

南昆山莪术的组培快繁技术研究

张施君^{1,2,3}, 刘念², 盛爱武², 吴国江¹

(1. 中国科学院 华南植物园, 广东 广州 510650; 2. 仲恺农业工程学院 园艺与园林学院, 广东 广州 510225;

3. 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

摘要:以南昆山莪术的根状茎腋芽为外植体, 采用 MS 基本培养基, 附加不同种类、不同浓度的植物生长调节剂, 进行了不定芽诱导、丛生芽继代、试管苗生根等研究, 探索其组织培养和离体繁殖的适宜条件。结果表明: 在 MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基中, 不定芽的诱导率最高, 达到 85%; MS+TDZ 0.5 mg/L 培养基最有利于丛生芽的增殖, 增殖系数达到 13.60; 试管苗生根以 1/2MS+NAA 0.2 mg/L 培养基最好; 当试管苗长至 6 cm 时出瓶移栽, 成活率可达 95% 以上。

关键词:南昆山莪术; 组织培养; 腋芽

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)04-0161-03

南昆山莪术(*Curcuma nankunshanensis*)姜科姜黄属多年生球根草本花卉^[1]。株高 100~120 cm, 植株丛生, 叶片长椭圆形, 亮绿色, 可作观叶植物观赏, 适于庭园栽培或作大型盆栽。花期 3~5 月, 圆柱形的穗状花序从根茎抽出, 紫红色的苞片在花序上排列紧密, 艳丽而持续时间长, 可作花境、花坛布置; 此外, 南昆山莪术也是切花的优雅花材, 瓶插寿命可达 15~20 d, 极具观赏性。

南昆山莪术株型优雅, 花序艳丽, 在观赏方面具有开发潜力和广阔市场前景。南昆山莪术的繁殖技术通常采用根状茎繁殖, 繁殖速度慢, 使其难以在花卉市场占据一席之地。组织培养技术是大量快速繁殖南昆山莪术的有效途径, 目前, 查阅国内外文献资料关于南昆山莪术的组织培养技术尚未见报道。该试验旨在研究南昆山莪术的组培快繁技术, 为其规模化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

南昆山莪术根状茎采自仲恺农业工程学院农场。

1.2 试验方法

第一作者简介:张施君(1974-), 女, 硕士, 副教授, 现主要从事植物分子育种研究与教学工作。

通讯作者:吴国江(1962-), 男, 博士, 研究员, 华南植物园分子生物学基础创新研究组首席研究员, 现主要从事植物种质创新与基因发掘利用研究。E-mail: wugj@scbg.ac.cn。

基金项目:广东省科技攻关资助项目(2006B20201044); 中科院百人计划资助项目。

收稿日期:2010-11-19

1.2.1 外植体处理 从田间挖取南昆山莪术的根状茎, 带回实验室, 用解剖刀切下 1~2 cm 长的腋芽, 先用 0.1% 的高锰酸钾浸泡 15 min, 再用自来水冲洗 5 min。在超净工作台上用 75% 酒精浸泡 20~30 s, 再用无菌水冲洗 1 遍, 用镊子将芽夹出置入 0.1% 的升汞消毒 10 min, 用无菌水冲洗 6~8 遍。

1.2.2 不定芽的诱导 将已消毒的芽接种到附加不同浓度 6-BA 和 NAA 的芽诱导培养基上, 每处理 5 瓶, 每瓶接种 4 个芽。1 周后腋芽开始萌动, 叶片逐渐伸长。培养 30 d 后, 统计不定芽的诱导率。诱导率=(产生不定芽的外植体数/接种的外植体数)×100%。

1.2.3 丛生芽的继代增殖 将诱导获得的不定芽转接到分别附加不同浓度 6-BA, TDZ, NAA 的 MS 培养基上, 每处理 5 瓶, 每瓶接种 4 个芽。30 d 后统计不定芽的增殖系数和芽的高度。增殖系数=增殖芽数/接种芽数。

1.2.4 生根培养 继代增殖培养后, 将生长到 3~5 cm 高的芽切出转接到 MS 附加不同浓度 NAA 的培养基上进行壮苗和生根培养, 每处理 10 瓶, 每瓶接种 4 个芽。30 d 后统计生根率和生根数等, 生根率=(生根苗数/接种苗数)×100%。

1.2.5 试管苗的移栽 用镊子将高达 6 cm 以上的试管苗从培养瓶中取出, 洗掉根部培养基, 栽入河沙基质中, 浇透水, 环境温度 25~30℃, 湿度 80%, 30 d 后统计移栽成活率。

1.2.6 培养条件 以上培养基中均添加 30 g/L 的蔗糖, 6 g/L 琼脂, pH 5.7~5.8, 培养温度为(26±2)℃, 光照强度 1 500~2 000 lx, 光照时间为 16 h/d。

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导

将腋芽接种到诱导培养基上,约1周后芽开始萌动,恢复生长,叶片逐渐伸长展开(图1.1)。接种3周后,在芽的基部陆续有不定芽分化出来。从表1可看出,4种培养基均能诱导出不定芽,其中以MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基的诱导效果最好,诱导率达80%,不定芽生长健壮。而低浓度的6-BA则难以满足芽诱导的需要,6-BA浓度为2.0 mg/L时,只有30%的外植体能够分化出不定芽;当6-BA浓度增加至10 mg/L,诱导率下降,芽的长势减慢。当6-BA的浓度相同时,NAA的用量以0.1 mg/L最好,高于此浓度时,在芽的基部会产生褐色的愈伤组织,同时芽的生长受到抑制。

表1 不同浓度6-BA和NAA对比对不定芽诱导影响

MS培养基		接种外 植体数 /个	产生不定芽 外植体数 /个	诱导率 /%	芽生长情况
6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹				
2	0.1	20	6	30	芽粗壮,无愈伤组织
5	0.1	20	17	85	芽粗壮,无愈伤组织
5	0.5	20	12	60	芽纤弱,有愈伤组织
10	0.1	20	11	55	芽纤弱,无愈伤组织

2.2 丛生芽的继代增殖

在继代增殖试验中,比较了3种外源激素6-BA,TDZ和NAA对丛生芽增殖的效果。从表2可看出,6-BA对不定芽的诱导效果随着6-BA浓度的增加而增强,当6-BA浓度达到10 mg/L时,增殖系数达到2.05。但从芽的生长情况来看,6-BA浓度过高会使芽的生长受到抑制,叶片细长,叶色淡绿,生长势不够健壮。NAA对不定芽的增殖效果最弱,增殖系数只有1.15。当MS基本培养基中添加了TDZ,1周后即可见芽的切口四周不断产生出新芽,这说明TDZ不需要与其它激素配合即可诱导大量不定芽产生。TDZ的浓度以0.5 mg/L为

宜,芽的增殖系数最高达13.60,而且不定芽生长健壮,叶色浓绿(图1.2)。增加TDZ的浓度则有降低增殖系数的趋势,芽的长势也会减慢。

表2 不同外源激素组合对丛生芽增殖的影响

MS培养基			接种 芽数 /个	增殖 芽数 /个	增殖 系数	芽生长情况
6-BA /mg·L ⁻¹	TDZ /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹				
5	0	0.1	20	36	1.80	粗壮,增殖慢
10	0	0.1	20	41	2.05	细弱,增殖慢
0	0	0.1	20	21	1.15	粗壮,增殖慢
5	0.1	0	20	29	1.45	纤弱,增殖慢
0	0.1	0	20	104	5.20	粗壮,增殖较快
0	0.5	0	20	272	13.60	粗壮,增殖快
0	1	0	20	163	8.15	纤弱,增殖较快

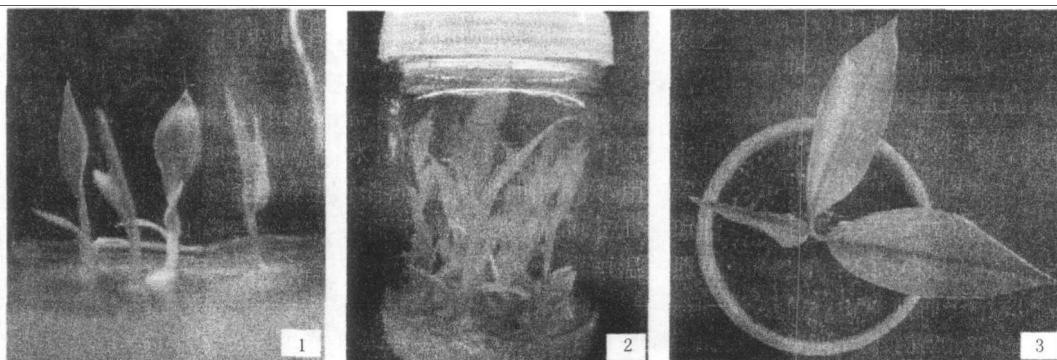
2.3 试管苗的生根与移栽

把生长健壮,高达3~5 cm的苗从继代培养基中分切出来,转入生根培养基中,培养基中添加有不同浓度的NAA(表3)。培养2周后即可见幼苗的基部长出白色、肉质的不定根,说明NAA对试管苗的生根有明显的促进作用,其中NAA 0.2 mg/L比更低浓度的NAA诱导效果好。当NAA浓度相同时,1/2MS比全量MS的效果好,因此该试验以1/2MS+NAA 0.2 mg/L为生根培养基。

试管苗生根后,当苗长至5~6 cm时,将苗从培养瓶中取出,用自来水洗掉根部培养基,栽入河沙基质中,浇透水,保持环境温度25~30℃,湿度80%,成活率达到95%以上,出瓶后1个月即可上盆栽培(图1.3)。

表3 不同浓度NAA对试管苗生根的影响

培养基/mg·L ⁻¹	接种苗数/株	生根苗数/株	生根率/%	平均根数/条
MS+NAA 0.05	20	20	100	3.10
MS+NAA 0.1	20	20	100	3.60
MS+NAA 0.2	20	20	100	6.50
1/2MS+NAA 0.2	20	20	100	6.55



注:1.1 不定芽的诱导;1.2 丛生芽的增殖;1.3 试管苗的上盆栽栽。

图1 南昆山蕨术的组织培养

3 讨论

TDZ 是人工合成的苯基脲衍生物(N-苯基-N'-1,2,3-噁二唑-5-脲),它能诱导外植体从愈伤组织形成到体细胞胚胎发生的一系列不同反应,具有生长素和细胞分裂素双重作用的特殊功能^[5]。作为一种植物生长调节剂,TDZ 已被广泛应用于植物的组织培养和快速繁殖^[2-4]。然而迄今为止尚未见把 TDZ 用于姜科植物组织培养的报道。在姜科植物的离体快速繁殖研究中,细胞分裂素(如 6-BA,KT)和生长素(如 IBA,NAA)是诱导丛生芽分化、增殖和生根的常用激素^[6-8]。该试验首次将 TDZ 用于南昆山莪术的离体快速繁殖,研究发现诱导芽增殖的合适浓度为 TDZ 0.5 mg/L,过高浓度的 TDZ 则会抑制芽的生长和增殖。南昆山莪术的试管苗容易生根,低浓度的 NAA 即可诱导根的形成,试管苗在 1/2MS+NAA 0.2 mg/L 培养基中可长成健壮的生根苗,移栽成活率达到 95%以上。TDZ 对于其它姜科植物组织培养的作用

现正在进一步研究中。

参考文献

- [1] 叶向斌,陈娟,刘念. 中国姜黄属一新种-南昆山莪术[J]. 热带亚热带植物学报,2008,16(5):472-476.
- [2] 陈宗礼,齐向英,张向前,等. TDZ 和 6-BA 对枣树继代培养的影响[J]. 西北农业学报,2006,5(3):162-165.
- [3] Basalma D, Uranbey S, Gurlek D, et al. TDZ-induced plant regeneration in *Astragalus cicer* L[J]. African Journal of Biotechnology, 2008(7):955-959.
- [4] Zhihui S, Taitzikas M, Raemakers K, et al. Effect of TDZ on plant regeneration from mature seeds in pea (*Pisum sativum*) [J]. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 2009,45:776-782.
- [5] 徐晓峰,黄学林. TDZ:一种有效的植物生长调节剂[J]. 植物学通报, 2003(2):227-237.
- [6] 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.
- [7] 张慧英,唐秀桦,王建. 莪术的组织培养[J]. 农业与技术,2006,26(5):62-65.
- [8] 吕平,韦丽君,庞新华,等. 印尼莪术快速繁殖技术初步研究[J]. 中药材,2007,30(4):383-385.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Curcuma nankunshanensis*

ZHANG Shi-jun^{1,2,3}, LIU Nian², SHENG Ai-wu², WU Guo-jiang¹

(1. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510650; 2. College of Agriculture and Landscape Architecture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225; 3. College of Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract: A protocol was outlined for plant rapid propagation using young vegetative bud as explants from rhizomes for *Curcuma nankunshanensis*, an attractive tropical ornamental. The results showed that the optimal medium for shoot inducing was MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L with an inducing rate of 85%. TDZ showed dramatic effects on plantlet propagation, with a mean of 13.60 shoots per explant on MS medium with 0.5 mg/L TDZ. Rooting of the shoots was readily achieved on subsequent 1/2MS medium + NAA 0.5 mg/L. Complete plantlets (6 cm in length) were transferred to soil in greenhouse for one month and then transplanted in the field. About 95% of the plants survived to maturity.

Key words: *Curcuma nankunshanensis*; tissue culture; axillary bud