

驱蚊香草快繁体系的建立及工厂化育苗 主要影响因素研究

江年琼, 张 睿, 郑易之

(深圳大学生命科学学院, 广东深圳 518060)

摘要:以驱蚊香草的幼嫩叶片作外植体, 在含不同激素的不同培养基上进行丛生芽的诱导、芽的继代增殖、芽生根与移栽研究, 以快速获得再生植株。结果表明, 丛生芽诱导培养基以 MS+6-BA 1.0mg/L+NAA0.1mg/L 较好, 诱导率为 96%; 增殖培养基以 MS(B₅)+6-BA0.5mg/L +NAA0.1mg/L 较好, 增殖系数达 8 倍以上, 且增殖芽生长好; 壮苗培养基为 MS(B₅)+6-BA0.1mg/L+NAA0.2mg/L 为好; 生根培养基以 1/2MS+NAA0.1 mg/L 和 MS+IBA0.2 mg/L 为最佳, 生根率达 100%, 幼苗生长势旺。影响工厂化育苗的主要因素有激素浓度、继代次数和移栽管理。

关键词:驱蚊香草; 组织培养; 工厂化快繁; 影响因素

中图分类号:Q813.1+2 **文献标识码:**A

Clonal Propagation of *Pelargonium citrosum Vanleenii* and Main Factors Affecting its Large-scale Production

Jiang Nianqiong, Zhang Rui, Zheng Yizhi

(College of Life Science, Shenzhen University, Shenzhen Guangdong 518060)

Abstract: The research made a serial of studies on buds inducement and reproduction, root differentiation and cultivation of young plant in different hormone and different culture media, which selected tender leaves of *Pelargonium citrosum* as explants in germfree condition. The results showed that MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L was good for buds inducement and the rate of inducement is 96%, that MS (B₅)+6-BA0.5mg/L +NAA0.1mg/L are suitable for buds reproduction, the coefficient of reproduction is up to 8, and buds grew very well, that MS(B₅)+6-BA0.1mg/L+NAA0.2mg/L were good for getting stronger, and that 1/2MS+NAA0.1 mg/L and MS+IBA0.2 mg/L were best for rootage, the rooting rate is 100%, and the young plants grew very well. The main factors affecting its large-scale production are concentration of hormone, times of subculture and transplant manage.

Key words: *Pelargonium citrosum Vanleenii*, Tissue culture, Large-scale production, Affecting factors

驱蚊香草 (*Pelargonium citrosum Vanleenii*) 是牻牛儿苗科天竺葵属植物。国外多称为 *citrosa* 或 *mosquito plant*。它是 20 世纪 30 年代由荷兰园艺学家 Van Leenen 通过植物原生质体融合技术, 将非洲天竺葵与一种原产于中国的亚香茅 (*Cymbopogon nardus* L.) 进行体细胞杂交而培育出的一个新品种^[1]。它继承了两个亲本的优良性状, 既象亚香茅一样, 可以在体

内合成具有驱蚊功效的香茅醛(该成分在很多驱蚊产品中均有添加^[2], 又具有非洲天竺葵植物体表泌腺丰富的形态学特征, 有利于香茅醛的分泌和散发。由此, 该植物被认为能够起到较好的驱蚊效果^[3-6], 并且驱蚊简单、自然。同时, 作为精油按摩使用时, 能达到促进新细胞生长, 加速去除老化细胞的效果, 并能舒缓紧张情绪。另外, 它还具有抗菌、除臭、抗忧郁等作用。由

于这种植物枝繁叶茂,形态优美,具较高观赏价值^[7]。因此,这种植物在20世纪90年代在欧美一些国家得到了广泛的栽培和应用,中国在20世纪90年代末从澳大利亚引进了这种植物,并在北京、湖北、云南、山东等地进行了引种栽培。

由于驱蚊香草只开花、不结果,不能有性繁殖,扦插繁殖成活率也不高,即使成活,在自然条件下,又很容易感染病毒而显著降低驱蚊效果,因此利用离体快速繁殖技术实现驱蚊香苗的工厂化生产具有重大的意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

实验于2004年7月—2005年10月在深圳大学生命科学学院组培实验室进行,供试材料驱蚊香草购自花卉市场。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒与接种 选取无病虫害、生长健壮的驱蚊香草植株,剪取嫩叶放入洗洁精溶液中浸泡5~10min后,用软毛刷轻轻刷洗并用自来水冲洗干净,再用滤纸吸干,然后在超净工作台内用0.1% HgCl₂溶液消毒5~6min,无菌水冲洗6~8次,滤纸吸干水分,再将叶片切成0.3~0.5cm²大小进行接种。

1.2.2 培养条件 培养温度为24±2℃,相对湿度80%,连续光照12h/d,光照强度2000~2500Lx,pH 5.8~6.0。

1.2.3 驱蚊香草不定芽的诱导 以MS为基本培养基,采用正交试验方法,分别取6-BA、NAA各四个浓度,共16种处理,每种处理接种30瓶,每瓶接种3个外

植体。培养25d后分别统计出芽的外植体数及不定芽的诱导率。该培养基中蔗糖和琼脂的浓度分别为3%和0.7%。

1.2.4 芽的增殖培养 从诱导培养中筛选出了一组较好的激素配比,以该激素配比为基础,又对6-BA和NAA各设计几个浓度梯度,将诱导的不定芽切成单芽或带1~2个芽的芽丛块,分别接种在MS、B₅和改良White培养基上分别进行固体和半固体培养(将无毒海绵放于液体培养基中作为支撑材料),20d后观察统计芽的总数,计算增殖系数,从而筛选出较好的芽增殖的激素配比、培养基和培养方法。

1.2.5 壮苗培养 将生长健壮的、高度在2cm以上的苗切成单芽,接种在含有不同浓度的NAA、6-BA的MS、B₅培养基中,15d后统计高度在3cm以上的芽的数量。

1.2.6 生根培养 选取高度在3cm以上的试管苗接种在不同的生根培养基上,以1/2MS为基本培养基,分别选用NAA和IBA两种激素各四个浓度进行生根培养,10d后统计生根数量和长度。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的6-BA和NAA对不定芽诱导的影响

在接种后第4天,各处理组叶片膨胀、增厚,逐渐开始分化。接种10d时观察部分组有芽点出现,但各组间差异不明显。随着培养时间的推移,有些外植体的边缘开始出现不定芽(图1),有些很快就长出了不定苗(图2),也有的同时长出了不定根,各组的差别日渐明显起来,接种25d时各组的不定芽的诱导情况见表1。

表1 不同浓度的6-BA、NAA对不定芽诱导率的影响

培养基编号	激 素		接种数量(块)	平均出芽块数(个)	不定芽的诱导率(%)
	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)			
1	0.1	0.1	30	12	40
2	0.1	0.5	30	13	44
3	0.1	1.0	30	11	36
4	0.1	2.0	30	13	44
5	0.5	0.1	30	27	90
6	0.5	0.5	30	24	80
7	0.5	1.0	30	24	80
8	0.5	2.0	30	22	73
9	1.0	0.1	30	29	96
10	1.0	0.5	30	26	86
11	1.0	1.0	30	23	76
12	1.0	2.0	30	22	73
13	2.0	0.1	30	27	90
14	2.0	0.5	30	22	73
15	2.0	1.0	30	26	86
16	2.0	2.0	30	23	76

2.2 不同激素、不同培养基对不定芽增殖的影响

将3种不同浓度配比的激素,分别添加在MS、B₅和改良White培养基中,观察在半固体培养和固体培养条件下不定芽的增殖情况,蔗糖、琼脂浓度、pH及其它培养条件均同1.2.2。20d后的培养结果见表2。

从上表可以看出,在相同激素浓度下,MS、B₅培养基明显优于改良White培养基,接种在后者上的外植体生长相当缓慢,继代后的生长情况和接种时一致,MS、B₅两者之间差别不大。半固体培养基上继代苗生长缓慢且较瘦弱,不及固体培养好。

表2 几种培养基对不定芽增殖倍数的影响

培养基	半固体培养		固体培养	
	接种芽数(个)	增殖倍数	接种芽数(个)	增殖倍数
MS+6-BA1.0+ NAA0.5	20	4.6	20	7.4
MS+6-BA0.5+ NAA0.1	20	3.8	20	8.2
MS+6-BA2.0+ NAA0.5	20	4.4	20	7.3
B ₅ +6-BA1.0+ NAA0.5	20	4.7	20	7.0
B ₅ +6-BA0.5+ NAA0.1	20	4.3	20	8.1
B ₅ +6-BA2.0+ NAA0.5	20	4.8	20	6.3
改良 White+6-BA1.0+ NAA0.5	20	2.8	20	4.5
改良 White+6-BA0.5+ NAA0.1	20	2.6	20	3.6
改良 White+6-BA2.0+ NAA0.5	20	2.9	20	3.3

2.1.3 壮苗与生根培养 壮苗选用了MS和B₅两种培养基,激素配比为6-BA0.1mg/L和NAA0.2mg/L,接种15d后两种培养基上生长的芽85%在3cm以上。然后将其转至生根培养基上。生根培养基为1/2MS+NAA0.1和MS+IBA0.2,两种处理各20瓶,培

养10d后两组生根率均为100%,对两组生根数和根的长度统计后发现,1/2MS+NAA0.1组生根数少而长(附图3),MS+IBA0.2组根短而密(附图4)。而移栽后两者的存活率无显著差异。

2.1.4 炼苗移栽 取生根培养20d左右,单株根数在

表3 不同生根处理结果比较

培养基种类	根萌出时间(d)	生根率(%)	根数的均数(X±S 根)	根长均数(X±S cm)	生长情况
1/2MS+NAA0.1	7	100	13±1.5	5.1±0.9	根细而长
MS+IBA0.2	7	100	18±2.0	2.4±0.5	根壮,短而密

10根以上,且大多数根长在2cm以上的试管苗,先放在室外5~7d(图5),然后打开瓶盖,向培养瓶中倒入1.5~2cm深的灭菌水,2~3d后出苗移栽(图6)。移栽基质为草炭土与珍珠岩2:1的混合物。移栽时喷洒多菌灵,小心操作不要伤到苗根。

3 结论与讨论

在外植体的选择上以叶片为好,因为在相同培养条件下,茎段更容易经过脱分化形成愈伤组织,而再分化形成不定芽时其分化系数并不是太高,且生长周期相对较长,另外取材茎段时会破坏较多的植物体。

在激素种类的选择上,选用价廉易得的NAA和6-BA,在浓度适宜的情况下,无论对不定芽的诱导或增殖都有较好的效果。其中诱导不定芽以MS+6-BA

1.0mg/L+NAA0.1mg/L为好,诱导率为96%。增殖培养以MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L和B₅+6-BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L为好,增殖系数达8倍以上。壮苗以MS+6-BA0.1mg/L+NAA0.2mg/L和B₅+6-BA0.1mg/L+NAA0.2mg/L,生根以1/2MS+NAA0.1mg/L和MS+IBA0.2mg/L较佳。生根率均为100%。

研究结果表明:MS和B₅培养基较适合驱蚊香草的离体培养,而改良White培养基效果不理想。

一般情况下,培养物在半固体培养条件下的生长速度快于固体培养,因前者能使培养物更易获得营养,从而加速其生长。但此项实验中将半固体培养方法用于驱蚊香草不定芽的增殖培养时效果不理想,可能是因为驱蚊香草有着丰富的气孔,在半固体培养的

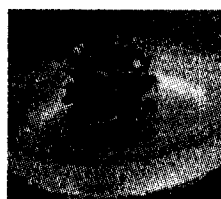


图1 不定芽丛

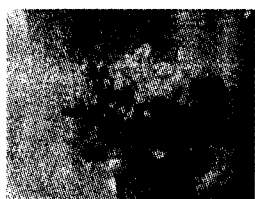


图2 不定芽苗丛

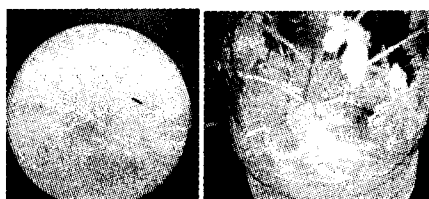


图3 生根培养(1/2MS+NAA0.1)

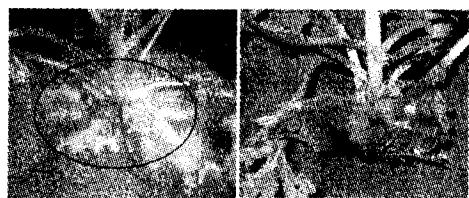


图4 生根培养 (MS+IBA0.2)

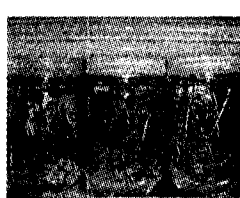


图5 炼苗

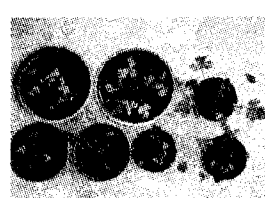


图6 移栽苗

过程中,其自身成分分泌到了培养液中而对其生长发生了抑制作用,也可能是由于渗透势的关系而使其体

内的一些成分很容易流失而影响其自身正常生长,当然也可能是其它什么原因,这还有待于对该植物的一

些特殊结构进一步探明。

壮苗和生根培养时激素的浓度都较低,经壮苗后的不定芽其生根和移栽存活率都好于直接生根者。生根培养的两种处理,即 $1/2MS+NAA0.1$ 和 $MS+IBA 0.2$ 在生根数量和长度上都有显著差异,但在移栽存活率上无显著差异。

移栽前 3d 左右向培养瓶中倒入 1.5~2cm 左右的灭菌水,既可以保湿,又有利于培养基的清洗,避免伤根,有益于移栽的成活和提高移栽的速度,并可以降低劳动力成本。移栽后的管理十分重要,稍有疏忽则会前功尽弃。主要应注意防病、保温、保湿。移栽基质若高温灭菌,移栽苗染菌的机会较小。若基质仅以多菌灵等消毒剂消毒,则染病机率高一些,移栽成活率也低一些。移栽后的 20d 内应保持湿度在 70%~80%,温度在 20℃左右,通过搭塑料薄膜弓棚来满足湿度和温度的要求。移栽成活率为 80%。

另外,研究中发现,在继代七次以后,开始出现玻璃化苗。所以,建议工厂化育苗时继代次数不要超过七次,同时,尽量降低 6-BA 的用量。

总之,此项研究建立了驱蚊香草的快速繁殖体系,并对工厂化育苗的主要影响因素进行了探讨,为

驱蚊香草工厂化生产奠定了基础。

参考文献

- [1] Tucker A O, Maciarello M J. Is this plant a hoax? A lecture in honour of Otto Richter [J]. The Otto Richter Memorial Lectures, 2003.1~8
- [2] Thaig B K, Shah A K, Kaul B L. Evaluation of repellent activities of cymbopogon essential oil against mosquito vectors of malarial filariasis and dengue fever in India [J]. Phytomedicine, 1998,5(4): 324~329
- [3] Jeyabalan D, Arul N, Thangamathi P. Studies on effects of pelargonium citrosa leaf extracts on malarial vectors, Anopheles stephensi Liston [J]. Bioresour Technol., 2003,89(2):185~189
- [4] Murugan K, Jeyabalan D. Effect of certain plant extracts against the mosquito A n. Stephensi Liston [J]. Current Sci., 1999,76 (5): 631~633
- [5] Thorsell W, Miviver A, Malander I, et al. Efficacy plant extract and oils as mosquito repellents[J]. Phytomedicine, 1998,5(4):311~323
- [6] Raver A. The 'citrosa' geranium. Hort Ideas,1991,8(8):7~12
- [7] 董桂蕃,李承毅.国外驱避剂研究方向[J].中华卫生杀虫药械, 2001,7(4):5~8

(责任编辑:秦守亮)