

# 盾叶薯蓣类原球茎的离体诱导及快繁体系的建立

彭晓英<sup>1</sup>, 周朴华<sup>1</sup>, 张良波<sup>2</sup>, 彭尽晖<sup>3</sup>, 周双德<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410128; <sup>2</sup>湖南省林业科学院, 长沙 410004;

<sup>3</sup>湖南农业大学园艺园林学院, 长沙 410128)

**摘要:**为解决盾叶薯蓣离体培养中试管苗移栽困难的难题,以盾叶薯蓣带腋芽的茎段为外植体,借助正交试验设计方法,离体诱导出类原球茎并建立了类原球茎微繁殖技术体系。结果表明:以带腋芽茎段为外植体诱导致密愈伤组织的适宜培养基为 MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.4mg/L+KT 0.6mg/L+蔗糖 3%;类原球茎诱导和增殖培养基为:MS+6-BA 4.0mg/L+KT 1.0mg/L+蔗糖 6%;类原球茎生根培养基:1/2MS+NAA 0.3mg/L+IAA 0.8mg/L+活性炭 0.3%+蔗糖 1.5%。经该途径诱导得到的生根类原球茎植株经炼苗后移栽的成活率可达到 90% 以上。

**关键词:**盾叶薯蓣;正交设计;类原球茎;组织培养

## In Vitro Propagation of PLB( protocorm-like body) of *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright

PENG Xiao-ying<sup>1</sup>, ZHOU Pu-hua<sup>1</sup>, ZHANG Liang-bo<sup>2</sup>, PENG Jin-hui<sup>3</sup>, ZHOU Shuang-de<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Bioscience and biotechnology college of Hunan Agricultural University, Changsha 410128; <sup>2</sup>Hunan Academy of Forestry, Changsha 410004; <sup>3</sup>College of Horticulture and Gardening of Hunan Agricultural University, Changsha 410128)

**Abstract:** To resolve the problem of low survival rate of *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright plantlets cultured *in vitro*, a new micropropagation protocol of protocorm-like body was developed by employing orthogonal experimental design method. Compact callus were induced in the axillary buds of the stem node explants on MS basal medium supplemented with 2.0mg/L 6-BA, 0.4mg/L NAA and 0.6mg/L KT. Maximum rate of induction and multiplication (4.25 shoots per explant) were observed when PLB were sub-cultured on MS medium supplemented with 4.0mg/L 6-BA, 1.0mg/L KT and 6% sucrose. Media for PLB roots differentiation was 1/2 MS + NAA 0.3mg/L + IAA 0.8mg/L + AC 0.3% + sucrose 1.5%. The survival rate of rooted PLB plantlets could reach over 90%.

**Key words:** *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; Orthogonal design; PLB( protocorm-like body); Tissue culture

盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright)系薯蓣科薯蓣属植物,为我国特有的甾体激素类药源植物。近年来,关于盾叶薯蓣细胞培养<sup>[1]</sup>和组织培养<sup>[2-4]</sup>的研究较多,对其微块茎<sup>[5]</sup>和试管株芽诱导<sup>[6]</sup>也进行了探讨和研究,试图用繁殖体的离体培养来实现快繁,但试管苗移栽困难的问题依然存在。以此为突破口,本文采用正交试验设计方法,以盾叶薯蓣带腋芽的茎段为外植体离体诱导出类原球茎

(protocorm-like body, PLB),从而建立类原球茎的再生体系。该方法诱导的类原球茎繁殖周期短且增殖系数较高,更为重要的是类原球茎能在适当的诱导条件下,依靠自身的环境反应机制和内源激素的作用产生不定根,茁壮成苗<sup>[7]</sup>。该体系的建立,有望为盾叶薯蓣试管种苗的工厂化生产开创一种新的模式,并为类原球茎发育机理的研究提供实验体系和奠定实验基础。

收稿日期:2009-06-29 修回日期:2010-06-13

基金项目:湖南省重点科技攻关项目(BK0272)

作者简介:彭晓英,植物学博士,讲师,主要从事植物学研究。E-mail: xypeng@hunau.net

通讯作者:周朴华,教授,博导,主要从事资源植物学和细胞工程研究

1 材料与方法

1.1 材料

以 2001 年自湖南安化引种的野生盾叶薯蓣植株为材料,选取带腋芽的茎段作为外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体的接种及愈伤组织的诱导和增殖

选取盾叶薯蓣带腋芽的茎段,用流水冲洗后无菌水冲洗 2 次,0.1% 升汞浸泡 8min 后,无菌水冲洗 3 次。切割成 0.6 ~ 1.0cm 的切段,接种在附加不同

激素种类和浓度配比的 MS 基本培养基上进行培养,采用 4 因素 4 水平  $L_{16}(4^4)$  的正交试验设计,其中 4 个因素分别为 6-BA、2,4-D、NAA、KT,各设 4 个水平(表 1),以观察植物激素的种类和浓度对愈伤组织形成的影响。培养基中添加琼脂 7g/L、蔗糖 3%,pH 5.8 ~ 6.0,121℃ 下高压灭菌 15min。培养条件为:温度  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ,光照强度 2000 ~ 3000lx,光照时间 14h/d。诱导率为培养 20d 后诱导出愈伤的外植体数与接种外植体数之比。

表 1 愈伤组织诱导的正交表  $L_{16}(4^4)$  的设计和试验结果  
Table 1 The orthogonal design  $L_{16}(4^4)$  and the experiment result of callus induction

编号 Number	处理 (mg/L) Treatment				诱导率 (%) Induction rate	愈伤组织生长状况 Callus growth status
	A (6-BA)	B (2,4-D)	C (NAA)	D (KT)		
1	1(0.5)	1(0)	1(0)	1(0)	0	无
2	1(0.5)	2(0.5)	2(0.2)	2(0.2)	3	黄绿色,较致密
3	1(0.5)	3(1.0)	3(0.4)	3(0.4)	10	黄绿色,较致密
4	1(0.5)	4(2.0)	4(0.6)	4(0.6)	10	淡黄色,疏松
5	2(1.0)	1(0)	2(0.2)	4(0.6)	56	绿色,致密
6	2(1.0)	2(0.5)	3(0.4)	1(0)	20	黄绿色,较致密
7	2(1.0)	3(1.0)	4(0.6)	2(0.2)	12	淡黄色,疏松
8	2(1.0)	4(2.0)	1(0)	3(0.4)	25	淡黄色,疏松
9	3(2.0)	1(0)	3(0.4)	3(0.4)	76	绿色,致密
10	3(2.0)	2(0.5)	4(0.6)	4(0.6)	64	黄绿色,致密
11	3(2.0)	3(1.0)	1(0)	1(0)	60	黄绿色,较致密
12	3(2.0)	4(2.0)	2(0.2)	2(0.2)	15	黄绿色,较疏松
13	4(4.0)	1(0)	4(0.6)	2(0.2)	45	绿色,致密
14	4(4.0)	2(0.5)	1(0)	3(0.4)	58	绿色,致密
15	4(4.0)	3(1.0)	2(0.2)	4(0.6)	52	绿色,致密
16	4(4.0)	4(2.0)	3(0.4)	1(0)	40	绿色,较致密
k1	5.75	44.25	35.75	30		
k2	28.25	36.25	31.5	18.75		
k3	53.75	33.5	36.5	42.25		
k4	48.75	22.5	32.75	45.5		
F 值	7.66*	1.29	1	2.39		
最优水平	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>		

\* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ ),下同  
\* means different is significant ( $P < 0.05$ ); \*\* means different is extremely significant in the same line ( $P < 0.01$ ). The same as below

1.2.2 类原球茎的分化与增殖 类原球茎(proto-corm-like body, PLB)的诱导也采用 4 因素 4 水平  $L_{16}(4^4)$  的正交试验设计,不同处理添加物的种类和水平如表 2。将诱导出的愈伤组织切块接种

于附加不同浓度配比的 6-BA、NAA、KT 和蔗糖的 MS 培养基上进行培养,每处理 5 个培养瓶,每培养瓶 4 块愈伤组织切块,重复 3 次,基本培养基成分和培养条件同上。在培养过程中,观察腋芽

的形态变化以及培养过程中愈伤组织诱导形成 PLB 的情况。诱导率为培养 30d 后产生 PLB 的愈伤组织数与接种愈伤组织数目之比。增殖系数以培养 30d 后直径约大于 1mm 的 PLB 突起数与外植体数比值求得。

表 2 类原球茎诱导的正交表  $L_{16}(4^4)$  的设计和试验结果  
Table 2 The orthogonal design  $L_{16}(4^4)$  and the experiment result of PLB induction

编号 Number	处理 Treatment				诱导率(%) Induction rate	增殖系数 Multiplication coefficient
	A(6-BA) (mg/L)	B(NAA) (mg/L)	C(KT) (mg/L)	D(蔗糖) (%)		
1	1(1.0)	1(0)	1(0)	1(1.5)	0	0
2	1(1.0)	2(0.2)	2(0.5)	2(3.0)	10	0.3
3	1(1.0)	3(0.6)	3(1.0)	3(6.0)	10	0.35
4	1(1.0)	4(0.8)	4(1.5)	4(7.5)	5	0.1
5	2(2.0)	1(0)	2(0.5)	4(7.5)	30	0.75
6	2(2.0)	2(0.2)	3(1.0)	1(1.5)	35	0.75
7	2(2.0)	3(0.6)	4(1.5)	2(3.0)	30	0.9
8	2(2.0)	4(0.8)	1(0)	3(6.0)	20	0.6
9	3(4.0)	1(0)	3(1.0)	3(6.0)	90	4.25
10	3(4.0)	2(0.2)	4(1.5)	4(7.5)	85	3.15
11	3(4.0)	3(0.6)	1(0)	1(1.5)	80	2.7
12	3(4.0)	4(0.8)	2(0.5)	2(3.0)	75	2.35
13	4(6.0)	1(0)	4(1.5)	2(3.0)	70	2.1
14	4(6.0)	2(0.2)	1(0)	3(6.0)	75	2.25
15	4(6.0)	3(0.6)	2(0.5)	4(7.5)	60	1.75
16	4(6.0)	4(0.8)	3(1.0)	1(1.5)	55	1.1
诱导率 Induction rate	k1	6.25	47.5	43.75	42.5	
	k2	28.75	51.25	43.75	46.25	
	k3	82.5	45	47.5	48.75	
	k4	65	38.75	47.5	45	
	F 值	103.86**	2.41	0.41	0.59	
增殖系数 Multiplicati- on coefficient	最优水平	A <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> = C <sub>4</sub>	D <sub>3</sub>	
	k1	0.1875	1.775	1.3875	1.1375	
	k2	0.75	1.6125	1.2875	1.4125	
	k3	3.1125	1.425	1.6125	1.8625	
	k4	1.8	1.0375	1.5625	1.4375	
	F 值	14.73*	0.9	0.2	0.8	
	最优水平	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>3</sub>	

**1.2.3 PLB 的生长与生根** 在原来的或新鲜的分化增殖培养基上继续培养,观察 PLB 的生长状况。挑选顶芽长度为 2~3cm 的 PLB,从基部分开,转入已筛选的适宜生根培养基上,生根培养基为 1/2MS + NAA 0.3mg/L + IAA 0.8mg/L + 活性炭 0.3% + 蔗糖 1.5%。培养 30d 时统计 PLB 的生根率,以生根的植株数占接种植株数的百分数来表示。

**1.2.4 PLB 植株的炼苗与移栽及其发育形态学观察** 当 PLB 在生根培养基上培养 10~20 d 生根后,打开培养瓶盖,将培养瓶移至自然光下炼苗 3~5 d。让 PLB 植株逐渐适应外界自然条件,移栽时将根部的培养基洗净,去除褐化的老根,分株移栽至装有沙土的混合培养基质中,待小苗生长健壮后,定植于大田中,统计移栽成活率。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同外植体在不同激素配比的诱导培养基上培养的比较

当外植体接种于 2,4-D 浓度较高(2mg/L)的诱导培养基上,10d 后各茎段切口处和叶腋处均产生少量淡黄色愈伤组织。20d 后大部分疏松愈伤组织转黄绿色,部分褐化。但是当外植体接种于 6-BA 浓度相对较高(2mg/L)的诱导培养基上,培养 20d 后可见明显不同:大部分带腋芽的茎段腋芽膨大成球状,而且还在叶腋处膨大成亮绿色的致密愈伤组织(图版 I-1),一部分带腋芽茎段的腋芽直接膨大产生单个或几个类原球茎(图版 I-2)。

### 2.2 不同生长调节剂浓度组合对诱导致密愈伤组织的影响

表 1 所示为带腋芽的茎段为外植体时的试验结果,表中 F 值结果显示,愈伤组织的诱导率与因素 A 的变化呈显著差异,而与其他因素的差异不显著。6-BA 浓度为 0.5 ~ 2mg/L 时,致密愈伤组织的诱导率随其浓度的增加而增加;达到 4mg/L 时,诱导率有所下降。2,4-D 的添加对 6-BA 诱导致密愈伤组织有较强的抑制作用,却有利于疏松愈伤组织的诱导。NAA 浓度和 KT 浓度较少时,与 6-BA 配合使用,致密愈伤组织的诱导率有所提高。致密愈伤组织进行切割后在新鲜的诱导培养基中继续培养,能大量增殖(图版 I-3)。k 值结果显示最优水平搭配为  $A_3B_1C_3D_4$ ,然而该组合并未出现在表内的 16 个试验方案中,其中第 9 号方案  $A_3B_1C_3D_3$  愈伤组织诱导率为最高值 76%。将第 9 号方案与最优水平进行比较,结果显示最优水平组合  $A_3B_1C_3D_4$  的愈伤组织诱导率为 78%,与 9 号组合  $A_3B_1C_3D_3$  的 76% 相差不大,可见正交表中列出的组合基本能反映到本试验中所有具代表性的设计方案。根据比较结果,认为选用配方为 MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.4mg/L + KT 0.6mg/L 的培养基能得到最高的愈伤组织诱导率。

### 2.3 不同生长调节剂浓度组合对诱导 PLB 的影响

将致密愈伤组织转入供试 PLB 分化培养基上培养 8d 后,愈伤组织上先出现白色或浅黄绿色的鳞片叶突起及包裹的绿色芽点(图版 I-4),15 ~ 20d 时,鳞片叶继续包裹着膨大的类原球茎突出愈伤组织表面(图版 I-5),PLB 分化的同时伴有丛芽的分化(图版 I-6),其比例随添加物浓度配比不同而不同。表 2 中 F 值结果显示:诱导

率和增殖系数结果分别随 A 因素 6-BA 浓度的高低变化呈极显著和显著性差异,其他三因素对结果的影响差异不显著。从表 2 可见,随 6-BA 浓度的增大,PLB 的诱导率和增殖系数有所增加,但当浓度达到 6mg/L 时,PLB 的诱导率和增殖系数则不再增加反而有所下降。k3 结果表明 6-BA 浓度为 4mg/L 为诱导 PLB 最适浓度。从表中 B 因素 NAA 作为一种植物生长素类物质,对 PLB 的诱导和增殖有一定的抑制作用,其浓度的增加与诱导率和增殖系数负相关,故不添加 NAA 为宜。因素 C 平均增殖最高水平为  $C_3$ ,即 KT 浓度为 1mg/L 时,对 PLB 的诱导和增殖有较好的促进作用,但当 KT 浓度大于该值时,则导致大量不定芽丛芽的分化,最终影响 PLB 的诱导。k 值结果显示 D 因素中最高水平为  $D_3$ ,可知较高浓度的蔗糖对 PLB 的诱导也具有一定的促进作用,且 PLB 更为致密,色泽鲜亮,有利于 PLB 后期发育,但蔗糖浓度过高会导致渗透压太大,不利于 PLB 的分化与发育。四者的最优搭配  $A_3B_1C_3D_3$ ,即表中的 9 号搭配为最佳试验方案,最适培养基为 MS + 6-BA 4.0mg/L + KT 1.0mg/L + 蔗糖 6%。

### 2.4 PLB 的生长与生根

PLB 在原分化培养基上继续生长 10d 后,顶芽不断伸长,幼叶开始舒展。鳞片叶逐渐栓质化,颜色由绿色转化为浅褐色(图版 I-7)。将顶芽长至 2 ~ 3cm 的 PLB 基部稍作切割后,转入生根培养基中,15d 后 PLB 鳞片叶着生处(即茎节处)陆续产生白色不定根突起,逐渐伸长形成不定根(图版 I-8、I-9)。

### 2.5 PLB 植株的炼苗与移栽及其发育的形态学观察和分析

PLB 在生根培养基上培养产生不定根,不定根不断从培养基中吸收营养物质和水分,输送到其他组织;植株藤蔓茂盛,叶片舒展,光合作用增强,同化产物不断积累至茎基部的类原球茎中,导致类原球茎的继续膨大及组织致密化,其外周的鳞片叶开始出现栓质化加厚并不同程度褐化(图版 I-9)。可能是受培养基中植物生长物质调控作用的影响,PLB 在土壤中继续生长发育,增殖产生许多新的小球茎(图版 I-10),球茎茎尖向上生长形成幼嫩植株(图版 I-11),也有茎尖朝水平方向转化为根芽并延伸形成根状茎。此时的 PLB 在土壤中的生长发育和盾叶薯蓣种子萌发时胚轴形成的膨大球体(图版 I-12)<sup>[7-8]</sup>大小和形状都十分相似,在土壤中的生长发

育也极为相似。故移栽后对外界环境的适应性较强,成活率达 90% 以上。

### 3 讨论

#### 3.1 外植体类型与愈伤组织诱导及类原球茎分化的关系

来源于盾叶薯蓣植株不同部位的愈伤组织在结构和颜色及生长特性等方面都有明显的差异。以往报道中多为以叶片、茎段和根状茎为外植体进行愈伤组织的诱导,该愈伤组织质地松脆,适于进行细胞悬浮培养<sup>[1]</sup>。本试验发现,在添加较高浓度的 6-BA 与适量 KT 的诱导培养基中,以盾叶薯蓣带腋芽的茎段为外植体时,能在叶腋处基部膨大产生质地较硬的致密愈伤组织,从而分化出大量 PLB。在同样的培养条件下,叶片和茎段等外植体却只能诱导出少量的愈伤组织,不利于后期分化。分析其原因,可能是盾叶薯蓣植株叶腋处具有分化 PLB 的潜在能力,从而比较容易诱导得到 PLB。

从系统学分析,薯蓣属植物按照其形态特征可分为 6 个组<sup>[9]</sup>,其中较为进化的 3 个组:周生翅组、基生翅组、复叶组等植株叶腋内有珠芽,可以作为其营养繁殖体进行无性繁殖。而盾叶薯蓣隶属于薯蓣属中的根状茎组 (Sect. *Stenophora* Uline) 这个最原始的自然类群,其根状茎地下横生,叶腋中无珠芽(零余子)。我们在野外和田间栽培中均发现在盾叶薯蓣植株靠近地面的第一和第二茎节处的叶腋处着生有数量不多且肉质膨大的原球茎状结构(图版 I-13),类似于薯蓣零余子<sup>[10]</sup>的外部形态但又有一定的区别,其表皮褐化,具不定根,可作为新的繁殖体进行繁殖。同时在组织培养试验中亦发现试管植株在培养基中培养 40~60d 时,一部分茎段叶腋处的腋芽停止生长,基部膨大形成类似类原球茎结构,并发芽长根(图版 I-14、I-15)。这些现象是否意味着由带腋芽茎段诱导出的愈伤组织具有这种重现性,其机理值得深入研究。

#### 3.2 6-BA 和蔗糖对类原球茎诱导的影响

该试验中 6-BA 与蔗糖浓度对类原球茎的诱导影响最为显著。这与柯卫东等<sup>[11]</sup>在试管藕诱导时得出的结论相一致。Sedigh Alizadeh 等<sup>[12]</sup>认为高浓度的蔗糖与 6-BA 能促进菊叶薯蓣 (*D. composita*) 微块茎的诱导,我国叉蕊薯蓣微块茎诱导的试验也得到了是一致的结论<sup>[13]</sup>。高糖浓度还能促进洋葱 (*Allium cepa* L.) 鳞茎<sup>[14]</sup>和马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 块茎的离体诱导<sup>[15]</sup>。可见,糖浓度不仅仅对

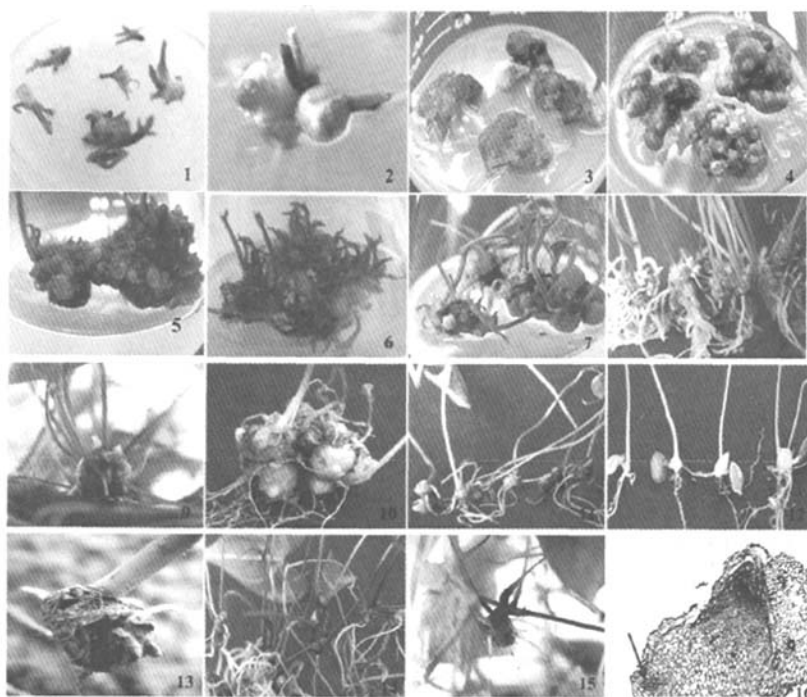
离体贮藏器官的发生有诱导作用,对类原球茎胚性细胞的发生也起着促进作用。

#### 3.3 盾叶薯蓣 PLB 的应用前景

PLB 起源于愈伤组织中的胚性细胞和细胞团<sup>[16]</sup>,其结构致密且不易出现嵌合体,所以再生体系稳定性较强。目前已被用于多项兰花遗传性状改良的研究之中。如同兰科植物一样,盾叶薯蓣 PLB 和种子苗胚轴处膨大球体的结构和形状都极为相似,芽和不定根的分化及维管束的连接使得类原球茎成为一个整体(图版 I-16)<sup>[7]</sup>,故移栽成活率较高。综上所述,盾叶薯蓣 PLB 微繁体系既可用于工厂化育苗,也可作为研究原球茎发育和次生代谢产物积累的材料,其取材方便且能自主控制材料的数量和发育进程。另外,以盾叶薯蓣 PLB 再生体系进行原球茎发育和皂素合成途径的蛋白质功能组学和基因工程的各项研究将是一个引人注目的新方向。

#### 参考文献

- [1] 任建伟,白云,郭秋月. 盾叶薯蓣培养细胞的生长及薯蓣皂甙元产生的变化规律[J]. 中草药,1994,25(2):93-95
- [2] 梁艳丽,李兰玉,谢世清. 盾叶薯蓣组织培养技术研究[J]. 云南农业大学学报,2006,21(2):164-168
- [3] 刘贵周,谢世清. 盾叶薯蓣良种离体快繁关键技术研究[J]. 中国种业,2005(6):36-37
- [4] 谢彩侠,崔水霞,高山林,等. 盾叶薯蓣离体培养体系的建立及薯蓣皂甙元含量分析[J]. 中国中医药现代远程教育,2009,7(2):35-37
- [5] 徐向丽,刘选民,周朴华,等. 盾叶薯蓣组织培养及微块茎的离体诱导[J]. 湖南农业大学学报,2000,26(4):282-285
- [6] 彭晓英,周朴华,张良波,等. 盾叶薯蓣试管株芽的诱导[J]. 热带亚热带植物学报,2005,13(4):319-323
- [7] 彭晓英,周朴华,张良波,等. 盾叶薯蓣类原球茎的发育解剖学研究[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(2):229-232
- [8] 彭晓英,周朴华,蒋道松,等. 盾叶薯蓣类原球茎的细胞学特点及组织化学研究[J]. 电子显微学报,2009,28(6):579-583
- [9] 徐成基. 中国薯蓣资源[M]. 成都:四川科学技术出版社,2000
- [10] 谢德谔,杨培君,曹样志,等. 薯蓣零余子发育与形态学本质探讨[J]. 西北农业大学学报,1993,21(1):77-80
- [11] 柯卫东,彭静,刘玉平,等. 试管藕诱导技术研究[J]. 武汉植物学研究,2001,19(2):173-175
- [12] Alizadeh S, Mantell S H, Viana A M. In vitro shoot culture and microtuber induction in the steroid yam *Dioscorea composita* Hemsl [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2000,53:107-112
- [13] 张宗勤,撒文清,刘建才. 叉蕊薯蓣的微繁殖及微型薯蓣的离体诱导[J]. 生物技术,1998,8(1):18-20
- [14] Saos F C, Hourmant A, Esnault F, et al. In vitro Bulb Development in Shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum Group): Effects of Anti-gibberellins, Sucrose and Light [J]. Ann. Bot., 2002, 89(4):419-425
- [15] Fatima B, Usman M, Ahamad I, et al. Effect of Explant and Sucrose on Microtuber Induction in Potato Cultivars [J]. International journal of agriculture & biology. Biol., 2005, 7(1):63-66
- [16] 詹志根,徐程,张铭. 兰科植物原球茎(类原球茎)的形态建成[J]. 种子,2002(5):36-37



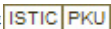
图版 I 盾叶薯蓣类原球茎发生发育的形态学观察

Plate I Morphology in ontogeny of PLB cultured in vitro

图版说明:1.带腋芽茎段的接种;2.腋芽直接膨大为类原球茎;3.增殖后的致密愈伤组织;4.致密愈伤组织上诱导出带鳞叶的类原球茎;5.顶芽伸出的类原球茎;6.愈伤组织分化的不定芽;7.长出茎、叶的类原球茎;8.生根的类原球茎;9.活性炭培养基上的生根类原球茎;10.移栽3个月后的类原球茎;11.移栽成活一周的类原球茎植株;12.种子萌发,胚轴处形成的膨大球体;13.田间栽培的盾叶薯蓣藤蔓基部叶腋处产生具根、芽分化的膨大球体;14.试管苗叶腋处产生多个具根、芽分化的膨大球体;15.试管苗叶腋处产生具根分化的膨大球体;16.生根类原球茎的纵切面图,箭头所示为根原基(40×)

**Explanation of Plates:** 1. Stem node explants cultured on the induction medium; 2. PLB regenerated directly from the axillary buds; 3. Proliferation of compact callus; 4. PLB wrapped with scale leaves regenerated from the dense callus; 5. Sprouted PLB; 6. Adventitious buds induced from callus; 7. PLBs with shoots and roots; 8. Rooting PLBs; 9. Rooted PLBs after 1 week of culture on the medium supplied with activated charcoal; 10. PLB Plantlets after three months of transplantation in soil; 11. PLB plantlets after 1 week of transplantation in soil; 12. Swelling corm forming at the hypocotyl of the seedling; 13. Swelling corm forming from the basal axillary bud of vine cultured in field; 14. Swelling corms with buds and roots from the basal axillary buds of plantlet cultured *in vitro*; 15. Swelling corm with adventitious buds from the basal axillary bud of plantlet cultured *in vitro*; 16. The longitudinal section of the PLB showing its adventitious shoots and roots primordium (arrow heads) (40 ×)

# 盾叶薯蓣类原球茎的离体诱导及快繁体系的建立

作者: [彭晓英](#), [周朴华](#), [张良波](#), [彭尽晖](#), [周双德](#), [PENG Xiao-ying](#), [ZHOU Pu-hua](#),  
[ZHANG Liang-bo](#), [PENG Jin-hui](#), [ZHOU Shuang-de](#)  
作者单位: [彭晓英,周朴华,周双德,PENG Xiao-ying,ZHOU Pu-hua,ZHOU Shuang-de\(湖南农业大学生物科学技术学院,长沙,410128\)](#), [张良波,ZHANG Liang-bo\(湖南省林业科学院,长沙,410004\)](#),  
[彭尽晖,PENG Jin-hui\(湖南农业大学园艺园林学院,长沙,410128\)](#)  
刊名: [植物遗传资源学报](#)   
英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)  
年, 卷(期): 2010, 11(5)

## 参考文献(16条)

1. [徐成基](#) [中国薯蓣资源](#) 2000
2. [彭晓英](#); [周朴华](#); [蒋道松](#) [盾叶薯蓣类原球茎的细胞学特点及组织化学研究](#) 2009(06)
3. [詹忠根](#); [徐程](#); [张铭](#) [兰科植物原球茎\(类原球茎\)的形态建成](#)[期刊论文]-[种子](#) 2002(05)
4. [Fatima B](#); [Usman M](#); [Ahmad I](#) [Effect of Explant and Sucrose on Microtuber Induction in Potato Cultivars](#) 2005(01)
5. [Saos F G](#); [Hourmant A](#); [Esnault F](#) [In vitro Bulb Development in Shallot\(Allium cepa L. Aggregatum Group\): Effects of Anti-gibberellins, Sucrose and Light](#)[外文期刊] 2002(04)
6. [张宗勤](#); [撒文清](#); [刘建才](#) [叉蕊薯蓣的微繁殖及微型薯蓣的离体诱导](#) 1998(01)
7. [Alizadeh S](#); [Mantell S H](#); [Viana A M](#) [In vitro shoot culture and microtuber induction in the steroid yam Dioscorea composita Hemsl](#) 2000
8. [柯卫东](#); [彭静](#); [刘玉平](#) [试管藕诱导技术研究](#)[期刊论文]-[武汉植物学研究](#) 2001(02)
9. [谢德镒](#); [杨培君](#); [曹样志](#) [薯蓣零余子发育与形态学本质探讨](#)[期刊论文]-[西北农业大学学报](#) 1993(01)
10. [彭晓英](#); [周朴华](#); [张良波](#) [盾叶薯蓣类原球茎的发育解剖学研究](#) 2010(02)
11. [彭晓英](#); [周朴华](#); [张良波](#) [盾叶薯蓣试管株芽的诱导](#)[期刊论文]-[热带亚热带植物学报](#) 2005(04)
12. [徐向丽](#); [刘选民](#); [周朴华](#) [盾叶薯蓣组织培养及微块茎的离体诱导](#)[期刊论文]-[湖南农业大学学报](#) 2000(04)
13. [谢彩侠](#); [崔永霞](#); [高山林](#) [盾叶薯蓣离体培养体系的建立及薯蓣皂甙元含量分析](#)[期刊论文]-[中国中医药现代远程教育](#) 2009(02)
14. [刘贵周](#); [谢世清](#) [盾叶薯蓣良种离体快繁关键技术研究](#)[期刊论文]-[中国种业](#) 2005(06)
15. [梁艳丽](#); [李兰玉](#); [谢世清](#) [盾叶薯蓣组织培养技术研究](#)[期刊论文]-[云南农业大学学报](#) 2006(02)
16. [任建伟](#); [白云](#); [郭秋月](#) [盾叶薯蓣培养细胞的生长及薯蓣皂甙元产生的变化规律](#) 1994(02)

## 本文读者也读过(10条)

1. [梁艳丽](#), [李兰玉](#), [谢世清](#), [LIANG Yan-li](#), [LI Lan-yu](#), [XIE Shi-qing](#) [盾叶薯蓣组织培养技术研究](#)[期刊论文]-[云南农业大学学报](#)2006, 21(2)
2. [唐君海](#), [蓝庆江](#), [陆祖正](#), [符策](#), [周婧](#) [盾叶薯蓣的组织培养研究初报](#)[期刊论文]-[广西热带农业](#)2004(3)
3. [孟玲](#), [朱宏涛](#), [刘锡葵](#), [杨崇仁](#), [Men Ling](#), [Zhu Hongtao](#), [Lui Xikui](#), [Yang Chongren](#) [盾叶薯蓣的快速繁殖](#)[期刊论文]-[天然产物研究与开发](#)2000, 12(6)
4. [徐向丽](#), [刘选民](#), [周朴华](#), [易克](#), [朱至清](#) [盾叶薯蓣组织培养及微块茎的离体诱导](#)[期刊论文]-[华南农业大学学报\(自然科学版\)](#)2000, 26(4)
5. [王慧](#), [唐雪松](#), [叶琴](#) [盾叶薯蓣的组织培养](#)[期刊论文]-[植物生理学通讯](#)2004, 40(1)
6. [梁艳丽](#), [赵庆云](#), [谢世清](#), [LIANG Yanli](#), [ZHAO Qingyun](#), [XIE Shiqing](#) [盾叶薯蓣组培快繁技术研究](#)[期刊论文]-[长江](#)

蔬菜2010(2)

7. 易志军 盾叶薯蓣愈伤组织培养研究[期刊论文]-经济林研究2001, 19(3)
8. 邱玲燕. 毛益绒. 夏振国. 马伯军. QIU Ling-yan. MAO Yi rong. XIA Zhen-guo. MA Bo-Jun 盾叶薯蓣组织培养技术的优化[期刊论文]-生物学杂志2005, 22(4)
9. 徐向丽. 刘选明. 周朴华. 易克. 朱至清 盾叶薯蓣组织培养及微块茎的离体诱导[期刊论文]-湖南农业大学学报  
(自然科学版) 2000, 26(4)
10. 张振华. 王涛. 陈嘉蓉. 李潞滨. 杨凯. 朱靖杰. ZHANG Zhenhua. WANG Tao. CHEN Xirong. LI Lubin. YANG Kai. ZHU Jingjie 农杆菌介导的CyMV-CP基因对石斛遗传转化研究[期刊论文]-热带作物学报2011, 32(3)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201005021.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201005021.aspx)