

甘薯叶片和叶柄组织诱导培养及植株再生研究

徐 茜,乐正碧,徐 燕,文明玲,王良平,
余鸿燕,黎 华,张 茜
(重庆三峡农业科学院,重庆万州 404155)

摘要:为探索甘薯叶片和叶柄组织诱导和植株再生技术,应用甘薯优良品种‘万薯7号’叶片、叶柄在7个诱导培养基中的离体培养。试验表明,‘万薯7号’叶片和叶柄在本试验的7个诱导培养基中,极易诱导产生愈伤组织,诱导率达100%。叶片和叶柄在经培养基MS+2.0 mg/L KT+0.5 mg/L IAA 诱导出绿色愈伤组织后,在继代培养基MS+4.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA 培养15天后,均诱导成苗。

关键词:甘薯;愈伤组织;植株再生

中图分类号:S513

文献标志码:A

论文编号:2010-3216

Study of Leaf and Petiole Tissue Culture Induction and Plant Regeneration on Sweet Potato

Xu Qian, Le Zhengbi, Xu Yan, Wen Mingling, Wang Liangping,

Yu Hongyan, Li Hua, Zhang Han

(Chongqing Three Gorges Academy of Agricultural Sciences, Wanzhou Chongqing 404155)

Abstract: It was studied the leaf and petiole tissue culture induction and plant regeneration with the sweet potato variety ‘Wanshu No. 7’. The result indicated the sweet potato variety of leave and petiole could be easy to induce callus in 7 induction mediums, the induction rate of 100%. The leaf and petiole induced green callus in the medium of MS + 2.0 mg/L KT + 0.5 mg/L IAA, and then subculture 15 days in the medium of MS + 4.0 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA, they were induced emergence seeding.

Key words: sweet potato; callus; plant regeneration

0 引言

甘薯(*Ipomoea batatas*)为旋花科甘薯属一年生草本植物,含有丰富的淀粉、膳食纤维、胡萝卜素、维生素A、B、C、E以及钾、铁、铜、硒、钙等10余种微量元素和亚油酸等,营养价值很高,被营养学家们称为营养最均衡的保健食品。甘薯属无性繁殖作物,繁殖系数高,但甘薯田间繁殖很易感染病毒,造成优良品种产量和品质大幅度下降、种性退化。近年来,许多学者对甘薯的离体培养技术特别是脱毒技术做了大量的研究^[1-3,12-13],但大多限于利用顶芽、腋芽及茎段作为外植体诱导成苗^[1-4]。采用叶片、叶柄为外植体,经愈伤

组织诱导成苗,前人也做了一定研究。雷加容等^[5]曾以6个甘薯的叶片为外植体诱导成苗。张宝红^[6]以3个甘薯品种的叶片和叶柄及茎段为外植体,对其诱导植株再生作了研究,叶片及茎段诱导成苗,而叶柄未诱导分化出苗。朱爱科^[7]等对‘南薯88’的叶片和叶柄的组织培养及植株再生作了研究。姚敦义^[4]用6个甘薯品种的叶片和块根为外置体,均诱导出苗。辛淑英^[15]也以3个高淀粉甘薯品种的叶片、叶柄及茎段为材料,诱导分化成苗。利用甘薯叶片和叶柄为外植体材料,开创出甘薯优良品种组织培养新途径,解决大规模繁殖中优良材料不足及浪费问题,加快了甘薯的良种繁

基金项目:国家农业科技成果转化资金项目“食饲甘薯新品种万薯7号种苗快繁及种薯产业化”(2008GB2F100262);重庆市攻关项目“甘薯种苗脱毒快繁关键技术研究”(CSTC,2009AC1102);重庆市甘薯工程技术研究中心(CSTC,2009CB1001)。

第一作者简介:徐茜,女,1965年出生,四川郫县人,高级农艺师,大学,从事植物组织培养和作物品质分析工作。通信地址:404155 重庆市万州区厦门路600号 重庆三峡农业科学院, Tel: 023-58803826, E-mail: xuq3826@163.com。

通讯作者:乐正碧,男,1964年出生,重庆忠县人,高级农艺师,大专,从事甘薯遗传育种研究。通信地址:404155 重庆市万州区厦门路600号 重庆三峡农业科学院, Tel: 023-58801009, E-mail: cqwzyzb@126.com。

收稿日期:2010-11-09, **修回日期:**2011-02-09。

育进程。笔者以优良品种‘万薯7号’为材料,结合前人经验^[5-8,11,14-15],研究其叶片、叶柄的离体快繁技术,为加快优良品种快繁进程提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

本研究的田间试验于2009年在重庆三峡农科院本部温室大棚内进行,室内试验在院本部生物技术中心实验室进行。

1.2 试验材料

以笔者单位选育的高产食饲兼用型甘薯新品种‘万薯7号’脱毒无菌苗的叶片和叶柄为试验材料。

1.3 试验方法

选取‘万薯7号’脱毒无菌苗的叶片及叶柄,在无菌条件下,叶片剪成5 mm×5 mm的小块,叶柄剪成长5 mm的小段,转入添加不同激素配比的诱导培养基中(培养基激素成分见表1)。各培养基均附加白糖40 g/L,琼脂6 g/L,调节pH为6.0,培养温度(26±1)℃,光照强度1600 lx,每天光照16 h。培养20天时,调查其出愈率;培养30天、50天时,调查愈伤组织颜色、大小、质地、出根、出芽情况;之后转接于甘薯分化培养基

表1 培养基激素浓度

编号培养基	mg/L				
	6-BA	NAA	KT	2,4-D	IAA
1	0.5	0.1	0	0	0
2	0	0	2.0	0.1	0
3	0.2	1.0	0	0	0
4	0	0.5	2.0	0	0
5	1.0	0	0	0.1	0
6	0.2	0	0	0	0.1
7	0	0	2.0	0	0.5

(MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L+白糖40 g/L+琼脂6 g/L, pH为6.0)中,培养条件同前,继代培养50天,调查出根和出芽情况。每处理每次接种20瓶,每瓶接种一个外植体。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

2.1.1 出愈率 甘薯品种‘万薯7号’的叶片和叶柄在本试验的7个诱导培养基中,培养20天时,均诱导出愈伤组织,其出愈率均为100%,表明‘万薯7号’的叶片及叶柄的愈伤组织诱导率极高(表2)。

表2 ‘万薯7号’叶片和叶柄愈伤组织诱导结果

编号	外植体	出愈率/%	30天愈伤组织情况				50天愈伤组织情况			
			颜色	直径/mm	质地	出根	颜色	直径/mm	质地	出根
1	叶片	100	绿色	>15	致密	无	绿色	>15	致密	无
	叶柄	100	绿色	>15	致密	无	绿色	>15	致密	无
2	叶片	100	黄绿色	5~10	松软	无	黄色	5~10	松软	无
	叶柄	100	黄绿色	5~10	松软	无	黄色	5~10	松软	无
3	叶片	100	绿色	10~15	致密	有	绿色	10~15	致密	有
	叶柄	100	绿色	10~15	致密	无	绿色	10~15	致密	无
4	叶片	100	绿色	5~10	致密	无	绿色	10~15	致密	无
	叶柄	100	绿色	10~15	致密	无	绿色	>15	致密	无
5	叶片	100	淡黄色	10~15	疏松	无	淡黄色	10~15	疏松	无
	叶柄	100	淡黄色	10~15	疏松	无	淡黄色	10~15	疏松	无
6	叶片	100	绿色	10~15	致密	无	绿色	>15	致密	无
	叶柄	100	绿色	10~15	致密	无	绿色	>15	致密	无
7	叶片	100	绿色	10~15	致密	无	绿色	>15	致密	无
	叶柄	100	绿色	10~15	致密	无	绿色	>15	致密	无

2.1.2 培养30天时愈伤组织表现 从愈伤组织颜色上,应用1号、3号、4号、6号、7号诱导培养基,叶片和叶柄的愈伤组织均为绿色;而2号和5号培养基,其叶片和叶柄愈伤组织分别为黄绿色、淡黄色,这是由于2号和5号培养成分有2,4-D的缘故。

质地表现,应用诱导培养基1号、3号、4号、6号、7

号,其叶片、叶柄愈伤组织的质地致密;2号和5号培养基,其叶片和叶柄愈伤组织质地分别为松软和疏松。这也与2号和5号培养添加的2,4-D有关。从愈伤组织大小上看,培养30天时,1号培养基愈伤组织直径>15 mm;3号培养基的在10~15 mm;4号培养基叶片愈伤5~10 mm,叶柄愈伤10~15 mm;6号和7号培养基叶

片和叶柄愈伤直径在10~15 mm。综合起来,诱导愈伤组织的强弱顺序为1号>3号、5号、6号、7号>2号、4号(表2)。

2.1.3 培养50天时愈伤组织情况 2号培养基中叶片和叶柄的愈伤组织由黄绿色变成了黄色,其余培养基愈伤组织颜色都没改变。愈伤组织质地上都无变化。愈伤组织大小上变化不尽一致,1号、2号、3号、5号培养基培养50天时,其愈伤组织直径与30天时直径没有变化,说明愈伤组织后期生长缓慢,而4号、6号、7号培养

基的愈伤组织仍在继续生长,其直径均较30天时增加5 mm左右(表2)。

2.2 根的分化

在愈伤组织诱导期,‘万薯7号’叶片应用3号培养基接种培养40天时,即能诱导出1~2条根(图1),且生长迅速;其余培养基,叶片和叶柄均未能诱导出根。而在继代分化培养期,叶柄在3号培养基继代培养8天时,诱导出1~2条根(图2),但生长缓慢;其余培养基仍然未能诱导分化出根(表3)。



图1 叶片在3号培养基接种培养40天出根情况

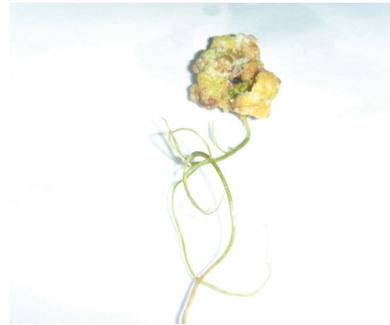


图2 叶柄在3号培养基继代培养8天出根情况

表3 ‘万薯7号’叶片和叶柄继代分化培养结果

编号	外植体	初次接种至出根/d	初次接种至出芽/d	继代培养50天			
				根长/cm	根数/根	苗高/cm	苗数/个
1	叶片	未出根	未出芽	0		0	0
	叶柄	未出根	未出芽	0		0	0
2	叶片	未出根	未出芽	0		0	0
	叶柄	未出根	未出芽	0		0	0
3	叶片	40	未出芽	20	1~2	0	0
	叶柄	58	未出芽	5	1~2	0	0
4	叶片	未出根	未出芽	0	0	0	0
	叶柄	未出根	未出芽	0	0	0	0
5	叶片	未出根	未出芽	0	0	0	0
	叶柄	未出根	未出芽	0	0	0	0
6	叶片	未出根	未出芽	0	0	0	0
	叶柄	未出根	未出芽	0	0	0	0
7	叶片	未出根	80	0	0	3.6	2
	叶柄	未出根	65	0	0	5.0	3

2.3 芽的分化

在愈伤组织诱导培养期,叶片和叶柄在7种诱导培养基中都不能诱导出芽。在继代分化培养期,只有7号继代培养基的愈伤组织,叶片和叶柄均分化出芽,叶柄出芽3个,叶片出芽2个,叶柄先于叶片出芽15天。继代培养50天时,叶柄诱导的芽高5.0 cm(图3),叶片诱导的芽高3.6 cm(图4);其余培养基均未诱导分化出芽(表3)。

3 结论

- (1) ‘万薯7号’叶片和叶柄在本研究选用的7个诱导培养基中,都诱导产生愈伤组织,诱导率达100%。
- (2) ‘万薯7号’叶片和叶柄在经培养基 MS+2.0 mg/L KT+0.5 mg/L IAA 诱导出绿色愈伤组织后,在继代培养基 MS+4.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA 培养15天后,能诱导成苗。



图3 叶柄在7号培养基继代培养分化的幼芽

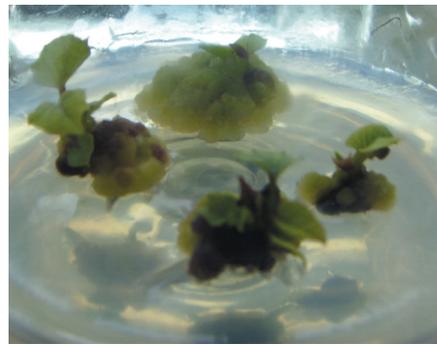


图4 叶片在7号培养基继代培养分化的幼芽

4 讨论

(1)‘万薯7号’叶片和叶柄在本试验的7个诱导培养基中,极易诱导产生愈伤组织,其诱导率达100%。表明甘薯叶片和叶柄在添加适量细胞分裂素及生长素的培养基上离体培养,极易诱导愈伤组织,尤其是添加适量的细胞分裂素。植物生长素和细胞分裂素常常是细胞培养不可缺少的激素,使植物形成愈伤组织和生长时,NAA有比较准确的形成绿色愈伤组织的倾向,2,4-D则容易形成柔和的白色愈伤组织^[9]。不同培养基,其愈伤组织的颜色、质地、直径有差异,‘万薯7号’叶片和叶柄在添加有2,4-D的2号和5号培养基中,其愈伤组织的颜色为黄绿色、淡黄色,其质地为松软和疏松,而其他培养基诱导的愈伤组织表现为颜色绿色、质地致密。

(2)在离体植物组织培养和细胞培养时,培养基中只加生长素,一般只诱导愈伤组织的产生,再加入细胞分裂素,与生长素维持较高的比率时,就能显著加速细胞分裂,促进组织增大和根的分化,再形成完整植株^[10]。张宝红^[7]认为,基因型在植物组织培养中被认为是决定植物离体培养植株再生的重要因素,只要找出一种适合的培养基,尤其是激素和激素配比,就必将能适应于甘薯外植体内部再生机制的表达。雷加容等^[4]以6个甘薯的叶片为外植体,在MS+KT 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L培养基上培养40天均诱导分化出根,其中‘绵原6’的叶片还诱导分化出苗。本研究结果表明,低细胞分裂素/生长素易诱导愈伤组织出根;高细胞分裂素/生长素易诱导愈伤组织出芽,而中等细胞分裂素/生长素易诱导愈伤组织既出芽又出根。‘万薯7号’叶片在3号培养基中培养40天即能诱导出根,之后叶柄在继代分化培养8天时,培养出根,表明‘万薯7号’叶片出根比叶柄出根容易,而7号培养基的叶片和叶柄愈伤组织分别经继代培养30天、15天时,即诱导出芽,但未出根。而‘万薯7号’叶片在与此相同的4号培养基(MS+KT 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L)上培养50天时,却未见诱导分化出根、出苗,可能与所用材料的基因型不同有关。

(3)本试验是将诱导的愈伤组织转移至统一的分化培养基培养,出芽的关键因数决定于诱导培养基种激素的种类和配比,在细胞分裂素KT浓度一致的前提下,添加相同的IAA比NAA更有利于分化出芽。

(4)适宜‘万薯7号’叶片和叶柄愈伤组织诱导既出芽又出根的细胞分裂素与生长素的比例有待进一步研究。

参考文献

- [1] 何凤发,王季春,张启堂,等.甘薯茎尖脱毒与快速繁殖技术研究[J].西南大学学报,2002,24(6):509-511.
- [2] 余成章.甘薯茎尖脱毒和试管快繁研究[J].杂粮作物,2002,22(2):85-86.
- [3] 唐丽,邹永祥,涂雅珍,等.植物组培脱毒技术在甘薯上的应用研究[J].西南农业学报,2008,21(3):882-884.
- [4] 武筑珠,龚文杰,周文波.甘薯茎的组织培养及愈伤组织的分化研究[J].贵州农业科学,1991(3):7-10.
- [5] 刘进平,吴繁花.甘薯微繁技术研究[J].杂粮作物,2004,24(6):339-340.
- [6] 雷加容,余金龙,余敖.甘薯的组织培养[J].甘肃农业大学学报,2006,41(1):113-115.
- [7] 张宝红.甘薯组织培养与植株再生[J].西南农业学报,1995,8(3):41-46.
- [8] 朱爱科,李育明,王梅,等.甘薯品种南薯88的组织培养及植株再生研究[J].安徽农业科学,2008,36(5):1815-1816,1901.
- [9] 加古舜治.园艺植物的器官与组织培养[M].郑州:河南科学技术出版社,1987:34-35.
- [10] 叶自新.植物激素与蔬菜化学控制[M].北京:中国农业出版社,1988:21-25.
- [11] 徐茜,文明玲,乐正碧,等.甘薯新品种万薯7号组培快繁技术研究[J].安徽农业科学,2010,38(2):636-638.
- [12] 高峰,龚一富,张平波,等.甘薯优良品种试管苗培养系的建立[J].西南师范大学学报:自然科学版,1999,24(2):201-205.
- [13] 龚一富,高峰.甘薯茎尖脱毒技术及其应用[J].江苏农业科学,1998(3):28-31.
- [14] 姚敦义,张慧娟.甘薯块根和叶片的培养[J].植物生理学通讯,1981(4):41-42.
- [15] 辛淑英,张祖珍.甘薯外植体组织培养和植株再生[J].作物品种资源,1983(4):51-52.