

驱蚊香草的组织培养和快速繁殖

刘 毓 佟德耀 张 慧

(济南百合园林集团有限公司 250103)

摘要 以驱蚊香草的嫩叶、叶柄和嫩芽为外植体,用70%酒精消毒30s,0.1%升汞消毒8 min。用嫩芽作为外植体诱导丛生芽效果最好,它在MS+6-BA 0.5~1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹培养基中能顺利诱导出丛生芽,诱导率为100%。丛生芽增殖的最佳培养基为MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹,增殖倍数达到7.7倍。继代苗接种于1/2MS+NAA 0.05~0.1 mg·L⁻¹生根培养基上5天便开始生根,40天后平均茎长可达到8 mm以上,且根系发达,即可移栽。上述培养基均需附加3%蔗糖、0.5%琼脂粉,pH 5.8。移栽于草炭土和珍珠岩的混合基质中,成活率可达85%以上。

关键词 驱蚊香草;组织培养;嫩芽;丛生芽

1 前言

驱蚊香草又名蚊净香草(MOZZIE BUSTER),是芳香类天竺葵属(*Pelargonium graveolens*)多年生草本观叶植物,是基因重组融合的生物工程技术产物,经由澳大利亚植物学家迪克小组历经十三年研究开发成功。驱蚊香草是将来自非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通过生物工程技术融合于一体。从而利用天竺葵自身独有的释放系统作为载体将香茅醛物质(有着非常突出的驱蚊效果,在很多驱蚊产品中都是这种物质在起作用)源源不断的释放于空气中,起到驱蚊的效果。中科院遗传研究所的科学家们引进该品种,并经过几年的实验,成功地实现了驱蚊香草的本土化培育,并且加强了其驱蚊、除味效果。

该产品的问世,对现代人类的起居生活环境和การทำงาน学习环境起到了很大的改善和维护,并对目前市场上的杀虫剂、蚊香、喷雾剂等所产生的负面作用予以取代。香茅醛等精油成份不仅能够驱蚊,还有抗忧郁、振作情绪、除臭、驱避寄生虫及抗菌、保健等作用。生长至2~3年后主枝逐步木质化,枝叶的造型可人为随意改变,具有很高的观赏价值。所以,它是一种多功能的新型植物。

驱蚊香草只开花不结果,不能靠种子繁育,而且,它在自然条件下,若连续扦插容易感染病毒,经过代代积毒,驱蚊功能会衰减,直至变种变异。所以我们采用了植物组织培养技术对其进行快速繁殖,

年产量可达百万株,较好的满足了市场需求。

2 材料与方法

将驱蚊香草成品苗置于温室中培养一个月,取其嫩叶、叶柄、嫩芽作为外植体。采用MS基本培养基,在不同培养阶段添加不同浓度的6-BA、NAA等激素,用0.5%琼脂粉固化,蔗糖3%,pH值调至5.8。培养温度为(25±3)℃。以日光灯为光源,连续光照10~12 h·d⁻¹,光照度1000~1500 lx。外植体在无菌条件下用70%酒精浸泡30 s,无菌水冲洗1次,再用0.1%升汞消毒8 min,无菌水冲洗4~5次。

将消过毒的嫩叶(切成0.5 cm×0.5 cm的方块)、叶柄(切成长约1 cm的小段)、嫩芽(长约1 cm)三类外植体分别接种于诱导培养基1-1、1-2(配方见表1)中。培养30 d后统计出成活外植体数、愈伤组织形成数和诱导出芽外植体数等,计算成活率、出芽率、诱导率、愈伤组织发生率和玻璃化发生率。

丛生芽继代增殖培养时,以诱导培养基中诱导出的丛生芽为材料,将其切分成单株苗,分别接种于继代增殖培养基2-1、2-2、2-3、2-4、2-5、2-6(配方见表1)中,培养30 d后统计增殖倍数、玻璃化发生率及试管苗生长情况。

从增殖获得的芽丛中切取单个芽苗(叶柄长1.5 cm以上),分别接入生根培养基3-1、3-2、3-3中,培养5 d、7 d、20 d、40 d时观察植株生根情况及茎长,并记录(见表1)。

待根系长到1.0~1.5 cm时,将其置于温室内炼

表1 各处理培养基配方

培养阶段	编号	基本培养基	激素浓度(mg·L ⁻¹)	
			6-BA	NAA
诱导培养	1-1	MS	1.0	0.1
	1-2		0.5	
继代增殖培养	2-1	MS	0.5	0.1
	2-2		0.2	
	2-3		0.1	
	2-4		0.5	0.05
	2-5		0.2	
	2-6		0.1	
生根培养	3-1	1/2MS	0	0.10
			0	0.05

苗3天。取出小苗,洗去根部的培养基,移栽于分别盛有草炭土:珍珠岩=1:1,1:2,2:1的基质的筛盘中。两个月后移植盆养,保持温室内温度在15~25℃之

间,环境湿度80%以上。

3 结果与讨论

3.1 驱蚊香草愈伤组织、丛生芽的诱导

3.1.1 以叶片为外植体进行诱导

1-1、1-2培养基中共接种叶片57块,未出现污染现象,成活48块,成活率84.2%(由于灭菌时间过长,部分叶片死亡,所以应适当减少叶片在升汞中的灭菌时间)。一个月后叶片有不同程度的增大、增厚,但未诱导出愈伤组织或丛生芽,并有玻璃化现象发生。

3.1.2 以叶柄为外植体进行诱导

从表2可以看出,1-1、1-2培养基中接种的叶柄全部诱导出愈伤组织,但1-1培养基中的材料玻璃化程度略高于1-2培养基中的材料,出芽率较低,所以培养基1-2略优于培养基1-1。

表2 不同6-BA浓度对叶柄诱导出芽的影响

培养基编号	接种外植体数(块)	成活率(%)	愈伤组织发生率(%)	污染数(块)	诱导出芽外植体数(块)	出芽率(%)	玻璃化数(块)	玻璃化率(%)
1-1	30	100	100	0	11	36.7	9	30.0
1-2	24	100	100	1	9	39.1	6	25.0

表3 不同6-BA浓度对嫩芽诱导出丛生芽的影响

培养基编号	接种外植体数(块)	诱导出丛生芽外植体数(块)	诱导率(%)	玻璃化数(块)	玻璃化发生率(%)
1-1	33	33	100	15	45.5
1-2	33	33	100	12	26.4

1-2培养基中有1块外植体出现轻微细菌污染,但所接材料全部成活,所以可适当增加升汞对叶柄的灭菌时间。

3.1.3 以嫩芽为外植体进行诱导

一个月后,接种于诱导培养基中的嫩芽全部诱导出丛生芽,诱导率大大高于叶柄、叶片作为外植体的诱导率,说明嫩芽为最适外植体。而且外植体未出现污染现象,说明灭菌时间长短合适。但接种半个月后,可观察到部分已分化了的外植体出现了不同程度的玻璃化现象,此现象将会影响材料的进一步生长,应采取一定的措施予以减轻。

3.2 继代增殖培养

从表4可以看出,随着6-BA浓度的增加,接种材料的扩繁倍数也随之增加,在2-4培养基中最高,为7.7倍,2-1培养基中的次之,为7.4倍。但玻璃化发生率也随着6-BA浓度的增加而增加,在2-1培养基中达到了20%。NAA浓度对增殖倍数影响不大。所以最佳继代培养基为MS+6-BA0.5 mg·L⁻¹+NAA0.05 mg·L⁻¹。

表4 不同浓度的6-BA、NAA对继代增殖的影响

培养基编号	接种芽苗株数(株)	玻璃化芽苗数(株)	玻璃化发生率(%)	正常芽苗数(株)	正常芽苗扩繁出芽数(株)	扩繁倍数(倍)
2-1	40	8	20	32	237	7.4
2-2	40	3	7.5	37	213	5.8
2-3	40	1	2.5	39	206	5.3
2-4	35	3	8.6	32	245	7.7
2-5	35	2	5.7	33	228	6.9
2-6	35	1	2.9	34	168	4.9

3.3 生根培养

接种后5天便可观察到个别植株已经开始生根;7天后3-2培养基中生根率已达到92%,3-1培养基中也已达到86%(见表5);20天时三种培养基中的所有植株均已生根,3-1、3-2培养基中植株生根条数明显多于3-3培养基中的植株。

继代苗接入生根培养基中第20天时,虽然根系已较为发达,但绝大多数植株茎短,茎尖仍藏于叶基部,若此时移栽,浇水时易将茎尖埋于土下,移栽苗不易成活。20天后,茎逐渐伸长,至40天时3-1、3-2

(下转第15页)

12. 叶片长 6~9 cm, 侧脉 4~51 对, 壳斗直径 1.5 cm 9b. 云蒙山栎

Q. mongolica var. *yunmengshanensis*

13. 壳斗直径 1.5~1.8 cm

..... 9. 蒙古栎 *Q. mongolica*

13. 壳斗直径 2.5~2.8 cm 9c. 大果蒙古栎 *Q. mongolica* var. *macrocarpa*

参考文献

- [1] 贺士元主编. 北京植物志, 上册, 北京出版社, 北京, 1984.

- [2] 任宪威主编. 树木学(北方本), 中国林业出版社, 北京, 1997.
[3] 路端正等. 北京喇叭沟门林区种子植物新发现. 北京林业大学学报, 22(4); 56~58. 2000.07.
[4] 任宪威. 北京新植物, 河北农业大学学报 19(3): 86. 1996.07.
[5] 孙立元, 任宪威主编. 河北树木志, 中国林业出版社, 北京, 1997.

(上接第 10 页)

表 5 不同浓度的 NAA 对植株生根的影响

培养 编号	接种株数 (株)	7 天后观察		20 天后观察	
		生根株数 (株)	生根率 (%)	生根株数 (株)	生根率 (%)
3-1	50	43	86	50	100
3-2	50	46	92	50	100
3-3	50	7	14	50	100

培养基中的植株平均茎长均已达到 8 mm 以上, 且茎秆粗壮, 叶片也将要触到瓶盖, 此时移栽成活率较高(见表 6)。

表 6 不同培养基对植株茎长的影响(接种后 40 天时观察)

培养基编号	接种株数(株)	平均茎长(mm)
3-1	50	8.26
3-2	53	8.15
3-3	50	6.2

综合表 5、表 6 可以看出, 在 1/2MS 中添加 0.05~0.1 mg·L⁻¹ NAA 可以较好的促进植株生根及茎的增长, 但结合节约成本及降低变异率等因素来考虑, NAA 浓度以 0.05 mg·L⁻¹ 为最好。

3.4 移栽基质的选择及环境条件要求

由于驱蚊香草组培生根苗植株较嫩, 叶柄、根均易折断, 叶片易失水萎蔫, 所以移栽前需炼苗 3 天, 从瓶中取出清洗时也要倍加小心, 以免伤到叶和根。

经试验证明, 驱蚊香草在珍珠岩:草炭=1:1, 1:2, 2:1 三种基质中均能移栽成活, 且生长状况较好, 长势差别不大, 移栽成活率均在 85% 以上。移栽后一个月内要勤喷水, 每日三次, 并适当遮荫, 以保持足够的环境湿度。浇水要适当, 干透浇透, 以免烂根。环境温度 15~25℃, 湿度 80% 以上。经过 2 个月的生长发育, 幼苗高度可达到 8~15 cm, 之后移植盆养, 5

个月左右便可成株。

3.5 玻璃化现象

植物组培快繁时玻璃化苗的出现已成为一种很普遍的现象, 从上述实验结果看, 在对驱蚊香草进行组织培养的过程中此种现象也较易发生。它表现为试管苗叶、嫩梢呈透明或半透明, 水浸状, 叶片脆弱易碎等。玻璃化苗因其体内含水量高, 干物质、纤维素、木质素含量低, 角质层、栅栏组织等发育不全, 导致组织畸形, 器官功能不全, 分化能力降低, 所以很难继续用作扩大繁殖和生根培养的材料, 其生根困难, 移栽后也很难成活。这种情况主要是由于培养容器中空气湿度过高, 透气性较差, 细胞分裂素水平较高等因素造成。控制玻璃化要从培养的环境条件和生理生化方面入手, 基解决方法有: (1) 增加培养基中的溶质水平, 以降低培养基的水势, 如增加琼脂浓度、提高琼脂纯度, 提高蔗糖含量或加入渗透剂; (2) 减少培养基中 N 和 Cl 元素比例, 特别是降低氨态氮浓度, 提高硝态氮含量; (3) 增加自然光照; (4) 降低培养温度或进行变温培养; (5) 适当降低培养基中细胞分裂素和赤霉素的浓度, 考虑加入适量脱落酸; (6) 改善培养容器的通风换气条件, 如用棉塞或透气性好的封口膜封口。

参考文献

- [1] 张绪勋. 环保高科技的驱蚊植物——蚊净香草. 园林. 2003.8 第 135 期 P30.
[2] 胡一民. 今夏与蚊子说再见. 花木盆景花卉园艺版. 2003.6. A P24~25.
[3] 曹致义, 刘国民. 《实用植物组织培养技术教程》. 甘肃科学技术出版社.
[4] 韦三立. 《花卉组织培养》. 中国林业出版社.