

植物生长物质对山药微型块茎诱导形成的影响

李书杰¹, 张晓丽^{1,2}, 李俊华^{1,2}, 郭晓博¹, 王运英¹, 李明军^{1,2}

(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)

摘要:微型块茎是山药在离体条件下腋芽形成的一种变态器官, 植物生长物质的种类、浓度及配比对其诱导形成有重要影响。现对 NAA、2,4-D、GA₃、KT、6-BA、B₉、PP₃₃₃、香豆素、SA 和 JA 等植物生长物质在山药微型块茎诱导形成中的作用进行了综述。

关键词:植物生长物质; 山药; 微型块茎; 诱导形成

中图分类号:S 632.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)14-0200-04

山药(*Dioscorea opposita* Thunb.) 属薯蓣科薯蓣属攀援性草本肉质根状块茎植物。其味甘而性平, 入脾、肺、肾三经, 具有健脾、补肺、固肾、益精等多种功效, 因其药用价值高、品质好, 故其产品畅销国内外^[1-2]。由于山药具有独特的药用和食用价值, 其生产越来越受到重视, 而传统的山药生产大多采用营养繁殖, 这种方法容易导致其病毒感染严重, 致使其产量下降, 品质退化, 某些优良品种几乎濒临灭绝^[3]。因此, 改善品质, 提高产量, 并使其优良品种迅速推广种植, 已成为山药生产中亟待解决的一个重要问题。应用植物组织培养技术获得脱毒苗可有效解决山药产量下降、品质退化的问题^[4], 但脱毒苗保存时间较短, 不易运输、包装且移栽成活率低。

微型块茎离体诱导技术的发展为山药脱毒种苗的推广应用提供了一个重要手段。脱毒微型块茎是指在山药脱毒试管苗腋芽处形成的变态块茎, 它作为营养繁殖器官与脱毒苗相比具有许多优点: 易保存, 运输方便, 无病毒侵染, 便于国际间种质交流与优良品种的推广应用; 繁殖系数高; 移栽成活率高^[5]。因此, 对微型块茎诱导形成的研究已引起了国内外学者的重视^[6-7]。大量试验结果显示, 微型块茎诱导体系的建立, 不仅与培养基种类有关, 而且与植物生长物质的种类、浓度及配比密切相关。目前, 用于诱导微型块茎形成的植物生长物质有 NAA、2,4-D、GA₃、KT、6-BA、B₉、PP₃₃₃、香豆素、SA 和

JA 等, 现就植物生长调节物质对微型块茎诱导形成的影响进行综述。

1 生长素类物质对山药微型块茎诱导形成的影响

NAA、2,4-D 是人工合成的常用生长素类物质^[8], 不仅能调节植物的营养生长, 而且还能调节其贮藏器官的生长, 因此, 可向培养基中加入这类物质来诱导出更多更大的微型块茎。Jean 等^[9]研究表明, NAA 对田薯微型块茎的诱导具有促进作用, 当其浓度为 2.7×10^{-6} mol/L 时可以诱导田薯获得较多数量的微型块茎; 李明军等^[10]在铁棍山药的研究中指出单独使用 NAA 或 2,4-D 进行微型块茎诱导的最适浓度均为 0.5 mg/L; 据刘欣英^[11]报道, NAA 和 2,4-D 诱导 B 号山药微型块茎形成的适宜浓度分别为 0.5 mg/L 和 0.1 mg/L, 且以 2,4-D 的诱导效果最好。在穿山龙上的研究显示, NAA 对微型块茎的诱导有促进作用, NAA 浓度为 2.0 mg/L 时产生更多更重的微型块茎^[12]。周志林等^[13]在水山药的研究中发现 0.02~1.00 mg/L NAA 促进微型块茎的诱导形成。可见, 不同品种山药微型块茎诱导形成所需生长素类物质的最适浓度不同, 这可能与材料、培养条件及培养方式等有关。有关生长素类物质促进贮藏器官形成的机制, 汪俏梅等^[14]认为是通过调节微管的作用诱导其形成。

2 赤霉素类物质对山药微型块茎诱导形成的影响

赤霉素一般被认为是诱导 α -淀粉酶的产生, 它不仅能促进作物生长、萌发、开花结果, 还能刺激果实生长, 提高结实率, 对作物也有显著的增产效果^[15]。刘欣英^[11]在对 B 号山药的研究中发现, GA₃ 有利于微型块茎的诱导, 尤以 0.1 mg/L 时效果最好。Behera 等^[16]认为, 当 GA₃ 的浓度为 100 mg/L 时, 单株田薯微型块茎数最多且形成的微型块茎最重。这些试验结果证明培养基中加入适宜浓度赤霉素类物质有利于微型块茎的诱

第一作者简介:李书杰(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向为药用植物生物技术。E-mail: a782892399@126.com.

责任作者:李明军(1962-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事药用植物生物技术等研究工作。E-mail: limingjun2002@263.net.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81274019); 河南省科技创新杰出人才计划资助项目(114200510013); 国家科技重大专项子课题资助项目(2012ZX09304006)。

收稿日期:2014-04-04

导形成。张志军等^[17]指出 GA₃ 对块茎形成的调控作用主要是通过参与块茎形成时细胞分裂及细胞骨架的调整、光周期诱导块茎形成时的信号传递及碳水化合物合成代谢时对多种酶活性的影响来进行。

3 细胞分裂素类物质对山药微型块茎诱导形成的影响

细胞分裂素的生理作用主要是促进细胞分裂和使细胞体积增大,并有利于营养物质的动用和运输^[18-19]。Uduebo^[6]研究了 KT 对黄独微型块茎诱导的影响,结果表明,KT 浓度为 0.5 mg/L 时诱导效果最好,而当其浓度为 5 mg/L 时,会使微型块茎重量下降。Forsyth 等^[20]认为 KT 可以提高黄独微型块茎的诱导率。Ng^[21]将白山药的腋芽茎段接种到添加 0.5 mg/L KT 的培养基上,5 个月后可诱导出微型块茎,说明一定浓度的 KT 有利于微型块茎的诱导。Mantell 等^[22]在对黄独和田薯的试验中发现 KT 的存在可以促进微型块茎的形成。然而,John 等^[23]的研究发现,KT 对田薯微型块茎的诱导没有影响而对其发育具有抑制作用,ABA 可以促进其诱导形成。Paul 等^[24]选用圆山药和黄山药的杂交后代进行研究得出,培养基中 KT 的存在可以产生更多且更大的微型块茎,其最适浓度为 2 mg/L。刘欣英^[11]对 B 号山药的研究结果表明,KT 浓度为 2 mg/L 时诱导微型块茎效果最好,浓度过高只会形成大量的丛生芽,不利于微型块茎诱导形成;6-BA 抑制微型块茎的形成,浓度高于 2 mg/L 时,无微型块茎形成。周志林等^[13]的试验结果表明,0.1~1.0 mg/L KT 对水山药微型块茎的形成有促进作用。

从以上试验结果不难看出,6-BA 抑制山药微型块茎的诱导,适宜浓度的 KT 有利于山药微型块茎的诱导,但也有试验结果显示 KT 对田薯的诱导没有影响,这可能与材料不同有关。

4 植物生长延缓剂和抑制剂类物质对微型块茎诱导形成的影响

B₉ 和 PP₃₃₃ 属于植物生长延缓剂,香豆素、SA 和 JA 属于植物生长抑制剂。植物生长延缓剂和抑制剂在贮藏器官诱导形成中的应用较多,结论也较为一致,在适宜浓度下,均可有效促进贮藏器官的形成。刘欣英^[11]对 B 号山药的研究发现,B₉ 8 mg/L、PP₃₃₃ 0.01 mg/L、SA 0.001 mg/L 和香豆素 10 mg/L 最有利于微型块茎的形成,这 4 种物质的效果比较中,以香豆素的效果最好。李明军等^[10]的结果表明,当 PP₃₃₃ 浓度为 0.1 mg/L 时诱导铁棍山药微型块茎的形成率最高,单株微型块茎数多且大。B₉ 能调节营养物质的运输方向,使更多的同化物转移向块茎,增加块茎数目,加快块茎膨大速度,提高块茎产量^[25]。PP₃₃₃ 主要通过抑制 GA₃ 的生物合成来促进

贮藏器官形成,也有报道指出其降低了植株体内的 IAA 含量,增加 ABA 水平,破坏植物的顶端优势,诱导块茎形成^[26]。SA 被认为具有促进块茎形成的正向功效^[27-29],合适浓度的 SA 可以调节贮藏器官同期发育,使贮藏器官大小分布集中,显著提高商品化的实际应用价值^[29]。香豆素被认为是通过抑制植株生长和促进衰老以加强营养物质的运输和转化而起作用的^[30]。20 世纪初,Jasik 等^[31]以田薯、黄山药、圆山药 3 种山药为试材指出,在培养基中添加 JA 能促进微型块茎的诱导形成。Paul 等^[32]对黄山药和圆山药的杂交后代研究发现,JA 可以使山药提早形成微型块茎且增加了微型块茎的重量。Olivier 等^[33]的研究表明,JA 可以增加黄山药和圆山药杂交后代微型块茎的诱导率及其鲜重。该实验室以铁棍山药为试材发现,在适宜的浓度较低范围内,随着 JA 浓度的增加,微型块茎的诱导率呈增加趋势,当 JA 浓度为 0.1 mg/L 时诱导效果最好,诱导率达到 50%。此后,随着 JA 浓度的升高,其诱导效果越来越差。Bazabakana 等^[34]认为 JA 能够提高田薯微型块茎的诱导率,主要是在微型块茎形成早期其形态发生改变的结果。

以上研究表明,适宜浓度的植物生长延缓剂与抑制剂对山药微型块茎的诱导有促进作用,过高过低都不利于微型块茎的形成。

5 植物生长物质组合处理对微型块茎诱导形成的影响

诱导微型块茎形成的培养基中植物生长物质的配比,一般为生长素类和细胞分裂素类间的配比。NAA 与 KT 组合诱导微型块茎形成率最高,形成的数量也最多^[7]。郭小丁等^[35]以水山药为试材,以 MS 为基本培养基附加不同浓度 KT 和 NAA 的组合诱导出微型块茎。刘欣英^[11]对 B 号山药的研究认为,在 NAA 与 KT 的复合处理中,当 NAA 浓度高于 1 mg/L 时,无论 KT 浓度多大,所诱导的微型块茎数量显著下降,NAA 与 KT 都为 0.5 mg/L 时所诱导的微型块茎最大且最重;KT、2,4-D 与 PP₃₃₃ 复合处理时,KT 0.5 mg/L、2,4-D 0.1 mg/L 与 PP₃₃₃ 0.1 mg/L 最有利于微型块茎的形成。周志林等^[13]在研究不同组合 NAA/KT 对水山药微型块茎形成的影响结果发现,NAA 0.1 mg/L 和 KT 1 mg/L 最有利于微型块茎的诱导,并且当 KT 浓度保持不变时,随着 NAA 浓度的增加,形成的微型块茎越大且比率较高,当 NAA 浓度一定时,随着 KT 浓度的降低,微型块茎的诱导率越高。John 等^[23]在对田薯的研究中发现,NAA 和 ABA 混合使用比其单独使用对微型块茎的诱导有更强的抑制作用。李明军等^[10]的研究结果显示,NAA 与 2,4-D 组合中,二者浓度都为 0.5 mg/L 时诱导的铁棍山药微型块茎较多且较大。NAA 与 PP₃₃₃ 的组合中,NAA

0.5 mg/L 与 PP₃₃₃ 0.1 mg/L 的诱导效果最好,其诱导率高达 100%。陈凤清等^[36] 研究表明,适合穿山龙微型块茎诱导的培养基为 1/2MS 培养基附加不同浓度的 NAA 和 6-BA 组合。Chen 等^[12] 对穿山龙的研究发现,当培养基中只有 6-BA 没有 NAA 时不能诱导出微型块茎,只有当二者混合使用时才能诱导出微型块茎,6-BA 1.0 mg/L 与 NAA 2.0 mg/L 时诱导效果最好。

从以上试验结果可以看出,不同种山药对相同植物生长物质组合的反应不同,这很可能由植物材料本身的生理状态及培养基成分不同造成的^[37],而同一种山药对不同植物生长物质组合的反应也不相同,这可能与内源激素的合成和代谢上的差异有密切关系^[38]。因此,在不同山药中找出每种山药最适的植物生长物质种类、浓度及配比是非常重要的。

6 意义与展望

山药药食兼宜,具有较高的营养和保健功效,随着其价值逐年被人们所重视,其种植面积在逐年扩大,需求量也在增大。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。虽然目前多数山药品种诱导微型块茎已获得成功,但植物生长物质的种类、浓度及配比对山药微型块茎诱导形成的影响,还有待进一步研究与完善。目前,山药微型块茎诱导形成的研究还仅限于实验室研究,要实现山药微型块茎的规模化生产,还需要对微型块茎诱导形成的技术与条件加以探索及优化,以实现山药脱毒种苗生产的工厂化和自动化,满足产业化需求。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大词典[M]. 上册. 上海:上海科技出版社,1997:167.
- [2] 姚宗凡,黄英姿. 常用中药种植技术[M]. 北京:金盾出版社,1993:70.
- [3] 李明军. 怀山药的离体繁殖[J]. 中草药,1999(4):296-298.
- [4] 李明军. 怀山药组织培养及其应用[M]. 北京:科学出版社,2004.
- [5] 李明军. 提高山药商品性栽培技术问答[M]. 北京:金盾出版社,2013:1.
- [6] Uduebo A E. Effect of external supply of growth substances on axillary proliferation and development in *Dioscorea bulbifera* L. [J]. Annals of Botany, 1971,35:159-163.
- [7] 李明军,刘萍,张嘉宝. 怀山药微型块茎的离体诱导[J]. 植物生理学通讯,2000,36(1):41-42.
- [8] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 4 版. 北京:高等教育出版社,2001.
- [9] Jean M, Cappadocia M. Effects of some growth regulators on *in vitro* tuberization in *Dioscorea alata* L. 'Brazofuerte' and *D. abyssinica* Hoch[J]. Plant Cell Reports,1992,11:34-38.
- [10] 李明军,陈明霞,郭君丽,等. 生长调节物质和糖对怀山药微型块茎诱导形成的影响[J]. 华北农学报,2004,19(3):69-72.
- [11] 刘欣英. 怀山药微型块茎诱导形成的影响因子研究[D]. 新乡:河南师范大学,2007.
- [12] Chen F Q, Fu Y, Wang D L, et al. The effect of plant growth regulators and sucrose on the micropropagation and microtuberization of *Dioscorea nipponica* Makino [J]. Plant Growth Regul,2007,26:38-45.
- [13] 周志林,唐君,曹清河,等. 水山药“九斤黄”组织培养及微型块茎诱导[J]. 福建农业学报,2012,27(2):144-148.
- [14] 汪俏梅,郭德平. 植物激素与蔬菜的生长发育[M]. 北京:中国农业出版社,1992.
- [15] 赵永华,杨世林,刘惠卿,等. 西洋参种胚形态后熟过程中种子内源激素变化动态及其对种胚发育的调节[J]. 中草药,2001,32(2):159-162.
- [16] Behera K K, Pani D, Sahoo S, et al. Effect of GA₃ and urea treatments on improvement of microtuber production and productivity of different types of planting material in greater yam (*Dioscorea alata* L.) [J]. Not Bot Hort Agrobot Cluj,2009,37(2):81-84.
- [17] 张志军,贾明进,李会珍,等. 赤霉素对马铃薯块茎形成的影响[J]. 中国马铃薯,2003,17(5):295-297.
- [18] 宋运贤,石晶莹,薛建平. 大量元素和植物生长物质对怀牛膝愈伤组织生长及多糖量的影响[J]. 中草药,2009,40(1):135-137.
- [19] Nikolic R, Mitic N, Miletic R, et al. Effects of cytokinins on *in vitro* seed germination and early seedling morphogenesis in *Lotus corniculatus* L. [J]. Plant Growth Regul,2006,25:187-194.
- [20] Forsyth C, Van Staden J. Tuberization of *Dioscorea bulbifera* stem nodes in culture [J]. Plant Physiol,1984,115:79-83.
- [21] Ng S Y C. *In vitro* tuberization in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,1988,14:121-128.
- [22] Mantell S H, Hugo S A. Effects of photoperiod, mineral medium strength, inorganic ammonium, sucrose and cytokinin on root, shoot and microtuber development in shoot cultures of *Dioscorea alata* L. and *D. bulbifera* L. yams [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,1989,16:23-37.
- [23] John J L, Courtney W H, Decoteau D R. The influence of plant growth regulators and light on microtuber induction and formation in *Dioscorea alata* L. cultures [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,1993,34:245-252.
- [24] Paul O O, Claire K, Jacques D. Axillary proliferation and tuberisation of *Dioscorea cayenensis*-*D. rotundata* complex [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2007,91:107-114.
- [25] 蒲育林,王克敏,王瑞英. 植物生长调节剂 B₉ 对马铃薯微型种薯产量的影响[J]. 马铃薯杂志,1994,8(3):162-164.
- [26] 梁艳. 大蒜试管苗鳞茎化培养及内源激素的变化[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2005.
- [27] 熊正琴,李式军,周燮,等. 茉莉酸甲酯和水杨酸促进大蒜试管鳞茎的形成[J]. 园艺学报,1999,26(6):408-409.
- [28] 崔瑾,李式军. 水杨酸对芋试管球茎发育的影响[J]. 南京农业大学学报,2003,26(1):97-99.
- [29] 赵彦杰. 水杨酸对郁金香试管微鳞茎形成和生长的影响[J]. 安徽农业科学,2005,33(9):1629-1662.
- [30] 胡云海,蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响[J]. 马铃薯杂志,1992,6(1):14-20.
- [31] Jasik J, Mantell S H. Effects of Jasmonic acid and its methylester on *in vitro* microtuberisation of three food yam (*Dioscorea*) species [J]. Plant Cell Report,2000,19:863-867.
- [32] Paul O O, Kevers C, Dommes J. Tuber formation and growth of *Dioscorea cayenensis*-*D. rotundata* complex: interactions between exogenous and endogenous jasmonic acid and polyamines [J]. Plant Growth Regul,2010,60:247-253.
- [33] Olivier K A, Konan K N, Anike F N, et al. *In vitro* induction of minitubers in yam (*Dioscorea cayenensis* ~ *D. rotundata* complex) [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult,2012,109:179-189.

AM 真菌多样性和生物学功能研究进展

马 媛, 吕 杰, 刘 晓 颖

(新疆大学 资源与环境科学学院, 绿洲生态教育部省部共建重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830046)

摘 要:丛枝菌根真菌是土壤共生真菌中分布最广泛的一类真菌, 可以与绝大多数的地上植物进行共生。丛枝菌根真菌可以帮助植物进行营养吸收和水分提升, 促进植物的生长, 具有重要的生态学意义。该文综述了 AM 真菌的鉴定方法和 AM 真菌群落结构与功能, 并对其研究领域加以阐述与展望。

关键词:丛枝菌根真菌; 研究方法; 生物学功能; 分子生态学

中图分类号:Q 939.96 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)14-0203-04

丛枝菌根真菌 (*Arbuscular mycorrhizal Fungi*, AMF) 属于球囊菌门 (*Glomeromycota*)、球囊菌纲, 目前已分离鉴定了 200 余种, 它是土壤共生真菌中分布最广泛的一类真菌, 可以与绝大多数的地上植物进行共生^[1]。1885 年, 德国植物生理学家 Frank 首创“菌根”这一术语。菌根是土壤中 AM 真菌菌丝与高等植物根系形成的一种联合体, 几乎存在于所有的陆地生态系统中, 是

自然界中一种普遍存在的微生物-植物共生现象^[2]。共生真菌从植物体获取碳源物质及其它营养, 而植物也从真菌中获得无机离子及水分等物质。通过菌根及根外菌丝, 可以帮助植物进行无机离子吸收和水分提升, 从而提高植物抵御不良环境的能力, 促进植物的生长。植物在长期的生存过程中, 与菌根真菌共同进化, AM 真菌在非共生状态下孢子不能萌发, 而 AM 真菌依赖型植物缺乏菌根也无法生存。AM 真菌能在植物根细胞内产生“泡囊”和“丛枝”2 种典型结构, 故名为泡囊-丛枝菌根 (*vesicular-arbuscular mycorrhiza*, VAM)^[3], 但由于部分真菌只形成丛植结构, 所以简称丛枝菌根。

自然条件下, AM 真菌以其独特的群落结构特征和功能, 直接或间接发挥着各种生理、生化和生态作用。目前人工分离培养的 AM 真菌已在植物健康、园艺培养

第一作者简介:马媛(1977-), 女, 新疆人, 副教授, 现主要从事干旱区生态学及分子生态学和极端环境微生物等研究工作。E-mail: xjmayuan@sina.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31060086); 绿洲生态教育部(省部共建)重点实验室开放课题资助项目(XJDX0206-2011-03)。

收稿日期:2014-03-25

[34] Bazabakana R, Baucher M, Diallo B, et al. Effect of jasmonic acid on development morphology during *in vitro* tuberization of *Dioscorea alata* (L.) [J]. *Plant Growth Regulation*, 2003, 40: 229-237.

[35] 郭小丁, 刘亚菊, 张允刚, 等. 水山药试管苗诱导微型块茎的培养基 [P]. 中国: CN200410014628. 3, 2005. 10. 12.

[36] 陈凤清, 付杨, 孙冬雪, 等. 穿龙薯蓣的微型块茎离体诱导及再生植

株的建立[J]. 东北师大学报(自然科学版), 2005, 37(4): 90-93.

[37] 任春林, 尹静, 潘亚婕, 等. 水杨酸对白桦悬浮细胞中齐墩果酸积累及防御酶活性的影响[J]. 中草药, 2012, 43(5): 972-977.

[38] 彭艳华, 刘成运. 脱落酸与胚胎发育的关系及作用方式的研究进展 [J]. 武汉植物学研究, 1991, 9(3): 289.

The Effect of Plant Growth Substances on the Induction of Microtubers of *Dioscorea opposita* Thunb.

LI Shu-jie¹, ZHANG Xiao-li^{1,2}, LI Jun-hua^{1,2}, GUO Xiao-bo¹, WANG Yun-ying¹, LI Ming-jun^{1,2}

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxing, Henan 453007; 2. Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs, University of Henan Province, Xinxiang, Henan 453007)

Abstract: Microtuber is a modified organ which is formed form *in vitro* single nodal segments in *Dioscorea opposita*. The concentration and composition of plant growth regulators have a great influence on the induction of microtubers. The role of several plant growth regulators, e. g. NAA, 2, 4-D, GA₃, KT, 6-BA, B₉, PP₃₃₃, coumarin, SA and JA in the induction of microtuberin *D. opposita* were reviewed in this article.

Key words: plant growth substance; *Disocorea opposita* Thunb; microtuber; induction