

驱蚊香草的组培技术研究

张红 苏荣存 贾海慧 苏慧风

(德州学院农学系, 山东 德州 253013)

【摘要】 本实验对驱蚊香草的组培技术进行了研究, 结果表明: 以叶柄为外植体接种效果最好, 污染率和死亡率低, 苗的分化率高; 驱蚊香草的诱导培养基和增殖培养基以 MS + BA1.5mg/L + NAA0.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L 为好; 生根培养基以 MS + IBA0.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L + 活性炭 1g/L 较好。

【关键词】 驱蚊香草; 组培; 外植体; 培养基

中图分类号: S564.4

文献标识码: C

驱蚊香草 (Mozzie Buster) 又名蚊净香草、驱蚊草等, 属于天竺葵属牻牛儿苗科, 是荷兰遗传家 Drik Van Lenan 运用现代生物技术, 将澳洲的天竺葵和中国香茅草的细胞融合, 然后经过多年选育而成的, 95 年由澳大利亚引入我国。天竺葵具有强大的气体蒸发功能, 具有“天然蒸发器”之称, 其可将自己制造的气体不断的散发于空气中, 而香茅草则具有控制香茅醛合成的基因, 香茅醛具有非常好的驱蚊效果, 可驱避上百种蚊虫, 对人体无害, 但香茅草散发气味的能力较弱, 驱蚊香草兼具了澳洲天竺葵的蒸发功能和中国香茅草的产生香茅醛的基因, 因此可将驱蚊物质香茅醛徐徐散发于空气当中, 从而具有驱蚊作用。驱蚊香草的问世使人类的驱蚊变得简单、自然, 开创了驱蚊的新方法; 驱蚊香草还可以净化空气, 调节人的神经系统, 醒脑提神、增进食欲, 对人体有保健作用; 另外驱蚊香草在幼苗期发育很快, 半年可生长成熟, 生长至二到三年后主枝逐步木质化, 生长期枝叶的造型可人为随意改变, 具有很高的观赏价值。

驱蚊香草属多年生草本植物, 四季常绿, 有花无果, 不结实, 所以不能自然繁育, 而采用扦插繁殖很难成活, 即使有部分成活, 在自然条件下, 连续扦插容易感染病毒, 经过代代积累, 病毒会发作, 驱蚊功能会代代衰减, 直至变异变种、面目全非, 甚至成为没有任何驱蚊功能的“野草”, 因此组织培养是繁育驱蚊香草的最佳手段, 为此, 我们进行了驱蚊香草的组培技术研究, 以期为其工厂化育苗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

室内培养三个月的一年生盆栽驱蚊香草。

1.2 方法

1.2.1 启动培养 (诱导培养)

(1) 外植体的预处理: 取下驱蚊香草的上部幼嫩的枝叶将其分为三部分: 腋芽、叶片 (剪成 1cm^2 大小)、叶柄 (长 1cm 左右), 将外植体分别放于三个烧杯中, 仔细洗净, 用洗衣粉漂洗 3 分钟, 流水冲洗 30 分钟, 晾干以备消毒处理。

(2) 培养基的配制: MS + BA2.0mg/L + NAA0.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L, 调 PH 值至 5.8~6.2。

(3) 外植体的消毒处理: 将经预处理的外植体放于超净工作台上, 分别用 75% 酒精浸泡 20 秒钟, 用无菌水清洗一次; 再用 0.1% 升汞消毒 5 分钟, 最后用无菌水清洗 3 次, 放于无菌纱布上晾干, 以备接种用。

(4) 接种: 由于材料有限, 腋芽只接种了 5 瓶, 每瓶 1 芽; 叶片和叶柄分别接种了 10 瓶, 每瓶 3 个外植体。

(5) 观察内容: 污染率 (接种污染数/接种总数)、死亡率 (未污染死亡数/未污染总数)、启动率 (未污染外植体启动数/未污染的外植体总个数)。

1.2.2 增殖培养

(1) 培养基:

MS + BA1.5mg/L + NAAO.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L

MS + BA1.0mg/L + NAAO.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L

(2) 接种：经初代培养获得的试管苗，取 2~3 个小芽接种在这两种增殖培养基上，进行继代培养，每种培养基接种 5 瓶，每瓶 3 个小芽。

(3) 观察内容：芽的增殖生长状况。

1.2.3 生根培养

(1) 培养基：

MS + IBAO.05mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L + 活性炭 1g/L

MS + IBAO.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L + 活性炭 1g/L

MS + IBAO.2mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L + 活性炭 1g/L

(2) 接种：取试管苗中 3cm 以上的单苗接种到生根培养基。

(3) 观察内容：单苗的生根状况。

2 结果与分析

2.1 外植体对启动培养的影响

将驱蚊香草的腋芽、叶片、叶柄分别接种在培养瓶中。3 天后，发现部分材料有污染现象。10 天后，部分叶片边缘可见白色透明颗粒状的愈伤组织，叶片下弯、增厚，部分叶片干枯死亡；绝大部分叶柄整个变得粗壮；腋芽有所生长，底部形成愈伤。30 天后，腋芽有所增殖、叶片、叶柄陆续有芽抽出。此时统计污染数，死亡数，分化出苗数，计算污染率，死亡率和启动率，结果如下表：

表 1 外植体对启动培养的影响

外植体 Explants	污染率 (%) Pollution rate	死亡率 (%) Death rate	启动率 (%) Startup rate
叶片	20.5	48.6	82.7
腋芽	40	0	100
叶柄	17.5	0	100

(1) 就污染率而言：由表 1 可知，腋芽污染率最高，达 40%。叶片次之，而叶柄污染率最低。分析其原因认为可能如下：腋芽由于本身体积较大，表面积较大，灭菌时不易把杂菌去除干净；而叶片、叶柄相对而言体积较小，灭菌较容易。

(2) 就启动率而言：由于取材部位不同，细胞生长与分化能力有所区别，芽的启动情况也略有不同。在此实验中，叶柄、腋芽启动率高，而叶片较差，这可能是由于叶片较薄，分化能力较差，另外发现叶柄和腋芽的启动率虽然相同，但分化出苗的数量差别却很大，叶柄分化出苗的数量较大，而腋芽虽然本身生长很快，但分化数目却较少，我想：这可能类似于芽的顶端优势现象，腋芽本身的生长影响了其进一步的分化。

(3) 就死亡率而言：由表 1 可看出，腋芽和

叶柄均无死亡，而叶片死亡率较高，达 48.6%。分析其原因，可能是叶片过于幼嫩，表面积相对较大，消毒时灭菌时间过长或灭菌液浓度过大而杀伤组织，导致死亡。

2.2 增殖培养基的筛选

启动培养发现：产生愈伤组织的同时，芽的分化率也很高，但苗子较弱。有研究表明：细胞分裂素和生长素的比值大时促进芽的分化^{[1][3]}，为减少苗的分化，提高苗的质量，降低了 BA 的浓度，确定了另外两种培养基，并与启动培养的培养基进行了对比，结果表明：BA 浓度降为 1.5mg/L 后，分化苗的数量有所减少，但苗生长健壮，叶色深绿，苗的质量较好；BA 浓度进一步降为 1.0mg/L 后，苗细弱，叶色发黄，因此增殖培养基以 MS + BA 1.5mg/L + NAAO.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L 较好。

表2 增殖培养试验结果

BA 浓度 (mg/L) Concentration of BA	月增殖系数 Multiplication coefficient per month	增殖芽生长状况 Growth situation of multiplication bud
1.0	3.65	芽苗生长纤细, 长势弱
1.5	4.88	丛生芽生长健壮
2.0	6.04	苗分化过多, 过度微型化

2.3 生根培养基的筛选

增殖培养过程中, 苗的基部形成大量的愈伤组织而无根的分化, 分析可能是萘乙酸 (NAA) 对驱蚊香草根的诱导作用较弱, 因此初步确定用吲哚丁酸 (IBA) 来诱导根的分化, 浓度分别定为 0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L。另据报道, 活性炭有促进生根的作用^[2], 因此每种培养基加了 1g/L 的活性炭。结果表明: 每种培养基都有不同程度的根的发生, 只是发根的速度、根的数量稍有差异。IBA 为 0.05mg/L 时, 发根速度较慢, 数量较少, 平均发根数为 1~2 根/苗; IBA 为 0.1mg/L, 平均发根数量为 3~4 根/苗, 根较健壮; IBA 为 0.2mg/L 时, 平均发根数和 IBA 为 0.1mg/L 时差不多, 但是根的生长速度快, 比较细长。因此生根培养基中 IBA 的浓度以 0.1mg/L 较好。

3 讨论

本研究表明: 用驱蚊草的叶柄作为外植体进

行接种, 污染率低, 芽的分化率高, 这为类似草本植物的组培快繁中外植体的选择提供了新的思路。由于材料比较少, 无法设立对照, 所以启动培养是根据经验确定的培养基的配方, 通过实验发现诱导的小苗过度微型化, 因此适时的对激素浓度进行了调整, 最终确定驱蚊草快繁的启动培养基和增殖培养基皆为: MS + BA1.5mg/L + NAA0.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L; 生根培养基为 MS + IBA0.1mg/L + 糖 25g/L + 琼脂 7g/L + 活性炭 1g/L, PH 值皆为 5.8~6.2。

参考文献

- [1] 谭文澄、戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社. 1991
- [2] 杨增海. 园艺植物组织培养[M]. 农业出版社. 1987
- [3] 程家胜. 植物组织培养与工厂化育苗技术[M]. 金顿出版社. 2003

Studies of tissue culture techniques of Mozzie Buster

ZHANG Hong, SU Rong-cun, JIA Hai-hui SU Hui-feng

(Department of Agronomy, Dezhou University, Dezhou Shandong 253013, China)

Abstract: Tissue culture of Mozzie Buster was studied in this experiment. The results showed that the inoculation effect is best made leafstalks as explants; Pollution rate and death rate are low and polarization rate of young plants is high. At the same time it improved that the best bud abduction and multiplication medium is MS + BA1. 5mg/L + NAA0. 1mg/L + Sugar25 g/L + Agar7g/L, and the rooting medium is MS + IBA 0. 1mg/L + Sugar25g/L + Agr7g/L + Active carbon1g/L.

Keywords: Mozzie Buster; Tissue culture; Explants; Medium

作者简介: 张红 (1971-), 女, 山东省德州市平原县人, 德州学院农学系讲师, 硕士, 主要从事作物遗传育种的教学与研究。