

蚊净香草组织培养的研究进展

孙 皎^{1,2}, 许红梅², 陈广玉², 杨国慧¹, 韩 伟^{1,3}

(1. 东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江农业职业技术学院, 黑龙江 佳木斯 154007;

3. 黑龙江蚕蜂技术指导站, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘 要:综述了近年来蚊净香草组织培养技术体系的外植体筛选、培养基组配、诱导培养、继代增殖培养、生根培养、移栽管理等对组培影响的研究状况;并对蚊净香草组培存在的追求快速繁殖而忽略繁殖系数与成苗质量的关系,而有的方法虽然提高了繁殖系数、但幼苗的生长状况以及一些重要经济性状却发生了改变,甚至出现植株矮化、无花、叶片萎缩等现象进行了阐述;同时从理论上对研究前景及需要解决的问题进行了展望。

关键词:蚊净香草;组织培养;诱导分化;激素

中图分类号:S 567.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)24-0196-04

蚊净香草(*Pelargonium odoratissimum*)属牻牛儿苗科天竺葵属多年生草本植物,是利用生物技术,把澳洲的天竺葵细胞与一种富含香茅醛(具驱蚊效果的柠檬香味气体)的香茅草细胞融合而成的芳香类天竺葵植物。喜温、适应性强,可在高于 0℃ 的环境中存活,且能挥发出香茅醛、香茅醇等物质,达到驱蚊^[1]、净化室内外空气、缓解疲劳、保健、环保等功效,其市场潜力与经济效益较好。

蚊净香草具伞形花序,着生数朵粉色小花,不结实,因而不能自然繁育,而采用扦插法繁殖却很难成活^[2],因此利用组织培养法是快繁蚊净香草的最佳手段。蚊净香草的组培大多采用顶芽、侧芽或叶柄^[3]作为外植体,而利用顶/侧芽作为外植体影响了植株的健康生长,且顶/侧芽数量有限,难以快速建立无菌苗生产体系,继而影响到工厂化育苗的发展。与此同时,外植体的差异、培养基类型的差异、激素种类及浓度等因素都不同程度的影响到蚊净香草的繁殖系数、优良性状的保持。为了提高蚊净香草的快速繁育,利用组培技术作为主要方法,能够较好的、高效地繁育品质优良、性状良好的蚊净香草,满足市场的巨大需求^[4]。

1 外植体筛选

合适的外植体是组培以及无菌繁育体系建立的重要因素,此外外植体的部位、大小、形态、年龄等生理状态也都会影响蚊净香草的形态发生、繁殖效果以及生产成本^[4]。因此,在选择蚊净香草组培的外植体材料时,要充分考虑到母本的生理状态以及外植体的大小等因素。

1.1 不同器官再生能力的差异

理论表明植物的任何器官都可作为外植体进行组培,从而产生新的植株。在实践中,植株不同器官间的再生能力却具有较大差异。许晶慧等^[4]研究发现,蚊净香草植物体的不同器官,其组培时的分化难易度和分化率存在明显差异。刘学英^[5]利用侧芽和幼叶作为外植体于不同激素水平的 MS 培养基上培养结果表明,幼叶较适合作为蚊净香草组培的外植体材料;侧芽虽也可诱导出小芽,但取材时的数量有限。唐旭日等^[6]以侧芽、展开幼叶分别作为外植体进行试验,均能诱导出新的植株。卢秉国等^[7]以蚊净香草嫩叶和叶柄作为外植体进行培养,也均获得了完整植株。但嫩叶的诱导率明显高于叶柄,且嫩叶在培养过程中污染率小,故嫩叶是较合适的外植体材料。洪志霞等^[8]以幼叶进行组培,也获得了较好的植株。周俊辉等^[9]以蚊净香草不同叶龄叶片为外植体进行诱导,结果表明成熟叶片也可诱导出愈伤组织,但污染率较高。以上研究表明,蚊净香草幼叶作为外植体是组培的最佳材料。

1.2 外植体的大小和接种方式对再生能力的影响

不同大小的外植体对组培时愈伤组织的发生速度、发生数量以及之后芽的分化等方面均能产生较大影响,通常选择 0.5~1.0 cm² 的外植体为宜,如果外植体过

第一作者简介:孙皎(1979-),女,黑龙江佳木斯人,本科,实验师,现主要从事蔬菜及花卉组织培养等研究工作。E-mail: hnzysunjiao@163.com.

责任作者:杨国慧(1969-),女,博士,教授,硕士生导师,研究方向为果树种质资源及生物技术。

基金项目:黑龙江省教育厅高职高专科研资助项目(12515209)。

收稿日期:2013-09-16

大,则易引起污染;但如果外植体过小,则不易产生愈伤组织,有关蚊净香草组培材料的大小目前并没有明确的研究报道^[4]。

不同的接种方式对愈伤组织的诱导、分化也有较大影响。卢秉国等^[7]以蚊净香草的叶柄进行培养,发现叶柄垂直接种在培养基上,比平放在培养基上诱导出愈伤组织的时间要快,且诱导率较高,诱导率分别是 59.3% 和 35.8%;与此同时,在接种 24 d 后,不定芽的分化率也大为不同,垂直接种的可分化出 10 个以上不定芽,而水平接种的最多可分化出 6~7 个不定芽。这可能是垂直接种时,叶柄形态学上端的营养物质或生理活性物质被运输到形态学下端,造成下端细胞处于较活跃状态,有利于诱导产生愈伤组织和不定芽的分化^[7]。

2 培养基组配及植物生长调节物质

用于组培的培养基有百余种,较常用的有 MS、N6、B5、SH、WPM、LS、White、NT 等^[4],目前蚊净香草组培研究大多采用 MS 固体培养基^[10]。黄绿荷等^[11]利用 MS、1/2MS、B5 3 种培养基对芽进行增殖培养,结果表明 MS 培养基效果最为理想,且增殖倍数高达 6.1 倍。

基本培养基在组培过程中仅能满足外植体的生存,以及最简单的生理、生化活动等基本要求,因此唯有配合使用适当的激素(如生长素和细胞分裂素),才能诱使外植体的细胞分裂,从而形成愈伤组织,进而完成根和芽等器官分化发生^[4,12]。刘学英^[5]、梁称福^[13]以侧芽和幼叶为材料,研究了 CTK 和 IAA 对不定芽诱导的影响,其中,当培养基中添加 6-BA 0.2 mg/L、IAA 0.1 mg/L 时,芽诱导率达 90%;而当培养基中添加了 6-BA 2.0 mg/L 和 IAA 0.2 mg/L 时,则适宜叶片愈伤组织的诱导发生^[7],芽诱导率达 70%。

周俊辉等^[9]研究认为,植物生长调节剂对蚊净香草的培养起着重要作用,低浓度的 6-BA 能较好的促进愈伤组织的形成、不定芽分化和增殖,但卢秉国等^[7]、倪苏等^[14]研究认为 6-BA 含量随着浓度增加,芽增殖率提高,且以 2.0 mg/L 的效果最好。因此可知,合适比例的 IAA 和 CTK 在培养基中的存在,对于蚊净香草外植体愈伤组织的发生以及之后芽和根的分化是不可避免的^[4]。

3 诱导培养

受限于蚊净香草的品种,以及选用的蚊净香草外植体、培养基种类、添加激素种类和浓度的不同^[4],因此得出的研究结果也不尽相同。黄绿荷等^[11]以蚊净香草嫩茎和叶为外植体,在 MS+NAA 0.2 mg/L+维生素 C 3.0 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 的培养基上培养,愈伤组织的诱导率高达 83.3%。周俊辉等^[9]以成熟叶片为材料,在 MS+6-BA 1.00 mg/L+NAA 0.20 mg/L 培

养基上培养,有利于愈伤组织的诱导、不定芽的分化及丛生芽的增殖;唐旭日等^[6]以侧芽为外植体时,适宜的诱导培养基是 MS+6-BA 0.2 mg/L+IAA 0.1 mg/L;以叶片和叶柄为外植体时,适宜的诱导培养基为 MS+6-BA 0.5~1.0 mg/L+IAA 0.25~0.50 mg/L;卢秉国等^[7]以叶片和叶柄为外植体,最适合愈伤组织形成和不定芽分化的培养基是 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L。由于蚊净香草的诱导分化培养基配方比较宽泛,因此具体应用时可配置不同组合来确定最佳培养基配比。

4 继代增殖培养

将诱导培养得到的蚊净香草丛生芽,切成均匀的小块接种于继代增殖培养基上,进行快速继代增殖。黄绿荷等^[11]研究表明,连续继代中使用高浓度(>1.0 mg/L)或者低浓度(<0.5 mg/L)的 6-BA 增殖效果均不好,长期使用高浓度会抑制芽的生长,长期使用低浓度也不利于芽的萌发,交替使用则可改善这种状况。同时,在继代增殖培养过程中,添加 200 mg/L 水解酪蛋白也能明显提高芽的增殖效率。周小锋^[15]研究表明,增殖最适培养基是 MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L,增殖倍数高达 10.04 倍。卢秉国等^[7]研究认为以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L 为增殖培养基时,增殖芽数多、芽较强、芽生长速度快。

5 生根培养

选择继代培养后高于 2 cm 的不定苗,将其由基部剪下,并接种在生根培养基上,研究发现,适当浓度的 IAA、IBA、NAA 都可诱导生根。黄绿荷等^[11]利用 NAA、IBA 进行诱导生根,发现 NAA 浓度越高根越粗,同时 IBA 有利于根数量的增多。周俊辉等^[9]以 MS+NAA 0.20 mg/L 培养基进行生根培养,诱导的根数不仅多,而且幼苗健壮。周小锋^[15]、陈银龙等^[16]研究表明蚊净香草生根最佳培养基为 1/2MS+IBA 0.05 mg/L 液体培养基,生根率高达 100%,并且采用液体培养基生根,组培苗移栽清洗时方便且不伤根,移栽时成活率极高。郑伟等^[17]采用速效生根剂扦插繁殖蚊净香草时发现,生根剂使用浓度在 5~40 mg/kg 范围内生根效果较好。

综上所述,蚊净香草芽苗诱导生根比较容易,生根诱导不需或仅需很低浓度的生长素,这可能与其在幼苗时能够产生较多的生长素有关。同时应着重注意调节激素和矿质盐的比例和浓度,以使组培苗生长强壮、根系发达,从而提高组培苗的成活率^[4]。

6 移栽管理

6.1 基质筛选

蚊净香草移栽时对基质要求不高,适宜生长的基质配方均可使用。黄绿荷等^[11]以黄土:河沙:泥炭土

按 6:1:3 的比例配置基质,苗成活率达到 95%以上。周俊辉等^[9]将已生根的健壮小苗移栽于泥炭基质中,成活率达 85%以上。周小锋^[15]以蛭石、蛭石+泥炭为移栽基质时,二者成活率相差不大。卢秉国等^[7]将生根苗移栽到消毒的营养土(腐殖质土:珍珠岩=1:1)中,成活率达 90%以上。郑伟等^[17]以河沙、木屑、田园土为 1:1:2 配置基质,成活率达 96%。陈银龙等^[16]以蛭石:泥炭=5:1 为移栽基质时,苗生长快、粗壮、叶绿、坚挺等特点。

6.2 移栽管理

为提高蚊净香草组培苗的移栽成活率,移栽过程中应遵循以下措施,一是移栽前先练苗 2~3 d;二是将试管苗轻轻取出,清洗干净根部的培养基,并除去基部黄叶^[18];三是移栽后每 3~4 d 喷施 800 倍多菌灵进行防护;四是移栽后立即在叶面上喷一些水雾,遮荫保湿 7 d^[19-20];五是移栽 2 周后,每周浇水 2~3 次,施用营养液 1 次,待幼苗已经完全适应自然环境后,可移入大田种植^[21-22]。

7 前景展望

利用蚊净香草的部分组织或器官进行组培,可在短期内使其快速繁殖,也可为实现工厂化育苗奠定基础,但目前尚存在一些问题,如人们为追求快速繁殖,而忽略繁殖系数与成苗质量的关系;而有的方法虽然提高了繁殖系数,但幼苗的生长状况以及一些重要经济性状却发生了改变^[23],甚至出现了植株矮化、无花、叶片萎缩等现象;在组培过程中产生的试管苗褐化、玻璃化^[24]现象也较突出^[4,25];此外,还存在组培成本较高、工序复杂等制约因素^[4,26]。目前对于组培体系比较完善的作物在实验室条件下可以进行小规模的生产,因此,要建立起高效的蚊净香草再生体系,真正实现蚊净香草优良品种又好又快工厂化育苗是今后研究的重点,也是改良品种和丰富种质资源的必要途径。

参考文献

- [1] 洪志霞,王和乐,蒋福稳,等. 蚊净香草的离体培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯,2003,39(6):640.
- [2] 刘学东,张水林,李淑珍,等. 蚊净香草的栽培管理技术[J]. 河南农业,2003(7):27.
- [3] 曹智,卢秉国. 蚊净香草叶柄的组织培养和快速繁殖研究[J]. 福建果树,2004(4):4-5.
- [4] 许昌慧,李丹丹,杨文龙,等. 非洲菊组织培养技术体系研究进展[J]. 山东林业科技,2009(2):133-137.
- [5] 刘学英. 蚊净香草的离体快繁工艺[J]. 安徽农业学,2008,36(23):9893-9895.
- [6] 唐旭日,史文山. 蚊净香草的离体快速繁殖工艺流程[J]. 农业科技通讯,2008(9):33-35.
- [7] 卢秉国,曹智,陈昭. 蚊净香草快速繁殖研究[J]. 亚热带植物科学,2004,33(2):44-46.
- [8] 洪志霞,王和乐,蒋福稳,等. 蚊净香草的离体培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯,2003,39(6):640-641.
- [9] 周俊辉,杨妙贤,洗元香. 蚊净香草叶片离体培养研究[J]. 仲恺农业技术学院学报,2005,18(2):21-24.
- [10] 江年琼,张睿,郑易之. 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[J]. 农业生物技术科学,2006,22(9):59-62.
- [11] 黄绿荷,莫志军,何增明,等. 对蚊净香草离体快速繁殖技术优化的探索[J]. 种子,2005,24(6):71-81.
- [12] 张彦妮. 影响植物组织培养成功的因素[J]. 北方园艺,2006(3):132-133.
- [13] 梁称福. 驱蚊香草组织培养技术研究[J]. 江西农业学报,2007,19(1):70-71.
- [14] 倪苏,刘帆帆. 净香草的组织培养与快速繁殖[J]. 农业科技通讯,2004(7):23.
- [15] 周小锋. 水体生态修复中蚊净香草快繁技术研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(15):4442-4477.
- [16] 陈银龙,赖小芳,王伯诚,等. 植物组织培养中液体生根培养基的研究与应用[J]. 植物生理学通讯,2006,42(3):596.
- [17] 郑伟,王彬. 生根剂和扦插基质对蚊净香草生根的影响[J]. 植物生理学通讯,2005,16(1):11-12.
- [18] 袁云香. 驱蚊香草组织培养的研究进展[J]. 农产品加工,2011(12):52-54.
- [19] 张红,苏荣存,贾海慧,等. 驱蚊香草的组织培养技术研究[J]. 农业与技术,2006,4(2):61-63.
- [20] 刘庆,姚淑敏,唐征,等. 驱蚊草的扦插繁殖试验[J]. 温州农业科技,2006(2):20-21.
- [21] 唐旭日,史文山. 蚊净香草的离体快速繁殖工艺流程[J]. 农业科技通讯,2009(9):33-35.
- [22] 刘学英. 蚊净香草的离体快繁工艺[J]. 安徽农业科学,2008,36(23):9893-9895.
- [23] 杨光慧,谢振宇. 非洲菊组织培养研究进展[J]. 热带农业科学,2003,23(1):56-60.
- [24] 杨丽琴,李瑞,王俊,等. 植物组织培养的三大难题[J]. 北方园艺,2008(4):104-107.
- [25] 梁贵秋,唐燕梅,陆飞. 驱蚊香草的组织培养与快速繁殖[J]. 广西热带农业,2004(5):3-4.
- [26] 张东旭,周增产,卜云龙,等. 植物组织培养技术应用研究进展[J]. 北方园艺,2011(6):209-213.

Advances of Tissue Culture of *Pelargonium odoratissimum*

SUN Jiao^{1,2}, XU Hong-mei², CHEN Guang-yu², YANG Guo-hui¹, HAN Wei^{1,3}

(1. Horticulture Department, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. Heilongjiang Agricultural Vocational and Technical College, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 3. Heilongjiang Bee Technical Guidance of Silkworm, Harbin, Heilongjiang 150090)

非粮能源植物菊芋对改良吉林西部盐碱沙地的作用及应用前景

刘 鹏¹, 王 秀 飞¹, 张 维 东¹, 徐 长 虹², 韩 喜 国², 张 永 锋¹

(1. 吉林省农业科学院 农村能源与生态研究所, 吉林 长春 130033; 2. 吉林省农业科学院 洮南综合试验站, 吉林 洮南 137100)

摘 要:在简要介绍菊芋生物生态学特性和利用价值基础上,总结了菊芋国内利用现状和发展趋势;阐述了菊芋作为一种抗旱、耐盐植物对吉林省西部盐碱沙地治理、生态农业开发及非粮生物质能源基地建设等的必要性和意义;分析了目前菊芋产业、菊芋产品及市场的技术需求和改良吉林西部盐碱沙地的应用前景。

关键词:菊芋;非粮能源植物;抗旱;耐盐碱;吉林西部

中图分类号:S 812.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)24-0199-04

菊芋(*Helianthus. tuberosus* L.)是菊科向日葵属中唯一能形成地下块茎的同源异源六倍体($2X=102$)多年生草本植物。菊芋喜肥沃土壤,但也耐贫瘠、耐盐碱;既喜湿润,但也耐旱;喜温暖,也耐寒。因此在全球的热带、温带、寒带以及干旱、半干旱地区都有菊芋的分布和栽培^[1-2]。

1 菊芋的生物生态学特性及利用价值

1.1 菊芋的生物学特性

菊芋耐寒能力强,冰冻期地下茎结冰进入冬眠,块茎可在 $-25\sim-40^{\circ}\text{C}$ 的冻土层内安全越冬。菊芋的根系发达,具有很强的耐旱能力。过于干旱时地上茎细矮、不开花,地下块茎小、产量低,但很少旱死;同时,菊芋也具有耐瘠薄特性和很好的抗风沙能力。自2007年菊芋被引入吉林西部盐碱沙地后,经多年人工栽培试验,

证明菊芋是防风固沙、治理风沙盐碱地的首选生物质作物。首先,菊芋可以在轻度、中度盐碱程度地上自然生长,其中菊芋在轻度、中度盐碱地上其株高生长良好者可达2 m,在重度盐碱地上其株高也可超过1 m。且经过进一步选育,耐碱能力强的品系可以在重度盐碱地上完成生活史,并生长良好。其次,菊芋不仅耐盐碱能力强,而且生长势也强,具有较大的阔叶叶片和叶片密度,能够形成很大的叶面积指数。菊芋的这些特征都显著优于传统应用的禾本科和其它牧草植物。此外,由于菊芋的适生能力强,易种植及管护,自然散生时主要通过地下块茎无性繁殖实现每年的种群更新和扩展,因此人工规模化种植菊芋就可利用其地下块茎进行扩繁,即将菊芋块茎采用适当方式埋入土壤后即可自然生长,在盐碱沙地上种植基本上不需要田间管护,而且,一次种植即可大量繁殖,不需要每年种植。所有这些特性都从多方面降低了盐碱沙地改良的成本。

民间有句谚语“菊芋就是姜不辣,耐寒耐旱耐风沙;土一埋,就发芽,八九十月开黄花;一窜俩,俩窜仨,二分窜出一亩八;窜出沙漠一片绿,绿色家园是我家”。从中即可道出菊芋治理生态的效果和作用。

1.2 菊芋的利用价值

菊芋浑身是宝,其块茎既可食用,也可生产菊粉、果糖浆、色素等食品工业原料。菊芋块茎富含菊糖

第一作者简介:刘鹏(1963-),男,研究员,现主要从事秸秆资源化利用及能源作物育种等研究工作。E-mail: liupeng6301@163.com.

责任作者:张永锋(1965-),男,研究员,现主要从事农村生态与循环农业等研究工作。

基金项目:吉林省财政厅育种专项和科技厅生物质产业技术创新战略联盟资助项目(20130305040NY)。

收稿日期:2013-09-09

Abstract: The advances of tissue culture of *Pelargonium odoratissimum* were summarized from the explants screening, medium, induction culture, subculture culture, rooting, seedling transplanting, and the problems in its tissue culture were discussed, including ignoring the relationship between propagation coefficient and seedling quality, the growth conditions and some important economic traits changed while the propagation coefficient improved, some even dwarf, without flowers or leaves. The research prospect and problems were discussed theoretically.

Key words: *Pelargonium odoratissimum*; tissue culture; induced differentiation; hormone