

DOI:10.11937/bfyy.201517050

山药微型块茎萌发影响因素研究

王运英¹, 张晓丽^{1,2,3}, 白英豪¹, 李明军^{1,2,3}

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007; 2. 河南省高校道地中药材保育及利用工程技术研究中心, 河南 新乡 453007; 3. 河南省绿色药材生物技术工程实验室, 河南 新乡 453007)

摘要:在离体条件下, 山药在腋芽处可形成微型块茎, 以脱毒苗为材料诱导形成的微型块茎具有脱毒苗的所有优良特点, 可作为优良种苗快速繁殖的材料。微型块茎的萌发是其诱导形成后一个非常重要的环节, 除了其自身的体积大小外, 培养基中的植物生长调节剂、培养环境中的光照、温度、湿度和通风状况等都会对其萌发产生影响。现就影响山药微型块茎萌发的体积大小、植物生长调节剂、光、温度、湿度等进行了综述。

关键词:山药; 微型块茎; 萌发

中图分类号:S 632.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)17-0194-03

山药(*Dioscorea opposita* Thunb.)属薯蓣科薯蓣属多年生缠绕草质藤本植物^[1], 它既是一种比较常见的蔬菜, 又是一种重要的中药材, 其卓越的药用保健功效和糯香可口的风味品质深得人们的喜爱^[2]。随着山药需求量的不断增加, 它的生产也得到了极大的重视, 而传统山药多采用营养繁殖的方法进行栽培, 使其病毒感染严重, 产量逐年下降, 品质也在不断退化, 某些优良品种甚至已被药农放弃种植而濒临灭绝^[3-4]。因此, 改善品质, 提高产量, 并使一些优良品种迅速推广种植, 已成为山药生产中亟待解决的问题之一。利用植物生物技术进行脱毒快繁是脱除植物病毒的有效途径^[4], 但这种方法存在诸如获得的脱毒苗生长细弱, 移栽成活率低, 并且不利于包装和运输等一些问题^[5], 这给脱毒苗的应用提出了很大难题。

微型块茎又称零余子, 是腋芽形成的地上变态块茎, 有“小块茎”、“珠芽”之称, 在组织培养中特称它为微型块茎^[5], 它能够在黑暗和低温条件下长期保存而不丧失活力, 并且具有体积小, 便于储存和运输等优点^[6], 可以作为山药快速繁殖的材料, 尤其是利用脱毒苗获得的脱毒微型块茎更是山药优质种苗的重要来源^[7]。虽然脱毒微型块茎可以进行周年生产, 但只有在播种季节才

可以规模化种植, 因此, 如何让生产出的脱毒微型块茎在播种季节统一高效的萌发, 是规模化生产中需要解决的关键问题之一。大量研究表明, 山药微型块茎的萌发不仅与它自身的体积大小有关, 还与植物生长调节剂、光照、温度、湿度和通风状况等关系密切。现对影响山药微型块茎萌发的各因素进行综述, 旨在为山药脱毒微型块茎萌发方面的研究提供参考文献。

1 山药微型块茎体积大小对萌发的影响

山药微型块茎作为一种贮藏器官, 里面含有大量的贮藏物质, 贮藏物质越多, 在萌发时可转化形成的小分子有机物质就越多。关于微型块茎体积大小对其萌发的影响, 国内外学者都在进行研究。PAUL 等^[8]在研究黄山药与圆山药杂交品种时发现, 大体积微型块茎(长度超过 3.5 cm)诱导 3 周后萌发率达到 40%, 15 周后可达到 100%, 而小体积微型块茎(长度 1.5~2.0 cm)诱导 11 周后萌发率才达到 40%, 之后便不再升高; OLIVIER 等^[9]从黄山药与圆山药杂交品种微型块茎的质量着手, 研究其对微型块茎萌发的影响时得出了相似的结论, 即质量为 300 mg 的微型块茎萌发速度要比质量小的快, 且质量在 150 mg 以下的微型块茎不能萌发; 王医鹏^[10]在铁棍山药微型块茎的研究中发现, 体积较小的Ⅲ级(0.05~0.10 cm)微型块茎萌发率最高(66.21%), 而萌发率最低(20.24%)的却是体积最大的Ⅰ级(>0.5 cm)微型块茎。由此可见, 山药微型块茎的萌发与其自身的体积大小有关, 但高萌发率是取决于大体积还是小体积, 目前尚没有统一的结论, 可能与其品种也有一定的关系。

第一作者简介:王运英(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为药用植物生物技术。E-mail: ml5036626756@163.com.

责任作者:李明军(1962-), 男, 教授, 研究方向为药用植物生物技术。E-mail: limingjun2002@263.net.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81274019); 国家科技重大专项子课题资助项目(2012ZX09304006)。

收稿日期:2015-06-02

2 植物生长调节剂对山药微型块茎萌发的影响

植物生长调节剂虽在研究中用量极小,但在植物生长发育过程的不同阶段都有着非常重要并且明显的调节和控制作用^[11]。段延碧等^[12]对禄丰县勤丰镇当地山药的研究表明,当把MS培养基上形成的零余子接种在含6-BA和NAA的培养基上时,零余子的发芽率大幅提高,并且指出诱导零余子发芽较理想的浓度组合是6-BA 0.2 mg/L+NAA 1.0 mg/L,此时芽总数与接种零余子数的比值可达4.0,且芽长势较好;韩晓勇等^[13]在铁棍山药的研究中发现,随着6-BA与NAA比值的提高,试管珠芽的芽诱导率呈上升趋势,且芽诱导率最高(83.3%)的培养基为MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,同时他们也指出6-BA与NAA在离体试管珠芽的发芽过程中可能存在互作效应,但主要取决于培养基中6-BA的浓度;FOTSO等^[14]认为不同BAP/NAA和Kin/NAA比值对方山药型块茎萌发的影响不同,并且当培养基内BAP/NAA比值为3/2时,微型块茎的发芽率以及每个微型块茎上的出芽数均达到最高,分别为98.8%和7.5;课题组在研究铁棍山药微型块茎的萌发时发现,细胞分裂素(6-BA、KT)和生长素(NAA)对微型块茎的萌发都有着重要的作用,但细胞分裂素的作用更突出一点(待发表);王红娟等^[15]在铁棍山药大田零余子和块茎上的研究结论也得到了相似的结果。由此可见,适当浓度的细胞分裂素和生长素能够促进山药微型块茎的萌发,但具体的组合、浓度和比值还要因山药的品种而异。

BAZABAKANA等^[16]对方山药微型块茎萌发的研究表明,低浓度茉莉酸(JA, 0.1~1.0 $\mu\text{mol/L}$)能够促进萌发,高浓度JA(30~100 $\mu\text{mol/L}$)则完全抑制其萌发,如将这些未萌发的微型块茎接种到无激素的MS培养基中,则恢复萌发;OLIVIER等^[9]研究黄山药与圆山药杂交品种微型块茎的萌发时也得出了类似的结论,即低浓度JA(1.0~2.5 $\mu\text{mol/L}$)促进微型块茎的萌发,较高浓度JA则完全抑制其萌发。

有研究表明,赤霉素(GA_3)对山药微型块茎的萌发也有一定程度的影响。HAMADINA等^[17]在圆山药微型块茎萌发的研究中提到, GA_3 的抑制剂CCC能够缩短微型块茎萌发的时间,但 GA_3 对微型块茎萌发的影响尚不清楚;但是梁淑贞等^[18]曾以淮山薯大田块茎和零余子为材料进行试验,发现用10 mg/L GA_3 处理块茎中上部分50 min后,块茎的出芽率、芽长和芽直径均极显著高于其它处理,这对于研究 GA_3 在微型块茎萌发方面的影响具有一定的借鉴作用。从以上研究可以看出,植物生长调节剂的种类和浓度对山药微型块茎的萌发都有着不同的影响。因此,在使用时不仅要考虑山药的品种,还要考虑其种类、组合、浓度和比值,这样才能找到

最适合的萌发条件。

3 光对山药微型块茎萌发的影响

光是一个非常重要的环境因子,植物的正常发育过程都离不开光的参与调节^[19],但多年来在光照对山药微型块茎萌发的影响上,学者们并没有达成一致意见。OLIVIER等^[9]以黄山药与圆山药杂交品种为材料,研究了光周期对微型块茎萌发的影响,结果发现如果把微型块茎放在连续光照、连续黑暗和16 h/8 h的光周期下,20周后,连续黑暗处理的微型块茎的萌发数量最多,连续光照和16 h/8 h的光周期处理并不能有效引起微型块茎的萌发;王医鹏^[10]对比了光照静置、黑暗静置和黑暗振荡等3种培养方式在铁棍山药微型块茎萌发方面的影响,指出与光照处理相比,黑暗中的微型块茎萌发率更高;而PAUL等^[8]在黄山药与圆山药杂交品种上的报道表明,与黑暗相比,光照下贮藏的微型块茎萌发较早,且萌发率达到100%只需10周,而黑暗下则需15周,但黑暗能促进微型块茎更为同步的萌发,与MOZIE^[20]在白山药大田块茎上的研究结果相似,即持续的黑暗条件会延迟块茎的萌发。

4 温度和湿度对山药微型块茎萌发的影响

温度是影响山药微型块茎萌发的重要因素,适宜的温度条件是微型块茎高效萌发的重要保障。PAUL等^[8]以黄山药和圆山药杂交品种为材料,发现随着贮藏温度的升高,微型块茎萌发所需的时间变短。然而,温度对萌发的影响至今还多集中在大田块茎方面。ONWUEME^[21]对一些热带山药品种的研究中指出,无论湿度是否饱和,大田块茎的最适萌发温度都在25~30℃;HAMADINA等^[22]认为,对于一些温带山药品种来说,大田块茎萌发的最适温度相对较低,在15~25℃;ALIQU等^[23]在他的书中提到低温会降低方山药大田块茎的代谢活动,不利于其萌发;MOZIE^[20]在白山药大田块茎的研究上也得出了相似的结论,即温度越高块茎的“类休眠期”越短,与16℃条件下相比,在21~32℃的温度下白山药块茎的休眠时间更短。从这些研究结果中不难看出,低温会抑制山药块茎的萌发,而相对高温可能更有利于其萌发,但考虑到品种间的差异,最适于山药块茎萌发的温度至今还未达成一致。

关于湿度对微型块茎萌发的影响,目前的研究还较少,CRAUFURD等^[24]认为高湿度可以促进圆山药和方山药大田块茎的萌发;SHIWACHI等^[25]在这2种山药的研究中也证实了这一结论。为研究湿度在微型块茎萌发上的影响提供参考。

5 意义与展望

山药肉质细腻,风味鲜美,药食兼优,是很好的营养品和保健品。近年来,随着山药销量的不断增加,其种

植面积也在逐年扩大,选择健康优质的山药种苗是其大规模种植的首要且关键环节。运用山药脱毒微型块茎是解决山药种苗来源的一个途径,它可以解决山药长期采用营养繁殖所造成的病毒病和品质退化等问题,也对实现山药规模化生产及其应用具有重要意义。目前山药微型块茎的诱导形成已经有了较为成熟的体系,但针对山药微型块茎后续萌发的研究还较少,如何实现不同时期产生的微型块茎在播种季节统一、高效的萌发,还需要对其萌发条件进行进一步的研究与完善,才能够实现山药脱毒种苗生产的工厂化,满足产业化的需求。

参考文献

- [1] 吴国芳,冯志坚,马炜梁,等.植物学(下册)[M].北京:高等教育出版社,1992:352-353.
- [2] 何海玲,单承莺,张卫明,等.山药研究进展[J].中国野生植物资源,2006,25(6):1-6.
- [3] 李明军.怀山药的离体繁殖[J].中草药,1999(4):296-298.
- [4] 黄玉吉,陈普瑛,万学锋,等.山药组织培养研究[C]//全国第8届天然药物资源学术研讨会论文集.2008 海峡两岸 CSNR 全国第8届天然药物资源学术研讨会.贵州:CSNR 天然药物资源专业委员会、中国药材GAP 研究促进会(香港),2008:224-227.
- [5] 李明军.怀山药组织培养及其应用[M].北京:科学出版社,2004.
- [6] 李明军,刘欣英,李萍,等.山药微型块茎诱导形成的影响因子研究[J].中草药,2008,39(6):905-910.
- [7] 李书杰,张晓丽,李俊华,等.植物生长物质对山药微型块茎诱导形成的影响[J].北方园艺,2014(14):200-203.
- [8] PAUL O O,KEVERS C,DOMMES J. Effect of storage conditions on sprouting of microtubers of yam (*Dioscorea cayenensis*-*D. rotundata* complex) [J]. Comptes Rendus Biologies,2010,333:28-34.
- [9] OLIVIER K A,KONAN K N,ANIKE F N,et al. *In vitro* induction of mini-tubers in yam (*Dioscorea cayenensis*-*D. rotundata* complex) [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,2012,109(1):179-189.
- [10] 王医鹏.铁棍山药微型块茎诱导形成及其萌发的研究[D].新乡:河南师范大学,2013.
- [11] 傅华龙,何天久,吴巧玉.植物生长调节剂的研究与应用[J].生物加工过程,2008,6(4):7-12.
- [12] 段延碧,郭华春.山药(*Dioscorea opposita*)组织培养的初步研究[J].西南农业学报,2006(19):59-62.
- [13] 韩晓勇,闫瑞霞,殷剑美,等.铁棍山药组织培养快繁及试管珠芽离体再生体系研究[J].西北植物学报,2013,33(10):2120-2125.
- [14] FOTSO B,SANDRINE N,MBOUOBDA H D,et al. Micropropagation of *Dioscorea alata* L. from microtubers induced *in vitro* [J]. African Journal of Biotechnology,2013,12(10):1057-1067.
- [15] 王红娟,王天亮,白自伟,等.激素配比对怀山药不同外植体诱导不定芽的影响[J].河南农业科学,2006(12):73-74.
- [16] BAZABAKANA R,FAUCONNIER M L,DIALLO B,et al. Control of *Dioscorea alata* microtuber dormancy and germination by jasmonic acid[J]. Plant Growth Regulation,1999(27):113-117.
- [17] HAMADINA E I,CRAUFURD P Q,BATTEY N H,et al. *In vitro* micro-tuber initiation and dormancy in yam [J]. Annals of Applied Biology,2010,157:203-212.
- [18] 梁淑淑,丰锋.淮山薯催芽条件的优化[J].作物杂志,2012(3):119-122.
- [19] 倪德祥.光在植物组织培养中的调控作用[J].自然杂志,1986,9(3):193-198.
- [20] MOZIE O. Sprout growth in stored white yams (*Dioscorea rotundata* Poir) [J]. Tropical Science,1975,17:45-46.
- [21] ONWUEME I C. The tropical tuber crops:yams,cassava,sweet potato,cocoyams[M]. New York:John Wiley and Sons,1978.
- [22] HAMADINA E I. The control of yam tuber dormancy:a framework for manipulation[M]. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture (IITA),2011.
- [23] ALIOU D,CALVERLEY D J B. Storage and processing of roots and tubers in the tropics[M]. Rome:Food and Agriculture Organization of the United Nations(FAO),1998.
- [24] CRAUFURD P Q,SUMMERFIELD R J,ASIEDU R,et al. Dormancy in Yams[J]. Experimental Agriculture,2001,37:75-109.
- [25] SHIWACHI H,AYANKANMI T,ASIEDU R,et al. Induction of sprouting in dormant yam (*Dioscorea* spp) tubers with inhibitors of gibberellins[J]. Experimental Agriculture,2003(39):209-217.

Impact Factors in Germination of Microtubers From *Dioscorea opposita*

WANG Yunying¹,ZHANG Xiaoli^{1,2,3},BAI Yinghao¹,LI Mingjun^{1,2,3}

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007; 2. Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs, Xinxiang, Henan 453007; 3. Engineering Laboratory of Green Medicinal Material Biotechnology, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007)

Abstract: Microtuber of *Dioscorea opposita* is formed from axillary bud *in vitro* conditions. The microtubers induced by virus-free plantlets owning all the fine characteristics of virus-free plantlets and thus can be used as rapid propagation materials of good seedling. After induction, the germination of *Dioscorea opposita* microtubers is a very important link. Many factors have a great influence on the germination of microtubers, such as plant growth regulators in the medium, light, temperature, humidity and ventilation conditions of the culture environment, in addition to their own size. The role of microtuber size, plant growth regulators, light, temperature and humidity in the germination of microtubers in *D. opposita* were reviewed in this article.

Keywords: *Dioscorea opposita* Thunb.; microtuber; germination