

# 草果组织培养快速繁殖育苗研究

萧洪东, 聂磊, 徐玉钗

(佛山科学技术学院生命科学院, 广东 佛山 528000)

**摘要** 以草果(*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire)茎尖为外植体, MS为基本培养基, 探讨不同浓度的培养基因子, 对草果不定芽的诱导、增殖分化、生根情况和试管苗移栽成活率的影响。结果表明: ①以MS+6-BA 6 mg/L+NAA 0.1 mg/L+TDZ 0.05 mg/L的培养基对不定芽增殖分化效果较好, 增殖倍数达到2.34, 不定芽叶色绿, 苗粗壮, 整体感最好。②糖浓度对草果不定芽分化增殖有一定影响, 以糖浓度为30~35g/L增殖分化效果较好。③在草果不定芽生根中, 以1/2MS+IBA 0.2 mg/L、1/2MS+NAA 0.2 mg/L效果较好。出根率较高, 须根最多, 平均根数最多, 移栽成活率为100%。

**关键词** 草果; 组织培养; 快速繁殖; TDZ

**中图分类号**: Q943.1

**文献标识码**: A

**文章编号**: 1006-9690(2006)03-0061-03

草果(*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire)是常用的中药材, 辛香浓烈, 味辛性温, 属芳香化渗药, 也是居家所喜欢的芳香类食用调味料<sup>[1-3]</sup>。据有关资料分析, 全国年销量为210万~220万kg, 其中药用70万~80万kg, 食用调料140万~150万kg<sup>[4]</sup>。随着科学技术的发展和人民生活水平的提高, 草果的需求量将不断扩大, 草果的市场前景将更加看好。

草果抗污染能力较强, 适宜于林荫下, 因此也愈来愈深受园林界人士的垂青。面对国内市场对草果的需求量不断增加, 如何在短时间内提供大量种苗是草果产业发展的关键。但目前草果苗木繁殖主要是种子培育和分株假植两种。传统的草果育苗由于技术落后, 需2年才能达到移植标准, 显然已满足不了生产和绿化的需求。本文采用组织培养方法诱导再生植株, 对保护野生草果资源, 有一定的开发和园林绿化应用价值。而草果组织培养育苗的研究国内尚未见有报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

收稿日期: 2005-12-18

基金项目: 广东省佛山市科技发展资金项目(0102009A)

作者简介: 萧洪东(1967-), 男, 讲师, 硕士研究生, 主要从事植物营养和组织培养研究。E-mail: xiaohongdongyou@163.com

取草果(*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire)的侧芽为外植体。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体消毒和无菌芽的诱导培养** 切取长约1 cm的茎尖, 用自来水冲洗30 min; 在超净工作台上用HgCl<sub>2</sub>(0.1%)消毒处理10~15 min, 再用无菌水冲洗3~5次。在无菌的条件下将消毒好的草果茎尖, 转移至MS+6-BA 8 mg/L+NAA 0.1 mg/L+TDZ 0.5 mg/L的培养基中, 置于光照强度1 000~2 000 lx, 室温下培养。培养7 d后, 茎尖逐渐伸长, 并在侧边长出绿色突起。

**1.2.2 培养基 不定芽诱导培养基:** 1-1: 6-BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L(单位下同); 1-2: 6-BA 4+NAA 0.1; 1-3: 6-BA 6+NAA 0.1; 1-4: 6-BA 8+NAA 0.1; 1-5: 6-BA 10+NAA 0.1。2-1: 6-BA 6+NAA 0.1+TDZ 0; 2-2: 6-BA 6+NAA 0.1+TDZ 0.05; 2-3: 6-BA 6+NAA 0.1+TDZ 0.1; 2-4: 6-BA 6+NAA 0.1+TDZ 0.15; 2-5: 6-BA 6+NAA 0.1+TDZ 0.2。3-1: MS+6-BA 6+NAA 0.1+蔗糖25 g/L(单位下同); 3-2: MS+6-BA 6+NAA 0.1+蔗糖30; 3-3: MS+6-BA 6+NAA 0.1+蔗糖35; 3-4: MS+6-BA 6+NAA 0.1+蔗糖40。**生根培养基:** 4-1: MS+IBA 0; 4-2: MS+IBA 0.2; 4-3: MS+IBA 0.4; 4-4: 1/2MS+IBA 0; 4-5: 1/2MS+IBA 0.2; 4-6: 1/2MS+IBA 0.4。5-1: MS+NAA

0;5-2:MS+NAA 0.2;5-3:MS+NAA 0.4;5-4:1/2 MS+NAA 0;5-5:1/2 MS+NAA 0.2;5-6:1/2 MS+NAA 0.4。

以上培养基未注明的均添加 3% 蔗糖、0.65% 卡拉胶, pH 5.8~6.2, 培养温度为(25±1)℃, 不定芽诱导分化光照度 1 500~2 000 lx, 生根光照强度约为 2 000~3 000 lx, 光照时间为 8~10 h/d。

1.2.3 炼苗与移栽 生根培养后, 统计平均苗高、根条数、根长。为了提高试管苗的移栽成活率, 应在移栽前炼苗。首先将玻璃瓶移到室外荫棚下培养 3~5 d。再将瓶盖打开继续培养 3~4 d, 然后将试管苗取出用自来水冲洗掉附在叶片和根部的培养基, 晾干。把生根苗种入由已腐熟的椰子壳、细砂按体积计以 3:1 的比例配制的基质上, 注意遮光, 空气湿度保持为 80% 左右。经 1~2 个月的管理, 即可定植。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度的 6-BA 对草果不定芽增殖分化的影响

表 1 试验结果表明, 6-BA 浓度在 2~10 mg/L 的范围时, 随着浓度增加, 诱导芽分化逐渐减弱。处理 1-3 出芽较早, 出芽率最高, 而且叶色绿, 苗健壮, 长势良好, 整体感最好, 增殖倍数达到 2.07 倍, 是效果较好的。方差分析结果表明, 各处理间不定芽增殖倍数差异不显著。

表 1 6-BA 对草果不定芽增殖分化情况

处理	出芽天原苗数/d	30天/株	苗数	增长倍数	叶色	苗的粗细	长势情况
1-1	7.50	21.3	38.7	1.83	较绿	粗壮	良好
1-2	5.00	27.7	51	1.85	绿	粗壮	良好
1-3	5.80	23.3	47.3	2.07	绿	粗壮	良好
1-4	5.80	28.7	50.3	1.76	黄绿	瘦弱	较差
1-5	5.00	30.3	50.3	1.69	较绿	较粗壮	一般

注: 以上数据均为 3 次重复平均值(下同)。

### 2.2 TDZ 对草果不定芽增殖分化的影响

TDZ(Thidiazuron) 是近年来发现的一种人工合成的具有细胞分裂素活性的物质, 其分子式为  $C_9H_8N_4S$ , 相对分子质量为 220.2, 化学名称为 N'-苯基-1,2,3-噻二唑-5-脒<sup>[5]</sup>。

表 2 不同浓度 TDZ 处理的草果不定芽增殖分化情况

处理	出芽天原苗数/d	30天/株	苗数	增长倍数	叶色	苗体粗细	整齐度
2-1	8.3	25.3	52.3	2.17	绿	较粗壮	较均匀
2-2	8.3	22	51.3	2.34	绿	粗壮	较均匀
2-3	10	30.7	48	1.56	绿	粗壮	均匀
2-4	8.3	18.7	33.7	1.73	较绿	粗壮	较均匀
2-5	6.6	25.3	45.3	1.77	较绿	粗壮	不均匀

在培养基中添加低浓度 TDZ 能促进愈伤组织生长, 促进侧芽及不定芽发生, 促进胚状体的形成。试验结果见(表 2)表明, TDZ 在浓度 0~0.2 mg/L 范围内, 随着浓度增加, 诱导芽的分化效果不明显。处理 2-2 叶色绿, 苗粗壮, 生长较均匀, 长势良好, 整体感最好, 增殖倍数达到 2.34, 效果较好。方差分析结果表明, 各处理间不定芽增殖倍数差异不显著。

### 2.3 糖对草果不定芽增殖分化的影响

糖作为碳源, 为细胞提供合成新化合物的碳骨架, 为细胞的呼吸代谢提供底物与能源, 糖可维持一定底渗透压<sup>[6]</sup>。表 3 试验结果表明, 糖对草果不定芽的分化有一定影响。处理 3-3、3-2 的不定芽分化早, 叶色绿, 不定芽粗壮, 长势良好, 整体感最好, 增殖倍数达到 2 倍以上, 增殖分化效果较好。糖浓度低于 30 g/L 或高于 35 g/L 增殖分化效果不好。方差分析结果表明, 各处理间不定芽增殖倍数差异不显著。

表 3 不同糖浓度处理的草果不定芽增殖分化情况

处理	出芽天原苗数/d	30d/棵	苗数	增长倍数	叶色	苗体粗细	长势情况
3-1	6.60	24	39.3	1.66	较绿	粗壮	一般
3-2	6.60	21.7	43.7	1.98	绿	粗壮	良好
3-3	5.80	29.3	59.7	2.03	绿	粗壮	良好
3-4	15.00	23.7	34.7	1.47	黄绿	瘦弱	较差

### 2.4 在 1/2MS、MS 条件下, IBA 对不定芽生根诱导的影响。

一般认为矿物质元素浓度较高时有利于发展茎叶, 较低时有利于生根<sup>[7]</sup>。表 4、5 试验结果表明 IBA 浓度相同条件下, 1/2MS 处理出根效果好, 整体的出根率高, 平均根数多, 须根率大, 成活率也高。

表4 在1/2MS、MS条件下,不同浓度的IBA对不定芽生根情况

处理	出根日数 d	出根率 %	平均根数 条	须根率 %	根的粗细
4-1	16.15	83.33	1.27	0	较粗
4-2	11.60	75.00	1.33	0	较粗
4-3	8.21	94.12	1.38	0	较粗
4-4	11.12	84.21	1.87	0	较细
4-5	13.06	88.24	2.00	6.67	较粗
4-6	7.23	94.12	1.43	4.35	较粗

处理4-5的出根率比较高,须根最多,植株平均根数最多,移栽成活率达100%。

表5 在1/2MS、MS条件下,IBA生根、移栽情况 cm

处理	平均根长	原来不定芽高	30d不定芽高	不定芽增高高度	移栽成活率/%
4-1	6.88	5.50	6.75	1.25	86.7
4-2	7.70	3.56	5.44	1.88	93.3
4-3	7.13	5.00	6.67	1.67	100
4-4	4.67	4.80	6.33	1.53	100
4-5	6.12	4.07	6.71	2.64	100
4-6	6.44	4.83	6.33	1.50	93.8

## 2.5 在1/2MS、MS条件下,NAA对不定芽生根诱导的影响。

表6、7试验结果表明NAA浓度相同条件下,1/2MS处理生根效果好,而且整体的出根率高,平均根数多,须根率大,成活率也高。处理5-5的出根率达到100%,须根率最大,植株平均根数最多,移栽成活率达100%。

表6 在1/2MS、MS条件下,不同浓度的NAA对不定芽生根情况

处理	出根日数 /d	出根率 5/%	平均根数 /条	须根率 /%	根的粗细
5-1	10.0	94.70	1.50	0	较粗
5-2	9.40	94.40	1.59	14.80	粗
5-3	13.0	94.10	1.31	0	粗
5-4	8.90	100	2.17	0	较细
5-5	10.0	100	2.41	41.20	粗
5-6	13.60	100	1.82	11.80	粗

表7 在1/2MS、MS条件下,不同浓度的NAA生根、移栽情况 cm

处理	平均根长	原不定芽高	30d不定芽高	不定芽增高高度	移栽成活率/%
5-1	4.96	4.31	5.83	1.52	94.44
5-2	4.73	4.67	6.00	1.33	100
5-3	3.38	5.82	7.20	1.24	87.50
5-4	4.83	4.26	6.43	1.17	100
5-5	3.24	5.36	6.14	0.78	100
5-6	3.04	5.20	5.90	0.70	94.11

## 3 结论与讨论

不同浓度的6-BA、TDZ和糖对草果不定芽增殖分化中,1)以MS+6-BA 6 mg/L+NAA 0.1 mg/L+TDZ 0.05 mg/L效果较好。该处理增殖倍数达到2.34,叶色绿,苗粗壮,生长较均匀,长势良好,整体感最好。2)糖浓度对草果不定芽的分化有一定影响,以糖浓度为30~35 g/L的增殖分化效果较好。3)在生根培养中,以1/2MS+IBA 0.2 mg/L、1/2MS+NAA 0.2 mg/L培养基效果较好。其出根率均较高,须根最多,平均根数最多,移栽成活率达到100%。

在试验过程中,有部分不定芽出现玻璃化现象,同时也出现了各种变异,如叶失绿,整株黄化死亡等。其变异现象还需进一步的研究。此外,诱导和增殖培养过程中,部分培养基产生褐化现象,由于褐化现象有可能导致培养物的组织死亡,从而影响培养物的生长发育,甚至可能导致培养物整体死亡。如何防止培养物褐化也有待进一步深入研究。

### 参考文献:

- [1] 冷日丹,陈秀虹,王玉鑫.草果栽培[M].昆明:云南科技出版社,1986.
- [2] 徐如意.草果栽培技术[J].广西热带农业,2003(2):22.
- [3] 张葵.“香药”草果[J].植物杂志,2001(4):30-31.
- [4] 陆善旦.草果价格涨落浅析[J].中国中医药信息杂志,2002,9(5):89.
- [5] 李波明.植物组织培养教程(第2版)[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [6] 熊丽,吴丽芳.观赏花卉的组织培养与大规模生产[M].北京:化学工业出版社,2003.
- [7] 谭文澄,戴策.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.