维普资讯 http://www.cqvip.com

江西农业学报 2008,20(2):32~33
Acta Agriculturae Jiangxi

驱蚊香草组织培养与快速繁殖研究

林亮亮
(福建农业职业技术学院 现代教育中心,福建 福清 350119)

摘 要:以驱蚊香草不同部位为外植体,进行离体快繁试验,结果表明:外植体以叶片和顶芽容易诱导产生愈伤组织,最高诱导率达90%;诱导培养基以MS+6-BA1.0~2.0mg/L+NAA0.2mg/L效果较好,平均芽诱导分化率达85.6%~86.7%;增殖培养基以MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L效果最好,丛生芽增殖最多,繁殖系数达6.12倍;诱导生根培养基以1/2MS+NAA 0.3 mg/L最佳,生根率达到100%;假植20 d后,移栽成活率达100%。

关键词:驱蚊香草;离体快繁;培养基
中图分类号:Q813.12 **文献标识码**:A **文章编号**:1001-8581(2008)02-0032-02

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Cymbopogon citrates*

LIN Liang-liang
(Modern Education Center, Fujian Agriculture Vocation-Technical College, Fuqing 350119, China)

Abstract: The various parts of *Cymbopogon citrates* were chosen as explants to carry out rapid propagation in vitro. The result demonstrated that: the lamina and terminal bud were propitious to callus induction, the maximum rate of inducement could reach 90%; the preferable induction culture medium was MS+6-BA 1.0~2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L with the average bud inducement differentiation rate of 85.6%~86.7%; the best proliferation culture medium was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L with the most number of clustering buds, and the reproduction quotiety was 6.12 times; using 1/2MS+NAA 0.3 mg/L as rooting inducement culture medium, the rooting rate could reach to 100%; the survival ratio of the transplanted seedlings reached 100% after 20 days' temporary planting.

Key words: *Cymbopogon citrates*; Rapid propagation in vitro; Culture medium

驱蚊香草是一种多年生草本植物,四季常绿,它能天然挥发出香茅醛、香茅醇等物质,不仅能有效驱除蚊虫,还能散发出柠檬香气,起净化空气的作用。本文研究了驱蚊香草的离体组织培养和快速繁殖技术,以期为驱蚊香草离体无性繁殖系的建立提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 引进盆栽驱蚊香草,取其茎段侧芽、幼嫩顶芽、叶片,作为外植体材料。

1.2 方法

1.2.1 *供试材料的处理* 取生长健壮的驱蚊香草植株上的幼嫩顶芽、带1个侧芽的茎段和叶片,先置于10%洗洁精溶液中浸泡10 min,用自来水冲洗干净,在超净台内再用75%酒精消毒30 s,接着用0.1%升汞消毒10 min,最后用无菌水冲洗5~6次,用无菌滤纸吸去水分,切掉茎段两端消毒面,分别将幼嫩顶芽(长约0.5~1.0 cm)、侧芽的茎段(长约1.0~2.0 cm)及叶片(1.0 cm×1.0 cm)接种到诱导培养基上。

1.2.2 *芽的诱导培养* 诱导芽的培养基以MS为基础培养基,附加6-BA(0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mg/L)和NAA 0.2 mg/L共5个处理(培养基编号分别为A1、A2、A3、A4、A5),每个处理接3种外植体材料,每种材料接10瓶,每瓶接3个外植体。培养30 d后统计产生不定芽的外植体数及有效萌芽率,并进行统计分析。

1.2.3 *芽增殖培养* 增殖培养基以MS为基础培养基,附加6-BA(0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 mg/L)和NAA 0.1 mg/L共5个处理(培养基编号分别为B1、B2、B3、B4、B5),每个处理10瓶,每瓶接一丛芽(含有3~4个单芽),重复3次。培养20 d后调查增殖倍数,并进行统计分析。

1.2.4 *壮苗培养* 壮苗培养基以MS为基础培养基,附加6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L,将增殖阶段产生的健壮丛生芽接种在壮苗培养基中,培养20 d后转入生根培养基。

1.2.5 *生根培养* 生根培养基为1/2MS,附加NAA(0.1、0.3、0.5 mg/L)、活性炭0.2%,共3个处理(培养基编号分别为C1、C2、C3、),每个处理20瓶,每瓶接1株高3~3.5 cm的小苗,重复3次。培养15 d后调查生根情况。

1.2.6 *假植与盆栽* 生根培养15 d后假植于一次性杯中,再过15 d种植于花盆中。

以上培养基均附加蔗糖30 g/L、琼脂6.5 g/L,pH值5.8。培养室温度为25~26 ℃,空气相对湿度65%~

收稿日期:2007-10-20
作者简介:林亮亮(1980-),女,福建福清人,助理实验师,主要从事植物组织培养研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

70%,光照强度 2800 ~3000 lx,光照时数 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同外植体和培养基对诱导分化产生不定芽的影响 在不同培养基中接入驱蚊香草不同外植体(顶芽、茎段和叶片),培养 30 d 后产生的不定芽数见表 1,方差分析和多重比较结果见表 2 ~4。从表 1 ~4 可以看出,不同外植体的有效萌芽率差异达到显著水平(P值 = 0.0041),以叶片为接种材料最容易产生愈伤组织,芽诱导分化率最高,平均芽诱导率为 71.3%,与顶芽(平均有效萌芽率 69.3%)相比差异不显著,与茎段(平均有效萌芽率 64%)相比差异达到显著水平。不同培养基对芽诱导分化率的影响差异达到显著水平(P 值 =0.0001)。以培养基 A2 和 A3 的芽诱导分化率较高,分别为 86.7% 和 85.6%,与培养基 A4、A1、A5 相比差异达到显著水平。说明驱蚊香草组培应取顶芽和叶片作为外植体材料,芽诱导分化采用培养基 MS + 6 - BA 1.0 ~2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 的效果好。

表 1 不同外植体和培养基对驱蚊香草不定芽诱导的效果

外植体	培养基	接种芽数(个)	分化数(个)	有效萌芽率(%)
顶芽	A1	30	18	60
	A2	30	27	90
	A3	30	26	86.67
	A4	30	20	66.67
	A5	30	13	43.33
茎段	A1	30	15	50
	A2	30	24	80
	A3	30	25	83.33
	A4	30	19	63.33
	A5	30	13	43.33
叶片	A1	30	18	60
	A2	30	27	90
	A3	30	26	86.67
	A4	30	21	70
	A5	30	15	50

表 2 表 1 有效萌芽率的方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
外植体	143.8163	2	71.9081	11.774	0.0041
培养基	3871.5287	4	967.8822	158.481	0.0001
误差	48.8578	8	6.1072		
总变异	4064.2028	14			

表 3 不同外植体诱导不定芽效果的多重比较

外植体	平均有效萌芽率(%)	5% 显著水平
叶片	71.334	a
顶芽	69.334	a
茎段	63.998	b

注:用 LSD 法进行多重比较,具相同字母表示差异不显著,否则差异显著。下同。

表 4 不同培养基诱导不定芽效果的多重比较

培养基(mg/L)	平均有效萌芽率(%)	5% 显著水平
A2 (MS + 1.0 6 - BA + 0.2 NAA)	86.6667	a
A3 (MS + 2.0 6 - BA + 0.2 NAA)	85.5567	a
A4 (MS + 3.0 6 - BA + 0.2 NAA)	66.6667	b
A1 (MS + 0.5 6 - BA + 0.2 NAA)	56.6667	c
A5 (MS + 4.0 6 - BA + 0.2 NAA)	45.5533	d

2.2 不同培养基对不定芽增殖的影响 以诱导形成的驱蚊香草丛芽为材料,接种到不同培养基上进行快速繁殖。培养 25 d 后产生大量的丛生芽(表 5)。从表 5 可以看出,不同培养基对苗增殖倍数的影响差异达到显著水平,以培养基 B2 的增殖效果最好,芽增殖倍数为 6.12,其次是B3、B4、B1、B5,芽增殖倍数分别为5.49、4.97、4.27、3.37。芽苗分化状况以培养基 B2 效果最好,苗高、芽多、芽壮。培养基 B1 苗高、芽少、芽壮。B5 芽少且有畸形芽苗和玻璃化苗。说明培养基中 6 - BA 浓度对芽增殖和正常分化影响较大,过高和过低的 6 - BA 浓度均不利于芽增殖。

表 5 不同培养基对驱蚊香草芽苗增殖的效果

培养基	苗增殖倍数					芽苗分化状况
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	均值	5% 显著水平	
B2	6.17	6	6.2	6.12	a	苗高、芽多,芽壮
B3	5.67	5.5	5.3	5.49	b	苗较高,芽较多、较壮
B4	5.1	5	4.8	4.97	c	苗矮,芽较少、较细,有玻璃化
B1	4.5	4.3	4	4.27	d	苗高,芽少,芽壮
B5	3.5	3.4	3.2	3.37	e	苗矮,畸形芽较多,有玻璃化

2.3 诱导生根 将丛芽接种到壮苗培养基上,培养 20 d,使芽长高长粗,切下单芽(长 3 cm 左右的小苗)接种到不同生根培养基中。6 d 后在小苗基部出现白色根原基突起,逐渐长出白色新根,平均每株苗有 5 条以上根。不同培养基对驱蚊香草小苗生根的效果见表 6。从表 6 中可以看出,3 种培养基生根率都达到 100%,但根的数量和质量有所差异,以 C2 培养基较好,根系发达,粗壮,根数较多。

表 6 不同培养基对驱蚊香草小苗生根的效果

培养基	根萌出时间(d)	根数(条)	生根率(%)	根质量
C1	7	39212	100	较细
C2	6	39217	100	粗壮
C3	6	39222	100	较粗壮

(下转第 37 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

3.2　不同嫩度材料对 DNA 提取质量的影响　植物材料的老嫩对基因组 DNA 的提取影响很大,缘于植物中不同嫩度组织次生代谢产物含量不同。如茶叶中的多酚类、糖类、脂类等都随着鲜叶的成熟而增加。本实验发现鲜叶越老,提取的 DNA 少,且容易降解。结果表明,虽然材料越老,DNA 提取的难度越大,但该方法也还是可以得到高质量的 DNA。

参考文献:

[1] 王丽鸳,成浩,周健,等. 茶树 DNA 分子标记及基因工程研究进展[J]. 茶叶科学,2004,24(1):12~17.

[2] 陈亮,陈大明. 茶树基因组 DNA 提纯与鉴定[J]. 茶叶科学,1997,17(2):177~181.

[3] 陈亮,高其康. 茶树 RAPD 反应系统和扩增程序优化[J]. 茶叶科学, 1998,18(1):16~20.

[4] 罗军武,沈程文,施兆鹏,等. 茶树基因组 DNA 提取纯化技术研究[J]. 茶叶通讯, 2002,(4):20~24.

[5] 吴琦,张进兴. 分子标记技术的进展及应用[J]. 高技术通讯,2001,(2):25~28.

[6] 苟本富,皱国林. AFLP 分子标记技术及应用研究进展[J]. 渝西学院学报, 2002,15(1):22~31.

[7] 罗军武. 茶树种质资源遗传亲缘关系及分类的 RAPD 分析[D]. 湖南农业大学博士学位论文,2001.

[8] 张宏达. 山茶属植物的系统研究[J]. 中山大学学报, 1981,20(1):26~20.

[9] 李斌,陈兴琰. 茶树染色体组型的分析[J]. 茶叶科学, 1986,6(2):78~82.

[10] 丁晓东,吕抑新. 利用 RAPD 标记研究荔枝品种间的亲缘关系[J]. 热带亚热带植物学报, 2000,8(1):27~30.

[11] 金惠淑,梁月荣. 中韩两国主要茶树品种基因组 DNA 多态性的比较研究[J]. 茶叶科学,2001,21(2):79~83.

[12] 陈亮,梅明华. RFLP、RAPD、AFLP 在水稻农垦和蔼 1514 中多态性的比较[J]. 植物学报, 2000,17(5):195~198.

[13] 万春玲,谭远德. AFLP 标记在研究家蚕遗传多态性方面的应用[J]. 生物技术, 1999,9(5):58~63.

[14] 张谊,朱砺. 遗传标记的研究进展[J]. 生物技术, 2002,12(2):65~69.

[15] KoJima T,Na8aoka T,Noda K. Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in Einkorn wheat in relation to that of RFLP markers[J]. Theor ApplGenet,1998,(96):37~45.

[16] Wachira FN,Waugh R,Hackett CA, et al. Detection of Genetic Dversity in Tea(Camellia sinensis) Using RAPD Markers[J]. Genome,1995,(38):201~210.

[17] 卢江. 随机放大多态性 DNA(RAPD)——种新的分子遗传标记技术[J]. 植物学报,1993,35(增刊):187~190.

[18] 荆玉祥,匡廷云. 植物分子生物学——成就与前景[M]. 北京:科学出版社.

[19] 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术[M]. 北京:高等教育出版社.

[20] 苏应娟,王艇,杨维东,等. 罗汉松属植物 DNA 的提取和 RAPD 分析[J]. 中山大学学报(自然科学版), 1998,37(4):201~208.

[21] 唐绍清,施苏华,林海波. 几种因素对山茶属植物 RAPD 分析的 DNA 扩增的影响[J]. 广西植物, 1998,18(2):98~102.

(上接第 33 页)

2.4　驱蚊香草组培苗假植与盆栽　在生根培养基上培养 20 d 后,小苗株高达到 4~6 cm,并长出数十条根,就开始假植。先将培养瓶口逐渐打开喷水,炼苗 3~4 d。取出小苗用自来水冲洗根部培养基,再用 0.1% 多菌灵溶液浸泡 5 min,移栽于一次性杯中。杯中基质为火烧土、砂和蛭石(按 1∶1∶1混合)。每个杯假植 1 株,保湿保温培养,假植 15 d 后移栽于花盆中,成活率达 100%。

3　小结

上述试验结果表明,驱蚊香草离体组织培养外植体以叶片和顶芽为佳,诱导分化培养基采用MS + 6 - BA 1.0~2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 效果最好,芽繁殖培养基采用 MS + 6 - BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 繁殖系数高。生根培养基采用 1/2MS + NAA 0.3 mg/L,根系生长粗壮。经炼苗、假植后移栽,成活率达 100%。本试验从芽诱导、芽增殖、壮苗培养、诱导生根, 到假植移栽,已建立起比较完整的无性繁殖体系,为今后驱蚊香草进行规模化生产,为市场提供大批种苗打下了技术基础。

参考文献:

[1] 黄海帆,李萍,贺爱利. 彩叶草的组织培养[J]. 植物生理学通讯,2003,39(4):339.

[2] 王玉国,盖建东,许宝定,等. 神香草的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯,2006,42(6):1133~1134.

[3] 杜国利,宗长征,张夏林. 枸杞的组织培养及植株再生的条件优化[J]. 生物技术通讯,2006,17(3):384~386.

[4] 李世成. 转 CHS 基因非洲菊的组织快繁[J]. 福建农业科技,2006,(4):38~40.

[5] 王峰祥,张福鑫,郑泽荣. 紫花地丁的组织培养与快速繁殖[J]. 生物学通报,2006,41(6):49.

[6] 张瑞麟,范敏,等. 耳叶补血草的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2006,42(4):680.