

香辛植物龙蒿的组织培养技术研究

包建平,秦 勇,刘 娟,何贵香

(新疆农业大学园艺学院, 乌鲁木齐 830052)

摘 要:以龙蒿的茎、叶、花为外植体,将其置于 MS 附加不同浓度 BA 和 NAA 的培养基上,诱导分化、增殖。结果表明,最佳的增殖培养基为 MS+BA 0~0.3 mg/L(毫克/升)+NAA 0~0.04 mg/L(毫克/升),增殖率高。在生根培养基筛选中发现,用 NAA、IAA、IBA 三种激素处理龙蒿之后,激素 IBA 比 IAA、NAA 促进龙蒿生根的效果好。

关键词:龙蒿; 组织培养

中图分类号:S573<sup>+</sup>.9 文献标识码:B 文章编号:1001-0009(2005)05-0088-02

龙蒿(*Artemisia dracunculul* L.)又名狭叶青蒿、蛇蒿、椒蒿等,为菊科多年生草本植物。在法国、美国等地,当龙蒿未开花时割取绿叶及嫩茎的顶端部分,置于阴凉处阴干,以片状或粉状用于肉、禽、蛋类和番茄制品中作香辛料供食用。从龙蒿中提取的龙蒿油可作香料,主要用于肉糜、法国甜酒、调味品、糖果、饮料等食品中,是一种优良的食品添加剂。龙蒿可用于治疗风寒感冒、胃胀、消化不良,还曾经用于治疗水肿和抗坏血病等。龙蒿在我国分布较广,全国大部分地区均有分布,尤以北部及西北部较多,主要野生于河边、路边、草地、山坡等<sup>[1]</sup>。在新疆,龙蒿主要分布于海拔 500 m~2 500 m(米)的地区,其嫩茎叶可供食用,新疆温泉、吉木萨尔、巴里坤等县已对龙蒿进行加工并制成软包装销售。由于龙蒿采收的是其嫩茎叶,再加上牛羊的采食,使龙蒿植株难以正常开花结果;另外,野外采收的龙蒿种子秕子率高,发芽率低,用种子进行繁殖存在一定的困难,而通过组织培养,可以加速龙蒿的无性繁殖,为龙蒿的繁殖方法开辟一种新的途径,也为开发利用龙蒿这一资源提供基础性的研究结果。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料采自新疆农业大学园艺学院科研教学基地。

1.2 方法

1.2.1 建立无菌体系 在晴天的中午从健壮的植株上取材,取材时不能取有伤口或有病虫害的材料。将龙蒿茎、叶片、花剪下,放在流水中冲洗 1 h~2 h(小时)。培养基为 MS 基本培养基,加入 0.3%蔗糖,0.7%的琼脂,另加入 BA 1.0 mg/L(毫克/升)和 NAA 0.02 mg/L(毫克/升),pH 值为 5.3~6.0<sup>[2~4]</sup>。将实验材料、用品放进超净工作台中,紫外线灭菌 20 min(分钟)。将叶片剪成约 0.5 cm<sup>2</sup>(平方厘米)大小,茎剪成 1 cm(厘米)长的小段,从中剖开,用 70%~75%酒精浸泡茎、叶片和花 30 s(秒),再用 0.1%HgCl<sub>2</sub> 浸泡 6 min~8 min(分钟)后用无菌水冲洗 3~4 次,接入培养基中,放在温度为 25℃~28℃,光照强度 2 000 Lx~3 000 Lx(勒克斯),光照时间 14 h/d~16h/d(小时/天)的条件下培养。

培养基的消毒:培养基分装于三角瓶中,用塑料薄膜封

口,置于高压灭菌锅中,在 121℃~126℃(1.1 kg/cm(公斤/平方厘米)条件下消毒 20 min(分钟)<sup>[5]</sup>。

1.2.2 增殖培养 选择经初代培养长势整齐一致的茎段接入 MS 培养基中,加入不同的激素,激素范围是 0~0.4 mg/L(毫克/升)BA,0~0.10 mg/L(毫克/升)NAA(表 1)。茎段长度为 1 cm~1.5 cm(厘米),每处理 25 株,30 d(天)后统计其嫩茎增殖率。培养条件同上。

1.2.3 生根培养 以 MS、1/2MS 为基本培养基,分别加入 0~1.0 mg/L(毫克/升)IAA,0~1.0 mg/L(毫克/升)IBA,0~1.0 mg/L(毫克/升)NAA,进行对比实验。每处理接种 25 株,30 d(天)后统计其生根率、生根数以及根长。

表 1 不同浓度的激素组合对龙蒿增殖的影响

培养基 序号	激素浓度(mg/L)		平均嫩茎 增殖率	培养基 序号	激素浓度(mg/L)		平均嫩茎 增殖率
	BA	NAA			BA	NAA	
1	0	0.00	2.21	14	0.2	0.04	6.2
2	0	0.02	2.65	15	0.2	0.06	5.63
3	0	0.04	2.93	16	0.2	0.08	5.54
4	0	0.06	3.21	17	0.3	0.00	6.33
5	0	0.08	4.32	18	0.3	0.02	6.28
6	0	0.10	4.4	19	0.3	0.04	6.64
7	0.1	0.00	4.2	20	0.3	0.06	7.42
8	0.1	0.02	6.92	21	0.3	0.08	6.31
9	0.1	0.04	7.1	22	0.4	0.00	5.04
10	0.1	0.06	7.13	23	0.4	0.02	6.68
11	0.1	0.08	7	24	0.4	0.04	8.61
12	0.2	0.00	5.33	25	0.4	0.06	9.5
13	0.2	0.02	6.52	26	0.4	0.08	7.11

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对增殖的影响

通常来说,最优化的增殖体系不但要求有较高的增殖率,而且还要有正常的形态、颜色以及便于转接所需要的茎高。细胞分裂素 BA 与生长素 NAA 结合使用时,若生长素的相对浓度较高,则有利于细胞的增殖和根的分化;若生长素和细胞分裂素的相对浓度较高,则促进芽的分化<sup>[6]</sup>。实验中发现,在激素的刺激下,龙蒿形成大量的侧芽,当 BA 浓度过高时,易形成愈伤组织,引起侧芽丛生或产生玻璃化现象。在 BA 0~0.3 mg/L(毫克/升)范围内,龙蒿的嫩茎增殖率随着 BA 浓度的增大而呈上升趋势,且在同样的 BA 浓度下,附加 NAA 可明显提高嫩茎增殖率。单纯加入 NAA 对侧芽增殖作用不明显,但比对照仍有一定提高,嫩茎增殖率从 2.21 提高到 4.4。

而BA和NAA在适当范围内使用,BA 0 mg/L~0.3 mg/L(毫克/升)+NAA 0~0.04 mg/L(毫克/升)的MS培养基的增殖率高(表1),并且表现出茎较粗,叶色浓绿,节间长度适中;而其它激素水平组合增殖倍数较低,茎节间极短,叶片针状,叶片向上长,不利于下一步取材。因而认为龙蒿对激素比较敏感,在增殖过程中,需要较低的激素水平,尤其是对细胞分裂素。

2.2 生根培养基

诱导生根的方法有:降低培养基中盐类含量(如用减半的无机元素),减少糖含量(如用0.5%~1.0%),降低培养温度到20℃,培养的前10 d(天)黑暗处理以后再光照,施用生长素等等<sup>[7~9]</sup>。实验选用3种激素促使龙蒿生根,结果表明:激

表2 培养基对龙蒿生根的影响

培养基	激素浓度 (mg/L)	生根率 (%)	平均根数 (条)	平均根长 (cm)	培养基	激素浓度 (mg/L)	生根率 (%)	平均根数 (条)	平均根长 (cm)
1/2MS+IAA	0.2	93.0	4.6	3.79	1/2MS+IBA	0.2	93.0	9.2	5.28
	0.4	93.0	5	5.36		0.4	95.0	7.6	4.02
	0.6	90.0	7.8	4.57		0.6	95.0	9.33	4.48
	0.8	96.0	7.2	4.38		0.8	89.0	9	5.92
	1.0	90.0	5.4	4.4		1.0	89.0	6	4.56
1/2MS+NAA	0.2	92.0	4.75	3.98	MS+NAA	0.0	100.0	3.9	3.2
	0.4	86.0	4.75	3.81		0.2	81.0	5.4	5.45
	0.6	88.0	4	5.53		0.4	73.0	4.4	4.4
	0.8	88.0	4.75	4.94		0.8	76.0	7.8	4.15
	1.0	90.0	5	4.06		1.0	80.0	7.6	3.63

浓度为1%时,根长、根数都是最高的。随着蔗糖浓度的增高,其根长、根数都在降低(表3)。

表3 不同蔗糖浓度对龙蒿生根的影响

NAA(mg/L)	平均根长(cm)	平均根数(条)	生根率(%)
1/2MS+蔗糖10g 0.4	7.62	9.8	95
1/2MS+蔗糖20g 0.4	5.91	7	88
1/2MS+蔗糖30g 0.4	4.3	4.5	76

2.3 炼苗移栽

试管苗是在无菌、有营养供给、适宜的光照、温度和相对湿度环境中生长的,并有适宜的植物激素以调节其生长代谢等生理需要,一旦出瓶移栽,环境发生了不利于其生长的变化,例如湿度不会再保持100%,温度也没有培养室那样适宜等。要使试管苗大量移栽成活,就应尽可能地创造适宜于它生存的环境<sup>[10]</sup>。为此,在炼苗过程中,可首先揭去封口膜,用镊子轻轻地植株取出,用清水洗净根部黏附的培养基,放在装有少量清水的瓶中,每天进行换水。在气温较高,空气干燥时,对小苗进行叶面喷水,以提高空气湿度,减少叶片蒸腾,尽量接近培养瓶中的条件,使小苗始终保持挺拔的姿态。炼苗3 d(天)后,逐渐增加光照时间,一般早、晚让苗见光,中午前后适当遮荫,同时随时注意小苗叶片的变化,适时喷水。等到有新根长出后,先放入500 mg/L(毫克/升)的多菌灵中浸泡片刻,再移栽到已经高温消毒的沙土中。移栽2 d(天)后浇一次营养液,以后每隔一周左右浇一次,约20 d(天)苗生根后,即可移栽到大田中。本实验移栽了300株,成活率在93%以上。

3 结论

素IBA比IAA、NAA促进龙蒿生根的效果好。在MS培养基上,添加NAA可导致龙蒿生根,当NAA浓度超过1.0 mg/L(毫克/升)时,易形成愈伤组织或根细而少;而在1/2MS培养基上,IBA 0.2 mg/L~0.8 mg/L(毫克/升)范围内,生根数量增多,侧根数量也增加,但当IBA浓度超过0.6 mg/L(毫克/升)时,根多而细。用NAA、IAA、IBA 3种激素处理龙蒿之后,综合生根率、平均根长、平均根数三项指标,适宜生根培养的三种激素浓度范围是0.2 mg/L~0.6 mg/L(毫克/升)(表2)。

实验中发现1/2MS基本培养基比MS培养基更适合龙蒿生根。在龙蒿生根蔗糖浓度筛选过程中可以明显看出,龙蒿的生根受到培养基中蔗糖浓度的影响,当培养基中的蔗糖

试验结果表明,龙蒿的增殖可以用MS基本培养基,培养基中的激素成分、浓度对龙蒿增殖都会有影响。BA在增殖过程中起主要作用,易促进侧芽的形成,BA和NAA配合使用,增殖效果更明显。最佳增殖培养基是BA 0~0.3 mg/L(毫克/升)+NAA 0~0.04 mg/L(毫克/升)。龙蒿适宜的生根培养基为1/2MS+IBA 0.2 mg/L~0.8 mg/L(毫克/升)、1/2MS+IAA 0.2 mg/L~0.8 mg/L(毫克/升)、1/2MS+NAA 0.2 mg/L~0.8 mg/L(毫克/升),还可以降低培养基中的蔗糖浓度来提高生根率。在龙蒿炼苗移栽过程中,选择适宜的时间,移栽成活率较高。

参考文献:

[1] 陈连官.龙蒿资源的开发与利用[J].中国野生植物资源,29~30.  
[2] 赵国凡,王兴理.植物组织概论[M].大连:大连工学院出版社,1988;38~46.  
[3] 李浚明,韩碧文.植物组织培养教程[M].北京:北京农业大学出版社,1992;16~40.  
[4] 许继宏,马玉芳,陈锐平等.药用植物组织培养技术[M].北京:中国农业科学技术出版社,2003;1~18.  
[5] 熊丽,吴丽芳.观赏花卉的组织培养与大规模生产[M].北京:化学工业出版社,2003;54~62.  
[6] 王清连.植物组织培养[M].中国农业出版社,2002;24~29.  
[7] 颜昌敬.植物组织培养手册.上海:上海科学技术出版社,1990;355.  
[8] 桂耀林,马成.植物组织培养[M].北京:科学出版社,1985;213.  
[9] 章文才.组织培养在果树科学上的应用[J].果树科学,1986,(1);2~14.  
[10] 施延寿,魏凌基.大红枣试管苗生根及移栽的研究[J].石河子农学院学报,1996,14(2);33~36.