

薄荷茎段诱导愈伤组织的研究

李延红

(开封教育学院 自然科学系 河南 开封 475004)

摘要: 研究了 6-BA 和 NAA 2 种激素的不同配比, 茎段的取材部位和放置方式(茎段横放, 竖放)对茎段诱导愈伤组织的影响。结果表明: 在以 B5 为基本培养基, 6-BA 0.4 mg/L, NAA 1.2 mg/L 的培养基上愈伤组织长势较好。在以 B5 为基本培养基附加 6-BA 0.4 mg/L, NAA 1.0 mg/L 的培养基上, 茎段横放对愈伤组织的诱导优于竖放方式。

关键词: 薄荷; 诱导; 愈伤组织; 研究

中图分类号: S 567.23⁺5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)10-0163-03

薄荷为多年生宿根草本植物, 具香气, 可全草入药, 有发汗, 解热, 驱风, 健胃之效。薄荷还可以用来提取薄荷油, 薄荷脑, 薄荷酮, 薄荷素油等物质, 广泛用于制造饮料、牙膏、牙粉及皮肤黏膜局部镇痛剂等。我国种植薄荷的历史久远, 出产的薄荷香味纯正, 油质好, 薄荷脑含量高, 在国际市场上, 被誉为“亚洲之香”。但目前生产上栽培品种退化严重, 单产及原油质量逐年下降, 直接影响到经济效益和在国际市场中的竞争力。因此薄荷品种的改良与更新成为我国发展薄荷生产, 提高国际竞争力的迫切需要。利用植物组织培养技术改良薄荷新品种是目前切实可行的一条途径, 现就薄荷茎段愈伤组织的诱导进行初步研究。

1 材料与方 法

作者简介: 李延红(1968-), 女, 河南开封人, 讲师, 现主要从事生物学的教学与科研工作。

收稿日期: 2008-04-17

1.1 取材与处理

选择当年春季生长的无病健壮植株, 剪去叶片, 放入稀释洗衣粉液中漂洗 5~10 min, 自来水冲洗 5~10 min, 滤纸吸干其表面备用。

1.2 培养基的配制

采用 B5 培养基附加 6-BA (0.4 mg/L) 和不同浓度的 NAA, 琼脂 (8 g/L), 蔗糖 (20 g/L)。调整培养基的 pH 值至 5.8, 然后趁热分装培养基。

设置了 5 个处理的培养梯度: N1: B5+6-BA 0.4 mg/L+NAA 0.6 mg/L, N2: B5+6-BA 0.4 mg/L+NAA 0.8 mg/L, N3: B5+6-BA 0.4 mg/L+NAA 1.0 mg/L, N4: B5+6-BA 0.4 mg/L+NAA 1.2 mg/L, N5: B5+6-BA 0.4 mg/L+NAA 1.4 mg/L。

1.3 灭菌

将配制好的培养基、蒸馏水及操作用具(培养皿、滤纸、剪刀、解剖刀、镊子)放入高压蒸汽灭菌锅内, 使压力 1.1 kg/cm², 温度 121℃, 灭菌 30 min。同时将超净工作台打扫干净, 紫外灯照射灭菌 30 min。

The Comparison of Rapid Propagation Technique of Different Parts of Strawberry

XU Qi-hong^{1,2}, WANG Zi-cheng¹, REN Ping-guo², ZHANG Sheng², HOU Kai³

(1. The Institute of Agriculture Biotechnology of College of Life Sciences, Henan University, Kaifeng, Henan 475001, China; 2. Luohe Vocational Technology College, Luohe, Henan 462000, China; 3. Luohe Tianyi Bio-engineering Co. Ltd, Luohe, Henan 462000, China)

Abstract: Took the strawberry variety 'Tongzi 1' as the material, rapid propagation techniques of anthers, meristems, leaves of strawberry had been compared, the strawberry meristem rapid propagation technique will be most ideal in the application of the rapid propagation technique of strawberry on the consideration of the production cycle, the survival rate of transplanting as well as saving the production cost.

Key words: Strawberry; Rapid propagation technique; Induction differentiation

1.4 接种

将灭菌后的培养基, 无菌水及操作用具放入超净工作台上, 数小时后通风, 紫外灯照射 30 min 后进行操作。将材料用 75% 酒精消毒 20 ~ 30 s, 用无菌水冲洗 3 ~ 5 次, 再用 0.1% 升汞消毒 8 ~ 10 min, 用无菌水冲洗 5 次。然后用滤纸吸干其表面, 将材料剪成约 0.5 cm 小段(无节), 接种到相应的培养基上。每个梯度各接种 10 瓶, 每瓶 4 ~ 5 个外植体。

1.5 培养条件

将接种后的容器放到光照培养箱中进行培养, 保持温度 25.5 °C 12 h 光暗交替培养。茎段放置方式对愈伤组织诱导的影响采用 B5 培养基附加 6-BA 0.4 mg/L, NAA 1.0 mg/L, 琼脂 8 g/L, 蔗糖 20 g/L。取材与试验步骤与上述相同。

2 结果及分析

2.1 取材对愈伤组织诱导的影响

2.1.1 取材时间对愈伤组织诱导的影响 试验中, 4月12日、16日取材接种的薄荷茎段 3 d 后已有愈伤组织出现, 并且愈伤形成量多, 愈伤长势较好, 出愈率高。

而 4月26日、5月11日取材接种的茎段, 愈伤组织出现较晚, 在接种后的 5 ~ 7 d 才出现愈伤。并且愈伤形成量少, 生长较慢, 出愈率较低。取材时间不同, 所取材料所处的生长时期也不同, 进而影响愈伤组织的诱导(见表 1)。

表 1 取材时间对愈伤组织诱导的影响

接种时间/月.日	接种数/个	出愈数/块	出愈率/%
4.12	190	88	47.2
4.16	124	69	53.3
4.26	160	72	45.0
5.11	210	76	36.2

2.1.2 取材部位对愈伤组织诱导的影响 经过多次试验比较, 取材部位对愈伤组织诱导也有一定的影响。取健壮植株茎的基部、中部、上部分别接种到相同的培养基上在相同的培养条件下进行培养, 结果发现, 取茎段中部进行愈伤组织的诱导, 出现愈伤较早, 并且愈伤形成量较多, 愈伤长势较好。取茎段基部进行培养时, 茎段切口四周皱缩, 愈伤出现比较晚, 且形成量较少, 生长速度较慢。取茎段上部进行培养时, 整个茎段由绿色变成褐色, 并且基本上不长愈伤。

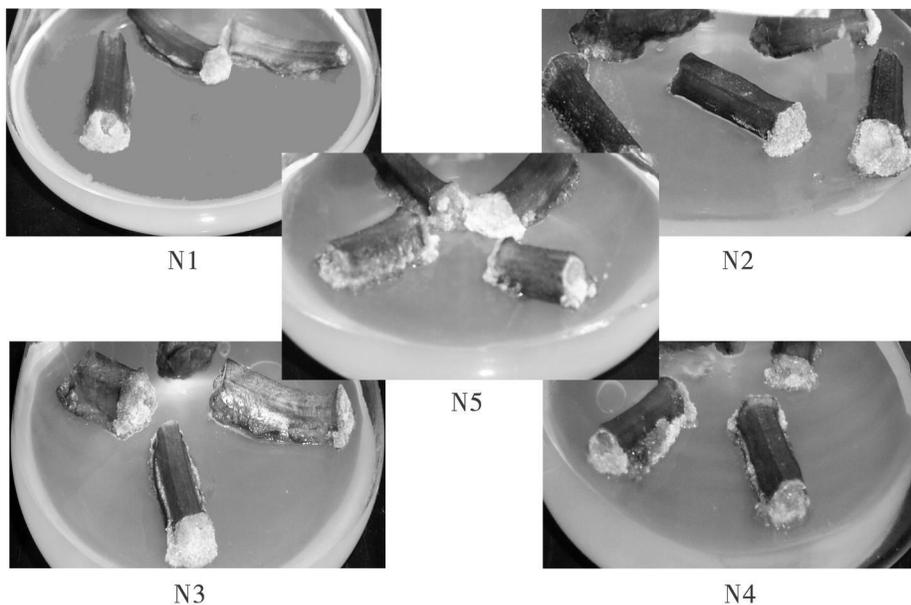


图 1 N1~N5 不同激素对比对愈伤组织诱导的影响



图 2 茎段放置方式对愈伤组织诱导的影响

2.2 激素对比对愈伤组织诱导的影响

6-BA 为 0.4 mg/L, 不同浓度 NAA (0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mg/L) 的 5 种组合培养基上, 薄荷外植体均能形成愈伤组织。在愈伤组织产生前茎段两端膨大, 愈伤组织呈致密颗粒状, 开始为绿色, 后来变成褐色或黑色。但由于激素浓度配比不同愈伤组织形成量及各个梯度的出愈率, 愈伤组织的长势则有所区别。

表 2 不同浓度激素对愈伤组织诱导的影响

培养基	接种数/个	出愈数/块	出愈率/%
N1	25	10	40.0
N2	26	12	46.2
N3	26	15	57.7
N4	22	16	68.2
N5	25	16	64.0

在 N1 培养基上愈伤组织形成量少, 且多是出现在茎段的切口处, 茎段的四周不出现愈伤。随着 NAA 浓度的增大, 愈伤组织形成量增多, 在 N3 培养基上除切口出现愈伤组织外, 茎段的四周出现愈伤, 但到 N5 培养基上愈伤长势又有所下降, 因此认为在供试的 5 种培养基中, 以附加 6-BA 0.4 mg/L、NAA 1.2 mg/L 培养基对愈伤组织的诱导最佳(见图 1)。

2.3 茎段放置方式对愈伤组织诱导的影响

茎段的放置方式对于愈伤组织的诱导有明显影响, 试验结果表明横放方式诱导产生愈伤组织的数量明显高于竖放(见图 2)。

3 讨论

结果分析表明, 取材时间不同对愈伤组织诱导的影响可能与植物所处的生长时期不同有关。植物的生长时期可分为营养生长期和生殖生长期。当所取材料正处于营养生长期时, 薄荷细胞具有很强的分裂能力, 并且细胞比较幼嫩, 对激素反应比较灵敏, 在一定条件下就会很快分裂成新的细胞, 在组织培养脱分化阶段很快形成愈伤组织。相反, 当所取材料处于生殖生长期时, 茎内细胞分裂能力不强, 并且对激素反应比较迟钝, 使愈伤出现较晚, 较少。

在取材部位对愈伤组织诱导的影响试验中, 发现取茎段中部做试验材料对愈伤组织的诱导好于茎段基部和上部。取基部做材料时发现在愈伤组织出现以前, 茎段切口先皱缩, 几天以后才出现愈伤, 并且愈伤较少, 这可能与植物生理年龄有关, 而取茎段上部时出现茎段由绿色变成黑褐色并且基本上不长愈伤, 可能由消毒过度有关。激素对愈伤组织诱导的影响是由于生长素与细胞分裂素比例不同。生长素(如 NAA)影响细胞分裂、伸长、分化, 主要作用在于诱导愈伤组织的形成等。细胞分裂素(例如 6-BA)有促进细胞分裂, 分化, 延缓组织衰老, 增加蛋白质合成等作用。生长素和细胞分裂素比值大时有利于根的形成; 比值中等时只形成愈伤组织; 比值小时, 有利于芽的形成。该试验表 2 结果符合以上规律。茎段放置方式对愈伤组织诱导影响可能与植物极性, 植物体内营养物质的运输及材料与培养基的接触面积大小有关。另外试验中还发现 N1~N5 培养基上都长有根, 并且从 N1~N5 根数越来越多, 在 N4~N5 培养基上还出现侧根和气生根。试验显示 N4 培养基对诱导愈伤组织和根效果都比较好。如果将薄荷的组织培养应用于工厂化生产, 将会降低成本, 减少费用, 这还需要进一步探讨。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1977: 66-260-274.
- [2] 潘瑞炽, 王小菁, 李娘辉, 等. 植物生理学[M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2001: 174-186, 223-230.
- [3] 赖家业, 杨振德. 野薄荷的茎段培养[J]. 广西热作科技, 2000(3): 9-10.
- [4] 柴明良. 留兰香的试管繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1994(1): 30.
- [5] 赵恒田, 王新华, 班文杰, 等. 薄荷组培工厂化育苗技术[J]. 农业系统科学与综合研究, 2004, 20(1): 60-61.
- [6] 吴涛, 朱玉灵, 范泽民, 等. 薄荷茎尖生长点离体培养[J]. 安徽农学通报, 1997, 3(4): 17-18.
- [7] 师素云, 练兴明, 练启汉, 等. 薄荷离体培养愈伤组织诱导与植株分化[J]. 江苏农业科学, 2000(6): 27-28.

Study on Callus Inducing of Peppermint

LI Yan-hong

(Kaifeng Institute of Education, Department of Natural Science, Kaifeng, Henan 475004, China)

Abstract: The stem section of peppermint was used to induce callus on B5 medium containing 6-BA (0.4 mg/L) and various NAA levels. The results indicated that addition of 6-BA (0.4 mg/L) and NAA (1.2 mg/L) to B5 medium was better for the inducing of callus. The inducing results was better when the explants were placed horizontally than vertically.

Key words: Peppermint; Inducement; Callus; Research