

荆半夏叶柄外植体快繁技术研究

李先良, 王学民 (荆楚理工学院生物工程学院, 湖北荆门 448000)

摘要 [目的]通过组培的方法探索荆半夏形成生产用小块茎的最佳途径。[方法]将叶柄躺接或竖接于不同的培养基诱导珠芽, 然后将珠芽接入不同培养基并在不同光照条件下培养使其形成小块茎。[结果]从珠芽形成之前的半夏小苗所取叶柄竖接至培养基 MS+0.5 mg/L BA+0.2 mg/L NAA 中获得大量质量较好的珠芽, 珠芽分开后接入培养基 MS+0.05 mg/L BA+0.01 mg/L NAA 中, 采用 10 h/d 光照培养可获得适合于大田栽种的小块茎。[结论]荆半夏叶柄经过适当的组培方法可在短时间内获得大量生产上使用的小块茎。

关键词 半夏; 叶柄; 快繁; 块茎

中图分类号 S567.23*9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)06-02247-02

Study on the Rapid-Propagation Technical System with the Petioles of *Pinellia Ternate* Breit as Explants

LI Xian-liang et al (Biological Engineering College, Jingchu University of Science and Technology, Jingmen, Hubei 448000)

Abstract The research aimed to find out the high-efficiency technical system for rapid propagation of *Pinellia ternate* Breit. The petioles cut from the different growth stages of *Pinellia ternate* Breit were cultured on different media. The buds forming from the petioles after a period of culture were separated and placed on different regeneration media. The result indicated that MS medium with 0.5 mg/L BA and 0.2 mg/L NAA was appropriate to stand the petioles before its shoot forming. More and better tubers can be induced through the shoot-culturing on MS medium with 0.05 mg/L BA + 0.01 mg/L NAA under 10-hour illumination per day. The tubers, which can rapidly form from petioles by the method of tissue culture, can be well used as seeds in cultivation of *pinellia ternate* Breit.

Key words *Pinellia ternate* Breit; Petiole; Rapid propagation; Tuber

半夏(*Pinellia ternate* Breit)是天南星科半夏属多年生草本植物, 块茎入药, 有镇咳祛痰、和胃止呕、祛风定惊、散节消肿等功效, 是一种常用的传统中药材。近年来, 对野生半夏的过度采挖, 使其资源濒临枯竭。半夏可通过块茎、珠芽及种子繁殖。关于半夏快繁的研究报道较多, 有成功地用半夏叶柄或叶片为外植体直接诱导块茎的报道^[1-4], 但对诱导出块茎的大小、萌芽率及是否适合做种茎用未作讨论。为此, 笔者结合半夏的栽培实践及自然繁殖过程, 通过简单的培养程序, 短时间内获得大量直接用于生产的繁殖体。

1 材料与方法

1.1 材料 荆门地区桃叶型半夏。

1.2 方法

1.2.1 培养程序。试验分为珠芽诱导和小块茎形成两个环节。4月5日种下小块茎, 分别在5月1日、5日、25日、8月15日及9月5日取叶柄, 按躺接和竖接两种方式接入培养基。将诱导出的珠芽增殖培养后, 接入成苗培养基, 形成移栽小苗, 待小苗自然死亡后给予适当的温度和水分, 统计小块茎的萌发率。

1.2.2 培养基的配制。诱导培养基: MS + 0.2 mg/L NAA + (0.2, 0.5, 1.0) mg/L BA; 珠芽增殖培养基: MS + 0.5 mg/L BA; 块茎形成培养基: ①MS₀, ②MS + 0.05 mg/L BA + 0.01 mg/L NAA, ③MS + 0.5 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA, 其中 MS、BA、NAA 分别代表基本培养基、细胞分裂素 6-苄基·腺嘌呤和生长激素 α-萘乙酸。培养基其他条件均为: pH 值 5.8, 琼脂 7.0 g/L, 蔗糖 3%, 块茎形成培养基蔗糖浓度为 1%。

1.2.3 栽种和培养条件。外植体长度一般在 1.5 cm 左右。在超净工作台内按如下步骤消毒: 75% 酒精浸泡 30 s → 无菌水清洗 1 次 → 0.1% 升汞浸泡 10 min → 无菌水冲洗 5 次。培

养条件: 培养室温度 25 ℃, 珠芽诱导光照 8 h/d, 块茎形成设光照 8、10、12 h/d 3 个处理。光照强度 2 000 ~ 3 000 lx。

表 1 取材时间、激素浓度及接入方式对半夏珠芽诱导的影响

Table 1 Effects of sampling time, hormone concentration and gestures on tuber induction from *Pinellia ternate* Breit

取材时间	BA 浓度 mg/L	接入方式 Gestures	形成珠芽的外植体数 No. of explants forming tuber	诱导率 % Induc tion rate	平均珠芽数 Average number of tubers
05-01	0.2	竖 Stood	10	66.7	3.3
05-01	0.2	躺 Laid	12	80.0	3.5
05-01	0.5	竖 Stood	14	93.3	5.7
05-01	0.5	躺 Laid	15	100.0	6.0
05-01	1.0	竖 Stood	14	93.3	5.8
05-01	1.0	躺 Laid	13	86.7	6.2
05-25	0.2	竖 Stood	4	26.7	2.0
05-25	0.2	躺 Laid	5	33.3	4.4
05-25	0.5	竖 Stood	7	46.7	5.7
05-25	0.5	躺 Laid	8	53.3	6.3
05-25	1.0	竖 Stood	8	53.3	5.6
05-25	1.0	躺 Laid	6	40.0	5.7
08-15	0.2	竖 Stood	9	60.0	3.6
08-15	0.2	躺 Laid	12	80.0	3.8
08-15	0.5	竖 Stood	13	86.7	5.9
08-15	0.5	躺 Laid	15	100.0	6.2
08-15	1.0	竖 Stood	13	86.7	5.7
08-15	1.0	躺 Laid	14	93.3	5.8
09-05	0.2	竖 Stood	3	20.0	3.2
09-05	0.2	躺 Laid	5	33.3	3.6
09-05	0.5	竖 Stood	6	40.0	5.6
09-05	0.5	躺 Laid	7	46.7	5.7
09-05	1.0	竖 Stood	7	46.7	5.9
09-05	1.0	躺 Laid	6	40.0	5.8

注: 接种数均为 15 个。

Note: 15 explants were inoculated in each treatment.

2 结果与分析

2.1 珠芽的诱导培养 半夏在 1 年的生长过程中, 7 月中下旬会有 1 次倒苗, 8 月初再出苗, 8 月下旬长出珠芽。不同时间的叶柄其生理状态不同, 组培反应也不同, 不同时间取材可确定适于组培的最佳时间。叶柄接入培养基 10 d 后开始膨大, 20 d 开始形成芽, 这些芽底部膨大, 形态和珠芽十分相似, 应该是珠芽。30 d 后数量不再变化(表 1)。

作者简介 李先良(1976-), 男, 湖北武汉人, 硕士, 讲师, 从事植物细胞工程的研究。

收稿日期 2007-11-22

显著性分析表明(表 1、2),不同取材时间对诱导率影响明显,5月1日和8月15日取材的诱导率明显高于其他两个时间所取的材料,这可能与叶柄的生理状态有关。5月1日和8月15日的幼苗还未形成珠芽,叶柄比较嫩,适合向形成

表 2 各因素影响的显著性分析

Table 2 The significant analysis on each influencing factor

项目 Items	取材时间 Sampling time				BA 浓度//mg/L BA concentration			接入方式 Gestures	
	05-01	05-25	08-15	09-05	0.2	0.5	1.0	竖	躺
诱导率 Induction rate	86.7a	42.2b	84.5a	37.8b	50.0b	70.8a	67.5a	60.8a	65.6a
平均芽数 Average buds	5.0a	5.0a	5.2a	5.0a	3.4b	5.9a	5.8a	4.7a	5.3a

珠芽的方向发展。取材时间对形成珠芽的数量无明显影响,5月25日和9月5日所取材料的叶柄中,有一部分可能因为是处在叶柄的上端,生理状态较好,容易形成珠芽。这说明不同时间所取材料形成珠芽的能力不同,但一旦形成珠芽,形成珠芽的数量则不会有差异。0.5和1.0 mg/L BA 对于叶柄形成珠芽和形成珠芽的数量无显著差异;0.2 mg/L BA 对

叶柄的诱导效果显著降低,这可能是因为较高比例的 BA 能促进芽的形成;0.5 mg/L 形成珠芽相对较慢,大小比较一致,珠芽间的距离相对大一些;1.0 mg/L BA 形成珠芽相对快一些,大小均匀度较差,珠芽间比较紧密,分离相对困难。

接入方式对诱导效果的影响不显著。竖接方式形成的珠芽比躺接的体积上相对大一些(图 1)。



图 1 叶柄形成的珠芽

Fig.1 The shoots formed from petioles

2.2 小块茎的形成 诱导形成的珠芽经增殖后,将其分开接入不同培养基,经不同光照培养后,形成小苗,将小苗移栽,统计移栽成活率,倒苗后挖出小块茎,统计平均大小后播于土壤中,保持适当的湿度和温度,统计萌芽率(表 2、3)。

表 3 培养基和光照时间对块茎形成的影响

Table 3 Effect of media and illuminational time on the formation of tubers

块茎形成培养基 Tuber-forming media	光照时间//h/d Illumination time	平均成苗时间//d Average time of seedling formation	成苗率//% Seedling rate	移栽成活率//% Survival rate in transplant	小块茎平均大小//cm Average size of small tubers	萌发率//% Germination rate
①	8	25	90.0	95.8	0.85	100.0
①	10	25	100.0	96.0	0.96	95.8
①	12	26	93.3	100.0	1.02	100.0
②	8	15	96.7	96.7	0.75	96.4
②	10	14	100.0	100.0	0.89	100.0
②	12	15	100.0	100.0	1.01	100.0
③	8	10	73.3	81.8	0.70	83.3
③	10	10	70.0	90.5	0.75	84.2
③	12	11	66.7	100.0	0.80	90.0

由表 3 可见,培养基③中相对较高的激素能提高珠芽出苗的时间,但也造成一系列负面效果,表现为:①成苗率降低。由于珠芽本身可作为繁殖体,体内的激素水平和种类使其较易成苗。②移栽成活率较低。在相对浓度较高的刺激下,形成的小苗各种代谢可能与正常小苗存在差异,移栽后难以适应环境而出现死亡。③形成的小块茎相对较小。可能是因为激素提高了代谢水平,使淀粉一类的储能物质减少。高浓度激素条件下形成的小块茎还表现出萌发率相对较低。从培养效率的角度考虑,培养基②比①好,成苗时间短、快繁周期缩短。光照时间影响移栽成活率和小块茎平均大小,提高光照时间,小苗进行光合作用的时间增长,使小苗的自养生理机能更加健全和有效,合成的储能物质也相应增加,表现出更强的适应性,体积相对较大。光照 10 和 12 h/d 对成活率影响不大,对小块茎平均大小虽有影响,但小块茎平均大小均在 0.8~1.1 cm 较合适的范围内(培养基③的情

况除外),考虑成本,10 h/d 光照更合适。

3 结论与讨论

(1)理论上讲,组培应用于半夏繁殖可提高繁殖效率,但生产上需注意:①通过组培快繁,应大幅度提高繁殖效率,同时能降低成本;②通过组培获得的繁殖体应能方便地应用于生产,与组培种苗相比,用块茎作繁殖体可避免移栽过程中的损失,但组培的块茎应大小适中且均一,栽种后能完全萌发。该研究通过“叶柄-珠芽-块茎”途径获得的块茎能满足生产的需要,且繁殖效率较高。

(2)从叶柄到珠芽这一过程中,取材时间可影响叶柄的生理状态,进而对培养效果产生影响。试验表明,半夏叶柄较适合诱导,培养基 MS+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L BA 诱导出的珠芽较较好,叶柄竖接培养产生的珠芽相对大些。

(3)从珠芽到块茎的过程,实际上是半夏自然繁殖过程

(下转第 2284 页)

在选育鲜食糯玉米高产品种时,在生产季节及市场需求条件允许的前提下,选择生育期较长和多行大穗品种可间接通过株高和穗粗等性状提高鲜穗产量。对出籽率的选择可适当放宽,但应注意与其他性状相协调。

鲜食糯玉米 10 个主要农艺性状与鲜穗产量通径分析的相关系数为 $R^2 = 0.9043$,说明穗粗、株高、行粒数、穗长、穗行数、秃尖长、粒深、出籽率、生育期和穗位高 10 个因素所决定的鲜穗产量的变异占鲜穗总产量变异的 90.43%,另有 9.57%的变异归属于其他未知因素和试验误差。

3 结论与讨论

鲜食糯玉米 11 个主要农艺性状与鲜穗产量的相关系数由大到小依次为穗粗、穗长、株高、行粒数、百粒重、秃尖长、穗位高、粒深、穗行数、生育期和出籽率。而各性状对鲜穗产量的直接通径系数由大到小依次为穗粗、株高、行粒数、穗长、穗行数、秃尖长、粒深、出籽率、生育期和穗位高。两者存在一定差异,这是因为通过通径分析,各性状对产量性状的影响不仅包括各性状对产量的直接效应,还包括各性状彼此间对产量性状的间接效应,较准确地揭示了各性状对鲜穗产量的相对重要性,在生产和育种工作中更具指导意义。

穗粗、穗长、株高和行粒数对鲜食糯玉米产量均呈极显著正相关,直接效应较大,对鲜穗产量的间接效应也均较大。穗位高、秃尖长和粒深与鲜穗产量的相关系数均呈显著或极显著正相关,秃尖长和粒深对鲜穗产量的直接贡献较小,穗位高与鲜穗产量为最大直接负效应。穗位高、秃尖长和粒深通过穗粗和株高,秃尖长通过穗长与鲜穗产量呈较大间接正效应。生育期和穗行数与鲜穗产量呈不显著正相关,出籽率与鲜穗产量呈不显著负相关。穗行数对鲜穗产量的直接贡献较小,生育期和出籽率对鲜穗产量呈一定程度的直接负效应。生育期和穗行数通过株高和穗粗,生育期通过行粒数对

鲜穗产量有较大间接正效应,而出籽率通过株高和穗粗对鲜穗产量呈较大负效应。该研究中穗长、株高、穗位高和穗行数对鲜穗产量的效应与张新宇等^[6]、谢大森等^[7]的研究结果基本一致,其他性状与张新宇研究的结果有较大差异,可能与品种及环境差异有关,有待进一步探讨。

鲜食糯玉米 10 个主要数量性状所决定的鲜穗产量的变异占鲜穗总产量变异的 90.43%,另有 9.57%的变异归属于其他未知因素和试验误差,有待进一步研究。

所以选育鲜食糯玉米高产品种,必须充分考虑各主要农艺性状间的相关性,把穗粗、行粒数、株高和穗长等性状的选择放在优先位置,选择较高的表现型。穗位高、粒深和秃尖长的选择也不容忽视,但秃尖长的选择要在优先选择穗长的前提下进行,在秃尖长不是太长时选择尺度可适当放宽,以提高其外观品质。另外,在生产季节及市场需求条件允许的前提下,选择生育期较长和多行大穗品种可间接通过株高和穗粗等性状提高鲜穗产量。对出籽率和百粒重的选择可适当放宽,但应注意与其他性状相协调。各性状之间相互协调,才有可能选育出高产品种。

参考文献

- [1] 广成,薛雁,苟升学.玉米 8 个产量构成因素的通径分析[J].玉米科学,2002,10(3):33-35.
- [2] 何代元,吴广成,刘强,等.玉米主要农艺性状的相关通径分析[J].玉米科学,2003,11(4):58-60.
- [3] 杨金慧,毛建昌,李发民,等.玉米杂交种农艺性状与籽粒产量的相关和通径分析[J].中国农学通报,2003,19(4):28-30.
- [4] 白厚义,肖俊义.高级生物统计[D].南宁:广西大学农学院,2001:149-158.
- [5] SAS INSTITUTE Inc. SAS/STAT 9 User's Guide[M].North Carolina:SAS Institute Inc,2003.
- [6] 刘新宇,武桂贤,马汉云,等.鲜食糯玉米主要农艺性状与鲜穗产量的相关和通径分析[J].种子科技,2005(5):283-285.
- [7] 谢大森,何晓明,彭庆务,等.糯玉米主要农艺性状相关及通径分析[J].江西农业大学学报,2003,25(4):498-500.

(上接第 2247 页)

的模拟,这一过程在培养基中进行,主要是因为形成的珠芽相互粘连,分开时会造成损伤。完成这一过程的培养基与土壤的功能相似,所以激素浓度不宜较高,甚至可不加,但综合考虑培养效率,以培养基 MS + 0.05 mg/L BA + 0.01 mg/L NAA 较好。充足的光照可锻炼组培苗的光合系统,从而提高组培苗的自养能力,以 10 h/d 光照较好。

参考文献

- [1] 顾德兴,李云香,徐炳声.半夏的繁殖生物学研究[J].植物资源与环境,1994,3(4):44-48.
- [2] 郭巧生,张国泰,许来武,等.不同繁殖材料对半夏产量的影响[J].中国中药杂志,1993,18(3):140-142.
- [3] 薛建平,朱艳芳,张爱民,等.半夏块茎直接再生技术的研究[J].作物学报,2004,30(10):1060-1064.
- [4] 郭余龙,贾永芳,杨星勇,等.半夏的组织培养及成分比较[J].农业生物技术,2003,11(3):259-262.

本刊提示 《安徽农业科学》全部采用铜版纸印刷,对图表的颜色和形式没有限制。欢迎作者随文提供彩色图片。安徽省农业科学院是国内首屈一指的图片资源大户,拥有具有自主知识产权的高质量农业图片 5 万余幅。如果作者文章中涉及相关内容,需要图片帮助阐述或增色,而自己未能留下高质量图片时,可以和本刊编辑部联系调用。