

紫薯试管苗热处理的效应

刘书宇,刘 祥,朱 明,张冬艳,姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学学院,辽宁 大连 116029)

摘要:为解决紫薯栽培中出现退化的问题,以美国紫薯的嫩芽为材料,进行了试管苗培养、试管苗生根继代培养以及对试管苗进行2次15 d 38℃热处理、经热处理后试管苗移栽和定植的研究。结果表明:1/2MS+IAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 15 g·L⁻¹是美国紫薯嫩芽试管苗培养和试管苗生根继代培养的理想培养基;对试管苗进行2次热处理,部分生长旺盛的试管苗仍能成活并生长出嫩梢,且经热处理生长的嫩梢培养的试管苗容易移栽和定植成活。在相同的栽培条件下经热处理的试管苗比由种薯发出的嫩芽扦插苗的紫薯收获量增产50%左右。

关键词:美国紫薯;试管苗;热处理

中图分类号:S539.035.3

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)11-0010-03

紫薯(*Ipomoea batatas*)属于旋花科番薯属一年生草本植物^[1],因其薯肉为紫色或黑紫色而得名。在崇尚有色食品的今天,紫薯的价值已引起人们的广泛重视,使近年来栽培面积迅速扩大,并不断地从国外引进紫薯品种栽培。美国紫薯就是我国引进栽培的品种之一。该品种不仅产量较高,块根的香、味、形均佳,而且碘、硒和花青素等成分含量高,既具有一定的抗癌作用,又能用于提取天然色素。但在栽培中出现了明显产量下降的退化现象,为此对美国紫薯进行了茎尖培养和试管苗热处理研究。虽然目前已有葡萄试管苗热处理研究的报道^[2],并有紫薯组织培养研究的报道^[3],但迄今鲜见甘薯试管苗热处理研究的报道。

1 材料与方法

1.1 材料与灭菌

将田间生长旺盛的美国紫薯嫩芽采回实验室后,用清水冲洗10 min左右,切成长4~5 cm的茎段后,放到磨口广口瓶中,先用蒸馏水振荡洗涤2次,再用0.05%的安利液洗涤2次(每次约5 min),接着用蒸馏水振荡洗涤2次,然后将材料移到超净工作台上,在无菌条件下用75%的乙醇灭菌10 s左右后,用0.05%的HgCl₂溶液振荡灭菌10~11 min,最后用无菌水振荡洗涤6次,将

嫩芽残留的灭菌剂洗去后,即获得无菌嫩芽。

1.2 方法

1.2.1 无菌嫩芽的生根培养 将无菌嫩芽剪成具有2个生长点、长2.0~3.0 cm的茎段后,接种到以1/2MS为基本培养基,附加浓度为0.2 mg·L⁻¹ IAA和蔗糖15 g·L⁻¹的培养基上,进行芽的生根培养试验。芽生根培养实验重复了2次,每种培养基接种100个材料,培养温度为26℃,光照度3 000 lx,光照时间12 h·d⁻¹(以下培养条件相同)。

1.2.2 生根试管苗的热处理 将生根继代增殖培养、生长非常旺盛的试管苗在下部保留2个叶片剪下后,放到28℃的恒温光照培养箱中,培养2 d后,将温度升高到30℃。在接下来的培养中,每2 d将温度提高2℃,直到培养至第15天时温度升高到38℃为止,对生根试管苗进行热处理。在38℃的条件下对试管苗热处理到10 d时,把在38℃的条件下生长的嫩茎剪下来,接种到相同的培养基上,在正常的条件下进行生根培养。当这种经过热处理的试管苗培养到26 d、生长成较为旺盛的试管苗时,再进行增殖生根继代培养。2次重复,分别处理412株、388株。

1.2.3 热处理中生长新梢的生根培养与生根继代培养 将经过热处理的试管苗上端生长的新梢保留2个叶片剪下,接种到生根培养基中,在正常的条件下进行生根培养。培养到30 d观察统计,然后进行增殖生根继代培养。2次重复,每次实验进行剪段增殖生根继代培养6代。

1.2.4 试管苗的重复热处理 采用1.2.2方法,对经过热处理增殖培养第6代的试管苗进行重复热处理试验2次,分别处理440株、520株。每次

收稿日期:2011-10-01

基金项目:辽宁省高等教育教学改革资助项目(20090304);
辽宁师范大学教学改革资助项目(LSJG:20090108)

第一作者简介:刘书宇(1989-),女,辽宁省抚顺市人,学士,
从事植物组织培养研究。

通讯作者:姜长阳(1953-),男,辽宁省大连市人,教授,从事
植物技术研究。E-mail:changyangjiang@126.com。

试验增殖生根继代培养 6 代。

1.2.5 重复热处理中生长的新梢生根培养与生根继代培养 采用 1.2.3 方法,对经过重复热处理成活的试管苗上端生长的新梢顶端在正常的条件下进行生根培养。培养 30 d 观察统计。2 次重复,每次试验进行剪段增殖生根继代培养 8 代。

1.2.6 试管苗的移栽与定植 把生长着第 8 代增殖生根继代培养试管苗的培养皿于日光温室中炼苗 3 d 后,将试管苗取出,移栽到上面有一层河沙的温室苗床上。移栽后前 10 d 要保持无直射光、湿度 90%左右的环境条件。2 次重复,移栽的株数分别为 620 株、640 株。

把在温室中移栽成活的试管苗于 2007 年 6 月上旬定植到大连郊区的山坡农田上,定植的株数均为 800 株。同期定植于同一地块上的还有未经热处理的试管苗和扦插了由种薯发出的嫩芽苗各 400 株。

表 1 不同培养基对嫩芽生根培养的影响

培养基	接种数量	生根率%	平均生根条数/块	试管苗长势
0+蔗糖 15 g·L ⁻¹	100	0	0	—
1/2MS+IBA0.2 mg·L ⁻¹ +蔗糖 15 g·L ⁻¹	100	53	2.9	+
1/2MS+IAA0.2 mg·L ⁻¹ +蔗糖 15 g·L ⁻¹	100	99	8.4	++
1/2MS+NAA0.2 mg·L ⁻¹ +蔗糖 15 g·L ⁻¹	100	65	3.5	+
1/2MS+2,4-D0.2 mg·L ⁻¹ +蔗糖 15 g·L ⁻¹	100	0	0	—

注:++试管苗生长旺盛;+试管苗生长一般;—为不生长。
且生长非常旺盛的试管苗。由此说明:1/2MS+IAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 15 g·L⁻¹是美国紫薯嫩芽生根培养及试管苗生根继代培养增殖培养理想的培养基。

2.2 热处理对试管苗的影响

2.2.1 试管苗成活率提高 在 38℃条件下对试管苗进行处理,处理到第 4 天时,有的试管苗开始死亡,处理到第 15 d 时,第一次热处理试验的 412 株试管苗,成活了 9 株,成活率为 2.2%;第二次热处理试验的 388 株试管苗,成活了 11 株,成活率为 2.8%。说明经过 15 d 的热处理,只有少数的试管苗能够成活。从试验结果还可看出,即使经过热处理仍成活的试管苗,在处理中生长的新梢颜色淡黄、茎纤细,新梢长 1.5~3.0 cm,外观上生长较弱,并且能成活的试管苗均为生长旺盛和根系发达的植株。

2.2.2 新梢的生根培养与生根继代培养成活 结果表明,经第一次热处理试验成活的 9 株试管苗,其新梢接种到生根培养基上成活并生根生长为 3 株试管苗,成活率为 33.3%;经第二次热处理试验的 11 株试管苗,其新梢接种到生根培养基上成活并生根生长为 4 株试管苗,成活率为

2 结果与分析

2.1 不同培养基对无菌嫩芽生根培养的影响

由试验结果可知,接种培养到第 5 天时,有的培养基上接种培养的嫩芽开始生根。接种培养到第 26 天时进行统计(见表 1)。可知,接种到 1/2MS+IAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 15 g·L⁻¹培养基上的嫩芽,不仅生根率达到了 99%、平均每株试管苗的生根数为 8.4 条、株高 4.9 cm,而且外观上试管苗长势旺盛。观察表明,接种到 1/2MS+IAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 15 g·L⁻¹培养基上的嫩芽培养到第 9 天时绝大多数培养材料都会生根生长为试管苗,并且 2 次重复试验的结果基本一致。把所培养的试管苗剪成具有 2 个生长点、长 1.0~1.5 cm 的茎段后,接种到相同的培养基上进行试管苗的生根继代增殖培养。结果表明:24 d 为 1 个培养周期,能培养出 1 代平均增殖系数为 3.1

36.4%。说明经过 15 d 热处理生长的新梢,仍能培养成为试管苗。但观察表明,这种试管苗生长速度较慢,长势较弱。由每次增殖生根继代培养 6 代的结果证明:随着增殖培养代数的增加,试管苗的生长越来越旺盛。增殖培养到第 4 代时,所培养的试管苗长势与热处理前培养的试管苗一致。6 代增殖生根继代培养,前 3 代的平均增殖系数为 1.6;第 4 代至第 6 代的平均增殖系数为 2.9。

2.3 重复热处理对试管苗的影响

2.3.1 试管苗成活率提高 观察表明,对经过一次热处理后增殖培养到第 5 代的试管苗进行重复热处理,处理到第 6 天时,有的试管苗开始死亡;处理到第 10 天时,第一次重复热处理试验的 440 株试管苗,成活了 18 株,成活率为 4.1%;第二次重复热处理试验的 520 株试管苗,成活了 25 株,成活率为 4.8%。说明经过 10 d 的重复热处理,仍然只有少数的生长旺盛的试管苗能够成活,但成活率比首次热处理有所提高。表明,经过重复热处理成活的试管苗长势与首次处理的试管苗基本一致,长势较弱。

2.3.2 新梢生根培养成活率比第一次提高 将

经第一次重复热处理试验成活的 18 株试管苗的新梢接种到生根培养基上成活并生根生长为 5 株试管苗,成活率为 27.8%;经第二次热处理试验的 25 株试管苗,其新梢接种到生根培养基上成活并生根生长为 7 株试管苗,成活率为 28%。说明经过重复热处理生长的新梢,能培养成为试管苗。但这种试管苗长势仍较弱。

2.3.3 继代培养成活 每次增殖生根继代培养 8 代的结果证明:增殖培养前 3 代试管苗长势较弱,从第 4 代开始,所培养的试管苗长势与热处理前培养的试管苗基本一致。8 代增殖生根继代培养,前 3 代的增殖系数为 1.8;第 4 代至第 8 代不仅平均增殖系数提高到 3.1,试管苗生长旺盛,而且培养周期缩短为 25 d。

2.4 对试管苗的移栽、定植和紫薯收获量的影响 移栽后第 7 天可见成活并开始生长。20 d 统计 2 次移栽的成活率分别为 97.4%和 97.0%。

同期定植的经热处理的试管苗、未经热处理的试管苗和扦插的种薯发嫩芽的成活率分别为 99.0%、99.5%和 97.5%。说明紫薯的试管苗容易定植成活。

结果表明,与扦插的种薯嫩芽相比,定植或扦插后前 30 d,经热处理的试管苗和未经热处理的试管苗生长缓慢,植株较小,而后生长速度较快,定植或扦插后 60 d 时,外观上长势达到了基本一致的程度;后期经热处理的试管苗和未经热处理的试管苗长势好于种薯嫩芽扦插苗。测产结果表明,经热处理的试管苗每株为 701 g,扦插的种薯嫩芽苗每株为 458 g。以扦插的嫩芽苗为对照(100%),经热处理的试管苗为 153%,说明,以经过 2 次热处理的美国紫薯试管苗为种苗,紫薯的产量增产 53%。

2008 年和 2009 年分别在同一时间、同一地块上分别扦插 600 株未经热处理种薯嫩芽和经过 2 次热处理收获的种薯嫩芽。2008 年后者比前者增产 49%,2009 年后者比前者增产 45%。

3 结论与讨论

该研究对美国紫薯生长旺盛的试管苗进行了 2 次 38℃处理,并获得了紫薯试管苗,说明部分紫薯的试管苗能耐受 38℃的温度。但进行热处理的试管苗,必须要求培养的试管苗生长旺盛,否则,经过 15 d 热处理的试管苗必然死亡。

无性繁殖植物必然积累较多的病毒,甘薯(包括紫薯)在长期的无性繁殖栽培中,也不可避免地要积累一些对产量等造成影响的病毒。美国紫薯引进我国栽培后,出现了产量下降的退化现象,很可能是由于感染了影响产量的病毒引起的。而病毒在较高温度下能被钝化,使之在高温处理的条件下生长的新梢能脱去某些病毒^[4]。因此,该研究对美国紫薯的试管苗进行了 2 次热处理后获得的试管苗出现了增产 50%左右的现象,很可能是由于脱去了能引起产量降低的病毒的结果。

有研究证明,生长旺盛的试管苗能耐受较高的温度,并可能脱去某些病毒,所以该研究所获得对试管苗进行热处理的方法也可用于对其它无性繁殖植物试管苗的研究。

参考文献:

- [1] 李书心. 辽宁植物志(下册)[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1992.
- [2] 张金文,吴燕民,曹夜义. 葡萄试管苗热处理结合茎尖培养脱病毒效果的研究[J]. 西北植物学报,1994,15(6):52-56.
- [3] 刘明明,杨继红,刘蓁,等. 紫薯组织培养初探[J]. 安徽农学通报,2009,15(17):30-31.
- [4] 王国平,洪霓. 果树的脱毒与组织培养[M]. 北京:化学工业出版社,2005.

Effect of Heat Treatment on Test-tube Seedlings of *Ipomoea batatas*

LIU Shu-yu, LIU Xiang, ZHU Ming, ZHANG Dong-yan, JIANG Chang-yang

(Life Science College of Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029)

Abstract: In order to solve degradation problems during the cultivation of *Ipomoea batatas*, tender buds were used as the explant *in vitro* culture to study rooting, transplanting and field planting of test-tube seedlings. Before transplanting, test-tube seedlings were treated twice under the condition of 38℃ and each treatment lasted 15 days. The results showed that the optimum medium for rooting and subculture was 1/2MS+ IAA0.2 mg·L⁻¹+ sucrose 15 g·L⁻¹. After twice heat treatment, some vigorous growth test-tube seedlings could still survive and grow out of young shoots. The test-tube seedlings which cultivated from the heat-treated young shoots could transplant and field planting easily. Compared with plantlets issued from the shoots cuttings, the harvest yield of heat-treated test-tube seedlings could add fifty percent under the same cultivate condition.

Key words: *Ipomoea batatas*; test-tube seedlings; heat treatment