植物营养与肥料学报 2013,19(6):1502-1509
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer doi: 10.11674/zwyf.2013.0627

钙水平对马铃薯试管薯产量、质量和生理病害的影响

杜 强[1,2], 李朝周[1,3], 秦舒浩[1,2], 张俊莲[1,2*], 白江平[1], 刘玉汇[1], 王 丽[1,3], 余 斌[1], 杨宏羽[1,2], 王 蒂[1,2*]

(1 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室,兰州 730070; 2 甘肃农业大学农学院,兰州 730070; 3 甘肃农业大学生命科学院,兰州 730070)

摘要: 利用 MS 培养液研究了不同浓度氯化钙对马铃薯试管薯的产量、质量、薯内钙含量及生理病害的影响。结果表明,MS 培养液中不添加钙时,试管薯的结薯数量、薯重及大薯率大幅度降低,没有 >100 mg 的试管薯,薯表面出现明显的黄褐色粗糙斑块,个别薯块现水浸状腐烂,腐烂率 2.21%。薯内干物质、淀粉、可溶性糖和蛋白质含量也较正常钙用量下分别降低了 36.8%、41.39%、10.7% 和 39.43%,丙二醛含量上升。4℃下贮藏 6 个月,薯皮失水皱缩严重,平均病害率达 53.77%;室温下放置 3 周,发芽率 25.53%,芽生长缓慢;MS 培养液中添加不同浓度的氯化钙,茎段结薯数和薯重随钙浓度的增加呈先增加后降低的变化趋势,大薯率和薯皮表面光泽度呈上升趋势,与正常钙水平相比,薯重增加了 2.7%~47.86%、结薯数增加了 -11.49%~22.64%、大薯率 14.43%~26.08%。薯内干物质、淀粉、可溶性糖和蛋白质含量的变化均随钙浓度的增加呈先上升后下降的趋势,并较正常钙用量下增加了 4.43%~8.62%(干物质)、6.79%~16.49%(淀粉)、3.89%~6.31%(可溶性糖)和 4.63%~8.29%(蛋白质)。薯内钙含量大幅度上升,平均值为 177~267 μg/g(最高值为 9 mmol/L 处理),薯皮光滑无水浸状腐烂。4℃下贮藏 6 个月,薯皮正常,生理病害率随薯内钙含量升高呈下降趋势,病害率为 1%~8.9%,决定系数 R^2 = 0.3812,且试管薯芽的萌发和生长能力正常。确定 MS 培养液中添加 9 mmol/L $CaCl_2$ 是"新大坪"品种试管薯数量和质量的最优处理。

关键词: 试管马铃薯; 氯化钙浓度; 产量; 质量; 生理病害

中图分类号: S143.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2013)06-1502-08

Effects of $CaCl_2$ concentrations on the yield, quality and physiological disorder of potato microtubers

DU Qiang[1,2], LI Chao-zhou[1,3], QIN Shu-hao[1,2], ZHANG Jun-lian[1,2*], BAI Jiang-ping[1], LIU Yu-hui[1], WANG Li[1,3], YU Bin[1], YANG Hong-yu[1,2], WANG Di[1,2*]

(*1 Gansu Key Laboratory of Crop Genetic & Germplasm Enhancement, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2 College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3 College of Life Sciences and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China*)

Abstract: This study determined the microtuber yield, quality, calcium content and physiological disorder of potato in response to the various concentrations of $CaCl_2$. Potato was cultivated in the liquid MS medium with various concentrations of $CaCl_2$. The MS medium with zero calcium reduces the number of microtubers, tuber weight and the percent of large tubers. With the calcium-free medium, no microtubers larger than 100 mg are found, their tuber skin is yellowish brown plaques, and some tubers exhibits water-soaked decay with decay rate being 2.21%. The dry weight, starch, soluble sugar and protein contents in the microtubers cultured in the calcium-free medium

收稿日期: 2013-01-19 **接收日期:** 2013-05-23

基金项目: 国家科技支撑计划(2012BAD06B03);农业部马铃薯产业技术体系(CARS-10-P18);甘肃省高等学校基本科研业务费专项基金(GSKYYWF-1);甘肃省科技重大专项(1102NKDA025)资助。

作者简介: 杜强(1984—),男,河北省邯郸市人,硕士研究生,主要从事马铃薯高产优质栽培生理研究。E-mail: duqiang_ff@163.com

* 通信作者 E-mail: zhangjunlian77@163.com; wangd@gsau.edu.cn

are decreased by 36.8%, 41.39%, 10.7% and 39.43%, respectively, while the malonaldehyde content is increased. After being stored for six months under 4°C, the tuber skin shows the sign of dehydration, with physiological disorder averaging 53.77%. When stored at room temperature for three weeks, the germination rate is only 25.53% with a slow growth. With the addition of calcium to the MS medium, the number of microtubers per stem and tuber weight are increased with the increase of calcium concentrations and then decreased at higher concentrations. The percent of large tubers and the tuber skin glossiness are increased with the increase of calcium concentrations. Compared to the microtubers grown in the standard MS medium, the dry matter of microtubers in the higher calcium medium is increased by 4.43%-8.62%, the starch content is increased by 6.79%-16.49%, the soluble sugar content is increased by 2.7%-47.9%, and protein concentration is increased by 4.63%-8.29%. Average tuber calcium content is increased significantly, reaching the range from 177 μg/g to 267 μg/g, and the tuber skin does not show the sign of decay. After being stored for six months under 4℃, the tuber skin is normal, and the physiological disorder rate is reduced to 1%-8.9% with the increase of calcium concentration, and the coefficient of determination is 0.3812. Calcium concentrations do not affect the germination ability and bud growth. We conclude that the addition of 9 mmol/L of $CaCl_2$ in the MS medium is the best practice for the potato cultivar 'Xindaping' to improve its yield and quality.

Key words: potato microtubers; $CaCl_2$ concentration; yield; quality; physiological disorder

钙是植物必需的营养元素,对稳定细胞膜和细胞壁结构起重要作用,并在植物生长发育和应对环境胁迫中处于中心调控地位[1]。植物体内缺钙会使其顶芽和根系顶端不发育,幼叶失绿、变形、出现弯钩状,严重时生长点坏死呈果胶状,并出现多种生理病害,如马铃薯块茎褐心病、内部褐斑病和空心病;苹果苦痘病、痘斑病和水心病;梨黑斑病和黑心病等,严重影响产品外观、内在品质和耐贮性[2-4]。但细胞质中浓度过高的游离钙,又可与磷酸盐形成沉淀,干扰与磷代谢有关的生理过程,妨碍正常信号转导,对植物的生长发育也十分不利[5]。

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是西部地区主栽的重要粮、菜、经兼用型作物,本研究所用品种"新大坪"是甘肃旱作区主栽品种,年种植面积已近4万公顷。研究发现,钙的匮缺严重影响马铃薯块茎质量,表现为块茎小,有畸形成串小块茎,块茎表面及内部维管束细胞常坏死,出现薯内褐斑病、表皮粗糙等多种生理性病害[2,6-7]。而增施钙则可显著提高马铃薯单株产量和商品率,改善贮藏期间品质[8-9]。试管薯与微型薯一样,既是脱毒种薯生产体系的重要组成部分,也是研究马铃薯块茎发育生物学和转基因育种的适宜材料。试管薯是在组培条件下,通过控制培养液成分和培养条件,诱导马铃薯离体植株腋芽顶端膨大而形成的薯块,目前鲜见钙对马铃薯试管薯形成、品质、薯内钙离子含量及生理病害影响的报道。本研究通过在MS[10]培养液中添加不同浓度氯化钙,探讨马铃薯"新大坪"品种试管薯形成对钙营养的响应,分析钙水平对试管薯质量、薯内钙离子含量和生理病害的影响,为该品种高品质试管薯的获得提供理论依据。

1　材料和方法

1.1　试验材料及繁殖

试验于2011年9月至2012年6月进行。材料为"新大坪"脱毒试管苗,由甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室提供。每20 d将带芽茎段在MS培养基上继代繁殖一次,培养温度23±2℃,光强4000 lx、光照时间16 h/d。

1.2　试验方法

1.2.1 试验处理　以不含氯化钙的MS培养液为基本培养液(含3%蔗糖,pH 5.8),设置6个钙浓度水平,即0、3、6、9、12、15 mmol/L $CaCl_2$,代号依次为C0、C3、C6、C9、C12、C15,其中3 mmol/L为MS培养液中$CaCl_2$正常用量。将具一个叶片的单芽茎段分别接入上述6种培养液中(以滤纸桥为支持物),每瓶接5段,每个处理20瓶(150 mL玻璃三角瓶),共100段,重复10次。其中3次用于产量和品质分析,7次用于薯内钙含量及生理病害分析。

1.2.2 试管薯诱导及统计　试管苗株高8～10 cm时,无菌条件下倾倒出上述培养液,替换为MS+8%蔗糖+1.5 mg/L 6-BA+0.15%活性炭+相应钙含

量的培养液,在 25 ±2℃于黑暗条件下诱导结薯 8 周。统计单瓶薯重(g/瓶)、结薯数量(个/瓶)、平均单薯重(mg)和大薯率(%)(重量 >100 mg)。

1.2.3 生理指标的测定　试管薯收获后,测定其可溶性糖含量(蒽酮比色法)、蛋白质含量(考马斯亮蓝法)、丙二醛含量(巴比妥酸法)[11]、淀粉含量(酸解法)[12]、薯内钙含量(原子吸收分光光度法)[13]。

1.2.4 生理病害统计　试管薯收获后对各处理的外观生理病害,如水浸状腐烂和表皮粗糙统计。然后部分薯块4℃条件下贮藏6个月后,统计腐烂、内部褐斑和空心等情况,获生理病害率。

生理病害率(%) = 生理病害薯个数/薯总数 ×100%

室温下再放置 3 周,统计发芽率,并观察芽的生长。

发芽率(%) = 发芽薯个数/总薯数 ×100%

1.2.5 数据处理　所获数据用 EXCEL 和 SPSS 21 分析软件进行分析,用 Duncan 新复极差法进行处理间差异的多重比较。

2 结果与分析

2.1 氯化钙浓度对马铃薯试管薯结薯数量和质量的影响

MS 培养液中 $CaCl_2$ 浓度对"新大坪"试管薯的结薯情况有极显著影响(表1)。在 C0 处理下,每瓶结薯数量、薯重及大薯率均大幅度下降,分别只有正常 MS 供钙水平(C3 处理)每瓶结薯数和薯重的 19.2% 和 4.3%,没有 >100 mg 的试管薯。此条件下试管薯表面出现明显的黄褐色粗糙斑块,个别薯块还现水浸状腐烂,腐烂率 2.21%。4℃下贮藏 6 个月,薯块腐烂率达 19.15%;室温下放置 3 周,仅 25.53% 薯块发芽(表2),且芽的生长缓慢。

提高 $CaCl_2$ 水平,茎段结薯数和薯重均随钙浓度的增加而增加,以 C9 处理最大,较 C3 处理分别增加了 22.64%(结薯数)和 47.86%(薯重),达到显著水平。进一步提高 $CaCl_2$ 水平,即钙浓度 ≥12 mmol/L 时,薯重开始下降,虽然仍比 C3 处理有所增加,但结薯数却较 C3 处理降低了 4.6%(C12)和 11.49%(C15)。在试验的钙浓度范围内,大薯率呈持续增长趋势,较 C3 处理增加了 14.43% ~ 26.08%,高钙浓度(9 ~ 15 mmol/L)薯块的表面光泽度明显优于低钙浓度(3、6 mmol/L)。4℃下贮藏 6 个月然后室温下放置 3 周,C9 处理发芽率最高,达 70.89%(表 2),可见钙水平过低与过高均不适宜。

2.2 氯化钙浓度对马铃薯试管薯干物质和淀粉含量的影响

一般马铃薯块茎干物质含量为 13.1% ~ 36.8%,淀粉含量约占干物质含量的 70% ~ 80% 左右[14],如"新大坪"块茎的干物质含量为 27.8%,淀粉含量为 20.19%[15]。"新大坪"试管薯的干物质在无钙(C0)时最低,为 10.56%,较正常 MS 钙用量(C3)下干物质含量(16.71%)下降了 36.8%。随

表1 氯化钙浓度对马铃薯试管薯结薯数量和质量的影响

Table 1 Effects of calcium concentrations on the number and quality of the potato microtubers

$CaCl_2$ 浓度 $CaCl_2$ concentration (mmol/L)	薯重 Tuber weight (g/bottle)	结薯数 Tuber number (No./bottle)	平均单薯重 Average tuber weight (mg)	大薯率 Large tuber rate (%)	光泽度 Glossiness
0	0.11 d	1.67 d	66.7 d	0 d	差 Low
3	2.57 c	8.7 bc	297 d	62.15 c	中 Medium
6	3.23 b	9.67 ab	335 c	71.12 b	较好 Relative high
9	3.80 a	10.67 a	357 a	76.58 a	好 High
12	2.90 bc	8.3 bc	348 b	77.97 a	好 High
15	2.64 c	7.7 c	344 b	78.36 a	好 High

注(Note):同列数据后不同字母表示不同处理间差异达到 5% 显著水平 Values followed by different letters in the same column are significantly different among the treatments at the 5% level.

表 2　氯化钙浓度对马铃薯试管薯 4℃下贮藏 6 个月后发芽率的影响

Table 2　Effects of $CaCl_2$ concentrations on the germination of the potato microtubers after six month storage under 4°C

$CaCl_2$ 浓度 $CaCl_2$ concentration (mmol/L)	腐烂薯数 Decay tubers (No.)	发芽薯数 Germinated tubers (No.)	贮藏薯总数 Stored micro tubes (No.)	发芽率 Germination rate (%)
0	9	12	47	25.53
3	1	70	115	60.87
6	0	85	134	63.43
9	0	112	158	70.89
12	0	67	104	64.42
15	0	54	94	57.45

着钙水平的提高，干物质含量呈先上升后下降的变化趋势，在 9 和 12 mmol/L 时达最高（18.05% 和 18.15%），与 C3 处理相比，C6、C9 和 C12 处理的干物质含量分别增加了 4.43%、8.02% 和 8.62%，（图 1）。淀粉含量的变化趋势与干物质一致，也表现为 C0 处理的淀粉含量最低，为 5.92%，C9 和 C12 处理达到最高（11.65% 和 11.77%），其中 C6、C9、C12 分别较 C3 增加了 6.79%、15.30% 和 16.49%。

2.3　氯化钙浓度对马铃薯试管薯可溶性糖含量的影响

MS 培养液中无钙（C0 处理）时，薯块中可溶性糖含量最低（0.62%），较 C3 处理显著降低了 10.7%（图 2），此条件下的淀粉含量为 5.92%，淀粉和可溶性糖比值为 9.55∶1，即无钙处理（C0）下的

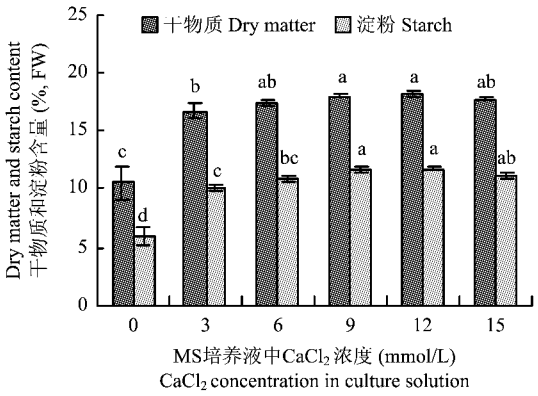

图 1　氯化钙浓度对马铃薯干物质和淀粉含量的影响

Fig. 1　Effects of $CaCl_2$ concentrations on the dry matter and the starch content of the potato microtubers

［注（Note）：图柱上不同字母表示不同处理间差异达到 5% 显著水平 Different letters above the bars mean significant differences among the treatments at the 5% level.］

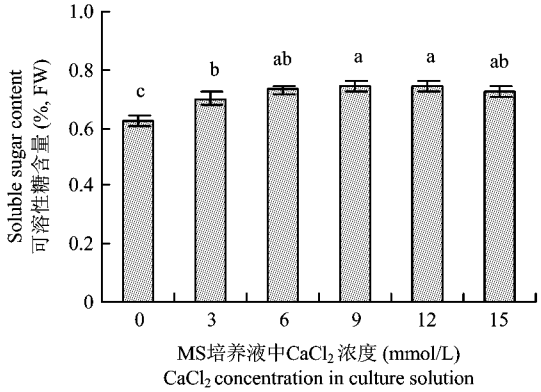

图 2　氯化钙浓度对马铃薯试管薯可溶性糖含量的影响

Fig. 2　Effects of $CaCl_2$ concentrations on the soluble sugar content of the potato micotubers

［注（Note）：图柱上不同字母表示不同处理间差异达到 5% 显著水平 Different letters above the bars mean significant differences among the treatments at the 5% level.］

试管薯淀粉与可溶性糖的比值处于较低水平。

当 MS 培养基中添加不同浓度 $CaCl_2$ 后，试管薯可溶性糖含量显著增加，其中 $CaCl_2$ 浓度为 6～15 mmol/L 处理的可溶性糖含量在 0.727%～0.744% 之间，处理间差异不显著，但较 C3 处理增加了 3.89%～6.31%。此时块茎淀粉含量在 10.79%～11.77% 间，淀粉与可溶性糖比值为 15.31～15.89∶1。说明运转至块茎中的糖分更多地被合成为淀粉。

2.4　氯化钙浓度对马铃薯试管薯蛋白质含量的影响

无钙时，试管薯蛋白质含量显著下降，较田间块茎下降了 42.79%，也较 MS 正常钙含量（C3）下降了 39.43%（图 3）。MS 培养液中添加不同浓度

$CaCl_2$ 后,蛋白质含量呈先上升后下降的变化趋势,C9 处理的蛋白质含量最高,达 1.64%,其较田间块茎的蛋白质含量增加了 2.5%,但差异不显著。此外,≥6 mmol/L 的处理,其蛋白质含量均显著高于 C3 处理,较其增加了 4.63%～8.29%。

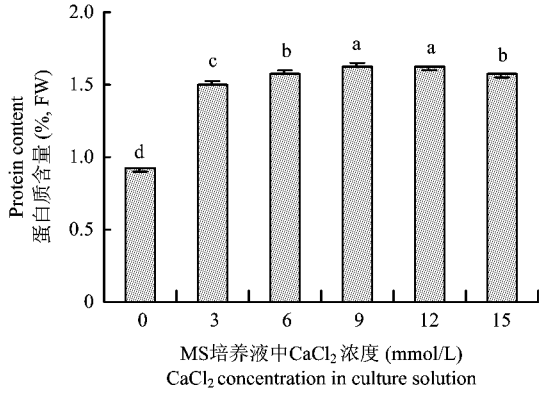

图3 氯化钙浓度对马铃薯试管薯蛋白质含量的影响

Fig.3 Effects of $CaCl_2$ concentrations on the protein content of the potato microtubers

[注(Note):图柱上不同字母表示不同处理间差异达到5%显著水平 Different letters above the bars mean significant differences among the treatments at the 5% level.]

2.5 氯化钙浓度对马铃薯试管薯钙含量及生理病害的影响

试管薯中钙含量的高低与生长环境中 $CaCl_2$ 的浓度密切相关。当 MS 培养液中无 $CaCl_2$ 时,试管薯中检测不到钙含量。MS 培养液中添加氯化钙后,试管薯中钙含量随钙浓度的增加先上升后降低,变化幅度为 162.4～276.1 μg/g,平均值达 177～267 μg/g,C6、C9、C12 和 C15 较 C3 处理分别增加了 24.86%、50.85%、45.76% 和 33.33%(图4)。

分析试管薯中钙含量与其生理病害率间的关系时发现,培养液中无添加钙时,试管薯收获时其表皮会出现黄褐色粗糙斑块,并有水浸状腐烂,腐烂率为 2.21%。4℃下贮藏 6 个月后,试管薯失水严重,薯皮严重皱缩,薯内出现褐斑和空心,并有较多腐烂,平均病害率达 53.77%,此时试管薯发芽能力低下,芽的生长缓慢。当试管薯中钙含量升高,收获后的薯皮光滑且无水浸状腐烂,4℃下贮藏 6 个月后,试管薯表皮正常,薯内褐斑和空心等生理病害的发生随钙含量的升高呈下降趋势(图5),病害率仅为 1%～8.9%。当 $n=35$,自由度为 33 时,$y=-0.0419x+14.728$,决定系数为 $R^2=0.3812$。此条件下,试管薯芽的萌发和生长能力正常。表明外源

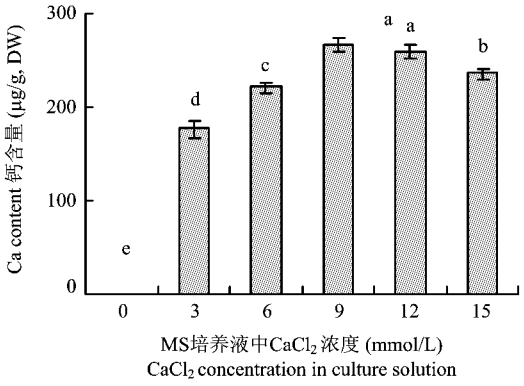

图4 氯化钙浓度对马铃薯试管薯钙含量的影响

Fig.4 Effects of $CaCl_2$ concentration on the calcium content of the potato microtubers

[注(Note):图柱上不同字母表示不同处理间差异达到5%显著水平 Different letters above the bars mean significant differences among the treatments at the 5% level.]

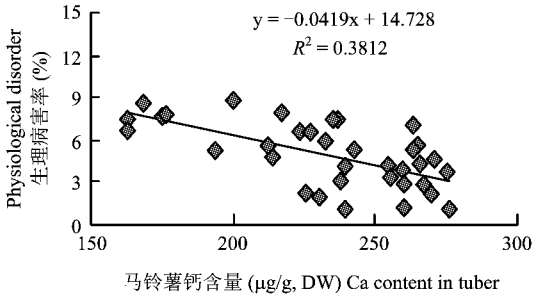

图5 马铃薯试管薯钙含量与生理病害率的相关性分析

Fig.5 Correlation between the calcium content and the physiological disorder of the potato microtubers

钙的添加显著提高了薯内钙含量,试管薯的质量也得以提高。

2.6 氯化钙浓度对马铃薯试管薯丙二醛(MDA)含量的影响

当 MS 培养液中无添加钙时,试管薯丙二醛含量大幅上升,高达 15.33 nmol/g,此时试管薯出现水浸状腐烂。表明钙的缺乏破坏了细胞膜结构,膜脂过氧化现象严重,影响到细胞的完整性,导致试管薯出现水浸状腐烂。当培养液中添加 $CaCl_2$ 后,丙二醛含量大幅下降,且随钙浓度的升高呈先下降后上升的趋势,C9 处理值最低,为 2.18 nmol/g(图6)。

3 讨论

钙对植物的生长发育有重要影响。它既是植物结构组分元素,维持细胞壁、细胞膜及膜结合蛋白

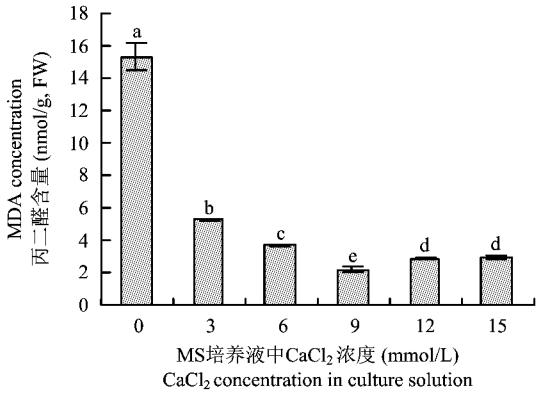

图 6　氯化钙浓度对马铃薯试管薯丙二醛含量的影响

Fig. 6　Effect of $CaCl_2$ concentrations on the MDA content of the potato microtubers

[注(Note)：图柱上不同字母表示不同处理间差异达到 5% 显著水平 Different letters above the bars mean significant differences among the treatments at the 5% level.]

的稳定性，如与果胶酸结合生成果胶酸钙固定在新生组织的细胞壁中，加固植物结构；嵌入到膜中，在磷脂的磷酸与蛋白质的羧基间形成复杂的交联结合，稳定膜结构；也是一种传导多种生理过程的胞内胞外信号分子，起第二信使作用[1, 16]。研究者发现，钙对马铃薯块茎的形成、数量和质量有显著影响。如 Ozgen 和 Palta 认为，钙的添加可以显著提高块茎重量，增加薯内含钙量(144 ～245 μg/g)，但与块茎形成数量呈负相关[17]；Balamani 等认为，块茎形成能力在 5 mmol EGTA +50 μmol A23187(钙离子载体)培养条件下受到影响，将该处理条件下生长的植株转至含有氯化钙的培养环境中，块茎形成能力恢复，且 5 ～ 10 μmol/L 的 $LaCl_3$、氯丙嗪(chlorpromazine)和三氟啦嗪(trifluoperazine)对块茎的形成起抑制作用[18]；Ginzberg 等认为，钙的缺乏可引起块茎表皮出现“Magen Russeting”现象，即表皮出现黄褐色粗糙斑块，且该现象是一种生理紊乱，钙添加后表皮黄褐斑块茎的数量显著降低，并发现黄褐斑产生的原因主要是死去的表皮细胞由于含有比较厚的木栓层，使细胞间紧密粘连在一起，在块茎发育时期始终不脱落所致[6]；辛建华等认为，外源钙浓度的升高(25，75，150，300 和 500 mg/L)可使马铃薯单株块茎数量减少，平均重量和块茎内钙浓度增加，商品率增加[8]。本研究发现，MS 培养液中无钙时，试管薯的结薯数量、薯重及大薯率均大幅度下降，没有 >100 mg 的试管薯，薯皮表面出现较多黄褐色粗糙斑块，个别薯块还现水浸状腐烂。当 MS 培养液中添加 $CaCl_2$，结薯数和薯重均随钙浓度的增加呈先增加后降低的变化趋势，薯皮表面光泽度和大薯率也与钙浓度的增加相关，其中 9 mmol/L 处理表现最优。表明适宜的钙水平对试管苗茎段腋芽的膨大、生长和试管薯的形成是有利的，可使细胞膜和细胞壁结构稳定，薯块表皮木栓化细胞及时脱落，薯皮具光泽，且无水浸状腐烂。

马铃薯块茎的重量是由水分和干物质组成的，其中水分占 63.2% ～ 86.9%，干物质占 13.1% ～ 36.8%。在干物质中，淀粉占 8% ～ 29.4%，糖占 0.1% ～ 8%，粗蛋白占 0.7% ～ 4.6%[14]。“新大坪”块茎干物质含量为 27.8%，淀粉含量为 20.19%[15]。刘喜平等认为，品种及其所处的生态环境对马铃薯块茎的干物质、还原糖和淀粉含量有显著影响，其中植株生长环境对块茎还原糖和蛋白质含量有显著影响，而干物质含量的差异多由品种特性所决定[19]；钙对块茎贮藏期间的品质有显著影响，即高浓度钙处理下的块茎其贮藏后期保护性酶活性高于低浓度钙处理和对照，淀粉酶活性低于对照；低浓度钙处理下的块茎蛋白质含量在贮藏过程中下降幅度最小，对照降幅最大[9]；宋志荣认为，N∶K_2O 比增加时，马铃薯生长发育进程推迟，健康态势降低，块茎蛋白质含量升高；N∶K_2O 比降低时，块茎干物质、淀粉、还原糖、总糖和 Vc 等含量趋向增加，但钾肥的百分比过高时，又会阻碍马铃薯生长发育，降低产量和品质[20]；王利勇认为，滴灌施黄腐酸和氨基酸使块茎淀粉、总糖、蛋白质均可显著提高，且叶面喷施硅肥在提高马铃薯产量和品质上的效果最为明显[21]；本研究发现，“新大坪”茎段的培养环境无钙时，试管薯干物质、淀粉、可溶性糖和蛋白质含量均大幅下降，分别较 MS 培养液正常钙含量(3 mmol/L)条件下降低了 36.8%、41.39%、10.7%、39.43%。当添加不同浓度 $CaCl_2$ 后，可溶性糖含量上升且在高浓度下稳定，干物质、淀粉和蛋白质含量则先上升后下降。当钙浓度在 6 ～ 15 mmol/L 时，较正常钙含量(3 mmol/L)增加 3.89% ～6.31%(可溶性糖)、4.43% ～ 8.62%(干物质)、6.79% ～ 16.49%(淀粉)和 4.63% ～ 8.29%(蛋白质)。表明添加适宜浓度的钙，可以促进植株茎叶生长，增加光合面积，从而促进同化产物合成及向薯块运输与积累，并促进块茎淀粉合成相关酶的活性，使运转至块茎中的糖分更多地被合成为淀粉，试管薯干物质含量和淀粉含量显著增加。另外，钙的添加，使钙离子参与的基因表达调控系统正常发挥，激

活目标靶蛋白基因表达,促进试管薯中蛋白质合成与积累,但钙浓度过高(15 mmol/L),会引起细胞对Ca^{2+}的胁迫响应,影响光合作用,同化产物合成受影响,且目标蛋白的合成也受阻,导致试管薯中干物质、淀粉和蛋白质积累量下降。本研究还发现,无论是MS正常钙含量处理还是更高浓度的钙处理,"新大坪"试管薯的干物质含量均显著低于田间薯块,降幅达34.71%～39.89%,表明试管薯的含水量更高,这是由于其特殊的离体培养环境所致。因此,如果用试管薯作为脱毒种薯繁殖材料时,应提供更为优良的贮藏环境,防止其生理病害和非生理病害的发生。

已有的研究表明,外源钙存在时,植物细胞能迅速生产O_2^-和H_2O_2等活性氧分子,进而启动机体内其它信号,引起一系列保护性生理反应,包括活性氧防御酶系统,抑制过氧化作用,减少自由基对膜系统的损害,保护膜的完整性[22-24],且钙的添加还可以增加薯内钙含量,降低薯内部褐斑病(internal brown spot, IBS)、表皮黄褐色粗斑、空心等生理病害[6-7, 17]。本研究发现,当MS培养液无钙时,试管薯丙二醛含量大幅上升,高达15.33 nmol/g,薯内检测不到钙含量,此时薯表皮现黄褐色粗糙斑,且有水浸状腐烂。培养液中添加$CaCl_2$后,试管薯丙二醛含量大幅下降,并随钙浓度的升高呈先下降后上升的趋势,且薯内钙含量也大幅度上升,平均值达177～267 μg/g(最高值在9 mmol/L处理),其变化幅度为162.4～276.1 μg/g。此时薯表皮正常,薯内褐斑和空心等生理病害的发生随钙含量的升高呈下降趋势,病害率仅为1%～8.9%,决定系数为$R^2=0.3812$,且试管薯芽的萌发和生长能力正常。说明钙的添加可以启动活性氧防御酶系统,降低自由基对膜脂的过氧化作用,更好地维持和稳定细胞膜结构,确保细胞结构完整和钙离子参与的生理代谢过程正常,提升试管薯品质。

植物组织离体培养所用的各类培养基(液)中,MS培养基(液)因其硝酸盐、钾离子和铵离子含量丰富,微量元素和有机成分全面而被广泛使用,也是马铃薯试管苗繁殖常用培养基(液)。研究者对该培养基(液)中的多种成分进行了改变,涉及有机成分缺失[25]、某种微量元素缺失或降低[26]、大量元素降低或添加[27-28]等,均发现不同品种所需MS培养基(液)配方存在差异。Arvin等研究了不同浓度(3、10、15、20、25 mmol/L) $CaCl_2$对"Bintie"和"Russet Burbank"品种试管薯结薯特性的影响,发现MS培养液中添加10 mmol/L钙,试管薯的结薯数量、薯鲜重、薯内磷、钾、钙含量等多项指标表现最优,且两个品种对钙水平的响应存在差异,并认为MS培养液中3 mmol/L的钙浓度不是试管薯生长的最优浓度[29]。本研究也支持这一结论,即发现"新大坪"品种试管薯的结薯数、薯重以及薯内干物质、淀粉、可溶性糖和蛋白质含量的变化均随钙浓度的增加呈先上升后下降的趋势,MS培养液中添加9 mmol/L $CaCl_2$,试管薯的数量和薯内钙含量最高、质量最优。

4 结论

MS培养液中不添加钙时,马铃薯试管薯的结薯数量、薯重和质量均较正常供钙水平(3 mmol/L)大幅下降,无大于100 mg的试管薯,并伴有生理病害(薯皮现黄褐色粗糙斑块及薯块水浸状腐烂)发生。4℃下贮藏6个月,薯皮失水皱缩严重,病害加重,发芽率低且芽生长缓慢;MS培养液中添加不同浓度氯化钙后,试管薯的结薯数、薯重及质量均随钙浓度的增加呈先增加后降低的变化趋势,薯内钙含量大幅度上升,薯皮光滑无水浸状腐烂。4℃下贮藏6个月,薯皮正常,生理病害率随薯内钙含量升高呈下降趋势,且试管薯芽的萌发和生长正常。确定MS培养液中添加9 mmol/L $CaCl_2$是"新大坪"品种试管薯数量和质量的最优处理。

参考文献:

[1] Hepler P K. Calcium, a central regulator of plant growth and development[J]. Plant Cell, 2005, 17: 2142-2155.

[2] 曹恭, 梁鸣早. 钙-平衡栽培体系中植物必需的中量元素[J]. 土壤肥料, 2003, (2): 48-49.
Cao G, Liang M Z. Calcium-the essential secondary nutrients in the balance cultivation system[J]. Soils Fert., 2003, (2): 48-49.

[3] White P J, Broadley M R. Calcium in plants[J]. Ann. Bot., 2003, 92: 487-511.

[4] 周卫, 林葆. 植物钙素营养机理研究进展[J]. 土壤学进展, 1995, 23(2): 12-17.
Zhou W, Lin B. Progresses on the plant calcium nutrient mechanism[J]. Prog. Soil Sci., 1995, 23(2): 12-17.

[5] 周卫, 汪洪. 植物钙吸收、转运及代谢的生理和分子机制[J]. 植物学通报, 2007, 24(6): 762-778.
Zou W, Wang H. The physiological and molecular mechanisms of calcium uptake, transport, and metabolism in plants[J]. Chin. Bull. Bot., 2007, 24(6): 762-778.

[6] Ginzberg I, Minz D, Faingold I *et al*. Calcium mitigated potato skin physiological disorder[J]. Am. J. Pot. Res., 2012, 89: 351-362.

[7] Ozgen S, Karlsson B H, Palta J P. Response of potato(cv Russet

Burbank) to supplemental calcium applications under field conditions: Tuber calcium, yield, and incidence of internal brown spot[J]. Am. J. Pot. Res., 2006, 83: 195-204.

[8] 辛建华，李天来，陈红波. 外源钙处理对马铃薯块茎重量和数量的影响[J]. 西北农业学报，2008，17(5)：248-251.
Xin J H, Li T L, Chen H B. Effect of calcium treatment on weight and number of potato tuber[J], Acta Agric. Bor.-Occid. Sin., 2008, 17(5): 248-251.

[9] 刘喜平，陈彦云，任晓月，等. 外源钙对马铃薯块茎贮藏期间几种酶活性及蛋白质含量的影响[J]. 江苏农业科学，2012，40(2)：62-64.
Liu X P, Chen Y Y, Ren X Y *et al*. Effect of exogenous calcium on several enzymatic activity and protein content in duration storage of potato tubers[J]. Jiangsu Agric. Sci., 2012, 40(2): 62-64.

[10] 王蒂. 细胞工程(第二版)[M]. 北京：中国农业出版社，2011. 52-59.
Wang D. Cell engineering (2nd Ed.) [M]. Beijing: China Agriculture Press. 2011. 52-59.

[11] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术(第二版)[M]. 北京：高等教育出版社，2006. 190-203.
Wang X K. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment (2nd Ed.) [M]. Beijing: Higher Education Press. 2006. 190-203.

[12] 曹建康，姜微波. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京：中国轻工业出版社，2007. 76-81.
Cao J K, Jiang W B. Experiment guidance of postharvest physilogy and biochemistry of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007. 76-81.

[13] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京：中国农业出版社，1999. 274-275.
Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis (3rd Ed.) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999. 274-275.

[14] 门福义，刘梦云. 马铃薯栽培生理[M]. 北京：中国农业出版社，1995. 86
Men F Y, Liu M Y. Culture physiology of potato[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995. 86.

[15] 安磊. 马铃薯优质新品种—新大坪[J]. 中国马铃薯，2006，20(4)：256.
An L. New high quality potato variety-Xindaping[J]. Chin. Pot. J., 2006, 20(4): 256.

[16] 马琛，乙引，张习敏，高巍. 钙离子在植物生理调节中的作用[J]. 贵州农业科学，2010，38(2)：36-41.
Ma C, Yi Y, Zhang X M, Gao W. Effect of the regulation of plant physiology on calcium ion [J]. Guizhou Agric. Sci., 2010, 38(2): 36-41

[17] Ozgen S, Palta J P. Supplemental calcium application influences potato tuber number and size[J]. Hortscience, 2004, 40(1): 102-105.

[18] Balamani V, Veluyhambi K, Poovaiah B W. Effect of calcium on tuberization in potato[J]. Plant Physiol., 1986, 80: 856-858.

[19] 刘喜平，陈彦云，任晓月，等. 不同生态条件下不同品种马铃薯还原糖、蛋白质、干物质含量研究[J]. 河南农业科学，2011，40(11)：100-103.
Liu X P, Chen Y Y, Ren X Y *et al*. Research of the content of reducing sugar, protein and dry matter of four potato varieties under different ecological environment[J]. J. Henan Agric. Sci., 2011, 40(11): 100-103.

[20] 宋志荣. 不同氮钾比例对马铃薯产量和品质的影响[J]. 中国马铃薯，2009，23(3)：155-157.
Song Z R. Effects of the ratio of N to K fertilizer on patato yield and quality[J]. Chin. Pot. J., 2009, 23(3): 155-157.

[21] 王利勇，汪强，谭金芳，等. 滴灌施肥与叶面喷施相结合供肥方式对马铃薯产量和品质的影响[J]. 江西农业学报，2012，24(5)：121-123.
Wang L Y, Wang Q, Tang J F *et al*. Influences of dripping fertilizer combined with spraying foliar manure on yield and quality of potato[J]. Acta Agric. Jiangxi, 2012, 24(5): 121-123.

[22] 任丽花，翁伯琦，方金梅. 施钙增强作物抗旱力的研究进展[J]. 亚热带农业研究，2005，1(3)：19-25.
Ren L H, Wen B Q, Fang J M. Progress about the relationship between calcium fertilizers and drought-resistance of plants[J]. Subtrop. Agric. Res., 2005, 1(3): 19-25.

[23] 王海波，黄雪梅，张昭其. 植物逆境胁迫中活性氧和钙信号的关系[J]. 北方园艺，2010，(22)：189-194.
Wang H B, Huang X M, Zhang Z Q. Relationship between reactive oxygen species and calcium signaling in plant stress[J]. Northern Hortic., 2010, (22): 189-194.

[24] 梁国庆，孙静文，周卫，王秀斌. 钙对苹果果实超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性及其基因表达的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2011，17(2)：438-444.
Liang G Q, Sun J W, Zhou W, Wang X B. Effects of calcium on activities and gene expressions of superoxide dismutase and catalase in apple (*Malus pumila* Mill.) fruits[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2011, 17(2): 438-444.

[25] 董淑英，李梅，孙静，等. 马铃薯试管苗低成本快繁方式研究[J]. 中国马铃薯，2002，16(1)：7-10.
Dong S Y, Li M, Sun J *et al*. The study on reducing the micro-propagation cost of plantlets[J]. Chin. Pot. J., 2012, 16(1): 7-10.

[26] 陈永波，赵清华，袁明山，等. 微量元素缺乏与过量对脱毒马铃薯苗生长的影响[J]. 中国马铃薯，2005，19(1)：10-12.
Chen Y B, Zhao Q H, Yuan M S *et al*. Effect of deficiency or excessiveness of microelements on growth of virus-free potato plants[J]. Chin. Pot. J., 2005, 19(1): 10-12.

[27] 赵映琴，刘玉汇，王丽，等. 低磷胁迫下马铃薯试管苗生长及生理指标变化的研究[J]. 干旱地区农业研究，2009，27(5)：183-187.
Zhao Y Q, Liu Y H, Wang L *et al*. Plantlets in vitro under low phosphorus stress[J]. Agric. Res. Arid Areas, 2009, 27(5): 183-187.

[28] 郎贤波，廉美兰，朴炫春，朴美英. 无机盐浓度对马铃薯脱毒苗微繁的影响[J]. 延边大学农学学报，2007，29(1)：1-4.
Lang X B, Lian M L, Piao X C, Piao M Y. Effects of inorganic salt on the micropropagation of virus-free potato plantlet[J]. J. Agric. Sci. Yanbian Univ., 2007, 29(1): 1-4.

[29] Arvin M J, Habib A, Donnelly D J. Effects of calcium concentrations in medium on microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Iran. J. Biotechnol., 2005, 3(3): 152-156.