

生姜芽的组培快繁

戴水莲 谢绍辉 李涛 (怀化职业技术学院, 湖南怀化418000)

摘要 [目的] 寻找生姜芽组培快繁的最佳方案。[方法] 以MS为基础培养基,设计生姜芽组培快繁的两条途径,选择生姜芽组培快繁的最佳培养基配方。[结果] 结果表明,茎尖^{6BA}芽最适培养基为:改良MS+6-BA 3.0 ng/L+NAA 0.1 ng/L;茎尖愈伤组织^{2,4D}芽,茎尖诱导愈伤组织的最适培养基为:改良MS+2,4-D 2.0 ng/L+KT 1.0 ng/L,愈伤组织诱导芽分化的最适培养基为:改良MS+6-BA 2.0 ng/L+NAA 0.5 ng/L。采用超净工作台上用75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min+50 ug/L青霉素与台外消毒相结合对外植体进行表面消毒,去污效果最佳。[结论] 对愈伤组织进行切割并继代培养后再诱导芽分化,可获得较大的增殖倍数。

关键词 生姜;组织培养;愈伤组织;表面消毒

中图分类号 S336 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)28-12112-02

Tissue Culture Propagation on Bud of Ginger

DAI Shui-lian et al (Huaihua Vocational and Technical College, Huaihua, Hunan 418000)

Abstract [Objective] The study was to search the optimal scheme of tissue culture propagation on bud of ginger. [Method] With MS as basic medium, two approaches of propagation were designed in culture experiment to choose the optimal mediums of tissue culture propagation on bud of ginger. [Result] The results indicated that the optimal medium was MS+6-BA 3.0 ng/L+NAA 0.1 ng/L of stem tip bud, MS+2,4-D 2.0 ng/L+KT 1.0 ng/L for bud callus induction and MS+6-BA 2.0 ng/L+NAA 0.5 ng/L for callus induce buds of stem tip callus bud, respectively. The decontamination effect was best through the surface disinfection on explant by combination of 75.0% alcohol 30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min+50 ug/L penicillin and out-table disinfection on super-clean worktable. [Conclusion] The big multiplication multiple will be obtained by induction bud differentiation after cutting callus and then subculture.

Key words Ginger; Tissue culture; Callus; Surface disinfection

生姜是我国的种植面积日益增大,形成了规模化、产业化格局。生姜栽培中采用姜块作种需种姜4 500~7 500 kg/hm²,随着植物组培技术的不断推广,采用生姜组培苗替代姜块作种已成为一大趋势^[1],这将大大节省种姜用量,提高生姜的产量和质量,获得更好的经济效益^[2]。因此,笔者进行了生姜芽的组培快繁试验。以改良MS为基础培养基,设计两种途径:1.茎尖^{6BA}芽,选出最佳配方;2.茎尖^{2,4D}愈伤组织^{6BA}芽,选出最佳配方。在接种外植体的过程中,污染率太大是一个严重的问题,对此,设计6种不同的消毒方案,寻找最好的消毒方法。

1 材料与方

1.1 材料 精选块大、肉厚、皮色黄亮和无病虫害的健壮姜块,在自来水下洗掉泥巴。再用少量洗衣粉浸泡10 min,用毛笔轻轻刷洗种姜表面,用自来水冲洗2 h,沥干水分。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒。在配药室内用解剖刀截取0.5~1.0 cm长的带茎尖的姜块,按照6种不同的消毒方案处理,作为外植体。6种消毒处理分别为:75.0%酒精30 s+0.1% HgCl₂ 10 min; 75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min; 75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min+50 ug/L青霉素30 min; 75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min+50 ug/L青霉素60 min; 先在超净工作台外消毒,然后在超净工作台上消毒,75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min和75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min+50 ug/L青霉素30 min; 先在超净工作台外消毒,然后在超净工作台上消毒,75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+

0.1% HgCl₂ 10 min和75.0%酒精30 s+10.0% NaClO 15 min+0.1% HgCl₂ 10 min+50 ug/L青霉素60 min。

1.2.2 茎尖芽。在无菌条件下,将消毒好的外植体接种到不同配方的改良MS培养基上,3个/瓶。设置8个处理(BA 1.0为BA 1.0 ng/L,NAA 0.1为NAA 0.1 ng/L,下同),分别为:BA 1.0; BA 2.0; BA 3.0; BA 4.0; BA 1.0+NAA 0.1; BA 2.0+NAA 0.1; BA 3.0+NAA 0.1; BA 4.0+NAA 0.1。置于光照培养箱中培养,温度22℃,光照时间12 h/d,光照强度2 000 lx。定期观察记录试验现象。

1.2.3 茎尖愈伤组织芽。

1.2.3.1 茎尖愈伤组织。按照1.2.2中的方法将外植体接种到不同配方的改良MS培养基中,3个/瓶。设置5种对比,其配方分别为:2,4-D 2.0; 2,4-D 3.0; 2,4-D 1.0+KT 1.0; 2,4-D 2.0+KT 1.0; 2,4-D 3.0+KT 1.0^[3]。置于光照培养箱中培养,温度22℃,暗培养。定期观察记录试验现象。

1.2.3.2 愈伤组织芽。待1.2.3.1中的愈伤组织长到2 cm时,将愈伤组织接种到4种不同配方的改良MS再分化培养基中,分别为:6-BA 2.0+NAA 0.1; 6-BA 1.5+NAA 0.1; 6-BA 1.0+NAA 0.1; 6-BA 2.0+NAA 0.5^[4]。接种1块/瓶,置于光照培养箱中培养,温度22℃,光照时间12 h/d,光照强度2 000 lx。定期观察记录试验现象。

2 结果与分析

2.1 消毒处理对污染率的影响 按照1.2.1的消毒处理,22 d后,统计试验结果。

由表1可知,在处理中,污染率最高,达91.7%,其中,杂菌大多是毛霉,也有青霉和细菌,且污染时间早。其次是处理,污染率达66.7%。其余处理污染率都低于50%,处理和,是经过两次消毒,先在超净工作台外消毒,然后在超净工作台上消毒,致使污染率非常低,都在10%以下。

2.2 茎尖^{6BA}芽的试验结果 待1.2.2处理45 d后,统计试

作者简介 戴水莲(1971-),女,湖南辰溪人,在读硕士,讲师,从事生物学的教学与研究。

收稿日期 2008-09-22

验结果(表2)。

表1 不同表面消毒处理对污染率的影响

Table 1 Effects of different surface disinfection treatments on the pollution rate

序号 Serial number	接种数 个 Inoculated number	污染数 个 Polluted number	污染率 % Pollution rate
	12	11	91.7
	12	8	66.7
	12	5	41.7
	12	3	25.0
	12	1	8.3
	12	0	0

表2 不同配方对生姜芽分化及增殖的影响

Table 2 Effects of different formula on the bud differentiation and proliferation of ginger

处理 Treatment	外植体数 Explant number 个	芽分化数 Differentiated bud number 株	分化率 Differentiation rate %	总苗数 Total seeding number 株	增殖倍数 Proliferation multiple
	24	4	16.7	9	0.38
	24	6	25.0	20	0.83
	24	12	50.0	32	1.33
	24	10	41.7	29	1.21
	24	14	58.3	38	1.58
	24	18	75.0	54	2.25
	24	24	100	96	4.00
	24	16	66.7	48	2.00

生姜茎尖培养28 d 后,部分外植体上有新芽长出,45 d 后大部分有新芽分化出来。由表2 可知,共接种192 个茎尖外植体,分化出芽的外植体数为104 个,占总数的54.2%,未分化的茎尖有的呈原样,无明显变化,有的虽稍微膨大,却不见芽分化出来。其中,处理 培养基芽分化率和增殖倍数最高,分别为100%和4.00,且芽生长健壮;其次是 号培养基,号培养基最差。 、 、 和 号培养基上的芽,伴有少量生根现象。

2.3 茎尖^{2,4D}愈伤组织^{6BA}芽的试验结果

2.3.1 茎尖 愈伤组织培养42 d 后的试验结果。

表3 不同处理对愈伤组织诱导的影响

Table 3 Effects of different treatments on the callus induction

处理 Treatment	接种外植体数 Inoculated explant number 个	出愈数 Induced calli number 个	出愈率 Induced calli rate %
	30	11	36.7
	32	14	43.8
	25	14	56.0
	39	23	59.0
	42	30	71.4

由表3 可知,在22 下,茎尖经过20 d 的暗培养,5 种处理的培养基先后都能诱导出愈伤组织。但处理 、 培养基上形成灰黄色或粉色的疏松愈伤组织,在随后的暗培养中,能够长大,另做了芽诱导试验,不能成芽。 号培养基上形成白色或淡黄色的致密愈伤组织,质量较好,再暗培养20 d 后,多数愈伤组织块生长达2 cm,给予光照,颜色由白色或淡

黄转绿,效果最好。其次是 号和 号,也能形成一些好的愈伤组织,但数量要少于 号。

2.3.2 愈伤组织 芽培养40 d 后的试验结果。

表4 不同配方对愈伤组织芽分化影响

Table 4 Effects of different formula on the bud differentiation of calli

处理 Treatment	接愈伤组织数 Inoculated calli number 块	成芽数 Formed bud number 个	增殖倍数 Proliferation multiple	幼芽质量 Tender bud quality
	10	15	1.5	多单生、细弱
	16	32	2.0	多单生、细弱
	18	42	2.3	多丛生、长势较好
	12	35	2.9	多丛生、健壮

将1.2.3.1 中 号培养基上的愈伤组织分别接种于表3 中的 、 、 和 号培养基上,在22 下,经过30 d 的光照培养后,所有培养基上的愈伤组织都能分化出丛生芽,再在同样的条件下培养10 d,多数芽可长至1~2 cm 高。由表4 可知,愈伤组织的分化率为100%,平均每个愈伤组织分化2.2 个芽。其中, 号培养基的效果最好,其次是 号,最差的是 号。

3 结论与讨论

(1) 不同植物激素浓度对比对生姜幼芽分化以及增殖的影响。对生姜芽的组培快繁途径茎尖 芽,在培养基中添加适当浓度的细胞分裂素6-BA,能快速诱导丛生芽的产生,加入一定浓度的NAA,能增大其繁殖系数,当NAA 为0.1 ng/L 时,添加6-BA 浓度不同,幼芽的分化结果差异很大。

(2) 不同激素组合对茎尖诱导愈伤组织再诱导芽的影响。对途径2 茎尖 愈伤组织 芽,改良MS+2,4-D 3.0 ng/L+KT 1.0 ng/L 的效果最好,诱导出来的为白色或米黄色致密愈伤组织,且出愈率高,达71.4%。这说明2,4-D 能有效诱导茎尖形成愈伤组织,且在2,4-D 中添加适当浓度的KT 能提高愈伤组织的数量和质量。由茎尖形成2 cm 大小的愈伤组织约需40 d。改良MS+6-BA 2.0 ng/L+NAA 0.5 ng/L 对愈伤组织芽分化效果最佳^[5],平均每个愈伤组织分化产生2.9 个芽,且生长健壮。从2 cm 大小的愈伤组织分化产生1~2 cm 高的芽约需40 d。但如果对愈伤组织进行切割并继代培养后再诱导芽分化,则可以获得较大的增殖倍数。

(3) 生姜组培中不同表面消毒方式的应用效果。 、 号处理的污染率很低,均在10%以下。这说明超净工作台外消毒与台上消毒相结合,台上使用75.0%酒精30 s+10.0%NaClO 15 min+0.1%HgCl₂ 10 min+50 ug/L 青霉素30 或60 min 的处理效果很好,能大大降低污染率。

参考文献

- [1] 高山林,卞云云,陈柏君.生姜组织培养脱病毒、快繁和高产栽培[J].中国蔬菜,1999(3):44-45.
- [2] 徐刚.生姜脱毒苗的高产栽培技术[J].浙江农业科学,2002(3):151.
- [1] 林碧英,魏郑珍,陈燕华.生姜茎尖组织培养和快速繁殖研究[J].亚热带植物科学,2002,31(4):13-16.
- [3] 张玲,马林,李卫锋.生姜组织培养的快繁技术[J].山地农业生物学报,2003,22(2):173-175.
- [4] 林碧英,魏郑珍,陈燕华.生姜茎尖组织培养和快速繁殖研究[J].亚热带植物科学,2002,31(4):13-16.
- [5] 徐美玲,葛胜娟,费伟英,等.生姜快繁及移栽技术[J].浙江农业科学,2005(6):444-445.