

甘薯脱毒苗的离体快繁研究^{*}

付增光, 陈 越, 郭东伟, 刘卫涛

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 研究了基本培养基和两种激素单独使用对甘薯脱毒种苗生长的影响。结果表明: M S 培养基是甘薯脱毒种苗生长的最佳培养基, 激素 NAA 比 6-BA 能更有效促进生长, 其最佳质量浓度为 0.5~1.0 mg/L, 而 6-BA 更有利于促进根、芽的快速生长, 其最佳质量浓度在 1.0 mg/L 以下, 超过 2.0 mg/L 则严重抑制根的分化与生长。

[关键词] 甘薯; 脱毒苗; 离体快繁

[中图分类号] S531.038

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)01-0037-03

甘薯是重要的粮食、饲料和工业原料作物。生产中甘薯病毒病是影响甘薯产量和品质的主要因素之一。我国每年因甘薯病毒病造成的损失高达 40 亿元^[1,2]。利用茎尖分生组织培养繁育甘薯脱毒苗是目前防治甘薯病毒病, 提高甘薯产量和品质的一条有效途径^[3~5]。为使甘薯脱毒苗便于保存和利用, 首先需要大量繁殖。但在甘薯脱毒苗繁殖过程中, 田间繁殖易受到病毒侵染, 技术要求高, 花费较大, 因此通过试管微繁殖技术进行脱毒苗的快速繁殖是脱毒苗广泛应用于生产的重要环节。目前, 国内研究主要倾向于茎尖分生组织诱导再生植株的培养条件优化, 关于快速繁殖技术的研究较少。为此, 本试验通过不同基本培养基和植物生长调节剂对甘薯试管苗组培快繁影响的研究, 初步筛选出了用于甘薯组织培养快速繁殖的培养条件组合, 以期为甘薯脱毒苗的快繁生产提供理论依据。

1 材料与方法

供试材料为本实验室利用茎尖分生组织剥离与交替变温处理得到的秦薯 4 号脱毒苗。脱毒苗在超净台上去叶, 切割成 1~2 cm, 带 1~2 个腋芽的小段, 按形态学方向接种于设计好的培养基上。培养基配方: (1) 附加 0.5 mg/L NAA 的 M S、M B、N₆ 和 B₅ 培养基。 (2) 分别添加 NAA 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/L 和添加 6-BA 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0

mg/L 的 M S 培养基。所有培养基均加入 30 g/L 蔗糖, 6.0 g/L 琼脂, pH 值 5.6~5.8, 每处理 10 瓶, 每瓶 3 株。接种后, 于 25℃, 2 000~3 000 lx, 光照 16 h/d 条件下培养。每隔 3 d 对试管苗的生根和出芽速度进行统计。30 d 后测量株高、单株叶片数、单株根数和根长。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对试管苗生长的影响

表 1 结果表明, 不同培养基对脱毒苗的生根率、单株平均根数、平均根长都有明显影响, 在所采用的 4 种培养基中, M S 培养基上脱毒苗生根率最高, 达到 96.7%, 单株平均根数最多, 达到 6.3 条, 明显高于其他 3 种培养基。而平均根长以 M B 培养基中最长, 达到 6.3 cm, 这说明在 M S 培养基中添加适量的 V_{B1} 有利于甘薯试管苗根的延伸生长, 但对根系诱导不利。此外, 试验中还发现, M B 培养基中试管苗根部往往形成较大的愈伤组织块, 这种愈伤组织块对幼苗移栽成活率会产生一定影响。

由表 1 还可看出, 不同类型培养基对脱毒苗的成苗率、平均叶片数、平均株高具有明显影响, M S 培养基成苗率、脱毒苗平均叶片数、株高均最高, 分别达到 96.7%, 8.4 和 6.9 cm; M B 培养基次之, 分别达到 86.7%, 7.1 和 6.6 cm, 但都高于 B₅ 和 N₆。综合各种因素认为, 所采用的几种培养基中 M S 最

* [收稿日期] 2003-09-04

[基金项目] 陕西省农业重点技术推广项目“薯类良种及脱毒技术推广”

[作者简介] 付增光(1958-), 男, 陕西武功人, 副研究员, 主要从事薯类作物育种及推广研究。

适于甘薯脱毒苗的快速繁殖, 其次是MB,N₆ 和B₅ 最差。

表 1 基本培养基对脱毒苗生长的影响

Table 1 Effect of base medium on growth of virus-free seedling

培养基 Medium	接种数 Inoculated No.	生根株数 Plant rooted No.	生根率/% Root rate	根数 Root No.	根长/cm Root length	成苗数 Seedling No.	叶片数 Leaf No.	株高/cm Plant height	成苗率/% Seedling formation rate
N ₆	30	18	60.0	4.4	1.9	16	5.3	4.0	53.3
B ₅	30	16	53.3	5.2	3.8	14	4.8	4.6	46.7
MB	30	28	93.3	3.2	6.3	26	7.1	6.6	86.7
MS	30	29	96.7	6.3	4.2	29	8.4	6.9	96.7

2.2 生长调节剂对甘薯脱毒苗生长的影响

2.2.1 NAA 对试管苗生长的影响 结果(表 2)显示: 在含有NAA 的培养基中, 试管苗生根数、根长、叶片数和株高随NAA 质量浓度的增加而变化。幼苗生根先于出芽。当NAA 质量浓度为 1.0 mg/L 时, 接种茎段第 5.3 天产生根原基, 第 9 天开始出芽。30 d 后株高可达 2.1 cm, 叶片数达 4.7, 再生植株带有 12.5 条平均长度为 8.0 cm 的白色幼根。生根天数和出芽天数随NAA 质量浓度的增加呈先高

后低再升高的单峰曲线, 质量浓度为 1.0 mg/L 时生根、出芽最快, 比平均值 12.4 和 14.1 d 分别快 3.4 和 8.8 d。这说明较低NAA 水平不能有效调节植株的生根与出芽, 高质量浓度NAA 则对离体培养茎段的生长不利。在根生长方面, 随NAA 质量浓度的增加, 诱导根形成的时间延长, 根长逐渐降低, 根数不规则增加。说明高质量浓度NAA 处理对幼根的形成和进一步生长分化是不利的。这种现象同样表现在茎、叶的生长方面。

表 2 不同质量浓度生长调节剂对试管苗生长的影响(30 d)

Table 2 Effect of different concentration hormones on growth of tuber seedling(30 days)

激素 Hormone	质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	出芽时间/d Shooting time	出根时间/d Rooted time	根数 Root No.	根长/cm Root length	叶片数 Leaf No.	株高/cm Plant height
NAA	0.1	10.5	7.8	5	8.7	4	2.6
	0.5	10.0	5.8	3.8	8.5	2.3	1.6
	1.0	9.0	5.3	12.5	8.0	4.7	2.1
	1.5	12.3	8.3	3.7	4.8	2.5	1.3
	2.0	13.3	15.8	9.5	3.9	2.2	1.4
	2.5	19.2	27.6	4.3	0.2	1.3	0.6
	平均值 Average	12.4	14.1	6.5	5.7	2.8	1.6
6-BA	0.1	8.5	6.0	2.5	5.0	2.0	0.9
	0.5	7.5	5.0	2.3	4.5	2.5	1.1
	1.0	7.3	4.5	3.3	4.1	3.0	0.7
	2.0	15.3	0.0	0.0	0.0	2.3	0.4
	3.0	6.8	0.0	0.0	0.0	2.3	0.4
	4.0	8.3	0.0	0.0	0.0	2.2	0.3
	平均值 Average	9.0	5.2	2.7	4.5	2.4	0.6

2.2.2 6-BA 对试管苗生长的影响 表 2 结果表明, 培养基中 6-BA 质量浓度对试管苗出芽、生根、单株平均根数、单株平均根长、平均株高等各项指标有明显的影响。在只含有 6-BA 的培养基中, 激素质量浓度为 1.0 mg/L 时, 试管苗茎叶萌发只需要 7.3 d, 4.5 d 即可生根; 单株平均根数达到 3.3, 比平均根数提高 22.2%; 单株叶片数为 3, 比平均值提高 25%。当 6-BA 为 0.1 mg/L 时, 根最长, 为 5.0 cm, 比平均根长提高 19%。而株高增加速度最快的 6-BA 为 0.5 mg/L, 此时平均株高为 1.1 cm, 比平均值高 77.8%。2.0 mg/L 或更高质量浓度的 6-BA 处理则

抑制了根的形成, 所有处理均未产生幼根, 但茎叶生长所受影响较小。这说明随 6-BA 质量浓度的提高, 根和茎叶的生长都受到不同程度的限制。

3 讨论与结论

本研究结果表明,MS 培养基和MB 培养基对甘薯试管苗的增殖作用比B₅ 和N₆ 好, 说明甘薯适合于在较高离子浓度的培养基上生长, 这一结论与许多研究结果一致^[2,4,6-8]。

植物激素是绝大多数植物组织培养中必不可少的添加物, 其作用效果除了与激素种类和添加质量

浓度有关外,还与植物的基因型有关。所以,相同激素在不同的试验研究中得到的结果存在差异。杜珍等^[9]在脱毒小薯的生产研究中发现,以NAA, BA, GA为诱导剂生根时,生根长度以NAA最高,达1.6 cm, BA次之,为0.5 cm, GA为0.1 cm。而王常云等^[4]在甘薯脱毒苗工厂化生产技术研究中指出,6-BA 2.0 mg/L不仅能诱导出愈伤组织,并能直接分化成苗。武宗信等^[8]在甘薯微茎尖诱导成苗试验中发现,在6-BA 0.5, 1.0和2.0 mg/L的MS培养基上,60 d后成苗率均达到50%以上,再附加0.01 mg/L NAA时,80 d后成苗率可达到87.2%。

本试验中,在NAA单一作用下,质量浓度为1.0 mg/L时,茎段的出芽和生根所需时间最短;培养30 d后叶片数和生根数也最高。但植株高度和根长以0.1 mg/L NAA最高,这充分体现了NAA在较高质量浓度时促进分化,较低质量浓度时促进生长的生理功能。在以6-BA为诱导剂的试验中,当质量浓度为1.0 mg/L时,试管苗的生根、出芽速率最

快,平均根数最多;6-BA为0.1 mg/L时,无菌苗平均根长最长;0.5 mg/L时株高最高。这说明较高质量浓度的细胞分裂素有利于试管苗向着生芽的方向发展,较低质量浓度时则有利于芽苗的生根和器官的延伸生长。两种激素横向比较发现:在出芽速率上6-BA优于NAA;在根长、根数和株高上NAA优于6-BA。这些结论与报道中的NAA有利于根的生成,诱导不定芽的分化,腋芽的萌发与生长;6-BA有利于促进芽的分化与萌发,可使茎秆加粗,抑制茎伸长^[10,11]的结论相符。本研究结果表明,在甘薯脱毒种苗的快速繁殖中,NAA是较为理想的诱导剂,低质量浓度的6-BA能够诱导根和茎叶的快速分化,但在促进生长方面效果不如NAA,此外以6-BA为诱导剂生产的种苗,基部往往带有愈伤组织块,这种试管苗移栽时成活率会受到不同程度的影响。至于这两种激素在时间顺序和质量浓度上的配合,以及其他种类激素对种苗生长的影响,还有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 叶彦复,李伯权. 全方位提高甘薯质量与效益的方案和实践[J]. 中国甘薯, 1994, (7): 77- 78
- [2] 解红娥,武宗信,冯文龙,等. 甘薯脱毒技术及应用[J]. 国外农学- 杂粮作物, 1997, 17(6): 24- 25
- [3] 陆淑韵,刘庆昌,李惟基. 甘薯育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998 249- 283
- [4] 王常云,王作全,李晓亮,等. 甘薯脱毒苗工厂化生产关键技术再研究[J]. 国外农学- 杂粮作物, 1998, 18(1): 18- 20
- [5] 陆国权. 甘薯脱毒研究现状及其应用前景[J]. 国外农学- 杂粮作物, 1996, 15(2): 44- 46
- [6] 孔祥生,张妙霞,郭秀璞. 甘薯茎尖分生组织培养及快速繁殖技术的研究[J]. 河南农业大学学报, 1998, 32(2): 133- 137
- [7] 张宝红,丰 嵘. 甘薯体细胞培养研究进展[J]. 植物学通报, 1995, 12(增刊): 25- 30
- [8] 武宗信,解红娥,冯文龙,等. 甘薯茎尖组织培养技术研究[J]. 山西农业科学, 1997, 25(4): 59- 62
- [9] 杜 珍,杨 春,邢承玉. 脱毒小薯工厂化生产工艺指标的研究[J]. 马铃薯杂志, 1996, 10(1): 1- 7
- [10] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991 49- 137
- [11] 王冬梅,黄学林,黄上志. 细胞分裂素类物质在植物组织培养中的作用机制[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(5): 373- 377

Study on rapid propagation *in vitro* of sweet potato virus-free seedling

FU Zeng-guang, CHEN Yue, GUO Dong-wei, LIU Wei-tao

(College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Shaanxi, Yangling 712100, China)

Abstract: The experimental result about the effect of base medium and two kinds of hormones used separately on growth of sweet potato seedling virus-free show: The best medium is MS medium for growth of virus-free seedling. The NAA is more effective than 6-BA for improving growth among two kinds of hormone. Its best concentration is 0.5- 1.0 mg/L; but the 6-BA can improve more quickly shooting of root and bud, its best concentration should be under 1.0 mg/L. The differentiation and growth of root will be checked when the concentration is over 2.0 mg/L.

Key words: sweet potato; virus-free seedling; rapid propagation *in vitro*