所,山西大同 037008)

摘要:应用脱毒微型薯是当前马铃薯生产中最有效的增产措施之一,平均增产幅度在40%~80%。但由于脱毒微型薯价格较高,在生产实际中很难大面积推广应用。根据植物生长点分生组织,在激素诱导下生长极性可以发生改变的原理,在马铃薯现蕾至开花前期,截取脱毒马铃薯中下部带有腋芽的羽状复叶,用一定浓度的萘乙酸(NAA)、吲哚乙酸(IAA)、吲哚丁酸(IBA)和6-苄基腺嘌呤(6-BA)处理后,经过4~5周的培育,诱导出生产用微型薯。采用马铃薯离体腋芽结薯技术生产微型薯,生产周期短、成本低、操作简便、种薯质量高,是脱毒马铃薯微型薯扩繁生产的一条新途径。

关键词:马铃薯腋芽;快繁微型薯;新途径

中图分类号:S-3

文献标志码:A

论文编号:2011-0018

A Study on Technology of Minituber Fast Propagation Using in Vitro Potato Axillary Buds

Wang Mengfei, Tian Hongxian, Pei Rongxin, Ma Tao, Bai Ling

(High Latitude Crops Institute of Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Datong Shanxi 037008)

Abstract: Application of virus-free potato minitubers is currently one of the most effective measures to increase yield in potato production. And the average yield increase range is between 40% and 80%; however, due to the fact of higher price of minitubers, it is difficult to apply significantly in actual production. A technology of producing potato minituber from pinnate with lateral bud by hormone induction has been studied based on the theory that the growth polarity of plant growing point meristematic tissue can be changed through hormone induction. The result found out that from the bud stage to early flowering period of virus-free potato plant, pinnate with axillary bud which is cut away from the lower part of plant is treated in a certain concentration of NAA, iodole acetic acid (IAA), iodole butyric acid (IBA) and - benzyl adenine (6-BA), and minitubers for production purpose have been outputted by induction after 4 to 5 weeks culture. Utilization of the technology based on in vitro axillary bud for potato production has the character of short production cycle, low-cost, easy-operation and high potato seed quality, which has eventually opened up a new way of producing virus-free potato minitubers.

Key words: potato axillary bud; minituber fast propagation; new way

0 引言

马铃薯(*Solanum tuberosum*)是中国四大粮食作物之一,常年种植面积在500万 hm^2 左右,占世界种植面积的1/4。长期以来,由于病毒侵染、传播和积累,使马铃薯病毒病逐年加重,导致种性退化,产量和品质严

重下降。随着植物组织培养技术的应用和发展,利用茎尖分生组织培养获得脱毒试管苗,进而获得脱毒微型种薯,成为目前解决这一问题的最有效方法。

目前,国内外有关脱毒马铃薯微型薯繁育的方法主要有两种:(1)在试管内诱导幼苗叶腋腋芽形成小

基金项目:山西省科技攻关项目(2007032010)。

第一作者简介:王梦飞,男,1961年出生,山西洪洞人,副研究员,农学学士,研究方向为马铃薯栽培及组织培养,通信地址:037008 山西省大同市迎宾东路18号山西省农业科学院高寒区作物研究所, Tel: 0352-5105774, E-mail: ghswmf@sohu.com。

通讯作者:田宏先,男,1971年出生,山西应县人,助理研究员,农学学士,研究方向为马铃薯组织培养及细菌性病害防治,通信地址:037008 山西省大同市迎宾东路18号山西省农业科学院高寒区作物研究所, E-mail: thongxian06@126.com。

收稿日期:2011-01-06,修回日期:2011-03-23。

薯,直径在2~10 mm之间,这种方法生产的微型薯被广泛应用于种质资源保存、交换以及马铃薯基因工程研究中基因转移的受体等^[1-5]; (2)在网室内对试管苗进行剪切(剪切部分包括茎和叶)、扦插,诱导扦插苗在基质内形成匍匐茎,生产微型薯。这种方法目前应用比较普遍。现在,国内生产脱毒马铃薯原原种较为先进的主要有天津农科院蔬菜研究所的王氏技术体系^[6]。

山西省农科院高寒区作物研究所早在1994年就利用马铃薯腋芽快繁微型薯技术进行了研究^[7],但由于技术不完善,诱导出的微型薯个体小,干物质含量少,在生产实际中没有推广应用价值。近年来,该课题组根据马铃薯多器官可繁殖的特点,利用马铃薯叶腋间的腋芽在一定条件下可形成薯块的特性,对处于现蕾期或开花前期的马铃薯离体羽状复叶的腋芽进行处理,使其生长极性发生改变,发育形成微型薯。探索出了一项利用马铃薯离体叶片腋芽进行产业化生产微型薯的新技术。

马铃薯腋芽薯是马铃薯叶腋芽在外界环境温度条件的影响下,生长极性发生改变,在不形成匍匐茎的情况下,直接形成马铃薯块茎。此研究是在网室中,通过化学诱导脱毒马铃薯离体叶片腋芽,生产出生产用微型薯,可有效缩短微型薯生产周期、降低生产成本、提高繁殖系数,对进一步加速脱毒马铃薯技术的推广应用,发展低碳农业,具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验地点

该试验于2007—2008年在大同市南郊区东王庄高寒区作物研究所试验基地进行,试验地属沙壤土,中性,前茬种植豆类。

1.2 供试材料

1.2.1 供试马铃薯品种 微型薯生产周期试验选择在华北北部大面积栽培的‘晋薯7号’、‘紫花白’和‘费乌瑞它’。其中‘晋薯7号’生育期130天左右,属晚熟品种;‘紫花白’生育期110天左右,属中熟品种;‘费乌瑞它’生育期65~70天,属早熟品种;微型种薯和试管苗均由山西省农业科学院高寒区作物研究所提供。激素处理试验和微型薯生产方法比较试验选用‘费乌瑞它’。

1.2.2 扦插基质及肥料 扦插基质用灭菌后的蛭石,由山西省大同市井坪蛭石厂提供,其中拌有发酵腐熟的农家肥和磷二胺。

1.2.3 激素和农药 试验用激素药品赤霉素(GA)、萘乙酸(NAA)吲哚丁酸(IBA)、6-苄基腺嘌呤(6-BA), *N*-二甲胺基琥珀酰胺酸(B₉),由北京振泰科技发展中心提供;安克·锰锌可湿性粉剂,乐果乳油由山西省农科院高寒区作物研究所植保研究室提供。

1.3 试验设计

此研究共设置了3项试验,包括激素处理、微型薯生产不同方法比较和不同生育期品种间微型薯生产周期的比较。采用技术路线为:激素诱导腋芽形成生产用微型薯,不同方法生产微型薯比较,不同品种的微型薯生产周期比较。

1.4 试验方法

1.4.1 激素处理方法 试验设3个处理,处理I:离体叶片在20 mg/L赤霉素(GA)、20 mg/L萘乙酸(NAA)和10 mg/L吲哚丁酸(IBA)的混合液中浸0.5 min,再在0.1 mg/L 6-苄基腺嘌呤(6-BA)处理液中浸1 min;处理II:离体叶片用0.1 mg/L 6-苄基腺嘌呤(6-BA)浸1 min;处理III(CK):离体叶片用蒸馏水浸泡1 min。重复3次。本项试验的目的:筛选离体叶片腋芽生产微型薯的激素处理方法。小区面积为0.5 m×2.0 m。

1.4.2 离体叶片腋芽的培育 4月下旬,将选好的脱毒微型种薯进行催芽,5月上旬播种,待植株长到10 cm时移植到网棚内。成活后,每隔1周喷一次40%乐果乳油1000~1500倍液 and 69%的安克·锰锌可湿性粉剂900~1000倍液,附加0.2%的KH₂PO₄,以防止蚜虫和马铃薯疫病的发生,同时促进马铃薯植株生长,形成肥大厚实的叶片和粗壮而有韧性的叶柄。

在剪离腋芽约一周前,先对网棚内的植株进行诱导培育,剪去花蕾、花和顶端生长点,叶面喷施2500 mg/L的*N*-二甲胺基琥珀酰胺酸^[7]和0.2%的KH₂PO₄,诱导调节营养物质的运输方向,使更多的同化物向腋芽转移^[10],促进腋芽健壮饱满。

当植株达7~8个叶片时,选择腋芽饱满正常的中、下部位复叶,用经过0.03%的KMnO₄消毒后的解剖刀,把叶片从主茎上切下,切口距叶柄基部主茎上、下分别为0.5 cm和1 cm。

1.4.3 扦插床的准备 在网棚选定的地块先平铺一层新砖,上面再铺5 cm左右经过消毒处理的蛭石,每0.5 m×2.0 m面积加施2.5~3.0 kg腐熟农家肥和100 g左右的磷二胺。

1.4.4 离体叶片腋芽的处理及扦插 将剪切好的离体叶片腋芽按试验设计进行处理,然后清洗晾干,扦插到基质中,扦插深度以埋住腋芽且高出2 cm为标准。操作中要尽量避免伤害复叶表面组织,防止杂菌侵入。

2 结果与分析

2.1 马铃薯微型种薯的激素处理试验

马铃薯微型种薯的干物质含量与微型种薯的有效率有直接的关系。不同激素处理所生产的微型薯的平均单粒鲜重(g)、平均单粒干重(g)和种薯有效率(%)的结果见表1。

对表1中平均单粒鲜重进行差异显著性测验,结

表1 激素处理试验

处理	I	II	III(CK)
重复1	7.0	2.1	2.5
重复2	6.5	1.8	1.7
重复3	7.2	2.3	2.3
平均单粒鲜重/g	6.9	2.1	2.2
平均单粒干重/g	1.8	0.4	0.5
次年种薯有效率/%	100	21	20

注:平均单粒鲜重、平均单粒干重、次年发芽率样本量为100粒。

表2 不同激素处理单粒微型薯鲜重平均数的LSR值(Q测验)

P	$Q_{0.05}$	$Q_{0.01}$	$LSR_{0.05}$	$LSR_{0.01}$
2	3.46	5.24	0.69	1.05
3	4.34	6.33	0.87	1.27

果见表2。

从表3分析可见,用GA、NAA、IBA混合液和6-BA处理的处理I,单薯鲜重显著高于只用6-BA处理的处理II和CK。这是因为,只用6-BA处理的离体叶片,茎基部不形成次生根,腋芽薯(库)^[8]干物质的累积仅靠离体叶片(源)在剪离前所积累的营养物质回流供应,并且这种供应是一种衰竭式的限量供应,形成的腋芽薯薯块直径与叶柄基本相同,单粒薯重大部分在2g以下,干物质含量少,种薯的有效率低。而离体复叶经NAA、IAA、IBA混合液和6-BA处理,扦插后第5天茎基部即可长出须根,基质中的营养物质可得到充分的吸收利用。同时,根系的发育还能保证离体叶片进行正常的光合作用,根系所吸收的矿物质营养和叶片(源)光合作用的产物源源不断地运输到正在膨大的腋芽薯(库)中,形成了干物质含量较高的腋芽薯(图1),微型薯的有效率得到了显著提高。

表3 不同激素处理单粒微型薯鲜重显著性(SSR测验)

处理	平均单粒鲜重/g	差异显著性	
		0.05	0.01
I	6.9	a	A
II	2.1	b	B
III	1.5	b	B

2.2 微型薯生产方法比较试验

目前,国内外繁殖生产用微型薯的方法主要是将经组织培养长成的脱毒试管苗直接定植在防虫网室内或经切段以后,通过用赤霉素和生根粉溶液浸泡,再定植在防虫网室内。其共同的特点是繁殖周期长、生产

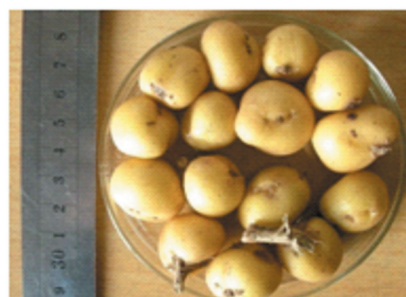


图1 利用叶腋腋芽生产的微型薯

成本高。此试验以‘费乌瑞它’为供试品种,设置试管苗移栽;试管苗切段扦插和离体腋芽扦插3个处理,重复3次,小区面积0.5 m×2.0 m,结果见表4。

2.2.1 结果分析 (1)扦插繁育密度:从表4可见,试管苗移栽和试管苗切段扦插的株数基本相同,而离体叶片扦插的密度是另外两个处理的近2倍。试管苗移栽和试管苗切段扦插生产的微型薯是地下葡萄茎顶端膨大而形成,葡萄茎的伸长需要一定的空间,而离体叶片腋芽生产微型薯是通过腋芽膨大而形成,所以可以加大扦插密度。

(2)单株结薯数量及单薯粒重:对表4的单株结薯数量及单薯粒重进行方差分析(见图2~3)。

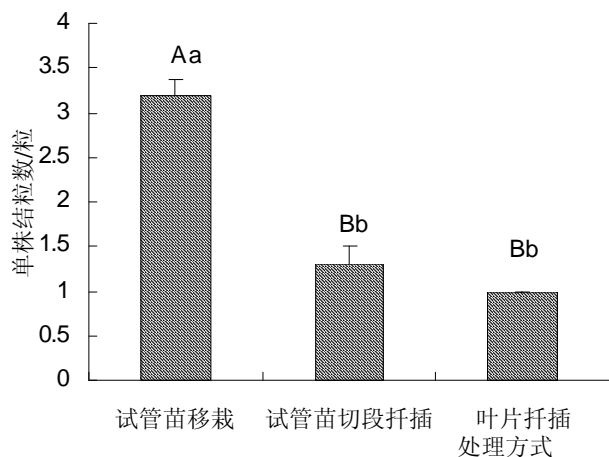
从图2可见,试管苗移栽的结薯粒数极显著高于试管苗切段扦插和离体叶片扦插;而单薯粒重,则离体叶片扦插和试管苗切段扦插明显高于试管苗移栽,差异达极显著水平(图3)。其原因是试管苗移栽结薯较多(平均每株3.2个),而离体叶片扦插和试管苗切段扦插结薯较少。特别是离体叶片扦插,只有一个腋芽生长点,只能形成一粒微型薯,叶片和根这些源器官光合作用合成的光合产物和根部吸收的营养物质全部转移到了块茎中。

(3)单位面积结薯数量与微型薯总产量:对表4的单位面积结薯数量与微型薯产量进行方差分析(图4~5)。

从图4可见,离体叶片扦插和试管苗切段扦插生产的微型薯比例分别是97.4%和90.3%,而试管苗的仅为81.5%,试管苗切段扦插和离体叶片扦插单位面积形成有效微型薯的数量与试管苗移栽形成的有效微型薯的数量表现极显著差异。离体叶片扦插由于是“一叶一薯”^[13],所以薯块重量大,含干物质多,单位面积的有效繁殖率高。从图5可见,单位面积内试管苗移栽结薯最多,分别是离体叶片扦插和试管苗切段扦插的1.6倍和2.5倍,三者呈极显著差异。但单位面积的结薯量并不是微型薯生产力高低的衡量标准,而单位面积内有效微型薯(>1g的微型薯)所占比例才是微型薯生产力高低的衡量标准^[11-12]。

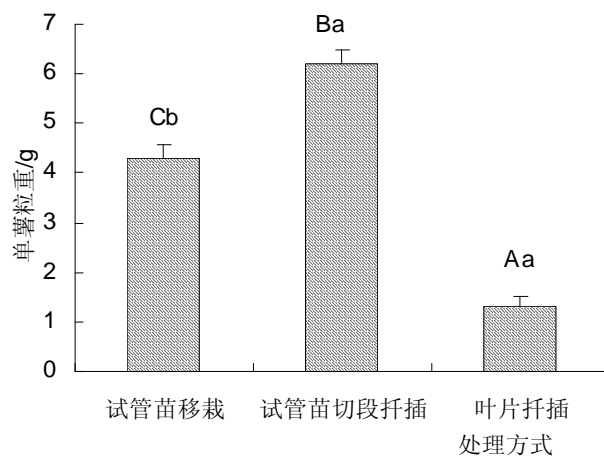
表4 叶片扦插、试管苗扦插与试管苗移栽生产微型薯方法比较

处理	重复	实际株数	单薯粒重/g	粒/株	粒/m ²	产量/(g/m ²)	单粒>1 g所占百分数/%
试管苗移栽	I	345	4.5	3.3	1063.6	4786.2	81.5
	II	337	4.4	3.3	1125.8	4953.5	
	III	326	4.0	3.0	1036.2	4144.8	
	平均	336.0	4.3	3.2	1075.2	4628.2	
试管苗切段扦插	I	324	6.4	1.5	423.5	2710.4	90.3
	II	325	6.3	1.1	418.5	2636.6	
	III	325	5.9	1.3	437.2	2579.5	
	平均	324.7	6.2	1.3	426.4	2642.2	
叶片扦插	I	675	6.6	1	658	4342.8	97.4
	II	677	7.3	1	673	4912.9	
	III	643	6.8	1	640	4352.0	
	平均	665.0	6.9	1.0	657.0	4535.9A	



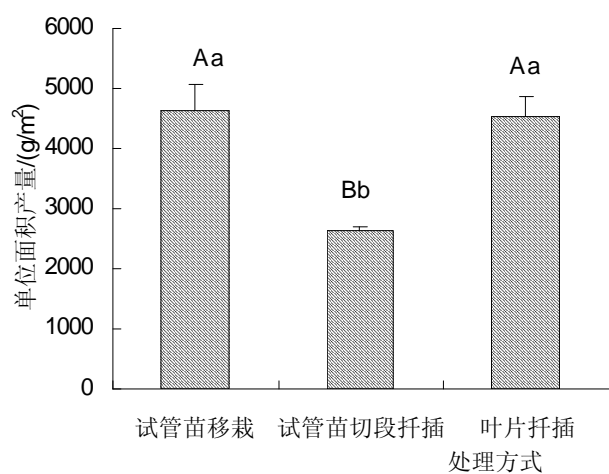
不同小写字母、大写字母分别代表 $P<0.05$, $P<0.01$ 的差异显著性

图2 不同结薯方式对单株结薯数量的影响



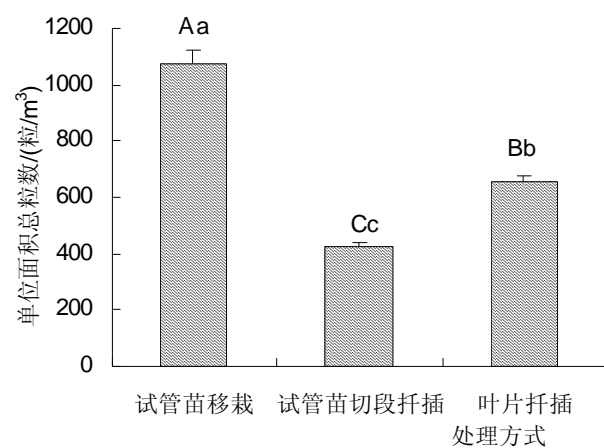
不同小写字母、大写字母分别代表 $P<0.05$, $P<0.01$ 的差异显著性

图3 不同结薯方式对微型薯粒重的影响



不同小写字母、大写字母分别代表 $P<0.05$, $P<0.01$ 的差异显著性

图4 不同繁殖方法对单位面积微型薯产量的影响



不同小写字母、大写字母分别代表 $P<0.05$, $P<0.01$ 的差异显著性

图5 不同繁殖方法对单位面积结薯总粒数的影响

2.3 微型薯生产周期试验

品种的生育期是由品种的遗传基础所决定的。笔者以离体叶片腋芽(或试管苗切段、试管苗移栽定植)扦插到微型薯成熟为微型薯生产的一个周期。为了探索不同生育期品种在微型薯繁育周期上的差异,为利用马铃薯腋芽快繁微型薯技术在生产实践中的推广奠定一个良好的基础设置了此试验。

试验选择‘晋薯7号’、‘紫花白’和‘费乌瑞它’,移栽成活后截取中、下部叶片,在同一条件下进行离体叶片腋芽结薯试验。当大部分微型薯薯皮呈黄亮色,薯粒直径达2~2.5 cm时收获,收获后每个品种随机抽取50粒进行考种(表5)。

从表5可见,在山西北部,正常年份试管苗移栽定植和试管苗切段扦插繁育生产微型薯需85天,用离体腋芽扦插生产微型薯,‘费乌瑞它’需30天,‘紫花白’需37天,‘晋薯7号’需42天,收获时,平均粒重达5.0 g以上,3.0~5.0 g的占80%以上。生产周期最长的‘晋薯7号’也不到试管苗移栽和试管苗切段扦插繁育的1/2。因此,在相同时间内,用离体腋芽扦插生产微型薯可以生产两茬微型薯,从而大大提高了微型薯的生产速度,加大了繁殖系数。

表5 不同品种离体腋芽生产微型薯周期比较

品种	生产周期/d	平均粒重/g	单粒重3.0~5.0 g的比率/%
晋薯7号	42	5.3	65.1
紫花白	37	5.8	68.3
费乌瑞它	30	6.9	75.2

3 结论

综合以上研究结果,在脱毒马铃薯微型薯繁育中,可选择当地生产中主推品种的脱毒马铃薯植株,截取带有腋芽的中部羽状复叶,用20 mg/L赤霉素、20 mg/L萘乙酸和10 mg/L吲哚丁酸的混合液和0.1 mg/L的6-苄基腺嘌呤进行处理后,扦插在以蛭石为主,混一定比例的农家肥和磷二胺的基质中,经过35~40天的培育,可生产出合格的生产用脱毒马铃薯微型薯。

4 讨论

马铃薯块茎是一种膨大而缩短的变态茎。在短日照或黑暗、昼夜温差>10℃的条件下,马铃薯叶片腋芽生长点的生长极性可以发生改变,发育形成马铃薯块茎。

马铃薯离体腋芽快繁微型薯技术与目前生产中常用的茎段快繁技术(王氏技术体系^[4])和室内组培繁育技术相比,单位面积平均单粒微型薯成本为0.08~0.10

元(2009年);生产期周期最长的‘晋薯7号’,其生产周期也比目前常用的繁育技术短一半;单粒薯重比其他两种生产方法高0.7~2.6 g。具有生产成本低、繁殖系数高、种薯质量高、固定资产投资少等优点,是脱毒马铃薯微型薯繁育的一条新途径。

马铃薯离体腋芽快繁微型薯技术与20世纪90年代初期有关研究人员提出的“一叶一薯”相比,其创新点在于在离体腋芽扦插前用生根液进行了处理,通过处理,扦插后的离体腋芽第3天即可在腋芽基部出现次生根突起^[13-14],第7天次生根长度可达到0.3 cm。次生根的形成为腋芽薯干物质的积累,提高微型薯质量提供了可靠的保证。

由于马铃薯离体腋芽快繁微型薯技术具有操作简单、生产成本低、固定资产投资少等优点,在脱毒马铃薯繁育体系建设中,特别是在县、乡两级脱毒马铃薯微型薯繁育中将起到积极的作用,应用前景十分广阔。

由于马铃薯离体腋芽快繁微型薯技术可有效缩短微型薯的生产周期,因此也是高寒冷凉地区马铃薯种质资源保存的有效方法之一。

参考文献

- [1] 方贯娜,庞淑敏,杨永霞.无土栽培生产马铃薯微型薯研究进展[J].中国马铃薯,2006,20(1):33-35.
- [2] 李寿如,候中杰,刘兆财,等.马铃薯工厂化生产微型薯高产栽培技术[J].中国马铃薯,2005,19(6):377-378.
- [3] 杨文玉.不同组织培养条件对马铃薯试管微型薯的诱导[J].马铃薯杂志,1996,10(1):20-22.
- [4] 全锋,张爱霞,曹先维.植物激素在马铃薯块茎形成发育过程中的作用[J].中国马铃薯,2002(01):29-32.
- [5] 陈英.外源激素对马铃薯扦插苗腋芽薯形成的影响[J].甘肃农业,2005(09):155.
- [6] 王炳君.马铃薯脱毒微型薯快繁技术[P].专利国别:中国,CN10481411993,1991-01-02.
- [7] 裴荣信,李玉山.马铃薯叶片离体繁殖微型薯的研究[J].山西农业科技,1994,22(2):55.
- [8] 白嵩,刘美良.B-9对马铃薯生长和产量的影响[J].吉林农业科学,1996(4):87-89.
- [9] 徐欣,连勇.马铃薯块茎发育机理的研究[J].马铃薯杂志,1997,11(2):115-119.
- [10] 孙会忠,高聚林,刘克礼,等.马铃薯源器官建成规律研究[J].中国马铃薯,2003(5):262-267.
- [11] 赵建萍.脱毒马铃薯试管苗的无土栽培及微型薯的繁殖[J].烟台师范学院学报,2001,17(4):270-274.
- [12] 李丹,刘红梅,龙玲,等.脱毒马铃薯微型薯(原种)繁殖技术[J].植保技术与推广,1997,17(2):20.
- [13] 李娟,程智慧,张国裕.马铃薯叶片高效再生体系的建立[J].西北植物学报,2004,24(4):610-614.
- [14] 李娟,张国裕.马铃薯微型薯在块茎生理及育种研究中的应用[J].西北农业学报,2003,12(3):69-72.