

# 水体生态修复中蚊净香草快繁技术研究

周小锋 (杭州职业技术学院, 浙江杭州 310002)

**摘要** 以蚊净香草的腋芽为外植体,研究了不同激素浓度的培养基对芽的诱导、增殖、生根及移栽的影响。结果表明,0.1%升汞对蚊净香草的腋芽灭菌8 min,1/2MS培养基中诱导率为58.3%;增殖最适培养基是MS+BA 0.2 mg/L + NAA 0.05 mg/L,增殖倍数为10.04;最佳生根培养基为1/2MS+IBA 0.05 mg/L(液体),生根率100%,移栽到相应的蛭石+泥炭基质中,成活率达95%以上。在生根时采用液体培养,成功解决了蚊净香草试管苗移栽成活率低的难题,也为其他植物的快繁研究提供了借鉴。

**关键词** 蚊净香草;组培;快繁

**中图分类号** Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)15-0442-01

在天然条件下,蚊净香草是不育的转基因植物,只能进行无性繁殖,而常规的扦插繁殖不但繁殖量少、速度慢,且易感染病害,影响其功效的发挥。通过组织培养技术可有效解决以上问题,还可通过茎尖脱毒技术得到品质优良的脱毒苗。笔者以蚊净香草腋芽为材料,探讨了不同激素浓度的培养基对芽的生长、增殖及生根的影响,为蚊净香草种苗大规模生产提供可靠的技术路线和理论依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 选用温室内栽培的长势好、无病虫、健壮的蚊净香草,选取植株的腋芽作为外植体。

### 1.2 方法

**1.2.1 外植体的采集。**晴天 14:00~15:00 在温室内采集蚊净香草的初生枝条,剪除叶片。用自来水冲净尘土,再用自来水流水冲洗 30 min,置于超净工作台上,用 75% 的酒精振荡浸洗 10 s,用无菌水冲洗 1 次,再用 0.1% 的升汞(10 倍于外植体体积并加 Tween-80)消毒 6、8、10 min(3 个处理),其间不断振荡,最后用无菌水冲洗 6~8 次,用无菌的滤纸吸干芽表面的水分,切成带 1 个腋芽的茎段用于接种。

**1.2.2 腋芽诱导。**将以上切得的茎段接种在 1/2MS 的诱导培养基中,每瓶接 1 个,置于培养室中培养,2 周后,统计污染芽数,计算污染率;4 周后统计诱导芽数,计算诱导率。

**1.2.3 增殖培养。**将诱导获得的无菌腋芽接种于 MS+BA 0.6 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的增殖培养基中,获得的丛生芽,再切成单芽,接种于以下增殖培养基:①MS+BA 0.4 mg/L+NAA 0.1 mg/L;②MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L;③MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L;④MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L。每种培养基接 10 瓶,每瓶接 5 个芽,培养 4 周后,统计总苗数,计算增殖倍数,每 4 周继代 1 次。

**1.2.4 生根培养。**将高度小于 3 cm 的增殖芽接种于增殖培养基中继续增殖培养,高度大于 3 cm 的增殖芽接种于以下生根培养基:①1/2MS(液体,未加琼脂);②1/2MS+IBA 0.05 mg/L(液体);③1/2MS+IBA 0.1 mg/L(液体);④1/2MS;⑤1/2MS+IBA 0.05 mg/L;⑥1/2MS+IBA 0.1 mg/L。每种培养基接 10 瓶,每瓶接 5 个增殖芽,培养 2 周后,统计生根苗数,计算生根率。

**1.2.5 生根瓶苗移栽。**将生根瓶苗从培养室取出后,拧松

瓶盖放置在炼苗房 2~3 d。将炼好的苗用清水冲洗干净,移栽至蛭石、蛭石+泥炭(5:1)等不同基质中,期间要遮阴,每天洒水保湿,2 周后统计成活株数,计算成活率。

**1.3 环境条件** 除液体培养基外,所用培养基均为 0.4% 琼脂固化。调培养基的 pH 值至 5.8,培养室温度控制在 26 ℃ 左右,光照 12 h/d,光照强度 2 000 lx。

## 2 结果与分析

**2.1 外植体表面灭菌对腋芽诱导培养的影响** 接种在诱导培养基上的节段,培养 1 周后,有部分腋芽开始萌动,部分节段出现褐化现象。由表 1 可知,随着灭菌时间的增长(6、8、10 min),污染率依次降低(75.0%、42.9%、26.7%),诱导率也依次降低(75.0%、58.3%、27.3%)。灭菌 6 min,虽然污染率较高,但诱导率也较高,可能是升汞对其毒害比较小的原因。灭菌 10 min,虽有部分腋芽萌动,但呈水渍状,以后慢慢褐化死亡,因此,诱导率低。综合分析表明,用 0.1% 升汞对蚊净香草带腋芽的节段灭菌 8 min,灭菌和诱导效果均比较理想。

表 1 不同灭菌时间对茎段污染率和诱导率的影响

灭菌时间 min	接种数 个	污染数 个	污染率 %	诱导数 个	诱导率 %
6	16	12	75.0	3	75.0
8	21	9	42.9	7	58.3
10	15	4	26.7	3	27.3

**2.2 增殖培养** 接种于增殖培养基 MS+BA 0.6 mg/L+NAA 0.2 mg/L 中的无菌腋芽,1 周后,有新腋芽产生,2 周后在芽的基部有愈伤组织产生并有芽点出现,3 周后在芽的基部和愈伤组织上都长出丛生的增殖芽,但增殖芽较纤弱、短小,难以用于生根培养。将生长正常的增殖芽单个切下转接到 4 种增殖培养基中,由表 2 可知,过高的 BA 和 NAA 浓度都不适宜增殖芽的培养,因此,增殖培养基 MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L 较适宜增殖、壮苗培养。

**2.3 生根培养** 由表 3 可知,接种于生根培养基中的增殖芽,经 2 周培养后,在培养基中添加 IBA 能明显促进增殖芽生根,但浓度过高有明显抑制作用,根尖出现轻度褐化现象,因此,生根培养基 1/2MS+IBA 0.05 mg/L(液体)和 1/2MS+IBA 0.05 mg/L 都比较适宜增殖芽的生根培养,其瓶苗具有根生长快、粗壮,叶绿、坚挺等特点,其余 4 种培养基均不适合生根培养。

**2.4 瓶苗移栽** 分别将 1/2MS+IBA 0.05 mg/L 的液体和

(下转第 4477 页)

**作者简介** 周小锋(1959-),女,浙江杭州人,高级讲师,从事环境生物修复方面的研究。

**收稿日期** 2007-02-07

集中贮藏,形成高档果品。

3.6.2 要实现脐橙经营产业化,需要努力探索有效的脐橙营销形式。构建自己的营销队伍和销售网络,在销售上实现总经销、总代理+直销的方式内外联手营销;产地有人供货,销地有人推介<sup>[3]</sup>。探索有效的脐橙营销模式,实施品牌战略,提高脐橙生产组织化程度和产业竞争力<sup>[10]</sup>。

实现脐橙经营产业化,需要在家庭果园和农资市场、农技市场、销售市场之间,建立多种形式的服务组织。“焊接”赣南脐橙产业发展链条,完善相关法律体制,引进农业龙头企业,建立商品化处理贮藏中心,逐步建立健全与脐橙产业相关联、相配套的生产资料供应、仓储物流、生态旅游、金融保险等产业;引进生产脐橙专门的无公害农药、生物农药、生物肥料及有机配方肥的企业,为无公害脐橙标准化生产提供安全的生产资料,为产业发展提供规范、高效、有序的社会化服务网络。

#### 参考文献

[1] 方财源.赣南脐橙产业化发展存在问题及建议对策[J].江西园艺,2003(5):2-4.

- [2] 陈标强.赣南脐橙果品市场营销浅析[J].柑桔与亚热带果树信息,2001,17(9):6-7.
- [3] 余承铨.好品牌需多方合力呵护[EB/OL].[2006-07-26].http://www.angi.com.cn/host/newscontent.asp?id=99004.
- [4] 刘金星,周运锦.对赣南脐橙品牌化经营若干问题的研究[J].企业经济,2005(7):136-137.
- [5] 王业共.关于赣南脐橙产业化发展的几点思考[J].江西园艺,2004(6):19-20.
- [6] 俞云,池泽新,朱述斌.赣南脐橙优势产业区建设的若干思考[J].浙江柑桔,2004,24(1):7-9.
- [7] 祁春节,邓秀新.中美两国柑橘产业的比较[J].世界农业,2000(13):3-4.
- [8] 古祖亮.重视品种开发[EB/OL].[2007-02-11].http://red.ganzhou.com/article-show.asp?ArticleID=74.
- [9] 严章文.抓住良好机遇 建设脐橙产业——访市果业局局长余承铨[N].赣南日报,2004-01-05.
- [10] 杜纪壮,李学华,石海强.我国苹果产业的现状与展望[J].河北农业科学,2006,10(1):97-100.
- [11] 李小玲.赣州市全面推广脐橙无公害栽培技术[J].柑桔与亚热带果树信息,2003(4):19-19.
- [12] 邓伯勋.我国柑橘产业的现状及发展对策[J].浙江柑桔,2000,17(1):5-7.
- [13] 沈兆敏.我国脐橙生产现状及发展对策[J].果农之友,2006(6):5-6.
- [14] 史强,马永平.完善赣南脐橙商品化处理的构想[J].保鲜与加工,2006(3):48.

(上接第4442页)

固体生根培养基中的瓶苗,移栽至不同基质中,由表4可知,液体生根培养基瓶苗,移栽成活率达95%以上,而固体培养基瓶苗移栽成活率仅为55.8%。这是由于蚊净香草组

表2 增殖芽在不同浓度激素下的增殖倍数与性状的比较

培养基 mg/L	新芽数 个	增殖 倍数	性状
MS + BA 0.4 + NAA 0.1	683	13.66	芽数量多,较纤弱、短小
MS + BA 0.2 + NAA 0.05	502	10.04	芽数量适中,健壮
MS + BA 0.2 + NAA 0.1	337	6.74	芽数量较少,较健壮
MS + BA 0.2 + NAA 0.15	223	4.46	芽数量少,较健壮,长根

表3 增殖芽在不同生根培养基中的生根率与性状的比较

培养基 mg/L	生根率 %	性状
1/2MS(液体)	81	根系生长慢、粗壮,叶深绿、坚挺
1/2MS + IBA 0.05(液体)	100	根系生长快、粗壮,叶绿、坚挺
1/2MS + IBA 0.1(液体)	98	根系生长慢、细弱,叶黄绿、略畸形
1/2MS	83	根系生长慢、粗壮,叶深绿、坚挺
1/2MS + IBA 0.05	100	根系生长快、粗壮,叶绿、坚挺
1/2MS + IBA 0.1	100	根系生长慢、细弱,叶黄绿、略畸形

注:液体培养基未加琼脂。

培苗的根系虽然发达,但非常细、脆,由固体生根培养基培养的苗在洗除琼脂时,对组培苗损伤很大,尤其对根系,导致移栽成活率偏低。而采用液体培养,不但生根好,且清洗时对组培苗几乎没有损伤,移栽成活率高。同时发现,以蛭石、蛭石+泥炭为移栽基质,两者成活率相差不大,但后者明显生长好,叶色深,几乎不用施苗肥,这是由于蛭石+泥炭基质相对能够保湿,且泥炭还能提供幼苗生长的养分。

### 3 结论与讨论

(1)蚊净香草组培快繁制备无菌苗时,掌握升汞处理外植体时间是关键,消毒时间太短不能彻底灭菌,时间过长则可能杀死部分外植体,以8 min为宜。蚊净香草增殖苗继代

培养基用MS + BA 0.2 mg/L + NAA 0.05 mg/L,增殖倍数达10.04;生根培养基用1/2MS + IBA 0.05 mg/L(液体),生根率达100%,移栽成活率达95%以上。

表4 液体、固体生根培养基及不同移栽基质对成活率的影响 %

基质类型	液体培养基	固体培养基
蛭石	95.6	55.8
蛭石 + 泥炭	96.1	57.2

(2)选用蚊净香草的腋芽作为外植体,一是培养相对简单,同时还考虑到蚊净香草是转基因植物,通过促生腋芽途径获得的无性系比通过愈伤组织分化所得无性系的遗传稳定性高。但在实际培养过程中,也有部分苗由愈伤组织分化而来,多次继代后,部分苗是否存在香茅醛基因丢失现象,有待于进一步研究。

(3)组培苗从瓶苗到穴盘苗的移栽成活率是快繁体系研究中的重点,移栽成活率高低直接关系到快繁体系研究的成败。蚊净香草组培苗的根系虽然发达,但非常细、脆,由固体生根培养基培养的苗在洗除琼脂时,对组培苗损伤很大,尤其对根系,导致移栽成活率很低。该研究突破常规,采用液体生根培养基,不但生根好,且清洗时对组培苗几乎没有损伤,移栽成活率极高,成功解决了蚊净香草试管苗的移栽成活率低的难题,为工厂化生产奠定了研究基础,同时,也为其他植物的快繁研究提供借鉴。

#### 参考文献

- [1] 李凌明.植物组织培养教程[M].北京:中国农业出版社,1996.
- [2] 崔德才,徐培文.植物组织培养与工厂化育苗[M].北京:化学工业出版社,2003.
- [3] 李云.林果花菜组织培养快速育苗技术[M].北京:中国林业出版社,2001.