

蚊净香草的离体快繁工艺

刘学英 (潍坊学院生物工程学院, 山东潍坊 261000)

摘要 [目的] 研究蚊净香草试管繁殖的诱导、分化、继代、生根、移栽等过程, 筛选优良试管苗。[方法] 以蚊净香草的侧芽、展开幼叶为外植体, 以 MS 为基本培养基, 加不同浓度的 6-BA、IAA, 进行外植体的启动培养。[结果] 侧芽适宜的诱导培养基为 6-BA 0.2 mg/L + IAA 0.1 mg/L; 叶片和叶柄的最佳诱导分化培养基为 6-BA 0.5 ~ 1.0 mg/L + IAA 0.25 ~ 0.50 mg/L; 快速繁殖培养基以 6-BA 0.2 mg/L + IAA 0.1 mg/L 最好; 生根培养基以 1/2MS + NAA 0.2 mg/L 效果较好; 适宜的移栽基质为草炭: 蛭石: 珍珠岩 = 3:2:1。[结论] 移栽时用保护性杀菌剂多菌灵等防止杂菌的滋生, 可以有效提高移栽成活率。

关键词 蚊净香草; 离体快繁; 工艺流程

中图分类号 S603.6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)23-09893-03

Rapid Propagation Technique *in vitro* of *Pelargonium odoratissimum*

LIU Xue-ying (Bioengineering College, Weifang University, Weifang, Shandong 261000)

Abstract [Objective] The research aimed to study the tube propagation process of induction, differentiation, subculture, rooting, transplanting of *P. odoratissimum*, and to screen fine tube seedlings. [Method] The lateral bud and spread young leaf of *Pelargonium odoratissimum* was used for explant, MS for basic medium, adding different contents 6-BA, TAA. Then the initiation culture of explant was carried out. [Result] The superior induction medium of lateral bud was 6-BA 0.2 mg/L + IAA 0.1 mg/L. The superior inductive differentiation medium of leaf and petiole was 6-BA 0.5 ~ 1.0 mg/L + IAA 0.25 ~ 0.50 mg/L. The superior rapid propagation medium was 6-BA 0.2 mg/L + IAA 0.1 mg/L. The superior rooting medium was 1/2MS + NAA 0.2 mg/L. The suitable ratio of transplanting medium for peat:vermiculite:perlite was 3:2:1. [Conclusion] Protective fungicide such as carbendazim was used to inhibit mixed bacterium. And the rate of transplanting could be improved at the same time.

Key words *Pelargonium odoratissimum*; Rapid propagation *in vitro*; Technological process

蚊净香草 (*Pelargonium odoratissimum*) 是牻牛儿苗科天竺葵属多年生常绿植物, 它是澳大利亚植物学家迪克用 13 年时间, 通过植物细胞分离、细胞基因重组融合生物转基因技术, 改变天竺葵属植物的染色体结构, 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, 合成的具有新遗传结构的芳香类植物。它具有天竺葵的释放功能和香茅草中的香茅醛物质, 能释放含香茅醛的柠檬香味, 具有驱避蚊虫、净化空气、消除烟味作用和绿化观赏价值, 同时具有提神醒脑、抗菌、抗忧郁、缓解压力的作用。1 盆茎高 30 cm 左右, 具有 40 张叶片以上的驱蚊香草, 有效驱蚊面积可达 15 m² 左右。蚊净香草只开花不结果, 不能进行有性繁殖, 常规繁殖用扦插或分株法繁殖, 但受繁殖用材和季节的限制繁殖系数极低, 速度慢。组织培养可以大大提高繁殖系数和缩短繁殖时间, 是实现周年性生产供应的最佳手段。

该试验从蚊净香草的侧芽、幼嫩叶片作外植体开始, 研究试管繁殖的诱导、分化、继代、生根、移栽等过程, 找出一套最佳工艺流程, 培育适宜工厂化生产, 及时满足生产上大量需求的良好试管苗。

1 材料与方

1.1 材料 选取生长旺盛的盆栽蚊净香草, 于室内培养 2 周左右, 以刚萌发的侧芽和展开的幼嫩叶片作外植体。

1.2 方法 于晴天的下午切取刚萌发的侧芽和展开的幼嫩叶片, 置烧杯中用纯净水冲洗 10 min。在超净工作台上用 70% 酒精浸泡 10 s, 再用加 2 滴 0.1% 升汞溶液浸泡 6 ~ 8 min, 不断摇动, 消毒后用无菌水冲洗 5 ~ 6 次, 侧芽剥去外层叶片, 幼叶切成 0.5 cm² 小块, 分别接种于诱导培养基中, 每瓶接种 1 个外植体。以 MS 作基本培养基, 加浓度 30 g/L

蔗糖, 浓度 5.5 g/L 琼脂, 添加不同浓度的 BA、IAA, 用浓度 1 mol/L 的盐酸或氢氧化钠调节 pH 值至 5.8。培养室温度设定为 (25 ± 2) °C, 光照强度 2 000 ~ 3 000 lx, 每日光照 13 h。

将上述诱导出的不定芽接种到含不同激素组合的增殖培养基中, 进行不定芽的增殖和壮苗培养, 继续分割芽丛成芽丛小块接种于增殖培养基上进行快速扩繁。

将经过增殖和壮苗的蚊净香草无菌苗切成单株, 转到生根培养基中进行生根培养。蚊净香草试管苗生根后, 将生根苗移置于温室中炼苗 3 d, 打开瓶口, 倒入清水摇动, 小心取出试管苗, 洗净根上附着的琼脂, 用 600 倍多菌灵浸泡, 移栽到不同配比的混合基质中, 用 600 倍多菌灵喷洒, 覆膜保湿并遮阴, 15 d 后逐渐揭膜通风, 其成活率可达 95% 以上, 1 个月后移栽到花盆中。

2 结果与分析

2.1 蚊净香草繁殖情况

2.1.1 侧芽的诱导。 接种后 5 d 侧芽膨大, 基部稍有愈伤, 2 周后侧芽开始萌动, 4 周左右侧芽的外层叶片伸长达 1.5 cm, 有芽长出 (见图 1), 其中 Q1 号培养基最适宜于侧芽的生长, 侧芽生长情况见表 1。

表 1 不同激素对比对侧芽萌发的影响

Table 1 Effects of hormone combinations on the germination of lateral buds

序号 No.	6-BA mg/L	IAA mg/L	接种芽数//个 Number of inoculated bud	萌发数//个 Germination number	诱导率//% Induction rate
Q1	0.2	0.1	20	18	90
Q2	0.5	0.1	20	15	75
Q3	0.5	0.2	20	16	80
Q4	1.0	0.1	20	12	60
Q5	1.0	0.2	20	13	65
Q6	1.0	0.5	20	15	75

作者简介 刘学英 (1967 -), 女, 山东滨州人, 副教授, 从事生物学方面的研究。

收稿日期 2008-05-29



图1 侧芽萌发

Fig. 1 Germination of lateral buds

2.1.2 叶片愈伤组织的诱导与芽的分化。接种1周后叶片膨大,2周带叶柄的叶片叶柄极度伸长达1.5 cm,形成愈伤组织,初为淡绿色,后转为深绿色,5周左右愈伤组织块上不

断出现绿色的芽点,继而分化出丛生芽(见图2),其中Q10号培养基适宜于叶片愈伤组织的诱导和芽的分化,叶片愈伤组织芽分化情况见表2。



图2 叶片愈伤组织分化出芽

Fig. 2 Callus differentiation and bud emergence from leaves

表2 不同激素配合对叶片愈伤组织的诱导和芽分化的影响

Table 2 Effects of hormone combinations on leaf callus induction and bud differentiation

序号 No.	6-BA mg/L	IAA mg/L	外植体个数//个 Number of explants	愈伤组织诱导率//% Induction rate of callus	分化芽数//个 Number of differentiated bud	不定芽分化率//% Differentiation rate of adventitious bud
Q7	1.0	0.5	30	70	36	53
Q8	1.5	0.5	30	73	40	60
Q9	2.0	0.5	30	77	50	67
Q10	2.0	0.2	30	80	62	70

2.1.3 丛生芽的增殖。将上述分化出的小芽和小芽丛块切下接种于Q1~Q4、Q10、Q11号培养基上,3周左右形成芽丛,以Q1和Q11号培养基表现最好,适宜于蚊净香草的继代增殖,叶片的高度可达3~4 cm以上,增殖倍数可达6~7倍(见表3)。继续分割芽丛成芽丛小块接种于Q1号培养基上

进行继代培养,每3周继代1次。培养3~4代后转接到Q11号培养基中以利于茎节伸长(图3)。

在增殖过程中随BA浓度的增加,增殖倍数有所增加,但有效增殖倍数(成苗率)呈下降趋势(见图4)。

2.1.4 生根。蚊净香草试管苗生根采用1/2MS作基本培养

表3 不同激素比对丛生芽增殖的影响

Table 3 Effects of hormone combinations on adventitious buds proliferation

序号 No.	6-BA mg/L	IAA mg/L	接种芽苗块数//个 Inoculated bud number	增殖倍数 Proliferation times	生长情况 Growth status
Q1	0.2	0.1	40	6.8	叶色浓绿,生长健壮 Dark green leaves, strong growth
Q2	0.5	0.1	40	6.1	叶色稍淡,稍弱 Relatively light leaf color, relatively weak growth
Q3	0.5	0.2	40	6.3	叶色稍淡,比较正常 Relatively light leaf color, normal growth
Q4	1.0	0.1	40	5.7	叶色淡黄,少数玻璃化 Light yellow leaf, few vitrification
Q10	2.0	0.2	40	5.4	叶色淡黄,大部分玻璃化 Light yellow leaf, most vitrification
Q11	0.2	0.1 + GA0.5	40	6.5	叶色黄绿,生长正常 Yellow green leaf, normal growth



图3 试管苗增殖

Fig. 3 Proliferation of tube seedlings

基,添加不同浓度的NAA,以Q14号培养基效果最好,生根时间短,生根率高,每株生根高者可达20条(见图5),不添加任何激素也能生根,但生根时间长,生根率稍低,结果见表4。

2.1.5 移栽。移入温室的蚊净香草试管苗经3~5 d的驯化

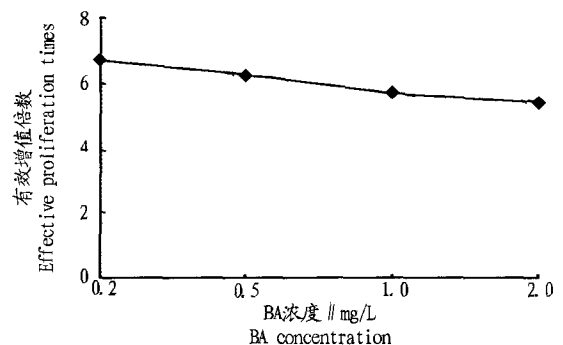


图4 BA浓度对蚊净香草有效增殖倍数的影响

Fig. 4 Effects of BA concentration on the effective proliferation times of Mozzie buster

后,移栽到草炭:蛭石:珍珠岩=3:2:1的混合基质中成活率最高,用72孔的育苗穴盘装混合基质(见表5)。在混合基质中

培养 1~2 个月再移栽到花盆中(见图 6、图 7)。



图 5 试管苗生根

Fig. 5 Rooting of tube seedlings

表 4 不同激素配比对试管苗生根的影响

Table 4 Effects of different hormone combinations on the rooting of tube seedlings

序号 No.	NAA mg/L	生根时间//d Rooting time	平均根数//条 Average root number	生根率//% Rooting rate
Q12	0	13	9	96
Q13	0.1	11	12	98
Q14	0.2	9	16	100
Q15	0.3	10	13	97

表 5 不同移栽基质对蚊净香草试管苗移栽成活率的影响

Table 5 Effects of transplanting medium on the transplanting survival rate of *Mozzie buster* tube seedlings

基质序号 Medium No.	草炭 Peat	蛭石 Vermiculite	珍珠岩 Perlite	成活率//% Survival rate
1	3	2	1	95.8
2	1	1	0	92.7
3	1	0	1	94.3

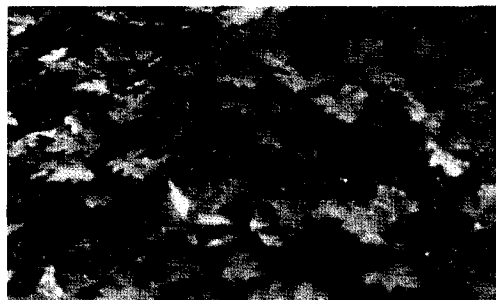
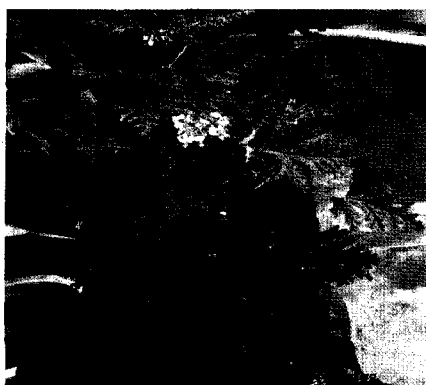


图 6 移栽成活的试管苗

Fig. 6 Survival tube seedlings after transplanting



2.2 离体快繁生产工艺流程

幼嫩叶片(或侧芽)

↓ [0.1% HgCl 消毒 6~8 min]
↓ [MS + BA 2.0 mg/L + IAA 0.2 mg/L]

丛生芽块

↓ [MS + BA 0.2 mg/L + IAA 0.1 mg/L]
↓ [3~4 代或生根之前用 MS + BA 0.2 mg/L
+ IAA 0.1 mg/L + GA 0.5 mg/L]

继代增殖

↓ [1/2MS + NAA 0.2 mg/L]

生根培养

↓ [草炭:蛭石:珍珠岩 = 3:2:1 的混合基质]
↓ [600 倍多菌灵浸泡并喷洒]

移栽

3 讨论

蚊净香草属于草本植物,繁殖系数较高,用组织培养的方法可在短时间内获得大量的优质组培苗。由于侧芽数量有限,因此,建议生产过程中以刚展开的幼嫩叶片作外植体,可以产生大量的愈伤组织,不用更换分化培养基,可以直接分化出大量的小芽,继而形成芽丛小块。开始形成的小芽是短缩茎,很难分割成单芽,在快速繁殖过程中,必须切割成芽丛小块进行继代增殖,试管苗生根之前,用添加 GA 的培养基进行过渡培养,拉长茎节,有利于分切成单株。由于蚊净香草繁殖系数高,容易出现玻璃化,工厂化生产追求的是成苗率,不能盲目追求过高的繁殖系数,造成浪费,增加生产成本,所以该试验采用较低的激素浓度来进行继代扩繁,繁殖系数基本不受影响,大大提高成苗率,非常适宜于工厂化生产。

移栽基质选用不同比例的草炭、蛭石、珍珠岩混合基质中,上述基质中的珍珠岩颗粒较大,疏松透气又保水,可以有效地提高蚊净香草试管苗的移栽成活率。加上生根苗的药剂浸泡和栽后药剂喷洒会有效的抑制杂菌孽生,提高移栽成活率。

参考文献

- [1] 张绪勋. 环保高科技植物——驱蚊香草[J]. 园林, 2003(8): 23.
- [2] 胡本祥, 张琳, 杨鲁. 蚊净香草的组织培养研究[J]. 陕西中医学院学报, 2005(9): 56-57.
- [3] 李庆伟, 梁明勤, 杨红丽. 蚊净香草组培快繁技术研究初报[J]. 中国农学通报, 2005(12): 299-300.
- [4] 孙世孟, 王维华, 姜树鹏, 等. 驱蚊草离体培养及快速繁殖[J]. 莱阳农学院学报, 2004(4): 310-311.
- [5] 石文山, 李树丽. 解囊驱蚊草的离体快速繁殖技术[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(13): 3019-3024.
- [6] 庞发虎, 周索, 杜瑞卿. 驱蚊香草组织培养技术研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(13): 3045-3046.
- [7] 张玉翠, 王连翠. 驱蚊草的快速繁殖技术[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(16): 4014.
- [8] 孙书伟. 驱蚊草的快速繁殖研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(17): 5099, 5142.
- [9] 庞发虎, 张良, 刘飞. 不同培养条件对驱蚊香草愈伤组织诱导的研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(3): 682-683.