

# 怀山药的离体繁殖<sup>△</sup>

河南师范大学生物系(新乡 453002) 李明军\* 李金亭 朱命炜 张嘉宝

**摘 要** 怀山药带节茎段在 MS+6-BA 1~2 mg/L+NAA 0.1~1 mg/L 的培养基上培养,均能直接形成多芽体,均芽数为 3~5。将多芽体转入 MS 或 MS+KT 2 mg/L+NAA 0.02 mg/L+PP<sub>333</sub> 0.1 mg/L 的培养基上均能诱导生根,形成再生植株。但后者形成的苗生长健壮,叶色浓绿,有较强的生活力。

**关键词** 怀山药 节培养 多芽体 再生植株

怀山药又名薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb., 为薯蓣科薯蓣属的一种缠绕草本肉质根状茎植物,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,以根状茎和珠芽(中药称为余零子,俗称山药蛋)入药。具有健脾、固精、补肺、益肾的功能,主治肺虚咳嗽、脾虚、腹泻、糖尿病、遗精尿频、赤白带下等症,因其药用价值高、品质好,故其产品畅销国内外<sup>[1,2]</sup>。但由于长期进行营养繁殖,致使其品质退化,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亟待解决的一个重要问题。

植物组织培养技术的发展为植物品种的改良提供了一个重要的手段。70 年代中期,植物组织培养技术开始在薯蓣属植物中应用,并在某些种的快速繁殖中获得成功<sup>[3,4]</sup>。为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,对茎尖、叶片、茎段、余零子等不同外植体的培养进行了广泛的研究,并通过器官发生途径成功地建立了植株再生繁殖体系<sup>[5]</sup>。但这种繁殖方式

可能会产生体细胞无性系变异,不利于优良品种的快速繁殖<sup>[6]</sup>。通过节培法既可以达到快繁的目的,又能使优良品种的优良种性得以保持,这在薯蓣属的某些种中已有报道<sup>[7,8]</sup>。为此,我们也开展了利用怀山药带芽茎段进行微型繁殖的研究。现将这方面的研究结果报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料:怀山药 *Dioscorea opposita* 优良品种“铁棍山药”,来自河南温县农科所,由王乾据高级农艺师提供。

1.2 方法:按前法<sup>[5]</sup>获得无菌试管苗并进行继代培养。将继代培养达 3 年的无菌苗在超净工作台上切成长 0.5 cm 左右的带一芽茎段,接种在诱导多芽形成的不同培养基上,40 d 后统计结果(表 1)。多芽形成后将其转入壮苗生根培养基中,以获得完整的再生植株。

基本培养基为 MS,并附加不同种类的植物生长调节剂,如 BA、KT、GA 和 PP<sub>333</sub> 等,蔗糖浓度为 3%、6%和 8%,琼脂为 0.8%,调 pH 为 5.8,在 121°C,108 kPa 的条件下高压灭菌 20 min。

培养条件为温度 25°C,光强 2 000 lx,每天光照 16 h。

\* Address: Li Mingjun, Department of Biology, Henan Normal University, Xinxiang

李明军 男,副教授,1985 年获中国科学院植物研究所理学硕士学位。现在河南师范大学生物系任教,多年来一直从事植物生理学的教学与植物组织培养方面的研究工作。近年来在国内外学术期刊上发表或在学术会议上交流的研究论文 30 余篇,参编专著 3 部,主持“四大怀药产业化技术研究”等四项河南省科技攻关项目和省科委、省教委的自然科学基金研究项目。主持的“怀山药快繁体系的建立”项目获河南省高等学校成果暨全省科技成果展示会银奖。

<sup>△</sup> 河南省自然科学基金和省科技攻关项目

## 2 结果与讨论

将带芽茎段接种在表1的12种培养基中,3 d后有芽萌发生长(如10号)。7 d后,大部分茎段上的芽也开始膨大、生长,如CK:1、2、3、4、5、6、9、10号等。14 d后开始形成多芽体(如10号)。30 d后,除CK(只有单芽)外,所有培养基中都有2个以上的芽(即多芽体)的形成,其中7号培养基中芽最多(图1)。40 d后,培养茎段的出芽率及每个茎段的平均芽数(即均芽数)见表1。

表1 不同激素及其组合对带芽茎段多芽体形成的影响

培养基序号	激素浓度(mg/L)	蔗糖浓度(%)	茎段数(个)	芽数(个)	出芽率(%)	均芽数(个)
CK	0	3	12	12	100	1
1	6-BA 1+NAA 0.1	3	24	24	100	3
2	6-BA 1+NAA 0.5	3	27	20	55.6	3
3	6-BA 1+NAA 1	3	21	20	71.4	4
4	6-BA 2+NAA 0.1	3	24	24	100	3
5	6-BA 2+NAA 0.5	3	24	18	75	4
6	6-BA 2+NAA 1	3	18	18	100	5
7	6-BA 1+NAA 0.1 +PP <sub>333</sub> 0.5	3	24	18	75	7
8	6-BA 1+NAA 0.1 +GA 0.5	3	24	18	75	2
9	6-BA 8	3	21	12	57.1	2
10	6-BA 8	6	24	15	62.5	3
11	6-BA 8	8	21	18	85.7	4

在不附加任何外源激素的MS培养基上,叉蕊薯蓣带芽段不能增长<sup>[8]</sup>,而怀山药带芽茎段不仅可以萌发,而且出芽率为100%(表1),造成这种差别的原因除了植物种类不同外,可能与离体培养的时间有关,前者直接从田间取材,后者则采用离体培养达3年之久的无菌苗。这样就造成了两种植物的相同外植体(带芽茎段)内源激素水平的不同。同时还发现,芽茎段虽然能在无任何外源激素的MS培养基上萌发,且分化的苗生长旺盛(高达5 cm左右,有少量白色细根出现),但由于每个带芽茎段仅能形成一个单芽,繁殖系数较低,不能用于优良品种的大量繁殖。

6-BA(1~2)与NAA(0.1~1)配合使用可以使带芽茎段形成多芽体,使均芽数达到

3~5个,其中1、4、6号培养基中出芽率分别为100%。而6号培养基中均芽数最高(为5),这些组合中芽的生长速度虽然不及对照快,但由于繁殖系数高,适用于优良种苗的离体繁殖,这些结果与Lahzer等(1992)和张宗勤等(1998)报道的结果基本一致。

从表1可以看出,PP<sub>333</sub>和GA都降低了带芽茎段的出芽率,但PP<sub>333</sub>却大大地提高了均芽数,在所有处理中为最高(达到7),而GA却降低了均芽数(与1号相比,仅为2)。从形态上来看,GA使芽形成的苗细高(约3 cm),而PP<sub>333</sub>却使苗矮壮(高约1 cm)。GA是一种促进植物生长的激素,而PP<sub>333</sub>则是专一地抑制GA生物合成的一种植物生长延缓剂<sup>[9]</sup>。本实验结果表明:GA不利于芽的分化;PP<sub>333</sub>对多芽体的形成有显著的促进作用,它可能是通过降低植物体内GA的含量而实现的。



图1 怀山药带芽茎段形成的多芽体

张宗勤的实验指出,在MS单独附加6-BA 8 mg/L时,无论蔗糖浓度为30 g/L或80 g/L,经1个月的培养均能使叉蕊薯蓣的带芽茎段形成微型薯蓣<sup>[8]</sup>。在相同的条件下,我们在怀山药带芽茎段的培养中却始终未观察到这种现象。但却发现,随着蔗糖浓度的提高,带芽茎段的出芽率和均芽数均增加(表1)。这



图2 多芽体诱导生根

说明,高浓度的蔗糖可以促进芽的萌发和多芽体的形成。需要指出的是,高浓度的 6-BA 与高浓度的蔗糖组合形成的多芽比较短粗、饱满,但不利于后期生长(因为这样的多芽体无根且生长缓慢,转入生根培养基后,不易生根且生长也非常缓慢),有时还观察到畸形苗的出现,故这样的组合不能用于优良品种的快速繁殖。

形成的多芽体在 40 d 时一般无根产生。将这些多芽体转入 MS 或 MS+KT 2mg/L +PP<sub>333</sub> 0.1 mg/L+NAA 0.02 mg/h 培养基中培养 15 d 后即可诱导生根。但前者形成的根细长,后者形成的根则短粗(图 2)。从整株形态来看,前者生长的苗高而细弱,叶色淡绿,而后者形成的苗则健壮,叶色浓绿,更适

合移栽入大田。造成这种差异的原因可能与 PP<sub>333</sub> 能够改善试管苗的素质,并使其根系发达,生长健壮,适应外界环境能力较强<sup>[10]</sup> 有关。

#### 参考文献

- 1 江苏新医学院编. 中药大词典. 上册. 上海:上海科技出版社,1977:167
- 2 姚宗凡,等主编. 常用中药种植技术. 北京:金盾出版社,1993:70
- 3 Lakshmi SG, et al. J Hort. Sci 1976,51:551
- 4 Mantell SH, et al. J Hort Sci,1978,53:95
- 5 李明军,等. 植物生理学通讯,1997,33(4):275
- 6 Thanutong P I, et al. Theor Appl Genet,1983,66:209
- 7 Lauzer D, et al. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1992,28(2):215
- 8 张宗勤,等. 生物技术,1998,8(1):18
- 9 李明军. 植物学通报,1995,12(2):27
- 10 李明军,等. 作物学报,1997,23(6):759

(1998-07-20 收稿)

### *In vitro* Propagation of Common Yam (*Dioscorea opposita*)

Li Mingjun, Li Jinting, Zhu Mingwei, et al. (Department of Biology, Henan Normal University, Xinxing 453002)

**Abstract** *Dioscorea opposita* Thunb. was micropropagated from nodal culture. This species produced 3~5 buds per node when cultured on modified MS Medium supplemented with 6-BA 1~2 mg/L and NAA 0.1~1 mg/L. Root could be induced when these multibuds were transplanted onto MS basic Medium or MS basic Medium supplemented with KT 2 mg/L, PP<sub>333</sub> 0.1 mg/L and NAA 0.02 mg/L. The regenerated plantlets treated with PP<sub>333</sub> grew robustly and developed deep green leaves with vigour.

**Key words** *Dioscorea opposita* Thunb. nodal culture multiple buds regenerated plantlets

## 《中草药》杂志被引频次在我国科技期刊中的显著地位

1997 年中国科技论文统计源期刊被引次数《中草药》杂志为 711 次,排在全国科技学术期刊的第 14 位,前 20 位的刊物和被引用次数分别依次为:①分析化学 2381②科学通报 2229③高等学校化学学报 1383④植物学报 1138⑤中国科学(B) 1071⑥植物生理学通报 932⑦中华医学杂志 883⑧分析实验室 832⑨药科学报 814⑩中华外科杂志 786⑪化学学报 753⑫物理学报 726⑬植物生理学报 722⑭中草药 711⑮金属学报 700⑯理化检验化学分册 692⑰中华内科学杂志 647⑱中国科学(A) 634⑲中华骨科杂志 632⑳中国农业科学 623。

1997 年中国科学引文数据库的统计数据表明,在被引频次最高的中国科技期刊的 500 名中,综合名次《中草药》杂志列为第 16 位,在其中生命科学和医药卫生类期刊中排名第 4 位,前 20 位的期刊分别依次为:①药科学报 综合名次 9②中华医学杂志 11③中华外科杂志 15④中草药 16⑤中华内科学杂志 17⑥遗传学报 19⑦中华肿瘤杂志 22⑧中华心血管病杂志 23,中华血液学杂志 23⑨生物化学与生物物理进展 25⑩中国药理学报 27⑪中华妇产科杂志 30⑫中华骨科杂志 34⑬昆虫学报 37⑭环境科学 38⑮中国中药杂志 40⑯生物化学与生物物理学报 44⑰中国免疫学杂志 45⑱中华泌尿外科杂志 46⑲中华微生物学和免疫学杂志 52⑳中国中西医结合杂志 53。