

黄姜茎段培养快速繁殖技术研究

梁称福, 易 诚

(湖南环境生物职业技术学院, 湖南 衡阳 421005)

摘 要:黄姜节间茎段在 6-BA 1.5~2.5 mg/L 与 NAA 0.1~1.0 mg/L (单位下同) 的 MS 培养基上, 都能有效分化出芽, 其中以 6-BA 2.5 + NAA 0.5 效果最好, 分化率达 81.0%; 带节茎段在以 6-BA, KT, NAA, IAA, GA₃, AgNO₃ 为主要成分的 BM 培养基上均能诱导腋芽萌发, 但诱导率及芽长势不一, 以 BM + 6-BA 1.5 + NAA 0.2 + AgNO₃ 10.0 最佳。6-BA 1.5~2.5 与 NAA 0.05~0.2 的 MS 培养基上均可增殖。在 1/2MS 的基本培养基中调节植物激素的组合和浓度, 对诱导黄姜苗的根分化有显著影响, 以 NAA 0.5 + 6-BA 0.1 + KT 0.2 为优化的诱导根分化的植物激素组合。以黄土作为基质, 试管苗的移栽成活率可达 90% 以上。

关键词:黄姜; 组织培养; 育苗; 快速繁殖

中图分类号: S632.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-060X(2006)05-0017-03

Stem Culture and Rapid Propagation of *Dioscoreae Zingi berensis*

LIANG Cheng-fu, YI Cheng

(Hunan Environment - Biological Polytechnic, Hengyang 421005, PRC)

Abstract: Taking stem sections of *Dioscoreae Zingi berensis* for explants, sprouts could be differentiated in MS mediums surplus with 6-BA 1.5~2.5 mg/L and NAA 0.1~1.0 mg/L (the unit was the same below), among which MS + 6-BA 2.5 + NAA 0.5 was the best, and differentiation rate reached 81.0%. Sprouts could be induced in BM mediums surplus with 6-BA, KT, NAA, IAA, GA₃ and AgNO₃, among which BM + 6-BA 1.5 + NAA 0.2 + AgNO₃ 10.0 was the best. The medium of MS + 6-BA 1.5~2.5 + NAA 0.05~0.2 was appropriate for propagation. On the medium of 1/2MS, composition and concentration of plant regulator affected roots differentiation significantly, among which 6-BA 0.1 + NAA 0.5 + KT 0.2 was the best. The transplantation living rates of tube-seedlings reached 90.0% on the ground substance of yellow river sand.

Key words: *Dioscoreae zingi berensis*; tissue culture; seedlings - cultivating; rapid propagation

黄姜 (*Dioscorea zingi Berensis* C. H), 学名盾叶薯蓣, 俗名火藤根、粉黄姜, 为多年生草质缠绕藤本植物。由于其中含有供提取制造激素类药物的薯蓣皂素 (俗称皂素) 而受到制药业、植物界的高度重视。皂素是甾体类药物的原料, 在医药上应用十分广泛, 其需要量极大, 目前已经大面积人工栽培该植物^[1]。湖北荆门市近年来发展面积近 4 000 hm², 但繁殖方式均为利用块茎进行传统繁殖, 生产中出现了种性退化、皂素含量不稳定及用种量大等情况。薯蓣的组织培养国外研究很多, 如愈伤组织的诱导^[2]、微块茎的离体诱导^[3]等。但关于黄姜组培快繁育苗的研究国内外很少见到报道。本文就黄姜茎段的诱导

分化、继代扩繁与生根移栽的试验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

湖南省衡东县采集的野生黄姜 (*D. zingi berensis* Wright) 根状茎, 种植发芽后, 待地上部分生长到 50 cm 左右时, 取其幼嫩部位作外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 取材与消毒 切取幼茎作为外植体, 经自来水冲洗 10~15 min, 蒸馏水清洗 2 次后, 用 75% 医用酒精和 0.1% HgCl₂ 灭菌, 时间分别为 30~40 s 和 10 min, 无菌水冲洗 6~8 次, 用无菌纸吸干表面水分。茎切成 0.8~1.0 cm 长的节间茎段和带节茎段。

1.2.2 无菌接种 节间切段平放接种于培养基上, 带节茎段按极性方向竖插于培养基中。

1.2.3 培养条件 以 MS、BM (B5 大量元素 + MS 微量元素、铁盐、有机物)、1/2MS 为基本培养基, 分别

收稿日期: 2006-05-26

项目来源: 湖南教育厅资助项目 (04C027)

作者简介: 梁称福 (1969-), 男, 江西于都县人, 副研究员, 硕士, 研究方向: 设施农业与农业生物技术。

添加不同浓度的 6-BA、NAA、IAA、GA₃、KT 以及 AgNO₃;接种后置于培养室中培养,温度(25±3)℃,湿度 60%~70%,光照 10~12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对黄姜茎段芽诱导效应

2.1.1 节间茎段 按表 1 设计 6 种茎段诱导分化培养基。接种后 10 d,5 号培养基上外植体切口开始膨大显绿,18 d 后即出现了不定芽。接种 40 d 后统计不同培养基上分化出芽的外植体数目。从表 1 可以看出,附加 6-BA 1.5~2.5 mg/L 与 NAA 0.1~1.0 mg/L 的 MS 培养基,都能有效分化出芽,其中以 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L 效果最好,分化率达 81.0%。

表 1 不同培养基对黄姜茎段不定芽诱导效应

编号	基本培养基	激素浓度(mg/L)		外植体数 目(个)	分化芽数 (个)	分化率 (%)
		6-BA	NAA			
1	MS	1.5	0.1	20	7	35.0
2	MS	1.5	0.5	28	19	67.9
3	MS	1.5	1.0	22	9	40.9
4	MS	2.5	0.1	25	13	52.0
5	MS	2.5	0.5	21	17	81.0
6	MS	2.5	1.0	26	13	50.0

2.1.2 带节茎段 将带节茎段接种于表 2 中的 1~9 号培养基,5 d 后,各组材料叶腋处芽点开始萌发,其中以 3 号培养基腋芽诱导率最高;继续培养至 12 d,观察统计芽的诱导情况(见表 2),3 号培养基中腋

表 2 不同培养基对黄姜茎段腋芽诱导效应

基本培养基 编号	激素浓度(mg/L)						AgNO ₃ (mg/L)	芽诱导情况
	6-BA	KT	NAA	IAA	GA ₃			
1	0.0	0	0	0	2.0	10.0	诱导率<30%,芽长<0.5 cm	
2	0.0	0	0	0	2.0	0	诱导率<10%,芽长<0.5 cm	
3	1.5	0	0.2	0	0	10.0	诱导率<90%,芽长达 2 cm	
4	1.5	0	0.2	0	0	0	诱导率 50%,芽长<0.5 cm	
5	1.5	0	0	0	0	0	不能诱导出芽	
6	1.5	0	0	0.2	0	0	诱导率 20%,芽长达<0.5 cm	
7	1.5	0	0	0.2	0	10.0	诱导率<70%,芽长达 1~1.5 cm	
8	1.5	0.5	0.2	0	0	0	诱导率达 84%,芽长达 1.5~2.0 cm	
9	1.5	0.5	0	0.2	0	0	诱导率达 65%,芽长达 1~1.5 cm	

芽伸长可达 2 cm,其余培养基中腋芽生长较弱,尤以 2 号培养基上材料生长最差;将 1、2、4 号培养基中具有幼芽的材料转接于 3 号培养基中,原有幼芽生长速度明显加快,其中从 4 号培养基转接的材料生长情况最好;5 周后,3 号培养基中腋芽伸长达到 4~5 cm。从表 2 还可以看出,培养基中添加 AgNO₃

对黄姜腋芽的诱导有显著的促进作用。植物激素的添加对于诱导外植体芽的形成起着关键的作用。在 MS 与 B5 混合的基本培养基中添加不同植物激素的实验结果表明,单独添加 6-BA 不能诱导黄姜外植体的芽分化;GA 对外植体芽的诱导无促进作用,而 NAA 对促进芽的分化作用比 IAA 强,添加 KT 更有利于芽的诱导。

2.2 不同培养基对黄姜芽继代增殖效应

黄姜芽接种后 7 d 左右,基部开始出现丛生小芽,以后小芽迅速伸长生长,数量也逐渐增多。其中以附加 6-BA 2.5 与 NAA 0.1 的 7 号培养基增殖速度最快(月增殖达 610.5%),附加 6-BA 2.5 与 NAA 0.05 的 6 号培养基次之(月增殖为 543.0%),单加 6-BA 1.5 的 1 号培养基最慢(月增殖仅为 276.7%)(表 3)。

表 3 不同培养基对黄姜芽继代增殖效应

编号	基本培养基	激素浓度(mg/L)		接种芽数 (个)	培养后芽 数(个)	分化率 (%)
		6-BA	NAA			
1	MS	1.5	0	30	83	276.7
2	MS	1.5	0.05	30	144	480.0
3	MS	1.5	0.1	30	153	510.0
4	MS	1.5	0.2	30	101	336.7
5	MS	2.5	0	30	87	290.0
6	MS	2.5	0.05	30	163	543.3
7	MS	2.5	0.1	30	183	610.0
8	MS	2.5	0.2	30	125	416.7

2.3 不同培养基诱导生根效应

表 4 结果表明,在不附加任何激素的情况下,外植体生根缓慢且量少。使用 NAA 的效果明显好于 IBA。1/2MS 附加 NAA 0.1 的情况下,接种 10 d 后显露根原基,30 d 后统计生根率为 100%,平均根数达到 5.3 条,根白净、粗壮,效果好于其它培养基。

在 1/2MS 的基本培养基中调节植物激素的组和浓度,对诱导黄姜苗的根分化有显著影响。实验结果表明:NAA 0.5 + 6-BA 0.1 + KT 0.2 为优化的诱导根分化的植物激素组合。NAA 的浓度增高对根的诱导有抑制作用,适宜浓度的 NAA 对根的诱导优于 IAA(表 4)。

2.4 不同移栽基质对试管苗生长的影响

以腐殖土为基质的试管苗移栽 20 d 左右,开始陆续发生新根,移栽 30 d 后检查成活率达到 76.7%,根系多而粗,呈白色,茎叶也生长旺盛;以草炭土作基质,试管苗移栽 30 d 后成活率为 70.0%;而以黄土为基质,成活率最低,仅为 53.3%(表 5)。

表 4 不同培养基诱导生根效应

编号	基本培养基	激素 (mg/L)	接种数	生根株数	生根率 (%)	生根总条数	平均单株生根数
1	1/2MS	-	36	2	5.5	3	1.5
2	1/2MS	NAA0.1	36	36	100	192	5.3
3	1/2MS	NAA0.2	36	36	100	149	4.2
4	1/2MS	NAA0.5	40	8	20	25	3.1
5	1/2MS	NAA0.5+6-BA0.1	40	20	50	63	3.2
6	1/2MS	NAA0.5+6-BA0.1+KTO.2	40	30	76	102	3.4
7	1/2MS	NAA1.0	40	0	0	0	0
8	1/2MS	IBA0.1	35	13	37.1	42	3.2
9	1/2MS	IAA0.5	30	0	0	0	0
10	1/2MS	IAA0.5+6-BA0.1	30	6	20	19	3.1
11	1/2MS	IAA0.5+6-BA0.1+KTO.2	30	15	50	58	3.8

表 5 不同移栽基质对试管苗生长的影响

基质名称	移栽株数	成活株数	成活率 (%)	植株生长情况
黄土	30	16	53.3	根系细小,植株生长迟缓
腐殖土	30	23	76.7	根系多而粗,植株生长旺盛
草炭土	30	21	70.0	根系多而粗,植株生长中等

3 小结与讨论

本试验以黄姜茎段为外植体,直接诱导不定芽分化(节间茎段)或腋芽(带节茎段)萌发,省去愈伤组织诱导阶段,可以保持母本优良种性、缩短培养周

(上接第 16 页)催芽时要用强氯精等药剂进行种子消毒,在苗期、破口期、齐穗期用三环唑、加收热必等有效药剂进行防治。其它病虫的发生和防治与同熟期的其它杂交稻组合相同。

4 制种技术要点

4.1 播种与移栽

金优 117 在湖南湘北地区夏制,父本在 5 月上旬播种,播始历期约 90 d,主茎叶片数 16.1 叶,父、母本播种时差 40 d,叶差 9.2 叶;母本金 23A 播始历期约为 51 d,主茎叶片数 10.5~11.0 叶,母本大田用种量 3 kg/hm²。父本常恢 117 宜二段育秧,因其分蘖力偏弱,寄插时应插 2~3 苗,秧龄 30~35 d 时移入大田,母本秧龄 23 d。父、母本行比 1:14,父本株距 20~24 cm,母本密度 16.7 cm×16.7 cm,父母本行距 23.3 cm。

4.2 肥水管理

常恢 117 对水肥反应敏感,基肥要足,追肥要早,在父本插入本田后要单独追肥一次。母本金

期、提高繁殖速度,有利于试管苗规模化、工厂化、商业化生产,与张宗勤等人对叉蕊薯蓣 (*Dioscorea-collettil Hk1f1*) 的研究结果一致^[1]。

在黄姜离体培养中,外植体的选择、培养基的选择以及接种方法均非常重要。黄姜节间茎段平铺在附加 6-BA1.5~2.5 与 NAA0.1~1.0 的 MS 培养基上,直接分化出不定芽;而带节茎段竖插在附加 6-BA、KT、NAA、IAA、GA₃、AgNO₃ 的 BM 培养基上,则诱导腋芽萌发。在诱导腋芽萌发试验中,按照孟玲等^[4]的方法,在培养基中添加 AgNO₃,结果证实其对促进腋芽萌发与生长有显著作用。

马铃薯的无毒种薯—试管微型薯已在国外试验诱导成功并大规模应用于生产,以后研究的目标和重点是进行黄姜试管微型块茎的诱导、培育与生产。

参考文献:

- [1] 张宗勤,微文清,刘建才.叉蕊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] 任建伟,白云,张榕村,等.黄姜愈伤组织的诱导及培养[J].中国药学杂志,1993,28(9):532.
- [3] 徐向丽,刘选明,周朴华,等.盾叶薯蓣组织培养及微块茎的离体诱导[J].湖南农业大学学报,2000,26(4):282-285.
- [4] 孟玲,朱宏涛,刘锡葵,等.盾叶薯蓣的快速繁殖[J].天然产物研究与开发,2000,12(6):17-21.

23A 因生育期较短,除了培育壮秧多争分蘖外,还需施足基肥,早施追肥,增施磷钾肥,中、后期控制氮肥使用。够苗及时晒田,抽穗期保持深水,调节田间小气候,后期不宜脱水过早。

4.3 “九二〇”用量

金 23A 对“九二〇”较为敏感,母本“九二〇”用量一般控制在 120 g/hm² 左右,父本视情况另安排“九二〇”45~75 g/hm²。

4.4 病虫害防治

注意稻瘟病、黑粉病、纹枯病和二、三化螟以及飞虱、稻纵卷叶螟的防治。

参考文献:

- [1] 夏胜平,李伊良,贾先勇,等.柚型优质不育系金 23A 的选育[J].杂交水稻,1992,7(5):29-31.
- [2] 李伊良,夏胜平,贾先勇,等.优质杂交稻金优系列组合基本特性研究[J].杂交水稻,1994,9(5):15-17.
- [3] 栗学俊.三系杂交水稻优质育种[J].西南农业学报,2001,(1):106-110.
- [4] 黄家彬,杨年春,王建龙,等.优质高产迟熟杂交晚稻新组合金优 117[J].杂交水稻,2003,18(5):67-68.