

# 马铃薯试管块茎形成机制的研究

## ——BA 对试管块茎形成与膨大的影响

柳俊

(湖北民族学院 445000)

谢从华 黄大恩 廖勇 吴承金

(南方马铃薯研究中心 445019)

### 摘要

试验以“米拉”脱毒苗为基础材料, 研究了在不同光照和蔗糖浓度条件下, 不同浓度 BA 以及不同时间加入 BA 对试管块茎形成与生长的影响。试验结果表明, BA 与光照条件、蔗糖浓度之间在影响块茎形成和生长过程中不存在显著的互作关系, 但三者均为块茎形成和膨大的必要条件。短日照有利于匍匐茎的发生, BA 有利于匍匐茎顶端的膨大, 蔗糖浓度与块茎大小和数量有密切关系。本文涉及的试验中, 每天光照 8 小时, 蔗糖浓度为 8%, 使用 2ppm BA 在转入短日照 8~10 天后加入对块茎的形成与膨大效果最好, 最后有效单株块茎数达 2.24 和 2.26 个。

**关键词** 马铃薯, 试管块茎, BA, 短日照, 蔗糖浓度, 匍匐茎

## 1 前言

马铃薯块茎的形成与膨大和其在生长发育过程中内源激素的产生与消长有着密切的关系。许多研究表明, 细胞分裂素能促进块茎的形成与膨大, 生长素类物质对块茎的形成亦有一定的促进作用, 而赤霉素对块茎的形成有抑制作用<sup>(1,2)</sup>。根据这一原理, 利用外源生长调节剂提高试管块茎的诱导频率一直是马铃薯研究者们探讨的重要内容。其中 BA 在试管块茎形成过程中的作用研究报道最多, 但其运用浓度、处理时间等技术至今仍未有定论<sup>(3,4)</sup>。本试验在参考已有报道

结果的基础上, 对 BA 在试管块茎形成过程中所运用的适宜浓度、加入时间及其与蔗糖浓度、光照条件之间的关系等做了较系统的研究。

## 2 材料与方法

### 2.1 试验材料

试验采用西南地区主栽品种“米拉”脱毒苗为基础材料。取每株中部 3~4 节接种试验。

### 2.2 试验内容与方法

试验一: BA 与蔗糖浓度对块茎形成的影响。BA 选用 0、2、4、6、8、10ppm6

个浓度, 蔗糖浓度选用 4%、8%、12%。完全随机区组设计, 共 18 个处理, 重复 5 次, 每重复 10 个单茎节生长苗。最后统计数据以 10 株平均数为准。基本培养基采用 MS 无机盐成分附加 2% 蔗糖的液体培养基, 已经高温灭菌处理过两次的聚乙烯泡沫作支撑物。小苗接种后在每天光照 16 小时, 温度  $21^{\circ}\text{C} \pm 1$  条件下培养 1 个月后, 再转入到每天光照 8 小时, 温度  $17^{\circ}\text{C} \pm 1$  条件下, 同时按处理浓度添加 BA 和蔗糖溶液。在此条件下诱导培养两个月即收获试管块茎, 并统计块茎数和块茎重量。

试验二: 不同试验阶段加入 BA 对试管块茎形成的影响。试验以 MS 为基本培养基附加 8% 蔗糖液体培养, 脱脂棉为支撑物。BA 浓度为 2ppm, BA 加入时间分三种处理: ①转苗时即加 BA; ②转苗后培养 1 个月转入每天光照 8 小时时加入 BA; ③转入每天光照 8 小时后第 8 天加入 BA; ④ 不加入 BA 作对照。整个试验在转苗后每天光照 16 小时,  $21^{\circ}\text{C} \pm 1$  条件下培养 1 个月, 然后转入每天光照 8 小时,  $17^{\circ}\text{C} \pm 1$  条件下培养两个月。重复次数与结果统计同试验一。

试验三: 在每天光照 8 小时和全黑暗条

表 1 不同 BA 浓度的单株块茎数和单个块茎重差异显著性

BA(ppm)	单株块茎数 (个/株)	差异显著性 $\alpha=0.05$	BA(ppm)	单个块茎重 (mg/个)	差异显著性 $\alpha=0.05$
2	1.36	a	6	114.3	a
4	1.29	ab	10	109.1	a
8	1.26	ab	0	103.9	a
10	1.23	ab	2	102.9	a
6	1.20	b	4	99.4	a
0	1.14	b	8	92.5	a
SE=0.05			SE=7.27		

### 3.2 BA 处理时间

为了确定 BA 的最佳处理时间, 首先进行了不同试验阶段加入 BA 的试验 (试验二), 结果表明 BA 加入越早其结薯时间也就越早, 转苗时即加入 BA 的处理在转苗后

件下, 不同时间加入 BA 的试管块茎形成试验。BA 浓度为 2ppm, 基础苗培养同试验二。一个月后试验分为两大组, 一组每天光照 8 小时, 一组为全黑暗处理, 温度均为  $17^{\circ}\text{C} \pm 1$ 。BA 加入时间为分组的当天、第 2、4、6、8、10、12 天 7 次, 不加 BA 为对照。重复设置与资料统计同试验一。

### 2.3 试验结果分析方法

所有试验资料均根据生物统计原理先进行方差分析, 然后视方差分析结果进行进一步差异性测验。差异显著性测验采用新复极差法。其中试验三的两组光照处理的差异显著性测验采用“两处理的样本平均数比较”(t 测验)。

## 3 试验结果

### 3.1 BA 浓度

试验一表明, BA 浓度对单株块茎数具有显著的影响, 在试验设置的 5 种浓度中, 以 2ppm 的处理单株块茎数最高 (1.36 个/株), 显著高于其它处理。试验一还显示, BA 浓度对块茎重影响很小, 各处理间差异不显著 (见表 1)。

第 12 天就开始结薯, 但许多节段褐化, 块茎从叶腋处直接长出, 基本不能形成植株。一般每一节形成一个块茎, 每个块茎较大 (122mg), 总结薯效率很低。试验二的几个处理中, 以小苗转入每天光照 8 小时以后

的第8天加入BA的处理单株块茎数最多(见表2), 这一结果在试验三中进一步得到证明。试验三采用基础苗培养1个月以后, 在转入两种光照处理的同时, 每间隔2天为一处理时间。结果表明, 第8天和第10天加入BA最好, 每天光照8小时的条件下, 第8天和第10天的处理最后单株结薯数达到2.24个和2.26个, 极显著高于其它处理, 且块茎重量与其它处理无显著差异(见表3)。

表2 不同试验阶段加入BA的单株块茎数差异显著性

处理号*	单株块茎数 (个/株)	差异显著性	
		$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
3	1.38	a	A
2	1.22	b	AB
0	1.12	bc	B
1	1.04	c	B
SE=0.043			

\* 0 不加BA; 1 转苗时即加入BA; 2 转苗1个月  
后加入BA; 3 转入短日照后第8天加入BA。

表3 转入每天8小时光照和全黑暗以后不同时间加入BA的单株块茎数差异显著性

每天光照8小时				全黑暗		
BA加入 时间	单株块茎数 (个/株)	差异显著性		BA加入 时间	单株块茎数 (个/株)	差异显著性 $\alpha=0.05$
		$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$			
第10天	2.26	a	A	第8天	1.60	a
第8天	2.24	a	A	第10天	1.44	ab
第4天	1.88	ab	AB	第12天	1.34	ab
第6天	1.84	ab	AB	第2天	1.32	ab
第2天	1.64	bc	AB	当天	1.16	ab
第12天	1.58	bc	AB	CK	1.12	b
当天	1.50	bc	B	第4天	1.02	b
CK	1.30	c	B	第6天	1.02	b

### 3.3 BA与蔗糖浓度

试验一结果表明, 蔗糖浓度对单株块茎

数和块茎重均存在明显影响, 各处理间具有显著或极显著差异(见表4)。在试验设

表4 不同蔗糖浓度的单株块茎数和单个块茎重差异显著性

蔗糖浓度 (%)	单株块茎数 (个/株)	差异显著性		蔗糖浓度 (%)	单个块茎重 (mg/个)	差异显著性 $\alpha=0.01$
		$\alpha=0.05$				
4	1.29	a		8	120	A
8	1.29	a		12	96	B
12	1.16	b		4	95	B
SE=0.032				SE=5.14		

置的三种蔗糖浓度中, 以8%蔗糖浓度处理为最好, 其单株块茎数显著高于12%处理, 与4%相同, 但平均单个块茎重达120mg, 极显著高于4%和12%两种蔗糖浓度的处理。统计分析表明, BA与蔗糖浓度间在影响试管块茎的形成和膨大过程中不存在显著的互作关系。

### 3.4 BA与光照条件

许多研究均证明短日照对试管块茎的诱

导与形成是有利的。试验三进一步证明, 虽然短日照有利于块茎的形成, 但全黑暗条件对块茎的形成是不利的。试验中每天光照8小时的处理单株块茎数显著高于全黑暗处理。在每天光照8小时条件下, 第8天加入BA的处理每株结薯2.24个, 第10天2.26个, 而全黑暗条件下的最大单株结薯数仅1.6个(见表5)。就块茎重而言, 全黑暗条件下的单个块茎平均重量为101.3mg, 显著

高于每天光照 8 小时条件下的 81.25mg。但是, 据试管块茎栽培试验的结果, 凡是大于 40mg 的试管块茎均能正常发芽生长, 所以, 每天光照 8 小时条件下形成的块茎大小

完全能够满足正常生长的需要。试验结果还显示, BA 与光照条件之间不存在显著的相互作用关系, 二者均为试管块茎形成的必要条件。

表 5 两种不同光照条件下的单株块茎数和单个块茎重差异显著性(t 测验)

BA 加入时间	单株块茎数 (个/株)		单个块茎重(mg/个)	
	每天光照 8 小时	全黑暗	每天光照 8 小时	全黑暗
第 10 天	2.26	1.44	65	110
第 8 天	2.24	1.60	64	84
第 4 天	1.88	1.02	99	88
第 6 天	1.84	1.02	99	114
第 2 天	1.64	1.32	91	124
第 12 天	1.58	1.34	84	99
当天	1.50	1.16	82	114
CK	1.30	1.12	66	78
	$\bar{x}_1 = 1.78$	$\bar{x}_2 = 1.25$	$\bar{x}_1 = 81.25$	$\bar{x}_2 = 101.38$
	$Sx_1 - \bar{x}_2 = 0.224 \quad t = 2.366^*$		$Sx_1 - \bar{x}_2 = 7.87 \quad t = 2.558^*$	

## 4 讨 论

BA 浓度和 BA 加入时间对试管块茎的形成有明显影响。试验结果表明 BA 浓度以 2ppm 为宜, 过高浓度的 BA 对试管块茎有抑制作用, 这与 1984 年 Hussey 和 Stacey<sup>(5)</sup> 所做的结果是一致的。但在我们的试验中, 在每天光照 8 小时, BA 浓度 2ppm 条件下, 单株块茎数达到了 2.26 个, 远远超过了以前所有报道的结果<sup>(4,6,7)</sup>。BA 加入时间以基础苗转入短日照条件以后第 8 天为宜, 这在试验二和试验三中的结果是一致的。BA 加入时间过早, 会抑制小苗的正常生长, 虽能提早结薯, 但结薯数少, 效率低。BA 加入时间太迟, 许多在短日照条件下已形成的匍匐茎又生长成为分枝, 而不能形成块茎, 从而亦使结薯数减少。试验显示, BA 在匍匐茎形成后是否顶端膨大成块茎起着重要的调控作用。而 BA 的这种调控作用又可能与植株体内内源激素的升降存在着联系, 这很可能是提高块茎形成频率的关键。由 BA 所引起的植物内源调控物质的

变化情况我们将在下一轮试验中作进一步研究。

BA、短日照和蔗糖浓度对试管块茎的形成均有重要的作用。但多次试验表明, 三者之间并没有显著的互作关系, 而是彼此影响着块茎形成的不同阶段。换言之, 三者在试管块茎的诱导、形成与膨大过程中分别起着重要作用。短日照对匍匐茎的产生起着关键作用, 在长日照条件下, 匍匐茎形成很少或根本不形成匍匐茎; BA 存在时, 虽可诱导匍匐茎的生成, 但效果不十分明显, 但 BA 对匍匐茎顶端膨大有促进作用, 当匍匐茎形成后没有 BA 的情况下, 匍匐茎很快长成分枝而不形成块茎或形成很少, 只有在加入 BA 后匍匐顶端膨大率显著增加, 从而提高了结薯率; 蔗糖浓度对单株有效块茎数和块茎大小影响明显。在本文所涉及的试验中, 以 8% 的蔗糖浓度为适宜, 浓度过低会降低块茎数和块茎大小, 浓度过高亦会影响块茎的形成与生长, 这一点在以前的试验中也得到证明<sup>(8)</sup>, 这可能是因为, 虽然较高的蔗糖浓度保证了块茎形成中淀粉合成所必需的碳源, 但在组培条件下, 培养基的渗透

压对培养物的良好生长亦有很大影响, 所以当蔗糖浓度过高时, 由于渗透压过大会影响营养的吸收, 从而影响块茎的形成。在我们的试验中, 蔗糖浓度超过 10% 时, 块茎的形成便受到抑制。

### 参 考 文 献

- 1 Vreugdenhil D and Struik C. An Integrated View of the Hormonal Regulation of Tuber Formation in Potato (*Solanum tuberosum*). *Physiol Plant* 1989, 75: 525~531
- 2 郭德平、Shan Ga. GA<sub>3</sub>, BA和NAA对马铃薯试管块茎形成的效应 (简报). *植物生理学通讯*, 1992, 28(3): 193~195

- 3 胡云海、蒋先明. 不同糖类和BAP对马铃薯 (*S. tuberosum*) 试管块茎的影响. *马铃薯杂志*, 1989 (4): 203~206
- 4 冉毅东、王蒂、戴朝曦. 用组培法诱导试管微型薯的研究. *马铃薯杂志*, 1991(4): 193~198
- 5 Hussey G and Stacey N J. Factors Affecting the Formation of *in vitro* Tubers of Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Annals of Botany*, 1984, 53: 565~578
- 6 胡云海、蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响. *马铃薯杂志*, 1992 (1): 14~22
- 7 王春林、程天庆. 利用试管薯快速繁殖马铃薯. *马铃薯杂志*, 1992, 6(2): 82~85
- 8 Ewing E E. Induction of Tuberrization in Potato. In: Vayda M E (Ed.) *Molecular and Cellular Biology of the Potato*. CAB. International. 1990

## RESEARCH ON THE FORMING MECHANISM OF POTATO MICROTUBERS

### —EFFECTS OF BA ON THE FORMATION AND GROWTH OF MICROTUBERS

*Liu Jun*

(Hubei National College, Enshi, Hubei 445000)

*Xie Conghua, Huang Daen, Liao Yong and Wu Chengjing*

(Southern Potato Research Centre, Enshi, Hubei 445019)

### ABSTRACT

Virus-free plantlets of potato cv. Mira produced *in vitro* were used for the experiments. The effects of BA with different concentration and supplemental time on the formation and growth of microtubers were investigated. The results showed that there was no obvious mutual correlation among BA, sugar concentration and light condition in terms of the effects on initiation and growth of microtubers, but they were individually essential for the tuber formation and tuber growth. Short day was in favour of stolon initiation while BA accelerated bulking of the stolon tips and sugar concentration was closely relevant to number and size of microtubers. The best results were observed when the cultures were transferred to 8h with the medium supplemented with 2ppm BA after 8 and 10 days in short day and 8% sucrose. The mean number of microtubers per plantlet was 2.24 and 2.26, respectively.

**KEY WORDS:** potato, microtuber, BA, short-day, sugar concentration, stolon