

# Ca<sup>2+</sup> 在驱蚊香草组织培养中对增殖和生根的影响\*

易 鑫, 万志刚, 顾福根

(苏州大学 生命科学学院, 江苏 苏州 215006)

**摘 要:** 在已经建立的驱蚊香草试管苗快速繁殖体系基础上, 在已经筛选出的最佳增殖和生根培养基中添加不同浓度的 Ca<sup>2+</sup> 进行增殖和生根试验. 结果表明: 适当提高 Ca<sup>2+</sup> 的浓度, 可以延长驱蚊香草试管苗的正常增殖生长周期; 不同浓度的 Ca<sup>2+</sup> 处理对驱蚊香草试管苗增殖的影响要大于对其生根的影响; 驱蚊香草试管苗体内 Ca<sup>2+</sup> 含量与试验培养基中 Ca<sup>2+</sup> 浓度成线性正相关.

**关键词:** 驱蚊香草; 组织培养; Ca<sup>2+</sup>; 增殖; 生根

**中图分类号:** TP393.07

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-2073(2006)03-0076-04

驱蚊香草, 属于天竺葵科天竺葵属的转基因植物, 不能自然繁殖. 人工扦插繁殖速度有限, 多次扦插植株退化. 采用组织培养的方法, 对于扩大驱蚊香草种源有着重要意义<sup>[1]</sup>. 在驱蚊香草的快速繁殖过程中, 如果不及时进行增殖转代培养, 超过 30d, 驱蚊香草的试管苗会逐渐衰老死亡. 如能克服驱蚊香草试管苗的这种早衰特性, 将有利于减轻驱蚊香草组织培养过程中的生产压力. 而 Ca<sup>2+</sup> 作为植物必需的营养元素, 在提高植物的抗逆性, 延缓衰老以及促进生根等方面也起着重要作用<sup>[2-4]</sup>. 在驱蚊香草的组织培养过程中, Ca<sup>2+</sup> 对驱蚊香草的增殖和生根的影响还尚未见报道. 本试验在已经筛选出的最佳增殖和生根培养基中添加不同浓度的 Ca<sup>2+</sup> 进行增殖和生根试验, 以检测 Ca<sup>2+</sup> 对驱蚊香草试管苗的增殖和生根的影响.

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

试验材料: 驱蚊香草(*pelargonium citrosum Vanleonii*)的试管苗.

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 驱蚊香草试管苗的建立

驱蚊香草购于苏州市花鸟市场, 取其腋芽作为外植体, 在自来水下冲洗 1~2 h, 在无菌条件下, 外植体用 75% 的酒精灭菌 5 s, 再用 0.1% 的升汞灭菌 5 min, 用无菌水冲洗 5~6 次, 然后接种在启动培养基[MS + 6-BA 1.0(mg·L<sup>-1</sup>, 单位下同) + NAA 0.05 + 3% 蔗糖]上, 进行培养后得到试验用的驱蚊香草试管苗. 并且在已经筛选出最佳的增殖培养基(MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.03 + 3% 蔗糖)和生根培养基(1/2 MS + NAA 1.0 + 1.5% 蔗糖)的基础上, 在培养基中添加 0~12 mmol·L<sup>-1</sup> 浓度的 Ca<sup>2+</sup>, 进行 Ca<sup>2+</sup> 对驱蚊香草试管苗的增殖和生根的影响试验. 上述培养基均加 0.7% 琼脂, pH 值为 5.8, 在 121℃ 高压下蒸汽灭菌 20min, 冷却凝固后备用. 培养温度为 25℃ ± 1℃, 光照度 1500~2000 Lx, 光照时间为 12 h·d<sup>-1</sup>.

#### 1.2.2 驱蚊香草增殖培养中 Ca<sup>2+</sup> 浓度试验

当驱蚊香草试管苗的丛生芽叶长达 2~3 cm 时, 将丛生芽均匀切割, 转入添加了不同浓度 Ca<sup>2+</sup> 的增殖培养基中培养. 增殖培养基中所含 Ca<sup>2+</sup> 浓度分别为 0 mmol·L<sup>-1</sup>、3 mmol·L<sup>-1</sup>、6 mmol·L<sup>-1</sup>、12 mmol·L<sup>-1</sup>. 25 d 后取一部分进行增殖转代统计增殖率, 并取样测定植株的含 Ca<sup>2+</sup> 量, 其余留下统计驱蚊香草试管苗正常生长增殖周期.

#### 1.2.3 驱蚊香草生根培养中 Ca<sup>2+</sup> 浓度试验

将正常增殖培养后的驱蚊香草丛生芽切开后, 取苗(叶)高 3 cm 左右, 健壮、大小均一的试管苗转入添加

\* 收稿日期: 2006-01-08

作者简介: 易 鑫(1978-), 女, 江苏通州人, 硕士研究生, 主要研究方向细胞生物学.

了不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  的生根培养基中进行生根培养. 生根培养基中所含  $\text{Ca}^{2+}$  浓度分别为  $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . 10d 后开始统计生根情况, 20d 后取一部分驱蚊香草试管苗进行移栽试验, 其余留下继续观察其生长和生根的差异.

#### 1.2.4 驱蚊香草的 $\text{Ca}^{2+}$ 测试

称取适量(0.2 g)的驱蚊香草试管苗烘干, 灰化, 冷却后加入 HCl(优级纯)溶解灰化物, 并加热蒸发, 然后加入双蒸水溶解作为待测液, 用比色法测定驱蚊香草的  $\text{Ca}^{2+}$  含量<sup>[5-6]</sup>.

## 2 实验结果

### 2.1 培养基中 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度对驱蚊香草增殖的影响

以增殖培养基中所含  $\text{Ca}^{2+}$  浓度分别为  $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的浓度梯度进行增殖培养, 发现驱蚊香草的各种增殖处理中, 驱蚊香草试管苗增殖率差异不大, 但发现原来 30 d 后开始衰老死亡的驱蚊香草试管苗, 随着培养基中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, 正常增殖生长周期也随着相应增加(图 1). 通过测定同期生长的各处理驱蚊香草试管苗, 发现在试验浓度范围内植株含  $\text{Ca}^{2+}$  量与试验培养基中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度成线性正相关(图 2).

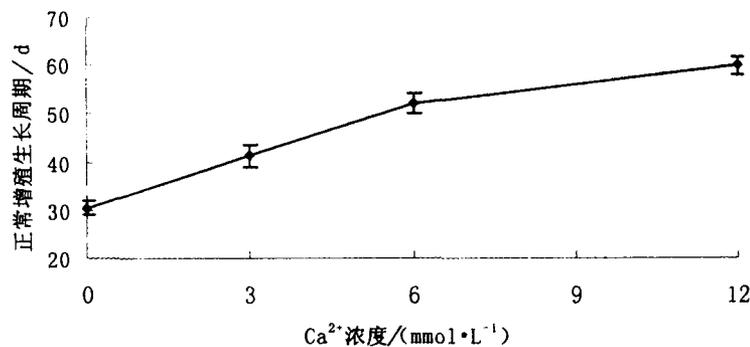


图 1 不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度处理驱蚊香草试管苗后的正常增殖生长周期

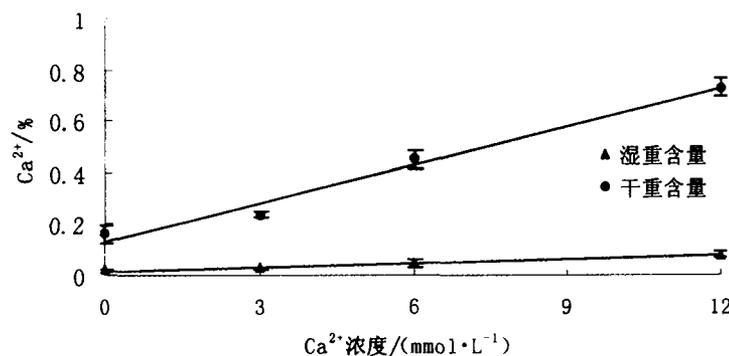


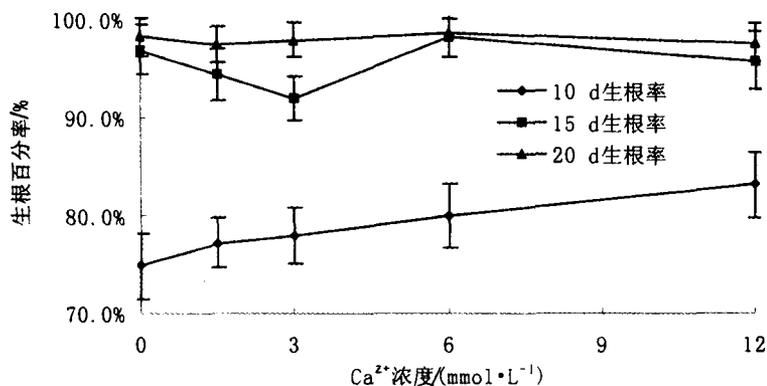
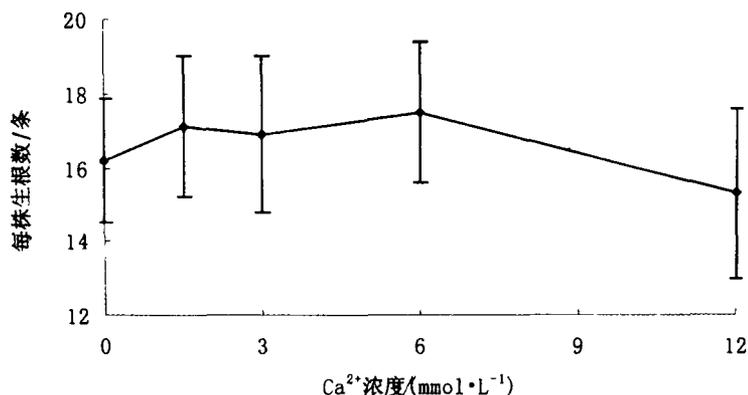
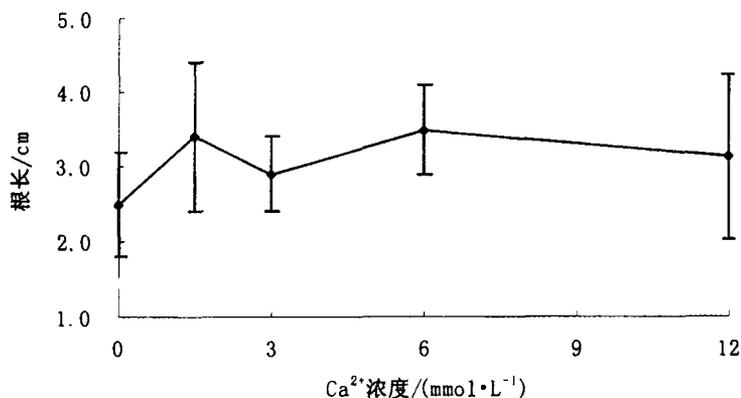
图 2 不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度处理驱蚊香草试管苗后其湿重和干重中含  $\text{Ca}^{2+}$  (%)

### 2.2 培养基中 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度对驱蚊香草生根的影响

以生根培养基中所含  $\text{Ca}^{2+}$  浓度分别为  $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的浓度梯度进行生根培养, 发现驱蚊香草的各种生根处理中生根率(图 3)及根数(图 4)、根长(图 5)相差明显, 移栽试验中的成活率和长势差异不大, 也未见明显的早衰现象.

## 3 讨论

以不同  $\text{Ca}^{2+}$  浓度对驱蚊香草试管苗进行增殖培养, 发现其增殖率差异不大, 即驱蚊香草在试管中的正常生长量差异不明显; 但发现随着培养基中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高, 驱蚊香草试管苗正常增殖生长周期则相应延

图3 不同 Ca<sup>2+</sup> 处理驱蚊香草试管苗生根率图4 20 d 不同 Ca<sup>2+</sup> 处理驱蚊香草试管苗生根数图5 20 d 不同 Ca<sup>2+</sup> 处理驱蚊香草试管苗根长

长.因此,适当提高培养基中 Ca<sup>2+</sup> 的浓度,可以延长驱蚊香草试管苗的继代时间,有利于统筹增殖生产,也有利于在适当的时候进行集中生根,提高驱蚊香草组织培养的效率.这种适当提高培养基中 Ca<sup>2+</sup> 的浓度,可以延长试管苗的继代时间,在其它植物的组织培养中是否有相同的现象,在各种植物的试管苗种质保存中是否具有应用价值,有待于进一步研究.驱蚊香草试管苗的培养过程中,如果培养基中缺 Ca<sup>2+</sup>,容易导致驱蚊香草试管苗早衰,这与典型的植物缺 Ca<sup>2+</sup> 症状有所不同.一般情况下植物缺 Ca<sup>2+</sup> 时,其植株生长受抑制,严重时幼嫩器官(根尖,茎端)溃烂坏死<sup>[7]</sup>.而在试验中同时对红叶石南试管苗进行缺 Ca<sup>2+</sup> 处理时,其表现为尖端生长点坏死,出现比较典型的植物缺 Ca<sup>2+</sup> 症状.这种同样的处理,在不同植物的试管苗生长中出现不同的结果,从生态学的角度上看,可能是因为驱蚊香草是草本植物,其试管苗生长迅速,而红叶石南是木本植物,其试管苗生长相对缓慢.由于遗传上的差异,快速生长种群对敏感营养期的典型反应是促进叶片衰老和从老叶中吸取养分用于形成新的组织,而慢速生长种群通过影响叶片的衰老和分配方式延缓新组织的产生<sup>[8]</sup>.驱

蚊香草组织培养中在培养基中增加 Ca<sup>2+</sup> 浓度,可以相应延长其正常增殖生长周期,和李名迪等报道的适宜浓度的 Ca<sup>2+</sup> 能够抑制叶片衰老相一致,其机理可能主要是推迟并抑制乙烯、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 等的形成,提高和保护超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性,促进离子型细胞壁过氧化物酶(POD)从细胞壁向细胞质释放,增加可溶性 POD 活性,阻止了磷脂和叶绿体蛋白复合体的降解,保持了叶绿体膜的完整性,维持了较高的基粒类囊体的数目<sup>[9]</sup>;降低脂氧合酶(LOX)的活性,减轻膜脂过氧化,并减少丙二醛(MDA)的产生,维持了膜的稳定性<sup>[3]</sup>;同时 Ca<sup>2+</sup> 作为重要的信使物质也调节着衰老的发生<sup>[2]</sup>. 对于驱蚊香草组织培养中在培养基中增加 Ca<sup>2+</sup> 浓度时其自由基及保护酶的变化等还有待于进一步研究.

在一定浓度范围内,驱蚊香草试管苗植株含 Ca<sup>2+</sup> 量与试验培养基中 Ca<sup>2+</sup> 浓度成线性正相关. 在红叶石南的组织培养中也有类似现象,只是含 Ca<sup>2+</sup> 量不如驱蚊香草试管苗高. 说明由于遗传上的不同,各种植物富集 Ca<sup>2+</sup> 的能力不同. 驱蚊香草试管苗可以富集钙,由此启示我们是否可以考虑在日常的蔬菜生产中进行富钙培育,或筛选耐高钙及高效富集钙的蔬菜新品种,以改善我国人口普遍缺钙的现状.

以不同 Ca<sup>2+</sup> 浓度对驱蚊香草试管苗进行生根培养,表明对其的生根影响不大;而对红叶石南进行同样的处理,发现在生根培养基中适当提高 Ca<sup>2+</sup> 浓度,其早期生根率有明显提高,但随着时间的推移生根率的差别逐渐缩小. 这种 Ca<sup>2+</sup> 促进驱蚊香草和红叶石南生根能力的不同可能是因为前者是草本植物,本身有较强的生根能力,比较容易生根,而后者是木本植物,试管苗的生根能力相对较弱有关. 对于这种 Ca<sup>2+</sup> 促进不同植物试管苗生根能力差异的机理,还有待于进一步深入研究.

#### 参考文献:

- [1] 何俊蓉. 驱蚊香草的栽培管理[J]. 四川农业科技, 2005, 7: 27-28.
- [2] 杨廷良, 崔国贤, 罗中钦, 等. 钙与植物抗逆性研究进展[J]. 作物研究, 2004(3): 54-58.
- [3] 王亚琴, 张康健, 黄江康. 植物衰老的分子基础与调控[J]. 西北植物学报, 2003, 23(1): 182-189.
- [4] 关军锋. 果树钙素营养与生理[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [5] 勒香宝. 偶氮Ⅲ比色法测定血清钙[J]. 中华医学检验杂志, 1994, 17(5): 281.
- [6] 蒲永红, 张鹏雁. 发钙的快速测定法[J]. 四川省卫生管理干部学院学报, 1998, 17(4): 201-202.
- [7] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004.
- [8] 张国平, 周伟军. 植物生理生态学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2005.
- [9] 李名迪, 魏冬, 颜满莲, 等. 水稻叶片的活性氧及衰老调控[J]. 江西农业学报, 2005(3): 75-78.

## Effects of Ca<sup>2+</sup> on proliferation and rooting of pelargonium citrosum Vanleenii

YI Xin, WAN Zhi-gang, GU Fu-gen

(School of Life Sciences, Suzhou Univ., Suzhou 215006, China)

**Abstract:** Based on the established optimal tissue culture system for pelargonium citrosum Vanleenii, the different concentrations of Ca<sup>2+</sup> were supplemented into the media to test their effects on proliferation and rooting of pelargonium citrosum Vanleenii. It was found that Pelargonium citrosum Vanleenii proliferation period can be prolonged in proper concentration of Ca<sup>2+</sup>. It was also found that Ca<sup>2+</sup> erected more influences on proliferation than on rooting of Pelargonium citrosum Vanleenii. Moreover, the Ca<sup>2+</sup> levels in the test-tube plantlets were measured, the results showed that Ca<sup>2+</sup> levels in plantlets presented positive correlation with those in the media.

**Key words:** pelargonium citrosum Vanleenii; tissue culture; Ca<sup>2+</sup>; proliferation; rooting

(责任编辑: 耳 东)