激素配比对怀山药不同外植体诱导不定芽的影响

王红娟¹, 王天亮¹, 白自伟¹, 徐艳霞¹, 李明军²

(1. 温县农业科学研究所, 河南 温县 454881; 2. 河南师范大学, 河南 新乡 453002)

摘要: 以怀山药茎蔓、余零子、块茎为外植体, 研究不同激素配比对怀山药不同外植体诱导不定芽的影响。结果表明: 以茎蔓作外植体时, MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L 培养基中不定芽形成率较高; 以余零子和块茎作外植体时, MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.5mg/L 培养基中不定芽形成率较高。

关键词: 怀山药; 组织培养; 愈伤组织; 不定芽

中图分类号: S632.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2006)12-0073-02

怀山药为薯蓣科薯蓣属的一种缠绕草本作物, 是我国著名的“四大怀药”之一, 具有健脾、固精、补肺、益肾的功能, 在我国广大地区均有种植, 以古怀庆府地区所产最佳。

在怀山药组织培养中, 用山药块茎形成不定芽已有报道。但利用山药茎蔓和余零子形成不定芽尚未见报道, 因此, 我们对山药不同外植体(茎蔓、余零子、块茎)在不同培养基上形成不定芽进行研究, 以便筛选出适宜的外植体及相应的培养基, 为怀山药的快繁及工厂化育苗提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

选用温县农科所大田种植铁棍山药健壮植株, 以其茎蔓、块茎和余零子作外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体处理 将从田间取回的材料, 用自来水反复冲洗, 剪去茎蔓上多余枝叶, 截成带腋芽的2cm小段; 块茎切成3cm小段。在无菌条件下, 用70%酒精浸30s, 无菌水冲洗3次, 转入0.1%升汞(HgCl₂)浸泡15min, 无菌水冲洗3次后以备接种。将茎蔓和山药块茎小段两端切去, 然后将块茎切成0.5cm³的小块; 余零子也切成体积为0.5cm³的小块, 分别接种在不同处理培养基上。

1.2.2 培养基组成 以MS为基本培养基, 琼脂4.3g/L, 蔗糖30g/L, pH值5.8~6.0, 根据6-BA和NAA的不同浓度设6个处理(表1)。

表1 不同激素配比处理 (mg/L)

处理编号	6-BA	NAA
C ₁	1.0	0.5
C ₂	1.0	1.0
C ₃	1.0	2.0
C ₄	2.0	0.5
C ₅	2.0	1.0
C ₆	2.0	2.0

1.2.3 培养条件 培养室温度控制在25~27℃, 光照强度2000lx, 每天光照12h。定期观察不同外植体产生愈伤组织、分化不定芽及生长状况。

2 结果与分析

2.1 山药茎蔓在不同激素配比培养基中诱导愈伤组织及不定芽的情况

试验表明, 有的山药茎蔓的叶腋先形成余零子, 余零子上又形成不定芽; 有的茎蔓先形成愈伤组织, 后又分化出不定芽。在C₁培养基中, 大多形成余零子, 形成愈伤组织相对较少; 在C₄培养基中, 少部分先形成余零子, 有的茎蔓余零子上又形成不定芽; 大部分则形成愈伤组织, 愈伤组织上又分化出不定芽, 幼芽健壮, 生长势强, 但是后期有褐化现象。

表2 不同激素配比对山药茎蔓诱导不定芽的影响

处理编号	茎蔓数 (个)	余零子形成率 (%)	出愈率 (%)	不定芽形成率 (%)
C ₁	80	38.39	11.25	35.48
C ₂	98	22.41	18.37	22.64
C ₃	86	11.37	36.05	16.50
C ₄	93	10.45	13.98	27.50
C ₅	106	8.62	20.75	19.39
C ₆	90	5.10	40.00	11.26

收稿日期: 2006-09-07

作者简介: 王红娟(1977-), 女, 河南温县人, 助理农艺师, 主要从事四大怀药的育种研究。

由表2可以看出,当6-BA浓度相同时,NAA浓度越高,叶腋形成余零子的百分率越低,愈伤组织形成率越高,不定芽形成率相对较低(因其不定芽也有从余零子上形成的不定芽);但较高的6-BA浓度则使余零子形成较少,不定芽大多由愈伤组织形成。试验结果表明,以MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L培养基不定芽形成率最高,为35.48%。

2.2 山药余零子在不同激素配比培养基中诱导不定芽的情况

试验表明,余零子切块接种9d后均有愈伤组织形成,40d后愈伤组织上分化出不定芽,有的则由切块直接形成不定芽。

表3 不同激素配比对山药余零子诱导不定芽的影响

处理编号	切块数(个)	出愈率(%)	不定芽形成率(%)
C ₁	63	31.7	8.47
C ₂	60	45.0	8.33
C ₃	59	52.5	7.93
C ₄	51	49.2	11.11
C ₅	55	54.5	10.09
C ₆	45	71.1	9.80

由表3可以看出,在6-BA浓度一定的情况下,NAA浓度越高,愈伤组织形成率越高,不定芽形成率则相对下降;当NAA浓度一定时,6-BA浓度越高,出愈率越高,且相对不定芽形成率也有所升高。但当6-BA和NAA浓度都很高时,形成愈伤组织和畸形苗很多,分化不定芽数目少,而且后期褐化比较严重。试验结果表明,以MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.5mg/L培养基不定芽形成率最高,为11.11%。

2.3 山药块茎在不同激素配比培养基中诱导不定芽的情况

试验表明,山药块茎接种培养10d左右,部分茎段的切口处和表皮开始形成白色或半透明的愈伤组织。30d后,陆续分化出小芽,有的是从愈伤组织分化出来,而有的则从茎段直接分化出小芽。

表4 不同激素配比对山药块茎诱导不定芽的影响

处理编号	切块数(个)	出愈率(%)	不定芽形成率(%)
C ₁	63	50.80	15.78
C ₂	55	56.36	9.02
C ₃	65	60.00	3.54
C ₄	58	51.72	25.86
C ₅	62	67.74	12.90
C ₆	70	81.42	7.14

由表4可以看出,激素浓度不同,茎段的出愈率和不定芽形成率也不相同。在6-BA浓度一定的情况下,出愈率随NAA浓度的升高而增大,不定芽诱导率则随NAA浓度的升高而降低。一般情况下,NAA浓度低,通过块茎直接形成芽的机率较大。在少数培养基上,块茎也可以在其两端膨大成球状,然后分化出小芽,形成再生植株。试验结果表明,以MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.5mg/L培养基不定芽形成率最高,为25.86%。

3 结论

1) 在怀山药的离体培养中,不同激素组合下其出愈率和不定芽形成率有所不同。在细胞分裂素浓度一定的情况下,生长素浓度提高,出愈率明显提高,而不定芽形成率则相对下降;在NAA浓度一定的情况下,随着6-BA浓度的提高,在余零子和块茎的培养中,不定芽形成率均有所提高。这表明,在愈伤组织形成的过程中,生长素起着决定性的作用,而在不定芽分化的过程中,细胞分裂素则起着重要的作用。

2) 通过试验,利用怀山药茎蔓、块茎和余零子均能诱导形成无菌苗,这就为一年四季培养无菌苗提供了条件。通过茎蔓形成余零子再生长成苗,变异率较低,有利于保持品种的稳定性;通过余零子或块茎脱分化后形成愈伤组织,再分化成幼苗,利用脱分化过程中的变异,选出优良植株,有利于加快育种步伐。因此,为了保持品种的稳定性,则宜选茎蔓作外植体,并选用MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L的培养基;为了选育新品种,则宜选余零子和块茎作外植体,并选用MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.5mg/L的培养基,以达到预期的研究目标。

参考文献:

- [1] 曹汝义,刘国民.药用植物离体培养与试管快繁[A].实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2002.
- [2] 李明军,李金亭,朱命炜,等.怀山药的离体繁殖[J].中草药,1993,30(4):296-298.
- [3] 李明军,杨建伟,张嘉宝.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.
- [4] 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[J].植物生理学与跨世纪研究,1999(5):150-153.