

# 甘薯品种南薯 88 的组织培养及植株再生研究

朱爱科<sup>1</sup>, 李育明<sup>2</sup>, 王梅<sup>2</sup>, 彭正松<sup>1\*</sup>, 冯晓<sup>1</sup>

(1. 西华师范大学生命科学学院, 四川南充 637002; 2. 四川省南充市农业科学研究所国家甘薯改良中心南充分中心, 四川南充 637000)

**摘要** [目的]为南薯 88 的离体筛选及遗传转化奠定基础。[方法]以南薯 88 的叶片和叶柄为外植体, 置于不同激素配比的培养基中, 进行组织培养及植株再生, 研究不同激素及外植体对南薯 88 植株再生的影响。[结果]单独使用 6-BA、NAA 诱导愈伤组织的效果不理想。过高浓度的 2,4-D 不利于外植体根的形成, 也不利于芽的诱导。在 MS+NAA 1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L、MS+2,4-D 0.05 mg/L+KT 1 mg/L 培养基中, 两种外植体的出愈率均达 100%, 根分化率均达 100%, 叶片的芽分化率分别为 20%、7%, 叶柄的芽分化率均为 7%, 成功获得再生植株。相同的培养基, 不同外植体的愈伤组织生长情况差异不大, 器官的分化表现出一定的差异。[结论]南薯 88 组织培养较适宜的培养基为 MS+NAA 1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L、MS+2,4-D 0.05 mg/L+KT 1 mg/L。南薯 88 叶片的分化能力大于叶柄。

**关键词** 甘薯; 南薯 88; 组织培养; 植株再生

**中图分类号** Q9431.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)05-01815-02

## Study on the Tissue Culture and Plant Regeneration of Good Quality Sweet Potato Variety Nanshu 88

ZHU Ai-ke et al (College of Life Science, China West Normal University, Nanchong, Sichuan 637002)

**Abstract** [Objective] The purpose of the study was to lay foundation for in vitro screening and genetic transformation of Nanshu 88. [Method] The leaf and leafstalk of Nanshu 88, as explants, were put into the media with different hormone combinations for tissue culture and plant regeneration so as to study the influences of different hormones and explants on the plant regeneration of Nanshu 88. [Result] The effect of solely using 6-BA and NAA to induce callus was not perfect. 2,4-D with too high concentration was not favorable for the root formation and bud inducement of explants. On the media of MS+NAA 1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L and MS+2,4-D 0.05 mg/L+KT 1 mg/L, the callus induction and root differentiation of the 2 explants all achieved 100%, the bud differentiation rates of leaf were 20% and 7% resp., the bud differentiation rates of leafstalk were all 7% and the regenerated plants were obtained successfully. On the same media, the growth conditions of calli from different explants had little difference and the differentiations of organs showed some difference. [Conclusion] The more suitable media for tissue culture of Nanshu 88 were MS+NAA 1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L and MS+2,4-D 0.05 mg/L+KT 1 mg/L. The differentiation ability of Nanshu 88 leaf was bigger than that of leafstalk.

**Key words** Sweet potato; Nanshu 88; Tissue culture; Plant regeneration

甘薯(*Ipomoea batatas* L.)属旋花科甘薯属,是一种蔓生性草本植物。甘薯是一种多用途作物,可以作为粮食、饲料和工业原料等。南薯 88(原系号 81-88)是四川省南充市农业科学研究所用晋专 7 号作母本,美国红作父本进行有性杂交,经 6 年连续试验研究选育而成。该品种 1988 年 3 月经四川省农作物品种审定委员会审定通过,并命名为南薯 88。因其品质优良,在全国范围内被广泛种植。该试验以南薯 88 为材料,将其叶片以及叶柄转入不同激素配比的培养基中,进行组织培养,研究在不同培养基中南薯 88 的再生情况,旨在为其进行离体筛选及遗传转化奠定一定的基础。

### 1 材料与方

**1.1 材料** 供试甘薯为南薯 88。

**1.2 方法** 取大田生长旺盛的茎尖长约 2~3 cm,洗净后放入超净工作台,用浓度 70%酒精表面杀菌 30 s 后立即转入浓度 0.1%升汞溶液中杀菌 10 min。用无菌蒸馏水洗净,接种在不含激素的固体 MS 培养基中。将所得无菌苗的叶柄剪成长 3 mm 的小段,叶片剪成 3 mm×3 mm 的小块,转入添加不同激素配比的 MS 固体培养基中培养(培养基中激素成分见表 1)。各培养基均附加 30 g/L 蔗糖和 7 g/L 琼脂,调节 pH 值至 5.8,培养温度(27±1)℃,光照强度 1 500 lx,每天光照 16 h。30 d 统计其出愈率和根分化率,60 d 统计芽分化率。

**基金项目** “十一五”国家支撑计划“项目优质高产专用甘薯育种技术研究及新品种选育”(2006BAD01A60-2);四川省青年科技基金项目(2005-16-246)。

**作者简介** 朱爱科(1980-),男,四川南充人,硕士研究生,研究方向:植物遗传学。\* 通讯作者。

**收稿日期** 2007-10-09

表 1 培养基中各激素浓度  
Table 1 Hormone concentrations in culture medium

培养基编号 No. of culture medium	激素浓度 Hormone concentration//mg/L			
	NAA	2,4-D	6-BA	KT
1	0	0	0.5	0
2	1	0	0	0
3	1	0	0.1	0
4	1	0	0.2	0
5	1	0	0.5	0
6	1	0	1.0	0
7	1	0	2.0	0
8	2	0	0.5	0
9	0	0.02	0	0.5
10	0	0.02	0	1.0
11	0	0.02	0	2.0
12	0	0.05	0	0.5
13	0	0.05	0	1.0
14	0	0.05	0	2.0
15	0	0.2	0	1.0
16	0	0.5	0	1.0

### 2 结果与分析

**2.1 愈伤组织的诱导结果** 外植体在不同激素配比的培养基中培养,愈伤组织的诱导和生长情况差异较大。外植体接入培养基后,一般 2~3 d 时其切口处开始膨大,5~7 d 在切口处开始长出愈伤组织;随着时间的推移,愈伤组织逐渐膨大。1 号培养基中,愈伤组织颜色较黄,质地松脆,最后褐化死亡;2 号培养基中无愈伤组织产生;3、4、5、8 号培养基中,愈伤组织生长初期颜色较浅,多为嫩绿色或者绿白色,较致密,后颜色逐渐变深,最后为深绿色甚至深红色或者红褐色,质地紧密;6、7 号培养基愈伤组织初期也多为嫩绿色或者绿白色,后颜色逐渐转为黄绿色或者黄白色,较致密;9~14 号培养基中,愈伤组织初期为浅绿色,然后逐渐变为

绿色,带少许黄色;15、16号培养基中,愈伤组织初期为浅绿色,后颜色变深,最后褐化死亡。不同的外植体在相同培养基中,愈伤组织的诱导和生长情况差异不大。30 d时,统计出愈率,结果见表2。

表2 不同外植体在不同培养基中的出愈率

Table 2 Callus induction rate of different explants in different culture medium

培养基编号 No. of culture medium	叶片 Leaf		叶柄 Petiole	
	外植体数//个 No. of explants	出愈率//% Callus induction rate	外植体数 个 No. of explants	出愈率//% Callus induction rate
1	15	47	15	40
2	15	0	15	0
3	30	100	30	100
4	30	100	30	100
5	30	100	30	100
6	25	100	25	100
7	30	100	30	100
8	15	100	15	100
9	30	100	30	100
10	30	100	30	100
11	30	100	30	100
12	30	100	30	100
13	30	100	30	100
14	30	100	30	100
15	15	80	15	67
16	15	67	15	67

2.2 器官的分化结果

2.2.1 根的分化。外植体转入适宜的培养基,约10 d后,在愈伤组织上慢慢分化出不定根。不定根均从愈伤组织上分化而来,这与张宝红在其他材料上的研究情况<sup>[4]</sup>有所出入。分化根有两种,一种为粗根,直径>1 mm,生长快,分枝多,但数目较少,一般一块愈伤组织仅能分化出0~3条,且都生长进培养基,长度10~30 cm;另一种根为细根,直径<1 mm,没有分枝,生长较慢,但数目较多,可以向各个方向生长,长度多为2~10 cm。与前人用其他材料的研究结果相一致<sup>[1-3]</sup>。30 d时统计不定根的分化率,结果见表3。1号培养基中,仅加入细胞分裂素(6-BA),未添加生长素类物质,虽有少量愈伤组织产生,但是未见器官分化。2号培养基中,虽然加入生长素(NAA),但没有添加细胞分裂素类物质,直至最后褐化死亡,均未观察到有愈伤组织产生,也没有根和芽的分化,与前人研究不符<sup>[4-5]</sup>。在3~5以及8~14号培养基中,可以观

表3 不同培养基中不同外植体的根分化率

Table 3 Root differentiation rate of different explants in different culture medium

培养基编号 No. of culture medium	叶片 Leaf		叶柄 Petiole	
	外植体数//个 No. of explants	出愈率//% Callus induction rate	外植体数//个 No. of explants	出愈率//% Callus induction rate
1	15	0	15	0
2	15	0	15	0
3	30	100	30	100
4	30	100	30	100
5	30	100	30	100
6	25	20	25	0
7	30	0	30	0
8	15	100	15	100
9	30	93	30	93
10	30	100	30	97
11	30	100	30	100
12	30	100	30	100
13	30	100	30	100
14	30	100	30	100
15	15	14	15	14
16	15	0	15	7

察到大量不定根的产生。3、4、5、8号培养基中NAA与BA的比例为(2~10)/1,而9~14号培养基中,2,4-D与KT的比例却比较低,仅为1/(10~100),前面4种组合跟后面5种组合中生长素与细胞分裂素的比例相差很大,但是根的分化情况却差不多,这可能是因为2,4-D对根的促进能力大于NAA,同时KT对根的抑制作用要小于6-BA的缘故。

2.2.2 芽的分化。前人研究表明,芽的分化是甘薯植株再生中最困难的一步<sup>[1-3,6]</sup>。该研究再次证明了这一观点。外植体转入培养基,50 d后观察到有部分培养基中开始分化出芽。芽的分化情况分为两种:①在愈伤组织上分化出芽;②在分化出的不定根上分化出芽(图1)。这与前人用其他试验材料的研究结果一致<sup>[3,6-7]</sup>。60 d时统计出芽率,结果见表4。



注:左边为从愈伤组织分化出芽;右边为从不定根上分化出芽。  
Note: Combination without differentiation of bud is omite.

图1 南薯88组培苗两种出芽情况

Fig. 1 Two budding status of tissue culture seedlings of Nansu 88

表4 不同培养基中不同外植体芽的分化率

Table 4 Bud differentiation rate of different explants in different culture medium

外植体 Explants	培养基编号 No. of culture medium	外植体数//个 No. of explants	芽分化率//% Bud differentiation rate
叶片 Leaf	5	30	20
	12	30	7
	13	30	7
叶柄 Petiole	5	30	7
	13	30	7

注:未分化出芽的组合均略去。

Note: Left: bud differentiated from callus; Right: Bud differentiated from adventitious bud.

3 结论与讨论

3.1 南薯88组织培养过程中激素的影响 在1号培养基中,仅能观察到少量愈伤组织的形成,并且愈伤组织的生长情况也明显不如其他组合,可见单独使用细胞分裂素类物质,虽然能够诱导愈伤组织,但是情况不理想。在3号培养基中,没有观察到愈伤组织的形成,可见单独使用生长素类物质,不能顺利诱导出愈伤组织。而其他组合对愈伤组织诱导的效果都不错,绝大部分组合出愈率可达100%,可见,南薯88是一种很容易诱导出愈伤组织的材料。根对生长素类物质极其敏感,在极低浓度下就可以促进生长。而细胞分裂素却抑制根的形成,但与其与生长素相互作用,能促进芽的分化。在植物离体培养中,生长素/细胞分裂素的比例高时利于根的发生,比例低时利于芽的发生。该试验6、7号

(下转第1901页)

454.55 kg,耗电 159.5 kWh,耗煤 1 451 kg,每千克烟耗煤量 3.2 kg,每千克烟耗电 0.3 kWh,每千克烟烘烤成本达 0.91 元。与对照普通立式小烤房相比,装烟量多出近 2 800 kg,干

烟量多出 287.80 kg,耗煤多出 794 kg,但每千克烟耗煤减少 1.3 kg,每千克烟成本减少 0.29 元。可见 YM-A 型卧式密集烤房能有效地提高热能利用率,并且由于缩短了烘烤时间,

表 5 2 种烤房烘烤成本对比

Table 5 Comparison of curing cost of two types of curing barns

烤房 Curing barn	装烟量//kg Tobacco loading amount	干烟重//kg Dry tobacco weight	耗煤//kg Coal consumption	耗电//kWh Electricity consumption	每千克烟耗煤//kg Coal consumption per kg tobacco	每千克烟耗电//kWh Electricity consumption per kg tobacco	每千克烟成本//元 Cost of per kg tobacco
YM-A 型卧式密集烤房 YM-A type horizontal bulk curing barn	3 600	454.55	1 451	159.5	3.2	0.30	0.91
普通立式小烤房 Common erect-type curing barn	800	166.73	752	26.7	4.5	0.16	1.20
差值 Difference value	2 800	287.82	794	132.8	-1.3	0.14	0.29

注:用的煤为华宁柴煤。

Note: Coal used in the test is Huaning firewood coal.

减少了斤烟用煤量,有效地降低了烘烤成本<sup>[5]</sup>。

### 3 结论与讨论

YM-A 型卧式密集烤房在控温控湿性能方面优于普通立式小烤房,能较好地控制烤房内温、湿度;烤房平面温差小于 0.5 ℃,垂直温差不高于 1.5 ℃,烤房内叶间风速提高,能较好地解决烤房温差问题,缩短烟叶变黄时间,提高烟叶质量,使上等烟比例大于 41%,中上等烟比例达到 91%;烘烤成本比普通立式小烤房低 0.29 元/kg。

YM-A 型卧式密集烤房是烤烟生产中烘烤的新型专用设备,其装烟与加热室分离,装烟密度大,是普通烤房的 2~5 倍,使用风机进行强制通风和热风循环提高了热能利用率,能有效降低烘烤成本;其特有的温湿自控系统、自动加

煤机,比其他密集烤房经济耐用、易维护;操作简单方便,建造成本比其他密集烤房低(仅为 1 万元左右),科学实用,符合云南现行的烤烟生产实际,可在生产中示范推广。

### 参考文献

- [1] 杨士福.云烟烘烤与分级[M].昆明:云南科学技术出版社,1994:33-35.
- [2] 雷丽萍,崔国民.云南烤烟生产新技术[M].北京:北京科学技术出版社,2006:58-70.
- [3] 郝静.烟草优质高产栽培与烘烤技术[M].北京:中国农业出版社,2006:80.
- [4] 王能如.烟叶调制与分级[M].北京:中国科学技术大学出版社,2006:68-69.
- [5] 官长荣,周义和,杨焕文.烤烟三段式烘烤导论[M].北京:北京科学技术出版社,2006:246-248.

(上接第 1816 页)

培养基中,高浓度的 6-BA 抑制了根的发生,根的分化率由 100%下降至 20%以下,同时,高浓度的 6-BA 也未能促进芽的分化。这可能是因为不定根的数量大大减少,影响到营养成分的吸收,所以虽然细胞分裂素浓度提高,但也没有芽的形成。因此,在南薯 88 组织培养过程中,过高浓度的细胞分裂素不仅对芽的分化没有帮助,甚至会适得其反。15 和 16 号培养基中,2,4-D 与 KT 的比例相比于 9~14 号培养基有所提高,但是根的数量却不如 9~14 号培养基,可见,2,4-D 虽然对根有很强的促进能力,但浓度过高反而不利于南薯 88 根的分化。在 5、12、13 号培养基中,均有芽的分化,但是 5 号培养基中 NAA 的浓度(1 mg/L)远高于 12、13 号培养基中 2,4-D 的浓度(0.05 mg/L)。进一步增加 2,4-D 的浓度(15、16 号培养基),均未见有芽分化,可见在南薯 88 组织培养中,2,4-D 的适宜浓度较小,过高浓度的 2,4-D 既不利于根的形成,也不利于芽的诱导。

**3.2 南薯 88 组织培养过程中外植体的影响** 相同的培养基,不同的外植体,它们在器官的分化上表现出一定的差异。在 6 号培养基中,由于 6-BA 的浓度提高,对根的分化表现出强烈的影响,仅有叶片能够分化出不定根,而且根分化

率相比 3~5 号培养基明显降低,仅为 20%,而叶柄无根分化;7 号培养基中,随着 6-BA 浓度的进一步提高,无论是叶片还是叶柄,均未能见到根的分化。在 5 号培养基中,叶片的芽分化率(20%)也明显高于叶柄的芽分化率(7%);在 12 号培养基中,仅见叶片外植体分化出芽,而叶柄外植体未能分化出芽。所以,可初步认为南薯 88 外植体的器官分化能力,叶片大于叶柄。

### 参考文献

- [1] 张宝红.甘薯叶片组织培养一次成苗的研究[J].遗传,1993,15(5):27-31.
- [2] 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.
- [3] 周丽艳,高书国,毕艳娟,等.甘薯愈伤组织诱导及植株再生的研究[J].中国农学通报,2003,19(3):61-64.
- [4] 张宝红,丰嵘.甘薯组织培养高效植株再生体系的建立[J].西北农业学报,1992,1(4):51-56.
- [5] 陈克贵,张义正.甘薯离体培养直接再生形成植株的研究[J].四川大学学报,1999,36(4):741-746.
- [6] 谈锋,李坤培,兰利琼,等.甘薯体细胞胚的发生和植株再生[J].作物学报,1993,19(4):372-375.
- [7] 刘爱华,张志芬,徐丽娟,等.甘薯近缘野生种 *Ipomoea littoralis* Blune 叶片、叶柄愈伤组织诱导及其植株再生[J].莱阳农学院学报,1999,16(1):44-46.

## 科技论文写作规范——作者

论文署名一般不超过 5 个。中国人姓名的英文名采用汉语拼音拼写,姓氏字母与名字的首字母分别大写;外国人姓名、名字缩写可不加缩写点。