

文章编号: 100F 1498(2004) 03 0379 03

# 柠檬天竺葵的组织培养及快速繁殖

谢利娟, 李晓东\*, 李永红, 刘俊武

(深圳职业技术学院, 广东 深圳 518055)

摘要: 以柠檬天竺葵的叶片、茎尖为外植体进行试管培养, 结果表明, 茎尖诱导分化的效果较好。最适宜的培养基为: (1) 丛芽分化培养, MS+ BA  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; (2) 继代培养, MS+ BA  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; (3) 生根培养,  $\sqrt{2}$ MS。

关键词: 柠檬天竺葵; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S685 文献标识码: A

柠檬天竺葵 (*Pelargonium graveolens* L' Hérít) 又名驱蚊草, 属 牛儿苗科 (Geraniaceae) 多年生亚灌木。它利用天竺葵自身独有的释放系统作为载体将香茅醛物质源源不断地释放于空气中, 同时还含有清新气味和净化空气作用的植物 DNA 基因结构, 因而芳香四溢, 特别在炎热的夏天会令人神清气爽, 达到无污染的生态驱虫避蚊。其茎叶提取的芳香油是香料工业, 如香水、香皂、化妆品等的重要原料, 也是出口创汇的重要经济作物<sup>[1, 2]</sup>。随着人民生活水平不断提高, 香料成分天然化的发展, 以及天竺葵花提取液对超氧自由基  $\text{O}^-$ 、 $\text{OH}^-$  及  $\text{DPPH}^-$  的高效清除作用<sup>[3-6]</sup>, 使柠檬天竺葵的开发利用有着更为广阔的前景。

天竺葵  $\text{F}_1$  代杂交种子由于具生长周期短、株型丰满、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<sup>[7, 8]</sup>。但杂交种子生产成本高, 组培苗在保持  $\text{F}_1$  代杂交种子种性的基础上, 还具有生长整齐、繁殖速度快、成本低的显著优点。本试验以柠檬天竺葵为材料进行天竺葵类的离体培养研究, 以期香料工业和园林应用提供大量优质价廉的原料和种苗。

## 1 材料与方法

选用温室内栽植的长势好、无病虫、健康的柠檬天竺葵嫩叶片、老叶片、茎尖段, 在无菌条件下, 置于 0.1% 升汞溶液中处理 7 min, 加吐温一滴, 用无菌水冲洗 7~ 8 次。然后把叶片切成  $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$  大小和长约 0.5 cm 茎尖作为外植体接种于 MS 培养基。添加不同浓度 BA、NAA。pH 值 5.8~ 6.0, 培养温度  $24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , 每天光照 16 h, 光照强度 1 500~ 2 000 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织的诱导和腋芽萌生

嫩叶、老叶、茎尖接种到诱导培养基中培养 13 d 后, 茎尖外植体开始萌动, 继续培养至 30~ 36 d, 切口处出现浅绿色的愈伤组织, 继而分化出腋芽; 叶片外植体虽能长时间保持鲜绿, 却

收稿日期: 2004 02 20

基金项目: 深圳职工技术学院科技基金项目“柠檬天竺葵的引种及快速繁殖技术研究(03KJH055)”

作者简介: 谢利娟(1972—), 女, 浙江上虞人, 城市园林专业主任, 讲师, 国际高级花艺设计师。

\* 通讯作者

始终没有分化。实验设计约20余种BA、NAA浓度的组合配方,以NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与不同浓度BA组合表现较好,茎尖外植体的分化和长势情况见表1。通过比较分析,培养基MS+ BA  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 最适宜愈伤组织的诱导及芽的分化。

表1 茎尖外植体在不同培养基上诱导分化情况

培养基/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )		茎尖外植体诱导分化情况
BA	NAA	
0.5	0.1	愈伤组织分化及生长均缓慢,颜色浅绿;分化的不定芽较弱,含水较多
1.0	0.1	愈伤组织分化及生长均较慢,颜色浅绿,分化的不定芽生长健壮,叶色浓绿
1.5	0.1	愈伤组织分化及生长较快,颜色较绿,分化的不定芽生长较弱,含水较多
2.0	0.1	愈伤组织分化最快且分化的量多,颜色较绿,但不定芽分化生长缓慢
4.0	0.1	组织褐化,无愈伤组织分化
6.0	0.1	愈伤组织分化较快,不定芽分化数量少,生长缓慢,茎叶颜色极淡,后期生长停滞
8.0	0.1	组织褐化,无愈伤组织分化
10.0	0.1	组织褐化,无愈伤组织分化

## 2.2 芽的增殖及继代培养

将萌生的芽组织切下后转入增殖培养基,约7d后,芽基部开始形成3~5个丛生芽,同时愈伤组织块则不断形成大量不定芽。设计了4种增殖培养基,具体表现见表2。

表2 不同培养基的增殖效果

编号	培养基/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	培养芽数/个	平均增殖数/个	增殖及芽生长情况
1	MS+ BA 0.5+ NAA 0.1	20	4.5	分化丛生芽快,但芽丛有些乱,苗生长较好
2	MS+ BA 1.0+ NAA 0.1	20	4.5	分化丛生芽快,株形较好,苗生长健壮
3	MS+ BA 1.5+ NAA 0.1	20	2.5	苗继续生长,叶色淡绿,长势差
4	MS+ BA 2.0+ NAA 0.1	20	2.5	苗继续生长,但长势差,逐渐黄化

通过对芽在不同培养基上的分化再生、分化系数及芽的长势等表现综合比较分析,发现培养基1、2,比较适于丛芽的分化和继代培养,其中最适宜的培养基为MS+ BA  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

## 2.3 生根诱导

丛生芽生长后15d左右,芽高约3.0cm时切下,转入生根培养基,7d后开始有锥状突起,继续培养10d后,8种培养基的不定芽全部长出根(表3),MS或以MS为基本培养基的配方中的芽后续生长不良,而1/2MS或以1/2MS为基本培养基的配方中的材料,全部长出3条以上1.0~3.0cm长而粗壮的根,与此同时,苗继续生长达4.0~5.0cm,这样的苗移栽极易成活。

表3 不同生根培养基的培养效果

编号	培养基/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	培养芽数/个	生根苗数/株	生根及小苗生长情况
1	1/2MS	50	50	具3~8条根,植株叶片坚挺,叶色深绿
2	1/2MS+ NAA 0.1	50	50	具5~12条根,植株叶片坚挺,叶色深绿
3	1/2MS+ NAA 0.3	50	50	具5~12条根,植株叶片柔软,叶色浅绿
4	1/2MS+ NAA 0.5	50	50	具5~12条根,植株叶片柔软,叶色浅绿
5	MS	50	50	生根较慢,苗继续生长,但长势差
6	MS+ NAA 0.1	50	50	具2~6条根,苗继续生长,但长势差
7	MS+ NAA 0.2	50	50	具2~6条根,苗继续生长,但长势差,逐渐黄化
8	MS+ NAA 0.3	50	50	具2~6条根,苗继续生长,但长势差,逐渐黄化

## 2.4 炼苗移栽

将苗高达 3.5~4.0 cm 的生根幼苗从培养瓶中取出, 洗去根系附着的培养基。由于在培养室内养分及光照、温度、湿度与温室的环境差异很大, 直接转入温室会对植株造成伤害, 所以将幼苗移栽温室之前, 必须经过炼苗, 在培养室解开培养瓶盖, 放置 3~4 d。移栽时可以直接盆栽, 基质为沙: 泥炭=3:1, 移栽后避免阳光直射和基质过湿, 保持空气湿度 80% 左右, 成活率可达 75%。

## 3 讨论

柠檬天竺葵作为一种新兴的花卉品种, 在市场上广受欢迎, 如何在短时间内提高其繁殖系数, 增加繁殖速度, 以及对良种进行复壮等都是急需解决的问题, 通过本实验的研究, 可以在短时间内产生大量的试管苗, 从而大大提高繁殖系数, 为园林花卉市场提供优质种苗。

柠檬天竺葵无菌苗移栽成活率较低, 是柠檬天竺葵组培一直需要解决的问题, 本研究加强了移栽前的炼苗, 移栽前在培养室内将培养瓶盖揭开后虚盖 3~4 d, 栽培时注意基质的配方, 从而使组培苗移栽成活率大大提高, 炼苗的方法与段新玲等人<sup>[9]</sup>的研究相似。

在本研究确定的最适分化培养基中, 不定芽的分化系数为 4.5, 有趣的是切去不定芽的愈伤组织可以较长时间地持续分化不定芽, 按照繁殖量的计算公式:  $P = M \times (4.5)^n$  ( $P$  为繁殖量、 $M$  为无菌苗基数、 $n$  为月数)<sup>[10]</sup>, 1 个芽经过 12 个月继代培养, 按推算可产生 400 万个芽苗。因此, 应用组培技术可在短期内获得大量优质的柠檬天竺葵种苗。

## 参考文献:

- [1] 杨风刚. 怎样使香叶天竺葵产量高出油多[J]. 云南农业科技, 1999(1): 24
- [2] 许申鸿, 乌大年, 杭瑚. 天竺葵花中氨基酸、矿质元素等化学成分的研究[J]. 中国野生植物资源, 1999, 18(4): 47~48
- [3] 许申鸿. 天竺葵花清除自由基作用的研究[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(2): 4~6
- [4] 许申鸿, 杭瑚. 29 种解花提取液对羟自由基的清除作用[J]. 植物资源与环境, 1999(8): 59~60
- [5] 许申鸿, 杭瑚. 20 种植物水提取物对 DPH 的清除作用[J]. 中国野生植物资源, 1999, 18(3): 50~51
- [6] 袁昌齐, 丁家宜. 中国化妆品工业的现状和展望[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(1): 10~13
- [7] 叶剑秋. 天竺葵与万寿菊类[J]. 园林, 1999(7): 24~25
- [8] 余树勋. 天竺葵家族的分类[J]. 中国花卉盆景, 1998(1): 18
- [9] 段新玲, 赵书珍. 无花果组织培养再生系统的研究[J]. 林业科学研究, 2001, 14(6): 621~627
- [10] 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

## Tissue Culture and Rapid Propagation of Lemon-Scented Geranium

XIE Li-juan, LI Xiao-dong, LI Yong-hong, LIU Jun-wu  
(Shenzhen Polytechnic College, Shenzhen 518055, Guangdong, China)

**Abstract:** The leaves and stem segments of lemon-scented geranium were cultured in tubes as explants. The results showed that stem segments had a better effect in inducing differentiation. The most appropriate culture mediums were: (1) the medium of inducing clump sprouts was MS+ BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; (2) the media of step generation culture was MS+ BA 1.0 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; (3) the root-producing medium was 1/2MS.

**Key words:** lemon-scented geranium; tissue culture; rapid propagation