

糖及 pH 值对生姜脱毒试管苗继代增殖和生根的影响

罗天宽,张小玲,唐征,刘庆,胡彩英

(浙江省温州市农业科学研究院,浙江温州 325006)

摘要:以不同 pH 值和蔗糖浓度对生姜脱毒试管苗继代增殖、生根及生长状况的影响进行了研究,结果表明:3% 的蔗糖浓度最适合于继代,2% 的蔗糖浓度最适合于生根,pH 5.8 的培养基最适于生姜继代增殖和生根。

关键词:生姜;继代;pH 值;蔗糖;生根;组织培养;脱毒;快繁

中图分类号:Q943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-8581(2006)06-0081-02

生姜属姜科姜属多年生单子叶草本植物,是我国重要的经济作物。生产上生姜只能靠少数品种长期无性繁殖,致使姜体内积累多种病毒,从而导致生姜产量下降、品质降低,制约了生姜的生产发展。研究表明,脱毒生姜的增产效益十分显著^[1],通过调节激素配比可促进生姜试管苗器官的分化和生长^[2];培养基中蔗糖浓度可调节试管苗内源激素的水平和比例,从而影响器官的分化和生长^[3];基质初始 pH 值是植物组织和细胞培养的主要影响因子,它直接影响培养物的生长、分化和物质积累,其最适初始 pH 值为 5.0~6.0^[4],但因植物培养的不同种类、不同部位及不同生理状态而异。本文研究了 pH 值和糖浓度对生姜试管苗继代增殖和生根的影响,为工厂化生产试管姜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 以台湾肉姜脱毒试管苗为试验材料。

1.2 培养基及培养条件 基本培养基为 MS(Murashige 和 Skoog,1962)^[5],3% 蔗糖(pH 试验),7% 琼脂,添加不同种类和浓度的激素(见试验方案),分装于广口瓶,于 121℃,1.1kg/cm² 的高温、高压消毒灭菌 15min,冷却后备用。接种后培养基放置 25℃,白色荧光灯光照下 2000~3000lx,光周期 12h 进行培养。

1.3 试验方法

1.3.1 茎尖脱毒 取台湾肉姜种姜经流水冲洗后,用 0.2% KMnO₄ 进行表面消毒 15min,再放入 38℃ 恒温培养箱进行热方案,待长出 2~5cm 左右的芽后再进行茎尖脱毒。将长出的芽切下经流水冲洗后放入广口瓶中。然后在超净工作台内用 75% 酒精浸渍 30s,再用 0.1% HgCl₂ 消毒 10min,无菌水洗涤 3 次。40 倍体式显微镜下剥取 0.2~0.8mm 的茎尖分生组织,并迅速接种到诱导培养基中。当长出组培苗后,应用血清学鉴定,获得脱毒苗。

1.3.2 试验方法 采用 2 种方案,分别进行糖浓度和 pH 试验,以研究这 2 个因素对生姜试管苗的影响。A 方案:外植体为生姜脱毒苗单株,并去根、剪茎(仅保留基部 0.5~1.0cm 长的茎),培养基为 MS+BA3.5mg/mL+NAA0.2mg/mL。B 方案:外植体为生姜脱毒苗单株,培养基为 MS+BA0.3mg/mL+NAA0.2mg/mL。两种方案分别进行 pH 值方案,分 4.0、5.0、5.8、6.5、7.0、8.0 等 6 个梯度;糖浓度方案,分 0.1%、2%、3%、5%、8%、10% 等 7 个梯度;以上每个方案为 5 瓶,每瓶接种 5 株,2 次重复。观察出芽数、出根数、根长、根粗、颜色等生理形态特征。所得数据显著性差异结果由 SAS 统计软件分析,采用 DUCAN 新复极差法,在 5% 的水平上,进行组内有重复观察值的两向分组的多元比较获得。

2 结果与分析

2.1 糖浓度对生姜试管苗继代增殖和生根的影响

2.1.1 糖浓度对生姜试管苗继代增殖的影响 第 29d 统计数据表明(表 1),出芽数在糖浓度为 3% 时最佳,糖浓度为 0%、8%、10% 时出芽很少,并且试管苗生长受到抑制;不同糖浓度对生姜出芽数的影响在 A、B 两种不同方案的显著性差异有所不同,但随着糖浓度的变化而变化的趋势表现一致。在糖浓度为 1%~3% 时生姜脱毒试管苗的颜色变化不大,颜色翠绿,当糖浓度高于 5% 时试管苗出现黄化,并随浓度的增加而加重。

表 1 糖浓度对生姜试管苗继代增殖的影响

糖浓度(%)	A 方案出芽数(个)	B 方案出芽数(个)
0	0d	0.52c
1	1.68bc	1.88ab
2	2.28ab	2.25a
3	2.52a	2.36a
5	1.44c	1.52bc
8	0.37d	1.06b
10	0.24d	0.68c

注:小写字母表示在 5% 水平下的差异性比较。字母相同则差异不显著,不同则差异显著。下同。

收稿日期:2006-06-28

作者简介:罗天宽(1976-),男,湖南张家界人,农艺师,从事生物技术与育种方面的研究。

2.1.2 糖浓度对生姜试管苗生根的影响 第20d统计根数及根长,从表2可以看出,糖浓度2%~3%浓度下根数较多,在糖浓度为0%、8%、10%时出根很少,在两种方案中趋势表现一致,但由于两个方案中接种的外植体和激素水平不同,导致相同蔗糖浓度下生根数量有较大差异。蔗糖浓度对根的伸长也有显著的影响,在A方案中根最长时糖浓度为3%,而B方案中根最长时出现在2%。说明外植体或激素水平与蔗糖浓度在生姜脱毒试管苗根的生长过程中存在互作效应,而根粗受糖浓度影响不大。

2.2 pH对生姜试管苗的影响

2.2.1 pH对生姜试管苗不定芽增殖的影响 在第29d统计出芽数(表3),结果表明:在pH5.8出芽情况最好,生姜继代的pH水平适应范围较广,中度偏酸条件较佳,而且新芽颜色之间没有很大差异。

2.2.2 pH对生姜试管苗生根的影响 第20d对出根数和根长的统计结果表明:pH对生姜脱毒苗的出根和根的伸长有一定的影响,但没有表现出一致的规律。生根对pH要求范围较广,在pH4.0~8.0水平都能良好生长,pH5.8条件下出根数和根长均为最佳(见表4)。

表3 pH对生姜试管苗不定芽增殖的影响

pH	A方案出芽数(个)	B方案出芽数(个)
4.0	1.17b	2.03a
5.0	2.67a	2.41a
5.8	2.73a	2.50a
6.5	2.53a	2.30a
7.0	2.50a	2.14a
8.0	2.51a	2.12a

表2 糖浓度对生姜试管苗生根的影响

糖浓度(%)	A方案出根数(条)	B方案出根数(条)	A方案根长(cm)	B方案根长(cm)
0	0.60d	0.32b	0.14e	0.24d
1	0.84cd	3.24a	0.70cd	1.84a
2	1.84bc	3.40a	1.26ab	1.90a
3	3.24a	4.48a	1.68a	1.50ab
5	1.36b	1.24b	1.06bc	1.10bc
8	0.48d	0.32b	0.56cde	0.28d
10	0.36d	0.48b	0.50de	0.78cd

表4 pH对继代试管苗生根的影响

pH	A方案出根数(条)	B方案出根数(条)	A方案根长(cm)	B方案根长(cm)
4.0	0.33c	2.37b	0.18c	1.88b
5.0	2.50bc	3.20ab	1.08b	1.93b
5.8	4.30a	5.10a	1.27ab	2.23a
6.5	3.43ab	3.67ab	1.20ab	2.12ab
7.0	3.51ab	3.70ab	1.15ab	2.07ab
8.0	3.39ab	3.63ab	1.13ab	2.00ab

3 小结与讨论

一定程度范围内的糖浓度提高对生姜芽增值都有明显的促进作用,但浓度太高则会导致植株生长不健壮,叶片发黄,并且对继代与生根都有抑制作用。蔗糖浓度超过8%时则出芽与生根显著降低,当蔗糖浓度超过10%时,试管苗黄化,甚至死亡。研究发现生姜对pH值的适应能力较强,中度及偏酸条件对生姜的影响不大;偏碱条件,试管苗颜色轻微变浅,其他生长情况良好。这与范国强等(2000)^[6]的研究不相一致,他们认为生姜适宜pH为6.2~6.8,当pH>7.0时,繁殖系数、苗高及幼苗质量明显下降。这可能是因为本研究的生姜基因型的不同引起的。蔗糖对生姜继代增殖和生根有显著影响,可能是因为蔗糖浓度改变了培养基的渗透压,也可能是蔗糖能够显著影响生姜试管苗内源激素水平^[7]所致。本试验结果表明:pH5.8最适合于生姜增殖与生根,但关于基质pH值对培养物影响的机制尚不十分清楚,一般认为基质pH影响培养细胞质膜透性、细胞呼吸代谢、多胺代谢和蛋白质合成以及生长调节物质进出细胞及其在胞内的存在方式,因此间接影响培养物生长、分化和物质积累。

参考文献:

- [1] 范国强,徐坤.生姜脱毒与高产栽培技术[M].北京:中国农业出版社,2000.89~103.
- [2] 郭启高,宋明,梁国鲁.生姜脱菌及离体快繁研究[J].西南农业大学学报,1999,21(2):137~139.
- [3] Khuri S, Moorby J. Investigation into the role of sucrose in potato CV estima microtuber production in vitro[J]. Ann. of Bot., 1995, (75):295~303.
- [4] 王彦为,陶丽华,丁金干.基质pH值和接种量对龙芽木愈伤组织培养的影响[J].人参研究,2005, (4):18~19.
- [5] 唐文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.36~46.
- [6] 范国强,徐坤.生姜脱毒与高产栽培技术[M].北京:中国农业出版社,2000.60.
- [7] 郑永强,刘艳梅,徐坤.蔗糖浓度对生姜试管苗生长及内源激素变化的影响[J].中国蔬菜,2004, (2):15~17.