

NAA、IBA 和 PP₃₃₃对怀山药 试管苗生长发育的影响

李明军, 陈明霞, 洪森荣, 徐 鑫, 张晓丽

(河南师范大学生命科学院, 河南新乡 453002)

摘 要: 就不同生长调节剂对怀山药试管苗生长发育的影响进行了系统的研究。结果表明:(1)NAA、IBA 和 PP₃₃₃ 均能诱导根的生成,但根形成的时间、发生方式及发达程度均不相同。低浓度的 NAA(0.1~0.5 mg·L⁻¹)有利于根的生成,但高浓度的 NAA(≥2 mg·L⁻¹)则易形成愈伤组织,且随着浓度的升高,愈伤组织化程度变大,根多来源于愈伤组织;IBA(0.1~2 mg·L⁻¹)对根的生成较为有利,其中以 IBA 1 mg·L⁻¹ 的生根效果较好;PP₃₃₃(0.1~8 mg·L⁻¹)有利于根的生成,根形成的最早、最多,且随着浓度的升高,根更加粗壮发达。(2) PP₃₃₃ 抑制试管苗的纵向伸长生长,使株高降低,但却显著地促进了根系的发育,使试管苗生长健壮,叶色浓绿,叶片增多。这种效应随着 PP₃₃₃ 浓度的升高而加强。从培养壮苗的角度来看,PP₃₃₃(2~4 mg·L⁻¹)是最佳浓度。

关键词: 怀山药; 试管苗; NAA; IBA; PP₃₃₃; 生根; 愈伤组织

中图分类号: Q943.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2004)04-0376-04

The influence of NAA, IBA and PP₃₃₃ on root formation and upgrowth of *Dioscorea opposita*

LI Ming-jun, CHEN Ming-xia, HONG Sen-rong,
XU Xin, ZHANG Xiao-li

(College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453002, China)

Abstract: The effect of different growth regulators on *Dioscorea opposita* was studied. Results are as follows: (1)NAA, IBA and PP₃₃₃ could all induce and form root, but the time of root formation, origination and the robust degree were different. The low concentration of NAA(0.1~0.5 mg·L⁻¹) were advantageous to root formation, but the high concentration of NAA(2 mg·L⁻¹) could promote callus formation. What is more, the higher the concentration is, the higher the callus formation. Many roots originate from callus; IBA(0.1~2 mg·L⁻¹) could promote root formation, the best is IBA 1 mg·L⁻¹; PP₃₃₃(0.1~8 mg·L⁻¹) is advantageous to root formation. Root could form firstly. The higher the concentration is, the more the root forming. (2) PP₃₃₃ could inhibit stem's elongation and highness of plantlet. But PP₃₃₃ could develop their roots obviously, robustly and robusted green leaves. The higher PP₃₃₃ concentration is, the more stronger this effect have. In order to get the culture of robust plantlet, PP₃₃₃(2~4 mg·L⁻¹) is the best concentration.

Key words: *Dioscorea opposita*; plantlets; NAA; IBA; PP₃₃₃; root formation; callus

山药,又名薯蓣,以山土为宜,故名山药(杨悦宇,1989)。主产于河南温县,武陟、沁阳、博爱等地(旧称怀庆府)的山药,产量大,质量好,药用价值高,称之为怀山药(杨德忠,1981)。

收稿日期: 2003-12-22 修订日期: 2004-03-16

基金项目: 河南省科技攻关项目(001160409, 0324420016); 重点科技攻关项目(0123030900)。

作者简介: 李明军(1962-),男,河南温县人,硕士,副教授,硕士生导师,从事植物组织培养和植物生理学研究。

怀山药 (*Dioscorea opposita*) 为薯蓣科薯蓣属的一种缠绕草本肉质根茎植物,是我国著名的“四大怀药”之一,以根茎和珠芽(中药称零余子,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,产品畅销东南亚、日本等国,在国际市场上享有盛誉(江苏新医学院,1977;姚宗凡等,1993)。但由于长期进行营养繁殖(珠芽繁殖和芦头繁殖)(杨德忠,1981),致使品质退化,产量下降,甚至某些优良品种已被放弃种植。为了解决生产中存在的问题,加快我国中药科技产业化进程,近几年来,我们开展了怀山药的组织培养,在愈伤组织的诱导、植株再生以及试管苗的壮苗、生根、移栽和大田生长等方面进行了一系列的研究(李明军等,1997,1999a,2000)。其目的是为了利用现代

生物技术改良怀山药品种,提高其产量。本文报道的是不同植物生长调节剂对怀山药生长发育的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

怀山药优良品种“铁棍山药”试管苗。

1.2 方法

将无菌苗在超净工作台上切成约 3 cm 的带芽茎段,接种在基本培养基为 MS,并附加不同浓度的 NAA、IBA 和 PP₃₃₃ 的培养基上。所有培养基蔗糖浓度为 3%,琼脂浓度为 4.35‰,pH 调至 5.8~6.2,在 121 °C、1.1 kg·cm⁻² 的压力下灭菌 20 min。培养室温度为 25±2 °C,光照强度为 2 000 lx,光照时间为 14 h·d⁻¹。

表 1 NAA 和 IBA 对生根及形态变化的影响 (30 d)
Table 1 Effects of NAA and IBA on rooting and shape variation

生长调节剂浓度 Concentration of growth regulator (mg·L ⁻¹)	平均株高 Average highness of plantlets (cm)	平均叶片数 Average number of leaves	叶色 Color of leaves	根出现时间 Appearing time of root (d)	愈伤化程度 Degree of callus	根数 Number of roots	根粗 Diameter of roots (mm)	根长 Length root(cm)	
								最长 Longest	平均 Average
CK	3.84	5.3	绿色	7	无	6	0.6	5.7	3.9
NAA 0.1	4.15	3.7	淡绿	7	无	5.2	0.7	3.9	2.3
NAA 0.5	3.75	2.7	绿色	7	无	4.2	0.85	1.9	1.2
NAA 1	3.87	3	淡绿	7	无	—	—	—	—
NAA 2	3.83	3.5	淡绿	10	轻	—	—	—	—
NAA 4	3.05	4	浅黄绿	10	重	—	—	—	—
NAA 8	3.88	3.2	浅黄绿	15	最重	—	—	—	—
IBA 0.1	3.96	3.6	浅黄绿	10	无	8	0.6	3.2	1.9
IBA 0.5	4.65	4	绿色	7	无	3.5	0.65	5.2	3.2
IBA 1	4.48	3.5	浓绿	7	无	6	0.75	3.4	1.8
IBA 2	4.13	3.3	浓绿	7	无	6.7	0.8	2.3	1.5
IBA 4	4.4	4.2	绿色	10	无	—	—	—	—
IBA 8	4.4	4.4	淡绿	15	重	—	—	—	—

2 结果与分析

2.1 NAA 和 IBA 对怀山药试管苗生根及形态变化的影响

将带芽茎段接种在不同浓度植物生长调节剂的培养基上,在光下培养,观察其生根情况。7 d 时,NAA 0.1~1 mg·L⁻¹ 和 IBA 0.1~1 mg·L⁻¹ 均有生根;15 d 时各培养基上都有生根。观察 NAA 2~8 mg·L⁻¹ 培养基中的试管苗:10 d 时,在茎段上开始

形成白色愈伤组织;15 d 时,愈伤组织继续增大,转绿并分化出绿苗,同时从愈伤组织上产生根,30 d 时统计生长情况如表 1。

由表 1 可以看出:(1)低浓度 NAA(0.5 mg·L⁻¹ 以下)有利于生根,但高浓度时不利于生根。愈伤组织的形成率随 NAA 浓度的变化而变化,且 NAA 浓度越高愈伤组织化越严重。由此可见,高浓度 NAA 易引起愈伤组织的产生,且根从愈伤组织上形成。这样形成的根与茎部维管束不直接相通,导致营养物质运输跟不上,所以试管苗叶色浅绿,叶片稀疏,

腋芽较少,这样的试管苗移栽成活率低或不易成活。

(2)低浓度 IBA(2 mg. L⁻¹以下)有利于生根,但高浓度(4~8 mg. L⁻¹)则不利于生根。例如 IBA 8 mg. L⁻¹培养基中形成大量的愈伤组织,其后,根从愈伤组织上形成。IBA 4 mg. L⁻¹培养基中形成较多的零余子,根从零余子形成。IBA 0.1 mg. L⁻¹和 IBA 0.5 mg. L⁻¹培养基中形成的根太细弱。IBA 1 mg. L⁻¹生根较好,根多且粗壮。

2.2 PP₃₃₃对怀山药试管苗生长发育的影响

2.2.1 PP₃₃₃对怀山药试管苗生根的影响 将带芽茎段接种在 PP₃₃₃ 0.1~8 mg. L⁻¹的培养基上,在光下培养。5 d时,培养基中已生根,其中 PP₃₃₃ 8 mg. L⁻¹培养基中的生根率最高达 66.7%,平均根数为 3。30 d时,不同培养基中怀山药的生根情况已有显著的区别(表 2)。

由表 2 可以看出,PP₃₃₃有利于诱导生根,且根

表 2 PP₃₃₃对怀山药生根的影响(30 d)
Table 2 Effects of PP₃₃₃ on root regeneration

PP ₃₃₃ 浓度 Concentration of PP ₃₃₃ (mg. L ⁻¹)	根出现时间 Appearing time of roots(d)	根数 Number of roots	根粗 Diameter of roots(mm)	根长 Length of roots(cm)	
				最长 Longest	平均 Average
PP ₃₃₃ 0.1	5	4.8	0.45	6.7	4.3
PP ₃₃₃ 0.5	5	4.6	0.6	6.2	4.9
PP ₃₃₃ 1	5	4	0.7	5.9	3.1
PP ₃₃₃ 2	5	4.8	0.8	6.4	2.9
PP ₃₃₃ 4	5	6	0.9	6.4	2.7
PP ₃₃₃ 8	5	7.5	1.0	4.9	1.9

表 3 PP₃₃₃对株高和叶数的影响(45 d)
Table 3 Effects of PP₃₃₃ on plantlet highness and the number of leaves

项目 Items	时间 (d)	PP ₃₃₃ 浓度 Concentration of PP ₃₃₃ (mg. L ⁻¹)					
		0.1	0.5	1	2	4	8
平均叶片数	0	3	1.7	3.4	2.2	1.7	2.3
Average number leaves	20	4.5	3	5.4	3.7	4.2	5.2
	30	4.8	5.2	5.8	5.7	6.2	9.2
	45	6.7	7.1	8.2	7	7.8	10.8
平均株高	0	2.7	3.1	2.92	3.87	3.13	3.27
Average highness of plantlets	20	3.08	3.37	3.66	4.1	3.38	3.55
	30	3.65	3.62	4.34	4.35	3.63	3.73
	45	3.49	3.32	4.15	3.75	—	2.54

系发达,还可使地上部分产生较多的绿苗。30 d时,随着 PP₃₃₃ 浓度的升高,其形成的根由细长到粗壮呈规律性变化。

2.2.2 PP₃₃₃对怀山药试管苗冠部的影响 对地上部分作跟踪观察,45 d后发现,随着培养时间的延长,试管苗的平均叶片数和平均株高呈规律性变化(表 3)。例如,PP₃₃₃ 4 时,平均叶片数的变化为 1.7→4.2→6.2→7.8 呈递增趋势(图 1:a)。平均株高的变化为 3.13 cm→3.38 cm→3.63 cm→2.54 cm 呈先增后减趋势(图 1:b)。

可见,作为植物生长延缓剂的 PP₃₃₃在试管苗的前期生长阶段主要促进根系生长;在后期生长中,老叶枯死,新叶倍增,从而使植株矮化,节间缩短,株型

紧凑。同时随着 PP₃₃₃ 浓度的升高,抑制作用更加明显。由表 2、3 和图 1 可知,在 PP₃₃₃ 2 mg. L⁻¹或 PP₃₃₃ 4 mg. L⁻¹的培养基上,其形成的根粗短健壮,地上部分生长也较为旺盛,叶色浓绿,株型紧凑且有较多的腋芽。从培养壮苗的角度看,PP₃₃₃ 2 mg. L⁻¹或 PP₃₃₃ 4 mg. L⁻¹是较理想的培养基。

3 讨论

本实验表明,植物生长调节剂不同对怀山药试管苗带芽茎段的培养效果也不同。就诱导怀山药生根而言,低浓度的 NAA(0.1~0.5 mg. L⁻¹)和 IBA(0.1~2 mg. L⁻¹)有利于生根,且 NAA 的诱导效应

是 IBA 的 4~5 倍;而对于愈伤组织的诱导来说,高浓度的 NAA($\geq 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和 IBA($\geq 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)则易引起大量愈伤组织的形成,且 NAA 的诱导效应是 IBA 的 2~4 倍。这一点与他人的报道是一致的

(刘庆农等,2001;张庆滢等,2001)。

PP₃₃₃是一种植物生长延缓剂,它的作用机理是抑制贝壳杉烯酸的氧化,阻碍植物体内赤霉素(GAs)的生物合成(廖联安等,1985),而赤霉素是一

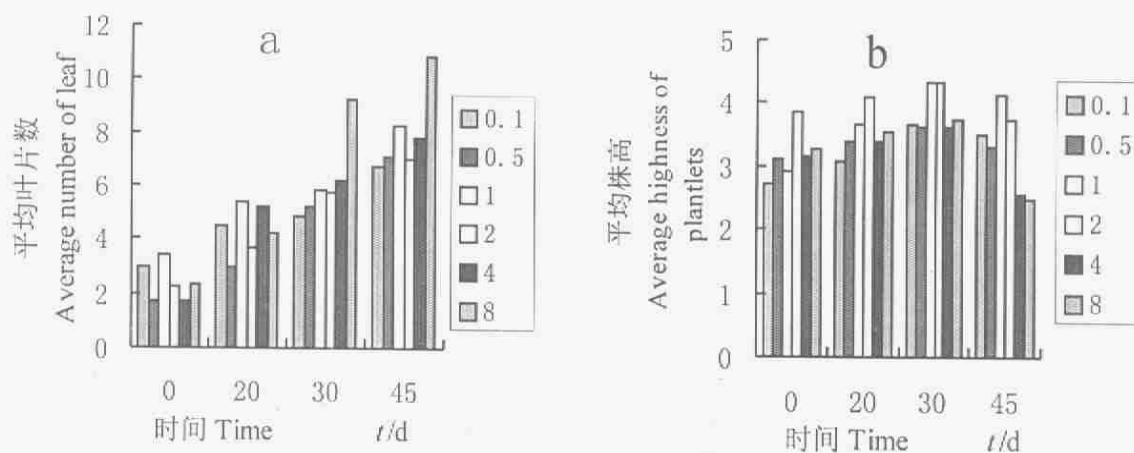


图 1 PP₃₃₃对叶片数(a)和株高(b)的影响

Fig. 1 Effects of PP₃₃₃ on the number of leaves (a) and plantlet height (b)

(0.1, 0.5, 1, 2, 4, 8 represent the degree of PP₃₃₃, the unit is $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

种促进植物生长的激素,PP₃₃₃不仅能抑制 GAs 的合成,而且对于已形成的 GAs 也有抑制作用,这种作用表现在 PP₃₃₃与 GAs 的相互拮抗作用上(李明军,1995)。因此,PP₃₃₃能强烈抑制植物的生长,无论对草本或木本的单子叶或双子叶植物都有生长抑制作用(廖联安等,1985;Li 等,1999b)。但本研究结果表明,适当浓度的 PP₃₃₃对怀山药试管苗的壮苗培养具有良好的调控作用。

参考文献:

- 江苏新医学院. 1977. 中药大辞典[M]. 上海科技出版社, 167.
- 杨悦宇. 1989. 山药的本草考证[J]. 中草药, 20(5): 36-38.
- 杨德忠. 1981. 怀山药的栽培[J]. 中草药, 12(8): 37-38.
- 姚宗凡, 黄英姿. 1993. 常用中药种植技术[M]. 金盾出版社, 70-75.
- 廖联安, 郭奇珍. 1985. 新型植物生长延缓剂和杀菌剂——氟丁唑[J]. 植物生理学通讯, (6): 56-58.
- Li MJ(李明军), Yang JW(杨建伟), Zhang JB(张嘉宝), et al. 1997. Stem culture and rapid propagation of *Dioscorea opposita*(怀山药茎段培养和快速繁殖)[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 41(4): 275-276.
- Li MJ(李明军), Li JT(李金亭), Zhu MW(朱命伟), et al. 1999a. In vitro propagation of common(*Dioscorea opposita*)(怀山药的离体繁殖)[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), (4): 296-298.
- Li MJ(李明军), Xue JP(薛建平), Chen MX(陈明霞), et al. 2000. The influence of different factors on callus induction of *Dioscorea opposita*(不同因子对山药愈伤组织的诱导的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), 20(2): 156-160.
- Li MJ(李明军). 1995. Met-an effective plant growth regulator(多效唑——一种优良的植物生长调节剂)[J]. *Chinese Bulletin*(植物学通报), 36(2): 27-31.
- Li MJ, Zhang GF. 1999b. Effects of paclobutrazol on the morphology, structure, and chlorophyll content of regenerated plantlets of maize[J]. *Israel Journal of Plant Sciences*, 47(2): 85-88.
- Liu QN(刘庆家), Zhao HJ(赵红军). 2001. Micropropagation of dwarf rootstocks of sweet cheery(大樱桃矮化砧木吉塞拉的微体繁殖)[J]. *Plant Physiology Communications Communications*(植物生理学通讯), 37(3): 236-237.
- Zhang QY(张庆滢), Yang JG(杨建国), Deng SS(郑树松), et al. 2001. Tissue culture and rapid propagation of female plant of ricinus communis(蓖麻单性株组织培养和快速繁殖)[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 37(2): 133.