

# 马铃薯试管结薯的光周期诱导效应研究

吕长文, 王季春, 唐道彬, 盖琼辉, 吕树鸣

(西南农业大学农学与生命科学学院, 重庆 400716)

**摘要:** 以马铃薯品种米拉脱毒试管苗为材料, 采用 6 个不同的光周期处理进行试管薯诱导, 以研究光周期对马铃薯试管薯的诱导效应。研究表明: 不同暗期处理对试管薯结薯个数影响不显著, 以 8 h 和 12 h/d 暗处理产量较高; 叶绿素含量和块茎淀粉含量与暗期长短均呈负相关,  $\alpha$ -淀粉酶活性与暗期长短均呈正相关; 叶绿素含量、块茎淀粉含量与经济产量成显著的正相关。同时随着暗处理时数的延长, 薯形和薯皮色均发生了显著的变化。

**关键词:** 马铃薯; 试管薯; 光周期

**中图分类号:** S532

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-3635 (2004) 02-068-05

## 1 前言

马铃薯是重要的粮菜兼用作物, 但长期的生产种植会积累病毒而导致退化。我国早在 70 年代就利用脱毒技术, 繁殖脱毒种薯, 用于生产加以解决种薯退化的问题。但常规的脱毒繁殖微型薯, 存在生产成本低、基质难以消毒灭菌以及生产无法控制等问题, 众多学者研究利用试管薯技术, 但至今未能在生产上应用, 其根本原因是试管薯的机理和控制技术尚未完全成熟, 其中最重要的就是关于光周期的调节机理问题研究。光周期被公认是马铃薯结薯的主要诱导因子, 在该领域内已有较多的研究<sup>[1~5]</sup>。柳俊等<sup>[3]</sup>认为黑暗处理有利于匍匐茎的发生, 短日照有利于试管薯的膨大。刘梦芸等<sup>[2]</sup>研究发现, 长时间的暗处理使块茎形成显著提早, 但结薯数少, 植株茎叶生长受阻, 块茎淀粉含量降低。李灿辉等<sup>[6]</sup>也认为, 延长暗处理时间, 较高光照强度有利于试管薯形成。沈清景等<sup>[5]</sup>研究表明, 全黑暗条件对试管薯形成、结薯数量和平均鲜重具有极显著的促进作用。Koda 等<sup>[7]</sup>认为, 一定暗期对试管薯的形成有促进作用。Gopal 等<sup>[8]</sup>研究认为, 在较短光周期较低光照强度 (10 h, 6~12

$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) 对不同基因型品种的适应性较好, 能获得较多的试管薯个数和较高的产量。但众多试验的光周期处理水平较少或光照强度过大, 其最终结果均不尽人意。如何通过低光强和多水平的光周期系统研究, 进一步探讨光周期对试管结薯的诱导效应, 无论在理论上和实践上都有积极的意义。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试品种

本实验采用西南地区主推的马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 品种米拉 (Mira) 作为研究材料, 由西南农业大学薯类脱毒中心提供。

### 2.2 实验方法

利用固体 MS 培养基对试管苗进行复壮, 再利用改良后的 MS 培养基添加 5 mg/l B<sub>9</sub> 的液体培养基, 每一培养瓶中剪切同质量的 10 个双叶节茎段, 于 25±1 °C、光照时间 16 h/d、1200 lx 条件下进行壮苗培养, 待平均苗高 6~8 cm 后弃去残余壮苗培养基, 换入结薯培养基 (液体), 培养基为 MS+10%蔗糖+2 mg/l 6-BA+10 mg/l B<sub>9</sub>+1 mg/l NAA, 暗处理时间分 0、8、12、16、20、24 h/d 六个不同水平, 三次重复, 于 25±1 °C、1200 lx 条件下, 进行试管薯的结薯诱导, 6 周后收获。

### 2.3 指标测定

自转入结薯培养基始, 每隔 7 d 测一次脱毒试管苗的叶绿素含量和 T/R (块茎/茎叶鲜重) 比

收稿日期: 2004-02-20

作者简介: 吕长文 (1978-), 男, 西南农业大学农学与生命科学学院在读研究生, 从事马铃薯设施栽培和生物技术方面的研究。

值, 收获时测定每瓶结薯数、单薯重、结薯株率、经济产量、块茎淀粉含量和 $\alpha$ -淀粉酶活性。叶绿素含量、淀粉含量参考田峰等<sup>[9]</sup>方法测定, $\alpha$ -淀粉酶活性测定采用门福义等<sup>[4]</sup>的方法测定。

### 3 结果与分析

#### 3.1 光周期对植株 T/R 比值的影响

从表 1 可以看出, 在诱导的第 1 周, T/R 比值随着暗期时数的延长, 其值也越大, 表明诱导初期暗期越长, 结薯越早。随着处理周数的延长, T/R 比值逐渐增大, 至处理第 6 周 (收获时) 达到最大值, 其中以 12 h/d 暗处理为最大, 其 T/R 比值高达 1.801, 其次为 8 h/d 和 16 h/d 处理, 全黑暗 (24 h/d) 下 T/R 比值最低, 仅为 1.062。在结薯诱导的第 3 周, 除了全黑暗处理的其他的 T/R 比值均达到 1, 表明植株由茎叶生长发育为主, 转入块茎生长发育为主, 在结薯诱导 4 周后, T/R 比值增幅较小并接近最大值, 表明由于培养基营养物质消耗殆尽, 导致了试管苗的逐步衰老和光合能力的下降, 最终限制了光合干物质的积累速度和块茎的进一步膨大。对收获时的 T/R 比值作多重比较可知, 在全黑暗条件下极显著低于其余处理, 8、12 h/d 暗处理下的 T/R 比值极显著地高于其他处理下的 T/R 比值, 正与产量的相关性趋势是一致的 (见表 2)。由此可知, 光照时间过长过短对提高试管薯的 T/R 比值都是不利的, 进而将影响试管薯的产量, 不利于高产。

表 1 植株 T/R 比值的动态变化

暗期时数 (h/d)	处理周数 (W)					
	1	2	3	4	5	6
0	0.053	0.416	1.039	1.346	1.465	1.513 <sup>aC</sup>
8	0.066	0.514	1.122	1.487	1.688	1.747 <sup>aA</sup>
12	0.089	0.621	1.284	1.632	1.792	1.801 <sup>aA</sup>
16	0.092	0.543	1.080	1.384	1.550	1.584 <sup>bB</sup>
20	0.104	0.556	1.024	1.371	1.496	1.525 <sup>aC</sup>
24	0.124	0.438	0.853	0.979	1.055	1.062 <sup>dD</sup>

注: DF=5, MS=0.205, F=3088.72。

各暗处理的 T/R 比值与诱导周数均可以进行曲线模拟, 通过模拟方程可知, 在本实验采用的诱导培养条件下, 品种米拉可达到的最大 T/R 比值以及

最佳的培养周数, 确定收获时期, 以实现最大的经济效益。同时, 上述模拟方程可求得 T/R 比值为 1 的诱导时间, 在此临界期前后, 通过培养基营养物质的适当调节, 可分别改善试管苗的营养生长状况和试管薯的干物质积累所需营养条件, 以及其环境因子的分段调节, 实现生物产量的最大化, 对指导试管薯生产具有重要作用。通过对 12 h/d 暗处理 T/R 比值与诱导周数的模拟, 得到如下的相关关系曲线:  $Y=2.0795-2.1461/x$ 。其中 Y: T/R 比值, x: 成薯周数。该模型  $R^2=0.914$ , 数据回代诊断后残差总和为 -0.00001, 说明该模型是较为合理的。

#### 3.2 光周期对产量性状的影响

表 2 试管薯结薯性与产量性状

暗期 (h/d)	每瓶结薯数 (个)	结薯株率 (%)	单薯重 (mg)	经济产量 (mg·瓶 <sup>-1</sup> )	经济系数
0	12.6	100	299 <sup>bB</sup>	3767 <sup>bB</sup>	0.602
8	12.7	100	301 <sup>bB</sup>	3823 <sup>bB</sup>	0.636
12	13.0	100	319 <sup>aA</sup>	4147 <sup>aA</sup>	0.643
16	12.3	100	295 <sup>bB</sup>	3629 <sup>aC</sup>	0.613
20	12.6	100	260 <sup>aC</sup>	3276 <sup>aD</sup>	0.604
24	13.6	100	187 <sup>bD</sup>	2543 <sup>aE</sup>	0.515

注: 单薯重 DF=5, MS=6922.1, F=140.313, 经济产量 DF=5, MS=942363.2, F=1615.01。

表 2 表明, 不同暗期处理之间单粒试管苗结薯均达到 12 个以上, 其结薯率为 100%, 表明每株试管苗均有结薯, 个别试管苗单株结薯可达 2~3 个。同时表明, 不同光周期处理对单薯重、经济产量、经济系数的影响基本一致, 不同暗期处理的单薯重界于 187~319 mg 之间, 其中平均薯重在 300 mg 左右, 每瓶试管薯产量超过 3600 mg 的处理是 0、8、12 和 16 h/d 四个处理。而对于日照时数较短的处理, 平均薯重和产量都较低, 特别是全黑暗条件, 平均薯重仅 187 mg, 经济产量仅有 2543 mg/瓶。方差分析表明, 12 h/d 暗处理的产量最高, 分别达 319 mg 和 4147 mg, 极显著地高于其它处理; 24 h/d 暗处理的产量最低, 极显著地低于各暗处理以及全光照处理。由此可知, 对于米拉品种而言, 暗期并非为试管结薯所必须, 全黑暗有利于块茎的形成, 但一定长短的暗期处理对提高试管薯产量才是最重要的。

##### 3.2.2 光周期对试管薯大小与个数分布的影响

通过对不同光周期下各级试管薯个数百分比的分析表明(见表 3), 除 0 h/d 暗处理有 1.1% 的试管薯达到极大薯标准, 其余处理的单薯重均在 1 g 以下; 12 h/d 暗处理具有最高的大、中薯率和最低的小薯率, 其值分别为 16.3%、69.7% 和 14.0%, 而全黑暗下大薯率最低, 小薯率最高, 分别为 3% 和 29.3%。方差分析表明, 除 16 h/d 处理外, 12 h/d 暗处理与其余各处理的大薯率均达到极显著差异, 中薯率除与 8 h/d 暗处理有极显著差异外, 与其余各处理差异不显著, 小薯率与各处理均有极显著差异。由此表明, 12 h/d 暗处理对提高大中薯率的比例是有利的。

表 3 不同光周期下各级试管薯个数百分比

暗期时数 (h/d)	XL-W $\geq$ 1.0 g	L-1.0 g>W $\geq$ 0.5 g	M-0.5 g>W $\geq$ 1.0 g	S-0.1 g>W
0	1.1	14.8 <sup>bB</sup>	67.6 <sup>bAB</sup>	16.5 <sup>dDE</sup>
8	0	12.1 <sup>cC</sup>	61.8 <sup>cC</sup>	26.1 <sup>bB</sup>
12	0	16.3 <sup>aA</sup>	69.7 <sup>abAB</sup>	14.0 <sup>eE</sup>
16	0	15.7 <sup>aAB</sup>	67.0 <sup>bB</sup>	17.3 <sup>dD</sup>
20	0	8.5 <sup>dD</sup>	70.6 <sup>aA</sup>	20.9 <sup>cC</sup>
24	0	3.0 <sup>eE</sup>	67.7 <sup>bAB</sup>	29.3 <sup>aA</sup>

注: L DF=5, MS=79.712, F=327.584; M DF=5, MS=28.308, F=15.727; S DF=5, MS=106.349, F=85.421; 上表中 XL, L, M 和 S 分别表示极大, 大, 中和小 4 个薯块级别。

### 3.3.1 光周期对试管苗叶绿素含量的影响

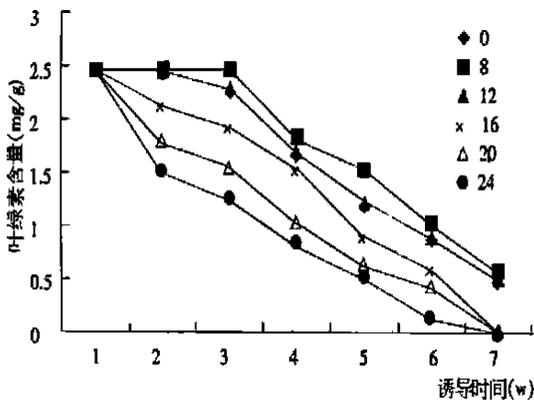


图 1 不同光周期下叶绿素含量随诱导时间的动态变化

试验结果表明, 试管苗叶片在结薯诱导开始时的叶绿素含量均为 2.45 mg/g, 收获时 0、8、12 h/d 处理的叶绿素含量在 0.5 mg/g 左右, 而其余

三个处理均为 0。整个生育期间叶绿素平均值来看, 以 8 h/d 暗处理的叶绿素含量最高(见表 4)。随着诱导时间的延长, 试管苗叶绿素含量都在不断的下降, 在整个诱导期间 0、8、12 h/d 处理的试管苗的叶绿素含量均高于相应时期其余处理的叶绿素含量(见图 1)。表 4 还表明, 叶绿素含量的下降幅度(%)在诱导初期和全诱导期均以 0、8、12 h/d 处理为最小, 由于 16、20、24 h/d 处理在诱导初期较大的叶绿素含量下降幅度(%), 导致叶片早衰, 终使收获期全无绿色叶片, 叶绿素含量为 0。方差分析表明(表 4), 0、8、12 h/d 处理的整个生育期间叶绿素含量平均值没有显著差异, 但其余处理达到极显著差异。全光照下的叶绿素含量反而低于 8 h/d 暗处理的平均含量, 这可能与实验测定误差或与其光合生理机制有关, 有待进一步证实。综上所述, 随着诱导时间的延长, 在培养基中养分被逐渐消耗的情况下, 凡暗期较短的处理和全光照处理, 试管苗叶片均具有较强的光合能力, 从而有利于试管薯的充分膨大和淀粉积累; 相反, 暗期较长的处理由于光照时间的不足或严重不足, 试管苗提早失绿、枯黄, 光合作用难以进行, 势必引起试管薯干物质积累受阻, 产量下降。

表 4 试管结薯诱导期间叶绿素含量的动态变化(%)

暗期时数 (h/d)	处理周数 (W)							平均 (mg/g)
	0	1	2	3	4	5	6	
0	100	99.3	92.4	70.4	49.1	36.6	18.9	1.906 <sup>aA</sup>
8	100	97.6	98.3	74.1	60.9	42.2	21.5	2.020 <sup>aA</sup>
12	100	99.9	98.6	72.8	51.8	40.2	14.1	1.943 <sup>aA</sup>
16	100	86.0	77.8	62.4	36.0	22.6	0	1.572 <sup>bB</sup>
20	100	71.2	60.4	41.8	27.1	16.2	0	1.294 <sup>cC</sup>
24	100	58.2	48.9	35.1	22.7	4.70	0	1.103 <sup>dD</sup>

注: DF=5, MS=0.432, F=81.773。

### 3.3.2 光周期对 $\alpha$ -淀粉酶活性及淀粉含量的影响

表 5 表明, 除 12 h/d 暗处理的淀粉含量显著高于其他处理, 高达 16.31% 外, 试管薯随着暗期的延长其淀粉含量呈下降趋势, 以全黑暗下的 13.96% 为最低; 而试管薯的 $\alpha$ -淀粉酶活性变化, 除 12 h/d 暗处理含量稍有异常外, 则具有完全相反的变化趋势, 即随着暗期时数的延长, 酶活性逐

渐升高, 在全黑暗下  $\alpha$ -淀粉酶活性达到  $1.755 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。由此说明, 不同光周期诱导下的薯块, 不仅淀粉含量有差异, 而且淀粉酶活性也有差异, 预示着欲获得高淀粉块茎, 可在较短的暗期下诱导, 由于有较低的淀粉酶活性, 又可能使其休眠期延长和休眠强度增大, 为进一步繁育后代增加了难度, 但有待实验进一步证实。

表 5 不同光周期下试管薯淀粉含量  $\alpha$ -淀粉酶活性

暗期时数 (h/d)	0	8	12	16	20	24
淀粉含量(%)	15.540	14.830	16.310	14.570	14.260	13.960
$\alpha$ -淀粉酶活性( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	1.608	1.642	1.630	1.663	1.724	1.755

### 3.4 生理指标与产量性状的相关分析

通过表 6 的相关分析可知, 试管薯生长发育其间叶片叶绿素含量与  $\alpha$ -淀粉酶活性呈显著负相关, 与经济产量和单薯重表现为极显著正相关; 试管薯中淀粉含量则与  $\alpha$ -淀粉酶活性呈显著负相关, 与经济产量和平均薯重具有显著正相关关系;  $\alpha$ -淀粉酶活性则与叶绿素和淀粉含量均呈显著负相关, 与经济产量和平均薯重呈极显著正相关; 经济产量与叶绿素含量和平均薯重呈极显著正相关, 与淀粉含量呈显著正相关, 与  $\alpha$ -淀粉酶活性呈极显著负相关; 而平均薯重与经济产量跟其他指标具有类似的相关关系, 叶绿素与淀粉含量之间相关不显著。

表 6 各生理指标与产量性状的相关分析

pearson 相关	叶绿素	淀粉	酶活性	经济产量	平均薯重	均值	标准误
叶绿素 (mg/g)	1	0.6842	-0.7511*	0.9480**	0.9452**	1.539	0.2617
淀粉 (%)	0.6842	1	-0.8255*	0.8421*	0.7694*	14.910	0.8722
酶活性 ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	-0.7511*	-0.8255*	1	-0.9083**	-0.9017**	1.670	0.0573
经济产量 (mg)	0.9480**	0.8421*	-0.9083**	1	0.9885**	3531	560.6000
平均薯重 (mg)	0.9452**	0.7694*	-0.9017**	0.9885**	1	276.800	48.0100

注: \* $\alpha=0.05$ ; \*\* $\alpha=0.01$ 。

### 3.5 光周期对试管薯形状与皮色的影响

从图 2 可以看出, 随着暗处理时间的延长, 试管薯从全光照下的长筒形逐步过渡到椭圆形, 再发展至全黑暗条件下的圆形。同时, 随着光照时间的

缩短, 试管薯的皮色也由绿皮渐变为白皮, 即随着暗处理时间的延长, 薯皮合成的叶绿素逐渐减少, 导致了不同光周期下皮色的差异。

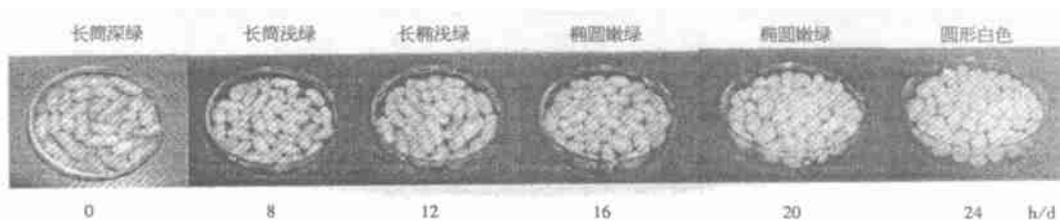


图 2 不同暗期下薯形和颜色变化

## 4 结论与讨论

以前的大多数研究证明, 长时间黑暗或全黑暗对试管薯形成有利, 而本实验对光周期的系统研究表明:

### 4.1 光周期的诱导效应问题

从结薯数与结薯株率来看, 黑暗并非是诱导马铃薯试管薯形成的必要条件, Mira 品种在全光照下也可结薯, 其产量甚至还高于全黑暗。其可能的原因是该品种本身对光暗反应不敏感, 因此, 可在今后的实验中利用感光品种进行试管薯诱导, 证实是否具有类似效应。也可能是因为该实验较低的光照

(1200 lx) 所致, 而在以往的研究中, 无论是试管苗的培养还是结薯诱导, 使用的光照强度大多在 2000—3000 lx<sup>[6,10]</sup>。是否在高光照强度下通过培养了更健壮的试管苗, 进一步在全黑暗诱导结薯仍可达到与在低光强下, 结合一定的光照时间相当的经济产量, 这与在高低两种光照强度下光合作用时间、光合效率是否存在显著差异有关。还需要进一步证实。

另外, 通过低光照强度的全日照处理, 影响了试管薯形成期间的内源激素和各生理指标的变化, 替代了暗期的诱导效应, 从而间接影响试管结薯的能力和薯产量。

#### 4.2 暗期长短与结薯

随着暗期的延长经济产量和平均薯重都明显下降, 但不是越短越有利, 以 12 h/d 暗期处理最佳。暗处理时间过长, 叶绿素含量降低, 光合作用受阻, 尽管干物质均流向块茎, 但有限的“源”限制了块茎的进一步膨大; 相反, 暗处理时间太短, 叶绿素含量高, 有利于维持较高的光合效率, 但合成的干物质不仅用于块茎中淀粉积累, 而且也促进了植株的营养生长, 从而使一部分光合产物浪费在收获器官, 试管薯产量也不能获得最高, 从 T/R 比值的大小上可以得到充分说明。本实验中以 12 h/d 暗处理块茎最大, 产量最高。

此外, 由于光照的影响, 试管薯仍具有向直立

茎生长的趋势和沉积皮下组织叶绿体和叶绿素的能力, 因此, 随着光期的缩短而形成了由长到圆的不同薯形以及从绿到白的不同薯皮色薯块。

### 参 考 文 献

- [1] 李灿辉, 龙维彪. 马铃薯块茎形成机理研究 [J]. 马铃薯杂志, 1997, 11 (3): 182—185.
- [2] 刘梦芸, 蒙美莲, 门福义, 等. 光周期对马铃薯块茎形成的影响及对激素的调节 [J]. 马铃薯杂志, 1994, 8 (4): 193—197.
- [3] 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.
- [4] 门福义, 刘梦云. 马铃薯栽培生理 [M]. 中国农业出版社, 1995.
- [5] 沈清景, 叶贻勋, 凌永胜. 马铃薯试管薯诱导因素研究 [J]. 福建农业学报, 2001, 16 (1): 54—56.
- [6] 李灿辉, 王军, 管朝旭, 等. 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—74.
- [7] Koda Y, Okazawa Y. Influences of environmental, hormonal and nutritional factors on potato tuberization *in vitro*. Jpn J Crop Sci, 1983, 52: 582—591.
- [8] Gopal J, J L Minocha, H S Dhaliwal. Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Plant Cell Report, 1998, 17 (10): 794—798.
- [9] 田丰, 李渝珍, 马占兰. 马铃薯淀粉含量测定方法的比较研究 [J]. 青海农林科技, 1997, (1): 52—54.
- [10] 王大勇, 连勇, 朱德蔚. 马铃薯离体块茎发育过程中的关键因子及其与蛋白质组分的关系 [J]. 中国农业科学, 2001, 34 (1): 19—26.

## PHOTOPERIOD INDUCING INITIATION OF POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* L) MICROTUBER *IN VITRO*

LU Chang-wen, WANG Ji-chun, TANG Dao-bing, GAI Qiong-hui, LU Shu-ming  
(College of Agronomy and Life Sciences, SWAU, Chongqing 400716, China)

**ABSTRACT:** The experiment was conducted in a design with 6 treatments and 3 replicates, using the potato cultivar Mira (*Solanum tuberosum* L.) as plant material to investigate the photoperiod influencing potato microtuberization. The findings indicated that different period of darkness did not have an effect on the tuberization number, but could have significantly resulted in different weight of microtubers by influencing photosynthesis and bio-substance distribution. The two treatments, 8h·d<sup>-1</sup> and 12 h·d<sup>-1</sup> darkness, had higher yield. There was a negative correlation of the length of darkness with chlorophyll content and microtuber starch content. There was a positive correlation of the amylase activity with darkness length, and a significantly positive correlation of economic yield with chlorophyll content and microtuber starch content. As darkness period was increased, the microtuber shape and skin color changed, varying from long, oval to round and from green, light green to white respectively.

**KEY WORDS:** potato; *in vitro* tuber; photoperiod