维普资讯 http://www.cqvip.com

生物技术与生理生化

玫瑰天竺葵组培快繁技术的研究

任 华,王永清,秦红玫

(四川农业大学林学园艺学院,四川 雅安 625014)

摘 要:分别以玫瑰天竺葵的幼叶、叶柄、茎尖为外植体进行离体组培快繁技术研究,结果表明:最适宜的外植体为幼叶。经优化,叶柄丛生芽诱导的最佳培养基为:MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;茎尖丛生芽诱导的最佳培养基为:MS+BA 0.5 mg/L +KT 0.5 mg/L;继代增殖培养基为:MS+BA 2.0 mg/L +NAA 0.1 mg/L;生根培养基为:1/2MS+IBA 0.5 mg/L。

关键词:玫瑰天竺葵;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S682.9 **文献标识码**:A **文章编号**:1006-060X(2007)01-0032-03

Rapid Propagation of Pelargonium roseum *in Vitro*

REN Hua, WANG Yong-qing, QIN Hong-mei

(*College of Forestry and Horticulture, Sichuan Agricultural University, Yaan* 625014, *PRC*)

Abstract: Young leaves, leaf stalks and shoot tips were cultured *in vitro* to establish the rapid propagation system. Young leaves were the optimal explant. The optimal inducing media for young leaves and leaf stalks was MS medium supplemented with 6-BA 1.0 mg/L and NAA 0.2 mg/L. The optimal inducing media for shoot tips was MS medium supplemented with 6-BA 0.5 mg/L and KT 0.5 mg/L. The explants differentiated a large number of young buds on MS medium containing 6-BA 2.0 mg/L and NAA 0.1 mg/L. Shoots were rooted on the 1/2 strength MS medium supplemented with IBA 0.5 mg/L.

Key words: Pelargonium roseum; rapid propagation; micropropagation

玫瑰天竺葵(*Pelargonium roseum*),又称花头天竺葵,原产于南非,属于牻牛儿苗科(Geraniaceae)天竺葵属(*Pelargonium*)多年生草本植物。其茎、叶经蒸馏得到的具玫瑰香气的淡黄色芳香油,是目前世界上需求量最大的芳香油之一,主要用于调配各种高级香皂、香水和其它玫瑰香型香精,具有很高的经济价值。由于天竺葵组群植物不易形成种子,繁殖率较低,且品种繁多,极易杂交导致种性不纯,因此生产上多采用营养繁殖的方法生产种苗。近年来随着组培技术的迅速发展,经济植物的组培快繁越来越受到重视,组培苗不仅能够较好地保持品种种性,还具有繁殖速度快、生长整齐、成本低等显著优点,因此在天竺葵属植物的生产上得到了广泛应用。

近年来,有关香叶天竺葵(*P. graveolens*)和柠檬味的皱波天竺葵(*P. crispum*)组织培养的研究报道很多,但关于玫瑰天竺葵(*P. roseum*)的组培快繁研究至今尚未见报道。本实验分别以玫瑰天竺葵(*P. roseum*)的幼叶、叶柄、茎尖为外植体,研究了以MS为基础培养基,不同激素配比的培养基成分对玫瑰天竺葵组培增殖及生根的影响,以筛选合适的诱导培养基主成分,及最佳增殖和生根培养基植物生长调节剂浓度组合。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料取自重庆德馨香料有限公司的玫瑰天竺葵优良品种的植株。

1.2 试验方法

分别以玫瑰天竺葵幼嫩的幼叶、叶柄和茎尖作为外植体,接种前在自来水下冲洗30 min,先用70%酒精消毒30 s,无菌水冲洗5次,再用0.1%的升汞加两滴吐温处理5 min,无菌水冲洗6~7次,滤纸吸干表面水分后,即可用于接种。将幼叶切成1 cm×1 cm小块,叶柄和茎尖切成1 cm小段,分别接种于

收稿日期:2006-10-08

基金项目:长叶胡椒和玫瑰天竺葵合作研究项目。

作者简介:任 华(1981-),女,重庆璧山县人,在读硕士,研究生,主要从事园林植物的组织培养工作。

维普资讯 http://www.cqvip.com

诱导培养基中。基本培养基为MS,附加不同种类和浓度的植物生长调节剂,蔗糖30 g/L,琼脂5.0 g/L,pH值5.8~6.0。培养室温度设定在24±2℃,光照强度1500~2000 lx,光周期12 h/d。

1.2.1 *丛生芽诱导*　幼叶诱导丛生芽采用2因素(6-BA、NAA)3水平(6-BA浓度分别为0.5、1.0、2.0 mg/L;NAA浓度分别为0.1、0.2、0.5 mg/L)正交设计。叶柄诱导丛生芽采用单因素实验设计,NAA浓度分别为0.1、0.2、0.5 mg/L。茎尖诱导丛生芽也采用单因素实验设计,6-BA浓度分别为0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L。每次幼叶接种40个,叶柄及茎尖25个,重复3次。35 d后观察并统计愈伤组织诱导及丛生芽分化的情况。

1.2.2 *试管苗继代培养*　采用单因素实验设计分别研究6-BA和NAA的最佳浓度,6-BA浓度设3个水平0.5、1.5、2.0 mg/L;NAA浓度设3个水平0.1、0.2、0.5 mg/L。每次接种40株,重复3次。30 d后观察不同激素浓度对芽苗增殖和质量的影响。

1.2.3 *试管苗生根*　将生长健壮的试管苗转入MS、1/2MS+IBA 0、0.1、0.5mg/L的生根培养基中,每次处理芽苗50个,重复3次,30 d后观察生根情况,最后炼苗并移栽到温室大棚。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

幼叶接种到诱导培养基中(叶背接触培养基),7 d后叶片开始增厚、呈卷曲状,叶脉加粗,20 d后在幼叶切口处和接触培养基的叶脉处出现愈伤组织,30 d后分化出丛生芽。表1为培养35 d后幼叶丛生芽的分化和长势情况。从表1可以看出,BA对幼叶愈伤组织和丛生芽诱导的影响较大。当BA浓度为0.5 mg/L时,丛生芽诱导率极低;BA浓度为1.0 mg/L时效果最好,幼叶丛生芽平均分化数高,长势也很好;当BA浓度达到2.0 mg/L时,愈伤组织块较大,但分化的丛生芽数目明显降低;当BA浓度为1.0 mg/L时,NAA浓度以0.2 mg/L对幼叶愈伤组织诱导率最高,达100%。综上所述,培养基MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L最适宜幼叶丛生芽的分化。

表1　幼叶在不同培养基上的诱导及分化情况

BA (mg/L)	NAA (mg/L)	接种数 (个)	成活数 (个)	愈伤组织 (块)	分化率 (%)	丛生芽长势
0.5	0.1	40	38	13	34.21 eE	细、弱
0.5	0.2	40	37	9	24.32 fF	慢、弱
0.5	0.5	40	37	0	0 gG	-
1.0	0.1	40	38	35	92.10 bAB	较壮
1.0	0.2	40	36	36	100 aA	健壮
1.0	0.5	40	38	18	47.36 dD	较壮
2.0	0.1	40	37	34	91.89 bAB	慢、较壮
2.0	0.2	40	37	33	89.19 bB	慢、较壮
2.0	0.5	40	37	27	72.97 cC	慢、弱

注:LSR检验,大写字母表示1%差异显著水平,小写字母表示5%差异显著水平,字母相同表示差异不显著,以下同。

叶柄平铺接种到诱导培养基中,10 d后接触面开始变粗,20 d后出现浅绿色的愈伤组织,30~35 d分化出丛生芽。35 d后观察并记录叶柄愈伤组织诱导和丛生芽分化情况(表2)。从表2可以看出,培养基MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L最适宜叶柄愈伤组织的诱导和丛生芽的分化。

表2　叶柄在不同培养基上的诱导分化情况

NAA (mg/L)	接种数 (个)	成活数 (个)	愈伤组织数(个)	诱导率 (%)	平均分化数(个)	分化率 (%)
0.1	25	23	21	91.30 aA	4.41 aAB	98.67 aA
0.2	25	24	22	91.67 aA	4.85 aA	100 aA
0.5	25	23	12	52.17 bB	3.87 bB	83.33 bB

注:以上培养基均附加1.0 mg/L 6-BA。

2.2 茎尖丛生芽的诱导

茎尖接种到诱导培养基中,10 d后开始萌动,25 d左右接触培养基的切口处长出一团近圆形的愈伤组织块,35 d左右分化出丛生芽,其愈伤组织诱导和丛生芽分化情况见表3。表3显示,BA浓度低于1.0 mg/L时,分化率随BA浓度的增加而增高,BA高于1.0 mg/L后,随着浓度的增加,分化率呈下降趋势。当BA浓度为0.5 mg/L时,丛生芽分化率达到100%,且丛生芽的平均分化数也达到最高。因此MS+BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L是茎尖的最佳丛生芽分化培养基。

表3　茎尖在不同培养基上诱导分化情况

6-BA (mg/L)	接种外植体数(个)	成活芽数 (个)	外植体数 (个)	分化率 (%)	平均分化数 (个)
0.1	25	23	10	43.47 dD	3.04 dC
0.5	25	24	24	100 aA	7.36 aA
1.0	25	24	24	100 aA	5.68 bB
1.5	25	23	19	82.61 bB	4.39 cBC
2.0	25	23	14	60.87 cC	3.26 dC

注:以上培养基均附加0.5 mg/LKT。

2.3 试管苗增殖

将诱导出的丛生芽单个切下后转入增殖培养基,约7 d后,芽基部开始形成3~5个丛生芽,同时愈伤组织块周围不断形成大量小芽。35 d后观察并

维普资讯 http://www.cqvip.com

记录丛生芽的增殖情况(表4)。从表4可以看出,不同培养基的增殖效果及丛生芽的长势等表现均有明显差异,分析显示;最适宜的继代增殖培养基配方为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

表4 不同培养基的增殖效果

6-BA (mg/L)	接种数(个)	增值芽数(个)	增值倍数	芽类型及质量
0.5	40	107	2.67 dC	多为单芽,纤细,含水量多,浅绿
1.0	40	235	5.88 aA	多为单芽,健壮,深绿
1.5	40	204	5.10 bB	单复芽各半,较壮
2.0	40	188	4.71 cB	多为复芽,纤细,颜色浅绿

注:以上培养基均附加0.1mg/LNAA。

2.4 生根培养

将高约3 cm生长健壮的丛生芽单个切下,转入生根培养基中,7 d后芽基部开始出现白色锥状突起,继续培养10 d左右,根系出现,30 d后统计生根率(表5)。表5结果显示,将无根苗接入不同生根培养基中,均有根生成。无根试管苗接种在MS培养基上,节间迅速增长,生根缓慢,15 d左右芽基部出现白色锥状突起,30 d后苗高超过10 cm,根长不足1 cm。而接种于1/2MS培养基上的丛生芽生根迅速,且根系健壮。其中以1/2MS为基本培养基附加浓度为0.5 mg/L的IBA为最佳的生根培养基配方。

表5 不同生根培养基的培养效果

基本培养基	IBA (mg/L)	接种数(个)	生根苗数(株)	生根率(%)	平均根数(条)
MS	0	50	46	92 baA	12 bB
1/2MS	0	50	48	96 aA	9 cCB
1/2MS	0.5	50	49	98 aA	18 aA
1/2MS	1.0	50	44	88 bA	5 dC

2.5 炼苗移栽

长出根系后苗继续生长至4~5 cm,根长1cm时较易炼苗移栽成活。炼苗的方法是当生根试管苗长到4~5 cm时打开培养瓶,加少许自来水,在培养室锻炼3~4 d,使其适应外部环境条件;后移栽于育苗盆,基质为细沙和腐殖质土(比例3:1),置于温室大棚,前期湿度控制在80%以上,温度为15~25 ℃,并辅以遮荫措施,后期逐步接近自然状态下的温湿度条件,成活率可达95%。

3 结论与讨论

茎段、幼叶和茎尖作为外植体,均可诱导产生愈伤组织,但以幼叶为玫瑰天竺葵离体快繁的最适外植体。在初代培养过程中,幼叶的最适培养基为MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L。试验还发现,随着6-BA浓度的增加,玻璃苗、黄化苗的出现几率增加。

在玫瑰天竺葵的增殖培养中,6-BA浓度越高,试管苗基部产生的愈伤组织块越大。在丛生芽分化的过程中,愈伤组织块直径1.0 cm左右时增殖效果最佳,愈伤组织块越大效果越差,分化的小芽越少越弱,出现复芽的可能性更大。玫瑰天竺葵离体培养幼叶丛生芽诱导率高达93%,生根率高达98%,完全能够满足离体快繁的需要。

参考文献:

[1] 余树勋.天竺葵家族的分类[J].中国花卉盆景,1998,(7):18.

[2] 严东伟,张正居,欧阳宁.云南引种的玫瑰天竺葵精油主要化学成份分析[J].亚热带植物通讯,1991,(1):33-35.

[3] 叶剑秋.天竺葵与万寿菊类[J].园林,1999,(7):24-25.

[4] 陈正华.木本植物组织培养及应用[M].北京:高等教育出版社,1986.

[5] 刘增群,董 金,黄梧芳,等.香叶天竺葵的组织培养[J].植物生理学通讯,1990,(5):44.

[6] Hassanein A, Dorion N. Efficient plant regeneration system from leaf discs of zonal (Pelargonium x hortorum) and two scented (P. capitatum and P. graveolens) geraniums[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2005, 83(2):231-240.

[7] 陈桂芳,娄利华.香叶天竺葵的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,(8):341.

[8] Xie Li-Juan, Li Xiao-Dong, Li Yong-Hong. Tissue culture and rapid propagation of lemon-scented geranium[J]. Forest Research, 2004, 17(3):379-381.

[9] 吴红芝,金寿林.香叶天竺葵快速繁殖的研究[J].中国野生植物资源,2002,(21):56-58.