

马铃薯离体再生与遗传转化研究进展

郭阳鑫^{1,2}, 余跃辉², 薛红卫¹, 许智宏¹, 卫志明¹, 朱木兰^{2*}

(1. 中国科学院上海植物生理生态研究所, 上海 200032; 2. 四川农业大学农学院, 四川成都 611130)

摘要 探讨了以马铃薯茎段、叶片及块茎为起始外植体不同离体再生体系的建立和相关影响因素, 分析了基因型、受体外植体类型、菌液浓度、侵染时间、共培养和预培养等对遗传转化效率的影响, 为建立马铃薯高效离体再生体系和遗传转化体系提供理论参考。

关键词 马铃薯; 植物激素; 离体再生; 遗传转化

中图分类号 S503 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)36-0029-04

The Research Progress of *in vitro* Regeneration and Genetic Transformation System in Potato

GUO Yang-xin^{1,2}, SHE Yue-hui², XUE Hong-wei¹, ZHU Mu-lan^{2*} et al (1. Institute of Physiology & Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, CAS, Shanghai 200032; 2. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130)

Abstract The establishment of different potato *in vitro* regeneration systems and related impact factors were discussed with stem, leaf and tuber as initial explant; and the effects of genotype, type of receptor system, bacterial concentration, infection time, co-culture and pre-culture on genetic transformation efficiency were analyzed, so as to provide important reference for establishment of high efficiency *in vitro* regeneration and genetic transformation system in potato.

Key words Potato; Plant hormone; Phytohormone regeneration *in vitro*; Genetic transformation

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 为双子叶纲茄科茄属一年生草本植物, 核型为 $4X = 48$ 同源四倍体。马铃薯具有营养丰富、适应性强、生育期短、产量高、产业链条长等特点, 被列为我国第四大粮食作物, 仅次于小麦、水稻和玉米^[1]。马铃薯既属于粮食作物, 又是常见的时鲜蔬菜^[2]; 还可以加工成淀粉、全粉及酒精葡萄糖等原料产品, 广泛应用于化工、医药和造纸等行业^[3]。马铃薯起源于秘鲁和玻利维亚的安第斯山脉, 距今已有 8 000 年的栽培历史。我国马铃薯栽培始于明朝万历年间, 最早见于京津冀地区, 由西班牙人带到我国, 随后在东北和西南等地区种植^[4]。目前, 我国马铃薯共审定品种 94 个, 国家级品种 16 个, 多为具备抗病、抗虫、高产、耐寒和耐旱等性能的品种^[5]。

自 20 世纪 80 年代以来, 马铃薯高效离体再生体系的建立成为研究热点。马铃薯易受到病毒病影响而造成块茎退化, 生产上每年都需要繁殖大量的脱毒苗, 而脱毒苗只能经由离体再生方式获得。马铃薯的遗传改良需要利用基因工程手段来开展, 遗传转化是基因工程的限速步骤, 而高效的离体再生体系是遗传转化体系的先决条件。笔者对马铃薯离体再生与遗传转化的研究进展进行综述。

1 离体再生

1.1 茎段再生 茎段是马铃薯离体再生体系中使用较多的一种起始外植体。主要原因: 茎段较易消毒, 从而容易获得大量的起始外植体材料; 茎段上具有定芽, 定芽发生区广泛分布高再生性能的一类干细胞性质的细胞, 这类细胞或组织在植物激素的诱导下, 可以产生大量的不定芽。

邱弼等^[6]对夏波蒂和费乌瑞它的茎段进行再生, 2 个品种茎段愈伤诱导率均达 100%。不定芽分化采用 MS + 2.0 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA + 5.0 mg/L GA₃ 和 MS + 2.0 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L ZT + 5.0 mg/L GA₃, 其分化率分别达 52.38% 和 53.60%。

齐恩芳^[7]对陇薯 3 号、陇薯 6 号和 LK99 茎段再生体系进行研究, 结果表明, 陇薯 3 号愈伤诱导的最佳培养基为 MS + 2.5 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA + 5.0 mg/L GA₃ + 1.0 mg/L 2,4-D, 陇薯 6 号为 MS + 2.5 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA + 2.5 mg/L GA₃ + 0.5 mg/L 2,4-D, LK99 为 MS + 2.5 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA。

张玲^[8]以马铃薯的茎尖、茎段和芽体为起始外植体, 开展再生体系研究, 结果表明, 愈伤诱导的最佳培养基为 MS + 1.0 mg/L NAA + 1.5 mg/L 2,4-D, 不定芽诱导采用的培养基为 MS + 1.0 mg/L NAA + 0.3 mg/L 6-BA, 芽分化率为 62%。

1.2 叶片再生 叶片是高度分化的植物组织器官, 再生性能相对低下。但由于叶片为地上部分, 比较容易获得大量的无菌材料, 而成为马铃薯离体再生的起始外植体。然而, 叶片再生频率远低于茎段。

崔海辰等^[9]对克新 1 号马铃薯叶片离体再生体系进行研究, 结果发现, 叶片愈伤的最佳培养基为 MS + 2.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA, 不定芽的分化培养基为 MS + 2.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA + 5.0 mg/L GA₃, 诱导率为 30%。生根培养基为 MS + 0.2 mg/L NAA, 生根率为 100%。

Ahloowalia^[10]对 CARA 和 A25/19 马铃薯品种的再生系统进行研究, 结果发现, 在 1/2MS + 3.2 mg/L IAA + 1.0 mg/L KT + 0.5 mg/L 2,4-D 中, 愈伤诱导率为 60%, 芽分化培养基为 1/2MS + 1.0 mg/L ZT + 0.5 mg/L 2,4-D, 芽分化率为 50%。

杨琼芳等^[11]对云薯 501 和会-2 叶片离体再生体系进

基金项目 复旦大学遗传工程国家重点实验室开放课题 (SKLGE-1410); 国家高技术研究发展计划“863”计划 (2013AA102704)。

作者简介 郭阳鑫 (1991-), 男, 甘肃庆阳人, 硕士研究生, 研究方向: 大豆和马铃薯的再生和遗传转化。* 通讯作者, 副研究员, 博士, 从事植物分子遗传学研究。

收稿日期 2016-10-19

行研究,结果发现,云薯501和会-2在MS+3.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+10.0 mg/L GA₃培养基上诱导率达100.0%和95.7%,芽分化在MS+3.0 mg/L 6-BA+10.0 mg/L GA₃培养基上分化率为86.3%。会-2芽分化在MS+3.00 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA+10.00 mg/L GA₃培养基上分化率达65.4%。

1.3 影响块茎发育的因素 块茎发育的影响因素。块茎是马铃薯的主要食用部位,其形成和发育是一个复杂的过程,具体发育过程分为匍匐茎的形成、匍匐茎顶端或亚顶端膨大、块茎发育及块茎成熟后物质储藏积累4个阶段^[12]。这4个生长发育阶段受多种激素和光温等因素的调控。

1.3.1 赤霉素(GA₃) 20世纪70年代研究发现,GA₃对马铃薯匍匐茎的生长有促进作用,对块茎发生有抑制作用^[13-14]。研究发现,非诱导条件下GA₃含量较诱导条件下高,说明马铃薯块茎形成过程中对GA₃需求量维持在一个较低水平^[15],即低浓度(0.1~1.0 mol/L)GA₃促进马铃薯块茎的形成。高浓度GA₃在马铃薯块茎形成和发育过程中,阻碍了碳水化合物在块茎部位的积累,进而影响马铃薯块茎的质量^[13]。

1.3.2 脱落酸(ABA) ABA对马铃薯块茎的形成具有促进作用,与其浓度基本无关。在离体培养条件下,马铃薯在富含10 g/L蔗糖的非诱导培养基上不结薯,在富含80 g/L蔗糖的诱导培养基上结薯;在富含10 g/L蔗糖和ABA的培养基上结薯,在富含80 g/L蔗糖和ABA的培养基上提前结薯^[16]。这表明外源ABA明显促进块茎的形成。研究发现,外源ABA并非是块茎形成的主要调节因素,具体体现为ABA与GA₃之间的拮抗作用,ABA可以抵消GA₃对块茎形成的抑制作用,从而抑制匍匐茎的生长和促进块茎的发育^[17]。柳俊等^[18]认为只有当GA₃/ABA达到一定范围时(1.1~1.3)才能获得较高的试管块茎诱导频率。

1.3.3 吲哚-3-乙酸(IAA) 研究发现,施加外源IAA块茎提前生成,匍匐茎(地上部分)伸长受阻。因此,IAA对马铃薯的作用效果具有一定的普遍性和稳定性,即具有促进块茎生长和抑制匍匐茎生长的双重作用。GA₃和IAA同时存在会形成更多的块茎,且全部为无柄块茎,而只有GA₃存在时不会产生块茎^[18]。

1.3.4 细胞分裂素 细胞分裂素类主要包括ZT、6-BA、KT等,对马铃薯的生长发育具有较强的调节作用。主要表现:KT促进块茎形成,ZT抑制块茎形成,6-BA打破块茎休眠、促进其细胞分裂^[19]。研究发现,细胞分裂素对于马铃薯块茎的形成与发育具有重要作用,可能与马铃薯中ZT含量的积累以及2-ip和2IPA的含量有关,进而促进马铃薯块茎的形成^[20-21]。

1.3.5 乙烯(ETH) ETH是马铃薯离体生长过程中产出的一种气体,对马铃薯的离体生长具有反馈调节作用,即抑制匍匐茎伸长、促进匍匐茎和块茎增粗。研究表明,通风条件下,降低培养容器中乙烯浓度,产生的试管薯数量虽无明显变化,但鲜重却增加了1倍^[22]。

1.3.6 茉莉酸(JA)、茉莉酸甲酯(MeJA)及其衍生物 JA和MeJA及其衍生物对马铃薯块茎的发育与调控具有重要作用^[23]。马铃薯块茎发育形成时伴随着JA含量的迅速升高,证明JA是块茎形成的直接诱导物质^[18]。JA和MeJA对马铃薯块茎有强烈的诱导活性^[24]。研究发现,马铃薯在离体条件下,用大于0.1 μmol/L JA和MeJA处理其单茎节段,并经21 d暗培养后,长出的枝条可形成许多小块茎。同时发现其浓度越高块茎的形成率越大,当达到10.0 μmol/L时,块茎形成率接近100%^[25]。Koda等^[26-27]认为JA和MeJA可以改变马铃薯块茎成熟的时间。在离体诱导下,其对块茎的促进可能与CTK含量有关。而Jackson^[28]认为JA不能促进晚熟品种的块茎形成。

1.3.7 光照条件和温度 马铃薯起源于寒冷地带,属于短日照植物。因此,光照和温度对马铃薯块茎发育的影响很大。研究表明,白天30℃,夜间28℃,光照18 h,为不结薯培养条件;相反,白天28℃,夜间13℃,光照少于10 h,为结薯培养条件^[29]。

1.3.8 营养条件 研究表明,外源营养物质蔗糖对马铃薯块茎发育的影响显著。马铃薯离体培养条件下,添加外源蔗糖有效促进结薯;当蔗糖浓度高于80 g/L时,马铃薯离体结薯进程明显加快。同时,蔗糖和ABA对马铃薯块茎形成具有正向协同作用^[16]。

1.4 激素对块茎离体再生的影响 马铃薯块茎的再生分为2种类型,一种为微型薯(试管薯)再生,另一种为大田薯块再生。微型薯为在无菌条件下形成的小薯,其生长时间短,个头小,但有较多的腋芽,可以分化出大量的丛生芽。大田薯块表面具有芽眼,也是再生性能很高的组织器官,可作为马铃薯离体再生的起始外植体材料。大田薯块脱毒难度很高,能将带芽眼薯块消毒入瓶的报道较少。

徐刚^[30]对甘农薯2号和夏波蒂的马铃薯品种试管微型薯的薯片进行再生。先将试管苗接种在温度22℃、光照2 000 lx、pH 5.8的MS+30 g/L蔗糖液体培养基上,25 d后转接到MS+80 g/L蔗糖+5 mg/L 6-BA+1.5 g/L活性炭的培养基上暗培养42~48 d进行微型薯的诱导。将诱导出来的直径1~2 cm微型薯接种到分化培养基MS+1.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L IAA+0.2 mg/L GA₃+2.0 mg/L ZT培养基上,50 d后,2个品种均分化出苗,分化率分别为18.4%和12.8%。

李晶^[31]以微型薯块为受体进行再生,薯块愈伤和分化的最佳培养基为MS+ZT 2.0 mg/L+1.0 mg/L IAA。接种的186个薯块外植体,分化的薯块有54个,再生了136个植株,分化率仅为29%。

马铃薯离体再生体系的建立对外植体、愈伤诱导和不定芽分化的培养基配方以及外界环境条件有较高的要求。外植体一般有叶片^[32]、茎段、薯块和花药等,以茎段诱导再生率较高。培养基采用的是MS培养基,愈伤诱导需要配合使用生长素和细胞分裂素。常用的细胞分裂素有2,4-D、NAA和IAA,同一浓度下2,4-D诱导愈伤组织的能力优于

NAA^[33]。常用的生长素有 KT、ZT 和 6-BA 等,但 6-BA 的使用频率最高。不定芽的分化和伸长中,高比值(25:1 或 10:1)培养基上仅 1~2 苗分化;中等比值的培养基上分化出较多生长良好的苗;而低比值培养基上愈伤组织不分化或极少芽分化,相反却有根的分化^[34]。两者比值为 5:1 时分化出苗多且最好^[35]。不同外植体的愈伤诱导率明显不同,由高到低依次为半叶、茎、叶柄^[36]。马铃薯易生根,生根培养基为 MS 或 1/2MS 培养基,其中可以加入少量的 IBA 以促进生根。炼苗 3~4 d 后可以移入移栽,成活率均较高。外界环境的影响分为光照、光强、温度以及湿度,愈伤的诱导和苗的分化及生根一般均采用 2 000~6 000 lx 和 16~18 h/d 的光照培养,温度为 22~25℃,室内相对湿度保持在 70%~80%^[36]。低温 19℃、光强 4 000 lx 有利于不定芽形成^[37]。

2 遗传转化

传统的育种技术和手段在马铃薯遗传育种中已经出现瓶颈。为缩短马铃薯育种进程、提高马铃薯块茎品质,基因工程在马铃薯分子育种中得到广泛运用。自 1983 年第一株农杆菌介导的转基因马铃薯植株获得以来^[38],马铃薯转基因育种技术研究已日益完善。影响马铃薯遗传转化因素较多,如基因型、外植体类型、菌液浓度、侵染时间、预培养以及共培养等。

2.1 基因型 马铃薯作为严格闭花授粉的同源四倍体植物,其基因型对马铃薯遗传转化有很大影响,学术界普遍认为是马铃薯对基因型的依赖造成的^[39-40]。因此,不同品种马铃薯的遗传转化效率也存在很大差异。目前,马铃薯遗传转化应用较多的品种有大西洋^[41]、费乌瑞它^[42]等。徐刚^[30]采用 4 个不同基因型的马铃薯品种,分别以茎段和试管薯薄片为外植体进行遗传转化。结果显示,甘农薯 2 号和 Shpepody 适合采用试管薄片为外植体的转化体系;Favorita 适合茎段为受体的转化体系;Anlantic 的 2 种受体材料均不适于。李晶^[31]采用东农 303、克新 4 号和克新 1 号的脱毒试管苗进行马铃薯品种的遗传转化。此外,马铃薯除基因型对其限制外,染色体的倍性对其也存在影响。

2.2 受体外植体类型 马铃薯的遗传转化采用的外植体有茎段^[43-44]、叶片^[45-47]、花药^[48]和薯块^[49]。苗龄和植株健壮程度也极显著地影响遗传转化率,表现为苗龄在 14 d 左右,生长健壮的外植体具有较高的转化率和再生率,当苗龄超过 30 d 或试管苗生长较细弱的外植体转化率较低,再生成苗率则更低。以茎段和叶片 2 种外植体为受体材料进行遗传转化时发现叶片转化率极显著低于茎段^[43]。研究发现,De-sir-e、Lenape 和 Niska 马铃薯品种叶柄的再生效率最高,达 98%^[50]。外植体大小也是一个重要的因素,外植体越大,相对创伤面积越小,褐类物质的分布密度越小,一般选用节段 0.5 cm 左右^[37]、叶片 0.1 cm²左右^[11],均可提高转化效率。

2.3 菌液浓度及侵染时间 农杆菌的菌液浓度和侵染时间对转化效率有影响。不同转化体系所采用的菌液浓度和侵染时间不同。一般而言,菌液浓度 OD 在 0.2~1.0 较好,侵染时间 5~10 min 较好^[7,31]。同时也应根据不同材料的不同

外植体进行相应的选择。贾笑英等^[44]认为农杆菌浓度 OD 为 0.2 和 0.5 适合愈伤的侵染,但侵染 8 min 最佳,过高或过低均不利于转化。

2.4 共培养和预培养 共培养和预培养时间的长短对转化效率有影响。外植体预培养 2 d 后,转化率极显著高于未经预培养的外植体,可能是因为预培养可调整外植体的生理状态,促进细胞分裂,减轻胁迫伤害,从而使受体细胞更易整合外源 DNA,从而提高遗传转化率^[43]。熊伟等^[51]以 PB04 马铃薯品种为材料,预培养 2 d 的抗性愈伤诱导率最高。但有些品种不经预培养的转化效率反而高。齐恩芳等^[52]采用马铃薯 6 个品种的茎段和微型薯建立遗传转化体系,结果表明,6 个品种不经预培养体系的转化效率高于经预培养的体系。预培养和共培养均在 2~4 d,可以提高其转化效率。

王鹤峰等^[53]以茎段作为起始受体外植体,OD₆₀₀为 0.5 的工程菌液体浸染时间为 5 min,共培养时间为 3 d,抗性愈伤组织筛选和不定芽诱导筛选的 Km 浓度均为 100 mg/L,不定根诱导的 Km 浓度为 50 mg/L,获得转基因植株。

王丹等^[54]以马铃薯无菌苗叶片为起始受体材料,在卡那霉素 Km 浓度为 15~25 mg/L,羧苄青霉素(Cb)浓度为 200~400 mg/L 的筛选压力下,经 60 d 培养,可获得抗性芽,其诱导频率为 27%~36%,抗性植株的生根频率为 100%。Valkov 等^[55]采用不同方案对马铃薯无菌苗幼叶质体利用基因枪法进行遗传转化,获得转化叶片的愈伤组织,其叶片的质体转化率达 3.67%,但该试验未获得转基因植株。Zhang 等^[56]以马铃薯叶片质体作为遗传转化的受体系统,获得了转基因烟草和马铃薯抗性植株。虽然 Zhang 等和 Valkov 等在愈伤诱导培养基和基因枪导入目的基因转化方法类似,但两者也具有诸多差异:①Zhang 等进行了质核转化,而 Valkov 等仅进行质体转化;②在抗性芽的诱导和伸长方面,Zhang 等采用 MS+B₅+6 g/L 琼脂粉+30 g/L 蔗糖+16 g/L 葡萄糖+2.0 mg/L IAA+400.0 mg/L 奇霉素+3.0 mg/L ZT+1.0 mg/L GA₃ 培养基进行抗性芽的诱导和 MS+B₅+6 g/L 琼脂粉+30 g/L 蔗糖+0.1 mg/L IAA+3.0 mg/L ZT+400.0 mg/L 奇霉素培养基进行抗性芽的伸长,而 Valkov 等未详细说明;③在生根培养基上,Zhang 等采用 MS+30 g/L 蔗糖+400.0 mg/L 培养基诱导生根,而 Valkov 等采用 MS+200.0 mg/L 奇霉素培养基诱导生根;④Zhang 等对质和核的转化不但进行了基因结构功能表达的验证,而且还获得了基因表达的抗性植株,且对抗性植株和野生型植株进行抗性验证,结果表明,两者在表型上有明显差异,Valkov 等^[55]只进行了功能基因的表达验证,并未进行抗性植株和抗性验证试验;⑤在转化效率上,Zhang 等的转化效率仅为 0.4%,而 Valkov 等的转化效率提高了 15~18 倍,达 3.67%。

卢翠华等^[57]以微型薯作为受体外植体,对马铃薯品种黄麻子进行遗传转化,结果表明,MS+4.0 mg/L ZT+1.0 mg/L IAA 为最佳不定芽诱导培养基配方;农杆菌菌液浓度 OD₆₀₀为 0.5、侵染 5 min、共培养 2 d 为适宜的外源基因导入条件;最终获得 35 株抗性植株,遗传转化效率达 55.3%。但

笔者认为该结果(即转化效率)值得商榷。

3 小结与展望

近年来,通过离体再生和遗传转化对马铃薯进行遗传改良,已成为马铃薯分子育种的重要内容;同时也是实现我国马铃薯主食化目标的最主要手段之一。不同品种马铃薯的不同器官再生体系具有显著差异。因此,构建马铃薯不同器官高效的、稳定的再生体系是目前马铃薯组织培养的研究热点。马铃薯目前最常采用的遗传改良方法是农杆菌介导法。但在农杆菌介导马铃薯遗传转化过程中,因基因整合的随机性和基因沉默等问题遏制了马铃薯遗传转化效率。目前重组位点定点整合技术的开发降低了基因整合的不可控性,保障了遗传转化的高效性和时效性。

参考文献

- [1] 谢从华. 马铃薯产业的现状与发展[J]. 华中农业大学学报(社会科学版), 2012, 97(1): 1-4.
- [2] 吕世安. 中国马铃薯产业发展现状与趋势[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2002, 20(4): 29-34.
- [3] 陈华宁. 中国马铃薯产业发展现状及对策[J]. 世界农业, 2008(8): 13-15.
- [4] 佟屏亚. 中国马铃薯栽培史[J]. 中国科技史料, 1990, 11(1): 10-19.
- [5] 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.
- [6] 邱仍, 陶刚, 朱英, 等. 马铃薯品种茎段愈伤组织诱导和植株再生的研究[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(10): 11-13.
- [7] 齐恩芳. 马铃薯再生体系建立及农杆菌介导 AcInV 反义基因转化[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2006.
- [8] 张玲. 马铃薯组织培养技术研究[J]. 西南科技大学学报(自然科学版), 2004, 19(1): 88-90.
- [9] 崔海辰, 董磊, 陶龙鑫, 等. 马铃薯再生体系的建立[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2012, 33(4): 131-135.
- [10] AHLWOOLIA B S. Plant regeneration from callus culture in potato[J]. Euphytica, 1982, 31(31): 755-759.
- [11] 杨琼芳, 卢丽丽, 潘哲超, 等. 马铃薯叶片愈伤组织再生体系的建立[J]. 西南农业学报, 2012, 25(3): 1001-1004.
- [12] VIOLA R, ROBERTS A G, HAUPT S, et al. Tuberization in potato involves a switch from apoplastic to symplastic phloem unloading[J]. The plant cell, 2001, 13(2): 385-398.
- [13] 刘悦善. 赤霉素调控的马铃薯块茎离体发育蛋白质组研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- [14] KUMAR D, WAREING P F. Studies on tuberization of *Solanum andigena*. I. Growth hormones and tuberization[J]. New phytologist, 1974, 73(5): 833-840.
- [15] HAMMES P S, NEL P C. Control mechanisms in the tuberization process[J]. Potato research, 1975, 18(2): 262-272.
- [16] XU X, VAN LAMMEREN A A, VERMEER E, et al. The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation in vitro[J]. Plant physiology, 1998, 117(2): 575-584.
- [17] KRAUSS A, MARSCHNER H. Influence of nitrogen nutrition, daylength and temperature on contents of gibberellin and abscisic acid and on tuberization in potato plants[J]. Potato research, 1982, 25(11): 13-21.
- [18] 柳俊, 谢从华. 马铃薯块茎发育机理及其基因表达[J]. 植物学通报, 2001, 18(5): 531-539.
- [19] ROMANOV G A, AKSENOVA N P, KONSTANTINOVA T N, et al. Effect of indole-3-acetic acid and kinetin on tuberisation parameters of different cultivars and transgenic lines of potato in vitro[J]. Plant growth regulation, 2000, 32(2): 245-251.
- [20] ZUBKO E, MACHÁČ KOVÁ I, MALBECK J, et al. Modification of cytokinin levels in potato via expression of the *Petunia hybrida* Sho gene[J]. Transgenic research, 2005, 14(5): 615-618.
- [21] IVANA M, LIDIYA S, MILO S O, et al. Growth pattern, tuber formation and hormonal balance in in vitro potato plants carrying ipt gene[J]. Plant growth regulation, 1997, 21(1): 27-36.
- [22] ZOBAYED S M A, ARMSTRONG J, ARMSTRONG W. Micropropagation of potato: Evaluation of closed, diffusive and forced ventilation on growth and tuberization[J]. Annals of botany, 2001, 87: 53-59.
- [23] SARKAR D, PANDEY S K, SHARMA S. Cytokinins antagonize the jasmonates action on the regulation of potato (*Solanum tuberosum*) tuber formation in vitro[J]. Plant cell tissue and organ culture, 2006, 87(3): 285-295.
- [24] TAKAHASHI K, FUJINO K, KIKUTA Y, et al. Expansion of potato cells in response to jasmonic acid[J]. Plant science, 1994, 100(1): 3-8.
- [25] KODA Y, KIKUTA Y, TAZAKI H, et al. Potato tuber-inducing activities of jasmonic acid and related compounds[J]. Phytochemistry, 1991, 30(5): 1435-1438.
- [26] KODA Y, KIKUTA Y. Effects of jasmonates on in vitro tuberization in several potato cultivars that differ greatly in maturity[J]. Plant production science, 2001, 4(1): 66-70.
- [27] KODA Y, OMER E S A, YOSHIIHARA T, et al. Isolation of a specific potato tuber-inducing substance from potato leaves[J]. Plant and cell physiology, 1988, 29(6): 1047-1051.
- [28] JACKSON S D. Multiple signaling pathways control tuber induction in potato[J]. Plant physiology, 1999, 119: 1-8.
- [29] MALKAWI A, JENSEN B L, LANGILLE A R. Plant hormones isolated from "Katahdin" potato plant tissues and the influence of photoperiod and temperature on their levels in relation to tuber induction[J]. Journal of plant growth regulation, 2007, 26(4): 308-317.
- [30] 徐刚. 根癌农杆菌 GV3103 介导的马铃薯遗传转化体系的建立及 FtsZ1 基因表达研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- [31] 李晶. 马铃薯再生体系的建立及遗传转化的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003.
- [32] PARK Y D, RONIS D H, BOE A A, et al. Plant regeneration from leaf tissues of four North Dakota genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. American potato journal, 1995, 72(6): 329-338.
- [33] 王清, 王蒂, 戴朝曦, 等. 奈乙酸 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, 12(4): 304-307.
- [34] 司怀军, 王蒂, 戴朝曦, 等. 我国马铃薯组织和细胞培养研究进展[J]. 中国马铃薯, 2000, 14(4): 200-224.
- [35] 张耀辉, 尹江, 马恢, 等. 马铃薯耐盐碱愈伤组织筛选及分化研究[J]. 中国马铃薯, 2005, 19(5): 273-275.
- [36] 王清. 用组织培养法进行马铃薯体细胞染色体的加倍[J]. 甘肃农业大学学报, 1996, 31(2): 155-159.
- [37] 方贯娜, 庞淑敏. 马铃薯愈伤组织再生体系的研究进展[J]. 中国马铃薯, 2012, 26(5): 307-310.
- [38] OOMS G, KARP A, ROBERTS J. From tumour to tuber; tumour cell characteristics and chromosome numbers of crown gall-derived tetraploid potato plants (*Solanum tuberosum* cv. 'Maris Bard') [J]. Theor Appl Genet, 1983, 66(2): 169-172.
- [39] TAVAZZA R, TAVAZZA M, ORDAS R J. Genetic transformation of potato (*Solanum tuberosum*): An efficient method to obtain transgenic plants[J]. Plant Sci, 1988, 59: 175-181.
- [40] HEERES P, SCHIPPERS-ROZENBOOM M, JACOBSEN E, et al. Transformation of a large number of potato varieties; Genotype-dependent variation in efficiency and somaclonal variability[J]. Euphytica, 2002, 124(1): 13-22.
- [41] 张建全, 张金文. 反义 AcInV 基因转化马铃薯方法的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2002, 37(2): 127-138.
- [42] 赵文峰, 杨清. 农杆菌介导 MSI-99 基因转化马铃薯及植株再生研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2004.
- [43] 巩慧玲, 王蒂. 马铃薯遗传转化影响因素的探讨[J]. 中国马铃薯, 2003, 17(5): 284-286.
- [44] 贾笑英, 路平, 王蒂. 农杆菌介导的马铃薯茎段遗传转化体系优化研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(7): 79-81.
- [45] 辛翠花, 郭江波, 黄三文, 等. 马铃薯的 Desiree 遗传转化体系的优化及转基因植株的获得[J]. 中国蔬菜, 2011(6): 15-21.
- [46] CHONG D K X, WILLIAM L. Expression of full-length bioactive antimicrobial human lactoferrin in potato plants[J]. Transgenic research, 2000, 9(1): 71-78.
- [47] PAL A K, ACHARYA K, AHUJA P S. Endogenous auxin level is a critical determinant for in vitro adventitious shoot regeneration in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Journal of plant biochemistry and biotechnology, 2012, 21(2): 205-212.

2.4 产量及其构成因素 在参试品种产量构成因素中,参试品种穗粒数为 101.8 ~ 187.9 粒,W030 穗型最大,穗型较小的品种有苏垦 118、淮稻 5 号;结实率方面,常梗 12-9 最低(83.3%),其他 13 个品种均高于 90.0%,南梗 9108 最高(97.5%),淮稻 5 号结实率也较高(97.2%);参试品种千粒

重为 25.6 ~ 31.3 g,千粒重较高的品种有扬梗 805、武运梗 24 号,淮稻 18 号、南梗 52 千粒重较低;参试品种理论产量为 9 499.5 ~ 12 831.0 kg/hm²,W030 和盐梗 13 号理论产量较高,其中理论产量最高的品种为 W030,苏垦 118 理论产量最低(表 4)。

表 4 参试品种产量及其构成因素

Table 4 The yield and yield components of testing varieties

序号 No.	品种 Variety	穗粒数 Grain number per spike//粒	结实率 Setting rate//%	千粒重 1 000-grain weight//g	理论产量 Theoretical yield//kg/hm ²
1	扬梗 805	117.3	96.0	31.3	11 352.0
2	淮稻 5 号	113.2	97.2	29.0	10 006.5
3	武运梗 24 号	134.4	94.9	30.9	12 130.5
4	南梗 49	131.1	90.1	29.4	11 568.0
5	南梗 52	142.6	92.3	26.4	11 410.5
6	南梗 9108	136.7	97.5	28.6	12 171.0
7	宁 3844	126.1	92.3	27.9	11 235.0
8	淮稻 18 号	142.7	94.5	25.6	10 257.0
9	南梗 0212	126.4	96.7	29.4	11 353.5
10	W030	187.9	90.1	27.5	12 831.0
11	苏垦 118	101.8	96.0	27.2	9 499.5
12	常梗 12-9	154.2	83.3	28.1	12 399.0
13	苏梗 815	128.9	95.6	28.0	11 016.0
14	盐梗 13 号	123.5	95.0	28.2	12 435.0

3 结论

参试的 14 个品种中,其产量、综合性状有一定的差异。其中盐梗 13 号、苏垦 118 株型紧凑,群体受光条件好,分蘖能力较强,穗数较多;扬梗 805 和武运梗 24 号的千粒重较高;W030 和盐梗 13 号理论产量较高,其他品种理论产量一般。综合各品种生育期表现以及产量构成因素可知,邗江区可进一步示范种植 W030、扬梗 805、盐梗 13 号这 3 个品种,继续推广种植南梗 9108 和武运梗 24 号。

参考文献

[1] 张洪熙,张祖建,王才林,等. 江苏不同成熟期梗稻品种的齐穗期和安全

播期预测[J]. 作物学报,2013,39(8):1416-1424.

- [2] 毕如江,唐桂林,刘本贵,等. 沿淮地区一季中稻机插秧密度试验[J]. 现代农业科技,2013(23):34-36.
- [3] 吴建平,邢丹英,高剑华,等. 不同播期·密度·施肥量·水分对早稻生长发育的影响[J]. 安徽农业科学,2009,37(26):12445-12446,12472.
- [4] 杜永. 黄淮地区稻麦周年超高产群体特征与调控技术的研究[D]. 扬州:扬州大学,2007.
- [5] 王龙俊,蒋小忠,吴中华,等. 江苏省粳稻—小麦周年高产高效栽培技术研究[J]. 耕作与栽培,2013(5):1-6,10.
- [6] 池巧燕,薛世芳,池善聚,等. 稻麦周年高产栽培技术[J]. 现代农业科技,2013(16):43.

(上接第 32 页)

- [48] 王梓全,卢翠华,邸宏,等. 马铃薯花药培养再生植株的诱导与鉴定[J]. 东北农业大学学报,2008,39(8):10-14.
- [49] HEMAVATHI,UPADHYAYA C P,AKULA N, et al. Enhanced ascorbic acid accumulation in transgenic potato confers tolerance to various abiotic stresses[J]. Biotechnol Lett,2010,32(2):321-330.
- [50] YEE S,STEVENS B,COLEMAN S, et al. High-efficiency regeneration *in vitro* from potato petioles with intact leaflets[J]. American journal of potato research,2001,78(2):151-157.
- [51] 熊伟,马耀华,胡碧波,等. 根癌农杆菌介导的马铃薯转化系统的优化[J]. 广西农业生物科学,2007,26(1):1-7.
- [52] 齐恩芳,张金文,王一航. 马铃薯茎段再生的植物激素配比优化[J]. 甘肃农业大学学报,2006,41(6):14-17.

- [53] 周鹤峰,邵敏,葛正龙. 根癌农杆菌介导的马铃薯茎段遗传转化条件的研究[J]. 河南农业大学学报,2008,42(3):345-349.
- [54] 王丹,朱常香,郑成超,等. 根癌农杆菌介导的马铃薯遗传转化条件的优化[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2002,33(1):23-27.
- [55] VALKOV V T,GARGANO D,MANNA C, et al. High efficiency plastid transformation in potato and regulation of transgene expression in leaves and tubers by alternative 5' and 3' regulatory sequences[J]. Transgenic Res,2011,20(1):137-151.
- [56] ZHANG J,KHAN S A,HASSE C, et al. Pest control. Full crop protection from an insect pest by expression of long double-stranded RNAs in plastids [J]. Science,2015,347(6225):991-994.
- [57] 卢翠华,邸宏,石瑛,等. 马铃薯微型薯外植体遗传转化体系的优化[J]. 作物杂志,2009,10(1):31-35.