

# 怀山药茎段愈伤组织的诱导与多芽体的形成

李明军

(河南师范大学 生命科学院, 河南 新乡 453002)

摘要: 对怀山药带芽茎段和无芽茎段的离体培养研究结果表明: (1) 在相同的培养条件下, 无芽茎段有利于愈伤组织的形成, 但不同的激素及其组合对愈伤组织的诱导效果不同, 最佳的激素组合为 MS+ 6-BA 1 mg/L (单位下同) + NAA 0.5; 带芽茎段有利于多芽体的形成, 在 6-BA 1~ 2+ NAA 0.1 的培养茎上, 均能形成 3~ 5 芽的多芽体, 在此基础上, PP<sub>333</sub> 能够增加多芽体中芽的数目, 而 GA 则使多芽体中芽的数目减少。(2) 通过带芽茎段形成多芽体的方法可以在短时间内繁殖出大量的试管苗, 为怀山药优良品种的迅速推广种植提供了一条较为实用的途径。

关键词: 怀山药; 茎段; 愈伤组织; 多芽体

中图分类号: S632.104.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2000)02-0085-04

怀山药(*Dioscorea opposita*) 为薯蓣科薯蓣属的攀缘性草本植物, 是我国著名的“四大怀药”之一。主产于河南温县、武陟、沁阳、博爱等地, 以块茎和珠芽(中药称为余零子, 俗称山药蛋) 入药。有“主治伤中, 补虚羸, 除寒热邪气, 补中益气力, 长肌肉。久服耳聪目明, 轻身不饥延年”等功能<sup>[1]</sup>, 其产品畅销国内外, 尤其是东南亚一带。但由于长期营养繁殖, 造成其品质退化, 产量降低, 某些优良品种(如铁棍山药) 已被广大药农放弃种植, 几乎处于濒临灭绝的境地。因此, 改善品质、提高产量, 并使其优良品种迅速推广种植, 已成为怀山药生产中急待解决的一个重要问题。

薯蓣属植物的离体繁殖已有报道<sup>[2,3]</sup>, 但在国内研究较少。为了解决怀山药生产中存在的问题, 近年来, 我们开展了怀山药的组织培养研究工作, 对其茎尖、叶片、块茎、珠芽和茎段等不同外植体的培养进行了广泛的研究, 获得了大量茎尖培养苗、再生植株和微型块茎, 并成功地建立起了怀山药的繁殖体系<sup>[4~6]</sup>。本文报道对茎段愈伤组织的诱导和多芽体形成的研究结果。

## 1 材料和方法

试验材料为怀山药优良品种铁棍山药。按文献[4]方法建立无菌培养体系, 并对无菌苗进行继代培养。将培养 3 a 的无菌苗分割成 0.5 cm 长的带芽茎段(茎节上带一个长 0.5 mm 左右的小芽) 和无芽茎段, 分别接种在含有 BA, KT, NAA, GA, PP<sub>333</sub> 等不同植物生长物质的 MS 基本培养基上(表 1), 观察愈伤组织的出现和多芽体的形成, 40 d 后统计结果。培养室温度为 (25±2) °C, 光强为 2 000 lx, 光照时间为 16 h/d。

收稿日期: 1998-12-30  
基金项目: 河南省科技攻关项目; 省科委、省教委自然科学基金研究项目  
作者简介: 李明军(1962-), 男, 副教授, 生物学硕士, 主要从事植物生理学和植物组织培养等方面的教学和研究工作。

## 2 结果与分析

### 2.1 无芽茎段的培养和愈伤组织的诱导

无芽茎段培养 1~ 2 周时, 有的开始从两端膨大变粗。3 周左右, 有的开始从切口处形成白色的愈伤组织。5 周时, 有的从愈伤组织上分化出芽且有少量根生成, 根短而纤细。6 周时, 除了 ck, 1 号和 5 号培养基中茎段全部褐化干枯, 无愈伤组织形成外, 其他培养基中均有愈伤组织的形成(表 1)。

表 1 不同浓度激素及组合对怀山药无芽茎段愈伤组织诱导的影响

培养基 序号	激素浓度 (mg/L)	蔗糖浓度 (%)	接种茎段数 (个)	出愈伤组织数 (个)	出愈率 (%)
ck	MS	3	11	0	0
1	6- BA 0.5	3	30	0	0
2	6- BA 1	3	29	1	3.40
3	6- BA 2	3	30	1	3.30
4	6- BA 4	3	31	1	3.20
5	6- BA 8	3	21	0	0
6	6- BA 8	6	16	1	6.25
7	6- BA 8	8	11	2	18.10
8	6- BA 1+ NAA 0.1	3	10	1	10.00
9	6- BA 1+ NAA 0.5	3	16	10	62.50
10	6- BA 1+ NAA 1	3	10	2	20.00
11	6- BA 2+ NAA 0.1	3	10	3	30.00
12	6- BA 2+ NAA 0.5	3	11	6	54.00
13	6- BA 2+ NAA 1	3	10	1	10.00
14	6- BA 1+ NAA 0.1+ PP <sub>333</sub> 0.5	3	12	1	8.30
15	6- BA 1+ NAA 0.1+ GA 0.5	3	10	4	40.00

从表 1 可知:(1)6- BA 与 NAA 的配合使用(如 8~ 13 号)均较单独使用 6- BA(如 1~ 4 号)出愈率高。(2)在 6- BA 浓度为 1 或 2 时,NAA 的浓度均以 0.5 时出愈率最高。分别为 62.5% 和 54%。(3)在 6- BA 1+ NAA 0.1 的基础上增加 PP<sub>333</sub> 则使出愈率降低(如 14 号), 增加 GA 则使出愈率升高(如 15 号)。这表明 PP<sub>333</sub> 具有抑制愈伤组织形成的作用, 而 GA 与 6- BA, NAA 组合使用对愈伤的诱导具有协同促进作用。(4)在 6- BA 浓度一定情况下, 随着蔗糖浓度的提高, 出愈率增加(如 5~ 7 号)。这说明, 蔗糖浓度提高有利于愈伤组织的诱导。

### 2.2 带芽茎段的培养和多芽体的形成

带芽茎段培养 1 周后, 大部分茎段上的芽开始膨大、生长。2 周后, 有的茎段开始形成多芽体。4 周后, 除对照(单芽)外, 茎段上均有 2 个以上的芽形成。6 周后发现, ck 仍为单芽, 6- BA 1~ 2+ NAA 0.1~ 1 的组合单芽数为 3~ 5, 6- BA 1+ NAA 0.1+ PP<sub>333</sub> 0.5 三种组合使用使单芽数大大提高(为 7), 而 6- BA 1+ NAA 0.1+ GA 0.5 三种组合使用使单芽数大大降低(为 2)。当 6- BA 为 8 时, 随着蔗糖浓度的提高, 单芽数也逐渐增加, 如蔗糖浓度分别为 3%, 6%, 8% 时, 茎段上平均形成的单芽数则分别为 2, 3 和 4。这说明, 蔗糖浓度的提高也有

促进多芽体形成的作用。此外还发现, 带芽茎段在培养过程中很少有愈伤组织的形成。

### 3 讨论

#### 3.1 不同的茎段培养效果不同

在相同培养条件下, 无芽茎段有利于愈伤组织的诱导, 而带芽茎段则有利于多芽体的形成。形成这种现象的原因可能是由于潜伏芽的萌发、生长造成了茎段内源激素的分布和利用不同所致。

#### 3.2 PP<sub>333</sub>和 GA 在愈伤组织的诱导和多芽体的形成过程中表现出了截然相反的作用效应

在愈伤组织的诱导中, PP<sub>333</sub>抑制愈伤组织的形成, 而 GA 则促进愈伤组织的形成; 在多芽体的形成过程中, PP<sub>333</sub>促使多芽体中芽的数目增多, 而 GA 则使多芽体中芽的数目减少。即: PP<sub>333</sub>有利于芽的分化, 而 GA 则不利于芽的分化。GA 是一种促进植物生长的激素, 而 PP<sub>333</sub>则是一种专一地抑制 GA 生物合成的植物生长延缓剂<sup>[7]</sup>。PP<sub>333</sub>对愈伤组织形成的抑制作用和对多芽分化的促进作用, 可能是通过降低茎段内源 GA 的含量而实现的。

#### 3.3 形成多芽体的途径有利于优良试管苗的快速繁殖

通过带芽茎段形成多芽体的方法, 可迅速获得大量的试管苗, 若按多芽体中单芽数为 5, 繁殖周期数为 8 来计算, 从一个带芽茎段开始, 一年可繁殖 39 万多株试管苗。此外, 这种方法由芽到芽, 没有经过器官发生途径, 一般不易产生变异。因此, 这条途径有利于怀山药优良品种的大量繁殖和迅速推广种植。

### 参考文献:

- [1] 聂桂华, 周可范, 董秀华, 等. 山药的研究概况[J]. 中草药, 1993, 24(3): 158.
- [2] Hiroyuki Kohmura, Hajime Araki, Masashi Imoto. Micropropagation of 'Yamatoimo' Chinese yam (*Dioscorea opposita*) from immature leaves[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1995, (40): 271–276.
- [3] Lauzer D, Laubin G, Vincent G, et al. In vitro propagation and cytology of wild yams, *Dioscorea abyssinica* Hoch and *D. mangelotiana* Mège [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1992, (28): 215–223.
- [4] 李明军, 杨建伟, 张嘉宝, 等. 怀山药的茎段培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(4): 275–276.
- [5] 李明军, 张嘉宝. BA、KT、NAA 和 PP<sub>333</sub>对怀山药茎尖培养的影响[A]. 中国植物学会 65 周年学术报告及论文摘要汇编[C]. 北京: 中国林业出版社, 1998. 432–424.
- [6] 李明军, 汤菊香, 杨建伟, 等. 怀山药器官培养与植株再生的研究[A]. 植物生理学与跨世纪农业研究[C]. 北京: 科学出版社, 1999. 150–153.
- [7] 李明军, 刘纪华, 张嘉宝, 等. 多效唑(MET)在玉米组培中的作用[J]. 作物学报, 1997, 23(6): 759–761.

## Callus Induction and Multi-bud Body Formation from Stem Segment of *Dioscorea opposita*

LI Ming-jun

(College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453002, China)

**Abstract:** The studies on *in vitro* culture of stem segments with bud and budless segments of *Dioscorea opposita* showed: (1) In the same culture condition, the budless stem segments were more advantageous to callus formation, but different phytohormones and their combination had different effects on callus induction and the most suitable combination were MS+ 6-BA 1 mg/L+ NAA 0.5 mg/L. The stem segments with bud were more favourable to multi-bud body. Multi-bud body with 3–5 buds were formed on MS basic medium containing 6-BA 1–2 mg/L+ NAA 0.1 mg/L. On this basis, the number of buds in multi-bud body was increased by adding PP<sub>333</sub>, but reduced by adding GA, to the medium. (2) A large number of plantlets might be reproduced within a short time by way of the formation of multi-bud body by stem segment with bud, thus, providing a useful way for the rapid popularization and planting of excellent varieties of *Dioscorea opposita*.

**Key words:** *Dioscorea opposita*; Stem segment; Callus; Multi-bud body