

香叶天竺葵的离体培养研究

蒋亚莲¹,李绅崇¹,吴丽芳¹,杨春梅¹,贾玉梅²,黎霞¹

(1. 云南省农业科学院 花卉研究所,云南 昆明 650205;2. 云南农业大学 园林园艺学院,云南 昆明 650201)

摘要:以香叶天竺葵的嫩茎为外植体进行组织培养研究,结果表明:培养基 MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 既适合于愈伤组织的诱导,也适合于不定芽的分化增殖;培养基 1/2MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.7 mg/L 为生根诱导的最佳配方。组培苗的过渡成活率可达到 90% 以上。

关键词:香叶天竺葵;嫩茎;组织培养;愈伤组织;分化增殖;生根诱导

中图分类号:Q949.752.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-8581(2007)09-0043-03

Studies on Technology of Isolated Culture of *Pelargonium graveolens*JIANG Ya-lian¹, LI Shen-chong¹, WU Li-fang¹, YANG Chun-mei¹, JIA Yu-mei², LI Xia¹

(1. Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;

2. College of Forest and Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The tender stem of *Pelargonium graveolens* was chosen as explants for tissue cultivation. The results indicated that the medium MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L was the most appropriate for the formation of callus as well as the differentiation and proliferation of adventitious buds. In addition, the medium 1/2MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.7 mg/L was relatively appropriate for rooting. The survival rate of young plantlets was about 90% after transplanting.

Key words: *Pelargonium graveolens*; Tender stem; Tissue culture; Callus; Differentiation and proliferation; Root induction

香叶天竺葵(*Pelargonium crispum* 'Fragrans')又名香叶洋绣球、香草、摸摸香,为牻牛儿科、天竺葵属多年生亚灌木^[1]。植株高达 90 cm,茎叶密被淡黄色长毛和香腺,具浓厚香味。香叶天竺葵的茎叶中可提取芳香油,是香皂、香水、化妆品及食品等的重要原料^[2]。在食品上,可做烹煮鱼类的佐料,增加菜肴风味。其叶片也常用于花香材料、香枕、亚麻袋等特殊用途。由于其叶片会散发出芳香味,常用作室内盆栽观赏植物。全株可入药,具有祛风除湿、行气止痛、杀虫抗菌等功能,香葵精油还具有抗肿瘤作用,可用于治疗子宫颈癌等^[1]。另外,它还具有抗氯气的特性,可作为被氯气污染的环境的指示植物。按照其散发的香味可分为以下几种:*Pelargonium crispum* 'Fragram'(松香型)、*Pelargonium* 'Gravelens'(柠檬香型)、*Pelargonium* 'Lady plymuth'(桉树香型)、*Pelargonium tomentosum*(胡椒薄荷型)和 *Pelargonium* 'Old spice'(香料型)。

香叶天竺葵主要采用无性繁殖和有性繁殖,而无性繁殖主要是扦插繁殖,每年在 9~10 月结合采收剪取健壮粗短的枝条直接扦插于田间或基质中。但扦插繁殖管理难度大,并受季节的限制,因此不能周年生产。另外,如果母株带病,扦插苗不能脱毒,导致品质退化。有性繁殖的 F₁ 代杂交种子由于具有生长周期短、株型健壮、多花性、易大批量生产等优势,已代替传统的扦插繁殖成为

目前主要的繁殖方法^[3]。但杂交种子生产成本高,在保持 F₁ 代杂交种子种性的基础上,若采用组织培养进行繁殖,可以大大提高繁殖速度、降低成本和脱毒复壮。

本试验以香叶天竺葵为材料进行离体组织培养研究,筛选出其组织培养最适培养基,包括诱导培养基、增殖培养基和生根培养基等,为香叶天竺葵提供一条有效的快繁途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料 试验用香叶天竺葵来源于云南省农业科学院花卉研究所试验大棚内。

1.2 试验方法 选用长势好、无病虫的健康母株嫩枝。去除叶片,先用自来水冲洗,再用饱和的洗衣粉溶液浸泡 5 min,流水冲洗干净,然后在超净工作台上用 75% 的酒精浸泡 30 s,用无菌水冲洗后,转入 0.1% 的升汞中消毒 7~8 min,最后用无菌水冲洗 3~4 次,切割茎段长约 0.5~1.0 cm,接种到分化培养基上。

1.3 试验设计

1.3.1 起始培养基 固定 NAA 浓度,调节 BA 浓度:MS + BA + NAA 0.3 mg/L,BA 浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg/L。共 5 个处理,每个处理重复 5 次,共接种 25 瓶。7 d 后,进行叶芽基部观察,40 d 后观察丛生芽个数。

1.3.2 增殖培养基 固定 NAA 浓度,调节 BA 浓度:MS + BA + NAA 0.3 mg/L,BA 浓度分别为 1.5、2.0、2.5、

3.0、3.5 mg/L。共5个处理,每个处理重复5次,共接种25瓶。30 d后观察记载瓶内增殖的丛生芽数、叶色和芽高。

1.3.3 生根培养基 将上一阶段培养获得的部分不定芽除去基部愈伤组织单个切下后(其余的继续增殖培养),转入培养基:1/2MS + BA 0.5 mg/L + NAA, NAA浓度分别为0.3、0.5、0.7、1.0 mg/L。共4个处理,6次重复,共接24瓶。接种后,观察不同NAA浓度对发根时间的影响,并测定根数、根长、株高和生根率。

1.4 培养条件 以MS为基本培养基,蔗糖2.5%,琼脂

2.6%,调整pH值为6.2,121℃高压灭菌。培养温度 25 ± 2 ℃,光照12 h/d,光照强度1600 lx。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度组合对诱导愈伤组织的影响 将外植体接种在配有不同浓度的MS培养基上培养。4~5 d后部分外植体基部开始膨胀,7 d后多数瓶中茎段、叶芽基部已经膨大,主要是Ⅲ、Ⅳ号培养基。20 d后,膨大的部分长出丛生芽(茎段、叶芽的切口处)3~4个,40 d后长成更多的丛生芽。观察结果见表1。

表1 不同激素浓度组合对诱导愈伤组织的影响

编号	基本培养基	激素(mg/L)		外植体数	愈伤组织数	诱导率(%)	诱导情况
		BA	NAA				
I	MS	0.5	0.3	25	2	8	愈伤组织分化慢,颜色浅,不定芽生长势弱
II	MS	1.0	0.3	25	9	33	愈伤组织分化较快,不定芽分化慢且细弱
III	MS	1.5	0.3	25	20	80	愈伤组织分化相对快,不定芽分化较快,叶色浅绿
IV	MS	2.0	0.3	25	25	100	愈伤组织分化最快,颜色深绿,不定芽生长壮,叶色浓绿
V	MS	2.5	0.3	25	22	88	愈伤组织分化慢且分化少,生长缓慢,不定芽很少

由表1可知,不同BA浓度诱导愈伤组织分化的速度、颜色深浅及不定芽长势差异较大。试验结果表明,在固定NAA、调节不同BA浓度的培养基中,以MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L配方的愈伤组织分化率高、颜色浓绿且分化最早,不定芽生长健壮。外植体接种7 d后,茎段切口就开始观察到愈伤组织分化。培养16 d后,愈伤组织上发现有绿点分化。40 d后叶芽基部膨大的部分长出5~10个丛生芽。另外从I到IV,随着BA浓度增加,愈伤组织分化率增加,但BA浓度继续增加到2.5 mg/L时,愈伤组织分化速度却降低了,叶色和不定

芽的长势也几乎呈上述规律。IV号培养基的愈伤组织诱导率达到100%,从I到IV,愈伤组织诱导率也呈逐渐增加趋势。所以IV号配方:MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L是愈伤组织诱导较理想的配方。

2.2 不同激素浓度组合对不定芽增殖诱导的影响 把上述培养基中诱导出的不定芽,切去基部愈伤组织,3芽一丛切下后,转入不同激素浓度的增殖培养基中培养,一丛接一瓶,每种培养基接5瓶。30 d后观察芽基部丛生芽的诱导情况,结果见表2。

表2 不同激素浓度组合对不定芽分化的影响

编号	基本培养基	激素(mg/L)		接种芽个数	增殖芽数	增殖率(%)	不定芽增殖情况
		BA	NAA				
I	MS	1.5	0.3	15	39	260	不定芽分化少,叶色浅绿
II	MS	2.0	0.3	15	48	320	不定芽分化数量较多,生长速度快,长势健壮,叶色深绿,芽高为0.5~1.0 cm
III	MS	2.5	0.3	15	52	347	不定芽分化数较多,生长速度快,长势一般,叶色浅绿,芽高0.5~0.8 cm
IV	MS	3.0	0.3	15	55	367	不定芽分化数量多,不定芽生长较快,叶色浅绿,芽高0.5 cm左右
V	MS	3.5	0.3	15	60	400	不定芽分化数量最多,叶色黄化,苗体纤细,易倒伏,芽高0.5 cm左右

由表2可知,随着BA浓度的逐渐增加,不定芽分化的数量也不断增加。但从不定芽的生长速度、长势和叶色来看,II号配方的不定芽生长速度最快,而且苗体长势健壮,苗体最高,达到1.0 cm,而且叶色较深绿。虽然V号配方的不定芽的数量最多,但其叶色黄化,苗体纤细,易倒伏。随着BA浓度的逐渐增加,不定芽分化的数量和增殖率不断增加。其中V号配方的增殖率最高(400%),其次是IV号配方,I号最低,只有260%。结合不定芽生长情况,II号是愈伤组织不定芽增殖的最好配方。

2.3 不同激素浓度组合对诱导生根的影响 将高为2.0~3.0 cm的丛生芽单个切下,转入生根培养基中,每瓶接种5个芽,每个配方接6瓶。经过40 d的培养,观

察结果见表3。

由表3可知,随着NAA浓度的升高,诱导的平均根长随浓度的升高而增加,当NAA浓度为0.7 mg/L时,平均根长达到极大值1.60 cm。当NAA浓度为1.0 mg/L时,平均根长降低到1.10 cm。也就是说,当NAA浓度为0.7 mg/L时,其平均根长最大;当NAA浓度超过0.7 mg/L时,其根长受到抑制。从平均根数来看,IV配方的平均根数最多,为4.73条,Ⅲ次之,Ⅱ最少,为1.53。而从苗体的长势来看,Ⅲ配方的叶片深绿,茎秆粗壮,长势较好。而IV配方叶片黄绿,茎秆稍粗壮,长势不及Ⅲ配方。综上所述,Ⅲ配方:1/2MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.7 mg/L促进生根的效果最好。

表 3 不同激素浓度组合对诱导生根的影响

编号	培养基 (mg/L)	BA/NAA	接种苗数	平均根数 (条)	平均根长 (cm)	苗体长势
I	1/2MS + BA 0.5 + NAA 0.3	1.67	30	2.57	1.30	叶片淡绿, 苗体细弱
II	1/2MS + BA 0.5 + NAA 0.5	1.00	30	1.53	1.47	叶片淡绿, 叶小, 茎柔弱
III	1/2MS + BA 0.5 + NAA 0.7	0.71	30	4.67	1.60	叶片深绿, 茎秆粗壮
IV	1/2MS + BA 0.5 + NAA 1.0	0.50	30	4.73	1.10	叶片黄绿, 茎秆稍粗壮

2.4 生根苗过渡及移栽 生根培养 30 d 后, 置于室温下 2 d, 揭开封口膜, 将完整小苗从培养瓶中取出, 洗去根部的培养基, 放入 0.1% 的多菌灵溶液中浸根 1min。种植于已配好的基质中, 基质的配方参考香叶天竺葵的生长习性, 其配比为: 微酸性土壤: 腐殖土: 珍珠岩 = 2: 2: 1。移栽后, 注意水、肥、光、温的管理, 香叶天竺葵表皮无革质层, 容易失水, 相对湿度保持在 80% ~ 90%, 温度 20 ~ 25℃, 避免强光照射, 用透过率为 70% 的遮荫网覆盖, 10 d 后每星期浇复合营养液一次。成活率可达到 90% 以上。

3 讨论

3.1 不同激素浓度组合对愈伤组织诱导的差异较大

固定 NAA 浓度, 不同 BA 浓度诱导愈伤组织分化的速度、颜色深浅及不定芽长势差异较大。香叶天竺葵愈伤组织诱导对 BA 十分敏感, 在不加任何激素的对照组中愈伤组织的诱导率很低。在附加激素的培养基中, 愈伤组织诱导率突增, 说明香叶天竺葵细胞中富含与细胞分裂素具有高亲和的受体蛋白, 在离体培养条件下细胞分裂素调控基因表达促进蛋白质合成, 从而促进细胞分裂。但并不是 BA 浓度愈高, 诱导率和分化速度就愈高, 当 BA 浓度达到 2.0 mg/L 时, 如果再继续增加其浓度, 诱导率和分化速度反而降低。从 BA/NAA 的比值来看, 比值愈大, 愈伤组织诱导率愈高, 当比值 6.67 时, 诱导率最大, 比值为 8.33 时, 诱导率反而降低了。因此, IV 配方: MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 是愈伤组织诱导的最好配方。另外, 香叶天竺葵从愈伤组织到不定芽所需的时间较短, 只 7 d 左右, 变异机率低, 故可以提高其繁殖速度, 以满足市场的需要。

3.2 不同激素浓度组合对不定芽分化的差异明显 固定 NAA 浓度, 随着 BA 浓度的逐渐增加, 不定芽分化的数量和增殖率呈不断增加的趋势。说明 BA 浓度与不定芽的增殖率成正相关, 但随着 BA 浓度的增加, 苗体的长势和叶色均受到一定的影响, 可能是高浓度的 BA 促进细胞衰老所致。因此, 不能以不定芽的分化数量作为衡量 BA 浓度的唯一指标。综合考虑, 配方 II: MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 不仅是愈伤组织诱导的最好配方, 也是不定芽增殖培养的最好配方。另外, 愈伤组织诱导出的不定芽易黄化, 应及时转接增殖培养中, 以免影响不定芽分化质量。

3.3 不同激素浓度组合对诱导生根存在一定差异 随着 NAA 浓度的升高, 诱导的平均根长随浓度的升高而增加, 当 NAA 浓度超过 0.7 mg/L 时, 其根长明显受到抑制。但总的来说, 平均根数和平均根长的差异幅度并不是很明显。主要原因是 BA 抑制不定根的形成。BA/NAA 的比值愈小, 苗体的长势愈好, 平均根长变长, 但比值小于 0.71 时, 长势变差, 平均根长变短。综合平均根数, III 配方: 1/2MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.7 mg/L 促进生根的效果最好。

参考文献:

- [1] 徐昭玺. 百种调料香料类药用植物栽培[J]. 北京 - 中国农业. 香叶天竺葵, 2003, (1): 556 ~ 557.
- [2] 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(2): 56 ~ 58.
- [3] 叶剑秋. 天竺葵与万寿菊类[J]. 园林, 1999, (7): 24 ~ 25.

(上接第 42 页)

组合, 愈伤组织生长也好。草莓花药离体培养时愈伤组织的形成主要在前 1 个月, 但愈伤产生期可延续 2 个月。只要激素条件适宜, 草莓花药培养的愈伤组织就能不断地产生^[4,5]。

参考文献:

- [1] 郭春沅. 草莓花药组织培养快速繁殖技术[J]. 农业科技通讯, 2000, 11(1): 13.

- [2] 乔奇, 张振臣, 靳秀兰. 草莓花药培养脱毒技术研究[J]. 中国农学通报, 2003, 19(2): 26 ~ 27.
- [3] 梁贵秋, 唐燕梅. 草莓的组织培养和快速繁殖[J]. 广西热带农业, 2004, (6): 8 ~ 9.
- [4] 王壮伟, 赵密珍, 钱亚明. 草莓试管苗移栽技术研究[J]. 江西农业学报, 2006, 18(1): 67 ~ 69.
- [5] 许淑琼. 草莓脱毒苗组培快繁技术研究[J]. 中国南方果树, 2002, 31(2): 42.