

# 低温处理对继代多次马铃薯组培苗复壮程度的影响

马 丹,侯彦龙

(晋中职业技术学院,山西 晋中 030600)

**摘 要:**为给继代多次的马铃薯组培苗复壮提供理论依据,定量分析了低温处理对马铃薯组培瓶苗强壮程度、光合作用能力、整体代谢水平及成活率的影响。结果表明,9℃低温处理40d,可使低温处理代苗的地径、叶绿素含量增加,并最终提高了生根培养代苗的地径、叶绿素含量、可溶性蛋白含量以及成活率。说明低温处理可对继代多次的马铃薯组培苗起到良好的复壮作用,对出瓶苗的成活率和代谢水平有较大的提高效应。

**关键词:**继代;低温复壮;可溶性蛋白含量;成活率

中图分类号:S532 文献标识码:A 文章编号:1002-2481(2018)04-0526-04

## Effect of Low Temperature Treatment on Rejuvenation Degree of Subculture Seedlings of Potato

MA Dan ,HOU Yanlong

(Jinzhong Vocational & Technical College ,Jinzhong 030600 ,China)

**Abstract** To provide theoretical basis for the rejuvenation of potato tissue culture seedlings, the influence of low temperature treatment on the strength, photosynthesis ability, overall metabolism level and survival rate of potato tissue culture bottle seedlings were analyzed quantitatively. The results showed that the ground diameter and chlorophyll content of the seedlings increased at 9℃ for 40 d. Finally, the ground diameter, chlorophyll content, soluble protein content and survival rate of the rooting culture generations increased. In a word, the low temperature treatment can play a good rejuvenation effect on the potato tissue culture seedlings. The survival rate and metabolism level of the bottle seedlings are greatly improved.

**Key words** relay generation; low temperature rejuvenation; soluble protein content; survival rate

马铃薯组培苗因其易获得,继代操作简单,生根容易,是组培研究中最常用的植物种类之一。而继代4次以上的马铃薯组培苗易出现缺绿、苗瘦弱甚至变异和畸形等现象,严重影响苗的品质和成活率。LU等<sup>[1]</sup>研究结果表明,低温能够显著改善组培苗的品质。

本研究从低温处理和对照之间生理指标的相互比较入手,探讨了低温复壮方法对马铃薯组培苗成活率以及生理代谢方面的影响,以期为继代多次的马铃薯组培苗品质和成活率提高提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

本试验以山西省孟县栽培品种克新1号马铃薯无菌培养所得的组培苗为试验材料。将克新1号种薯切成小块,每块带1个芽,播于沙土中,温度

15℃,保持湿润,20d左右可出芽<sup>[2]</sup>。将芽切取下来,经表面灭菌,接种于MS培养基上。成活且无污染苗即为第1代组培苗<sup>[3]</sup>。

### 1.2 试验设计

为了提高组培苗的出瓶成活率,需要对其进行生根培养<sup>[4]</sup>。经生根培养,才能长出较多的侧根,提高其根系吸收能力<sup>[5]</sup>。所以,该试验分为2个阶段,即低温处理代<sup>[6]</sup>(第5代)和生根培养代<sup>[7]</sup>(第6代)。对这2个阶段组培苗生理特性测定,通过处理和对照的比较,来对低温处理改善瓶苗效果进行定性和量化。

除第6代生根培养所用的是1/2 MS培养基<sup>[8]</sup>以外,其他均为MS培养基。无菌培养所得组培苗,常温20℃继代4次,所得的第5代材料,置于温度9℃、环境湿度20%<sup>[9]</sup>、光照1000 lx条件下,培养40d<sup>[10]</sup>,作为低温处理代。低温处理所得的苗子与未进行低温处理的第5代材料(对照)(常温20℃,环

境湿度 20%,光照 2 000 lx,培养 20 d)做比较。低温处理代去掉根部,取下部 2 cm 长的带芽茎段<sup>[11]</sup>,接种于 1/2 MS 培养基进行生根培养,作为生根培养代,与对照生根培养代进行比较。设 3 次重复,每次重复低温处理代和对照各 150 瓶,其中,100 瓶用于生根培养。每瓶接种茎段数 10 个<sup>[12]</sup>。

### 1.3 测定项目及方法

1.3.1 地径 低温处理代于 40 d 时和对照于 20 d 时,随机抽取 50 株(5 瓶),用镊子逐根夹取组培苗,剪掉根部,用测厚规测量苗子的地径,求平均值<sup>[13]</sup>。生根培养代(第 6 代)于 10 d 时,随机抽取 50 株,用同样的方法测量地径。

1.3.2 叶绿素含量 剪取组培苗的叶片 0.1 g,采用丙酮-乙醇混合液浸泡法<sup>[14]</sup>,在 652 nm 波长下测定光密度  $D_{652}$ ,计算叶绿素含量  $C_T = D_{652} \times 1\,000/34.5$ 。每次重复做 2 组,求平均值。

1.3.3 可溶性蛋白含量 取顶梢的第一节间的枝和叶,采用考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[15]</sup>,在 595 nm 波长下测定光吸收值  $A_{595}$ ,再通过标准曲线计算蛋白质含量。

1.3.4 株高 随机抽取低温处理代 50 株(5 瓶),用游标卡尺测其株高<sup>[16]</sup>,不包括根部,求平均值。

1.3.5 成活率 在生根培养代中随机抽取 60 株(6 瓶)出瓶种植。先开盖炼苗 3 d,后移栽于温室的穴盘中,基质为草炭,温度控制在 20℃,湿度 80% 以上。前 2 d 每天喷水 5 次,适当遮阴<sup>[17]</sup>。后 3 d 每天喷水次数逐渐减少,光强逐渐增强。7 d 后统计成活率。

### 1.4 统计方法

对生根培养代苗用  $t$  测验法<sup>[18]</sup>检验差异显著性,显著性水平设定为  $\alpha = 0.05$ <sup>[19]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温处理对组培苗低温处理代(第 5 代)生理特性的影响

由表 1 可知,低温处理后组培苗株高高于对照 68%,地径超出对照 31%,叶绿素含量高于对照 66%。可见,低温处理后的苗子比未处理的苗子明显粗壮(图 1),光合作用能力也显著增强<sup>[20]</sup>。无论是低温处理的苗还是对照,其可溶性蛋白含量都较低。可见,低温处理并不能提高第 5 代苗后期生长的代谢水平<sup>[21]</sup>。主要原因是到了第 5 代后期,无论是处理还是对照,其培养基质中的营养物质已经基本消耗尽了,此时的代谢能力和水平都处于较低的

状态<sup>[22]</sup>。

表 1 低温处理对第 5 代组培苗各项生理指标的影响

处理	株高/cm	地径/cm	叶绿素含量/(mg/L)	可溶性蛋白含量/( $\mu$ g/mL)
低温处理	18.8	1.302	22.78	2.23
对照	11.2	0.995	13.69	4.05



图 1 未低温处理的苗(左)和低温处理代苗(右)对比

### 2.2 低温处理对生根培养代(第 6 代)地径的影响

经低温处理的组培苗进入生根培养代(第 6 代)后,苗子的地径与对照差异显著,且显著高于对照 60%(表 2)。低温处理代的第 6 代苗将第 5 代苗的强壮的优越性保持了下来。地径的大小是判断组培瓶苗质量好坏的重要标准之一<sup>[23]</sup>,低温处理有效增加了瓶苗的地径,提高了苗子的苗壮程度<sup>[24]</sup>,大大改善了继代多次苗瘦弱的问题。

表 2 低温处理对生根培养代组培苗地径的影响 cm

重复	低温处理	对照
	1.566	0.764
	1.162	0.995
	1.429	0.836

### 2.3 低温处理对生根培养代叶绿素含量的影响

表 3 低温处理对生根培养代组培苗叶绿素含量的影响 mg/L

重复	低温处理	对照
	20.48	7.44
	16.61	10.90
	15.77	12.29

从表 3 可以看出,低温处理的组培苗,其生根培养代叶绿素含量与对照差异显著,显著高于对照 73%。在低温处理代(第 5 代)叶绿素含量明显高于

对照,到第 6 代,处理的这种高叶绿素含量的表现得以延续下来,对于改善多次继代组培苗失绿的效果很好。

#### 2.4 低温处理对生根培养代可溶性蛋白含量的影响

马铃薯组培苗在瓶中生长时间在 20 d 以上时,其代谢能力显著下降。组培苗中的可溶性蛋白含量低就充分证明了这一点。因为可溶性蛋白大多数是参与代谢的酶类<sup>[25]</sup>,植物体内代谢是依靠酶来催化的,所以,其含量的高低是植物体总代谢能力强弱的一个重要指标<sup>[26]</sup>。但到了生根培养代,由于刚接种于新的培养基上,其代谢能力要大大超出 20 d(CK)的瓶苗。且低温处理代可溶性蛋白含量与对照差异显著,显著高于对照 87%(表 4)。

表 4 低温处理对生根培养代组培苗可溶性蛋白含量的影响  $\mu\text{g/mL}$

重复	低温处理	对照
	18.41	15.59
	26.26	10.33
	28.09	12.97

#### 2.5 低温处理对生根培养代出瓶种植成活率的影响

同等出瓶种植条件下,低温处理苗的生根培养代出瓶成活率与对照差异显著,显著高于对照 40%(表 5)。

表 5 低温处理对生根培养代组培苗成活率的影响 %

重复	处理	对照
	90	75
	90	60
	80	50

### 3 结论与讨论

本试验结果表明,对于继代多次的组培瓶苗进行低温处理,可以有效改善继代多次苗的瘦弱问题。低温处理代和生根培养代苗的地径均明显增加。地径增加,说明苗子变得强壮了,因而,成活率也高于对照<sup>[27]</sup>。低温处理还可使继代多次的马铃薯组培苗光合作用能力大大提高,苗子的整体代谢水平得以加强。所以,对继代多次的组培瓶苗在出瓶种植前做低温处理是很有必要的。

赵海红等<sup>[28]</sup>研究了植物不同生长延缓剂对试管苗保存的影响,结果表明,马铃薯增殖培养基中添加 500 mg/L 矮壮素,对试管苗种质保存效果最为理想。有关不同生长延缓剂对继代多次组培苗复壮

程度的影响以及生长延缓剂与低温互作对出瓶苗的影响程度,有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] LU B, YUAN Y, ZHANG C et al. Modulation of key enzymes involved in ammonium assimilation and carbon metabolism by low temperature in rice (*Oryza sativa* L.) roots [J]. *Plants Science*, 2005, 169(12): 295-302.
- [2] 梁秀芝, 李荫藩, 郑敏娜. 4 种马铃薯脱毒组培苗繁殖效率分析 [J]. *山西农业科学*, 2017, 45(5): 756-758.
- [3] 邓珍, 徐建飞, 段绍光. PEG-8000 模拟干旱胁迫对 11 个马铃薯品种的组培苗生长指标的影响 [J]. *华北农学报*, 2014, 29(5): 99-106.
- [4] 梁称福. 植物组织培养研究进展与应用概况 [J]. *经济林研究*, 2005, 23(4): 99-101.
- [5] 王政, 张丹丹, 刘艳楠. 不同光源处理对非洲菊组培苗生长的影响 [J]. *河南农业科学*, 2016, 45(7): 96-100.
- [6] 揭进, 胡乃盛, 李强有, 等. 剑麻组培苗标准化繁育技术与种植推广 [J]. *中国热带农业*, 2012, 11(2): 60-63.
- [7] 刘太林, 孙苗苗, 马仲强. 铁皮石斛组培苗移栽条件的筛选 [J]. *天津农业科学*, 2017, 23(8): 28-31.
- [8] 吴华, 苏倩, 陈金慧. 水杨酸对紫外线胁迫下杉木组培苗的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(9): 207-210.
- [9] 张利英, 李贺年, 张鑫, 等. 草莓组培苗和自繁苗田间性状比较试验研究 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(25): 11957-11958.
- [10] 陈晓明, 韦璐阳, 蔡玲, 等. 油茶组培苗不定根形成过程酶的活性变化分析 [J]. *南方农业学报*, 2016, 47(8): 1344-1348.
- [11] 尹佳蕾, 赵惠恩. 黄花小山菊的组织培养与快速繁殖 [J]. *植物生理学通讯*, 2006, 42(5): 907-908.
- [12] 魏翠华, 谢宇, 秦建彬, 等. 台湾金线莲组培苗定植规格及栽培基质筛选 [J]. *南方农业学报*, 2016, 47(1): 92-95.
- [13] 赵云青, 黄颖桢, 陈菁瑛, 等. 金线莲白绢病原菌分离及分子鉴定 [J]. *福建农业学报*, 2013, 28(4): 357-360.
- [14] 武维华. *植物生理学* [M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [15] 张治安, 张美善. *植物生理学实验指导* [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004.
- [16] 王锴, 张立新, 高梅, 等. 盐胁迫对 2 种苹果属植物愈伤组织及组培苗生长和有机渗透调节物质累积的影响 [J]. *西北农业学报*, 2013, 22(2): 112-118.
- [17] 龙祥友, 朱虹, 孙长生. 山豆根组培苗移栽基质筛选 [J]. *贵州农业科学*, 2015, 43(11): 32-33.
- [18] 王清莲. *植物组织培养* [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [19] CERBAH M, MORTREAU E, BROWN S et al. Genome size variation and species relationships in the genus *Hydrangea* [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 103(3): 45-51.
- [20] 赵鹏, 熊淑萍, 李琳, 等. 土壤水分对不同筋力型小麦花后旗叶氮素同化酶活性和籽粒蛋白质含量的影响 [J]. *麦类作物学报*, 2009, 29(3): 450-452.
- [21] 鞠秀云, 姜素平, 刘金娟, 等. 黑大蒜和鲜大蒜中可溶性蛋白成分的比较研究 [J]. *食品科学*, 2015, 36(4): 21-22.

(下转第 553 页)

茎粗、单株叶片数和单株总生物量均降低,可以有效地减少水分消耗。总之,八宝景天在干旱胁迫下通过气孔开度变小,POD活性增加进行膜脂过氧化防御,Pro和可溶性糖含量增加进行渗透调节,提高日间光合色素含量保证光合作用的有效进行等方式提高其干旱适应能力,表现了较强的抗旱性。

#### 参考文献:

- [1] WALLACE J S. Increasing agricultural water use efficiency to meet future food production [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2000, 82: 105-119.
- [2] 鲁松. 干旱胁迫对植物生长及其生理的影响[J]. *江苏林业科技*, 2012, 39(4): 51-54.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1984: 54-55.
- [4] 陈江霞. 八宝景天及应用领域[J]. *林木花卉*, 2009(11): 46-47.
- [5] 李明启. 景天科酸代谢的碳途径: 植物代谢多条途径观点的一个典型例子[J]. *植物生理学通讯*, 1994, 30(4): 286-292.
- [6] 张泽锦. 铁皮石斛的光合碳同化途径及其对环境变化的生理响应[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [7] 刘紫娟, 杨宗鹏, 李萍, 等. 大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高对八宝景天生长及光合生理的影响[J]. *应用生态学报*, 2017, 28(6): 1969-1976.
- [8] 李云霞, 张建生, 吴永华, 等. 5 种景天科地被植物抗旱性比较研究[J]. *干旱区资源与环境*, 2010, 24(2): 183-186.
- [9] 张斌, 胡永红, 刘庆华, 等. 几种屋顶绿化景天植物的耐旱性研究[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(5): 272-276.
- [10] 李滨胜, 周玉迁, 潘杰, 等. 干旱胁迫下细叶景天生理生化指标的变化[J]. *北方园艺*, 2010(16): 105-107.
- [11] 张立荣, 牛海山, 汪诗平, 等. 增温与放牧对矮嵩草草甸 4 种植物气孔密度和气孔长度的影响 [J]. *生态学报*, 2010, 30(24): 6961-6969.
- [12] 徐萍, 李进, 吕海英, 等. 干旱胁迫下水杨酸对银沙槐子叶表皮气孔开度的影响[J]. *植物生理学报*, 2014, 50(4): 510-518.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-165, 260-261.
- [14] 李强, 唐薇, 石园园, 等. 蒽酮-硫酸法和 3-5-二硝基水杨酸法测定杜仲水提液多糖含量 [J]. *食品工业科技*, 2010(10): 370-371, 374.
- [15] 张岁岐, 李金虎, 山仑. 干旱下植物气孔运动的调控[J]. *西北植物学报*, 2011, 21(6): 1263-1270.
- [16] 于海秋, 王晓磊, 蒋春姬, 等. 土壤干旱下玉米幼苗解剖结构的伤害进程[J]. *干旱地区农业研究*, 2008, 26(5): 143-147.
- [17] 杨惠敏, 王根轩. 干旱和 CO<sub>2</sub> 浓度升高对干旱区春小麦气孔密度及分布的影响[J]. *植物生态学报*, 2001, 25(3): 312-316.
- [18] 胡学俭, 孙明高, 夏阳, 等. NaCl 胁迫对无花果与海棠膜脂过氧化作用及保护酶活性的影响 [J]. *西北植物学报*, 2005, 25(5): 937-943.
- [19] 邵艳军, 山仑. 植物耐旱机制研究进展[J]. *中国生态农业学报*, 2006, 14(4): 17-20.
- [20] 徐秀梅, 张新华, 王汉杰. 四翅滨藜抗旱生理特性研究[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2004, 28(5): 54-58.
- [21] 牟凤娟, 陈丽萍, 李军萍, 等. 干旱胁迫下旱地油杉生理生化指标动态变化[J]. *干旱区资源与环境*, 2016, 30(5): 180-184.
- [22] KLEIN T, HOCH G, YAKIR D et al. Drought stress, growth and nonstructural carbohydrate dynamics of pine trees in a semi-arid forest[J]. *Tree Physiology*, 2014, 34(9): 981-992.
- [23] O'BREIN M J, LEUZINGER S, PHILIPSON C D et al. Drought survival of tropical tree seedlings enhanced by non-structural carbohydrate levels[J]. *Nature Climate Change*, 2014, 4(8): 710-714.
- [24] 丛建鸥, 李宁, 许映军, 等. 干旱胁迫下冬小麦产量结构与生长、生理、光谱指标的关系 [J]. *中国生态农业学报*, 2010, 18(1): 67-71.
- [25] 何晓莹. 初花期干旱对油菜农艺性状的影响 [J]. *山西农业科学*, 2016, 44(9): 1291-1293.
- [26] 王春乙, 娄秀荣, 王建林. 中国农业气象灾害对作物产量的影响[J]. *自然灾害学报*, 2007, 16(5): 38-43.
- [22] ALISTER B, FINNIE J, WATT M P et al. Use of the temporary immersion bioreactor system (RITA) for production of commercial Eucalyptus clones in Mondi Forests (SA)[J]. *Liquid Culture Systems For In Vitro Plant Propagation*, 2005, 4(7): 430-442.
- [23] 陈一群, 丘佐旺, 汪迎利, 等. 樟树组培苗轻基质育苗技术研究 [J]. *亚热带植物科学*, 2015, 44(2): 140-145.
- [24] 贾宏炎, 曾杰, 黎明, 等. 西南桦组培苗培育的轻基质筛选[J]. *林业科学研究*, 2012, 25(2): 241-245.
- [25] 李洁. 干旱胁迫对青稞幼苗可溶性蛋白的影响[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(12): 124-126.
- [26] 罗君琴, 徐建国, 王平. 不同培养条件对柑橘胚性愈伤组织离体诱导的影响[J]. *北方园艺*, 2013, 37(13): 126-127.
- [27] 王必尊, 唐粉玲, 何应对, 等. 不同基质对香蕉组培苗生长及光合特性的影响[J]. *热带作物学报*, 2013, 34(3): 399-402.
- [28] 赵海红, 贝丽霞, 丁俊杰. 不同生长延缓剂对马铃薯脱毒试管苗保存的影响[J]. *黑龙江农业科学*, 2010(5): 1-2.

(上接第 528 页)