

# 不同配方对京薯6号组培苗黄化及生长发育的影响

陆展正 张仲超 吴涛 张德遥 骆燕飞 万玲\*

(海南大学热带农林学院,海南海口 570228)

**摘要** 以大量元素、有机元素、铁盐、糖类、激素6-BA为因素,采用 $L_{16}(4^5)$ 五因素四水平的正交试验设计,观测不同组合基质配方对京薯6号组培苗的黄化率、成苗率和生长发育的影响。结果表明,基质配方组合为大量元素4 mL+有机元素2.0 mL+铁盐1.0 mL+糖类8 g/L+6-BA 0.1 mg/L,京薯6号黄化率最低(11.79%)、成苗率较高(95.00%),综合评价最优;综合评价最差的组合为大量元素1 mL+有机元素2 mL+铁盐2 mL+糖类6 g/L+6-BA 1.0 mg/L,京薯6号黄化率为70.94%。由极差和方差分析结果可知,激素6-BA对京薯6号黄化的影响显著高于其他因素。在一定的激素6-BA浓度范围内,理论最优和最差基本组合下黄化率均呈“S”型曲线变化,两者曲线有相交点,最优基本组合下的黄化率比最差基本组合下的黄化率要高。

**关键词** 京薯6号;组培苗;黄化;生长发育

**中图分类号** S531 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2019)04-0010-03

## Effects of Different Formulations on Yellowing and Growth and Development of Tissue Culture Seedling of Sweet Potato Jinshu 6

LU Zhan-zheng ZHANG Zhong-chao WU Tao ZHANG De-yao LUO Yan-fei WAN Ling\*

(Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou Hainan 570228)

**Abstract** The orthogonal design of  $L_{16}(4^5)$  with five factors (macro elements, organic elements, ferric salt, sucrose, and the hormone 6-BA) and four levels was used to observe the effects of different formulations on the yellowing rate, seedling formation rate and growth and development of Jingshu 6 tissue culture seedlings. The results showed that formulations (large element 4 mL+organic element 2.0 mL+iron salt 1.0 mL+sugar 8 g/L+6-BA 0.1 mg/L) was obtained with the lowest yellowing rate (11.79%) and the highest seedling rate (95.00%). The worst formulation was large element 1 mL+organic element 2 mL+iron salt 2 mL+sugar 6 g/L+6-BA 1.0 mg/L, and the yellowing rate was 70.94%. Range R and variance analysis showed that the effect of the hormone 6-BA on the yellowing of Jingshu 6 was significantly higher than that of other factors. Within a certain range of hormone 6-BA concentration, the yellowing rate under both the theoretical optimal and the worst basic formulations showed a "S" type curve change, and the two curves had intersections. The yellowing rate under the optimal basic combination was higher than that under the worst basic combination.

**Key words** Jinshu 6; tissue culture seedling; yellowing; growth and development

甘薯(*Ipomoea batatas* (L.)Lain)为旋花科一年生植物,品种多样<sup>[1]</sup>,富含碳水化合物,鲜薯含淀粉20%~25%,可溶性糖含量高于大米和面粉,但热量远低于大米和面粉,还含有蛋白质、脂肪、膳食纤维、胡萝卜素、 $V_B$ 、 $V_C$ 、钙、磷、铁、钾、硒以及多种生理活性物质,具有很高的药用价值<sup>[2]</sup>。在欧美以及东南亚发达地区,甘薯被视为营养平衡的优质食物资源<sup>[3]</sup>,被世界卫生组织推荐为理想的天然保健食品,在全球各地广泛种植,是仅次于水稻、小麦、玉米的重要粮食作物。甘薯是无性繁殖作物,在栽培过程中,易受病原菌的感染<sup>[4]</sup>。受病毒影响后,甘薯叶片皱缩、卷曲、黄化,出现羽状斑驳或环斑,茎蔓生长势弱,结薯小且少,薯皮色淡、粗糙,有龟裂等症状,严重影响甘薯的产量和品质<sup>[5]</sup>,制约着甘薯产业的发展。生产中除了选育抗病毒品种外,更多地采用组织培养脱毒方式降低感病的风险。但在甘薯脱毒的过程中,甘薯组培苗极易发生黄化,对甘薯脱毒苗的快速推广造成了较大的阻碍作用,同时提高了生产成本。现阶段,黄化不仅存在于甘薯组培苗,整个组培界均存在,是当前整个组培界存在的三大难题之一,同时也是植物界的难题之一。

对于黄化,普遍认为是植物缺乏某些元素或者营养造成的。早在19世纪中叶,法国化学家Gisr就证明了罗马时代由于缺铁造成的葡萄黄化现象,可以通过施用硫酸亚铁加以矫治,但对其缺铁黄化的机理尚不是完全清楚,至今还没有一种真正既经济又有效的防治和矫正果树缺铁黄化的

措施。由此可见,当前对于组培苗黄化颇有研究但还是甚少,对甘薯品种界的组培黄化的研究近乎为零。笔者当前在海南大学热带农林学院甘薯研究中心种质圃中进行初试验发现,京薯6号比其他品种甘薯黄化更为严重。本试验采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验,观测不同组合基质配方对京薯6号组培苗的黄化率、成苗率和生长发育的影响。同时,优化京薯6号快繁技术的配方,以获得大量的京薯6号脱毒快繁苗应用于生产,也可为后续研究甘薯黄化提供参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

京薯6号品种,取材于海南大学热带农林学院甘薯研究中心种质圃,在热带农林学院生物学院生理生化组培实验室获得健康组培苗种苗。

#### 1.2 试验设计

选用 $L_{16}(4^5)$ 设计进行五因素四水平的正交试验,确定各因素及水平(表1)。

表1 正交试验因素水平

水平	因素				
	大量元素(50倍) (A)/mL	有机物(100倍) (B)/mL	铁盐(100倍) (C)/mL	糖(D) g·L <sup>-1</sup>	BA(E) mg·L <sup>-1</sup>
1	1	0.5	0.5	2	0.1
2	2	1.0	1.0	4	0.5
3	3	2.0	2.0	6	1.0
4	4	2.5	2.5	8	1.5

注:在正交试验中,以MS为基本培养基,微量元素按照浓缩倍数1 000倍量取,IBA浓度均为0.01 mg/L,pH值均为5.8。

以正交试验表筛选出的京薯6号的最优组合和最差组合为基本配方。利用单因素分析法,研究影响京薯6号组培

**基金项目** 海南大学热带农林学院大学生创新创业基金。

\* 通信作者

**收稿日期** 2018-11-14

苗黄化的最大因素在最优组合与最差组合基本配方下的显著性及规律。试验方案设计如表2所示。

表2 2种培养基配方及组成配比

编号	培养基配方	编号	培养基配方
1	h+IBA 0.01 mg/L	1	c+IBA 0.01 mg/L
2	h+BA 0.1 mg/L+IBA 0.01 mg/L	2	c+BA 0.1 mg/L+IBA 0.01 mg/L
3	h+BA 0.5 mg/L+IBA 0.01 mg/L	3	c+BA 0.5 mg/L+IBA 0.01 mg/L
4	h+BA 1.0 mg/L+IBA 0.01 mg/L	4	c+BA 1.0 mg/L+IBA 0.01 mg/L
5	h+BA 1.5 mg/L+IBA 0.01 mg/L	5	c+BA 1.5 mg/L+IBA 0.01 mg/L

注:h代表是最优组合,c代表是最差组合。

1.3 试验方法

选取生长健壮良好、长势一致的京薯6号无菌苗,在超净工作台上切取大小相同、健壮的茎段侧芽作为试验材料,每个处理10瓶,每瓶接4个。在温度26℃、光照强度2000~2200 lx、光照时间16 h/d的培养箱上培养。

培养45 d后,观察测定京薯6号组培苗的黄化率、株高、茎粗、叶片含水量、叶片鲜重、叶绿素总量等各个性状指

标。试验数据用Excel 2010和SPSS 22.0软件处理分析。

2 结果与分析

2.1 不同配方对京薯6号组培苗生长的影响

由表3、4可知,大量元素、有机元素、铁盐、糖类、6-BA对京薯6号组培苗黄化均有影响。基质配方组合为A<sub>4</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>4</sub>E<sub>1</sub>,京薯6号黄化率最低(11.79%)、成苗率较高(95.00%),综合评价最优。综合评价最差的组合为A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>E<sub>3</sub>,黄化率为70.94%。由极差大小可得影响京薯6号组培苗黄化的主要因素是6-BA,其次是大量元素、糖类、有机元素、铁盐。京薯6号基质配方最优组合为A<sub>4</sub>B<sub>4</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>E<sub>1</sub>,即大量元素4 mL+有机元素2.5 mL+铁盐0.5 mL+糖类2 g/L+6-BA 0.1 mg/L,最差组合为A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>E<sub>3</sub>,即大量元素1 mL+有机元素2.0 mL+铁盐2.0 mL+糖类6 g/L+6-BA 1.0 mg/L。

2.2 激素6-BA对京薯6号组培苗黄化生长的影响

由表5可知,在最优化基本培养基下,京薯6号的黄化率都较低,均在50%以下;而在最差基本培养基中,京薯6号

表3 不同处理黄化苗性状表现

组别	黄化率/%	平均株高/cm	叶片含水量/%	平均茎粗/mm	叶片鲜重/g	成活率/%
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	20.36	2.42	95.22	1.25	2.190	97.50
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	54.14	2.84	93.00	1.50	1.680	87.50
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	70.94	2.11	93.85	1.34	0.347	87.50
A <sub>1</sub> B <sub>4</sub> C <sub>4</sub> D <sub>4</sub> E <sub>4</sub>	67.69	2.03	98.65	1.28	0.084	47.50
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub> E <sub>4</sub>	58.42	3.18	97.68	1.55	0.520	97.50
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>4</sub> E <sub>3</sub>	62.84	3.33	94.30	1.54	1.070	82.50
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>4</sub> D <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	20.75	3.10	94.45	1.24	1.630	92.50
A <sub>2</sub> B <sub>4</sub> C <sub>3</sub> D <sub>2</sub> E <sub>1</sub>	15.90	3.08	91.87	1.45	2.780	97.50
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>4</sub> E <sub>2</sub>	47.01	4.07	92.64	1.79	3.950	97.50
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>1</sub>	18.45	2.58	93.52	1.46	3.450	80.00
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>4</sub> D <sub>2</sub> E <sub>4</sub>	26.58	3.40	93.81	1.61	2.670	97.50
A <sub>3</sub> B <sub>4</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	19.78	2.69	96.01	1.31	2.020	95.00
A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> C <sub>4</sub> D <sub>2</sub> E <sub>3</sub>	38.36	5.12	94.00	1.72	4.780	100.00
A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub> E <sub>4</sub>	23.21	2.98	94.49	1.36	1.400	85.00
A <sub>4</sub> B <sub>3</sub> C <sub>4</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	11.79	3.04	91.69	1.70	5.000	95.00
A <sub>4</sub> B <sub>4</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>2</sub>	25.78	3.65	92.48	1.73	3.830	90.00
平均	36.38	3.10	94.23	1.49	2.338	89.40
标准差	0.205	0.76	0.019	0.18	1.534	0.127
极大值	70.94	5.12	98.65	1.79	5.000	100.00
极小值	11.79	2.03	91.69	1.24	0.084	47.50
变异系数(CV)/%	0.563	0.24	0.020	0.12	0.656	0.142

表4 黄化苗多性状综合评分

组别	A	B	C	D	E
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> E <sub>1</sub>	1	1	1	1	1
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub> E <sub>2</sub>	1	2	2	2	2
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub> E <sub>3</sub>	1	3	3	3	3
A <sub>1</sub> B <sub>4</sub> C <sub>4</sub> D <sub>4</sub> E <sub>4</sub>	1	4	4	4	4
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub> D <sub>3</sub> E <sub>4</sub>	2	1	2	3	4
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>4</sub> E <sub>3</sub>	2	2	1	4	3
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>4</sub> D <sub>1</sub> E <sub>2</sub>	2	3	4	1	2
A <sub>2</sub> B <sub>4</sub> C <sub>3</sub> D <sub>2</sub> E <sub>1</sub>	2	4	3	2	1
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>4</sub> E <sub>2</sub>	3	1	3	4	2
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>1</sub>	3	2	4	3	1
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>4</sub> D <sub>2</sub> E <sub>4</sub>	3	3	1	2	4
A <sub>3</sub> B <sub>4</sub> C <sub>2</sub> D <sub>1</sub> E <sub>3</sub>	3	4	2	1	3
A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> C <sub>4</sub> D <sub>2</sub> E <sub>3</sub>	4	1	4	2	3
A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub> E <sub>4</sub>	4	2	3	1	4
A <sub>4</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub> D <sub>4</sub> E <sub>1</sub>	4	3	2	4	1
A <sub>4</sub> B <sub>4</sub> C <sub>1</sub> D <sub>3</sub> E <sub>2</sub>	4	4	1	3	2
1水平和	2.13	1.64	1.36	0.84	0.67
2水平和	1.58	1.59	1.44	1.35	1.48
3水平和	1.12	1.30	1.57	1.74	1.92
4水平和	0.99	1.29	1.45	1.89	1.76
极差	1.14	0.35	0.22	1.05	1.25
优选组合	4	4	1	1	1

的黄化率都较高,基本都在50%以上。当激素6-BA浓度都为0.5 mg/L时,在最优化基本培养基下京薯6号组培苗的黄化率最低,最差基本组合的黄化率最高。由图1可知,在最优化基本培养基下,当激素6-BA浓度为0、0.1、1.0、1.5 mg/L时,京薯6号组培苗黄化率没有显著差异;在最优化基本培养基下,当激素6-BA浓度为0、0.1、0.5、1.0 mg/L时,京薯6号组培苗黄化率差异不显著,激素6-BA对京薯6号组培苗黄化均有显著性影响。在最优化基本培养基下,当6-BA浓度在0~1.5 mg/L时,随着6-BA浓度的增加,京薯6号组培苗黄化率先升高后降低再升高,呈“S”型曲线变化。京薯6号组培苗黄化率较低的6-BA浓度范围在0.1~1.0 mg/L。在最优化基本培养基下,当6-BA浓度为0~1.5 mg/L时,随着6-BA浓度的增加,京薯6号组培苗黄化率先升高后降低再升高,也呈“S”型曲线变化。京薯6号组培苗黄化率较高的6-BA浓度范围在0.1~1.0 mg/L。与此同时,当6-BA浓度范围都在1.0~1.5 mg/L时,两者的黄化率曲线出现了相交点,最优化基本组合下的京薯6号组培苗黄化率要比最差基本组

表5 6-BA对京薯6号组培苗生长的影响

组别	平均黄化率 %	含水量 %	平均株高 cm	成活率 %	平均茎粗 cm
c1	52.46 b	91.08	4.1 a	92.5	0.190 a
c2	60.35 b	91.94	4.0 a	90.0	0.264 a
c3	77.28 a	88.11	3.2 b	82.5	0.425 a
c4	55.21 b	91.29	2.3 ce	95.0	0.517 a
c5	46.81 b	93.34	1.8 de	72.5	0.600 a
h1	43.81 A	95.13	3.3 BD	80.0	0.177 BDE
h2	45.36 A	95.19	3.1 CD	70.0	0.166 CE
h3	18.50 BC	94.05	4.4 A	57.5	0.194 AD
h4	25.85 B	94.91	5.4 A	80.0	0.205 A
h5	38.92 AC	93.36	5.2 A	92.5	0.210 A

注:对表5各性状按照高低进行排列,第一者得5分,第二得4分,以此类推。最后各性状得分进行相加,最高者的配方为最优配方。

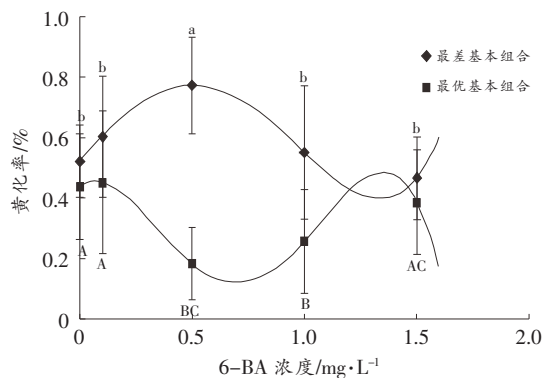


图1 在最优、最差基本组合下黄化率随激素6-BA浓度变化情况

合下的高。由此可见,当激素6-BA达到一定浓度时,即使基本培养基里的营养物质充足也会提高京薯6号组培苗的黄化率;相反,当激素6-BA达到一定的适宜浓度时,即使基本培养基里的营养物质不充足也能降低京薯6号组培苗的黄化率。不同的配方应对应适宜的激素浓度,以降低组培苗的黄化率,降低成本,提高经济效益。

### 3 结论与讨论

在甘薯的组织培养中,MS培养基是常用的基本培养基<sup>[3-6]</sup>。激素6-BA是一种细胞分裂素,有助于减少植物叶片的叶绿素分解<sup>[7]</sup>,同时也广泛应用于甘薯的组织培养中<sup>[8-9]</sup>。由本研究可知,基本营养与激素是影响京薯6号组培苗黄化的重要因素,影响京薯6号组培苗黄化程度的主要顺序是6-BA>大量元素>糖类>有机元素>铁盐。激素6-BA对京薯6号黄化的影响显著高于其他因素。适宜浓度的激素6-BA对减轻京薯6号组培苗黄化具有较好的作用。在刘杰<sup>[10]</sup>的研究中,以NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>、蔗糖、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O为因素,通过正交试验得出影响组培苗黄化主要顺序是NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>>糖>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>>FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O>CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O;当蔗糖的用量达到40 g/L时,小桐子组培苗黄化率为0,组培苗的长势好。在刘水丽等<sup>[11]</sup>的研究中,生根培养21 d后,有糖培养

处理的大豆组培苗的叶片部分出现黄化现象,无糖培养条件下3种大豆组培苗生长健康、叶色浓绿。同时,在无糖培养条件下,除了使用大型的培养容器以外,通过采取在培养箱箱体的侧面设置通风口(多孔梅花状)的措施对无糖培养箱内空气进行自然通风,促进容器内空气的流动,降低空气湿度,给植物提供适宜的生长环境,3种大豆组培苗也生长健康,叶色浓绿<sup>[10]</sup>。在陈晓明等<sup>[12]</sup>的研究中,通过在改良的MS培养基中添加水解乳蛋白和表油菜素内酯2种化学添加剂,能彻底消除核桃组培苗在组培过程中出现的黄化现象。由此可见,影响组培苗黄化的因素复杂多样。黄化不仅与植物有关,同时也与培养环境有关。刘杰<sup>[10]</sup>的有糖培养研究与刘水丽等<sup>[11]</sup>的有糖培养研究就因植物不同而出现相反的结果。减轻组培苗黄化,除了改善基本营养和激素外,改善外界光照、湿度,瓶子的透气性,添加其他化学添加剂等也有很大的作用<sup>[13]</sup>。因此,解决组培苗黄化可以从多方面入手,不应只局限于改变基本营养物质和激素,要根据植物的特性合理地运用配方和选择合适的培养环境。本试验只从改变基本营养物质和激素的量入手,没有从光照、湿度等方面研究对京薯6号组培苗黄化的影响,有待于进一步研究完善。

另外,本研究表明,在最差培养基下的根比最好培养基长得更好、更多,这是否代表在营养不足的情况下,通过改变6-BA的浓度就能使京薯6号长得很好,还有待进一步研究。

### 4 参考文献

- [1] 段玉云,王新良,金月蝶,等.紫甘薯京薯6号脱毒苗的诱导与快繁[J].西南农业学报,2011(2):835-837.
- [2] 王洪云,孙健,钮福祥,等.甘薯的功能成分及其药用价值[J].中国食物与营养,2013(12):59-62.
- [3] 张军云,张钟,张建康,等.紫甘薯组织培养快繁技术研究[J].中国农学通报,2014,30(4):96-100.
- [4] 雷加容,余金龙,余敖.甘薯的组织培养[J].甘肃农业大学学报,2006(1):113-115.
- [5] 张雅琼,郭华春.甘薯茎尖分生组织培养的研究进展[J].中国农学通报,2005(3):74-76.
- [6] 孔祥生,张妙霞,郭秀璞,等.甘薯茎尖分生组织培养及快速繁殖技术研究[J].河南农业大学学报,1998(2):28-32.
- [7] 陈世昌,徐明辉.植物组织培养[M].3版.重庆:重庆大学出版社,2016:25-26.
- [8] 陈明灿.甘薯组培快繁及优化栽培技术研究[D].南京:南京农业大学,2006.
- [9] 李强,马代夫,李洪民,等.NAA和6-BA在甘薯组织培养中的应用研究[J].江苏农业科学,2003(4):14-16.
- [10] 刘杰.小桐子的组织培养及其组培苗黄化问题研究[D].昆明:西南林业大学,2009.
- [11] 刘水丽,杨其长.无糖培养条件下三种大豆组培苗生长差异研究[J].大豆科学,2007(2):163-166.
- [12] 广西壮族自治区林业科学研究院.一种消除组培苗黄化的核桃组培快繁方法:中国,CN201710311958.6[P].2017-08-04.
- [13] 李银国,尹克宁,王树良.果树缺铁黄化研究进展[J].热带亚热带土壤科学,1997(2):129-133.

(上接第9页)

### 4 参考文献

- [1] 周江明.有机-无机肥配施对水稻产量、品质及氮素吸收的影响[J].植物营养与肥料学报,2012,18(1):234-240.
- [2] 刘益仁,李想,郁洁,等.有机无机肥配施提高麦-稻轮作系统中水稻氮肥利用率的机制[J].应用生态学报,2012,23(1):81-86.
- [3] 刘守龙,童成立,吴金水,等.等氮条件下有机无机肥配比对水稻产

量影响的初探[J].土壤学报,2007,44(1):106-112.

- [4] 吕凤莲,侯苗苗,张弘强,等.壤土冬小麦-夏玉米轮作体系有机肥替代化肥比例研究[J].植物营养与肥料学报,2018,24(1):22-32.
- [5] 温延臣,张曰东,袁亮,等.商品有机肥替代化肥对作物产量和土壤肥力的影响[J].中国农业科学,2018,51(11):2136-2142.
- [6] 樊香玲.忻州市有机肥替代化肥面临的问题和对策[J].农业技术与装备,2018(3):21-23.