

毕克齐长山药节间组织培养及增殖的研究

白瑞琴 石 岭 陈贵华 杨玉林 赵卫国 王秀云

摘 要 以毕克齐长山药节间茎段为外植体进行组织培养,探讨不同激素、N素处理对不定芽的形成及继代增殖的影响。结果表明:0.1 mg · L⁻¹以下低浓度的6-BA对不定芽的形成有促进作用,其中MS+6-BA 0.1 mg · L⁻¹+NAA 0.01 mg · L⁻¹为适宜培养基,不定芽的形成率达75%;不定芽增殖适宜培养基为MS+6-BA 2.0 mg · L⁻¹+NAA 0.5 mg · L⁻¹,平均每个外植体再生芽数7.6个;培养基MS+IBA 0.5 mg · L⁻¹生根率可达100%。

关键词 毕克齐长山药 节间组织培养 增殖

长山药(*Dioscorea batatas* Decne. var. *typica* Makino)别名薯蓣,为薯蓣科薯蓣属一年或多年生缠绕性藤本植物,能形成肥大的地下肉质块茎供食用或药用,营养价值高,是良好的滋补强壮剂,对肾脾病、糖尿病、慢性肠炎等有辅助疗效,也是重要的出口蔬菜之一^[1]。我国是山药的重要原产地和驯化中心,山药种质资源十分丰富^[2]。毕克齐长山药是

内蒙古特产蔬菜兼药用植物之一,是重要的地方种质资源,但种子繁殖困难,由于长期以营养体繁殖,致使其种性退化,产量和品质严重下降。因此,为了保护地方种质资源,通过选择优良单株进行节间组织培养,不仅可以达到快速繁殖的目的,而且能使品种的优良种性得以保持。近年来在薯蓣属植物组织培养研究中,对长山药的研究报道较少^[3,4]。本试验对毕克齐长山药节间组织培养进行研究,为建立其高效再生体系提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料毕克齐长山药为内蒙古地方品种,来

白瑞琴,女,副教授,博士研究生,内蒙古农业大学农学院,010018,电话:0471-4301169, E-mail: bairuiqin2003@yahoo.com.cn

石岭(通讯作者, E-mail: lingshi@hotmail.com),陈贵华,杨玉林,赵卫国,王秀云,通讯地址同第1作者

收稿日期:2006-06-16

生化遗传变异的研究:[硕士学位论文].北京:中国农业科学院研究生院,1999

6 伍少云,奉有璧.不同初始芽率水平贮藏10年后的云南稻麦种质种子活力变化.西南农业学报,2004,17(6):705~711

7 许美玲.烟草种质库种子生活力和活力监测.种子,2005,24(11):53~55

8 覃初贤,宁秀呈,温东强,等.种质库栽培稻种子生活力监测分析.广西农业科学,2004,35(4):282~284

Monitoring the Seed Vigor of Cucumber Preserved in the National Medium-term Genebank of Vegetable Germplasm Resources

Song Jiangping, Li Xixiang, Shen Di, et al. (Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract Cucumber seeds at difference initial germination percentage and difference preservation year from the National Medium-term Genebank of Vegetable Germplasm Resources were selected and their seed vigor were detected. Four indexes of germination percentage, germination power, germination index and vigor index did not show obvious difference respectively with the different preservation year, which indicated that germplasm resources of cucumber could be conserved for 10-15 years in the Genebank. The initial germination percentage of seeds before preservation significantly affected their safely preservation time.

Key words Cucumber, Seed vigor, Monitoring

自呼和浩特市毕克齐镇。将毕克齐长山药切块后播种,取植株幼嫩节间茎段为外植体进行培养。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 先将外植体用自来水反复冲洗,然后在超净工作台上用70%酒精消毒20 s,再放入1%次氯酸钠(NaClO)溶液中消毒15 min,无菌水漂洗3次,最后将外植体切成长0.5 cm左右的带节茎段,接种在不同培养基上。

1.2.2 培养条件 培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照强度2 000 lx,光照时间 $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。基本培养基为MS,添加不同激素组合处理,琼脂0.7%,蔗糖浓度3%,pH为5.7。

1.2.3 愈伤组织及不定芽的诱导培养 试验采用随机区组排列,每处理2次重复,每重复10个茎段。在培养基中添加不同浓度的6-BA(0、0.1、1.0、2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和NAA(0、0.01、0.10、1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)形成16个处理,添加不同浓度的6-BA(0.1、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、NAA(0、0.1、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)与MS和MS(1/10 N素)组合形成12个处理。培养60 d后调查不定芽及愈伤组织的生长状况。

1.2.4 不定芽的继代增殖 以培养60 d后的不定芽为外植体,在增殖培养基中添加不同浓度的6-BA(0.1、1.0、2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和NAA(0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)形成6个处理,培养45 d后调查不定芽的增殖结果。

1.2.5 生根培养 以增殖培养基上培养45 d后的不定芽为外植体,在生根培养基中添加不同浓度的IBA(0.1、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$),或6-BA(0.1、0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和NAA(0.1、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)形成7个处理,培养60 d后调查生根情况。

1.2.6 组培苗移栽 当组培苗根长2~4 cm时进行炼苗与移栽,移栽基质配比为蛭石:泥炭土:珍珠岩=3 V:4 V:2 V,移栽30 d后调查成活率。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织及不定芽的诱导

不同浓度的6-BA和NAA对毕克齐长山药愈伤组织和不定芽的形成有一定的影响。其中MS+6-BA 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的效果最好,愈伤组织的诱导率高达100%。高浓度的6-BA(1.0~2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)对不定芽的形成有明显的抑制作用,没有形成不定芽;而低浓度的6-BA(0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)对不定芽的诱导率较高,其中MS+6-BA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA 0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的效果最好,不定芽的诱导率高达75%,并且每个外植体平均不定芽数高达7.1个(表1)。

表1 不同浓度的6-BA和NAA对毕克齐长山药愈伤组织及不定芽诱导的影响

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	外植体数/个	愈伤组织		不定芽	
		诱导率/%	大小	诱导率/%	平均芽数/个
6-BA	NAA				
0	0	20	0	—	0
0	0.01	20	0	—	0
0	0.10	20	5	+	40
0	1.00	20	0	+	35
0.1	0	20	35	+	65
0.1	0.01	20	15	+	75
0.1	0.10	20	10	+	40
0.1	1.00	20	10	+	10
1.0	0	20	100	++	0
1.0	0.01	20	80	+	0
1.0	0.10	20	70	+	0
1.0	1.00	20	70	++	0
2.0	0	20	90	+	0
2.0	0.01	20	60	+	0
2.0	0.10	20	40	+	0
2.0	1.00	20	50	+	0

注: +表示愈伤组织横径为2~5 mm; ++表示愈伤组织横径为6~9 mm

培养基中N素浓度的不同对不定芽的诱导影响较明显,在6-BA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和NAA 0~0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理组合中,N素浓度稀释至1/10,不定芽的形成率明显高于不稀释的处理(图1)。

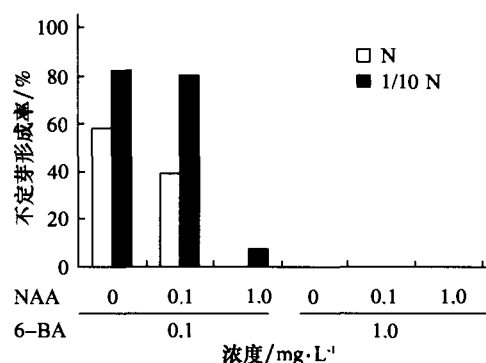


图1 6-BA、NAA及N素对毕克齐长山药不定芽诱导的影响

2.2 不定芽的继代增殖

不同浓度的6-BA和NAA对毕克齐长山药不定芽增殖的影响较大(表2)。其中不定芽增殖最适宜培养基为MS+6-BA 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,平均每个外植体再生芽数7.6个,不仅形成多芽体的芽数最多,而且不定芽健壮,叶色浓绿,有利于进一步生根培养。

2.3 不定芽的生根培养

不定芽在增殖培养基上培养45 d左右形成多芽体,选择发育正常的多芽体切成单芽转到生根培养基上培养。结果表明(表3),6-BA和NAA不同配比组合不如IBA效果好,其中MS+IBA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生

根壮苗效果最佳,生根率高达 100 %,而且根数多、粗壮,达到壮苗标准。

表 2 不同浓度的 6-BA 和 NAA 对毕克齐长山药不定芽增殖的影响

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		外植体数/个	增殖的不定芽总数/个	每个外植体平均芽数/个
6-BA	NAA			
0.1	0.5	20	72	3.6
1.0	0.5	20	86	4.3
2.0	0.5	20	152	7.6
0.1	1.0	20	64	3.2
1.0	1.0	20	82	4.1
2.0	1.0	20	112	5.6

表 3 不同激素对毕克齐长山药生根的影响

浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	外植体数/个	平均生根数/条	生根率/%
IBA 0.1	20	6.4	90
IBA 0.5	20	7.1	100
IBA 1.0	20	6.1	80
6-BA 0.1 + NAA 0.1	20	6.1	70
6-BA 0.1 + NAA 1.0	20	6.9	80
6-BA 0.2 + NAA 0.1	20	5.1	60
6-BA 0.2 + NAA 1.0	20	4.2	50

2.4 试管苗移栽

选择植株健壮、根系发达、达到移栽标准(苗高 3 cm 以上)的试管苗,打开封口膜,在温室中炼苗 7 d,用温水轻轻洗去根部的培养基,移栽到营养钵中,浇透水,然后用稀释 50 倍的 MS 大量元素母液喷洒植株,塑料薄膜覆盖保湿,保持相对湿度在 80 % ~ 90 %,30 d 后移栽成活率可达 86.6 % 以上。

3 讨论

在薯蓣属植物不定芽的诱导和增殖研究中,应用 6-BA、KT、NAA、2,4-D 和 IAA 等不同激素及浓度的处理组合中,以 6-BA 和 NAA 组合效果最佳^[3~8]。本试验的结果也表明,诱导毕克齐长山药不定芽的适宜培养基为 MS + 6-BA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;继代增殖培养基为 MS + 6-BA 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

关于生根培养,黄昌武等研究发现,1/2 MS + NAA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对黄姜(盾叶薯蓣)幼苗生根的诱导效果最好,诱导率达 100 %,同时指出添加 NAA 的效果明显好于 IBA^[9];何惠英等报道,菊叶薯蓣在 MS + 6-BA 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上诱导生根效果好^[10];孟玲等发现,1/2 MS + 6-BA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基对盾叶薯蓣的生根效果最好^[11];汪国莲等研究表明,MS + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 3 % 活性炭的生根壮苗效果最佳^[12];而对毕克齐长山药 IBA 0.1 ~ 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理效果较好,其中以 MS + IBA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生根壮苗效果最佳,生根率高达 100 %。因此,不同薯蓣品种的诱导生根培养基存在较大差异。

参考文献

- 1 中国农业百科全书编辑部. 中国农业百科全书(蔬菜卷). 北京: 中国农业出版社,1990. 184 ~ 185
- 2 蔡金辉,严渐子,黄晓辉,等. 山药品种资源的分类研究. 江西农业大学学报,1999,21(1):53 ~ 56
- 3 李明军. 怀山药茎段愈伤组织的诱导与多芽体的形成. 华北农学报,2000,15(2):85 ~ 88
- 4 晏婴才,林宏辉,代其林,等. 盾叶薯蓣组织培养与快速繁殖研究. 四川大学学报(自然科学版),2002,39(1):136 ~ 140
- 5 马林,张玲,李卫锋. 黄山药丛生芽诱导与植株快速繁殖. 生物技术,2004,14(2):53 ~ 54
- 6 李际红,谢会成,许建农,等. 穿山薯蓣不定芽的诱导与植株再生. 山东农业大学学报(自然科学版),2005,36(1):82 ~ 85
- 7 邱玲燕,毛益绒,夏振国,等. 盾叶薯蓣组织培养技术的优化. 生物学报,2005,22(4):24 ~ 27
- 8 蔡建荣,曾军,张志勇,等. 怀山药茎段组织培养及增殖的研究. 福建农业科技,2002(2):14 ~ 15
- 9 黄昌武,刘丰国,王光俊,等. 黄姜组织培养快速繁殖技术研究. 湖北农业科学,2002(2):70 ~ 71
- 10 何惠英,兰芹英,张艳军. 菊叶薯蓣的组织培养. 植物生理学通讯,2000,36(4):337 ~ 338
- 11 孟玲,朱宏涛,刘锡葵,等. 盾叶薯蓣的快速繁殖. 天然产物研究与开发,2000,12(6):17 ~ 21
- 12 汪国莲,陈明,孙玉东,等. 淮山药的茎尖培养与快速繁殖. 江苏农业科学,2003(3):77 ~ 78

Studies on the Internodal Tissue Culture and Propagation of Bikeqi Long Yam

Bai Ruiqin, Shi Ling, Chen Guihua, et al. (College of Agronomy, Inner Mongolia Agriculture University, Hohhot 010018)

Abstract Bikeqi long yam is a kind of local vegetable in Inner Mongolia. Its internodal tissue culture and propagation were carried on. The most effective for the introduction of adventitious buds was the MS media containing 6-BA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and NAA 0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The shooting rate was 75 %. The optimum propagation cultural media was MS + 6-BA 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The mean number of shoots was 7.6. MS + IBA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ was the optimum media for rooting. The rate was 100 %.

Key words Bikeqi long yam, Internodal tissue culture, Propagation