

蔗糖和多效唑对试管生姜形成的影响

陈传红¹, 金卫根¹, 杨柏云², 李荣同¹

(1. 东华理工学院生物系, 江西 抚州 344000; 2. 南昌大学生命科学学院生物系, 南昌 330047)

摘要:用不同浓度的蔗糖、NAA、Ca₃(PO₄)₂、多效唑(Pac)和光照条件对江西兴国九山生姜(*Zingiber officinale* Rosc. cv. Jiushan)进行试管姜的诱导,成功诱导出试管姜。结果表明,诱导试管姜的最佳培养基为:MS + 6-BA 0.2 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + Ca₃(PO₄)₂ 2.5 mg L⁻¹ + Pac 2.5 mg L⁻¹ + 蔗糖 8%;适宜浓度的Pac、Ca₃(PO₄)₂、蔗糖有利于试管姜诱导;NAA和6-BA对试管姜的诱导不起促进作用;延长光照时间有利于试管姜膨大。

关键词:生姜;试管姜;多效唑

中图分类号:Q943.1

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2006)02-0146-05

Effects of Sucrose and Paclobutrazol on Microrhizome Formation in Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)

CHEN Chuan-hong¹, JIN Wei-gen¹, YANG Bai-yun², LI Rong-tong¹

(1. Department of Biology, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China;

2. Department of Biology, Bioscience Institute of Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Microrhizome of *Zingiber officinale* Rosc. cv. Jiushan were induced from tube plantlets, which were derived from explant of stem tip, cultured on MS medium supplemented with 0.2 mg L⁻¹ BA and varying concentrations of combinations of sucrose, NAA, Ca₃(PO₄)₂, Paclobutrazol (Pac). The results showed that rhizome production was best in tube culture on MS medium supplemented with 0.2 mg L⁻¹ 6-BA, 0.5 mg L⁻¹ NAA, 2.5 mg L⁻¹ Ca₃(PO₄)₂, 2.5 mg L⁻¹ Paclobutrazol and 8% sucrose. NAA and 6-BA had no promotion effects on rhizome induction. More illumination stimulatory rhizome growth of the ginger.

Key words: *Zingiber officinalis* Rosc.; Microrhizome of Ginger; Paclobutrazol

生姜(*Zingiber officinale* Rosc.)属姜科(Zingiberaceae)多年生草本植物,是一种重要的经济作物。生姜含有多种营养成分,如糖、脂肪、蛋白质,多种微量元素、纤维素、胡萝卜素、维生素c、硫胺素、核黄素和尼克酸等;此外,它还含有姜辣素、姜油酮、姜烯酚、姜醇、桉油精等特殊成分^[1]。对生姜的药理研究表明,它具有抗过敏、抗肿瘤、降胆固醇等功效^[2]。它既是一种重要调味蔬菜,又可作果脯、香料和药物。因此,它是很好的药食同源经济作物之一,具有很大的开发价值。

在生产实践中,生姜一般是以地下根茎进行无

性繁殖,这样种姜浪费较严重,又易感染和积累病毒与内生菌,致使种性退化,易发生病害,产量与品质下降,严重影响了生姜的生产^[3-4]。通过生姜茎尖培养脱毒和离体快繁技术^[5-6],培育出生姜试管苗,利用试管苗作为生产种苗基本可克服生姜的上述缺点。若能从试管苗培育出试管姜,以试管姜作为种姜来源,还可解决试管苗移栽成活率不高、运输不便、不耐贮藏等问题。

日前,有关生姜的离体快繁研究大多集中在试管苗快繁方面,而对于试管姜诱导研究较少^[6-8]。本文以江西兴国九山生姜为材料,研究影响试管姜形

收稿日期:2005-08-23 接受日期:2005-12-23

基金项目:东华理工学院硕博启动基金项目(DHS0507)资助

成和膨大的因素,为试管姜的工厂化生产提供理论依据。

1 材料和方法

材料 选用江西兴国九山生姜 (*Zingiber officinale* Rosc. cv. Jiushan) 试管苗,由南昌大学植物细胞工程研究室提供。实验中的试管苗是由茎尖诱导得到的^[9],均在 MS + 蔗糖 4% 的培养基中培养 30 d 后获得的。

本实验以 MS 为基本培养基,附加琼脂 0.7% 和 0.01% 的活性炭, pH 6.0, 采用高压蒸汽灭菌。按三因素三水平的正交实验方案 $L_9(3^3)$ 设计实验,蔗糖(A 因素)三水平依次为 6%, 8%, 10%; $Ca_3(PO_4)_2$ (B 因素)三水平依次为 1.0 mg L⁻¹ (单位下同), 2.5, 3.0; NAA (C 因素)三水平依次为 0.5, 1.0, 1.5。实验方案见表 1。筛选出优化培养基后,再附加不同浓度的多效唑(Paclobutrazol, Pac) (0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mg L⁻¹), 培养基编号分别为 10–14。每瓶装培养基 40 ml。

表 1 $L_9(3^3)$ 正交实验方案表

Table 1 Orthogonal design for sucrose, $Ca_3(PO_4)_2$, and NAA at various concentrations

编号 Code	A Sucrose (%)	B $Ca_3(PO_4)_2$ (mg L ⁻¹)	C NAA (mg L ⁻¹)
1	6	1.0	0.5
2	6	2.5	1.0
3	6	3.0	1.5
4	8	1.0	1.0
5	8	2.5	1.5
6	8	3.0	0.5
7	10	1.0	1.5
8	10	2.5	0.5
9	10	3.0	1.0

在 1–9 号培养基中接种长至 2–3 叶 1 心,株高约 3.5 cm 的试管苗(图版 I: a) 各 24 株,进行试管姜诱导培养,培养 50 d 后统计试管姜诱导情况(诱导率 = 姜块个数 / 接种试管苗株数),对正交实验结果作直观分析,并针对姜块数进行方差分析。在 10–14 号培养基中接种同样的试管苗各 20 株,进行培养,也在 50 d 后统计结果并作方差分析。选择 13 号培养基进行光照时间(4, 8, 12, 16, 24 h d⁻¹) 处理对比试验,每处理接种 10 瓶,每瓶接种试管苗 4 株。

培养条件 温度 26±1℃, 光照时间 12 h d⁻¹ (光照处理实验例外),光照强度 2000 Lx。

2 结果和分析

2.1 培养基中蔗糖、 $Ca_3(PO_4)_2$ 及 NAA 对试管姜诱导的影响

试管苗培养 50 d 后,所形成的试管姜(直径 0.4 cm 以上统计)总数、平均直径和姜块总重量统计结果见表 2。

从表 2 的试管姜块数量,可知 A 因素(蔗糖)间的极差最大(23.5),B 因素($Ca_3(PO_4)_2$)的极差次之(9.0),而 C 因素(NAA)的极差最小(4.0)。这说明蔗糖在试管姜诱导中起主导作用,对诱导影响最大;而 $Ca_3(PO_4)_2$ 与 NAA 对试管姜诱导形成的影响小。三个因素对姜块平均直径、总重量和诱导率的影响效果相似,以蔗糖浓度影响最大,其次是 $Ca_3(PO_4)_2$, NAA 浓度影响最小。此外,由试管姜块数实验结果方差分析(表 3)表明:蔗糖浓度对试管姜的诱导影响差异极显著,而 $Ca_3(PO_4)_2$ 和 NAA 的影响差异不显著。

可见各因素以 A₂ 水平(蔗糖 8%)、B₂ 水平($Ca_3(PO_4)_2$ 2.5 mg L⁻¹)、C₁ 水平(NAA 0.5 mg L⁻¹) 为优化组合,对试管姜的诱导率最高,姜块平均直径最大。

表 2 试管姜诱导培养结果

Table 2 The growth of ginger rhizome from plantlets in tube cultured for 50 days

	试验编号 Experiment code								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
试管姜块数量 No. of rhizome (piece)	15	21	23	39	37	41	12	18	20
试管姜诱导率 Induction rate (%)	62.5	87.5	95.8	162.5	154.1	170.8	50.0	75.0	83.3
姜块平均直径 Rhizome average diameter (cm)	0.45	0.51	0.42	0.71	0.68	0.66	0.45	0.53	0.42
姜块总重量 Total weight (g)	2.78	5.18	3.94	10.14	9.57	9.43	2.29	4.12	3.40

根据观察,第 1-3 组试管姜的诱导率稍低,长势旺盛,苗较高。第 7-9 组,长势不好,苗普遍矮黄,不利于光合作用,影响营养物质的积累,诱导率相对较低。而第 4-6 组,长势好,苗矮壮鲜绿,根粗、长,芽分化多,刚诱导出现就开始膨大(图版 I: b),诱导率高,在形成的试管姜上均有数条粗壮的根。

2.2 多效唑浓度对试管姜诱导的影响

试验在正交试验所得优化组合(MS + 6-BA 0.2 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + Ca₃(PO₄)₂ 2.5 mg L⁻¹ + 蔗糖 8%)的基础上,再附加不同浓度多效唑进行试管姜诱导试验。培养 50 d 后,进行统计,结果见表 4。

从表 4 可知,与 10 号对照培养基比,在蔗糖、Ca₃(PO₄)₂、NAA 优化组合的培养基中附加不同浓度(1.5-2.5 mg L⁻¹)的多效唑,试管姜的诱导率均有所提高;随着多效唑浓度从 1.5 增加到 3.0 mg L⁻¹,诱导率出现先提高后又下降的变化趋势。其中,13 号诱导率最高,达 180%;其次为 12 号,为 165%,其余几组的诱导率没有明显差异。此外,附加了多效唑的培养基,其试管姜的平均直径、重量都要比对照组高,在 13 号培养基中达到最高值,分别为

0.81 cm, 0.342 g;观测还发现,所形成的试管姜大小较均一(图版 I: d, e, f)。

可见,在优化培养基基础上添加 2.5 mg L⁻¹ 的多效唑,对试管姜诱导率、平均直径、平均重量都是最有利的,诱导试管姜的最佳培养基为:MS + 6-BA 0.2 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + Ca₃(PO₄)₂ 2.5 mg L⁻¹ + 多效唑 2.5 mg L⁻¹ + 蔗糖 8%。采用最佳培养基进行试管姜诱导 30 d 后就有试管姜的雏形(图版 I: c)。

2.3 不同光照时间对试管姜诱导的影响

在最佳培养基上进行不同光照时间(4, 8, 12, 16, 24 h d⁻¹)处理,观察生姜试管苗长势。对诱导形成的试管姜总数、总重量与姜块平均直径进行统计。在 24 h d⁻¹ 光照处理的情况下,得到的试管姜不论是总数、总重量还是平均直径比其他几个处理要好,得到了 39 个试管姜,平均直径为 0.82 cm,总重量为 13.82 g。8 h d⁻¹ 和 12 h d⁻¹ 光照处理次之,而在 4 h d⁻¹ 光照处理下,试管姜诱导率极低,形成的试管姜少。这可能是由于生姜试管苗长势弱,苗失绿变黄,不能积累足够多的营养物质,不利于试管姜的形成。

表 3 试管姜块数实验结果分析

Table 3 Variance analysis of the rhizome growth of ginger in the experiments

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of square	自由度 Freedom (f)	均方和 Mean square	F 值 F value	显著性 Significance	临界值 Critical value
A	884.56	2	442.28	103.37	P<0.01	$F_{(2,2)0.01} = 99$
B	54.22	2	27.11	6.33		
C	8.56	2	4.28	1.00		$F_{(2,2)0.05} = 19$
Error (e)	8.56	2	4.28			
总和 Total	958.90	8				

表 4 多效唑对试管姜诱导的影响

Table 4 Effect of Paclobutrazol (Pac) on the induction of ginger rhizome

编号 Code	Pac (mg L ⁻¹)	接种苗数 No. of plantlets	试管姜数 No. of rhizome (piece)	试管姜平均直径 Av. diameter of rhizome (cm)	试管姜平均单重 Av. weight of rhizome (g)	诱导率 Induction rate (%)
10 (Control)	0.0	20	30	0.65 a	0.237 A	150
11	1.5	20	31	0.71 a	0.251 A	155
12	2.0	20	33	0.74 ab	0.267 A	165
13	2.5	20	36	0.81 b	0.342 C	180
14	3.0	20	27	0.78 ab	0.308 B	135

同栏中不同小写字母表示差异显著(p<0.05),大写字母表示差异极显著(p<0.01)。Values in each column followed by different letters are significantly different from each other at p<0.05 by small letters, and p<0.01 by capital letters.

3 讨论

本文研究了蔗糖、6-BA、NAA、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 、多效唑和光照条件对江西兴国九山姜试管姜诱导的影响。结果表明,蔗糖与多效唑对试管姜的诱导与膨大具有重要作用。张延国对山东莱芜姜试管姜诱导研究认为,蔗糖浓度低于4%,将不会形成直径大于0.4 cm的有效试管姜^[8]。关于蔗糖诱导试管姜形成的生理生化机制目前还不清楚,可能是由于蔗糖具有能源和碳源的作用,也可能是组织培养中蔗糖作为信号的传导原因^[10]。蔗糖在本实验中是一个关键因素,高浓度蔗糖有利于试管姜的诱导与膨大。这与马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)^[11]、唐菖蒲(*Gladiolus hybridus* Hort.)^[12]、荸荠(*Eleocharis tuberosa* Schult.)^[13]等相关研究有类似结果,都使用了较高的蔗糖浓度。

多效唑作为另一个重要因子,对试管姜的诱导和膨大有促进作用。它是一种生长延缓剂,属三唑类化合物,具有抑制株高,促进作物横向生长,特别是对单子叶植物,可促进分蘖、茎粗增加,根加粗,植株健壮^[4]。多效唑在本实验中的结果与多效唑在唐菖蒲中的运用有类似的效果^[12]。

赵得婉等提出^[9],生姜中含有大量的钙,这需要外界为它提供,组织培养和大田生产在生产方式与方法上有所不同,但在本质上是相通的。据此,本实验为提高培养基中的钙离子浓度,添加了 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 作为钙离子来源,而磷酸根离子对根的生长有促进作用。Shama和Singh将生姜茎尖置于附加有 2.0 mg L^{-1} 的 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 的液体培养基中,诱导获得了小姜块^[15]。关于 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 对试管姜诱导的作用机制有待进一步研究。

生姜是一种短日照植物,在田间生产时,短日照是根茎形成的条件,在生长的中后期,短日照有利于其根状茎的诱导形成与生长。但在本实验中,长光照时间比短光照的效果要好。这可能与组织培养条件下光照强度相对较弱有关,为了积累更多的有机物质,只有通过延长光照时间来积累更多的光合产物,从而使长光照优于短光照。

参考文献

- [1] Ai X Z (艾希珍). Technology of Culture for High Yield in Ginger [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999. 1-2. (in Chinese)
- [2] Liu X M (刘雪梅). Pharmacological effect of ginger: progress and prospect [J]. Chin Trad Patent Med (中成药), 2002, 24(7):539-542. (in Chinese)
- [3] Zhao D W (赵德婉), Xu K (徐坤), Ai X Z (艾希珍). Culture for High Yield in Ginger [M]. Beijing: Jindun Press, 2000. 81-90. (in Chinese)
- [4] 王金陵, 李勤. 姜青枯病发生规律及药剂防治试验 [J]. 福建农业科技, 1995, (2):1-19.
- [5] Xu K (徐坤), Yang J H (杨俊华). The disease-free ginger and the technology of culture for high yield [J]. Changjiang Veget(长江蔬菜), 2000, (8):8-9. (in Chinese)
- [6] Feng Y (冯英), Xue Q Z (薛庆中). Progress on multiplication of disease-free ginger [J]. Chin Bull Bot (植物学通报), 2002, 19(4): 439-443. (in Chinese)
- [7] Tang Y M (唐玉明), Li X L (李兴莲), Ren D Q (任道群), et al. Study on tissue culture of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) [J]. SW Chin J Agri Sci(西南农业学报), 2002, 15(4):116-118. (in Chinese)
- [8] Zhang Y G (张延国), Qu D Y (屈冬玉), Yang J R (杨建荣), et al. Induction of micro-ginger [J]. Chin Veget(中国蔬菜), 2002, (1):33-34. (in Chinese)
- [9] 管毕财, 蔡奇英, 杨柏云, 等. 生姜茎尖培养的初步研究 [A]. 朱德蔚. 植物组织培养与脱毒快繁技术 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2001. 239-241.
- [10] Huang M J (黄美娟), Wu N H (吴乃虎), Diao F Q (刁丰秋), et al. Effects of sucrose regulation culture on endogenous ABA levels of carrot somatic embryo [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1999, 41(7):761-765. (in Chinese)
- [11] Lian Y (连勇). Application and induction of microtuber [J]. J Potato (马铃薯杂志), 1995, 9(4):237-240. (in Chinese)
- [12] Ma G H (马国华), Zhang Q M (张启明). Effect of paclobutrazol in gladiolus tissue culture [J]. Acta Hort Sin (园艺学报), 1994, 21(3):288-292. (in Chinese)
- [13] Cao P S (曹培生), Cai H (蔡汉), Li L J (李良俊), et al. Induction of corms *in vitro* in Chinese Water Chestnut [J]. Acta Hort Sin (园艺学报), 1999, 26(5):355-356. (in Chinese)
- [14] Zhang S C (张石城), Liu Z Q (刘祖祺). Principle and Techniques of Regulation in Phytochemistry [M]. Beijing: Science and Technology of Agriculture Press in China, 1999. 333-336. (in Chinese)
- [15] Sharma T R, Singh B M. Micro-rhizome *in vitro* production in *Zingiber officinale* Rosc. [J]. Plant Cell Rep, 1995, (15):275-277.

图版说明

图版 I

- a. 诱导前的试管苗;
- b. 诱导 10 d 的试管姜;
- c. 诱导 30 d 的试管姜;
- d. 诱导 50 d 的试管姜;
- e. 培养瓶中试管姜;
- f. 收获的试管姜。

Explanation of plate

Plate I

- a. Plantlets from tube culture;
- b. Plantlets with rhizome induced for 10 days;
- c. Plantlets with rhizome induced for 30 days;
- d. Plantlets with rhizome induced for 50 days;
- e. Ginger growth in culture bottle;
- f. Rhizomes of ginger.

