

姜茎尖的离体培养与试管苗快繁

缪 静, 柏新富

(烟台师范学院生命科学学院, 山东 烟台 264025)

摘要:目的 探索姜茎尖组织培养及其试管苗快速繁殖的适宜条件。方法 剥取不大于 1 mm 的姜茎尖生长点为外植体, 以 MS 为基本培养基, 附加不同种类和浓度的植物生长物质进行培养。结果 小于 0.3 mm 的姜茎尖可进行良好的分化与生长; 在各类激素中, 以 BA 对姜芽分化最为有效, 培养基 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2~0.4 mg/L 最有利于芽的分化和生长; 在生根培养基中添加适量的 BA 不仅不影响不定根的形成, 且能增加成苗数, 对不定根的分化和成苗最适的培养基为 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+BA 0.15 mg/L。结论 试验为姜的茎尖离体培养提供了有效途径。

关键词:姜; 离体培养; 快繁

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)10-1178-03

Tissue culture of stem apex and shoot rapid propagation of ginger

MIAO Jing, BAI Xin-fu

(School of Life Science, Yantai Normal University, Yantai 264025, China)

Abstract: **Object** To study the suitable conditions on tissue culture of stem apex and shoot rapid propagation of ginger. **Methods** The ginger stem apex ($\phi < 1$ mm) was taken as explants and cultured on MS medium with different portions of plant growth substances. **Results** The ginger stem apex thinner than 0.3 mm in diameter could differentiate and grow very well. The optimal medium for shoot propagation and growth was MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2—0.4 mg/L. Adding suitable amount of BA to root medium did not influence the formation of adventitious root, but also increased the seedling formation, and the suitable medium for adventitious root induction and seedling formation was 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+BA 0.15 mg/L. **Conclusion** It is to provide the effective ways to culture stem apex of ginger *in vitro*.

Key words: ginger, tissue culture *in vitro*, rapid propagation

姜 *Zingiber officinale* Rosc. 亦称“生姜”, 为姜科多年生草本植物, 常作一年生栽培, 是我国重要的出口创汇蔬菜之一^[1], 不仅是大家熟悉的调味品, 也是具有广泛药理作用的常用中药, 有发汗解毒、温中止吐、温肺止咳、解毒等功效。近年研究还表明, 姜具有抗肿瘤、抗氧化作用^[2,3]。由于姜的药用及保健价值逐渐被人们所认识, 姜及其加工品的内、外贸市场逐年看好, 其种植面积逐渐扩大。但是, 在长期利用根茎进行无性繁殖过程中, 栽培姜已普遍受病毒感染, 导致姜种性退化, 产量和品质降低^[4], 严重影响了姜的生产与经济效益的提高。因此, 通过组织培养手段对现有优良品种进行脱毒和复壮, 提高品种自身抗逆性和增产潜力已迫在眉睫。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, 旨在为工厂化生产姜脱毒种源、最终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: 供试姜品种为莱芜大姜 *Zingiber officinale* Rosc., 取发芽整齐的姜, 将芽切下, 流水冲洗 15~20 min, 75% 酒精消毒 1 min, 置 0.1% 氯化汞中浸泡 10 min, 无菌水洗 6 次, 然后无菌操作剥取直径不大于 1 mm 的茎尖作为外植体, 转接于 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.4 mg/L 的培养基上培养。

1.2 试管苗快繁与不定根诱导: 将初代培养所得试管苗转接至以 MS 为基本培养基、附加不同种类和浓度的植物生长调节物质的培养基中, 置于光照强度 2 000 lx、光照 14 h/d、光照时温度 (27±2) °C、暗时 (18±2) °C 条件下培养, 20~40 d 后观察结果。

2 结果与分析

2.1 茎尖大小对成活与分化的影响: 将茎尖接种到适宜的培养基中, 1 周左右开始变绿、膨大生长, 说

收稿日期: 2003-12-30

作者简介: 缪 静(1972—), 女, 河北唐山人, 讲师, 硕士, 1997 年毕业于江南大学, 主要从事生物技术的教学与科研工作。

Tel: 0535-6681263

明茎尖已成活。一般情况下,外植体越大,越易成活,污染率也相对升高。而在本试验中,茎尖较小时污染率相对较高(表 1),这可能是因为剥取的茎尖较小时,外植体本身带菌的可能性已很小,而茎尖越小,操作难度越大,操作过程造成污染的可能性也越大。在成活率上,虽然小于 0.3 mm 的茎尖成活率较低,但由于剥取的茎尖生长点愈小,脱除病毒的可能性愈大,因此从脱毒复壮的角度,取直径 < 0.3 mm 的茎尖生长点作外植体是可行的。表 1 结果还显示,分化起始时,茎尖 < 0.6 mm 的分化较慢,随后加快;而茎尖在 0.6 mm 以上的则变化不大,这说明茎尖大,启动快,但分化率低;茎尖小,启动慢,但分化速率快,分化率高,更利于分化。

2.2 不同种类细胞分裂素对姜芽增殖与生长的影响:为了研究细胞分裂素对姜芽分化和生长的影响,在 MS 培养基上进行了不同浓度的 6-苄基腺嘌呤

表 2 不同细胞分裂素对姜芽分化和生长的影响*

Table 2 Effect of cytokinins on differentiation and growth of buds

名称	Zt/(mg · L ⁻¹)				BA/(mg · L ⁻¹)				Kt/(mg · L ⁻¹)			
	0.5	1.0	2.0	3.0	0.5	1.0	2.0	3.0	0.5	1.0	2.0	3.0
分化芽数/(个 · 株 ⁻¹)	1.5	3.5	3.0	1.9	3.4	5.3	5.8	4.7	3.2	3.0	4.1	3.9
芽苗高**/cm	2.2	2.0	1.5	1.4	4.7	6.1	5.8	5.4	4.3	3.5	4.0	3.1

* 转接后 30 d 调查; ** 指最高芽苗的高度。

* Investigation on the 30th day after transferring; ** Indicate height of the highest plantlet

验结果表明,当培养基中缺乏 BA 时,姜芽几乎不增殖(表 3),在 BA 为 0.5~2.0 mg/L 时,姜芽的分化呈增加趋势,同时,在培养基中添加适量的 NAA 可明显促进芽的分化和生长。统计分析显示,不同浓度 BA 之间增殖系数极差等于 3.8,差异达极显著水平 ($F=14.16 > F_{0.01}=7.59$)。然而,较高的 BA 虽有利于芽分化,但却使芽苗的生长受到明显影响。因此,选择适宜的 BA 和 NAA 水平对姜芽增殖和生长极为重要,本试验中较适于姜芽分化增殖和生长的激素配比为 BA 1.0 mg/L+NAA 0.2~0.4 mg/L。

2.4 姜试管苗不定根的诱导:取继代培养 30 d、芽苗高 3 cm 以上的无根试管苗转接到含 NAA 0.05~1.0 mg/L 的 1/2 MS 培养基中诱导生根,结果表明,低浓度 NAA 对不定根的形成有明显促进作用,但随 NAA 浓度升高,根愈伤化加粗严重,当 NAA 浓度达 1.0 mg/L 时则抑制不定根的形成。进一步研究发现,在含有一定量的 NAA 的生根培养基中附加适量的 BA,不仅可以消除因 NAA 浓度较高引起的根愈伤化现象,而且可使成苗数明显增加(表 4)。当 NAA 处于适宜浓度范围内,添加 BA 0.05~0.15 mg/L 不仅可以消除根的愈伤化,而且

表 1 茎尖大小对成活率和分化率的影响

Table 1 Effect of step apex dimension on survival rate and differentiation rate

茎尖大小/mm	外植体数/个	污染数/个	污染率/%	成活数/个	成活率/%	分化率*/%	
						20 d	40 d
<0.3	23	4	17.4	7	30.4	14.3	71.4
0.3~0.6	38	7	18.4	25	65.8	16.0	44.0
0.6~1.0	40	4	10.0	31	77.5	32.2	45.2

* 分化率的计算以成活的外植体为基数。

* on the basis of the No. of survival explants

(BA)、玉米素 (Zt) 和激动素 (Kt) 的试验。结果表明,在萘乙酸 (NAA) 为 0.2 mg/L 的情况下,BA 对促进姜芽分化和生长的效果最好,其次是 Kt、Zt 的表现最差(表 2),方差分析表明三者差异极显著 ($F=12.68 > F_{0.01}=10.92$)。就 BA 而言,以 1.0~2.0 mg/L 效果较优。

2.3 BA 与 NAA 对比对芽增殖和生长的影响:试

表 3 BA 与 NAA 对比对姜芽增殖及生长的效应*

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

BA	NAA	接转芽数/个	增殖芽数/个	增殖系数	平均株高/cm
0	0	20	28	1.4	4.88±1.33
0	0.2	20	32	1.6	5.21±0.79
0	0.4	20	41	2.1	5.50±0.88
0.5	0	20	68	3.4	3.78±1.02
0.5	0.2	19	94	4.9	3.56±0.59
0.5	0.4	20	84	4.2	4.59±0.81
1.0	0	20	89	4.5	3.21±0.72
1.0	0.2	19	110	5.8	4.79±0.43
1.0	0.4	18	111	6.2	4.98±0.51
2.0	0	20	88	4.4	2.12±0.70
2.0	0.2	19	106	6.6	3.09±0.87
2.0	0.4	18	98	5.4	3.31±0.45

* 转接后 30 d 调查

* Investigation on 30 th day after transferring

可促进不定根的发生,但当 BA 达 0.5 mg/L 时,则会对不定根分化产生不利影响;在生根培养基中添加 BA 的另一个作用是使成苗数明显增加,方差分析表明各浓度之间差异均达极显著水平 ($F=45.54 > F_{0.01}=7.59$),说明 BA 对芽的分化成苗具有重要的作用,试验中应将其控制在最适浓度范围内。本试验

中,当生根培养基中 NAA 为 0.05~0.1 mg/L 时,最有利于生根和成苗的 BA 为 0.15 mg/L。

表 4 NAA 与 BA 对比对姜试管苗生根及成苗的影响

Table 4 Effect of NAA and BA combination on rooting and seedling formation

NAA /(mg·L ⁻¹)	BA /(mg·L ⁻¹)	外植体 数/个	分化成苗数** /(个·外植体 ⁻¹)	平均根数 /(条·株 ⁻¹)	根发育 情况
0.05	0	20	1.4±0.4	8.1±2.1	正常
0.05	0.05	20	2.5±0.4	7.7±1.3	正常
0.05	0.15	20	3.9±0.4	8.7±1.0	正常
0.05	0.5	19	3.7±0.9	8.1±1.5	正常
0.1	0	20	1.3±0.6	11.2±2.7	轻度愈伤
0.1	0.05	20	3.4±0.9	14.1±3.0	正常
0.1	0.15	20	4.4±0.7	15.0±2.2	正常
0.1	0.5	20	3.9±1.2	9.0±1.9	正常
0.5	0	19	1.2±0.2	9.4±3.3	严重愈伤
0.5	0.05	20	2.4±0.8	10.6±2.8	轻度愈伤
0.5	0.15	19	3.9±1.4	9.9±2.4	正常
0.5	0.5	20	3.7±1.1	5.6±1.3	正常

* 转接后 30 d 调查,生根率均为 100%; ** 指高于 3.0 cm 的芽苗的数量

* Investigation on 30 th day after transferring, rooting rate was all 100%; ** Indicate numbers of seedlings higher than 3 cm

3 讨论

一般认为,在试管苗生长与分化过程中,细胞分裂素比率高时利于诱导芽,但在实际应用中不仅要考虑芽的增殖数量,更要注意分化芽苗的质量,只有具有一定高度和粗度的芽苗才是有效芽苗。本试验结果表明,细胞分裂素是姜芽分化增殖必不可少的,但过高的细胞分裂素会影响芽苗的生长。而适量添加生长素不仅可促进芽的分化增殖,更有利于芽苗的生长(表 3)。不过,NAA 质量浓度较高(0.4~1.0 mg/L)时,姜芽苗生长表现出细弱徒长趋势,不利于移栽成活及移栽后的生长,这一点与曾令波等在半夏组培中的结果相似^[5]。

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^[6,7],多数组培苗生根单用生长素,也有在不含激素的培养基中诱导生根的。张秀清等^[8]在莱芜片姜组培时将幼芽转到不含激素的空白培养基中诱导生根;徐燕等^[9]的试验结果是在培养基中添加 NAA 0.1 mg/L,生姜的生根效果较好。但本试验发现,单用生长素,根易愈伤化,形成不正常根,而适量附加 BA,不仅可消除愈伤化、促进生根,而且可明显增加成苗数,当然,较高的 BA 则会对根的分化产生不利影响。本试验中,最适于姜不定根分化和成苗的激素配比为 NAA 0.1 mg/L 和 BA 0.15 mg/L。

References:

- [1] Qu D Y, Li S D. *Survey of Vegetables Seed Industry in China* (中国蔬菜种业大观) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001.
- [2] Surh Y J. *Chemopreventive Properties of Hot Chili Pepper and Ginger* [M]. Amsterdam: IOS Press, 1998.
- [3] Ma J J. Research and prospect on pharmacological effect of ginger [J]. *Anth Med* (医学文选), 1999, 18(3): 471-472.
- [4] Wang J Y, Fan G Q, Zhang P. Study on techniques of taking off virus and tissue culture of Ginger [J]. *Shandong Agric Sci* (山东农业科学), 1999, (6): 7-9.
- [5] Zeng L B, Zhou J Y, Zhao J, et al. The effect of plant hormones on morphogenesis in tissue culture of *Pinellia ternate* Breit. [J]. *J Anhui Normal Univ-Nat Sci* (安徽师范大学学报·自然科学版), 1995, 18(3): 42-46.
- [6] Pan R C, Dong Y D. *Plant Physiology* (植物生理学) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1995.
- [7] Huang X L, Li Y J. *Morphogenesis and Regulation Higher Plant Tissue in Isolated Culture* (高等植物组织离体培养的形成建成及调控) [M]. Beijing: Science Press, 1995.
- [8] Zhang X Q, Wang C Y, Liu Y J, et al. Culture and propagation of ginger growing point *in vitro* [J]. *Plant Physio Commun* (植物生理学通讯), 1995, 31(3): 192-193.
- [9] Xu Y, Li Z X, Nie H L. Tissue culture research of green rhizomes [J]. *Changjiang Vegetables* (长江蔬菜), 2002, (Suppl): 104.

八大品种菊花中不同成分的含量比较

贾凌云¹, 孙启时¹, 黄顺旺²

(1. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 安徽省医药科技实业有限公司, 安徽 合肥 230001)

摘要:目的 研究八大品种菊花中不同成分的含量。方法 以绿原酸、木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷及芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷为指标,采用高效液相色谱法对不同品种的菊花进行了含量测定。结果 绿原酸含量以济菊和祁菊最高,川菊最低;木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖苷含量以济菊最高,而亳菊最低;芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷含量以济菊最高,而最低为贡菊、亳菊和怀菊。结论 绿原酸和黄酮类成分均高者才是优良品种。

收稿日期:2004-01-15

作者简介:孙启时(1945—),男,吉林松源人,教授,博士生导师,主要从事中药资源开发和利用的研究。
Tel: (024) 23843711-3690 E-mail: sunqishi@sina.com