



# 红姜花的组织培养和快繁技术研究

梁国平, 管 艳, 黄凤翔, 肖三元

(云南省热带作物科学研究所, 云南 景洪 666100)

**摘要:** 以红姜花花序抽生的腋芽诱导丛生苗和愈伤组织以及植株再生, 结果表明: 外植体诱导培养基以 MS+6-BA2.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA2.0mg·L<sup>-1</sup> 为宜, 不定苗的诱导率可达 158.3%; 丛生苗继代增殖培养基以 MS+6-BA1.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0mg·L<sup>-1</sup> 为宜, 增殖倍数可达 5.6 倍; 愈伤组织诱导培养基以 MS+6-BA6.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.1mg·L<sup>-1</sup>; 植株再生和丛生苗增殖培养基以 MS+6-BA1.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0mg·L<sup>-1</sup>; 生根诱导以 1/2MS+NAA0.5mg·L<sup>-1</sup> 或 1/2MS+NAA0.5mg·L<sup>-1</sup>+6-BA0.2mg·L<sup>-1</sup> 两种培养基为宜, 生根诱导率可达 100%。

**关键词:** 红姜花; 组织培养; 快繁

**中图分类号:** S68 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-450X (2007) 03-0038-03

## Study on *Alpinia purpurata* in Vitro and Its Rapid Propagation

LIANG Guo-ping, GUAN Yan, HUANG Feng-xiang, XIAO Shan-yuan

Yunnan Institute of Tropical Crops, Jinghong 666100, China

**Abstract:** Axillary bud induction of cluster bud and callus and plant regeneration from inflorescence of *Alpinia purpurata* was made. The result showed that the optimum medium for explant induction was MS+6-BA2.0mg/L+NAA2.0mg/L; The proliferation can reach to 5 to 6 times while in the medium of MS+6-BA1.0mg/L+NAA1.0mg/L for inherit multiplication, and MS+6-BA6.0mg/L+NAA0.1mg/L for callus induction. Besides, in the medium of MS+6-BA1.0mg/L+NAA1.0mg/L for plant regeneration and cluster proliferation was the optimum one. The rooting rate can reach the highest (100%) while in both medium of 1/2MS+NAA0.5mg/L and 1/2MS+NAA0.5mg/L+6-BA0.2mg/L for induction of roots.

**Key words:** *Alpinia purpurata*; in vitro; rapid propagation

红姜花 (*Alpinia purpurata*) 是姜科山姜属多年生草本植物, 原产法属波利尼西亚塔希提岛<sup>[1]</sup>, 是我国近几年从泰国引入的一种观赏植物。红姜花植株高 160cm, 穗状花序从茎顶抽出, 花为白色小花, 两性花; 其萼片特化似莲瓣状, 紫红色, 莲瓣状萼片层层开放, 极具园艺观赏价值, 是一种很有开发前景的热带鲜切花。红姜花繁殖一般采用分株法, 但繁殖速度慢, 不能满足生产的需要。目前有关姜科其它属种如火炬姜 (*Nicolaia elatior*)、瓷玫瑰 (*Phaeomeria magnifica*)、红球姜 (*Zingiber zerumbet*) 和白姜花 (*Hedychium coronarium*) 等的组织培养主要用侧芽、顶芽、花芽和种子下胚轴诱导形成再生植株<sup>[2-5]</sup>, 而红姜花的组织培养与快速繁殖未见报道。本试验以红姜花穗状花序上抽生的腋芽作外植体, 培养诱导丛生苗或诱导愈伤组织产生不定苗, 为建立红姜花组培快繁技术打下基础。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

供试材料为云南省热带作物科学研究所花卉母本园内种植的红姜花, 选取生长健壮、无病虫的穗状花序的腋芽作外植体。

#### 1.2 方法

当穗状花序上的腋芽生长到 3~5cm 时, 将芽体切下, 先用洗洁精清洗 3~5min, 然后用自来水冲洗干净, 在超净台上常规灭菌后, 将包裹腋芽的叶鞘层层剥去, 然后将芽体横切成 0.5cm 左右的小段, 接种到诱导培养基上, 每管接种 1 个, 每处理接种 12 个材料。诱导培养以 MS 为基本培养基, 分别添加不同浓度的 6-BA、IAA、NAA, 均添加白砂糖 30g·L<sup>-1</sup>、琼脂粉 5g·L<sup>-1</sup>, pH 为 5.8。培养温度 (26 ± 2) °C, 光照强度为 1500 lx, 光照 10h·d<sup>-1</sup>。将诱导出的芽苗按节切成小段, 每节带一个腋芽进行继代培养, 每瓶接种 8 个材料, 每处理接种 10~30 瓶, 继代时间 40d, 继代 5 次后统计增殖倍数。将诱导的愈伤组织 (愈伤块约 1cm<sup>2</sup>) 转接到分化培养基, 每处理接种 30 个愈伤块, 培养 40d 后调查诱导率。将长 3~4cm 左右的不定苗按每瓶 10 棵或 4 丛苗接种到生根培养基上, 每

收稿日期: 2007-06-15



处理接种 30 瓶, 30d 后调查生根情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素组合对外植体诱导的影响

外植体接种于不同激素组合的培养基, 培养第 7d 有的材料基部切口开始膨大, 14d 后可以看到从基部诱导出不定苗, 30d 左右, 芽苗伸长 4~5cm, 有 1~3 片叶; 有的芽苗基部还长出 2~3 条不定根。

从表 1 可以看出, 当 6-BA 的浓度为  $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 随着生长素 NAA 浓度的提高, 诱导率也明显提高; 当 6-BA 的浓度提高到  $2.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 高浓度的 NAA 芽的诱导率也较高, 而 IAA 随浓度的增高而诱导率却明显下降; 当 6-BA 浓度提高到  $4.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 高浓度的 NAA 诱导率明显升高; 而 IAA 随浓度的增高而诱导率明显下降。说明在一定的 6-BA 浓度下, 适当提高 NAA 的浓度对红姜花的芽诱导具有明显促进作用; 而在本试验的条件下, 提高 6-BA 的浓度对芽苗的诱导率影响不明显。在上述几种激素组合中以处理 J8 诱导率最高, 可达到 158.3%, 诱导的不定苗黄绿色, 长势较好, 芽苗粗壮。

### 2.2 不同激素组合对丛生苗诱导的影响

将诱导出的芽切块接种到继代增殖培养基上, 诱导丛生苗或愈伤组织。在第一次继代培养中大部分材料都能在各个处理的继代培养基中诱导出 1~2 个不定苗, 极少数材料能诱导出 4 个以上的苗丛。第 2、3 次继代培养, 接种 7d 左右材料切口基部开始膨大, 10d 左右分化出不定苗, 25~30d 不定苗生长较快。以后逐渐缓慢, 40d 后不定苗趋于稳定, 不定苗高 2~4cm,

2~3 片叶, 有的苗基部节间处长出 2~3 条根。从第 4 次继代培养开始, 不定苗的增值倍数趋于稳定。

从表 2 可以看出, 当 6-BA 的浓度为  $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 随着 NAA 浓度升高, 丛生苗的增值倍数随之提高; 而 IAA 浓度变化对丛生苗增值倍数的影响不明显。说明在一定激素组合和浓度条件, 适当提高 NAA 的浓度对丛生苗的增殖有利。这与诱导外植体的结果一致。当 NAA、IAA 保持较低浓度时, 随着 6-BA 浓度升高丛生苗的增值倍数没有明显提高, 尤其是当 6-BA 的浓度在  $6.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  且连续继代 5 次后, 接种材料产生愈伤组织, 而当 6-BA 的浓度在  $10.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 接种材料基部膨大, 但未能诱导出愈伤组织, 诱导出的不定苗数量也少、叶片细小, 并且随着培养时间的增加, 叶片出现黄化现象。从试验结果看到, 在诱导丛生苗的继代增殖培养过程中, 6-BA 的浓度不宜太高, 而 NAA 的浓度要适当提高; 在几种继代增殖培养基中,

表 2 不同激素组合对丛生苗诱导情况

处 理	激素组合 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	增值 倍数	叶片 生长状况	备 注
JII-1	6-BA1.0+NAA0.2+IAA0.0	1.3	正常	有不定根
JII-2	6-BA1.0+NAA1.0+IAA0.0	5.6	正常	有不定根
JII-3	6-BA1.0+NAA2.0+IAA0.0	3.9	正常	有不定根
JII-4	6-BA1.0+NAA0.0+IAA0.2	1.3	正常	有不定根
JII-5	6-BA1.0+NAA0.0+IAA1.0	1.3	正常	有不定根
JII-6	6-BA1.0+NAA0.0+IAA2.0	1.7	正常	有不定根
JII-7	6-BA2.0+NAA0.2+IAA0.0	2.7	正常	没有根
JII-8	6-BA2.0+NAA0.0+IAA0.2	1.0	正常	没有根
JII-9	6-BA3.5+NAA0.1+IAA0.0	2.2	正常	没有根
JII-10	6-BA4.0+NAA0.1+IAA0.0	1.9	细小	没有根
JII-11	6-BA6.0+NAA0.1+IAA0.0	1.6	细小	愈伤组织
JII-12	6-BA10.0+NAA0.1+IAA0.0	1.3	细小	细叶黄化

表 1 不同激素组合对外植体诱导情况

处理	激素组合 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	接种数 (个)	诱导芽数 (个)	诱导率 (%)	诱导芽苗生长情况		
					颜色	长势	苗
J1	6-BA1.0+NAA0.5+IAA0.0	12	6	50.0	黄绿,	好,	粗壮
J2	6-BA1.0+NAA0.0+IAA0.5	12	11	91.7	绿色,	较好,	粗壮
J3	6-BA1.0+NAA0.2+IAA0.5	12	3	25.0	淡绿,	较差,	弱小
J4	6-BA1.0+NAA2.0+IAA0.0	12	18	150.0	黄绿,	好,	粗壮
J5	6-BA1.0+NAA1.0+IAA1.0	12	14	116.7	黄绿,	差,	细小
J6	6-BA2.0+NAA1.0+IAA0.2	12	8	66.7	淡绿,	较差,	弱小
J7	6-BA2.0+NAA0.5+IAA0.0	12	3	25.0	淡绿,	差,	弱小
J8	6-BA2.0+NAA2.0+IAA0.0	12	19	158.3	黄绿,	较好,	粗壮
J9	6-BA2.0+NAA0.0+IAA0.5	11	8	66.7	绿色,	较好,	细长
J10	6-BA2.0+NAA0.0+IAA2.0	12	1	8.3	淡绿,	差,	弱小
J11	6-BA4.0+NAA2.0+IAA0.0	12	12	100.0	黄绿,	好,	细长
J12	6-BA4.0+NAA0.0+IAA0.5	12	2	16.7	绿色,	好,	细长



以处理 JII-2 培养基丛生苗的诱导效果最好, 增殖倍数达到 5.6 倍; 在处理 JII-11 培养基中经 5 次左右继代培养能产生愈伤组织。

### 2.3 愈伤组织的丛生苗诱导

将诱导的愈伤组织转入分化培养基诱导丛生苗, 4 种分化培养基: MS+6-BA1.0+NAA0.2; MS+6-BA1.0+NAA0.5; MS+6-BA1.0+NAA1.0; MS+6-BA1.0+NAA2.0 均可诱导出丛生不定苗, 诱导率分别为 53.5%、78.6%、100% 和 92.7%。将这些不定苗再切块接种到第三种分化培养基上, 又可直接诱导出大量丛生不定苗。反复继代培养可增殖出大量的试管苗。试验结果表明: 接种材料在较高浓度的 6-BA 下经反复继代诱导出愈伤组织, 而愈伤组织在低浓度的 6-BA 和一定浓度的 NAA 作用下又可诱导出大量丛生苗, 从而组成红姜花的种苗快繁技术。

### 2.4 生根诱导和试管苗移栽

将诱导的丛生苗转接到 1/2MS<sub>0</sub>、1/2MS+NAA0.3、1/2MS+NAA0.5、1/2MS+NAA1.0、1/2MS+NAA0.5+6-BA0.2 等 5 种生根培养基进行生根诱导。在 5 种培养基中都能诱导出根系, 诱导率分别是 77.5%、90.3%、100%、100% 和 100%。其中第一种培养基诱导出的根系较少, 平均 2.5 条/株(丛); 第二种培养基诱导的根系多, 但是根系较细小, 平均 4.2 条/株(丛); 第三、四种培养基诱导的根系多, 且根系较粗, 平均 6.5 条/株(丛); 第五种培养基不仅诱导的根系多, 根系多的达 8 条以上, 平均 6.8 条/株(丛), 同时还能诱导出 2~3 株丛生苗。因此, 从组培快繁和低成本的需要, 以第三种或第五种培养基为佳。

将诱导出具根、茎、叶的完全植株移出培养室, 放置在有散射光的地方炼苗 3~4d, 然后将瓶盖打开, 小心取出瓶苗, 洗净附着在根上的培养基, 将苗移栽在泥炭土+珍珠岩+发酵蔗渣(1:1:1)的袋装基质里, 并淋足定根水, 30d 后成活率可达 95% 以上。

## 3 小结

### 3.1 无菌外植体的建立

在姜科其他属种的组织培养中所选用的外植体主要有侧芽、顶芽、花芽和种子下胚轴等<sup>[2-5]</sup>。相对于侧芽、顶芽来说, 采用花芽和种子下胚轴较容易建立无菌外植体, 因为姜科植物大多为地下走茎, 不易将材料上的病菌彻底杀灭, 这往往是植物组织培养最关键

的一环。本试验选用花序上萌动的腋芽作外植体, 这种芽外包裹紧密的叶鞘, 消毒灭菌的时间稍长一些对芽也不会造成损伤, 从而较容易将病菌杀灭, 顺利建立起无菌外植体。

### 3.2 组培快繁技术的建立

植物组织培养与快速繁殖的方式和途径依离体分化过程的类型不同可分为无菌短枝型、丛生芽增殖型、器官发生型、胚状体发生型和原球茎型等 5 种类型<sup>[6]</sup>。红姜花的腋芽在脱分化培养时不易产生愈伤组织, 外植体接种到任何培养基中大多数会分化出芽来, 转接几次都是如此。因此, 我们准备按“丛生芽增殖型”的途径进行快繁, 可是连续几次继代培养丛生芽的增殖倍数不高, 最高的只有 5.6 倍。为了得到愈伤组织, 在培养基中逐渐提高 6-BA 的浓度, 当 6-BA 的浓度在 6.0 mg·L<sup>-1</sup> 时, 连续继代 5 次终于获得愈伤组织。由愈伤组织继代增殖或再分化可得到大量的丛生芽, 增殖倍数可达几十倍以上。因此, 根据试验结果建立的红姜花组培快繁的方法和途径是: 外植体诱导培养基以 MS+6-BA2.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA2.0mg·L<sup>-1</sup> 为宜; 丛生苗继代增殖培养基以 MS+6-BA1.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0mg·L<sup>-1</sup> 为宜; 愈伤组织诱导培养基以 MS+6-BA6.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA0.1mg·L<sup>-1</sup>; 植株再生和丛生苗增殖培养基以 MS+6-BA1.0mg·L<sup>-1</sup>+NAA1.0mg·L<sup>-1</sup>; 生根诱导以 1/2MS+NAA0.5mg·L<sup>-1</sup> 或 1/2MS+NAA0.5mg·L<sup>-1</sup>+6-BA0.2mg·L<sup>-1</sup> 两种培养基为宜, 生根诱导率可达 100%。培养的试管苗移栽在泥炭土+珍珠岩+发酵蔗渣(1:1:1)的袋装基质里, 成活率可达 95% 以上。

### 参考文献:

- [1] Alfred Byrd Graf. *Tropica Color Cyclopedia of Exotic Plants and Trees* [M]. New York, 197: 923.
- [2] 符书贤, 潘梅, 符瑞侃. 火炬姜的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 223.
- [3] 莫饶, 戚春霖, 朱文丽. 瓷玫瑰的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(3): 338.
- [4] 范燕萍, 余让才, 陈小丹. 红球姜的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 458.
- [5] 熊友华, 马国华, 刘念. 白姜花的组培与植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(1): 66.
- [6] 曹改义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996, 11: 11-12.