

黄姜组培快繁技术试验研究

梁称福, 易 诚

(湖南环境生物职业技术学院, 湖南 衡阳 421005)

摘要: 分别以黄姜茎段、叶片、块根为外植体, 进行无菌系建立、芽分化、生根等试验, 探讨黄姜组培快繁技术。结果表明: (1) 茎段在①MS + BA1.0 mg·L⁻¹ + NAA0.2 mg·L⁻¹ (单位下同); ③MS + BA2.0 + NAA0.2; ⑤B5 + BA1.0 + NAA0.2; ⑦B5 + BA2.0 + NAA0.2 四个培养基上培养, 均能诱导出愈伤组织, 但尤以⑦号培养基长势最佳; 而在这四个培养基上接种的叶片因为全被污染, 无愈伤组织形成。(2) 块根在②MS + BA1.0 + NAA0.5; ④MS + BA2.0 + NAA0.5; ⑥B5 + BA1.0 + NAA0.5; ⑧B5 + BA2.0 + NAA0.5 四个培养基上均不能诱导成愈伤组织。(3) 愈伤组织在①~⑧号共八个培养基上均能分化出芽, 但分化率不一, 以③号最高(达100%), ④号最低(25.0%)。(4) 当丛生芽长至高约3~4 cm时, 转接到以MS或1/2MS为基本培养基、附加有不同浓度NAA和IBA的培养基中, 进行生根培养。生长素NAA与IBA配合均能诱导生根, NAA的浓度增高对根的诱导有抑制作用, 而且使苗的生长受阻, 出现叶片卷曲现象, 用1/2MS与用MS相比, 用1/2MS生根更粗壮。(5) 将经过炼苗的生根试管苗移栽到混有河沙和岩棉灰(体积比为1:2)的复合基质中, 移栽后35 d成活率达到87%以上。

关键词: 黄姜; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: Q813.1⁺2

文献标识码: B

文章编号: 1671-6361(2006)02-135-04

Studies on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Dioscorea Zingi Berensis* C. H. Wright

LIANG Cheng - fu, YI Cheng

(Hunan Environment - Biological Polytechnic, Hengyang 421005 China)

Abstract: Taking stem sections, tender leaves, roots of *Dioscorea Zingi berensis* C. H. Wright for explants respectively, experiments such as callus formation, buds differentiation, rooting were conducted. The results showed as follows: The first, stem sections were taken explants, callus could be produced in the following 4 mediums including ①MS + BA1.0 mg·L⁻¹ + NAA0.2 mg·L⁻¹ (the unit was the same below), ③MS + BA2.0 + NAA0.2, ⑤B5 + BA1.0 + NAA0.2, ⑦B5 + BA2.0 + NAA0.2 among which ⑦B5 + BA2.0 + NAA0.2 was the best; The second, roots were taken explants, callus couldn't be produced in the following 4 mediums including ②MS + BA1.0 + NAA0.5; ④MS + BA2.0 + NAA0.5; ⑥B5 + BA1.0 + NAA0.5; ⑧B5 + BA2.0 + NAA0.5. The third, sprouts could be differentiated from callus in the mediums from No. ① to No. ⑧ among which No.

收稿日期: 2005-05-21

基金项目: 湖南省教育厅资助项目(编号: 04C027)

作者简介: 梁称福(1969-), 男, 江西于都人, 硕士生, 副研究员。研究方向: 有机农业、设施农业、农业生物技术

③, s differentiation rate was the highest (100 %) and No. ④, s differentiation rate was the lowest (25.0 %). The forth, when sprouts length amounted to 3 ~ 4 cm, rooting was conducted in MS or 1/2MS medium supplemented with different concentrations NAA and IBA, NAA matching with IBA could induce roots production and high NAA concentration inhibited roots production; roots were more robust in 1/2MS as compared to in MS. The fifth, 35 d after being transplanted, tube - seedlings grew well and the transplantation living rate amounted to up to 87.0 % on the compound substrate composed of river sand and long kang'ash (1:2 by volume).

Key words: *Dioscorea Zingiberensis* C. H. Wright; tissue culture; rapid propagation

黄姜 (*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright) 为薯蓣科薯蓣属的野生植物, 是目前所发现的皂素含量最高的植物药源植物之一^[1,2]. 现已开展大面积的人工栽培^[1], 黄姜传统的繁殖方法是利用块茎繁殖, 但繁殖速度慢、种性容易退化、季节性强, 近年来应用组织培养技术进行繁殖, 成为研究的热点. 本文以茎段、叶片、块根作为外植体, 对黄姜组培育苗技术进行了试验研究, 其结果报道如下.

1 材料与方 法

1.1 外植体采集与消毒

从本院组培基地温室内盆栽黄姜植株上采集无病虫害的嫩茎段、嫩叶片、块根, 用自来水冲洗 10 ~ 15 min 后, 置于超净工作台上, 在 70 % 的酒精溶液中浸泡 30 ~ 40 s, 再用 0.1 % HgCl₂ 消毒 10 min (消毒过程中须不停摇晃), 无菌水冲洗 7 次, 无菌滤纸吸干水, 待接种.

1.2 培养基

1.2.1 愈伤组织诱导与芽分化培养基 ①MS + BA1.0 + NAA0.2; ②MS + BA1.0 + NAA0.5; ③MS + BA2.0 + NAA0.2; ④MS + BA2.0 + NAA0.5; ⑤B5 + BA1.0 + NAA0.2; ⑥B5 + BA1.0 + NAA0.5; ⑦B5 + BA2.0 + NAA0.2; ⑧B5 + BA2.0 + NAA0.5. 在 MS 培养基中另加琼脂 6.0 g·L⁻¹, 蔗糖 30.0 g·L⁻¹; 在 B5 培养基中另加琼脂 6.0 g·L⁻¹, 蔗糖 20.0 g·L⁻¹.

1.2.2 生根培养基 (1) 1/2MS + NAA1.0; (2) 1/2MS + NAA0.5; (3) 1/2MS + NAA0.1; (4) 1/2MS + NAA0.1 + IBA1.0; (5) 1/2MS + NAA0.2 + IBA1.0; (6) 1/2MS + NAA0.3 + IBA1.0; (7) MS + NAA0.1 + IBA1.0; (8) MS + NAA0.2 + IBA1.0; (9) MS + NAA0.3 + IBA1.0. 在培养基中另加琼脂 6.0 g·L⁻¹, 蔗糖 20.0 g·L⁻¹.

1.3 外植体、愈伤组织与芽接种

每处理组合 (外植体、培养基) 接种 5 瓶, 每瓶 2 个外植体; 芽分化培养时, 每处理 4 瓶, 每瓶 3 块愈伤组织; 生根培养时, 每处理接种 5 ~ 6 瓶, 每瓶 5 株.

1.4 培养条件

温度 25 ± 3 °C, 相对湿度 60 ~ 70 %, 光照强度 1 500 ~ 2 000 lux, 光照时间为 10 ~ 12 hr.

1.5 调查统计

外植体接种后 35 d, 调查愈伤组织诱导情况; 愈伤组织转接后 41 d, 统计芽分化情况; 生根培养后 30 d, 调查统计生根情况; 移栽后 35 d, 调查成活率.

2 结果与分析

2.1 不同培养基对愈伤组织诱导的影响

茎段在①③⑤⑦四个培养基上培养, 均能诱导出愈伤组织, 但尤以⑦号培养基长势最佳; 组织呈黄白色; ⑤号次之; ①、③号再次, 颜色呈白色. 在这四个培养基上接种的叶片因为全被污染 (可能消毒时间不够), 无愈伤组织形成. 块根在②④⑥⑧四个培养基上均不能诱导成愈伤组织, 故不能作为以块根为外植体的愈伤组织诱导培养基.

2.2 不同培养基对芽分化的影响

由表 2 可以看出, 愈伤组织在① ~ ⑧号培养基上均能分化出芽, 但分化率不一, 以③号最高 (达 100 %), ④号最低 (25.0 %). 此外, 愈伤组织在不同的培养条件下, 分化芽的情况不一样, 在普通培养室中的芽体分化率低于人工气候箱 (温度 25 °C, 湿度 70 %, 光照 4 450 lux, 时间 10 hr; 温度 20 °C, 湿度 60 %, 光照 0, 光照时间 14 hr) 中的芽体分化率, 且前者长势弱, 后者长势旺盛 (图 1、图 2).

表 1 不同培养基对愈伤组织诱导的影响 *
Table 1 The effects of different mediums on callus - inducing

外植体	培养基编号	接种外植体个数	污染率 (%)	愈伤组织生长情况
茎段	①	10	60	白色 +
	③	10	40	白色 +
	⑤	10	0	黄白色 ++
	⑦	10	20	黄白色 +++
叶片	①	10	100	—
	③	10	100	—
	⑤	10	100	—
	⑦	10	100	—
块根	②	10	0	无
	④	10	0	无
	⑥	10	0	无
	⑧	10	0	无

*“+”表示愈伤组织生长量较少;“++”表示愈伤组织生长量中等;“+++”表示愈伤组织生长量较多。
*“+”indicates little callus, “++”indicates medium quantity callus, “+++” indicates much callus.

表 2 不同培养基对芽分化的影响
Table 2 The effects of different mediums on sprouts differentiation

培养基编号	接种愈伤组织块数(块)	分化芽数(个)	分化率 (%)
①	12	8	66.7
②	12	6	50.0
③	12	12	100.0
④	12	3	25.0
⑤	12	7	58.2
⑥	12	5	41.7
⑦	12	6	50.0
⑧	12	9	75.0



图 1 普通培养室(开灯)中芽分化
Figure.1 Sprouts differentiation in common culture room(Turn on the light)



图 2 人工气候箱(开灯)中芽分化
Figure.2 Sprouts differentiation in artificial climate room(Turn on the light)

2.3 不同培养基对试管苗生根的影响

当丛生芽长至高约 3~4 cm 时,在超净工作

台上将每个芽切割成单株的无根苗,转接到以 MS 或 1/2MS 为基本培养基、附加有不同浓度的 NAA 和 IBA 培养基中,进行生根培养. 30 d 后观察植株生根与生长状况,结果见表 3. 从中可以看出,

生长素 NAA 与 IBA 配合均能诱导生根, NAA 的浓度增高对根的诱导有抑制作用,高浓度的 NAA 会使苗的生长受阻,出现叶片卷曲现象,用 1/2MS 与用 MS 相比,用 1/2MS 生根更粗壮.

表 3 不同培养基对试管苗生根的影响

Table 3 The effects of different mediums on rooting of tube - seedlings

培养基 编号	基本培 养基	激素浓度(mg. L ⁻¹)		转接 株数	生根 株数	生根率 (%)	植株生长状况
		NAA	IBA				
(1)	1/2MS	1.0	0.0	25	0	0	无根生成, 植株叶片卷曲
(2)	1/2MS	0.5	0.0	25	5	20.0	根少, 根长 1~2 cm, 植株叶片卷曲
(3)	1/2MS	0.1	0.0	25	25	100.0	根长 3 cm 左右, 有白色绒毛, 植株健壮
(4)	1/2MS	0.1	1.0	25	25	100.0	根长 3 cm 左右, 有白色绒毛, 植株健壮
(5)	1/2MS	0.2	1.0	25	25	100.0	根多而粗, 根长约 6 cm, 有白色绒毛, 茎段粗壮
(6)	1/2MS	0.3	1.0	25	25	100.0	根多而细, 根长约 2 cm, 有白色绒毛, 叶片卷曲
(7)	MS	0.1	1.0	30	27	90.0	根系细小, 根长 1~2 cm, 植株健壮
(8)	MS	0.2	1.0	30	30	100.0	根系细小, 根长 3~4 cm, 植株健壮
(9)	MS	0.3	1.0	30	28	93.3	根多而细, 根长约 1 cm, 叶片卷曲

2.4 试管苗的移栽

把已生根的达到标准的试管苗连瓶一起搬入温室进行炼苗,期间注意不宜用直射光照射,15~20 d 后将试管苗移栽到混有河沙和砻糠灰(体积比为 1:2)的复合基质(事先用 25% 多菌灵 1 000 倍液消毒)中. 移栽后浇足底水,并用塑料薄膜覆盖以保温保湿,约 15 d 后待新叶长出时,可以逐渐揭开塑料薄膜,并每隔 3~5 d 叶面喷洒 1 次 0.2~0.3% 的 KH₂PO₄ 溶液,每隔 7~10 d 浇灌 1 次 1/4MS 无机盐营养液. 移栽 35 d 后调查成活率达到 87% 以上.

3 讨论与结语

目前,我国黄姜的种植种源材料主要是从野生群体中采集的未经选育的种薯或种子,品种混乱、产量不稳定以及根状茎的皂甙元含量差异较大. 其中种子繁殖在通过有性杂交后,难以保持母本的优良性状,在生产上应用很少;采用根状茎分离的方法进行繁殖,种薯用量大,繁殖速度慢,且易传播病虫害,也不宜在生产上大面积推广. 利用组培技术繁育黄姜种苗则可以很好地解决这些矛盾与问题.

(1) 本试验分别以黄姜茎段、叶片、块根为外植体,通过愈伤组织再生途径,探讨了黄姜组培快繁技术. 可为从事黄姜组培育苗的同行提供借鉴.

(2) 从茎段、叶片、块根三种外植体接种后污染情况来看,以块根最轻(无污染)、茎段次之、叶片最为严重(100% 污染),说明试验所使用的消毒剂种类、浓度与消毒时间需要调整,以最大限度降低污染.

(3) 块根在②④⑥⑧四个培养基上均无任何反应,故不能作为诱导培养基,需要继续加以设置与筛选,可考虑以 White 作为基本培养基.

(4) 今后应把研究重点放在探索寻找出能够一次成苗的最佳培养基与培养条件,以缩短生产周期并降低生产成本,加速黄姜组培育苗技术的推广与应用.

参考文献:

- [1] 张宗勤,撒文清,刘建才. 叉薯蓣的微繁殖及微型薯蓣的离体诱导[J]. 生物技术,1998,(1):18~20.
- [2] 郭忠新,廖森,张云孙. 云南罗平小黄姜的茎尖脱毒组培快繁[J]. 云南大学学报(自然科学版),2002,24(6):473~474.