

蚊净香草的离体快速繁殖工艺流程

唐旭日 石文山

(山东省滨州职业学院 滨州 256603)

摘要:以蚊净香草的侧芽、展开幼叶为外植体,以MS为基本培养基,附加不同浓度的6-BA、IAA,进行外植体的启动培养。结果为:侧芽适宜的诱导培养基为6-BA0.2 mg/L(单位下同)+IAA0.1,叶片和叶柄的最佳诱导分化培养基为6-BA0.5~1.0 +IAA0.25~0.5。快速繁殖培养基以6-BA0.2+IAA0.1最好。生根以1/2MS+NAA0.2效果较好。适宜的移栽基质为草炭3:蛭石2:珍珠岩1,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

蚊净香草(*moszie buster*)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,合成的芳香类具有新的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、绿化观赏,同时具有提神醒脑、抗菌、抗忧郁、缓解压力的作用。一盆茎高30cm左右、具有40张叶片以上的驱蚊香草,有效驱蚊面积可达15m²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。

本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,适宜工厂化生产,及时满足生产上大量需求的良种试管苗。

作者简介:唐旭日(1964-),男,山东平度人,滨州职业学院生物工程系副教授,主要从事果树生理和组培育苗工作。

电话:13001520401 E-mail:wenshanshi88@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 供试材料

选取生长旺盛的盆栽蚊净香草,于室内养殖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

晴天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10min。在超净工作台上用70%酒精浸泡10秒钟,再用加2滴土温的0.1%升汞溶液浸泡6~8min,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0.5cm²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,附加30g/L的蔗糖,5.5g/L的琼脂,添加不同浓度的BA、IAA,用1N的盐酸或氢氧化钠调节pH5.8。培养室温度设定为25±2℃,光照强度2000~3000Lx,每日光照13h。

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3d,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,覆膜保湿并遮阳,15d后逐渐揭膜通风,其成活率可达95%以上。1月后移栽到花盆中。

2 结果与分析

2.1 侧芽的诱导

接种后5d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1.5cm,有芽长出(见图版1),其中(Q1)号培养基最适宜于侧芽的生长。结果见表1。

表1 不同激素配比对侧芽萌发的影响

序号	6-BA (mg/L)	IAA (mg/L)	接种芽数(个)	萌发数(个)	诱导率(%)
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

2.2 叶片愈伤组织的诱导和芽的分化

接种1周后叶片膨大,2周带叶柄的叶片叶柄极度伸长达1.5cm,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(见图版2),以(Q10)号培养基适宜于叶片愈伤组织的诱导和芽的分化。结果见表2。

表2 不同激素组合对叶片愈伤组织的诱导和芽分化的影响

序号	6-BA (mg/L)	IAA (mg/L)	外植体个数	愈伤组织诱导率	分化芽数(个)	不定芽分化率(%)
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

2.3 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3~4cm上,增殖倍数可达6~7倍(见图版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周继代一次。培养3~4代后转接到(Q11)号培养基中以利于茎节伸长(见图版3)。

表3 不同激素组合对丛生芽增殖的影响

序号	6-BA (mg/L)	IAA (mg/L)	接种芽苗块数	增殖倍数	生长情况
Q1	0.2	0.1	40	6.8	叶色浓绿,生长健壮
Q2	0.5	0.1	40	6.1	叶色稍淡,稍弱
Q3	0.5	0.2	40	6.3	叶色稍淡,比较正常
Q4	1.0	0.1	40	5.7	叶色淡黄,少数玻璃化
Q10	2.0	0.2	40	5.4	叶色淡黄,大部玻璃化
Q11	0.2	0.1+GA0.5	40	6.5	叶色黄绿,生长正常

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1。

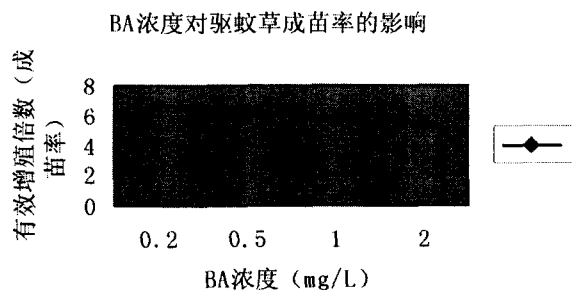


图1 BA浓度对蚊净香草有效增殖倍数的影响

2.4 生根

蚊净香草试管苗生根采用1/2 MS作基本培养基,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(见图版4),不添加任何激素的也能生根,但生根时间长,生根率稍低。结果见表4。

表4 不同激素配比对试管苗生根的影响

序号	NAA (mg/L)	生根时间(d)	平均根数(条)	生根率(%)
Q12	0	13	9	96
Q13	0.1	11	12	98
Q14	0.2	9	16	100
Q15	0.3	10	13	97

2.5 移栽

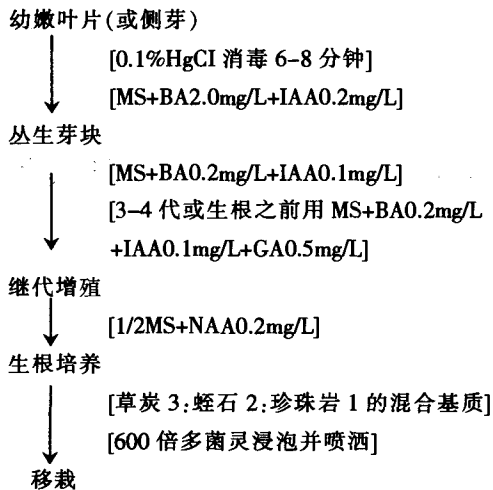
移入温室的蚊净香草试管苗经3~5d的驯化后,移栽到草炭3:蛭石2:珍珠岩1的混合基质中成活率

表5 不同的移栽基质对蚊净香草
试管苗移栽成活率的影响

基质序号	草炭	蛭石	珍珠岩	成活率(%)
1	3	2	1	95.8
2	1	1	0	92.7
3	1	0	1	94.3

最高,用72孔的育苗穴盘装混合基质(结果见表5)。在混合基质中培养1~2个月再移栽到花盆中。见图版5、6。

3 离体快繁生产工艺流程



4 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,很容易出现玻璃化,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,所以本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

制杂菌孳生,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.园林,2003,8:23
- [2] 胡本祥,张琳,杨鲁.蚊净香草的组织培养研究.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.中国农学通报,2005,12:299-300
- [4] 孙世孟等.蚊净香草离体培养及快速繁殖.莱阳农学院学报,2004,4:310-311
- [5] 石文山,李树丽.解醛蚊净香草的离体快速繁殖技术.安徽农业科学,2006,13



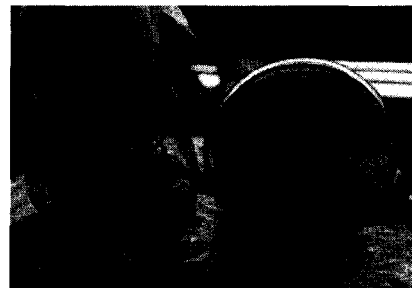
图版1 侧芽萌发



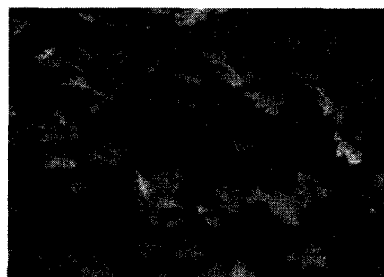
图版2 叶片愈伤组织分化出芽



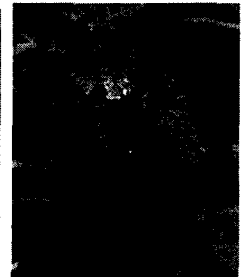
图版3 试管苗增殖



图版4 试管苗生根



图版5 移栽成活的试管苗



图版6 试管苗开花