

# 马铃薯试管薯形成过程中几种内源激素的变化

连 勇 邹 颖\* 东惠茹 金黎平 林 桓

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘 要:** 以马铃薯早熟品种‘费乌瑞它’脱毒试管苗为材料, 在试管薯形成过程中, 研究其  $GA_3$ 、IAA、6- 吡啶氨基嘌呤 (KT)、6- 苄氨基嘌呤 (BAP)、ABA 含量的变化。结果表明: 无论是换入试管薯诱导培养基前的试管苗, 还是试管薯诱导形成过程中的母株试管苗, 根内各种内源激素含量始终高于茎叶。随着诱导环境的改变, 以及匍匐茎、试管薯的形成和发育, 各种内源激素含量发生明显变化。转入诱导培养基后的试管苗在光照培养条件下, 茎叶内  $GA_3$ 、IAA、KT、BAP 和根内 ABA 含量均有不同程度的增加; 黑暗培养 3 d 匍匐茎形成时,  $GA_3$ 、KT、BAP 及茎叶内 IAA 含量下降; 黑暗培养 7 d 匍匐茎顶端开始膨大时, 茎叶内  $GA_3$ 、KT、BAP 含量再次增高, 而根内  $GA_3$ 、BA 含量继续下降, IAA、ABA 含量无明显变化; 黑暗培养 14 d 试管块茎基本形成时, IAA、BAP 含量缓慢上升, 根内  $GA_3$  含量下降, 茎叶  $GA_3$  含量处于相对稳定状态。

**关键词:** 马铃薯; 试管薯; 内源激素

中图分类号: S 532; Q 943 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2002) 06-0537-05

马铃薯试管薯的形成及发育, 受多种因素的制约<sup>[1]</sup>, 光强、光周期、温度、外源诱导剂、矿质营养等外源因素多是通过调节内源激素平衡起作用<sup>[2]</sup>。在众多的植物激素中  $GA_3$  在马铃薯块茎形成中起着非常重要的作用,  $GA_3$  与 IAA 的适宜配合可以促进匍匐茎的形成和生长, 同样可以肯定的是  $GA_3$  对块茎的形成有很强的抑制作用, 甚至使试管块茎不能形成<sup>[3]</sup>。目前还不能证明生长素在块茎形成中的作用, 高浓度的 IAA (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 抑制诱导插条形成块茎<sup>[4]</sup>, IAA 能促进试管薯的数量和质量的增加<sup>[5]</sup>, 但没有诱导试管薯形成的作用<sup>[6]</sup>。细胞分裂素能促进马铃薯块茎的形成, 对试管薯形成的影响呈抛物线形变化, 其作用的效应大小为 BAP (6- 苄氨基嘌呤) > KT (6- 吡啶氨基嘌呤) > ZT (玉米素)<sup>[5]</sup>。ABA 在短日照下能促进块茎的形成, 在离体条件下不能诱导块茎的形成并对 BAP 促进块茎形成有抑制作用<sup>[4]</sup>。马铃薯块茎的形成是一个极为复杂的生理过程, 从目前的研究结果来看, 用任何单一激素的作用都不能解释清楚。因此, 块茎形成和发育过程中的内源激素含量的变化及各种内源激素的相互协调, 特别是茎叶与根部内源激素的协调关系, 是长期以来研究马铃薯块茎发育机理的重点。本试验着重研究试管薯形成过程中各发育阶段母体试管苗茎叶和根内内源激素的变化, 探讨内源激素的平衡与试管薯形成和发育的关系, 为进一步阐明块茎形成机理提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 母株培养

试验材料采用早熟品种‘费乌瑞它’继代 1 年的脱毒试管苗, 去掉顶芽及基部 2 个芽的中部芽段, 每段带有 1 个芽节。将诱导试管薯的母株试管苗采用浅层液体静止培养。将带有 1 个叶片的茎段, 接在装有 30 mL 壮苗培养基的 250 mL 三角瓶中, 使之悬浮于培养基表面, 每瓶 25 个茎段。3 周后每个茎段生长成 1 株带有 5~ 6 个节的健壮试管苗, 做为诱导试管薯的母株。培养基为 MS 基本培养

收稿日期: 2001- 09- 17; 修回日期: 2002- 01- 08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39370486)

\* 现工作单位: 北京市园林局颐和园管理处。

基, 附加食用白糖 3%, pH 5.8。培养温度 (25±1)℃, 光照 16 h/d, 光强 2 000 lx。

### 1.2 试管薯诱导

将培养母株三角瓶内的壮苗换入不同处理的诱导培养基, 于 16 h/d 光照下培养 48 h, 再转入全黑暗条件诱导试管薯。诱导温度 18℃, 诱导培养基 MS+ 蔗糖 8%, pH 5.8。

### 1.3 内源激素测定

在试管薯诱导过程中, 根据培养和环境改变的时间, 以及试管苗、匍匐茎、试管薯形成和发育的时期, 分 5 次采样, 即转入诱导培养基前、转入诱导培养基后光照培养 2 d 和暗培养 3、7、14 d, 分别对母株试管苗的茎叶和根进行取样。试验 3 次重复, 每重复随机取 3 瓶试管苗, 将茎叶与根分离并分别切碎混合, 每次取鲜样质量 5 g。鲜样用 8% 甲醇研磨提取→减压 40℃, 蒸馏去甲醇→乙酸乙酯萃取→去水相→减压 40℃ 蒸馏、蒸干→溶于 1 mL 8% 甲醇待测。内源激素测定采用吴秀英等<sup>[7]</sup>报道的方法, 采用 Shimadzu SLG-6A 高压液相色谱仪, Hibar Lichtosorb RP-18 (10 μm) 250 mm 柱, Sppr 6AV 紫外监测器, 波长 254 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 茎叶与根内源激素含量的比较

从整体的测试数据中可以看到这样的趋势, 在试管苗培养时期以及试管薯形成和发育各个阶段, 试管苗根的各种内源激素含量均高于茎叶。根 GA<sub>3</sub> 的含量高于茎叶百倍或几百倍, 其它几种激素也高几倍或几十倍 (表 1)。这可能是由于离体培养过程中, 植株和试管薯形成发育所需的全部营养, 均需从培养基中获取, 根内生理代谢活动远大于茎叶造成的。在试管薯诱导过程中各种激素在茎叶内含量的变化, 与根内含量的变化也不尽相同, 说明随着培养环境的改变, 植株的代谢活动中心在不断地变化, 试管薯形成和发育的不同阶段所需的激素种类和数量不同。

表 1 不同诱导时期马铃薯试管苗茎叶与根内源激素含量  
Table 1 Endogenous phytohormones content in plantlets (μg/g FM)

茎叶或根 Shoot or root	激素 Phytohormones	时期 Stage				
		1	2	3	4	5
茎叶 Shoot	GA <sub>3</sub>	33.86	94.80	40.85	143.34	138.70
	IAA	18.13	22.64	10.20	9.66	14.54
	KT	8.26	90.60	10.22	107.10	52.04
	BAP	0.24	5.39	0.53	4.71	11.34
	ABA	2.45	2.43	1.48	2.89	2.93
根 Root	GA <sub>3</sub>	1950.40	5663.67	4270.56	4020.36	1398.04
	IAA	54.91	80.27	94.75	90.70	209.62
	KT	174.67	368.89	182.15	172.32	190.68
	BAP	75.90	159.81	66.93	4.64	126.98
	ABA	2.23	4.30			

注: 1. 转入诱导培养基前的母株试管苗; 2. 转入诱导培养基后于光照下培养 2 d; 3. 转入黑暗培养 3 d; 4. 转入黑暗培养 7 d; 5. 转入黑暗培养 14 d。  
Note: 1. the plantlets at the stage of platelet culture; 2. the plantlets after transferring to induction medium and under light conditions for 2 days; 3. the plantlets under dark conditions for 3 days; 4. the plantlets under dark conditions for 7 days; 5. the plantlets under dark conditions for 14 days.

### 2.2 不同发育阶段茎叶和根内源激素含量的变化

由表 1 可见, 在马铃薯试管薯诱导过程中, 不同诱导阶段内源激素含量不同。试管苗转入诱导培养基, 光照 16 h/d, 48 h 后基部腋芽生长点细胞开始活跃, 此时无论茎叶还是根, GA<sub>3</sub>、IAA、KT、BAP 的含量较试管苗培养阶段都有不同程度的提高, 茎叶内 ABA 的含量几乎没有变化, 根内 ABA 含量略有升高。由于培养基内蔗糖浓度的增高, 渗透压加大, 试管苗叶片呈深绿色, 下部腋芽有凸起出现。这些凸起大部分为匍匐茎生长点。由于匍匐茎的开始形成, 且于长光照条件下, 无论茎叶或根部

的合成和代谢活动都在增强, 从而促进了内源激素含量的增加。

转入黑暗第3天, 试管苗下部形成1~2根匍匐茎, 少数匍匐茎顶部开始膨大此时由于处于暗培养条件下, 母株顶部停止生长, 叶片呈绿色, 内源 $GA_3$ 、KT、BAP和茎叶内的IAA含量降低, ABA及根内的IAA含量变化不大。这种现象可能与匍匐茎基本形成, 试管薯开始膨大有关。

暗培养第7天时, 已形成的匍匐茎顶部开始膨大,  $GA_3$ 含量趋于平稳, 根内 $GA_3$ 含量继续下降。KT、IAA、BAP含量包括茎叶和根内缓慢上升, ABA及根内KT含量变化不明显。这可能与试管薯内细胞膨大和分裂有关。

暗培养第14天时, 试管块茎继续膨大, IAA、BAP含量缓慢上升, 根内 $GA_3$ 含量下降, 茎叶 $GA_3$ 含量处于稳定状态。

## 2.3 发育过程中茎叶和根各种内源激素含量的变化

2.3.1  $GA_3$  内源 $GA_3$ 在茎叶中的含量变化与根内变化明显不同, 在换入诱导培养基光照培养2d时, 达5663.67  $\mu\text{g/g FM}$ 。从内源 $GA_3$ 在整个试管薯形成和发育过程中的变化看, 茎叶内含量为升高趋势, 根内含量逐渐降低。转入黑暗培养3d后大部分植株基部已有匍匐茎形成, 茎叶中 $GA_3$ 含量随诱导培养时间的延长渐渐升高, 这与试管苗腋芽不断有新茎点(匍匐茎或侧枝)发生有关, 虽然许多新生的匍匐茎最终因植株的衰老不能形成试管薯, 但形成点分生组织将体内的 $GA_3$ 调集到匍匐茎形成点的分生组织上。从根内 $GA_3$ 含量变化可明显看出, 从试管块茎形成开始,  $GA_3$ 含量明显降低, 随着块茎的不断膨大, 核心的块茎陆续形成, 内源 $GA_3$ 含量逐渐降低。然而, 在试管薯诱导过程中根部始终是整个植株的活动中心, 因此内源 $GA_3$ 含量也一直大大高于茎叶。

2.3.2 IAA 当试管苗换入新鲜诱导培养基后, 在光照培养条件下茎叶中IAA含量略有上升, 转入黑暗培养后含量开始下降, 从黑暗培养2d, 即块茎开始形成时一直处于相对稳定的低水平, 后期略有上升。根内IAA含量始终处于缓慢上升的趋势, 后期升幅较快, 这可能与不断有新的匍匐茎和块茎形成有关。

2.3.3 KT 母株试管苗内源KT的平均含量, 特别是根内含量仅低于 $GA_3$ 的含量, 根内最高达368.89  $\mu\text{g/g FM}$ 。同样是根内含量高于茎叶内含量。在整个诱导过程内源KT含量变化很大, 转入诱导培养基后的光照培养期和暗培养7d时, 茎叶内源KT含量出现两次高峰, 黑暗培养3d时曾回到试管苗培养时期的水平。根内的内源KT含量在光照培养期达到最大值, 进入黑暗培养后又降回到原来水平并基本稳定。

2.3.4 BAP 试管苗的内源BAP含量低于KT的含量, 茎叶内BAP含量最高时也只有11.34  $\mu\text{g/g FM}$ 。在整个发育过程中, 与KT一样, 内源BAP含量的变化亦很大, 在光照培养下无论茎叶还是根内的BAP含量均有一个高峰值出现。茎叶内BAP含量的低谷出现在黑暗培养的第3天, 随后逐渐升高。根内BAP含量则从暗培养开始一直下降, 黑暗培养的第7天时达到最低点, 仅有4.64  $\mu\text{g/g FM}$ , 然后随着已形成块茎的膨大和新块茎的不断形成快速上升。

2.3.5 ABA 在试管薯诱导过程中内源ABA含量一直很少, 当试管苗转入黑暗培养后根内已测不到ABA。茎叶内ABA含量除在黑暗培养开始时, 即黑暗培养3d有一很小的低谷出现外, 基本没有太大变化。

## 3 讨论

在试管薯离体诱导过程中, 内源激素含量的变化受多种因素的影响。从本试验来看, 在离体试管薯形成过程中, 随着培养环境的改变和匍匐茎、块茎的形成发育, 无论根内还是茎叶内的各种内源激素含量的变化都是非常明显的。为分析内源激素的变化, 本试验在诱导培养基内没有加入任何外源激素, 5个采样时期各种内源激素含量的变化, 与过去我们报道的由外源诱导剂参与同期测定的内源激素含量的变化<sup>[8]</sup>基本相同, 这说明在试管薯形成和发育过程中内源激素的变化有一定规律, 外源诱导

剂对某个发育阶段内源激素含量有调节作用,但只要最终能形成块茎,则内源激素含量变化的总体趋势不变。

马铃薯试管薯的形成和发育与多种植物激素有关,外源诱导条件的作用均能在各种内源激素含量的变化中反映出来。当试管苗转入诱导培养基后,同样是 16 h/d 光照,各种内源激素含量均升高,这与诱导培养基内含有高浓度的蔗糖有关。高浓度的蔗糖 (6% ~ 10%) 是试管薯诱导过程中必不可少的条件<sup>[9]</sup>,培养基蔗糖浓度的改变促使植株基部腋芽萌动,这些新启动的生长点将来无论是形成新枝条 (继续在长日照光照条件下培养) 还是发育成匍匐茎 (转入短日照或黑暗培养),此时都可能引起各种内源激素含量增加。

在所测定的 5 种内源激素中,GA<sub>3</sub>、KT 和 BAP 的含量随着环境改变,在匍匐茎、块茎的形成和发育进程中变化较大,这与人用同类外源激素诱导试管薯的结果<sup>[2~5,10,11]</sup>一致,说明 GA<sub>3</sub> 和细胞分裂素 (主要是 BAP 和 KT) 在马铃薯块茎形成中起不可忽视的作用,通过调节内源 GA<sub>3</sub>、IAA 与细胞分裂素平衡点,可能寻求到最佳的试管薯诱导条件,当然不能排除有其它特殊物质在块茎发育中起决定性作用的可能。

GA<sub>3</sub> 的作用是促进枝条的形成和生长,芽是 GA<sub>3</sub> 合成的主要部位。在马铃薯离体培养中 GA<sub>3</sub> 与 IAA 配合能促进匍匐茎发生,试管苗转入含有 GA<sub>3</sub> 与 IAA 的培养基后第 2 天就有匍匐茎发生,且发生情况持续整个结薯期<sup>[12]</sup>,腋芽萌发后是发育成匍匐茎还是枝条,与内源 GA<sub>3</sub>、IAA 对细胞分裂素之间的平衡密切相关。本试验中试管苗转入诱导培养基光照培养 2 d 后,茎叶和根内 GA<sub>3</sub> 含量均出现峰值,形态观察也证实此时是匍匐茎发生期,说明匍匐茎的形成需要 GA<sub>3</sub> 的参加。GA<sub>3</sub> 对块茎的形成有抑制作用<sup>[4]</sup>,转入黑暗培养后试管苗根内 GA<sub>3</sub> 含量逐渐降低,这有利于块茎的形成和发育。茎叶内的 GA<sub>3</sub> 含量在黑暗培养 3 d 后的再次增加,可能是高蔗糖浓度和黑暗条件下,上部腋芽不断有新的钩状匍匐茎发生引起的。

许多试验已证实,块茎的形成需要 BAP 或 KT 的存在,但是从本试验的结果看,在形态观察有大量块茎发生的黑暗培养 3 d 时,BAP 和 KT 在茎叶及根内含量都处于低谷,随着黑暗培养时间的延长其含量增加。Jameson 和 Koda 对细胞分裂素活性测定结果表明,块茎刚开始形成时匍匐茎内细胞分裂素活性增高不大,块茎进入膨大期时活性才迅速上升,这与本试验结果相同。细胞分裂素能促进腋芽的细胞分裂和扩展,解除内源生长素对腋芽的抑制,改变植物体生理代谢,使营养向其所在部位运输<sup>[13,14]</sup>。由此可以推测,细胞分裂素对块茎形成的促进作用不在块茎形成时期,而是在匍匐茎的发育时期,换言之,它可能与新生腋芽的发育取向有关,也与新形成块茎膨大有关。

以往有关植物生长素对马铃薯块茎形成的影响的研究报道不多。在本试验中,茎叶内 IAA 含量在转入诱导培养基第 2 天光照培养阶段 (正值匍匐茎形成时期) 有一个高峰值出现,到黑暗培养 7 d 时块茎进入膨大阶段,根内的 IAA 含量开始增加。这进一步证明了先前研究外源激素对块茎形成影响的一些观点,IAA 对匍匐茎的形成和生长有促进作用<sup>[12]</sup>,在高浓度蔗糖的配合下促进块茎膨大<sup>[5]</sup>,但对试管薯的形成没有诱导作用<sup>[6]</sup>。

在自然条件下块茎形成不一定需要 ABA 参加<sup>[4]</sup>。在试管薯诱导过程中测到的内源 ABA 含量一直很少,当试管苗转入黑暗培养后已从根内检测不到 ABA,说明 ABA 可能不直接参与试管薯的形成。

## 参考文献:

- 1 哈里斯 P M. 马铃薯改良的科学基础. 北京: 农业出版社, 1984. 149~ 228
- 2 Vreugdenhil D, struik P C. An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*). *Physiol. Plant*, 1989, 75: 525~ 531
- 3 连 勇. 马铃薯试管薯诱导与应用. *马铃薯杂志*, 1995, 9 (4): 237~ 240
- 4 郭得平, 应振土, Shah G A. 植物激素与马铃薯块茎形成. *植物生理学通讯*, 1991, 27 (2): 130~ 133

5 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, 6 (1): 14~ 22

6 王 军, 王家旺. 马铃薯气生块茎的诱导形成. 植物生理通讯, 1984, (6): 35~ 38

7 吴秀英, 王瑞萍, 袁晓燕, 等. 用高压液相色谱及气相色谱法测定几种植物的内源激素. 植物学通报, 1985, 3 (2): 45~ 52

8 连 勇, 东惠茹, 金黎平, 等. 外源诱导剂对马铃薯试管薯形成过程中内源激素的影响. 见: 侯喜林, 常有宏主编. 园艺学进展 (第二辑). 南京: 东南大学出版社, 1998. 494~ 498

9 胡云海, 蒋先明. 不同糖类和BA 对马铃薯试管薯的影响. 马铃薯杂志, 1989, 3 (4): 203~ 209

10 冉毅东, 王 蒂, 戴朝曦. 用组织培养法诱导试管微型薯的研究. 马铃薯杂志, 1991, 5 (4): 193~ 198

11 柳 俊, 谢从华, 黄大恩. BA 对试管块茎形成与膨大的影响. 马铃薯杂志, 1995, 9 (1): 7~ 11

12 连 勇, 刘 蕾, 屈冬玉, 等. GA<sub>3</sub>、IAA 和 C/N 对马铃薯试管匍匐茎及试管薯形成的影响. 马铃薯杂志, 1999, 13 (1): 3~ 6

13 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学下册. 北京: 人民教育出版社, 1980. 214~ 235

14 增田芳雄. 植物生理学讲座 (第三卷). 北京: 科学出版社, 1979. 103~ 121

# The Changes of Several Endogenous Phytohormones during Microtuber Formation in vitro in *Solanum tuberosum* L.

Lian Yong, Zou Ying, Dong Huiru, Jin Liping, and Lin Huan  
(*Institute of Vegetables and Flowers, Chinaese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China*)

**Abstract:** Virus free platelets in vitro of potato cv. Favorita were used for the experiments. The changes of endogenous phytohormones GA<sub>3</sub>, IAA, KT, BAP, ABA during microtuber formation in vitro were investigated. The results showed that (1) overall, endohormone content in roots was higher than that in shoots during the period from platelets culture to microtuber formation; (2) Endohormone contents varied at all stages of microtuber formation, GA<sub>3</sub>, IAA, KT, BAP content in platelets and ABA content in the roots at initial stage of microtuber induction (after transferring to induction medium and under light conditions for 2 days) was higher than that at the stage of platelet culture. GA<sub>3</sub>, IAA, KT, BAP content in the roots and IAA content in the shoots were reduced at the stage of stoloniferous shoots development (3 days under dark conditions) but ABA content and IAA content in the root had no obvious changes. GA<sub>3</sub>, KT and BAP content in the shoots risen again and GA<sub>3</sub> and BAP content in the root continuously reduced at the stage of microtuber formation (7 days under dark conditions). IAA and BAP content increased gradually, BAP in the roots, KT in shoots reduced, KT in the roots and GA<sub>3</sub> in the shoots were stable at the stage of microtuber development (14 days under dark conditions).

**Key words:** Potato (*Solanum tuberosum*); Microtuber; Endogenous phytohormones

## 欢迎购阅下列新书

4- 1《花卉无土栽培》23 元	手册》25 元	4- 26《室内观赏植物及装饰》(第二版) 21 元
4- 2《花卉组织培养》23 元	4- 14《中国果树志·枣卷》56 元	4- 27《苹果树整形修剪和病虫害防治技术》(第二版) 16 元
4- 3《花卉化学控制》23 元	4- 15《中国果树志·李卷》100 元	4- 28《枣树丰产栽培管理技术》(第二版) 21 元
4- 4《花卉贮藏保鲜》23 元	4- 16《中国果树志·核桃卷》76 元	5- 1《中国蔬菜病虫原色图谱》69 元
4- 5《月季》27 元	4- 17《中国果树志·山楂卷》56 元	5- 2《中国蔬菜病虫原色图谱续集》89 元
4- 6《菊花》29 元	4- 18《中国果树志·荔枝卷》67 元	5- 3《中国果树病虫原色图谱》60 元
4- 7《香石竹》31 元	4- 19《中国果树志·龙眼、枇杷卷》80 元	5- 4《中国花卉病虫原色图鉴》(上、下) 158 元
4- 8《球根类》37 元	4- 21《中国果树志·苹果卷》134 元	5- 5《中国果树病虫原色图谱》(第二版) 101 元
4- 9《多浆花卉》48 元	4- 22《中国果树志·桃卷》110 元	
4- 10《宿根花卉》44 元	4- 23《中国木本植物种子》200 元	
4- 11《温室花卉》52 元	4- 24《新型芽苗菜— 体芽菜生产技术图	
4- 12《藤蔓花卉》37 元	册》40 元	*《园艺学报》2000 增刊 10 元
4- 13《中小型苗圃林果苗木繁育实用技术	4- 25《室内观赏植物 (装饰、养护、欣	*《园艺学报》2001 增刊 10 元
	赏)》76 元	