

南岭莪术的组织培养技术研究

张施君¹, 刘念¹, 盛爱武¹, 吴国江²

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

摘要:以南岭莪术根茎上的芽为外植体, 采用不同激素浓度的培养基对其进行了芽诱导、丛生芽继代、试管苗生根等研究。结果表明: 在 MS 培养基中添加 TDZ 0.05 mg/L 时, 不定芽的诱导率最高, 达到 90%; 丛生芽的增殖培养以 MS+TDZ 0.3 mg/L 培养基为最佳, 增殖倍数达到 15.8, 同时在芽的基部自发形成不定根; 将长约 3~4 cm 的生根苗切出, 转入 1/2MS 基本培养基上壮苗, 约 4 周后即可出瓶移栽, 成活率达 98% 以上。

关键词:南岭莪术; 组织培养; 芽; 生根

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)08-0151-03

南岭莪术 (*Curcuma kwangsiensis* var. *nanlingensis* N. Liu et X. Y. Ma) 属姜科姜黄属的一个新变种, 植株矮小, 株高仅 0.4~0.6 m; 叶片椭圆状披针形, 叶两面被柔毛, 有些叶面具紫色带, 叶鞘通常紫红色^[1]。花期 4~8 月, 穗状花序从主根茎先叶或与叶同出, 长约 30~40 cm; 花序基部的苞片淡绿色、卵形, 中上部的大型不育苞片紫红色, 色彩鲜艳夺目。南岭莪术可作观叶植物观赏, 也适合作为球根花卉布置花坛、花境, 是很好的园林绿地用材; 此外, 南岭莪术也是切花的优雅花材, 瓶插期约 15 d 左右, 极具观赏性。南岭莪术株型纤巧, 花序奇特, 在观赏方面具有开发潜力和广阔的市场前景。其繁殖技术通常采用分切根状茎, 繁殖速度慢, 生产规模难以扩大。通过组织培养技术能够在短期内获得大量种苗, 且操作不受季节限制。目前南岭莪术的组织培养和快速繁殖研究尚未见报道, 该试验旨在提供南岭莪术的离体快速繁殖技术, 为该物种的大规模繁殖和开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

南岭莪术的根茎取自仲恺农业工程学院的钟村农场。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体处理 从根茎上切下长约 1 cm 的芽, 用自来水冲洗 10 min 后, 0.1% (w/v) 高锰酸钾浸泡 15

min, 再用自来水冲洗 2~3 min。在超净工作台上用浓度为 75% (v/v) 的酒精浸泡 30 s, 再用 0.1% (w/v) HgCl₂ 浸泡 5~8 min, 无菌水冲洗 5~6 次, 无菌滤纸吸干水分。

1.2.2 不定芽的诱导 将消毒处理过的芽分别接种于不同的诱导培养基, 每瓶接 4 个芽, 观察芽的诱导情况, 30 d 后统计诱导率。诱导率 = (诱导数/接种数) × 100。

1.2.3 丛生芽的继代增殖 将诱导培养获得的新芽丛切成带 1~2 个芽的小块, 分别接种于不同的增殖培养基中, 每瓶接 4 块。每 30 d 继代 1 次。观察芽的增殖与生长情况, 统计增殖芽数、增殖倍数。增殖芽数为接种的外植体所诱导出新芽的总数量, 增殖倍数 = 增殖芽数/接种的芽数。

1.2.4 壮苗培养 继代培养中获得的生根苗转移到 1/2MS 基本培养基中, 进行 1 个月的壮苗培养, 叶片长度约至 4~7 cm, 不定根 5~10 条, 试管苗生长健壮, 叶色浓绿。

1.2.5 试管苗的移栽 壮苗培养 1 个月后, 将瓶盖打开, 取出试管苗, 用清水冲洗根部培养基, 栽入河沙基质中, 浇透水, 环境温度 25~28℃, 湿度 80%~90%, 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 (25±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

切取南岭莪术根茎上的芽(图 1-1), 消毒后接种到不定芽诱导培养基中。外植体接种后约 1 周开始萌动, 恢复生长, 包裹在芽外面的叶片逐渐转绿并展开, 芽也随之伸长(图 1-2)。从表 1 可看出, 不同的激素处理皆能诱导不定芽的产生, 但是芽的诱导率有差异。在低浓

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的教学及研究工作。

基金项目:广东省科技攻关资助项目(2008B020400001); 中科院百人才计划资助项目。

收稿日期:2011-02-10

度的 6-BA 作用下,30%的外植体基部能够产生 1~2 个不定芽,生长 1 个月芽长约 2.2 cm。当 6-BA 浓度升高到 5 mg/L,诱导率下降至 20%,芽的伸长也受到抑制。6-BA 与 NAA 的配合使用并没有增强不定芽的诱导效果。用 TDZ 取代 6-BA 则可以明显提高芽的诱导率,低浓度的 TDZ(0.05 mg/L)即可诱导 90%的外植体产生不定芽,每个外植体能产生 4~5 个芽,芽长约 2.5 cm,说明 TDZ 对南岭莪术离体芽的生长有显著作用。

表 1 不同激素对比对不定芽诱导的影响

激素及浓度 /mg · L ⁻¹	接种外植体数 /个	产生不定芽 外植体数/个	诱导率 /%	芽高 /cm
6-BA 2	20	6	30	2.2
6-BA 2+NAA 0.1	20	5	25	2.2
6-BA 5	20	4	20	3.1
TDZ 0.05	20	18	90	2.5
TDZ 0.1	20	16	80	2.4

2.2 丛生芽的继代增殖

将诱导出的芽转接到添加不同激素的增殖培养基中,约 10 d 芽的基部开始长出新的不定芽。从表 2 可看出,6-BA 的浓度从 5 mg/L 增加到 10 mg/L,不定芽的增殖倍数可以从 3.55 提高到 4.10,但是芽的生长受到了抑制,不仅表现在芽的长势变慢,还出现了叶色变淡,叶片卷曲、皱缩的现象。用 TDZ 取代 6-BA 则可以明显提高芽的增殖能力,当 TDZ 浓度分别为 0.1、0.3 和 0.5 mg/L 时,增殖倍数分别为 5.35、15.8 和 14.1,其中以

TDZ 0.3 mg/L 的增殖效果最好,叶色浓绿,叶片舒展,平均株高达到 3.6 cm(图 1-3)。

表 2 不同激素对比对不定芽继代增殖的影响

MS 培养基/mg · L ⁻¹			接种芽数 /个	增殖芽数 /个	增殖倍数	平均株高 /cm
6-BA	TDZ	NAA				
5	0	0.1	20	71	3.55	3.2
10	0	0.1	20	82	4.10	2.6
0	0.1	0	20	107	5.35	3.4
0	0.3	0	20	315	15.8	3.6
0	0.5	0	20	281	14.1	3.2

2.3 试管苗的生根与移栽

南岭莪术试管苗的生根不需使用额外的生根培养基,TDZ 不仅可以诱导不定芽的增殖,还可以同时诱导不定根的形成。继代培养 2 周时,不定芽的基部开始长出白色、肉质的不定根,呈辐射状。约 5~8 条根在芽的基部均匀分布,生长茂盛。培养 4 周时伸长的不定根相互盘绕在一起,每条根的长度可达 3~5 cm。由于继代培养的芽较细,长势还不够健壮,可将带根的芽分成单株转接入 1/2MS 基本培养基中,使试管苗获得充分的生长空间。在壮苗期间,仍然不断有新根产生,说明试管苗积累的 TDZ 还在发挥诱导生根的作用。当试管苗长到 4~7 cm 时即可出瓶移栽(图 1-4),试管苗容易成活,管理也较为简单。保持环境温度 25~28℃,湿度 80%~90%,注意通风,每 1~2 d 浇 1 次水,30 d 后统计成活率可达 98%以上。

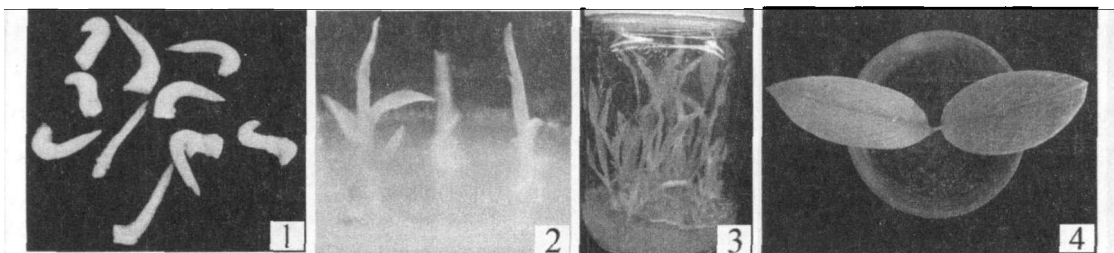


图 1 南岭莪术的组织培养

注:1:根状茎上的芽;2:不定芽的诱导;3:丛生芽的增殖;4:试管苗的出瓶移栽。

3 讨论

在姜科植物的离体快速繁殖研究中,细胞分裂素(如 6-BA、KT、ZT)和生长素(如 IAA、IBA、NAA)是诱导丛生芽分化、增殖和生根的常用激素,如姜荷花的茎尖在 6-BA 和 NAA 的作用下增殖形成丛生芽^[2],李春斌等使用 ZT 和 IAA 的激素组合通过茎尖培养实现了莪术试管苗的快速繁殖^[3],吕平等使用 6-BA 和 NAA 诱导印尼莪术不定芽的增殖,用 NAA 诱导不定根的形成^[4]。曾有报道指出 6-BA 可以诱导广西莪术的芽萌发和丛生芽形成,试管苗的生根诱导则需要在培养基中附加 IAA 或 NAA^[5]。在该试验中,使用 TDZ 为培养激素进行南岭莪术的组织培养,发现 TDZ 不仅可以代替细胞分裂素完成不定芽的诱导和丛生芽的增殖,TDZ 还表现出生长素促使试管苗生根的作用,使不定芽在增殖继代培养的同

时即形成了大量不定根。因此,在 MS 培养基中只要附加 TDZ 一种激素,即可完成南岭莪术丛生芽的诱导和试管苗生根的离体繁殖过程,从而简化了试验操作,为南岭莪术的工厂化育苗开辟了一条快捷有效的途径。

参考文献

- [1] 马晓燕,周伟斌,刘念. 广东姜黄属一新变种-南岭莪术[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2009,22(3):15-16.
- [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] 李春斌,方宏筠,王关林. 药用植物莪术的组织培养快速繁殖与植株再生的研究[J]. 中草药, 2000,31(11):853-856.
- [4] 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.
- [5] 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.

接种深度对‘威芋3号’茎尖快繁成苗的影响

张素杰, 李顺雨, 顾尚敬, 周平, 王朝海, 王朝贵

(毕节地区农业科学研究所, 贵州 毕节 551700)

摘要:以‘威芋3号’脱毒苗的茎尖为试材,研究不同接种深度对成苗时间、瓶苗素质、移栽成活率的影响,并对成苗综合素质量化积分。结果表明:6 mm 接种深度时,成苗时间最短,为 14.67 d,瓶苗茎粗、根系数、干重、移栽成活率、量化积分均达峰值分别为 1.20 mm、14.93 条、1.73 g、97.67%、80.49 分。因此,6 mm 是‘威芋3号’茎尖快繁成苗的最佳接种深度。

关键词:接种深度;‘威芋3号’;茎尖快繁

中图分类号:S 532 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)08-0153-03

‘威芋3号’为贵州省威宁县农科所经克疫实生籽系统选育而成的马铃薯新品种,该品种适应性强、产量高、品质好、耐贮藏,在贵州、云南、广西、甘肃等地广泛栽培,应用前景广阔,经济、社会效益极为显著^[1-2]。然而,当前关于‘威芋3号’的研究报道不多,且多集中于引种、鉴定、栽培、推广方面^[3-7],对于组培快繁方面的报道较为欠缺。现以‘威芋3号’脱毒苗为试材,对不同接种深度茎尖快繁成苗时间、成苗性状、移栽成活率进行研究,并对其成苗综合素质量化积分,旨在揭示接种深度对‘威芋3号’成苗的影响,以期通过成苗素质的变化确定‘威芋3号’最佳接种深度,为脱毒马铃薯茎尖快繁提供一

定的技术支撑与参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以‘威芋3号’脱毒苗为试材,取自毕节地区马铃薯研发中心。试验于 2010 年 8~11 月在贵州省毕节地区农科所植物组培实验室及马铃薯原原种扩繁基地进行。

1.2 试验方法

1.2.1 接种 配制改良的 MS 培养基,每瓶分装约 50 mL、培养基凝固后高度约 1.2 cm;剪取试材茎尖约 1.3 cm,接种深度分别为 0 (平放)、4、6、8、12 mm,3 次重复,每次重复不少于 10 瓶,每瓶接种茎尖 20 个。培养温度 22~25℃,光照 14 h/d,光照强度 2 000~3 000 lx。

1.2.2 性状调查与量化积分 每个处理随机选 10 瓶苗,调查成苗日期(50%具有 5 片叶及苗高 5 cm 以上)。成苗后 1 d,每个处理随机选 30 株苗,调查叶片数、根系数,用游标卡尺测量苗高、茎粗,用烘干法测量干重,分别取平均值。成苗后 2 d,各处理均移栽到网棚中,移栽后 7 d 调查成活率。以调查的叶片数、根系数、苗高、茎粗、干重及移栽成活率为基础,按表 1 对其分别进行量

第一作者简介:张素杰(1983-),女,河南周口人,本科,助理农艺师,现主要从事马铃薯脱毒苗生产与研究工作。E-mail:zhang-sj1006@126.com。

责任作者:王朝海(1967-),男,贵州毕节人,本科,副研究员,现主要从事农作物新品种选育和栽培技术研究工作。E-mail:wjb1785@163.com。

基金项目:毕节地区马铃薯产业省地联合专项资助项目。

收稿日期:2011-02-14

Study on Tissue Culture of *Curcuma kwangsiensis* var. *nanlingensis* N. Liu et X. Y. Ma

ZHANG Shi-jun¹, LIU Nian¹, SHENG Ai-wu¹, WU Guo-jiang²

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225; 2. South China Botanical Garden, Guangzhou, Guangdong 510650)

Abstract: An *in vitro* protocol for plantlet regeneration of *Curcuma kwangsiensis* var. *nanlingensis* had been optimized. Adventitious shoots were induced by culture of bud explants for 2 weeks in MS medium supplemented with 0.05 mg/L TDZ. The regeneration rate was up to 15.8 shoots/explant on MS medium with 0.3 mg/L TDZ. Rooting was spontaneous and the regenerated plants were transplanted in 1/2 MS basal medium for further development. Then the *in vitro* induced plants were successfully transferred to sand with 98% survival rate.

Key words: *Curcuma kwangsiensis* var. *nanlingensis*; tissue culture; axillary bud; rooting