

三角紫叶酢浆草的组织培养及快速繁殖

高贵珍^{1,2}, 张兴桃², 刘小阳², 庞伟²

(1. 南京大学生命科学学院药物生物技术国家重点实验室, 江苏 南京 210093; 2. 宿州师范专科学校生化分析实验室, 安徽 宿州 234000)

Rapid propagation of *Oxalis triangularis* by tissue culture GAO Gui-zhen^{1,2}, ZHANG Xing-tao², LIU Xiao-yang², PANG Wei²(1. Biotechnology Key Laboratory, College of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Biochemistry Resolution Laboratory, Suzhou Teachers' College, Suzhou 234000, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2004, 13(1): 62-63

Abstract: The callus of *Oxalis triangularis* A. St. Hil. can occur from both leaf and leafstalk by tissue culture, and then differentiate to young plants in the proper medium. The optimum medium for the inducing of callus and the differentiation of buds is MS + 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA + 0.2 mg·L⁻¹ NAA + 30 g·L⁻¹ sucrose + 0.8% agar. The optimum medium for rooting is 1/2MS + 0.2 mg·L⁻¹ NAA + 30 g·L⁻¹ sucrose + 0.8% agar. The survival rate of transplanting reaches above 95%.

关键词: 三角紫叶酢浆草; 快速繁殖; 组织培养

Key words: *Oxalis triangularis* A. St. Hil.; rapid propagation; tissue culture

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2004)01-0062-02

三角紫叶酢浆草(*Oxalis triangularis* A. St. Hil.)为多年生草本植物,原产热带美洲,在城市绿化和家庭装饰中具有广阔的应用前景^[1]。其繁殖多采用切分块茎的方法,但繁殖速度慢;也可用种子繁殖,但其结种率低,周期长,远远不能满足市场需要。有关植物组织培养和快速繁殖的研究很多^[2-5],李霖等人曾报道了紫叶酢浆草(*Oxalis violacea* L.)的组织培养研究结果^[6],而三角紫叶酢浆草的快速繁殖研究未见报道。为此,本文采用了组织培养法进行了快速繁殖研究,旨在为三角紫叶酢浆草工厂化育苗提供技术参数。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验材料取自盆栽的三角紫叶酢浆草(购于合肥花卉公司),以叶片和叶柄作为外植体。

1.2 方 法

1.2.1 消毒 用自来水冲洗外植体 10 min,用少量加酶洗衣粉浸泡 2 h,流水冲洗干净,移入无菌接种室。将每片叶剪成 3 小片,叶柄切成 3~5 cm 小段,浸入 0.1% HgCl₂ 溶液中振荡消毒 2 min,用无菌水冲洗 5~8 次,即可用于接种。

1.2.2 培养基配方^[7] (1)愈伤组织诱导培养基及丛生芽生长培养基:基本培养基为 MS,分别添加了 0.5、1.0 和 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 及 0.1、0.2 和 0.3 mg·L⁻¹ NAA。(2)生根培养基:基本培养基为 1/2 MS,分别添加了 0.1、0.2 和 0.3 mg·L⁻¹ NAA。各培养基的蔗糖浓度均为 30 g·L⁻¹,加 0.8% 琼脂固化,pH 5.8~6.2。

1.2.3 培养条件 培养温度 22~25℃,光照强度为 2 000 lx 左右,光照时间为 12 h·d⁻¹。

1.2.4 培养方法 (1)愈伤组织的诱导:将消毒的叶片和叶

柄在无菌条件下分别切成 1 cm² 小块和 1 cm 小段,将叶片的背面向上置于诱导分化培养基上,叶柄的形态学下端向下插入诱导分化培养基中培养,每瓶接种 3 个外植体。(2)丛生芽的生长:将已分化的丛生芽移入丛生芽生长培养基中培养,每瓶移入丛生芽 5~10 个。(3)试管苗的生根培养:将培养 30 d 生长至 2~3 cm 的试管苗,转至生根培养基中培养,每瓶 5 株。(4)试管苗炼苗移栽:试管苗生长至 5~6 cm 时,将封口膜掀开 1/2,移到培养箱外自然光炼苗 2 d 后掀去封口膜,取出试管苗,洗去沾附的培养基,移栽至装有下列不同介质的塑料杯中:粗砂 + 营养土(W:W = 3:1)、松针土(100%)、蛭石 + 营养液,培养温度 20℃,自然光照,用薄膜覆盖保持苗床相对湿度在 90% 以上。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导和芽的分化

2.1.1 叶片的分化状况 叶片在接种 7 d 后开始出现拱起,颜色变淡;10 d 后在叶片的切口边缘处开始出现白色点状的愈伤组织;14 d 后在愈伤组织处开始生出白色的不定根,不定根表面有白色绒毛覆盖,此白色绒毛组织为组织培养中伴随小苗形成过程出现的愈伤组织^[6]。接种 23 d 后愈伤组织开始分化出卷曲的紫色幼芽,继续培养生长发育出丛生叶,每叶在长叶柄的顶端着生 3 片紫色小叶。

2.1.2 叶柄的分化状况 叶柄接种 14 d 后逐渐透明,两端切口膨大并出现白色愈伤组织,培养至 27 d,愈伤组织开始

收稿日期: 2003-05-12

基金项目: 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(2001KJ243)

作者简介: 高贵珍(1962-),女,安徽五河人,学士,教授,南京大学生命科学学院访问学者,主要从事植物生理生化研究。

分化;生出白色不定根(与叶片相似),30 d以后形成紫色小芽,并始终保持紫色。继续培养生长发育出丛生叶。

2.2 不同外植体愈伤组织诱导和芽分化的比较

用叶片和叶柄作为外植体都能诱导愈伤组织并分化出芽,但不同外植体形成愈伤组织和芽分化所需的时间、分化的速度、芽的数量则不同(见表1)。由表1可见,叶片愈伤组织形成和芽的分化较早、诱导率高、分化速度快、形成的芽多。因此,三角紫叶酢浆草组织培养的最佳外植体为叶片。

表1 三角紫叶酢浆草不同外植体的愈伤组织诱导和芽分化的比较
Table 1 Comparison of different explants on inducing callus and differentiating buds of *Oxalis triangularis* A. St. Hill.

外植体 Explant	接种数 No. of explants	出现愈伤 组织时间 <i>t</i> /d	愈伤 组织数 No. of callus	诱导率/% Inducing ratio	分化 芽数 No. of buds
		Forming callus time			
叶片 Leaf blade	60	10	50	83.3	518
叶柄 Leafstalk	39	14	15	38.5	129

2.3 不同培养基对愈伤组织形成和分化的影响

在3种不同培养基上叶片均能诱导愈伤组织和分化出根及芽(见表2),培养基MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 0.8%最适宜愈伤组织诱导分化和芽的形成,且此培养基上生出的白色不定根也较多。

表2 不同培养基对三角紫叶酢浆草愈伤组织形成和分化的影响¹⁾
Table 2 Effects of different culture media on the inducing callus and differentiating buds of *Oxalis triangularis* A. St. Hill. leaves¹⁾

浓度/mg·L ⁻¹ Concentration		接种叶片数 No. of primary bud	愈伤组织数 No. of callus	分化芽数 No. of differentiating bud
6-BA	NAA			
0.5	0.1	20	15	124
1.0	0.2	20	19	260
2.0	0.3	20	16	134

¹⁾培养30 d后的结果 The results were after culturing 30 d

2.4 不同培养基对丛生芽生长的影响

将已分化的丛生芽移入不同丛生芽生长培养基中培养,结果见表3。由表3可见,MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 0.8%是丛生芽生长的最佳培养基,在此培养基上不仅成苗率高,而且苗粗壮,长势好。

2.5 生根诱导

将培养60 d,高2~3 cm的苗转入生根培养基中,10 d后,在3种培养基上的苗都能长出一定数量的根,但以1/2MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹培养基生根效果较好,生根早、生根率高,而且根较粗壮。同时发现有些苗的基部形成组织块,此组织块以后可能发育成块茎,这样的苗移栽较易成活。

2.6 炼苗和移栽

炼苗后初移栽的三角紫叶酢浆草叶片为淡紫色或绿色

略带紫色,一段时间后,叶片的颜色逐渐转变为紫色,色泽鲜艳且具绒毛感。这种颜色变化可能是三角紫叶酢浆草叶片中的花色苷随光质、pH和温度等因素的变化造成的。在本实验所采用的移栽介质中,以粗砂+营养土成活率最高,可达98%以上,其他2种介质中,成活率也可达95%以上。

表3 不同培养基对三角紫叶酢浆草丛生芽生长的影响¹⁾
Table 3 Effects of different culture media on the growth state of the crowd buds of *Oxalis triangularis* A. St. Hill.¹⁾

浓度/mg·L ⁻¹ Concentration		成苗数 No. of forming plantlet	成苗率/% Forming plantlet ratio	生长状况 Growth state
6-BA	NAA			
0.5	0.1	106	85.5	+++
1.0	0.2	316	87.8	++
2.0	0.3	139	90.3	++++

¹⁾培养50 d后的结果 The results were after culturing 50 d. ++, +++, +++++: 分别表示生长较弱、较强、强 The growth state are relatively weak, relatively vigorous and vigorous respectively.

3 结论与讨论

实验结果表明,用三角紫叶酢浆草的叶片和叶柄作为外植体都能诱导愈伤组织,进行快速繁殖,但叶片愈伤组织形成和芽的分化较早、诱导率高、分化速度快、形成的芽多,故叶片为最佳外植体。通过比较,最佳诱导培养基为MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 0.8%;丛生芽生长培养基为MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 0.8%;生根培养基为1/2MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 0.8%。培养的最佳条件为温度25℃,光照强度2 000 lx,光照时间12 h·d⁻¹,这与紫叶酢浆草的组织培养最佳条件相似^[6]。在实验中发现,三角紫叶酢浆草叶片和叶柄的消毒时间一般以2 min为宜,不能超过4 min,否则将对外植体造成损伤。

参考文献:

- [1] 龙金花. 彩蝶纷飞的三角紫叶酢浆草[J]. 植物杂志, 2000(2): 48.
- [2] 舒雯, 高山林. 桔梗的组织培养[J]. 植物资源与环境学报, 2001, 10(3): 63-64.
- [3] 冯晓英. 勿忘我组织培养快速繁殖研究[J]. 贵州农业科学, 2002, 30(1): 9-13.
- [4] 黄清俊, 谢维荪, 季大方. 狄氏芦荟的离体培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(5): 455.
- [5] 高山林, 金雍安, 蔡朝晖, 等. 大蒜分生组织培养脱病毒和快速繁殖技术[J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9(3): 15-18.
- [6] 李霖, 宋宝颖, 鲁润龙, 等. 紫叶酢浆草的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(4): 360.
- [7] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术(第一版)[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.