

美国紫薯试管苗微型繁殖的研究

曲艺姣,周 清,孙 佳,徐 娜,姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学学院,辽宁 大连 116081)

摘要:为满足人们对经过热处理的美国家紫薯试管苗种苗的大量需求,以微型嫩茎段为材料,采用组织培养和微型扦插的方法,进行了试管苗微型繁殖的研究。结果表明:在 $1/2MS+IAA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+$ 蔗糖 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基上,以具有2个生长点和2个叶片的微型茎段繁殖试管苗,1株试管苗每年能繁殖200多万株试管苗;以具有2个生长点和2个叶片的苗微型茎段扦插到苗床上,其繁殖速度提高了1.8倍。定植的微型扦插试管苗生长较旺盛,美国紫薯的产量提高48.9%。

关键词:美国紫薯;试管苗;微型扦插

中图分类号:S539.035.3

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)07-0010-03

美国紫薯(*Ipomoea batatas*)因其薯肉为黑紫色、营养价值丰富,并有一定的保健作用而备受人们的欢迎。但在较长时间的栽培中由于感染了某些病毒使产量降低。刘书宇等^[1]采用热处理的方法对美国紫薯的试管苗进行处理,获得的试管苗产量提高了50%。虽然这种试管苗的繁殖速度较快,但也无法满足人们对栽培种苗的大量需求。为此,研究者们对经过热处理的美国家紫薯进行了试管苗微型繁殖的研究。在长期的植物组织培养和试管苗研究中,我国已有试管苗微型扦插、微型繁殖研究的报道^[2-3],但迄今鲜见旋花科植物微型繁殖研究的报道。因此,该研究以美国紫薯微型

嫩茎段为材料,进行试管苗微型繁殖的研究。

1 材料与方法

1.1 试管苗来源

2011年5月下旬,将大连市旅顺口区土城子山坡农田中生长旺盛的经过热处理的美国家紫薯具有叶片和生长点的嫩茎剪下,带回实验室,按照刘书宇等方法,先除掉叶片,再进行灭菌,然后剪成具有生长点的茎段,接种到 $1/2MS+IAA0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+$ 蔗糖 $15\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 固体培养基上进行试管苗的培养。在温度 28°C 、光照 $3\ 500\text{ lx}$ 的光照培养箱中,经过30 d的培养,就会获得茎较粗、株高约5.5 cm、具有6~8个叶片、生长旺盛的美国家紫薯试管苗。

1.2 方法

1.2.1 具有不同生长点数和叶片数的微型茎段对瓶内扦插的影响 在无菌的超净工作台上,使用无菌剪毛剪子,在培养瓶内将试管苗分别剪成没有生长点和叶片(对照)、具有1个生长点和1个叶片、具有2个生长点和2个叶片、具有3个生长点和3个叶片的不同微型嫩茎段,继续接种到

收稿日期:2013-03-14

基金项目:辽宁省普通高等教育本科教学改革研究资助项目(201203041-4);辽宁省大学生创新创业训练资助项目(201203015011)

第一作者简介:曲艺姣(1992-),女,辽宁省庄河市人,在读学士,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,学士,教授,从事植物技术研究。E-mail:changyangjiang@126.com。

An Improved CTAB Method for Extraction of Total RNA from Mature Leaves in Oil Sunflower

ZHOU Fei

(Industrial Crops Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to extract RNA of high purity and good integrity from plants, after 12 days' flowering the total RNA from mature leaves in oil sunflower Modified HA89 was extracted through improved CTAB method. It was analyzed by UV spectrophotometer and agarose gel electrophoresis. The results showed that the structure of total RNA obtained was complete with good purity and high concentration. It could be used for subsequent experiments of molecular biology such as RT-PCR, Northern hybridization, cDNA library construction.

Key words: oil sunflower; mature leaves; total RNA extraction

1/2MS+IAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 15 g·L⁻¹培养基上,在相同的培养条件下进行具有不同生长点数和叶片数的茎段微型扦插对繁殖速度的影响试验。重复 3 次,每种材料接种培养 150 个茎段。在此培养的基础上,对以具有不同生长点数和叶片数的茎段为瓶内微型扦插材料的试管苗进行生根继代扩繁培养,3 次重复,每次继代 5 代。

1.2.2 具有不同生长点数和叶片数的微型茎段对温室内扦插的影响 2012 年 3 月下旬,把经过热处理的美紫薯生根继代扩繁培养的试管苗,在温室中剪成没有生长点和叶片(对照)、具有 1 个生长点和 1 个叶片、具有 2 个生长点和 2 个叶片、具有 3 个生长点和 3 个叶片的不同微型嫩茎段,直接扦插到上层为 5~7 cm 河沙、下层为园土的苗床上,在温室中进行具有不同生长点数和叶片数的微型茎段扦插对成活生长状况及繁殖速度影响的试验。重复 2 次,第 1 次重复试验每种材料接种培养 200 个试管苗微型茎段;第 2 次重复试验每种材料接种培养 400 个试管苗微型茎段。微型扦插后 25 d 对成活率、植株的高度、长势和平均每株试管苗的繁殖系数进行观察统计。

1.2.3 微型扦插试管苗的移植 把在温室苗床上微型扦插成活的试管苗和在温室中由种薯直接繁殖的幼苗,于 2012 年 5 月上旬移植到大连市旅顺口区土城子山坡的同一农田中。其中微型扦插的试管苗移植了 280 株,由种薯直接繁殖苗移植了 200 株。两种来源的美紫薯苗移植后都按照

农田栽培常规方式进行管理。

2 结果与分析

2.1 具有不同生长点数和叶片数的微型茎段对微型扦插的影响

观察表明,具有不同生长点数和叶片数的茎段为瓶内微型扦插的材料,生根初始时间不同(见表 1)。接种培养到 24 d 时,以没有生长点和叶片的茎段为材料,虽然少数茎段能在培养后期生长出少数几条根,却不能生长为试管苗;以具有生长点和叶片的茎段为材料,均可培养成为试管苗。从试管苗的高度和生根的初始时间上看,以具有 3 个生长点和 3 个叶片的茎段为微型扦插材料最好。生根继代结果表明,以具有 2 个生长点和 2 个叶片的茎段为微型扦插材料的繁殖系数最高(见表 1)。之所以会出现这种现象,与以具有 1 个生长点和 1 个叶片的茎段为微型扦插材料培养的试管苗的高度较矮、而以具有 3 个生长点和 3 个叶片的茎段为微型扦插所使用的材料长度较长有关。因此,从既能保证试管苗生长较旺盛,又能具有较高的繁殖系数的角度看,具有 2 个生长点和 2 个叶片的茎段是经过热处理的美紫薯瓶内微型扦插的适宜材料。以具有 2 个生长点和 2 个叶片的茎段为瓶内微型扦插的材料,24 d 为一个培养周期的繁殖系数为 3.1。按照这一速度,1 株试管苗 1 年能繁殖出 200 多万株试管苗。这样完全能达到快速繁殖的目的。

表 1 具有不同生长点数和叶片数茎段对瓶内微型扦插的影响

Table 1 Effect of stems with different growing points and blades on micro cuttings *in vitro*

| 茎段的叶片数 与生长点数 Growing points and blades | 生根的初始时间 (以 10% 的茎段 生根为准) Rooting initial time | 生根率/% Rooting rate | 植株平均高度/cm Average plant height | 试管苗长势 Growth of tube seedling | 继代培养 24 d 繁殖系数 Propagation coefficient of regenerative secondary culture for 24 days |
|---|--|-----------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|---|
| 0 | 0 | 5 | 0 | — | 0 |
| 1 | 5 | 84 | 3.4 | + | 2.1 |
| 2 | 3 | 100 | 5.4 | ++ | 3.1 |
| 3 | 2 | 100 | 6.3 | ++ | 2.4 |

注:++长势旺盛;+长势一般;—不生长。下同。

Note: ++ vigorous growth; + general growth; — no growth. The same below.

2.2 具有不同生长点数和叶片数的微型茎段对温室内扦插的影响

观察结果表明,扦插后在保持温度 20~29℃、湿度 85% 以上和没有直射光的环境条件下,扦插后 4 d 可见成活并开始生长。扦插后 8 d 即可除掉温室中给予的特定保护环境。由表 2 可

知,从微型扦插的茎段的成活率、地上部生长长度和试管苗的长势 3 个方面看,具有 2 个生长点和 2 个叶片与具有 3 个生长点和 3 个叶片的试管苗微型嫩茎段的结果基本一致,效果较好,而以具有 1 个生长点和 1 个叶片的微型嫩茎段的效果较差。但从每株试管苗的平均繁殖系数看,以具有

1 个生长点和 1 个叶片的微型茎段为材料繁殖系数最大,以具有 2 个生长点和 2 个叶片的微型茎段为材料繁殖系数中等,以具有 3 个生长点和 3 个叶片的微型茎段为材料繁殖系数最小。综合试

管苗各种性状看,以具有 2 个生长点和 2 个叶片的美国紫薯试管苗微型茎段为较适宜的材料,而且以其作为扦插材料的繁殖速度比试管苗移栽提高了 1.8 倍。

表 2 具有不同生长点数和叶片数的微型茎段对温室内扦插的影响

Table 2 Effect of stems with different growing points and blades on cuttings in greenhouse

| 茎段的叶片数与生长点数 Growing points and blades | 接种茎段数 Inoculated stems number | 成活生根数 Survival roots number | 成活率/% Survival rate | 植株地上部平均 生长长度/cm Average height aboveground | 试管苗长势 Growth of tube seedlings | 每株试管苗的平均繁殖系数 Average propagation coefficient of tube seedling |
|--|----------------------------------|--------------------------------|------------------------|--|-----------------------------------|--|
| 0 | 600 | 0 | 0 | 0 | — | 0 |
| 1 | 600 | 496 | 82.7 | 4.4 | + | 3.2 |
| 2 | 600 | 600 | 100.0 | 5.6 | ++ | 2.8 |
| 3 | 600 | 599 | 99.8 | 6.7 | ++ | 2.1 |

2.3 微型扦插试管苗的移植

移植后 30 d 统计观察表明,不论是作为对照的种薯繁殖苗,还是试管苗的移栽成活率均为 100%,并且移植初期长势基本一致。移植 60 d 后,外观上可见试管苗长势稍旺盛。当年秋季一次收获的紫薯试管苗的收获量提高 48.9%。

3 结论与讨论

该研究通过试管内微型嫩茎段的扦插和温室内微型扦插两条途径进行了对美国紫薯微型繁殖的研究。前者 1 株试管苗每年能繁殖 200 多万株试管苗,后者又会使繁殖速度提高 1.8 倍。说明这一技术完全达到了快速繁殖的目的,不仅能满足人们对种苗的大量需求,并且微型繁殖的试管苗紫薯增产 48.9%。证明该研究所建立的对热处理后紫薯试管苗微型繁殖技术可应用于美国紫薯的生产。

当年秋季一次性收获,微型扦插试管苗单株紫薯的收获量提高 48.9%。产量与刘书宇等直接移植经过 2 次热处理的美国紫薯试管苗的一致,说明对经过热处理的美国紫薯试管苗采用微

型繁殖的方法获得试管苗,仍然能保持经过热处理后的高产性。

在该研究试管苗茎段的瓶内微型扦插中,出现了具有 2 个生长点和 2 个叶片的微型嫩茎段所培养的试管苗成活率比具有 1 个生长点和 1 个叶片高、具有 2 个生长点和 2 个叶片的微型嫩茎段所生长的试管苗的长势都比具有 1 个生长点和 1 个叶片旺盛的特点。从材料本身特点看,前者仅仅比后者多 1 个叶片,说明在试管苗的瓶内微型培养中,虽然培养基中也加入外源生长素 IAA 对其生长进行了调节,但在具有较多叶片的状态下,材料本身能合成较多的生长素,对生长进行了调节。当然,多 1 个叶片也能合成更多的营养,也有利于材料的生长和成活。

参考文献:

- [1] 刘书宇,刘祥,朱明,等.紫薯试管苗热处理的效应[J].黑龙江农业科学,2011(11):10-12.
- [2] 李洪艳,王关林,姜丹,等.微型扦插快速繁殖繁殖辣椒试管苗的研究[J].辽宁师范大学学报,2009,25(3):296-297.
- [3] 郭恩才,谭鑫,李海山.葡萄组培苗日光温室微型扦插扩繁技术[J].河北农业科学,2010,14(3):8-9,33.

Study on Micro Propagation of Tube Seedlings of the *Ipomoea batatas*

QU Yi-jiao,ZHOU Qing,SUN Jia,XU Na,JIANG Chang-yang

(Life Science College of Liaoning Normal University,Dalian,Liaoning 116081)

Abstract: In order to meet the large needs for tube seedlings of *Ipomoea batatas* after heat treatment, with the method of tissue culture and micro cutting, the mini tender stem segments were used as material to do the research on micro propagation of tube seedlings *in vitro*. The results demonstrated that in the media of 1/2MS+IAA 0.2 mg·L⁻¹+Sucrose 15 g·L⁻¹, one tube seedling, which reproduced by mini tender stem segments with 2 growing points and 2 blades *in vitro*, could breed more than two million tube seedlings each year; with 2 points and 2 blades of micro cuttings to the seedbed propagation speed was increased by 1.8 times. Colonization of the micro cutting plantlets grew strongly, the yield of *Ipomoea batatas* could increase by 48.9%.

Key words: *Ipomoea batatas*; tube seedlings; micro cutting