

驱蚊香草优良变异植株无性系建立的研究

刘知北¹, 杨晓丹¹, 宁淑香¹, 戴雅东², 姜长阳¹

(1. 辽宁师范大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116029; 2. 鞍山市园艺科学研究所, 辽宁 鞍山 114000)

摘要:以具有优良变异性状的植株为材料,成功地诱导了驱蚊香草嫩茎的愈伤组织,并使愈伤组织分化不定芽,建立起无性系.诱导嫩茎形成愈伤组织的理想培养基是MS+BA1mg/L+2,4-D0.4mg/L;诱导愈伤组织分化的最理想培养基是MS+BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L;诱导不定芽的理想生根培养基是1/2MS+NAA0.2mg/L;试管苗移栽、扦插的理想基质是炉灰渣,试管苗长势旺盛,后代的优良性状保持不变.

关键词:驱蚊香草;组织培养;无性系

中图分类号:Q813.12;S682.19 文献标识码:A 文章编号:1008-2441(2006)06-0027-04

Establishment of Regeneration Clones and Rapid Propagation of *Ocimum Bbassilicum*

LIU Zhi-bei¹, YANG Xiao-dan¹, NING Shu-xing¹, DAI Ya-dong², JIANG Chang-yang¹

(1. Biology Scientific College, Liaoning Normal University, Liaoning Dalian 116029, China;

2. Anshan Horticulture Science research Institution, Liaoning Anshan 114000, China)

Abstract: The rapid regeneration of *Ocimum bassilicum* was developed through culture of aseptic stem segments in vitro. The best medium for callus induction and shoot differentiation were MS + BA1mg/L + 2,4-D0.4 mg/L and MS + BA0.5 mg/L + NAA0.1mg/L, respectively. Induction of root was better in medium of 1/2MS + IAA0.2 mg/L. The appropriate transplantation stroma is cinder.

Key words: *Ocimum basilicum*; Tissue of callus; Clone

驱蚊香草(*Ocimum bassilicum*)又称罗勒,属于唇形科罗勒属的一年生草本植物^[1].非洲、亚洲的温暖地带有分布,我国有栽培,南方亦可变为野生.全株具有香味,可作为香料,配制化妆品、皂用及食用香精,亦用于牙膏、漱口剂中矫味剂,嫩叶可食,也可以泡茶,具有健胃及发汗等功效,同时还是绿化及室内闻香、观叶的好材料,夏季还有驱蚊的作用^[2].现在生产中多使用驱蚊香草的种子进行繁殖,但是,由于驱蚊香草不宜结实,使种子的价格很贵,并且用种子繁殖的后代长势参差不齐.辽宁南部地区的农民在栽培过程中发现了可长势非常优良的变异植株,用种子对其进行繁殖,由于遗传的分离作用,后代的优良性状无法得到保持.而采用常规方法,驱蚊香草又难以进行无性繁殖.为此,作者对具有优良变异的驱蚊香草植株进行了组织培养及无性系建立的研究,以期满足生产的需要.

1 材料与方法

材料的灭菌:将田间长势非常旺盛的优良驱蚊香草变异植株的嫩茎切成长约1 cm的茎段后,放到

500 mL 广口瓶中,用自来水冲洗 5 min,将广口瓶移至超净工作台上,注入 70% 的酒精约 40 mL,振荡洗涤 10 ~ 20 s 后,用无菌水漂洗 2 次. 然后,向瓶内注入约 80 mL 的 0.05% HgCl₂ 溶液,振荡灭菌 10 min 后,将灭菌液倒出,接着用适量的无菌水振荡洗涤 5 次后,即可得到无菌材料.

培养条件:以 MS 和 1/2MS 为基本培养基,附加不同浓度的 BA、2,4-D、NAA 和 IAA 4 种不同种类的激素,以 MS 为基本培养基时,加蔗糖 30 g/L,以 1/2MS 为基本培养基时加蔗糖 15 g/L,培养基的 pH 5.8 ~ 6.0,培养基胼力强度 180 g/cm²,培养温度保持 25 ℃ 左右,光照度 2000 ~ 4 000 Lx,光照 10 ~ 12 h/d.

2 结果

2.1 愈伤组织诱导

将灭菌后的嫩茎接种到以 MS 为基本培养基,附加不同浓度 BA、NAA、IAA 和 2,4-D 的培养基上,进行愈伤组织诱导的培养. 接种后 20 d 可见形成愈伤组织,50 d 观察统计. 由表 1 可见,在不含任何激素、只含有 BA 和含有 BA 及 IAA 两种激素的培养基上,不能诱导驱蚊草的嫩茎形成愈伤组织;而在含有 BA 和 NAA、2,4-D 不同浓度配比的培养基上均能诱导形成愈伤组织. 其中在 MS + BA0.5mg/L(单位下同,略) + 2,4-D0.2 和 MS + BA1 + 2,4-D0.4 培养基上愈伤组织的诱导率分别为 90%、95%. 但是,从愈伤组织的长势看,在 MS + BA1 + 2,4-D0.4 培养基上不仅愈伤组织的诱导率较高,且所有所诱导的愈伤组织呈绿色的颗粒状,这样的愈伤组织为具有分化能力的愈伤组织^[3]. 把在这一培养基上诱导的愈伤组织,在相同培养基上连续继代培养 7 代,愈伤组织的外观仍然保持不变,说明 MS + BA1 + 2,4-D0.4 是驱蚊香草茎段愈伤组织诱导的理想培养基.

表 1 不同配方对嫩茎愈伤组织诱导的影响

附加激素 (mg/L)				接种数量 (段)	诱导愈伤组织数 (块)	诱导率 (%)
BA	NAA	IAA	2,4-D			
0	0	0	0	20	0	0
0.1	0	0	0	20	0	0
0.5	0	0	0	20	0	0
1.0	0	0	0	20	0	0
1.5	0	0	0	20	0	0
2.0	0	0	0	20	0	0
0.1	0.1	0	0	20	15	75
0.5	0.2	0	0	20	11	55
1.0	0.4	0	0	20	16	80
1.5	0.8	0	0	20	12	60
2.0	1.6	0	0	20	12	0
0.1	0	0.1	0	20	0	0
0.5	0	0.2	0	20	0	0
1.0	0	0.4	0	20	0	0
1.5	0	0.8	0	20	0	0
2.0	0	1.6	0	20	0	0
0.1	0	0	0.1	20	14	70
0.5	0	0	0.2	20	18	90
1.0	0	0	0.4	20	19	95
1.5	0	0	0.8	20	16	80
2.0	0	0	1.6	20	12	60

2.2 愈伤组织分化

将在 MS + BA1 + 2,4-D0.4 直接诱导和继代培养的愈伤组织,接种到以 MS 为基本培养基,附加不同浓度 BA、NAA 分化培养基上,进行分化培养,20 d 可见分化形成不定芽,40 d 时可形成丛生不定芽,45 d 进行观察统计. 由表 2 也可见,在 BA 单独使用与较高浓度的 BA 与 NAA 配合使用时,愈伤组织不

能分化.而在MS+BA0.5+NAA0.1这一培养基上,不仅愈伤组织的分化率为90%,而且分化的不定芽长势也较好.这说明MS+BA0.5+NAA0.1这一培养基上是驱蚊香草嫩茎愈伤组织分化的理想培养基.

2.3 生根培养及生根继代培养

将在分化培养基上分化生长较为旺盛、茎较粗,高为2 cm左右的不定苗从基部剪下,接种到以1/2MS培养基为基本培养基,附加不同浓度的IAA和NAA的生根培养基上.观察结果说明,在1/2MS+NAA0.2这一培养基上,7 d形成可见根原基,10 d后根开始迅速生长,30 d时就可以长成高4~5 cm、具有5~9个叶片的试管苗.30 d时观察统计,由表3可见,1/2MS+NAA0.2是驱蚊香草试管苗生根的理想培养基.把生长旺盛的生根试管苗,剪成长1.5 cm左右,至少具有1个叶腋生长点的茎段,扦插到上述生根培养基中进行继代生根培养.在正常的条件下,25 d就可以长成高5~6 cm,生长旺盛的生根试管苗.利用这种生根继代的方法进行试管苗的继代培养,连续培养8代,不仅没有无效试管苗,而且所有的试管苗生长都很旺盛.其繁殖系数为4倍/25 d.在进行剪段生根培养时,将生根试管苗基部保留一个腋芽继续培养,20 d左右又可以得到一株高5 cm左右的试管苗,利用这种方法,只要控制污染,一次接种的生根培养,可以连续培养出4

代迅速生长的驱蚊香草的生根试管苗,直到培养基完全耗尽为止.在培养基基本耗尽时,如果仍没有污染,再在超净工作台上向培养瓶中倒入30~50 mL已经灭菌的、不含琼脂的液体生根培养基,还会长出2代正常的试管苗.上述结果说明,1/2MS+NAA0.2这一培养基是驱蚊香草生根和生根继代培养的理想培养基.

2.4 移栽与扦插及田间观察

将生根试管苗的培养瓶塞打开,放在光照强度约5 000 Lx,温度为20℃左右条件下,炼苗3~5 d,当培养基表面刚刚长出可见菌落时,将试管苗从培养基中取出,洗去基部的培养基后,移栽到河沙、珍珠岩、肥沃土壤、炉灰渣4种基质中.将根系生长不太正常和正常生根的试管苗剪成长1.5 cm左右、至少有一个叶腋生长点的茎段(一个生根试管苗可以剪成2~3个用于扦插的茎段)后,迅速把下部切口在浓度为70~100 mg/L的IAA溶液中处理2 min后,扦插到上述移栽的4种基质中.把移栽和扦插苗置于温度为18~25℃、湿度在90%以上的散射光条件下,移栽苗10 d可见开始生长.扦插苗14 d可见成活生长.25 d进行观察统计,由表4可见,驱蚊香草试管苗在肥沃园土上移栽、扦插都不能成活,而在炉灰渣上移栽和扦插的成活率较高.同时,观察还表明移栽和扦插苗不仅后期长势基本一致,而且都可以生长成符合生产需要的种苗.

小批量的田间栽培观察证明,当年移栽和扦插的驱蚊香草试管苗根系相当于实生苗的2~3倍,秋天枯萎的时间比实生苗延迟15~20 d,完全保持了长势非常优良的变异性状.

表2 不同激素对驱蚊香草愈伤组织分化的影响

激素(mg/L)		接种	分化	分化率(%)	长势
BA	NAA	颗粒数	颗粒数		
0.5	0	120	0	0	
0.5	0.1	120	108	90	++
1.0	0	120	0	0	
1.0	0.2	120	36	30	+
1.2	0	120	0	0	
1.2	0.3	120	0	0	
1.5	0	120	0	0	
1.5	0.4	120	0	0	
1.8	0	120	0	0	
1.8	0.5	120	14	12	
2	0	120	0	0	
2	0.6	120	0	0	

表3 不同浓度的激素对试管苗生根的影响

激素(mg/L)		接种数	生根株	生根率(%)	平均生根数
NAA	IAA				
0	0.1	20	12	60	12
0	0.2	20	10	50	9
0	0.3	20	8	40	8
0	0.4	20	7	35	7
0	0.5	20	9	45	9
0.1	0	20	8	40	7
0.2	0	20	20	100	20
0.3	0	20	12	60	10
0.4	0	20	10	50	10
0.5	0	20	8	40	8
1.0	0	20	6	30	6

表4 不同基质对移栽成活率的影响

基质	移栽数/扦插数	移栽/扦插成活数	移栽/成活率(%)
河沙	20/20	17/15	85/75
珍珠岩	20/20	9/10	45/50
肥沃土壤	20/20	0/0	0/0
炉灰渣	20/20	19/17	95/85

3 讨论

虽然国内外多有唇形科植物组织培养及无性系建立的报道^[5~7],并且已有驱蚊香草组织培养的报道^[8],但现有的研究都是采用以种子无菌苗或茎尖为材料的,迄今未见以具有优良变异驱蚊香草植株的嫩茎为材料进行组织培养的研究,并建立起优良变异植株无性系的报道.本实验成功诱导了驱蚊香草优良变异植株的嫩茎形成愈伤组织,并由愈伤组织诱导分化出不定苗,建立起驱蚊香草的无性系.本实验以驱蚊香草的嫩茎为材料,成功地诱导形成了愈伤组织,并由愈伤组织分化形成不定苗,不仅证明了驱蚊香草的细胞、组织具有全能性,而且也为驱蚊香草的细胞遗传学研究奠定了基础.优良植株嫩茎愈伤组织试管苗后代的优良性状保持不变说明,这项技术可以作为驱蚊香草的工厂化育苗的基础技术.

以嫩茎为愈伤组织的诱导材料,这样既避免了叶片、茎尖等材料由于太薄太嫩易在材料灭菌中被完全杀死的现象,又会使材料具有较多的分生细胞,为愈伤组织的诱导和分化提供了保证.

本实验采用生根继代的方法对试管苗进行繁殖,这种繁殖方法不仅所繁殖的试管苗都为有效苗,而且繁殖速度为4倍/25 d.按照这个繁殖速度,每株试管苗一年可以繁殖出414株试管苗.如果采用试管苗扦插的方法进行繁殖,那么,繁殖速度还可以扩大1~2倍.所以,采用生根继代的方法对驱蚊香草进行繁殖,可以满足生产上大量种苗的需求.

移栽、扦插的最佳基质是炉灰渣,这是由于炉灰渣经过高温灼烧而形成的,不仅通气性好、杂菌少,而且为吸热性好的黑色基质,因此使驱蚊香草试管苗的移栽扦插的成活率较高.

参考文献:

- [1] 中国植物志编辑委员会.中国植物志(第六十六卷)[M].北京:科学出版社,1977.
- [2] 中国科学院北京植物研究所.中国高等植物图鉴(第3册)[M].北京:科学出版社,1975.
- [3] 杜勤,王振华,徐鸿华.广藿香的组织培养[J].植物生理学通讯,2003,(4):39.
- [4] 高彦,白海霞,张拴拴,等.银苗的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,(4):39.
- [5] 黄海帆,李萍,贺爱利.彩叶草的组织培养[J].植物生理学通讯,2001,9(12):84-85.
- [6] 郭东伟,陈耀锋,张俊文.地灵的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,(4):39.
- [7] 赵庆臻,阎华强,程霜,等.地椒的组织培养及植株再生[J].植物生理学通讯,2003,(4):38.
- [8] 江新国,杏泉.驱蚊香草的组织培养和快速繁殖[J].江西林业科技,2003,(5):19-21.

(责任编辑:陈 欣)