

驱蚊香草组织培养试验研究初报

张明伟, 刘丽荣, 苏荣德, 李长锁, 马学文

(辽阳市林业科学研究所, 辽宁 辽阳 111000)

摘要: 以驱蚊香草幼嫩茎段为外植体, 进行组织培养研究, 同时进行了瓶苗移栽技术试验, 经过多组合培养基对比试验, 筛选出各培养阶段最适宜的培养基配方及培养条件。诱导分化阶段: MS+6-BA $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 继代增殖阶段: MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 生根培养阶段, 1/2MS+IAA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。总结出大田土、珍珠岩及阔叶腐殖土配比为1:1:2的混合基质为适宜瓶苗移栽的基质, 移栽成活率可达90%以上。

关键词: 驱蚊香草; 组织培养

中图分类号: Q 944.6

文献标识码: B

文章编号: 1671-0517 (2006) 03-0008-03

驱蚊香草是牻牛儿科天竺葵属植物, 最早是1995年由中国科学院遗传与生物研究所从澳大利亚引入中国的。其种源是由含有“香茅醛”的香茅草和能由叶片释放气体的天竺葵两者细胞融合重组分离, 进而产生的一种新植物。这种植物在温度较高时, 散发的气体既能驱走蚊虫还能净化空气, 非常适合于家庭及公共场所摆放。驱蚊香草是多年生草本植物, 有花无果, 不能进行有性繁殖, 扦插繁殖的繁殖速率较低, 难以满足人们的迫切需要。我们在2003年引进了一批种苗, 开展了组织培养技术研究。经过一年多的试验, 现已掌握了该植物在诱导分化、继代增殖和生根培养各阶段的培养基配方, 从而大大提高了繁殖速度。同时, 我们又对瓶苗移栽技术管理进行了试验, 取得了秧苗管理的配套措施, 为驱蚊香草早日走进千家万户提供了技术支持。

1 试验材料试验方法

1.1 试验材料

试验材料: 从盆栽驱蚊香草上取嫩茎。

主要药品: 生长调节剂: 细胞分裂素6-BA、KT、ZT, 细胞生产素IBA、NAA、IAA。

培养基: 以MS培养基分别为诱导和增殖的基本培养基, 加入0.7%的琼脂, 3%的糖, pH值为6.2。生根培养基为1/2MS为基本培养基, 0.7%的琼脂, 3%的糖, pH值为6.2。

1.2 试验方法

1.2.1 诱导分化

预备试验 取驱蚊香草嫩茎为外植体, 用清水冲洗30 min, 移入超净工作台内, 用70%酒精浸泡20 s, 取出后放入0.1%升汞浸泡4 min, 再用无菌水冲洗8次(浸泡过程中用玻璃棒轻轻搅动)。取出试材, 用滤纸吸干水分, 截取茎段长1 cm左右, 接种到不同浓度的6-BA、KT、ZT与不同浓度的生长素IBA、NAA、IAA相互配比的诱导

分化培养基上进行诱导分化培养。

诱导试验 根据预备试验的结果, 采用MS培养基与6-BA3个浓度和NAA3个浓度相互配组, pH值均为6.2, 形成9个处理, 对驱蚊香草进行诱导分化试验。不同浓度激素组合见表1。

培养环境均为温度 $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, 每天光暗周期为16/8 h, 日光灯强度为1 500 Lx。

表1 诱导试验不同激素组合

培养基和处理序号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)
1	2.0	0.1
2	2.0	0.2
3	2.0	0.3
4	2.5	0.1
5	2.5	0.2
6	2.5	0.3
7	3.0	0.1
8	3.0	0.2
9	3.0	0.3

1.2.2 继代增殖 分生的成苗长到4 cm后, 在无菌工作台上切成茎断, 每断留1叶芽, 再转到MS培养基分别与6-BA3个浓度、KT 2个浓度和NAA2个浓度组合, pH值为6.2的继代培养基上进行增殖培养。不同浓度激素组合见表2。

表2 继代增殖试验不同激素组合

培养基和处理序号	6-BA (mg/L)	KT (mg/L)	NAA (mg/L)
1	1.0		0.3
2	2.0		0.3
3	3.0		0.3
4		2.0	0.1
5		3.0	0.1
6		2.0	0.3
7		3.0	0.3

1.2.3 生根培养 经30 d的培养, 小苗高度在4 cm时, 取生长健壮的无根芽苗, 在无菌操作台

收稿日期: 2006-07-19

作者简介: 张明伟(1970-), 男, 辽宁灯塔人, 工程师。

上分株,接种到用1/2 MS培养基分别与4个不同浓度的NAA、IAA、IBA相互组合,pH值为6.2的生根培养基中进行生根培养。激素及其浓度组合见表3。

表3 生根培养试验不同激素组合

培养基和处理序号	培养基	激素 (mg/L)
1	1/2MS	NAA1.5
2	1/2MS	NAA2.0
3	1/2MS	NAA2.5
4	1/2MS	NAA3.0
5	1/2MS	NAA1.5
6	1/2MS	NAA2.0
7	1/2MS	NAA2.5
8	1/2MS	NAA3.0
9	1/2MS	NAA1.5
10	1/2MS	NAA2.0
11	1/2MS	NAA2.5
12	1/2MS	NAA3.0

1.2.4 瓶苗移植 当生根苗根长2 cm左右时,选根系较好的瓶苗进行移栽。移栽方法:①配制基质。按1:1:2的比例取大田土、珍珠岩和阔叶腐殖土,搅拌均匀,用2 000倍的百菌清溶液浇透,上覆塑料布,三天后即可栽苗。②栽苗。将瓶苗放入将要栽植的环境中炼苗,一周后打开封口膜,取出幼苗用清水洗掉根部的培养基,栽入基质中,深度为埋上须根即可。③保湿。用塑料拱棚覆盖新栽幼苗,开始每天通风两次,每次1小时左右,逐渐增加通风时间,基质干可适当喷水,15 d后撤下覆盖物,进行正常的生产管理。④装盆。移栽40 d

后,小苗可长到15 cm左右,即可移入小花盆中培养。培植基质为大田土和阔叶腐殖土混合土,比例为1:1。

2 试验结果及分析

2.1 不同培养基对驱蚊香草诱导分化的影响

驱蚊香草诱导分化培养过程中,首先用3个浓度的6-BA、KT、ZT与3个浓度的NAA、IAA、IBA相互配组,进行植物激素最佳组合筛选试验。通过试验发现细胞分裂素6-BA、KT与生长素NAA配组,在接种7 d后外植体基部开始膨大,产生了愈伤组织,20 d后分生出幼芽,30 d后已分生成苗。但细胞分裂素6-BA与生长素NAA配组优于细胞分裂素KT与细胞生长素NAA配组。因此,采用6-BA3个浓度与NAA3个浓度相互配组,组成9个处理,进一步筛选最为适宜的诱导分化培养基,并对试验结果进行了数理统计分析,试验结果见表4。

试验结果:经多次重复试验发现,MS+6-BA2.5 mg/L+NAA0.1 mg/L,pH值为6.2的培养基,较其它组合产生的幼芽更多、更壮,更适于对驱蚊香草的诱导分化。数理统计分析得到:处理组合 $F=1.61$, $F_{0.05}=2.25$ ($f_1=8$, $f_c=32$), $F<F_{0.05}$,差异不显著;6-BA浓度在2.0 mg/L~3.0 mg/L范围内时, $F=1.38$, $F_{0.05}=3.3$ ($f_1=2$, $f_c=32$), $F<F_{0.05}$,差异不显著;NAA浓度在0.1 mg/L~3.0 mg/L范围内时, $F=2.91$, $F_{0.05}=3.3$ ($f_1=2$, $f_c=32$), $F<F_{0.05}$,差异不显著;6-BA与NAA交互作用 $F=1.07$, $F_{0.05}=2.67$ ($f_1=2$, $f_c=32$), $F<F_{0.05}$,差异不显著。

表4 不同配方对诱导分化的影响

处理	培养基组成 (mg/L)	调查数量 (瓶)	每瓶接种数量 (个)	平均分化芽数 (个)	出愈率 (%)	增殖系数
1	MS+6-BA2.0+NAA0.1	10	3	12	100%	4
2	MS+6-BA2.0+NAA0.2	10	3	12	100%	4
3	MS+6-BA2.0+NAA0.3	10	3	11	100%	3.7
4	MS+6-BA2.5+NAA0.1	10	3	17	100%	5.7
5	MS+6-BA2.5+NAA0.2	10	3	12	100%	4
6	MS+6-BA2.5+NAA0.3	10	3	14	100%	4.7
7	MS+6-BA3.0+NAA0.1	10	3	14	100%	4.7
8	MS+6-BA3.0+NAA0.2	10	3	13	100%	4.3
9	MS+6-BA3.0+NAA0.3	10	3	15	100%	5

2.2 不同培养基对继代增殖的影响

经过多次重复试验发现,接种到MS+6-BA2.0 mg/L+NAA0.3 mg/L,pH值为6.2的培养基上的茎断,经30 d的培养,分化出的小苗高度达4 cm,且增殖株数较多,适用于对驱蚊香草的继代增殖培养。数理统计分析也得到同样结论。经

计算得出各处理间 $F=6.72$, $F_{0.05}=2.44$, $F>F_{0.05}$ ($f_1=6$, $f_c=28$),差异非常显著。t值测验得到:处理7与处理4、处理1与处理6、处理5与处理6、处理1与处理5、处理1与处理3之间无显著差异,其余各处理间差异都非常显著。具体试验结果见表2。

表5 不同培养基对继代增殖的影响

处理	培养基组成 (mg/L)	调查瓶数 (个)	每瓶接种数 (个)	平均增殖株数 (棵)	增殖率 (%)	增殖苗生长 分化情况
1	MS+BA1.0+NAA0.3	10	3	14	4.7	正常, 小苗多
2	MS+BA2.0+NAA0.3	10	3	19.6	6.5	正常, 小苗最多
3	MS+BA3.0+NAA0.3	10	3	16	5.3	正常, 高、弱
4	MS+BA2.0+NAA0.1	10	3	9	3	正常, 弱
5	MS+BA3.0+NAA0.1	10	3	12	4	正常, 小苗多
6	MS+BA2.0+NAA0.3	10	3	12	4	正常, 小苗多
7	MS+BA3.0+NAA0.3	10	3	9	3	正常, 弱

2.3 不同培养基对生根的影响

经多次重复试验发现, 不同的生长素在不同的浓度下均可以使幼苗生根, 其中 1/2MS +

IAA1.5 mg/L, pH 值为 6.2 的培养基, 培养出的根系较多, 长度可达 3 cm 左右, 较适合驱蚊香草的生根培养。试验结果见表 3。

表6 不同培养基对生根的影响

处理	培养基组成 (mg/L)	接种株数 (棵)	生根株数 (棵)	生根百分率 (%)	根系状况
1	1/2MS+NAA1.5	20	18	90	须根较多, 白色, 较细, 根长 2.5 cm
2	1/2MS+NAA2.0	20	15	75	须根较多, 白色, 较细, 根长 2 cm
3	1/2MS+NAA2.5	20	15	75	须根较多, 白色, 较细, 根长 1.8 cm
4	1/2MS+NAA3.0	20	16	80	须根较多, 白色, 较细, 根长 2 cm
5	1/2MS+NAA1.5	20	20	100	须根较多, 白色, 细匀, 根长 3 cm
6	1/2MS+NAA2.0	20	19	95	须根较少, 白色, 粗壮, 根长 2.5 cm
7	1/2MS+NAA2.5	20	18	90	须根较少, 白色, 粗壮, 根长 2.2 cm
8	1/2MS+NAA3.0	20	16	80	须根较少, 白色, 粗壮, 根长 2.2 cm
9	1/2MS+NAA1.5	20	12	60	须根较少, 白色, 粗壮, 根长 2.3 cm
10	1/2MS+NAA2.0	20	13	65	须根较少, 白色, 粗壮, 根长 1.8 cm
11	1/2MS+NAA2.5	20	18	90	须根多, 白色, 粗, 根长 2.9 cm
12	1/2MS+NAA3.0	20	15	75	须根较少, 白色, 粗壮, 根长 2.2 cm

2.4 瓶苗移栽

经过 30 d 的生根培养, 根长 2 cm 左右时, 选根系较好的瓶苗, 用大田土: 珍珠岩: 阔叶腐殖土比为 1:1:2 的基质移栽, 通过杀菌、炼苗、保湿及通风处理, 瓶苗成活率达可 90% 以上。小苗可长到 15 cm 左右, 即可移入大田土和阔叶腐殖土比为 1:1 的小花盆中培养。

3 结论

通过试验, 筛选出驱蚊香草茎段组织培养较为适宜的培养基。其中: 诱导分化培养基为 MS+6-BA2.5 mg/L+NAA0.1 mg/L, pH 值为 6.2; 继代增殖培养基为 MS+6-BA2.0 mg/L+NAA0.3 mg/L, pH 值为 6.2; 生根培养基为 1/2MS+IAA1.5 mg/L, pH 值为 6.2。总结出大田土、珍珠岩及阔叶腐殖土配比为 1:1:2 的混合基

质为适宜的瓶苗移栽基质, 移植成活率达 90% 以上。尽管我们在驱蚊香草的组织培养上取得了一定突破, 但在某些方面如诱导分化、继代增殖和生根培养过程中出现的多种激素均对外植体的培养产生作用, 其激素产生作用的浓度范围, 及在诱导阶段外植体成熟度、体积大小对诱导分化的影响等内容, 还有待于在今后工作中继续研究, 以使驱蚊香草工厂化生产技术更加完善, 更加科学。

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] 蒋明杉等. 草莓脱病毒技术 [J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2001, (2).
- [3] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程 [M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996.