

文章编号:1002-4026(2008)05-0036-03

生姜茎尖的组织培养及试管苗快繁体系的研究

李红梅, 张侠, 宋莉璐, 任艳, 朱姣, 李纪顺, 杨合同*

(山东省科学院中日友好生物技术研究中心, 山东省应用微生物重点实验室, 山东 济南 250014)

摘要:以莱芜生姜的茎尖生长点($< 1\text{ mm}$)为外植体,采用不同激素和浓度对生姜的分化进行研究。结果表明:6-苄氨基嘌呤(BA)对姜芽分化最为有效,培养基MS+BA $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 最有利于芽的分化;快繁采用液体浅层静止培养,试管苗增殖速度显著提高,增殖系数比固体培养基提高了31%,根系发达,有利于试管苗的移栽成活。

关键词:生姜;组织培养;快繁

中图分类号:S632.5

文献标识码:A

Tissue Culture of Ginger Stem Apex and Its Shoot Rapid Propagation

LI Hong-mei, ZHANG Xia, SONG Li-Lu, REN Yan, ZHU Jiao, LI Ji-shun, YANG He-tong*

(Biotechnology Research Center, Shandong Academy of Sciences; Key Laboratory
for Applied Microbiology of Shandong Province Jinan 250014, China)

Abstract: We took the ginger stem apex ($< 1\text{ mm}$) as explants to investigate its differentiation with different concentrations plant hormone. Results indicated that the BA was the most effective for ginger shoot differentiation, that the optimal medium was MS + BA $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, that the propagation rate increased by 31% due to the application of liquid medium to rapid propagation, and that the tube plantlets grew very quickly and their roots were benefit for transplant.

Key words: ginger; tissue culture; rapid propagation

生姜为姜科多年生草本植物,是药食两用经济作物。由于长期无性繁殖,栽培姜已普遍受病毒侵染,导致姜种性退化,产量和品质降低,减产幅度可达30%~50%,严重影响了姜的生产和经济效益。侵染生姜的主要病毒是烟草花叶病毒(TMV)和黄瓜花叶病毒(CMV)^[1]。通过组织培养进行复壮和脱毒,可提高品种的增产潜力和自身抗逆性,减少损失。本试验以莱芜大姜为材料,对其茎尖培养、不定芽增殖、不定根诱导进行了研究与探讨,为工厂化生产姜脱毒种源、解决姜品种退化问题奠定基础。

1 材料与方法

1.1 茎尖剥取与初代培养

选用肉质饱满的莱芜大姜 *Zingiber officinale* Rosc.,清洗干净后于21~26℃下催芽,萌发后切取1~2 cm的嫩芽,自来水冲洗30 min,75%的酒精消毒1 min,0.1%生汞消毒10 min,无菌水冲洗6次,无菌剥取直径小于1 mm的茎尖作为外植体,接种于添加不同种类和浓度激素的MS培养基上培养。MS培养基成分(每升): NH_4NO_3 1650 mg, KNO_3 1900 mg, $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 440 mg, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 370 mg, KH_2PO_4 1700 mg, KI 0.83 mg,

收稿日期:2008-06-23

作者简介:李红梅,(1977-)女,助理研究员,从事农业微生物研究。

* 通讯作者, E-mail: yanght@keylab.net

H₃BO₃ 6.2 mg, MnSO₄·4H₂O 22.3 mg, ZnSO₄·7H₂O 8.6 mg, Na₂MoO₄·2H₂O 0.25 mg, CuSO₄·5H₂O 0.025 mg, CoCl₂·6H₂O 0.025 mg, FeSO₄·7H₂O 27.8 mg, Na₂-EDTA·2H₂O 27.3 mg, 肌醇 100 mg, 烟酸 0.5 mg, 盐酸吡哆醇 (VB6)0.5 mg, 烟酸硫胺素 (VB1)0.5 mg, 甘氨酸 2.0 mg, 蔗糖 30 g, 琼脂 10 g。

1.2 试管苗快繁和不定根诱导

初代培养分化形成的丛生芽,分别切割成单芽和双芽,接入与初代培养相同的浅层液体培养基中,置于光照强度 2000 lx、照光 12 h/d、温度(25±2)℃条件下培养,30~40 d 后观察结果。

增殖系数=增殖后芽苗总数/接种的外植体数。

2 结果与分析

2.1 不同种类细胞分裂素对姜芽分化的影响

在 MS 培养基上进行了不同浓度的 6-苄氨基嘌呤(BA)、激动素(Kt)、玉米素(Zt)试验(表 1)。结果表明,在萘乙酸(NAA)为 0.1 mg·L⁻¹时,BA 对促进姜芽分化效果最好,利用 SPSS 软件对姜芽分化进行方差分析,结果见表 2,由 F 检验可以看出,BA, Kt, Zt 三者都差异极显著,就 BA 而言,以 4.0~5.0 mg·L⁻¹效果较好。

表 1 不同细胞分裂素对姜芽分化的影响(单位:个/株)

Table 1 Effect of cytokinins on defferentiation of buds

	处 理														
	BA(mg·L ⁻¹)					Kt(mg·L ⁻¹)					Zt(mg·L ⁻¹)				
	1.0	2.0	4.0	5.0	6.0	1.0	2.0	4.0	5.0	6.0	1.0	2.0	4.0	5.0	6.0
重复 1	1.7	2.8	4.8	5.6	4.2	2.5	1.9	4.1	3.9	2.1	1.7	3.2	3.1	1.8	1.6
重复 2	2.2	3.2	4.6	5.0	4.0	2.7	1.8	4.2	3.2	2.3	1.2	3.4	3.2	2.0	1.4
重复 3	1.9	3.0	5.4	4.8	3.8	2.4	2.0	3.9	3.7	2.0	1.5	3.2	3.0	1.6	1.2

2.2 BA 与 NAA 配比对生姜试管苗继代的影响

试验结果表明,培养基中无 BA 时,姜芽几乎不增殖,在一定浓度范围内(2.0~5.0 mg·L⁻¹)姜芽增殖系数呈增加趋势(表 3)。其中以添加 5.0 mg·L⁻¹ BA 及 0.1 mg·L⁻¹ NAA 增殖系数最高。统计分析表明,不同浓度 BA 之间增殖系数差异达极显著水平($F=94.052$)。

表 2 不同激素诱导姜芽分化的方差分析

Table 2 Variance analysis of cytokinins on defferentiation of buds

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	Sig.
BA	21.680	4	5.420	55.306	0.000
Kt	10.677	4	2.669	63.556	0.000
Zt	9.856	4	2.464	73.920	0.000

2.3 丛生芽不同分割方式对生姜脱毒苗继代的影响

不同的分割方式(表 4)对生姜脱毒苗的继代有一定的影响。结果表明,分割方式 B(切取带两个或两个以上的小芽连带基部,去顶,留茎 1.0 cm)的继代增殖系数最高;单株分割方式 A(带基部单株苗,切去顶部,留茎 2 cm);单株分割方式 C(带基部单株苗)的继代增殖系数最低。方差分析表明,A 与 C 的增殖系数均数比较无统计学差异,而 A 与 B、B 与 C 分别有统计学意义。

2.4 液体浅层培养效果与固体培养效果比较

固体培养基上分化的丛生芽,切取两个及两个以上的小芽(连带基部,去除 1.0 cm 以上茎段)接在液体培养基中,15 天后,茎基部不断长出小芽和新根,试管苗大量增殖,植株高度、茎粗,根的数量及长度均超过固体培养基植株(表 5)。方差分析表明,两种培养基在增殖系数($F=56.941$)、株高($F=30.857$)、根数($F=128$)、根长($F=142.043$)方面差异都达极显著水平。

表 3 BA 与 NAA 对比对姜芽增殖及生长的影响*

Table 3 Effect of BA and NAA combination
on shoot propagation of tube-plantlets

处理		增殖系数			平均高度
BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	重复 1	重复 2	重复 2	I/(cm)
0	0.1	1.5	1.4	1.6	4.82
0	0.2	1.9	1.6	1.7	5.12
2.0	0.1	2.5	2.8	2.4	3.73
2.0	0.2	2.1	2.0	2.4	3.65
4.0	0.1	3.5	3.8	3.2	4.13
4.0	0.2	3.6	3.8	3.4	4.01
5.0	0.1	4.5	4.6	4.4	4.92
5.0	0.2	4.2	4.0	4.3	4.80
6.0	0.1	3.4	3.8	3.0	3.08
6.0	0.2	3.1	2.8	2.9	3.32

* 转接后 30 天调查

2.5 激素对生姜试管苗生根的影响

生姜试管苗很容易生根,在 MS 中添加 BA 和 NAA 其中一种或两种外源激素的培养基上都能生根,但是在不同的培养基上生根的数量、粗细和长度有所不同。由表 6 可知,在只有 NAA 0.1 mg·L⁻¹ 的 MS 培养基上即可实现试管苗的快速生根。

表 6 激素对生姜试管苗生根的影响

Table 6 Effects of different hormone on root differentiation of ginger

培养基	出根率/%	出根数/条	根长/cm	根生长状态
NAA 0.1	100	6.40	7.0	生长较快,白色,根长,粗壮
BA 0.2 + NAA 0.1	100	7.25	3.4	生长快,白色,根细、短小 3 讨论

3 讨论

在试管苗生长与分化过程中,细胞分裂素是必不可少的,可促进生姜再生植株的扩增和胚性愈伤的分化。多数研究表明,BA 的扩增效果较好,本试验结果表明,BA 对生姜的分化最有效。而适量添加生长素可促进芽的分化增殖,更有利于芽苗生长。在不定根诱导形成中,生长素促进生根,而细胞分裂素一般对不定根分化有抑制作用,多数组培苗生根单用生长素。本试验结果表明,在培养基中添加 NAA 0.1 mg·L⁻¹,生根效果较好,这与徐燕等^[2]的试验结果一致。

一般认为,试管苗液体培养因无固体支撑、透气性不好,很多植物组培很难应用这一体系,但液体培养在甘薯、水稻、马铃薯等几种作物上已有报道,证实液体培养不仅可以降低成本,而且还能提高增殖倍数^[3-5]。本试验以生姜为实验材料,利用液体培养基进行快繁,可有效提高生姜的繁殖速度和试管苗移栽成活率,降低成本。

参考文献:

[1] 王教义.姜脱毒组培技术研究[J].山东农业科学,1999(6): 7-9.

[2] 徐燕,李忠幸,聂华林.生姜组织培养研究[J].长江蔬菜,2002,(S1):104.

[3] 柴卫淑,谭学材,师佳,等.液体培养基在水稻花药培养中的应用研究[J].中国农学通报,2004, 20(4):145-147.

[4] 董淑英,李梅,孙静,等.马铃薯试管苗低成本快繁方式研究[J].中国马铃薯 2002,16(1):7-10.

[5] 毕瑞明.不同培养方法对甘薯无菌苗生长的影响[J].生物技术,2002,12(12):26-28.

表 4 不同切割方式对生姜继代的影响

Table 4 Effect of different cut fashion on shoot propagation of ginger

切割方式	增殖系数		
	重复 1	重复 2	重复 3
A	4.5	4.8	4.2
B	6.0	6.2	5.5
C	4.2	4.0	4.4

表 5 液体培养效果与固体培养效果比较

Table 5 Effect of different medium on shoot
propagation and growth of tube-plantlets

处理	处理增殖系数			株高/(cm)			根数/(条)			根长/(cm)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
液体	5.9	6.2	5.8	6.2	5.8	5.7	6.5	6.8	6.8	7.0	7.1	6.3
固体	4.6	4.2	4.7	4.8	4.9	4.4	5.0	5.3	5.0	3.7	3.5	3.3