

姜荷花新品种“红观音”的组织培养和快速繁殖研究

商宏莉¹, 陈希^{1,2}, 陈之林², 曾宋君²

(1. 四川师范大学 生命科学学院, 四川 成都 610068; 2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650)

摘要:以姜荷花新品种“红观音”球茎为外植体进行组织培养与快速繁殖研究。结果表明:外植体经灭菌处理后接种到 MS+BA 2~3 mg/L+NAA 0.2~0.3 mg/L 培养基上, 均能较好地诱导休眠芽的生长; 丛生芽在 18 号培养基(花宝 2 号 1.5 g/L+MgSO₄ 0.15 g/L 附加 MS 铁盐及其维生素和有机物+椰子汁 100 mL/L)+TDZ 0.5 mg/L 培养基上增殖效果最佳, 增殖系数可达 3.73, 且玻璃芽少; 生根培养基以 18 号培养基+NAA 0.5 mg/L 效果最好, 生根率为 92%; 试管苗在以园土:泥炭土:珍珠岩=1:1:1(V/V/V)的栽培基质中, 成活率可达 95%以上。

关键词:姜荷花; 观赏植物; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 682.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)18-0154-03

姜荷花(*Curcuma alismatifolia* Gagnep.), 姜科姜黄属多年生草本植物。原产于泰国清迈, 是一种球根类花卉, 因其苞片酷似荷花而得名^[1]。姜荷花花型独特, 花色美丽、鲜艳, 花期持久, 是一种新型的鲜切花品种, 观赏价值高, 品质优良, 具有很高的经济效益, 开发利用前景广阔^[2]。姜荷花通常以分株或球根进行繁殖^[1,3], 也能利用组织培养的方法进行离体快速繁殖, 快速获得大量的种苗, 以满足市场的需求^[3-4]。姜荷花新品种“红观音”(C. *alismatifolia* cv. Guanyin)是从姜荷花中芽变出来的新品种, 花色比姜荷花红艳, 观赏价值更高, 但由于数量极少, 采用常规繁殖, 无法在短期内获得大量的种苗, 利用组织培养离体繁殖无疑是最有效的规模化繁殖方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

姜荷花新品种“红观音”是从姜荷花“清迈粉”大田种植中芽变出来的新品种, 花色比姜荷花红艳, 观赏价值更高, 通过几代种植后发现其性状稳定。该试验以中国科学院华南植物园实验基地的“红观音”的球茎为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 初代培养 11~12 月从大田中挖取叶片快枯黄时的“红观音”球茎, 切除球茎下部的须根和贮藏根, 并

剥去外表膜被, 用自来水洗净后, 在超净工作台上先用 75% 酒精浸泡 1 min 后, 放入 0.1% 的升汞溶液消毒 10 min; 或采用二步消毒法, 即先放入 0.1% 的升汞溶液消毒 5 min, 无菌水冲洗 2~3 次后再放入 0.1% 的升汞溶液消毒 5 min; 然后再用无菌水冲洗 4~5 次后用消毒滤纸吸干表面水分。在无菌条件下, 将消毒过的球茎分切成长、宽约为 1.0 cm、厚约 0.5 cm 的小块, 每块带 1~2 个芽眼, 接种于休眠芽诱导的初代培养基中。每个培养瓶 1 块, 每处理接种 20 块材料, 观察休眠芽诱导情况。休眠芽诱导培养基为: ①MS+BA 1.0 mg/L (单位下同)+NAA 0.1; ②MS+BA 2.0+NAA 0.2; ③MS+BA 3.0+NAA 0.3; ④MS+BA 5.0+NAA 0.5。

1.2.2 继代与增殖 不同种类基本培养基对姜荷花增殖的影响: 将诱导出的不定芽丛切成单芽或带 2~3 个芽的小块, 分别接种于 MS 和 18 号培养基 2 种不同的基本培养基附加不同激素的培养基中(表 1)进行增殖。18 号培养基的成分为花宝 2 号 1.5 g/L+MgSO₄ 0.15 g/L 附加 MS 铁盐及其维生素和有机物。每瓶接种 20 个材料, 每处理接种 5 瓶, 3 次重复。培养 30 d 后, 统计芽的增殖系数与生长情况。不同植物生长调节剂及其组合对姜荷花增殖的影响: 以 18 号培养基为基本培养基, 将带有 1~2 芽的材料分别接种至含有不同种类和浓度组合的植物生长调节剂的培养基中(表 2)。每瓶接种 20 个材料进行增殖。每瓶接种 20 个材料, 每处理接种 5 瓶, 3 次重复。培养 30 d 后, 统计芽的增殖系数与生长情况。

1.2.3 生根培养 将继代增殖培养中芽苗高度>5 cm 的幼苗切成单芽, 接种于下列生根培养基上: 1/2MS; 1/2MS+NAA 0.5; 1/2MS+NAA 1.0; 1/2MS+NAA 2.0; 18 号培养基; 18 号培养基+NAA 0.5; 18 号培养基+

第一作者简介: 商宏莉(1965-), 女, 硕士, 副教授, 现从事遗传育种和生物技术研究工作。E-mail: honglishang0507@163.com。

通讯作者: 曾宋君(1965-), 男, 副研究员, 现主要从事植物遗传育种和生物技术研究工作。E-mail: zengsongjun@scib.ac.cn。

基金项目: 广州市重大科技攻关计划资助项目(2004Z1-E0041)。

收稿日期: 2010-05-25

NAA 1.0;18 号培养基+NAA 2.0。每瓶接种 15 株,每处理接种 5 瓶,3 次重复。培养 30 d 后,统计苗的生根率、生根条数和根长。

1.2.4 培养条件 以上所有培养基均附加 30 g/L 蔗糖,6.5 g/L 琼脂固化,pH 5.2~5.4。培养温度为(25±2)℃;光照强度 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照时间 12 h/d。

1.2.5 练苗与移栽 当试管苗高度>8 cm,有 2~4 片叶子和 1~3 条根时,将材料移至温室中,自然光练苗 4~7 d,然后取出试管苗,将根部粘附的培养基洗净,分别移栽至下列基质中:①园土:泥炭土:珍珠岩=1:1:1(V/V/V);②蘑菇渣:木糠:泥炭土=1:1:1;③细陶:泥炭土=1:2。各栽种 100 株,浇透水,置于温室内,注意保温保湿。30 d 后统计成活率。

1.2.6 统计和分析 试验数据分析采用 SPSS 软件进行变量分析(ANOVA),以 Duncan's 新复极差在 0.05 水平上进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 初代培养

采用 0.1%的升汞二步消毒法能明显的提高消毒的成功率。采用 0.1%的升汞消毒 10 min 时,消毒后污染率约为 55%,诱导出芽的成功率约为 35%。而采用二步法消毒时,消毒后污染率约为 40%,诱导出芽的成功率

约为 55%。在所用的 4 种休眠芽诱导培养基中,①号培养基诱导的速度较慢,20 d 左右出芽,出芽后生长也较慢,无丛生芽。②、③号培养基无明显差异,10 d 左右出芽,出芽后生长较快,有少量丛生芽。④号培养基出芽速度也较快,10 d 左右能出芽,但随后的单芽生长快,丛生芽少。因此可采用 MS+BA 2~3 mg/L+NAA 0.2~0.3 mg/L 为姜荷花新品种“红观音”的休眠芽诱导培养基。

2.2 继代与增殖

2.2.1 不同种类基本培养基对姜荷花增殖的影响 将不定芽丛接种到不同的增殖培养基上,5~7 d 后基部均开始膨大,10~14 d 后能长出新芽,原芽苗也明显增高,但不同培养基上还是表现出较大差异(表 1)。在 2 种培养基的对比中,在以基本培养为 18 号的培养基上,姜荷花的芽苗叶色较绿,生长状态较好;而 MS 培养基上,虽芽苗生长健壮,但长出的新叶普遍为浅绿色,甚至发黄。在不同的 6-BA(1.0~5.0 mg/L)中同时添加 NAA 0.2 mg/L 时,在 18 号培养基上增殖系数总体呈上升趋势并表现出差异显著性,而在 MS 培养基中,添加 6-BA 2.0 mg/L 和 NAA 0.2 mg/L 时,与基本培养基相比,均表现出显著性差异。

表 1 不同基本培养基对姜荷花增殖系数的影响

基本培养基	6-BA/mg·L ⁻¹	NAA/mg·L ⁻¹	增殖系数	丛生芽生长情况
18 号	1.0	0.2	1.6648±0.1587cd	芽稀少,苗很细长,叶色较绿
18 号	2.0	0.2	2.1617±0.0802bc	芽正常,抽芽慢,苗较细,叶色较绿
18 号	3.0	0.2	2.8466±0.2566a	芽正常,苗生长健壮,叶色较绿
18 号	5.0	0.2	2.8980±0.2560a	芽正常,苗生长健壮,叶色较绿
MS	1.0	0.2	1.5298±0.0922d	芽稀少,苗细长,叶色浅绿
MS	2.0	0.2	2.3307±0.1310b	芽正常,苗生长健壮,叶色浅绿
MS	3.0	0.2	1.9528±0.1090bcd	芽正常,苗生长健壮,叶色浅绿
MS	5.0	0.2	1.9729±0.1109bcd	芽正常,苗生长健壮,叶色浅绿

表 2 不同植物生长调节物质对姜荷花增殖系数的影响

6-BA/mg·L ⁻¹	TDZ/mg·L ⁻¹	NAA/mg·L ⁻¹	增殖系数	丛生芽生长情况
1.0	—	—	1.9619±0.0664ef	芽稀少,抽芽慢,苗纤细
2.0	—	—	2.1426±0.1610def	芽正常,数量较少,苗较细长
3.0	—	—	2.6068±0.3087cde	芽正常,苗生长正常
5.0	—	—	2.6359±0.3008cde	芽正常,苗生长正常
1.0	—	0.2	1.6648±0.1587f	芽稀少,苗纤细
2.0	—	0.2	2.1617±0.0802def	芽正常,数量较少,苗生长正常
3.0	—	0.2	2.8466±0.2566bcd	芽正常,数量较多,苗生长健壮
5.0	—	0.2	2.8980±0.2560bcd	芽正常,数量较多,苗生长健壮
—	0.2	—	2.1785±0.0352def	芽正常,数量较少,苗纤细
—	0.5	—	3.7274±0.0679a	芽数量很多,主芽生长较慢
—	1.0	—	3.2306±0.1231abc	芽数量很多,少数芽玻璃化
—	1.5	—	3.7611±0.3993a	芽数量很多,但部分玻璃化
—	0.2	0.2	2.7752±0.0307bcd	芽正常,数量较多,苗较细长
—	0.5	0.2	3.4293±0.3770ab	芽数量较多,苗生长正常
—	1.0	0.2	3.0819±0.3170abc	芽数量较多,部分玻璃化
—	1.5	0.2	2.4823±0.2476cde	芽数量多,大部分玻璃化

2.2.2 不同植物生长调节剂及其组合对姜荷花增殖的影响 由表 2 可知,姜荷花离体快繁在增殖培养中使用 TDZ 的效果优于 6-BA。采用 6-BA 时,随着浓度的增加,芽的增殖系数增加,添加生长素 NAA 0.2 mg/L,有利于芽苗的良好生长。而使用 TDZ 时,尽管能明显地提高增殖率,但浓度过高时,丛生芽会产生玻璃化,以 18 号培养基附加 TDZ 0.5 mg/L 的效果最好。而在此培养基上再添加生长素 NAA 0.2 mg/L,有利于丛生芽的良好生长,为获得可供生根丛生芽的增代增殖时,可选择 18 号培养基附加 TDZ 0.5 mg/L 和 NAA 0.2 mg/L 作为继代增殖培养基。

2.3 生根培养

姜荷花试管苗在所用的 8 种不同的生根培养基中均能生根,生根率达 82.7%~92%,通过数量分析,生根率、平均根数、根长均未表现出显著性差异。但苗芽在 18 号基本培养基上的生长状况比在 MS 为基本培养基的效果好,其中 18 号培养基+NAA 0.5 mg/L 的生根率最高,可达 92.0%。

表 3 不同培养基对姜荷花生根率的影响

基本培养基	NAA /mg·L ⁻¹	平均根数	平均根长 /cm	生根率 /%
18 号	0	1.51	4.26	84.0
18 号	0.5	1.56	3.65	92.0
18 号	1.0	1.67	4.75	90.7
18 号	2.0	1.73	4.03	89.3
MS	0	1.27	3.77	82.7
MS	0.5	1.36	3.65	90.7
MS	1.0	1.69	4.04	85.3
MS	2.0	1.76	3.96	82.7

2.4 练苗和移栽

由于姜荷花在华南地区 10~11 月时会休眠,规模化生产时最好选择在 3~4 月份出瓶,如果出瓶太晚,越冬休眠时未形成球茎,小苗极易死亡。移栽后,提供充足的水分维持基质和空气湿度,在使用的 3 种栽培基

质,在①、②、③号混合基质中成活率分别为 95%、92%、90%。因此规模化生产时采用园土:泥炭土:珍珠岩=1:1:1 为移栽基质。目前,利用离体培养技术已生产出了 1 000 株试管苗。

3 讨论

以姜荷花的球茎为外植体时,由于球茎生长在大田中,消毒后污染率较高,该试验采用了 0.1%的升汞二步法消毒,明显地降低了外植体的污染率及外植体休眠芽诱导的成功率。在培养基的选择上,采用以花宝 2 号为主要无机成分并附加椰子汁 100 mL/L 时,丛生芽的增殖和试管苗的生根壮苗效果明显好于 MS 基本培养基。

植物生长调节剂是植物组织培养中的关键物质,在组织培养中起着重要的调节作用。在该研究中,TDZ 在为 0.5 mg/L,无论是单独作用,还是与 0.2 mg/L NAA 共同作用,均表现出较好的效果,这与 Nhut 等^[5]认为 TDZ 比 6-BA 的活性更强的结果相一致。但当 TDZ 浓度为 1.0 mg/L 和 1.5 mg/L 时,丛生芽会出现玻璃化,因此,在使用 TDZ 加快其繁殖速度时,要严格控制其浓度。

参考文献

[1] 刘启云.姜荷花的特征特性与栽培技术[J].甘肃农业科技,2005(1):34-35.
[2] 牟小翎,李文金,王均华,等.姜荷花的组织培养和快速繁殖[J].北方园艺,2006(5):23.
[3] 杜启兰.姜荷花规模化栽培及开发前景[J].林业实用技术,2005(2):39.
[4] 赵彦杰.姜荷花组培快繁技术研究[J].安徽农业科学,2005,33(2):255,364.
[5] Nhut D T,Teixeira D S,Le J A,et al. Thin cell layer morphogenesis as a powerful tool in ornamental plant micropropagation and biotechnology [M]//Nhut D T,Le B V,Tran T V K,et al. Thin Cell Layer Culture System. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003: 247-284.

In vitro Rapid Propagation of *Curcuma alismatifolia* cv. Red Guanyin

SHANG Hong-li¹,CHEN Xi^{1,2},CHEN Zhi-lin²,ZENG Song-jun²

(1.College of Life Science,Sichuan Normal University,Chengdu,Sichuan 610068;2. South China Botanical Garden,Chinese Academy of Sciences,Guangdong,Guangzhou 510650)

Abstract: Tissue culture and rapid propagation of *Curcuma alismatifolia* cv. Red Guanyin were studied. When sterilized corms that were cut into piece with 1~2 dormancy buds were cultured on MS medium with 2~3 mg/L 6-BA and 0.2~0.3 mg/L NAA, budding and cluster buds could be induced. The proliferation rates were 3.73 in H18 (Haponex 1.5 g/L and MgSO₄ 0.15 g/L instead of macro-element and micro-element of MS)+coconut milk 100 mL/L+TDZ 0.5 mg/L. The best medium for rooting was H18 contained 0.5 mg/L NAA and the rooting rate was 91.43%. When the test-tube plantlets were transplanted on humus:sphagnum:perlite=1:1:1(V/V/V),their survival rate of was over 95%.

Key words: *Curcuma alismatifolia*; ornamental plants; tissue culture; rapid propagation