

驱蚊香草不同外植体诱导愈伤组织的研究

庞发虎

(南阳师范学院 生物系, 河南 南阳 473061)

摘要:先后用驱蚊香草的叶片、叶柄、幼嫩顶芽、休眠芽、带皮茎段、去皮茎段等作外植体,进行愈伤组织的诱导.结果表明:在所有的外植体中,以幼嫩顶芽为最好,去皮茎段、叶片次之,愈伤组织诱导率分别为94%、89%和80%;带皮茎段和叶柄的愈伤组织诱导率较低,为25.7%和14.3%左右,休眠芽未诱导出愈伤组织.

关键词:驱蚊香草;愈伤组织;组织培养;外植体

中图分类号:S682.1'9 **文献标识码:**A **文章编号:**1009—1076(2006)03—0067—03

驱蚊香草是多年生草本,属牻牛儿苗科天竺葵属,是澳大利亚生物学家通过生物工程技术,将来自澳洲的天竺葵科植物细胞与中国的一种含有香茅醛物质的植物细胞融合而成的芳香类植物,它能散发出一种特殊的香茅醛物质达到驱蚊的效果,同时还有抗菌、除臭、抗忧郁、净化心灵、缓解紧张压力的作用,并具有很好的观赏价值^[1,2].但资料显示,它只开花不结果,不能自然繁殖^[2];扦插繁殖也很难成活,即使成活,也容易感染病毒,显著降低驱蚊效果.本文以驱蚊香草不同器官作为外植体进行愈伤组织能力诱导的研究,筛选了驱蚊香草组

织培养中愈伤组织诱导率最适培养基和外植体.

1 材料和方法

1.1 材料 试验所用的幼嫩顶芽、休眠芽、叶片、叶柄、带皮茎段、去皮茎段等不同外植体,来源于南阳师范学院花木繁育研究所的驱蚊香草植株.

1.2 处理方法 在接种前,将各外植体先置于数滴洗涤剂的水溶液中浸泡并摇洗20min,自来水冲洗10min,在无菌条件下用75%酒精浸3—5s,0.1%升汞处理8—10min,无菌水冲洗6次.放在无菌培养皿中使用.

1.3 培养方法

表1 培养基的组成成分

Table 1 The media of various combination

培养基	组成成分
M1	MS+0.1mol/LBA+0.2mol/LNAA+附加
M2	MS+0.1mol/LBA+0.3mol/LNAA+附加
M3	MS+0.2mol/LBA+0.3mol/LNAA+附加
M4	MS+0.2mol/LBA+0.5mol/LNAA+附加
M5	MS+0.3mol/LBA+0.5mol/LNAA+附加
M6	MS+0.5mol/LBA+0.5mol/LNAA+附加
M7	MS+0.5mol/LBA+1mol/LNAA+附加
M8	MS+1mol/LBA+0.5mol/LNAA+附加
M9	MS+1.5mol/LBA+1mol/LNAA+附加
M10	MS+1.5mol/LBA+2mol/LNAA+附加
M11	MS+2mol/LBA+1.5mol/LNAA+附加

收稿日期:2005—11—29

作者简介:庞发虎(1975—),男,南阳师范学院生物系讲师,硕士,主要从事植物生理生化方面的研究.

MS=100mL (10 倍) 大量元素+10 (100 倍) 铁盐+1 (1000 倍) 微量元素

附加 =糖 30g/L+琼脂 7g/L+活性炭 0.4g/L pH 为 5.8—6.0

体积: 1 升

1.3.1 将消毒好的幼嫩顶芽作外植体, 接种于表 1 培养基上, 进行愈伤组织的诱导, 观察愈伤组织的生长、分化状况, 统计出愈伤组织的诱导率 (诱导率=诱导愈伤组织总数/接种总数), 筛选出驱蚊香愈伤组织形成的最佳培养基配方. 培养温度 $27 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度 60%—70%, 光照强度 1800—2500LX, 光照时间每天 12 小时.

1.3.2 将驱蚊香草的幼嫩顶芽、休眠芽、叶柄、叶片、带皮茎段、去皮茎段接种到筛选出的最佳培养基上, 进行愈伤组织诱导率的研究, 比较不同外植体的愈伤组织的诱导效果, 筛选出驱蚊香草组织培养中最适宜的外植体.

2 实验结果

将驱蚊香草的幼嫩顶芽接种于上述 11 种培养基上, 其接种数量和愈伤组织诱导情况见表 2.

表 2 顶芽在 11 种培养基上愈伤组织的形成情况

Table 2 Effects of induction of callus on 11 medium apical buds

培养基	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11
接种总数(个)	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
诱导愈伤组织个数(个)	0	2	4	5	7	9	14	10	6	7	3
愈伤组织的诱导率(%)	0	13.3	26.3	33.3	46.6	60	93.3	66.6	40	46.6	20

由表 2 可以看出, M7 培养基为最佳培养基. 将不同外植体分别接种到 M7 培养基上, 愈伤组织形成情况如下:

表 3 不同外植体在 M7 培养基上愈伤组织形成状况

Table 3 Effects of induction callus with different explants on M7 medium

外植体	接种总数(个)	诱导愈伤组织数(个)	出现时间(d)	诱导率(%)
顶芽	35	33	10	94
休眠芽	35	0	0	0
叶片	35	28	15	80
叶柄	35	5	19	14.3
去皮茎段	35	31	14	89
带皮茎段	35	9	17	25.7

从表 3 可以看出, 不同外植体产生愈伤组织的诱导率是不同的. 幼嫩顶芽为最适宜的外植体, 愈伤组织诱导率可达 94%, 去皮茎段和叶片次之, 诱导率分别为 89% 和 80%; 带皮茎段和叶柄愈伤组织的诱导率较低, 分别为 25.7% 和 14.3%; 而休眠芽的诱导率为 0, 不适宜做外植体. 同时不同外植体形成愈伤组织的生长状况不同, 幼嫩顶芽一般在 10 天后开始膨大有愈伤组织的形成, 15—20 天达到旺盛生长期, 并开始逐渐变绿. 由试验结果可知, 不同的植物生长调节剂对愈伤组织的诱导率及愈伤组织的质量有显著的影响.

3 讨论

3.1 由表 1、2 可以看出, 以驱蚊香草的营养器官作外植体, 除 M1 培养基外, 其他 BA 与 NAA 不同浓度的配比, 均能诱导出愈伤组织. 在 BA 浓度不变的情况下, 随着 NAA 浓度的升高, 愈伤组织的诱导率相对增大, 当 NAA 与 BA 的浓度为 2:1 时, 可以诱导出大量的愈伤组织, 且质地坚硬, 能分化出芽, 当 BA 浓度大于 NAA 浓度时, 愈伤组织诱导率下降, 表现出抑制作用, 这与增孜义^[5]和王冬梅^[6]等报道的一致, 说明形成愈伤组织的能力与激素种类和浓度组合密切相关. 试验结果表明, 在愈伤组织诱导时, 组织脱分化对 NAA 浓度的变化比 BA 的变化敏感, 这与焦海华^[8]报道的相吻合. 本试验中 0.5mol/LBA+1mol/LNAA 是最理想的配方.

3.2 植物组织培养要能在各个方面取得成功, 首先取决于外植体的情况如何^[3], 不同植物器官和组织, 其形态发生能力大不相同, 即使同种植物不同部分作外植体时, 所需要的营养和植物激素的用量也不相同^[4]. 不同外植体培养效果差异的原因可能是由于它们的生理状态和所处的生育时期不同, 其内源激素浓度和比例不同^[8]. 本试验中幼嫩顶芽作外植体时, 愈伤组织的诱导率为 94%, 且愈伤组织出现的时间较短, 去皮茎段、叶片愈伤组织的诱导率为 89%和 80%, 带皮茎段和叶柄的愈伤组织诱导率分别为 25.7%和 14.3%, 休眠芽未获得成功. 从试验的结果来看, 幼嫩顶芽是理想的材料, 叶片、去皮茎段是较为理想的材料, 去皮茎段具有较高的诱导率, 可能是驱蚊香草表皮有较多毛, 去皮后消毒彻底, 减少了病菌的污染的缘故. 而休眠芽诱导未获得成功, 一方面可能芽内缺乏启动传导的信号物质, 另一方面也可能是 BA 含量过多, 具体原因有待于进一步研究.

3.3 在培养的过程中, 芳香类物质渗出和被氧化, 逐渐转化产生酚类物质, 组织出现褐化, 造成培养失败. 为防止褐变和有害物质的积累, 常在培养基中加 0.1%Vc 和 0.1%PVP, 对防褐化有一定的作用^[9], 王敬驹等研究表明, 活性炭的防褐化效果优于 Vc 和半胱氨酸, 能吸附有害物质, 降低其不利影响. 为防褐化还可以在愈伤组织形成过程中注意经常更换培养基. 本试验中幼嫩顶芽作外植体, 愈伤组织诱导率高且不易褐化, 可能是顶芽内含有较高的内源激素的存在, 也可能是活性炭有效地清除了有害物质的污染.

参考文献:

- [1]任秋萍, 张复君, 张秀省. 环保型植物——驱蚊香草栽培管理技术[J]. 农业新技术, 2004 (3): 26—27.
- [2]和承尧, 寸守铤. 滇产驱蚊香草芳香油化学成分分析研究[J]. 云南化工, 2003, 30 (5): 21—24.
- [3]谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991. 114—136.
- [4]陈怡平, 丁兰, 赵教柱, 等. 用紫斑牡丹不同外植体诱导愈伤组织的研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2001, 37 (3): 66—69.
- [5]曾孜义. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996. 14—15.
- [6]王冬梅. 细胞分裂素类物质在植物组织培养过程中的作用机制[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32 (5): 373—377.
- [7]梁贵秋, 唐燕梅, 陆飞. 驱蚊香草的组织培养与快速繁殖[J]. 广西热带农业, 2004 (5): 3—4.
- [8]焦海华. 一品红不同外植体愈伤组织诱导能力的研究[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2003 (1): 65—67.
- [9]TRAN THANH VAN M. Direct flower neof ormation from superficial tissue of small explants of *Nicotiana tabacum*[J]. *Planta*, 1999, 115: 87—92.

【责任编辑: 何苗苗】

A Study of Induction Callus with Different Organs of *Pelargonium Citrosum Vanleenii*

PANG Fa-hu

(Biology Department, NanYang Normal University, Nanyang 473061, Henan, China)

Abstract: The callus were induced on MS medium with leaves, petioles, dormant buds, apical buds, stem as explants respectively. The results indicted that the apical buds is the best among explants. The induction rates of callus from apical buds and stems excluding skin, leaves were 94%,89% respectively, with the former being obviously better than the latter, the rates of stems and petioles were 25%and 15%,However ,there is no callus induction from dormant buds.

Key words: *Pelargonium citrosum vanleenii*; tissue culture; callus; explants