

生姜芽尖组织培养技术的研究

薛寒青 (青海大学农林科学院, 青海西宁 810016)

摘要 以山东莱芜片姜和黄苗生姜两个品种为试验材料, 进行了芽尖芽、愈伤组织等诱导培养试验。结果表明: 山东莱芜片姜和黄苗芽诱导最佳培养基配方均为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 诱导莱芜片姜、黄苗愈伤组织的最佳培养基配方均为 MS+2,4-D 0.2 mg/L+6-BA 1.0 mg/L。

关键词 生姜; 组织培养; 诱导

中图分类号 S632.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)34-11037-02

Research on the Technology of Tissue Culture on the Shoot Tips of *Zingiber officinale*

XUE Han-qing (Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract With 2 varieties of Laiwu *Zingiber officinale* and Huangmiao *Z. officinale* from Shandong as tested materials, the culture experiments on the shoot tip bud and callus inducements were conducted. The results showed that The optimum medium formula for the bud inducement of both Laiwu and Huangmiao *Z. officinale* from Shandong was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L; the optimum medium formula of inducing callus of Laiwu *Z. officinale* and Huangmiao were MS+2,4-D 0.2 mg/L+6-BA 1.0 mg/L.

Key words *Zingiber officinale*; Tissue culture; Inducement

生姜(*Zingiber officinale* Rose)属姜科姜属多年生草本植物, 也是一年生蔬菜作物。生姜营养丰富, 并具有独特的风味, 可作为一种重要的调味品。生姜还具有药用价值^[1], 在市面上深受欢迎, 因而需求量很大。近年来随着生姜出口贸易额的增加, 种植面积也逐年扩大。但是, 在生产上生姜长期以地下块茎进行无性繁殖, 繁殖系数低^[2-3]。多年的营养体种植造成病毒和病菌侵染, 而且病毒^[4-6]和青枯假单胞杆菌极易通过种姜在体内积累, 导致生姜品种种性退化, 生活力下降, 抗逆性降低, 易诱发姜瘟病和姜癞皮病等多种病害, 田间发病率可高达 70%~80%, 导致品质变劣, 药用成分含量不稳定, 对生姜生产构成严重威胁。近几年来, 利用组织培养技术进行生姜脱菌毒繁殖已取得了很大成功。在常规栽培中, 取已萌芽的种姜切块种植, 需种姜 4 500~6 000 kg/hm², 种姜的消耗量很大。利用生姜芽组织进行组织培养的方式在国内报道不多, 笔者的试验就是针对生姜的芽尖组织进行诱导而开展的。

1 材料与方法

1.1 材料 山东莱芜片姜(简称片姜)、黄苗生姜(简称黄苗)来源于山东省农业科学院。

1.2 试剂 培养基是 MS 培养基、5%次氯酸钠(NaClO)、70%乙醇(C₂H₅OH)和 0.1%升汞(HgCl₂)、6-BA(6-苄基氨基嘌呤)、NAA(萘乙酸)、2,4-D(2,4-二氯苯氧乙酸)等配制成 1 mg/ml 母液。以上的 MS 培养基母液及激素溶液置于 4℃的冰箱中, 溶液均用蒸馏水配制。

1.3 方法

1.3.1 催芽。将供试品种的姜块在自来水下冲洗干净后, 置于 25℃的恒温箱内, 保持相对湿度在 70%~80%的条件下进行催芽, 待姜芽达到 1.0~2.0 cm 长时取用。

1.3.2 接种。取长 1.0~2.0 cm 的姜芽, 用自来水冲洗 1~2 h; 在无茵条件下用 70%乙醇(C₂H₅OH)和 0.1%升汞(HgCl₂)等试剂依次浸泡 0.5、15 min, 并把处理好的生姜芽尖切成见方 0.3~0.5 mm 大小的小块即可, 然后移入相应的培养瓶

中, 置入(25±2)℃的培养架上, 用 2 500 lx 光照 12 h 培养, 36 h 后对芽组织诱导率进行观察统计。

1.3.3 诱导培养基的激素配比。以 MS 和 1/2 碳(C)、氮(N)源培养基进行植物激素 6-BA、NAA、2,4-D 的不同浓度水平配比试验。培养基及激素配比见表 1、2。

表 1 不同浓度的 6-BA 和一定浓度的 NAA 诱导分化培养基

培养基编号	培养基	激素//mg/L	
		6-BA	NAA
A1	MS	0.5	0.1
A2	MS	1.0	0.1
A3	MS	1.5	0.1
A4	MS	2.0	0.1

芽诱导试验设 2 次重复, 每个重复接种 14 瓶, 每瓶接种 1 个生姜芽尖组织块。

表 2 出愈培养基

编号	培养基	激素浓度//mg/L		编号	培养基	激素浓度//mg/L	
		2,4-D	6-BA			2,4-D	6-BA
B1	1/2N 源 MS	0	1.0	B5	1/2 C 源 MS	0	1.0
B2	1/2N 源 MS	0.2	1.0	B6	1/2 C 源 MS	0.2	1.0
B3	1/2N 源 MS	0.5	1.0	B7	1/2 C 源 MS	0.5	1.0
B4	1/2N 源 MS	1.0	1.0	B8	1/2 C 源 MS	1.0	1.0
B9	MS	0	1.0	B11	MS	0.5	1.0
B10	MS	0.2	1.0	B12	MS	1.0	1.0

愈伤试验也设 2 次重复, 每个重复接种 20 瓶, 每瓶接种 2 个生姜芽尖组织块。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 6-BA 和 NAA(固定浓度为 0.1 mg/L) 对比对生姜芽尖组织块诱导的影响 由表 3 可知, 在 A1 组合上, 两个品种出芽率间存在 0.01 水平显著的差异, 其余组合在两个品种间差异不明显。所以, 对于不同的品种, 要进行不同激素及浓度水平的处理; 在不同浓度的 6-BA 之间, 在 A1 水平上黄苗和片姜在品种内与其他水平也存在 0.01 水平显著差异, 但 6-BA 在 A2、A3、A4 之间在相同的品种上作用差异不明显。在 A1 组合上, 芽尖诱导长出的根质量也比较好。综上所述, 两个品种的最佳培养基组合为 A1 组合, 即

作者简介 薛寒青(1965—), 女, 陕西长安人, 硕士, 副研究员, 从事蔬菜花卉育种的组织培养工作。

收稿日期 2007-07-05

MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L。

表 3 品种和激素各个组合间多重比较(Duncan 比较)

处理	平均出芽率/%	0.05 显著水平	0.01 极显著水平
A1 黄苗	6.28	a	A
A1 片姜	3.86	b	B
A2 黄苗	3.00	bc	BC
A2 片姜	2.21	cd	CD
A3 黄苗	1.85	cd	CD
A4 黄苗	1.57	d	CD
A3 片姜	1.50	d	CD
A4 片姜	1.21	d	D

2.2 不同浓度的 2,4-D 与不同 MS 培养基对生姜芽尖愈伤诱导的影响 由表 4 可知,品种间平均出愈率的差异不明显;培养基间平均出愈率的差异达到 0.01 水平显著;2,4-D 各水平间平均出愈率存在 0.01 水平显著差异;品种和培养基之间的互作不明显;品种和 2,4-D 之间的互作也不明显;培养基和 2,4-D 之间的交互作用在 0.01 水平显著;三级互作不明显。

表 4 培养基及激素的 Duncan's 多重比较

培养基	平均出愈率/%	0.05 显著水平	0.01 极显著水平
完全 MS	52.96	a	A
1/2N MS	28.81	b	B
1/2C MS	6.72	c	C
2,4-D			
0.5 mg/L	46.55	a	A
0.2 mg/L	44.57	a	A
1.0 mg/L	26.86	b	B
0 mg/L	0	c	C

由表 5 可知,完全 MS 培养基的效果最好,在 0.01 水平显著地高于 1/2N 源 MS 和 1/2C 源 MS,1/2N 源 MS 在 0.01 水平显著好于 1/2C 源 MS。2,4-D 的浓度在 0.5 与 0.2 mg/L 之间效果不明显,但与 1.0 mg/L 在 0.05 水平显著。所以,激素可以选用 0.5 与 0.2 mg/L 的任意一个浓度。

研究表明,片姜 B10、片姜 B11、黄苗 B11、黄苗 B10 为最佳处理。它们均在 0.01 水平显著好于其他处理,它们之间的差异不明显。这也反映了方差分析时品种间差异不明显的统计结果。山东莱芜片姜和山东黄苗生姜两个品种的最佳愈伤诱导培养基可选 B10 和 B11 中的任何一个组合,即两种姜芽组织块诱导愈伤组织的培养基为 MS + 2,4-D 0.2 mg/L + 6-BA 1.0 mg/L 或 MS + 2,4-D 0.5 mg/L + 6-BA 1.0 mg/L。

3 小结与讨论

(1)在该试验中,山东莱芜片姜和黄苗的芽诱导培养基及激素配比均为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L;诱导片姜、黄苗愈伤组织的培养基均为 MS + 2,4-D 0.5 mg/L + 6-BA 1.0 mg/L。近年来,对生姜的组培快繁技术研究的报道有所增加。唐立美等认为,加入 BA 的培养基愈伤组织诱导率明显高于加入 KT 的培养基,BA 更有利于生姜愈伤组织的分化^[2]。张玲等研究发现愈伤组织的诱导仅出现在添加了 2,4-D 的培养基中,NAA 对诱导愈伤组织没有效果^[7-8]。据黄菊辉等报道,6-BA 和 NAA 可促进生姜幼芽发生,且具有相互

增益效应^[8]。张玲等认为诱导生姜芽分化效果较好的培养基为 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L,而李跃建等认为以 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L 的诱导效果最好^[15]。张秀清等认为,生姜外植体在含 KT 和(或)BAA 的培养基都能生根^[16];黄菊辉等提出,NAA 对生根是绝对且必要的^[8];林碧英等认为,KT 也可促进生姜生根,但效果不如 NAA^[6]。这进一步表明培养基的最适成分和浓度与生姜基因型、外植体类型及大小等有关。总的来看,不同的激素组合对生姜快繁有明显的

表 5 各组合的 Duncan's 多重比较

处理组合	愈伤数		愈伤率/%		0.05 显著	0.01 极显著
	I	II	I	II	水平	水平
片姜 B10	40	38	100.0	95.0	a	A
片姜 B11	38	40	95.0	100.0	a	A
黄苗 B11	36	36	90.0	90.0	a	AB
黄苗 B10	36	34	90.0	85.0	ab	AB
片姜 B2	29	31	72.5	77.4	bc	BC
片姜 B12	30	27	75.0	67.5	c	BC
黄苗 B12	33	24	82.5	60.0	c	BC
黄苗 B2	27	26	67.5	65.0	c	C
片姜 B3	16	16	40.0	40.0	d	D
黄苗 B3	12	18	30.0	45.0	d	D
黄苗 B7	12	2	30.0	5.0	e	E
片姜 B7	10	4	25.0	10.0	e	E
黄苗 B4	2	8	5.0	20.0	ef	E
片姜 B4	3	3	7.5	15.0	ef	E
片姜 B8	2	0	5	0	f	E
片姜 B1	0	0	0	0	f	E
黄苗 B5	0	0	0	0	f	E
黄苗 B6	0	0	0	0	f	E
片姜 B5	0	0	0	0	f	E
黄苗 B8	0	0	0	0	f	E
黄苗 B9	0	0	0	0	f	E
黄苗 B1	0	0	0	0	f	E
片姜 B9	0	0	0	0	f	E
片姜 B6	0	0	0	0	f	E

注:接种块数为 40 块,接种次数为 2 次,共接种 80 块。

(2)在该试验中,当培养基中的激素浓度和对照组为一个水平,把碳源减少一半时,生姜芽尖组织块的 80% 在体积上没有发生明显的变化,只是体色变绿。由此可知,碳源对生姜芽尖组织块的诱导有明显的

(3)在组织培养与种苗快速繁殖过程中,增殖与生根同步诱导培养。该技术减少了培养环节,技术操作简单,提高了工作效率和试管苗质量,降低生产成本。在种苗的规模化生产中,该技术有利于目标控制,增强了调控能力。

参考文献

- [1] 赵德婉,徐坤,艾然珍.生姜高产栽培[M].北京:金盾出版社,2000:12-25.
- [2] 康立美,王万福,孙丰纪,等.蔬菜高效栽培实用技术[M].北京:中国农业出版社,1994:270-284.
- [3] 王教义,范国强,张平.姜脱毒组培技术研究[J].山东农业科学,1999(6):7-9.
- [4] 徐坤,杨俊华.脱毒生姜及高产栽培技术[J].长江蔬菜,2000(8):8-9.
- [5] 高山林.脱毒生姜培育及高产栽培[J].四川农业科技,2000(2):16.
- [6] 高山林,卡云云,陈柏君.生姜组织培养脱毒、快繁和高产栽培[J].中国蔬菜,1999(3):40-41.
- [7] 林碧英,魏郑珍,陈燕华.生姜茎尖组织培养和快速繁殖研究[J].亚热带植物科学,2002,31(4):13-16.
- [8] 黄菊辉,陈世儒.生姜种质资源离体保存[J].西南农业大学学报,1991,13(3):310-313.