

生姜组织培养中增殖 与生根同步培养技术研究

雷开荣

(重庆市农业科学研究所生物技术中心, 400055)

摘要:对生姜组织培养快速繁殖技术进行了研究,建立了生姜试管苗增殖与生根同步培养技术规程。结果:在培养基MS+6-BA 2.0~3.0mg/L+NAA 0.5~1.0mg/L上,可以实现生姜增殖与生根诱导同步进行,以MS+6-BA 3.0mg/L+NAA 1.0mg/L为最佳培养基,继代繁殖周期为25~30d,繁殖系数7以上,生根诱导率达100%;培养20d后,将试管苗移栽到菜园土:河沙=1:1的混合基质中,保湿培养,移栽成活率达96.4%。

关键词:生姜;同步培养;快速繁殖

生姜(*Zingiber officinale* Rosc.)是一种重要的药食兼用型植物,原产我国及东南亚地区,在重庆市广泛种植。由于生姜不开花结实,不能利用有性繁殖进行育种,生产上长期以成熟根状茎为种源进行无性繁殖,造成姜体内多种病毒及青枯假单孢杆菌积累,种性退化严重,且田间病害发生严重,导致产量减产、品质下降。

已有研究表明^[1-5],通过植物组织培养技术,进行生姜脱毒脱菌种苗生产,可以解决上述问题,但成本较高,限制了该项技术的发展。如何简化生姜组织培养快繁的程序,降低生产成本是应当探讨的课题^[6]。为此,2002-2004年,我们以重庆生产上的主栽品种乐山大姜为材料,系统开展了生姜及种苗快速繁殖技术研究,建立了增殖与生根同步培养技术规程,为生姜种苗产业化奠定了技术基础。

基金项目:重庆市科技创新能力建设专项(8079)资助

1 材料与方法

1.1 材料 乐山大姜的成熟、健康根状茎。

1.2 无菌体系建立 将试材在黑暗、25~30℃条件下保湿催芽培养15~20d,切取1~2cm的嫩芽,放入饱和洗衣粉溶液中浸泡30min后,洗干净,用滤纸吸干或晾干水分。在超净工作台上用70%乙醇消毒60s,再用0.1% HgCl₂(加1~2滴吐温-80)摇荡12min,用无菌水漂洗4次,无菌滤纸吸干水分;在双筒显微镜下仔细剥取0.5~1mm茎尖分生组织,接种在诱导培养基上培养。

1.3 培养基与培养条件 ①诱导培养。培养基为MS+6-BA 2.0(单位为mg/L)+NAA 0.5+GA₃ 0.05 ②增殖与生根培养。以MS为基本培养基,附加不同激素种类和浓度(见表1)。将茎尖培养的丛生芽切成单芽,接种在培养瓶中,每瓶植3苗,3次重复,每重复10瓶,随机排列。分别于培养25d、30d、35d、40d时,任意调查其中两瓶的芽苗数量、根数和根长,并以平均值为指标进行结果分析。上述培养基均附加蔗糖3%、琼脂0.8%,pH 6.0。③培养条件。诱导培养时,先进行7d暗培养,然后进行光培养。培养室温度(25±2)℃,光照时间14h,光照强度1500lx。④炼苗与移栽。在室外自然光下炼苗4d后,打开培养瓶盖,取出试管苗,去除老叶和黄叶,洗净基部培养基,分成带根的单株试管苗,将其移栽到菜园土:河沙=1:1的混合基质上,保湿培养;

3 结论与讨论

3.1 广金钱草种子硬实,种子发芽试验的预处理以浓硫酸腐蚀5~6min为最好。生产中用砂子摩擦破除硬实以提高发芽率的方法切实可行,以稍用力摩擦约30min为宜。

3.2 广金钱草种子在20~40℃的温度下均有较高的发芽率,但以25~35℃为宜,在此温度范围内苗齐苗壮。温度过低发芽不整齐,温度过高幼苗畸形。

3.3 广金钱草种子室内发芽前2d比较整齐,建议计

算其发芽势的时间以前2d为标准。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京:化学工业出版社,2005
- [2] 陈瑛. 实用中药种子技术手册. 北京:人民卫生出版社,1999
- [3] 颜启传. 种子检验的原理和技术. 北京农业出版社,1992
- [4] 何茂金, 胡廷松, 曾佩玲, 等. 鸡骨草种子的发芽试验. 中草药, 1990,22(7):33~35

(收稿日期:2006-02-20)

表1 不同激素对比对生姜继代繁殖的影响

培养基 编号	激素配比			不同培养时间下的增值倍数			
	BA	NAA	GA ₃	25d	30d	35d	40d
1	0	0	0	1	1.2	1.2	1.3
2	0	0.5	0.05	1	1.1	1.2	1.2
3	0	1.0	0.1	1	1.1	1.3	1.3
4	2.0	0	0.05	3.3	3.6	3.7	3.7
5	2.0	0.5	0.1	5.6	5.9	6.7	7.2
6	2.0	1.0	0	6.0	6.3	7.0	7.7
7	3.0	0	0.1	7.4	7.5	8.0	8.6
8	3.0	0.5	0.05	7.4	7.7	8.5	9.7
9	3.0	1.0	0	8.6	9.0	9.3	10.4
10	4.0	0	0.05	3.6	3.8	4.1	4.1
11	4.0	0.5	0	3.6	3.9	4.3	4.7
12	4.0	1.0	0.1	4.0	4.0	4.2	4.5

14d后调查成活率。

2 结果与分析

2.1 诱导培养 茎尖分生组织在接种后的第10d起,基部逐渐膨大,并有淡黄色突起产生,从第15d起有大量绿色芽点形成,芽开始分化;经35~45d培养,每个分生组织可以产生由6个以上芽组成的丛生芽。以诱导产生的芽作为增殖与生根培养研究的材料。

2.2 增殖培养的比较 对生姜增殖的影响 在无激素的MS基本培养基(1号培养基)中,几乎没有新芽增殖;在2、3号培养基上,即使经过较长时间(40d)的培养,生姜也基本上没有增殖,增殖倍数最高为1.3,所以NAA、GA₃不能促进生姜不定芽的生长;在有6-BA的培养基中,当6-BA为2.0~3.0mg/L时,均有相对较高的繁殖系数。生姜的增殖培养需要NAA、GA₃的配合,9号培养基上增殖效果最好,在继代培养25d时,繁殖系数达到8.6,培养40d时,达到10.4;其次为8号培养基,繁殖系数达7.4~9.7。

当培养基中6-BA超过4.0mg/L时(10、11、12号培养基),明显影响生姜的增殖效果,表现为基部过度膨大、芽苗生长缓慢、畸形苗多,繁殖系数也明显降低。在继代培养时间上以25~30d为宜。因诱导萌发早,试管苗个体发育旺盛,繁殖能力较强。

对生根诱导的影响 从表2中可以看出,本试验采用的12种培养基,均可以不同程度的诱导出不定根,但根原基萌发时间、生根诱导率、平均根数、平均根长都存在明显差异。在无激素的1号培养基上,接种10d后才有根原基产生;在5~9号培养基上,根原基萌发时间最短为5d;5号、6号、8号、9号和12号培养基上的生根诱导率达100%,除12号外,其余4种培养基均有良好的根系系统。

2.3 试管苗的移栽 诱导培养20d后,打开培养瓶

表2 不同培养基配方对生姜诱导生根的影响

培养基	根原基萌 发时间(d)	生根诱导率 (%)	平均根数 (个)	平均根长 (cm)
1	10 ^a	42.1	2.2 ^b	3.8
2	7	68.5	3.9	4.3
3	6	92.4	4.5	4.8
4	7	96.6	13.2	4.9
5	5	100	24.5	5.2
6	5	100	26.8	5.1
7	5	98.7	30.8	5.3
8	5	100	32.0	5.2
9	5	100	39.5	4.8
10	7	84.3	12.3	3.7
11	7	99.2	13.8	4.0
12	6	100	14.9	4.2

a 接种后天数;b 以丛生芽为单位进行统计

盖,分别在室内外炼苗3~4d,洗净基部培养基,移栽到菜园土:沙土=1:1的混合基质中,保湿培养。10d后,移栽试管苗开始正常生长,14d后调查,移栽成活率达96.4%。

3 讨论

3.1 生姜快速繁殖要求较高的6-BA浓度,在附加6-BA 2.0~3.0mg/L时,可以实现较好的增殖效果;在同时附加6-BA 2.0~3.0mg/L、NAA 0.5~1.0mg/L的培养基中,可以实现生姜丛生芽和根同步诱导,在培养基MS+6-BA 3.0mg/L+NAA 1.0mg/L上芽增殖与根诱导能协同进行。继代培养周期一般控制在25d左右。

3.2 生姜组织培养与种苗快速繁殖中,还未见增殖与生根同步培养的报道^[1~5]。该技术具有以下优点:①减少培养环节,技术操作简单;②提高工作效率和试管苗质量,降低生产成本;③在种苗的规模化生产中有利于目标控制,增强了调控能力。

参考文献

- [1] 冯英,薛庆中. 生姜脱菌快繁研究进展. 植物学通报, 2002, 19(4): 439~443
- [2] 郭启高,宋明,梁国鲁. 生姜脱菌及离体快繁研究. 西南农业大学学报, 1999, 21(2): 137~139
- [3] 高山林,卞云云,陈柏君. 生姜组织培养脱病毒、快繁和高产栽培. 中国蔬菜, 1999(3): 40~41
- [4] Sharma T R, Singh B M. High-frequency *in vitro* multiplication of disease-free *Zingiber officinale* Rosc. Plant Cell Reports, 1997, 17: 68~72
- [5] Sharma T R, Singh B M, Chauhan R S. Production of disease-free encapsulated buds of *Zingiber officinale* Rosc. Plant Cell Reports, 1994, 14: 300~302
- [6] 曹改义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程. 兰州:甘肃科学技术出版社, 1996, 323~348

(收稿日期:2005-12-08)