

## 生长调节物质、碳源和光周期对山薯试管薯形成和生长发育的影响

丰锋\*, 叶春海, 李映志, 许维飞

广东海洋大学农学院, 广东湛江 524088

**摘要:** 研究了 IBA、NAA、PP<sub>333</sub> 和 KT 这 4 种植物生长调节剂组合处理以及碳源与光周期处理对山薯试管薯形成和生长发育影响。结果表明: (1) MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>+1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT 有利于山薯试管薯的形成和生长发育(成薯指数 18.2189); (2) 蔗糖作为碳源对山薯试管薯数量的诱导效果优于白糖(每瓶试管薯增加 8.20 个); 75 g·L<sup>-1</sup> 的糖有利于山薯试管薯的形成和生长发育(成薯指数 225.5590); (3) 光照时间长短影响试管薯数量, 但对成薯指数的影响不显著。

**关键词:** 山薯试管薯; 薯的形成和生长; 生长调节物质; 碳源; 光周期

## Effects of Growth Regulators, Carbon Sources and Photoperiod on *in vitro* Formation and Growth and Development of Microtubers of *Dioscorea fordii* Prain et Burk.

FENG Feng\*, YE Chun-Hai, LI Ying-Zhi, XU Wei-Fei

College of Agriculture, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China

**Abstract:** Taking tissue-cultured plantlets of *Dioscorea fordii* as material, effects of plant growth regulators (IBA, NAA, PP<sub>333</sub> and KT), carbon sources and photoperiod on formation and growth and development of microtuber of *Dioscorea fordii* were studied. Results showed that: (1) MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>+1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT was helpful to microtuber formation and development of *Dioscorea fordii*, with the average tuber-producing-index of 18.2189. (2) Sucrose was much better than white sugar as carbon sources for inducement of tuber, the average number per bottle of tuber increased 8.20; sugar of 75 g·L<sup>-1</sup> was helpful to microtuber formation and development of *Dioscorea fordii*, with the average tuber-producing-index of 225.5590. (3) Length of illumination time influenced the number of tuber, but had no significant influence on tuber-producing-index.

**Key words:** tuber and rhizome of *Dioscorea fordii*; tuber formation and growth; growth regulators; carbon sources; photoperiod

自 Van der Zaag (1986) 提出试管微型薯概念以来, 试管薯已成为继脱毒试管苗之后保存种质和生产无毒种薯的一种新方法, 试管薯作为繁殖材料具有易保存, 运输方便, 脱毒苗形成的试管薯无病毒侵染, 利于国际间种质交换, 种植后形成的苗生长健壮等许多优点, 应是脱毒山薯的发展方向。试管薯的产生可以免去试管苗移栽的技术难度, 而且使生产节约用种成为可能。因此, 对试管薯诱导形成的研究已引起了人们的重视(郭得平和 Shan 1992; 胡云海和蒋先明 1991)。迄今薯蕷类试管薯形成的研究, 仅见与其同属植物怀山药微型块茎离体诱导(李明军等 2000) 和盾叶薯蕷试管株芽诱导(彭晓英等 2005) 的报道, 山薯试管薯的形成报道未见。本文研究植物生长调节剂组

合、碳源和光周期对山薯试管薯形成和生长发育的影响, 探索山薯试管薯形成和生长发育的最佳培养条件。

### 材料与方法

山薯(*Dioscorea fordii* Prain et Burk.) 第 5 代不定芽(株高 4~5 cm), 由广东海洋大学植物细胞工程实验室提供。实验内容有 3 个方面: (1) 生长调节物质影响实验, 试管苗分别接种到以 MS 为基本培养基, 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交设计的培养基组合中,

收稿 2007-08-27 修定 2007-09-21

资助 广东省科技厅农业攻关项目(2006B202010022) 和广东省农业厅农业科技项目(B05083)。

\* E-mail: ff1703@126.com; Tel: 0759-2362893

因素组合分别为: IBA (0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>), NAA (0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>), PP<sub>333</sub> (0.5、1.0、2.0 mg·L<sup>-1</sup>), KT (0.01、0.1、1.0 mg·L<sup>-1</sup>), 另加2% 活性炭、30 g·L<sup>-1</sup> 白糖、4.5 g·L<sup>-1</sup> 琼脂。以 MS+1 mg·L<sup>-1</sup> KT+0.02 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>+30 g·L<sup>-1</sup> 白糖+4.5 g·L<sup>-1</sup> 琼脂为对照, 每处理5瓶, 每瓶接7~10个茎段, 重复3次。培养温度为(25±1)℃, 光照强度为27~36 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 每天光照时间10 h, 以下未作说明者, 其培养条件同此。(2)碳源影响实验, 试管苗接种到以MS为基本培养基, 采用裂区试验设计的培养基组合中, 因素组合分别为: 白糖(30、45、60、75、90 g·L<sup>-1</sup>), 蔗糖(30、45、60、75、90 g·L<sup>-1</sup>)。 (3)光周期影响实验, 试管苗接种到MS+30 g·L<sup>-1</sup>白糖+4.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂+2% 活性炭的培养基中, 置于人工气候箱中培养, 光照时间分别为(8、10、12、14 h·d<sup>-1</sup>)。自然光照(不光照)为对照。所有实验每周观察1次, 培养60 d后测定和统计各处

理试管薯的总数量、总重量、长度、直径、单薯重量和成薯指数(IP)(胡云海等1991)。成薯指数(IP) =  $N(\text{个/瓶}) \times W(\text{重量/个}) \times D(\text{直径/个}) \times L(\text{长度/个})$ , 每个试验的试管薯的数量、重量和成薯指数(IP)作方差分析和F检验, 对差异显著的数据作平均值间的Duncan's多重比较。

## 结果与讨论

### 1 植物生长调节剂对试管薯形成和生长发育的影响

(1)各种处理培养40 d后开始有试管薯发生(图1-a), 以后试管薯逐渐长大(图1-b~f), 60 d后统计试管薯数量并进行极差分析的结果(表1)表明, 不同水平KT之间的极差最大, 是4种因素中影响试管薯数量的主导因子, 其次是NAA和PP<sub>333</sub>。方差分析表明, 4种植物生长调节剂中, 除不同水平IBA间和区组间差异不显著以外, NAA、PP<sub>333</sub>和KT不同水平之间差异极显著( $F_{\text{NAA}}=9.3743$ ,  $F_{\text{PP333}}=6.3612$ ,  $F_{\text{KT}}=14.9290$ ,  $F_{0.01}=\dots$ )

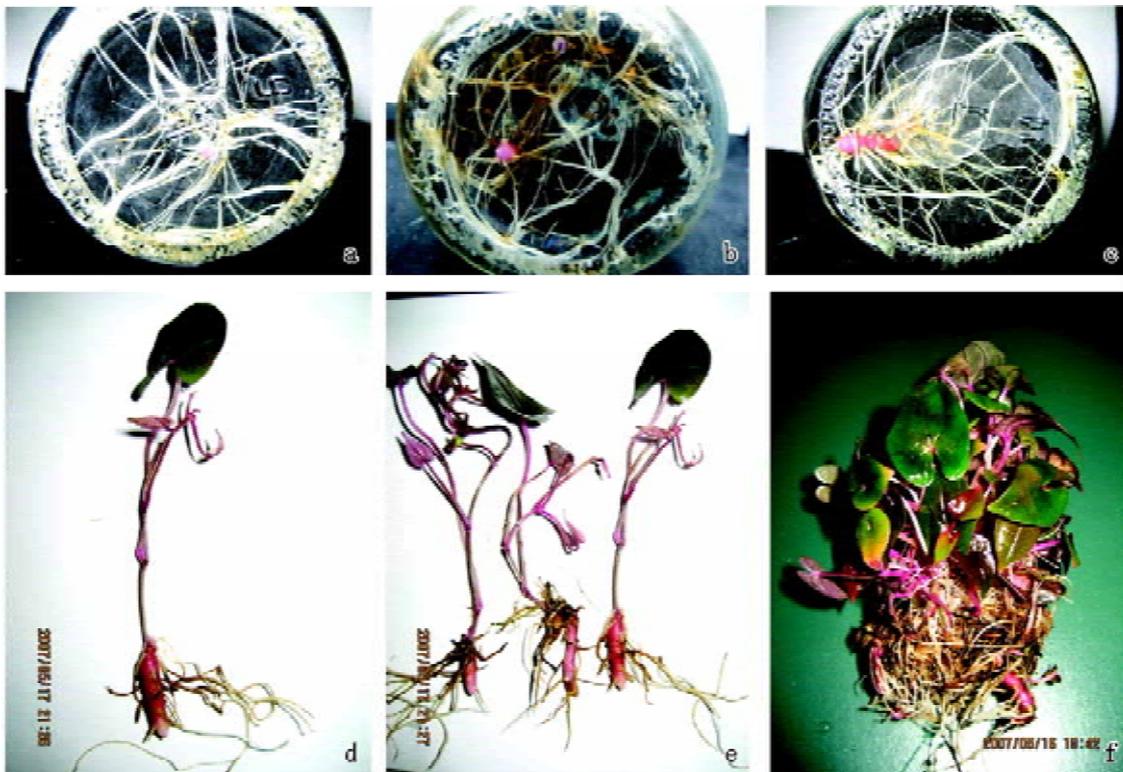


图1 山薯试管薯的生长发育进程

Fig.1 Growth and development procedure of microtuber of *D. fordii*

a: 培养40 d; b: 培养50 d; c: 培养60 d; d、e: 单株试管薯; f: 单瓶试管薯。

6.23), Duncan's 多重比较表明: 0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA 试管薯数量极显著高于 1.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA 和 2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA; 2.0 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub> 试管薯数量极显著高于 0.5 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>; 0.01 mg·L<sup>-1</sup> KT 的试管薯数量极显著低于 0.1 mg·L<sup>-1</sup> KT 和 1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT。不同处理组合之间试管薯的数量作 Duncan's 多重比较的结果(表 2)表明, MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>+1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT 有利于试管薯数量的增加。KT 与 NAA 比值高的数量多, 与 KT 及 NAA 的比值呈正相关。水平高的 PP<sub>333</sub> 也多, 较高浓度的 PP<sub>333</sub> 有利于试管薯的形成。

(2) 60 d 后称量试管薯的重量并进行极差分析的结果(表 1)表明, KT 不同水平之间极差最大, 是 4 种生长调节剂中影响试管薯总重量的主要因子, 其次是 IBA 和 NAA。Duncan's 多重比较结果

表明: 2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA 的试管薯重量显著高于 1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA 和 0.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA, 0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA 的试管薯重量显著高于 1.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA 和 2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA, 2.0 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub> 的试管薯重量显著高于 0.5 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>; 1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT 试管薯重量极显著高于 0.01 mg·L<sup>-1</sup> KT。不同处理的试管薯重量 Duncan's 多重比较的结果(表 2)表明, MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA+2.0 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>+0.1 mg·L<sup>-1</sup> KT 有利于试管薯总重量的增加。KT 与 NAA 的比值高的试管薯总重量高, 也是与 KT 和 NAA 之间比值呈正相关。

(3) 60 d 后计算成薯指数并进行极差分析的结果(表 1)表明, KT 不同水平之间极差最大, 是 4 种生长调节剂中影响试管苗成薯指数的主要因子, 其次是 IBA 和 PP<sub>333</sub>。4 种植物生长调节剂中, 除

表 1 不同浓度植物生长调节剂处理对试管薯数量和重量以及成薯指数的影响

Table 1 Effects of different concentrations of plant growth regulators on tuber number, tuber weight and tuber-producing-index

因素 水平	试管薯数量 / 个·瓶 <sup>-1</sup>				试管薯重量 / mg·瓶 <sup>-1</sup>				成薯指数			
	IBA	NAA	PP <sub>333</sub>	KT	IBA	NAA	PP <sub>333</sub>	KT	IBA	NAA	PP <sub>333</sub>	KT
T1	16.22 <sup>a</sup>	21.78 <sup>Aa</sup>	12.22 <sup>Bb</sup>	11.67 <sup>Bb</sup>	412.8556 <sup>Ab</sup>	564.4000 <sup>Aa</sup>	389.2889 <sup>Ab</sup>	333.0000 <sup>Bb</sup>	11.1850 <sup>Aa</sup>	11.7249 <sup>Aa</sup>	11.5771 <sup>Aa</sup>	9.6013 <sup>Bb</sup>
T2	16.44 <sup>a</sup>	14.22 <sup>Bb</sup>	18.11 <sup>ABa</sup>	15.00 <sup>Aa</sup>	383.3333 <sup>Ab</sup>	410.7222 <sup>Ab</sup>	410.7222 <sup>Aab</sup>	422.8667 <sup>ABb</sup>	9.6549 <sup>Aa</sup>	11.8214 <sup>Aa</sup>	11.9888 <sup>Aa</sup>	9.1805 <sup>Bb</sup>
T3	16.89 <sup>a</sup>	13.56 <sup>Bb</sup>	19.22 <sup>Aa</sup>	22.89 <sup>Aa</sup>	568.2222 <sup>Aa</sup>	389.2889 <sup>Ab</sup>	564.4000 <sup>Aa</sup>	608.5444 <sup>Aa</sup>	13.6020 <sup>Aa</sup>	10.8954 <sup>Aa</sup>	10.8761 <sup>Aa</sup>	15.6602 <sup>Aa</sup>
极差	0.67	8.22	7.00	11.22	184.8889	175.1111	170.8667	275.5444	3.9471	0.9260	1.1127	6.4797

T1、T2、T3 分别为各因素逐步递增的 3 个水平。同一列数字间不同大写字母的, 表示该性状在  $\alpha=0.01$  水平上差异极显著; 不同小写字母的, 表示该性状在  $\alpha=0.05$  水平上差异显著。下表同此。

表 2 不同浓度植物生长调节剂组合的处理对试管薯数量和重量以及成薯指数的影响

Table 2 Effects of combinations of different concentrations of plant growth regulators on tuber number, tuber weight and tuber-producing-index under

生长调节剂的浓度 / mg·L <sup>-1</sup>				试管薯数量 / 个·瓶 <sup>-1</sup>	试管薯重量 / mg·瓶 <sup>-1</sup>	成薯指数
IBA	NAA	PP <sub>333</sub>	KT			
0	0	0	0 (对照)	8.00 <sup>Cc</sup>	289.2667 <sup>Cc</sup>	7.7936 <sup>ABb</sup>
1.0	0.5	1.0	1.0	29.67 <sup>Aa</sup>	660.1667 <sup>ABa</sup>	14.5868 <sup>ABab</sup>
2.0	0.5	2.0	0.1	23.33 <sup>ABab</sup>	724.5667 <sup>Aa</sup>	11.3625 <sup>ABab</sup>
0.5	2.0	2.0	1.0	23.00 <sup>ABab</sup>	579.7667 <sup>ABab</sup>	14.1748 <sup>ABab</sup>
2.0	1.0	0.5	1.0	16.00 <sup>BChc</sup>	585.7000 <sup>ABab</sup>	18.2189 <sup>Aa</sup>
0.5	1.0	1.0	0.1	13.33 <sup>BCc</sup>	350.3333 <sup>BChc</sup>	10.1547 <sup>ABb</sup>
0.5	0.5	0.5	0.01	12.33 <sup>BCc</sup>	308.4667 <sup>BCc</sup>	9.2257 <sup>ABb</sup>
2.0	2.0	1.0	0.01	11.33 <sup>Cc</sup>	394.4000 <sup>ABChc</sup>	11.2247 <sup>ABab</sup>
1.0	1.0	2.0	0.01	11.33 <sup>Cc</sup>	296.1333 <sup>BCc</sup>	7.0911 <sup>Bb</sup>
1.0	2.0	0.5	0.1	8.33 <sup>Cc</sup>	193.7000 <sup>Cc</sup>	7.2868 <sup>Bb</sup>

不同水平 KT 之间和区组间差异极显著外, IBA、NAA 和 PP<sub>333</sub> 的差异不显著。Duncan's 多重比较表明, 1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT 的成薯指数极显著高于 0.1 mg·L<sup>-1</sup> KT 和 0.01 mg·L<sup>-1</sup> KT。不同处理的试管苗成薯指数 Duncan's 多重比较的结果(表 2)表明, MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> PP<sub>333</sub>+0.1 mg·L<sup>-1</sup> KT 的试管苗成薯指数最高。KT 水平高(1.0 mg·L<sup>-1</sup>)的组合成薯指数均是最高, 成薯指数与 KT 的浓度呈正相关。

Leopold 和 Kriedemann (1975) 的研究表明去除生长点可以刺激块茎形成, 细胞分裂素类或生长抑制剂可抑制生长, 可增加块茎形成; 胡云海和蒋先明(1992)的研究表明 1.0 mg·L<sup>-1</sup> KT 有利于马铃薯试管薯的数量和重量以及试管苗成薯指数的增加; 黄学林和李筱菊(1995)认为器官分化的倾向取决于内源细胞分裂素和生长素的平衡, 添加外源植物生长调节剂的量取决于内源激素水平。我们的研究结果与上述结果和看法大体上是一致的。

## 2 碳源对试管薯形成和生长发育的影响

(1) 60 d 后统计试管薯数量并进行方差分析的结果表明, 不同糖源种类( $F=37.917$ ,  $F_{0.05}=18.51$ )和糖浓度( $F=3.030$ ,  $F_{0.05}=3.01$ )对促进试管薯数量增加的差异显著, Duncan's 多重比较的结果表明, 蔗糖增加山薯试管薯数量的效果显著优于白糖(表 3); 75 g·L<sup>-1</sup> 的白糖有利于试管薯数量的增加, 30 g·L<sup>-1</sup> 的白糖则不利于试管薯数量的增加(表 4)。

(2) 60 d 后称量试管薯重量并进行方差分析的结果表明, 糖源种类对山薯试管薯重量的影响差异不显著(表 3), 而不同浓度白糖( $F=6.508$ ,  $F_{0.01}=4.77$ )对试管薯重量的影响差异极显著(表 4), 糖源和糖浓度间的交互作用( $F=4.146$ ,  $F_{0.05}=2.85$ )差异显著。Duncan's 多重比较表明, 90 g·L<sup>-1</sup> 白糖的

表 3 白糖和蔗糖对试管薯数量和重量以及成薯指数的影响  
Table 3 Effects of white sugar and sucrose on tuber number, tuber weight and tuber-producing-index

糖源	试管薯数量 / 个·瓶 <sup>-1</sup>	试管薯重量 / mg·瓶 <sup>-1</sup>	成薯指数
蔗糖	15.13 <sup>Aa</sup>	1465.8267 <sup>a</sup>	117.7568 <sup>a</sup>
白糖	6.93 <sup>Ab</sup>	1267.3867 <sup>a</sup>	76.0565 <sup>a</sup>

培养效果最好, 但与 75 g·L<sup>-1</sup> 白糖之间差异不显著; 30 g·L<sup>-1</sup> 白糖的培养效果最差。

(3) 60 d 后计算成薯指数并进行方差分析的结果表明, 糖源种类对试管苗成薯指数的影响差异不显著, 说明食用白糖代替蔗糖培养试管薯是可行的。不同浓度白糖对试管苗成薯指数影响的差异极显著( $F=12.926$ ,  $F_{0.01}=4.77$ ), 以 75 g·L<sup>-1</sup> 白糖为最佳(表 4)。

一般认为, 蔗糖是光合作用的主要产物, 也是植物体内碳水化合物运输的主要形式, 同时蔗糖是淀粉合成的主要前体物质, 其作用是作为碳源和维持渗透压(宁志珩等 2007)。高浓度蔗糖可诱导淀粉合成酶(GBSS)基因的表达(宋东光等 1998), 此酶是块茎膨大过程中的重要酶, 说明蔗糖不仅为试管薯膨大提供碳源, 而且可能对块茎发育过程中一些重要酶的基因表达和部分贮藏蛋白积累都有影响(宁志珩等 2007), 本文结果也证实了这些看法。

## 3 光周期对山薯试管薯形成和生长发育的影响

光照时间长短对试管薯数量的影响差异显著( $F=6.612$ ,  $F_{0.05}=3.84$ ), 但对试管薯重量和试管苗成薯指数的影响差异并不显著(表 5)。根据 Slimmon 等(1989)光照影响马铃薯试管薯形成的看法, 以及本文中较长时间的光照有利于提高试管薯数量, 而较短时间的光照有利于增加单薯长度

表 4 不同浓度白糖对试管薯数量和重量以及成薯指数的影响

Table 4 Effects of different concentrations of white sugar on tuber number, tuber weight and tuber-producing-index

白糖浓度 / g·瓶 <sup>-1</sup>	试管薯数量 / 个·瓶 <sup>-1</sup>	试管薯重量 / mg·瓶 <sup>-1</sup>	成薯指数
75	16.50 <sup>Aa</sup>	1917.0167 <sup>ABab</sup>	225.5590 <sup>Aa</sup>
90	15.00 <sup>Aab</sup>	2674.5999 <sup>Aa</sup>	125.9080 <sup>Bb</sup>
45	9.00 <sup>Aabc</sup>	827.5999 <sup>Bbc</sup>	85.8584 <sup>BCbc</sup>
60	8.17 <sup>Abc</sup>	982.6167 <sup>Bbc</sup>	36.3046 <sup>BCcd</sup>
30	6.50 <sup>Ac</sup>	431.2000 <sup>Bc</sup>	10.9033 <sup>Cd</sup>

表5 不同光照时间对试管薯数量和重量以及成薯指数的影响

Table 5 Effects of different illumination period on tuber number, tuber weight and tuber-producing-index

光照时间/h·d <sup>-1</sup>	试管薯数量/个·瓶 <sup>-1</sup>	试管薯重量/mg·瓶 <sup>-1</sup>	成薯指数
不照光	9.67 <sup>Bc</sup>	115.7967 <sup>a</sup>	11.4588 <sup>a</sup>
14	33.00 <sup>Aa</sup>	1437.1667 <sup>a</sup>	373.2429 <sup>a</sup>
12	17.33 <sup>ABbc</sup>	315.5200 <sup>a</sup>	76.0277 <sup>a</sup>
10	20.00 <sup>ABbc</sup>	447.9800 <sup>a</sup>	130.8559 <sup>a</sup>
8	22.67 <sup>ABab</sup>	788.9576 <sup>a</sup>	206.0257 <sup>a</sup>

和单薯直径的结果, 可以认为在山薯试管薯工厂化生产中, 前期可以照较长的日照, 以诱导更多的试管薯, 后期以短日照培养, 以促进试管薯的膨大, 从而提高试管薯生产的经济效益。

#### 参考文献

- 郭得平, Shan GA (1992). GA、BA 和 NAA 对马铃薯试管薯形成的效应. 植物生理学通讯, 28 (3): 193~195
- 胡云海, 蒋先明(1991). 氮源对马铃薯微型薯的影响. 马铃薯杂志, 5 (4): 199~203
- 胡云海, 蒋先明(1992). 植物激素对微型薯形成的影响. 马铃薯杂志, 6 (1): 14~22
- 黄学林, 李筱菊(1995). 高等植物组织离体培养的形态建成及其调控. 北京: 科学出版社, 85
- 李明军, 刘萍, 张嘉定(2000). 怀山药微型块茎的离体诱导. 植物生理学通讯, 36 (1): 41~42
- 宁志珩, 吕国华, 贾晓鹰(2007). 脱毒马铃薯试管薯诱导技术探索. 中国马铃薯, 21 (1): 33~38
- 彭晓英, 周朴华, 张良波(2005). 盾叶薯蓣试管株芽的诱导. 热带亚热带植物学报, 13 (4): 319~323
- 宋东光, 黄大庆, 王光清(1998). 不同长度马铃薯 GBSS 基因启动子的块茎专一性表达的初报. 复旦学报(自然科学版), 37 (4): 559~563
- Leopold AC, Kriedemann PE (1975). Plant Growth and Development. New York: McGraw-Hill Book Co., 305~336
- Slimmon T, Machado V, Coffin R (1989). The effect of light on *in vitro* microtuberization of potato cultivars. Am Potato J, 66: 843~847
- Van der Zaag DE (1986). The potential demand for seed potatoes: a world perspective. Potato Res, 29 (4): 541~548