

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2009)02-0068-04

蔗糖和外源激素对马铃薯脱毒试管苗的影响

申丽琼¹, 吕长文¹, 王季春^{1*}, 唐道彬¹, 李 标², 罗小敏¹

(1. 西南大学农学与生物科技学院, 重庆 北碚 400716; 2. 贵州省农业科学院, 贵州 贵阳 550006)

摘 要: 本试验以马铃薯品种大西洋脱毒试管苗为材料, 采用正交试验设计, 研究了蔗糖和外源激素(6-BA、B₉、NAA)对脱毒试管苗生长状况的影响。研究表明, 对于试管苗的不同指标, 其最优组合不尽相同。有利于株高的组合: 3%蔗糖+0.01 mg·L⁻¹ 6-BA+20 mg·L⁻¹ B₉+0.1 mg·L⁻¹ NAA; 有利于茎粗的组合: 12%蔗糖+1 mg·L⁻¹ 6-BA+20 mg·L⁻¹ B₉+0.02 mg·L⁻¹ NAA; 有利于茎节数的组合: 3%蔗糖+0.1 mg·L⁻¹ 6-BA+35 mg·L⁻¹ B₉+0.1 mg·L⁻¹ NAA; 有利于叶片数的组合: 3%蔗糖+0.1 mg·L⁻¹ 6-BA+20 mg·L⁻¹ B₉+0.02 mg·L⁻¹ NAA。

关键词: 马铃薯; 试管苗; 蔗糖; 外源激素

马铃薯试管苗的发育状况直接影响试管薯的形成和产量, 只有在诱导结薯的前一个阶段中培养出根系发达、茎秆粗壮、叶色浓绿的试管苗, 保证较高的生物量和干物质, 才有可能获得优质的试管薯^[1]。壮苗培养基研究方面, 前人主要从培养方式、碳源、水质、光周期等因素, 结合成本与效益研究了各种方法或材料的试管苗培养效果, 并取得了一定研究结果^[2-5]。而目前, 外源激素对马铃薯试管薯壮苗方面的研究还较少^[6-7], 多数研究者以MS 液体培养基培养基础苗, 但是在无菌条件下长时间保存培养马铃薯脱毒试管苗往往会导致其长势弱, 易倒伏。金顺福等^[8]报道, MS 培养基已不能满足试管苗生长的需要。因此本试验通过在壮苗培养基中加入不同浓度植物生长激素(6-BA、B₉、NAA)和蔗糖, 对马铃薯试管苗生长状况进行研究, 这对提高马铃薯试管薯产量具有重要作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验以大西洋脱毒苗为供试材料, 由西南大

学重庆市马铃薯工程技术研究中心提供。

1.2 试验方法

本试验采用 L₉(3⁴)四因素 3 水平正交组合设计进行壮苗培养, 处理因素为蔗糖(Sucrose)浓度(A)、6-BA(B)、B₉(C)和 NAA(D), 共计 9 个处理组合, 各因素的浓度水平见表 1。将培养 30 d 的脱毒试管苗剪成带 2 个叶片的茎段, 在无菌条件下接种于广口瓶中, 每瓶接种 10 个茎段, 每个处理 2 瓶, 3 次重复。置于 16 h·d⁻¹ 的长日照下, 光照强度为 1 000~1 500 lx, 温度 18~23 ℃的组培室内培养 1 个月。

表 1 壮苗培养基蔗糖与激素浓度

因素水平	蔗糖(A) (%)	6-BA(B) (mg·L ⁻¹)	B ₉ (C) (mg·L ⁻¹)	NAA(D) (mg·L ⁻¹)
1	3	0.01	5	0.02
2	6	0.10	20	0.10
3	12	1	35	0.50

1 个月后测定株高、茎粗、茎节数、叶片数。试验数据采用 OFFICE 2003、DPS 数据处理系统分析。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果与极差分析

由表 2 可知, 就脱毒试管苗的不同指标而言,

收稿日期: 2008-12-20

基金项目: 重庆市马铃薯工程技术研究中心平台建设项目(2006-2008)。

作者简介: 申丽琼(1981-), 女, 硕士, 主要从事马铃薯种薯繁育技术体系研究。

* 通讯作者: E-mail: wjchun@swu.edu.cn

其最佳组合各不相同。从株高来看, 以组合 1 的平均株高最高, 即 A1B1C1D1 表现最好, 平均株高达到了 8.15 cm, 而最差的组合 A3B3C2D1 株高仅有 1.60 cm; 同样茎粗的大小在不同组合间差别极大, 以组合 9 最好, 茎粗达 2.90 mm, 表现最差的两个

组合是 1 和 4, 平均值均为 1.20 mm; 而不同组合间的茎节数和叶片数表现基本一致, 组合 2 中茎节数和叶片数均为最多, 分别达到了 14.66 节和 16.11 片, 组合 A2B3C1D2 平均茎节数最少, 平均叶片数也最少, 分别只有 6.89 节和 5.22 片。

表 2 正交试验结果

组合	蔗糖(A) (%)	6-BA(B) (mg·L ⁻¹)	B ₉ (C) (mg·L ⁻¹)	NAA(D) (mg·L ⁻¹)	株高 (cm)	茎粗 (mm)	茎节数 (节)	叶片数 (片)
1	1	1	1	1	8.15	1.20	10.33	13.11
2	1	2	2	2	7.71	1.31	14.66	16.11
3	1	3	3	3	3.39	1.29	9.44	10.33
4	2	1	2	3	5.39	1.20	9.11	12.33
5	2	2	3	1	4.99	1.52	12.67	13.45
6	2	3	1	2	4.50	1.23	6.89	5.22
7	3	1	3	2	4.12	1.32	10.00	10.33
8	3	2	1	3	1.78	1.58	7.67	7.11
9	3	3	2	1	1.60	2.90	8.00	8.33

将各因素不同水平平均值进行正交试验的极差分析(表3)。各因素不同水平对脱毒试管苗指标的影响也各不相同, 蔗糖浓度对株高的影响最大, 其次为6-BA, 再次为 NAA, 对其影响最小的是 B₉; 同样对于茎粗而言, 各因素对其影响大小顺序为蔗糖>NAA>6-BA>B₉, 对茎节数影响的大小顺序为

6-BA>蔗糖>B₉>NAA, 对叶片数影响的大小顺序为蔗糖>6-BA>B₉>NAA。同时根据各因素不同水平间的指标均值结果, 得到对于不同指标在该试验条件的理论最优组合分别为: 株高 A1B1C2D2、茎粗 A3B3C2D1、茎节数 A1B2C3D2、叶片数 A1B2C2D1。

表 3 不同指标的极差分析结果

指标 因素	株高(cm)				茎粗(mm)				茎节数(节)				叶片数(片)			
	蔗糖 A	6-BA B	B ₉ C	NAA D	蔗糖 A	6-BA B	B ₉ C	NAA D	蔗糖 A	6-BA B	B ₉ C	NAA D	蔗糖 A	6-BA B	B ₉ C	NAA D
1	6.42	5.89	4.81	4.91	1.27	1.24	1.34	1.87	11.48	9.81	8.30	10.33	13.18	11.92	8.48	11.63
2	4.96	4.83	4.90	5.44	1.32	1.47	1.80	1.29	9.55	11.67	10.59	10.52	10.33	12.22	12.26	10.55
3	2.50	3.16	4.17	3.52	1.93	1.81	1.38	1.36	8.56	8.11	10.70	8.74	8.59	7.96	11.37	9.92
极差	3.92	2.73	0.73	1.92	0.66	0.57	0.46	0.58	2.92	3.56	2.40	1.78	4.59	4.26	3.78	1.71
最优组合	A1B1C2D2				A3B3C2D1				A1B2C3D2				A1B2C2D1			

2.2 各因素不同水平的方差分析与多重比较

方差分析表明, 就不同指标而言, 仅 B₉ 对株高和 NAA 对叶片数的影响不显著($P>0.05$), 其余各因素不同水平之间的差异均达到了显著($P<0.05$)或极显著水平($P<0.01$) (表4)。由表5的多重比较可知, 蔗糖浓度对株高的影响表现为各水平间差异

均达到极显著水平, 且随着浓度的升高, 株高显著下降, 说明低浓度蔗糖有利于试管苗生长。对于茎粗, 不同浓度间也达到极显著差异, 但以高浓度下的茎粗较大, 在蔗糖浓度为最高水平时, 茎粗达到 1.93 mm, 极显著地高于其他两个水平; 从茎节与叶片数的生长状况看, 不同浓度的蔗糖对两者的影

响基本一致, 表现为低浓度水平下茎节数与叶片数较多, 当蔗糖浓度为 3% 时, 两者平均分别达到 11.48 个茎节和 13.18 片叶, 极显著地高于其他两个高浓度水平。

表 4 各因素不同水平间方差分析结果

指标	变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
株高	蔗糖	70.45627	2	35.22814	67.73966**
	6-BA	33.94972	2	16.97486	32.64071**
	B ₉	2.87379	2	1.43689	2.76298
	NAA	17.74156	2	8.87078	17.05749**
茎粗	蔗糖	2.49783	2	1.24891	8.79311**
	6-BA	1.47414	2	0.73707	5.18942*
	B ₉	1.21703	2	0.60851	4.28431*
	NAA	1.82903	2	0.91451	6.43873**
茎节数	蔗糖	39.74143	2	19.87071	10.378**
	6-BA	56.92214	2	28.46107	14.86454**
	B ₉	33.27005	2	16.63503	8.68808**
	NAA	17.17721	2	8.58860	4.48562*
叶片数	蔗糖	96.75383	2	48.37691	17.59052**
	6-BA	101.89170	2	50.94583	18.52461**
	B ₉	70.26667	2	35.13334	12.77497**
	NAA	13.35383	2	6.67691	2.42782

同样就 6-BA 对脱毒试管苗生长状况的影响来

看, 高浓度 6-BA 不利于植株长高, 随着浓度增加, 植株变矮, 特别是浓度达到 1 mg·L⁻¹ 时, 植株极显著地低于其他两种浓度下的植株高度(表 5)。尽管如此, 茎粗却随着其浓度增加而增大, 低浓度下茎粗显著低于高浓度, 但各浓度间未达到极其显著差异, 由此可见, 在 6-BA 较低浓度时, 6-BA 浓度的增加有利于植株横向增粗而不利于纵向长高; 然而在高浓度下, 试管苗茎节数极其显著地低于低浓度下的相应指标水平, 且当其浓度为 0.1 mg·L⁻¹ 的中等水平时, 茎节数和叶片数均为最多。

就 B₉ 对试管苗生长状况的影响来看(表 5), 随着其浓度的增加, 株高变化不大, 不同浓度间差异不显著, 在茎粗方面, 以中等浓度下植株较粗, 达到 1.80 mm, 达到显著差异; 而 B₉ 对茎节数和叶片数的影响, 则表现出较高浓度下较有优势, 均极显著地高于低浓度水平的相应值。

从 NAA 对试管苗的影响看, NAA 对株高、茎粗、茎节数和叶片数的影响具有相似的效应, 即在低浓度水平下相应指标表现较好, 在株高上达到了极其显著水平, 对茎粗、茎节数和叶片数未达到极其显著差异, 由此可见浓度过高不利于脱毒试管苗综合素质的提高, 且株高和叶片数均随着 NAA 浓度的升高而下降。

表 5 脱毒试管苗在各因素不同水平间的差异比较

因素	株高 (cm)	差异显著性		茎粗 (mm)	差异显著性		茎节数 (节)	差异显著性		叶片数 (片)	差异显著性		
		5%	1%		5%	1%		5%	1%				
蔗糖	1	6.42	a	A	1.27	b	B	11.48	a	A	13.18	a	A
	2	4.96	b	B	1.32	b	B	9.55	b	B	10.33	b	B
	3	2.50	c	C	1.93	a	A	8.56	b	B	8.59	b	B
6-BA	1	5.89	a	A	1.24	b	A	9.81	b	AB	11.93	a	A
	2	4.83	b	A	1.47	ab	A	11.67	a	A	12.22	a	A
	3	3.16	c	B	1.81	a	A	8.11	c	B	7.96	b	B
B ₉	1	4.81	a	A	1.34	b	A	8.30	b	B	8.48	b	B
	2	4.90	a	A	1.80	a	A	10.59	a	A	12.26	a	A
	3	4.17	a	A	1.38	ab	A	10.70	a	A	11.37	a	A
NAA	1	4.91	a	A	1.87	a	A	10.33	ab	A	11.63	a	A
	2	5.44	a	A	1.29	b	A	10.52	a	A	10.55	a	A
	3	3.52	b	B	1.36	b	A	8.74	b	A	9.93	a	A

3 结论与讨论

蔗糖及外源激素对马铃薯试管薯壮苗效果显著, 尽管也有采用一般液体 MS 不附加任何植物生长物质进行试管苗培养的^[9], 研究表明, 低浓度(3%)蔗糖促进试管苗生长, 可能是由于蔗糖用量降低, 培养基的渗透压下降, 促进了试管苗根系发生所致, 低浓度的 B₉ 有利于脱毒试管苗株高的增加, 高浓度的 B₉ 对茎节数增加有效, 也证实了 B₉ 是马铃薯壮苗培养有效的外源调节物质^[10], NAA 则能显著增加试管苗株高、茎粗, 这与李凤云等^[11]报道的一致, 低浓度的 6-BA 则能促进茎粗增加, 有利于形成壮苗。因此, 在进行脱毒试管苗培养时, 需针对不同目的采用不同的培养基, 不能一概而论, 通过本试验得到理论上最适合大西洋试管苗生长的培养基是: 株高 A1B1C2D2、茎粗 A3B3C2D1、茎节数 A1B2C3D2、叶片数 A1B2C2D1, 但在该试验中仅有对于茎粗的实际组合与之吻合, 而与株高相应组合试验中没有, 只有 A1B1C1D1 相接近, C1 与 C2、D1 与 D2 无显著差异, 并且 A1B1C1D1 这一组合株高是最高, 与直观分析相一致; 在茎节数上, 只有 A1B2C2D2 相接近, 并且 C2 与 C3 并无显著差异, 这一组合茎节数也是最多的, 和直观分析一致; 在叶片数上, 只有 A1B2C2D2 相接近, 并且 D1 与 D2 无显著差异, 这一组合叶片数也是最多的, 和直观分析一致。

[参 考 文 献]

- [1] Pelacho A M, Mingo-Castel A M. Jasmonic acid induces tuberization of potato stolons cultured in vitro[J]. *Plant Physiol*, 1991, 97: 1253-1255.
- [2] 陈凯, 刘颖, 卢月霞. 培养基与光照强度对马铃薯脱毒试管苗组培快繁的影响[J]. *安徽农业科学*, 2005, 33(9): 16-28.
- [3] 齐恩芳, 仲乃琴, 王一航. 不同培养方式和成分对马铃薯脱毒试管苗生长的影响[J]. *中国马铃薯*, 2000, 14(1): 18-19.
- [4] Charles G, Rossignol L, Rossignol M. Environmental effects on potato plants in vitro[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1992, 139(6): 708-713.
- [5] Dobranszki J. Effect of light on in vitro tuberization of potato of pure *Solanum tuberosum* origin[J]. *Acta Agronomica Hungarica*, 1997, 45(4): 383-397.
- [6] 祝红芝, 柴岩, 刘小凤, 等. KT 与 NAA 对马铃薯组培苗生长的影响[J]. *河北农业科学*, 2000, 4(2): 7-9.
- [7] 艾辛, 夏志兰, 刘明月, 等. 植物生长调节剂对马铃薯试管苗生长和保存的影响[J]. *湖南农业大学学报*, 2005, 31(5): 14-18.
- [8] 金顺福, 姜成模. 培育健壮马铃薯试管苗试验[J]. *马铃薯杂志*, 1995, 9(3): 139-143.
- [9] 马春红, 崔四平. 不同激素浓度及抗生素对马铃薯脱毒试管苗的影响[J]. *河北农业科学*, 1999, 3(2): 8-10.
- [10] 李灿辉, 王军, 管朝旭. 离体培养条件下植物生长物质对马铃薯块茎形成的影响[J]. *马铃薯杂志*, 1998, 12(2): 67-73.
- [11] 李凤云, 韩丽颖. 外源激素对马铃薯脱毒试管苗微繁的影响[J]. *中国马铃薯*, 2002, 16(4): 214-216.

Effects of Sucrose and Exogenous Hormones on Plantlets in vitro in Potato

Shen Liqiong¹, Lu Changwen¹, Wang Jichun¹, Tang Daobin¹, Li Biao², Luo Xiaomin¹

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Beibei, Chongqing 400716, China;

2. Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang, Guizhou 550006, China)

Abstract: Effects of sucrose and exogenous hormones (6-BA, B₉ and NAA) on the growth of plantlets in vitro were studied in an orthogonal design using the cultivar Atlantic as plant materials. For various growth indexes of plantlets in vitro, the best treatment combination was different. For plant height: 3% sucrose + 0.01 mg·L⁻¹ 6-BA + 20 mg·L⁻¹ B₉ + 0.1 mg·L⁻¹ NAA; for stem diameter: 12% sucrose + 1 mg·L⁻¹ 6-BA + 20 mg·L⁻¹ B₉ + 0.02 mg·L⁻¹ NAA; for node number: 3% sucrose + 0.1 mg·L⁻¹ 6-BA + 35 mg·L⁻¹ B₉ + 0.1 mg·L⁻¹ NAA; for leaf number: 3% sucrose + 0.1 mg·L⁻¹ 6-BA + 20 mg·L⁻¹ B₉ + 0.02 mg·L⁻¹ NAA.

Key Words: potato; plantlets in vitro; sucrose; exogenous hormone