

培养基中糖和氮对脱毒甘薯组培苗生长的影响

王守明¹, 胥学峰², 廉美兰¹, 朴炫春*, 朴永昱³

(1. 延边大学农学院 园艺系, 吉林 龙井 133400; 2. 吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101;

3. 延吉市园林处, 吉林 延吉 133000)

摘要:以脱毒甘薯的茎段为材料, 研究培养基中不同糖种类、糖浓度、 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 及总氮量对甘薯组培苗扩繁的影响. 结果表明: 在 MS 培养基添加蔗糖或白糖, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 含量为 30/30 (mM/mM), 总氮量控制在 30, 60 mM 时对甘薯组培扩繁有利. 考虑到培养基成本, 脱毒甘薯培养基以 MS + 食用白糖 50 g/L + $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 30/30 (mM/mM) + 总氮量 30 mM 最为适宜. 将脱毒甘薯组培苗移栽到含蛭石和草炭的营养钵中进行驯化, 成活率可达 95%.

关键词: 甘薯; 糖种类; 糖浓度; $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$; 总氮量

中图分类号: S531

文献标识码: A

文章编号: 1004-7999(2006)02-0102-05

甘薯 (*Ipomoea batatas* L.) 为旋花科甘薯属, 无性繁殖作物. 甘薯体内病毒的积累可使品种种性退化, 品质和产量降低, 对生产造成严重危害. 因此, 利用茎尖分生组织培育脱毒甘薯是目前国际上防治甘薯病毒, 提高甘薯产量和质量的唯一有效方法^[1].

在组织培养中, 培养基中的糖是试管苗的生命活动所必不可少的碳源和能源, 同时具有调节渗透压的作用. 一般培养基中添加的糖种类有蔗糖、葡萄糖、果糖和麦芽糖等, 常用浓度为 20~50 g/L^[2]. 糖的种类和浓度不仅影响组培苗的生长, 而且直接影响生产成本. 氮是组培培养基中含量最多的大量元素, 植物可吸收的氮形态可分为氨态氮和硝态氮等, 不同植物和不同培养阶段所吸收的氮种类和氮量有很大差异^[3], 一般硝态氮对植物的发育有利, 而硝态氮和氨态氮的混合使用比其单独使用更能提高植物对氮的吸收^[4]. 目前, 关于植物生长调节剂、温度、pH 值、琼脂浓度等对甘薯脱毒苗生长的影响有许多研究报道, 但对糖和氮的影响研究甚少.

本研究旨在探明糖种类、糖浓度及 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 和总氮量对脱毒甘薯组培苗生长的影响, 为甘薯脱毒苗的工厂化快速繁育提供依据.

1 材料与方法

将已脱毒的甘薯组培苗切成带 1 个腋芽的茎段作为试验材料. 基本培养基为 MS + 琼脂 7 g/L, pH 值调节为 5.8. 1) 糖种类试验: 在培养基中分别加入果糖、葡萄糖、蔗糖和食用白糖, 浓度为 30 g/L. 2) 糖浓度试验: 依前试验结果, 将白糖浓度分别调节为 0, 5, 10, 30, 50, 70, 90 g/L. 3) $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 浓度处理: 用 NH_4Cl 和 KNO_3 将培养基中 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 的浓度调节

收稿日期: 2006-03-25

基金项目: 延大科合字(2003)第 08 号.

作者简介: 王守明(1980—), 男, 吉林永吉人, 延边大学农学院园艺系, 在读硕士. 朴炫春为通讯作者,

Eel: 0433-3261756, E-mail: nyypxc@ybu.edu.cn.

为 0/60,10/50,20/40(对照),30/30,40/20,50/10,60/0 (mM /mM). 4) 总氮量试验:依前试验结果将 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 固定为 1:1 后,调节培养基中总氮量为 30,60,120 mM. 本试验采用 250 mL 的三角瓶,注入 60 mL 培养基,瓶口用带过滤膜(ϕ 1.0 cm)的 PTFE 无菌封口膜(上海稼丰园艺用品有限公司)封盖,每处理重复 5 次. 培养温度(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,光照强度 1 600 Lux,每天用日光灯照射 16 h,30 d 后调查节数、地上部和地下部的鲜物重和干物重等.

在组培苗驯化试验中,将已发根的试管苗放在自然光下炼苗 2 d 后取出,用清水洗去根上附着的琼脂后栽到盛有蛭石和草炭(1:1)的营养钵中,遮荫保湿培养 5 d 后,逐渐移去塑料薄膜,2 周后移栽到大田,调查成活率. 本试验数据分析利用 SAS(Statistical Analysis System, Cary, NC, USA)程序,采用邓肯氏新复极差法进行比较,显著水平 $P \leq 0.05$.

2 结果与分析

2.1 糖种类和糖浓度对甘薯组培苗生长的影响

将甘薯组培苗茎段在添加果糖、葡萄糖、蔗糖和白糖的培养基中培养 30 d 后发现,不同糖种类对甘薯组培苗的生长有显著的影响(表 1). 甘薯节数在蔗糖和白糖处理中为 6.8 和 7.5,明显多于果糖(5.1)和葡萄糖(5.0)处理;地上部单株鲜重和干重在白糖处理中最多(730.4 mg 和 56.7 mg),其次是蔗糖,最后是果糖和葡萄糖. 蔗糖和白糖处理下的甘薯组培苗的根长、根鲜重和干重好于果糖和葡萄糖处理.

表 1 糖种类对甘薯组培苗生长的影响

Table 1 Effects of different sugar on the plantlet growth of sweet potato

糖种类 Sugar type	地上部 Shoot			地下部 Root		
	节数	鲜重/mg	干重/mg	根长/cm	鲜重/mg	干重/mg
	No. of nodes	Fresh weight	Dry weight	Root length	Fresh weight	Dry weight
果糖 Fructose	5.1 b	253.0 c	22.0 c	17.0 b	263.9 b	24.8 b
葡萄糖 Glucose	5.0 b	270.8 c	21.3 c	16.2 b	194.1 b	18.4 b
蔗糖 Sucrose	6.8 a	576.4 b	44.6 b	19.4 ab	348.6 a	33.7 a
白糖 White Sugar	7.5 a	730.4 a	56.7 a	22.0 a	430.4 a	37.6 a

白糖浓度对甘薯组培苗扩繁的影响列于表 2. 甘薯组培苗的节数在白糖浓度为 0~30 g/L 时,随浓度的增加呈上升趋势,超过 30 g/L 时,并不随白糖浓度的增加而增多;而地上部鲜重和干重则在 50,70 g/L 时显著好于其它处理. 白糖浓度对根长和根鲜重的影响与对地上部节数的影响相同,在 30 g/L 达最大值,高于 30 g/L 时不再增加,而干重在白糖浓度为 50,70 g/L 时好于其它处理.

表2 糖浓度对甘薯组培苗生长的影响

Table 2 Effects of sugar with different concentrations on the plantlet growth of sweet potato

糖浓度(g/L) Sugar concentration	地上部 Shoot			地下部 Root		
	节数 No. of nodes	鲜重/mg Fresh weight	干重/mg Dry weight	根长/cm Root length	鲜重/mg Fresh weight	干重/mg Dry weight
0	1.0 d	69.3 e	5.1 d	1.0 d	0.5 c	0.1 d
5	6.0 c	319.4 d	30.2 c	5.9 c	38.7 c	5.6 d
10	7.1 b	553.2 c	49.7 c	10.6 b	89.2 c	8.7 d
30	9.6 a	1 042.1 b	83.7 b	22.6 a	429.5 a	68.7 bc
50	9.6 a	1 117.7 a	98.2 a	23.7 a	478.6 a	78.9 ab
70	10.0 a	1 261.7 a	104.8 a	23.9 a	495.8 a	82.7 a
90	9.6 a	1 053.2 b	80.7 b	23.5 a	343.1 b	59.7 c

2.2 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 和总氮量对甘薯小植物体增殖和生长的影响

将甘薯茎段接入含不同浓度的 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 培养基中发现, NH_4^+ 或 NO_3^- 单独使用时, 增殖和生长均受抑制, 尤其是单独使用 NH_4^+ 时, 甘薯茎段不生长, 且颜色变浅、发黄, 几乎处于死亡状态. 由表3可知, 随着 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 浓度的增加, 节数呈增加趋势, 当 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 增加至 30/30 (mM /mM) 时, 节数为 7.8, 达最高值, 以后则随 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 浓度的增加呈下降的趋势. 地上部鲜重和干重的变化趋势同节数的变化趋势相同, 30/30 (mM /mM) 处理明显优于其它处理. 地下部的变化趋势与地上部稍有差异, 根长、根鲜重在 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 浓度为 20/40, 30/30, 40/20 (mM /mM) 处理间无明显差异, 显著优于其它处理, 而根干重在 30/30 (mM /mM) 时表现最佳.

表3 不同浓度的 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 对甘薯组培苗生长的影响Table 3 Effects of $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ in different concentrations on the plantlet growth of sweet potato

$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ (mM /mM)	地上部 Shoot			地下部 Root		
	节数 No. of nodes	鲜重/mg Fresh weight	干重/mg Dry weight	根长/cm Root length	鲜重/mg Fresh weight	干重/mg Dry weight
0/60	4.6 c	197.4 d	34.53 cd	8.87 c	167.9 c	45.33 c
10/50	6.5 b	313.7 cd	50.07 bc	14.72 b	377.3 b	45.99 c
20/40	6.2 b	554.5 b	60.03 b	17.99 a	581.6 a	68.64 b
30/30	7.8 a	767.6 a	78.97 a	19.82 a	679.6 a	92.88 a
40/20	5.2 c	313.7 cd	29.27 d	18.31 a	527.7 a	64.88 bc
10/50	1.3 d	29.9 e	2.93 e	17.07 ab	358.2 b	52.84 bc
60/0	—	—	—	—	—	—

注: — 表示无生长. Note: — referred to on growth.

将 MS 培养基中的总氮量调节为 30, 60, 120 mM 后, 调查结果表明, 地上部鲜重、干重及根长、根鲜重和干重在 30, 60 mM 处理条件下表现最好, 而两者间无显著性差异(表4). 从上述结果可知, 在甘薯茎段培养时, MS 培养基中固有的氮量(60 mM)虽较适合甘薯苗的增殖和生长, 但由于 30 mM 与 60 mM 处理无显著性差异, 从经济角度考虑选择 30 mM 较适宜.

表 4 总氮量对甘薯组培苗生长的影响

Table 4 Effects of total nitrogen on the plantlet growth of sweet potato

总氮量/mM Total nitrogen	地上部 Shoot			地下部 Root		
	节数 No. of nodes	鲜重/mg Fresh weight	干重/mg Dry weight	根长/cm Root length	鲜重/mg Fresh weight	干重/mg Dry weight
30	7.8 a	661.9 a	63.7 a	14.6 a	356.2 a	48.7 a
60	7.6 a	760.7 a	68.5 a	16.2 a	339.8 a	48.1 a
120	3.7 b-	170.3 b	22.9 b	5.8 b	163.8 b	27.1 b

2.3 驯化及移栽

将已发根的试管苗移栽到含蛭石和草炭(1:1)的营养钵中进行驯化.2周后发现,新叶长大,颜色深绿,生长状态良好,移栽到大田的成活率达到95%.工厂化组织培养过程中的问题,主要是选择适合植物体生长的条件缩短周期从而减少生产成本.

3 讨论与结论

组织培养中,蔗糖经高压灭菌,部分分解为葡萄糖和果糖,一般来说这更利于植物体的吸收和利用.从本试验结果来看,对于甘薯组培苗,葡萄糖和果糖的单独存在不利于植物体的生长,只有当部分葡萄糖或果糖与蔗糖共存时其生长良好,这与王蒂^[2]的培养基中有时两种糖共存时,比单独使用效果好的观点相一致.同时从试验结果还可知,白糖的使用更利于甘薯苗的生长,可取代蔗糖使用.

Eun 等认为,甘薯组培苗在糖浓度为 60~80 g/L 的培养中最佳,当糖浓度低于或高于 60~80 g/L 时,甘薯组培苗的增殖与生长有减少的趋势^[5].Jarret 和 Gawel 在甘薯茎段培养时也发现,蔗糖浓度从 30 g/L 减少至 15 g/L 或 20 g/L 时,节数和根的生长有减少现象^[6].这些结论与本试验结果类似,说明甘薯组培过程中,培养基糖浓度以 50 g/L 和 70 g/L 为佳,从经济角度考虑,培养基中加入白糖 50 g/L 较合理.

MS 培养基中的氮包括氨态氮和硝态氮.正常情况下,培养前期植物外植体是先利用其中的氨态氮,之后,在硝酸还原酶的作用下硝态氮还原成氨态氮后再被利用.虽然外植体直接利用的是氨态氮,可是当氨态氮超过一定量时对外植体有毒害作用.同时,外植体的生长、分化和发育代谢需要有一定比例的两类氮素.本试验结果表明,MS 培养基中固有的 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 不太适合于甘薯组培苗的增殖和生长,与硝态氮相比,氨态氮对甘薯组培苗的抑制作用更明显,且两种氮的混合使用更利于植物体的吸收.这与马铃薯茎段培养和菊花茎段培养时两种氮的混合使用有利于植物生长的观点相一致,说明在保持总氮不变的情况下,不同氮源之间应有适合的比例.一般组织培养时,虽然 MS 培养基对多数植物的生长发育有利,但并不适合所有植物和所有发育阶段.本试验结果认为,将 MS 培养基中总氮含量减至 1/2,对甘薯组培苗的生长也有利.这与“Casa Blanca”百合鳞茎诱导在总氮量为 30,60 mM 时较适宜^[7]的观点相一致,但与鳞茎膨大过程中 120 mM 好于 30,60 mM 的结果相反,故对不同植物或不同发育阶段培养基中氮的适宜性进行研究显得非常重要.

参考文献:

- [1] 孔祥生,张妙霞,郭秀璞.脱毒甘薯的繁育程序和增产效果[J].农业经济与科技,1999(1):38.
- [2] 王蒂.植物组织培养[M].北京:中国农业出版社,2004,22.
- [3] Park H S,Sul J H,Chiang M H. Effect of ammonium and nitrate on callus growth of tobacco and soybean and activities of nitrogen metabolizing enzymes[J]. Plant Tiss. Cult,1998(25):61-67.
- [4] Lim S,Seon H,Son S H et al. Effect of light,inorganic salts and growth retardants on bulblet formation in Lilium[J]. Kor. Soc. Hort. Sci,1998(17):129-136.
- [5] Eun J S,Park J S,Kim Y S. Effects of culture conditions on the in vitro propagation of plantlets derived from apical meristem in Ipomoea batatas[J]. Plant Biotech,2002,(2)9:37-40.
- [6] Jarret R L,Gawel N. Chemical and environmental growth regulation of sweet potato(Ipomoea batatas (L.) Lam.) in vitro[J]. Plant Cell Tiss. Org. Cult,1991,(25):153-159.
- [7] Lian M L,Piao X C,Yang C S et al. Effect of MS Medium Strength and Nitrogen Concentration on Bulblet Formation and Growth of Lilium In Vitro[J]. Korean journal of plant tissue culture,2001(28):341-346.

Effects of sugar and nitrogen on virus-free plantlet growth of sweet potato in vitro

WANG Shou-ming¹, XU Xue-feng², LIAN Mei-lan¹,
PIAO Xuan-chun^{*}, PIAO Yong-yu³

(1. Department of Horticulture, Agricultural College of Yanbian University, Longjing Jilin 133400, China;

2. Agricultural Scientific and Technical College, Jilin 132101, China;

3. Landscape Administrative Office, Yanji Jilin 133000, China)

Abstract: The effects of different types of sugar, sugar with different concentrations, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$, and total nitrogen in culture medium on the micropropagation of sweet potatoes were studied with nodal cuttings of virus-free plantlet. The results showed that the plantlet growth was favored in the 50 g/L or 70 g/L sucrose or white sugar, 30/30 (mM /mM) $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$, and 30 mM or 60 mM total nitrogen concentration. Considering the medium cost, the medium of MS+ 50 g/L white sugar + 30/30 (mM /mM) $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ + 30 mM total nitrogen was optimal for sweet potato growth in vitro. During the acclimatization stage, the survival rate could reach 95% when the plantlets were transferred in pots containing vermiculite and peat.

Key words: sweet potato; sugar type; sugar concentration; $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$; total nitrogen