

文章编号: 1000-5471(2008)03-0086-04

小红枫的组织培养研究^①

艾丽皎

重庆市园林绿化科学研究所, 重庆 400042

摘要: 以小红枫叶片为外植体进行了组织培养研究. 结果表明: 在适宜的培养基中, 小红枫叶片能同时诱导产生愈伤组织和不定芽, 并且不定芽分化率高. 不添加植物生长调节剂的 1/2MS 培养基适宜诱导生根, 生根率达 100%.

关键词: 小红枫; 叶片; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: Q949.752.1

文献标识码: A

近年来, 色彩植物越来越受到人们的重视, 在城市绿化美化中占据着重要的地位. 小红枫(*Oxalis hedysaroides*) 为酢浆草科多年生木质化草本, 亚灌木状, 叶色似枫, 铜红艳丽, 成株开花黄色, 花腋生, 是一种优美的色彩植物. 将小红枫经组培途径大量快繁后, 可广泛应用于城市园林绿化、庭院美化、室内装饰等方面, 促使城市景观向多样性、新颖性方向发展^[1].

1 材料与方法

1.1 植物材料

选取小红枫叶片为外植体^[2].

1.2 培养条件

以 MS 为基本培养基, pH 5.8, 蔗糖浓度 3%, 琼脂 0.7%. 光照条件为 1 500~2 000 Lx, 10 h 光照/14 h 黑暗, 温度 25±3 °C^[3].

1.3 试验方法

1.3.1 无菌材料的获得

选取小红枫叶片为外植体, 流水冲洗 1~2 h. 在无菌条件下先用 70% 的酒精浸泡 20 s, 用无菌水冲洗 3 次. 然后置于 0.1% HgCl₂ 溶液中灭菌 3 min, 用无菌水冲洗 4~5 次. 获得无菌材料待用.

1.3.2 组培快繁体系的建立

1.3.2.1 初代培养

将无菌材料切成约 0.5 m² 小块, 接种于添加不同植物生长调节剂^[4]的 MS 培养基上进行初代培养, 诱导愈伤组织及不定芽的发生.

考察愈伤组织及不定芽诱导率^[5,6].

愈伤组织诱导率(诱愈率) = (出愈外植体块数/接种外植体总块数) × 100%.

不定芽诱导率(诱芽率) = (出芽外植体块数/接种外植体总块数) × 100%.

愈伤组织以松散状、颜色鲜艳、生长旺盛为佳^[3].

1.3.2.2 不定芽的分化

初代培养产生的愈伤组织转至附加不同植物生长调节剂的分化培养基中诱导芽的分化. 观察并记录芽

① 收稿日期: 2007-12-04

基金项目: 重庆市园林事业管理局科技项目.

作者简介: 艾丽皎(1972-), 女, 贵州六枝人, 硕士, 工程师, 主要从事园林植物生物技术研究.

的分化以及生长状况, 选择适宜的分化培养基.

1.3.2.3 生根

将单株苗从基部切断, 除去周围的小芽及组织, 接种到不同浓度 NAA 或 IBA 的生根培养基上进行生根培养. 根据苗的生根率、平均生根数、根的生长状况选择最适生根培养基.

1.3.2.4 炼苗移栽

待苗长至 5~7 cm、根生长正常时, 将培养瓶从培养室移至室温下 1~2 d 后, 揭开封口膜, 加少许自来水(防止培养基长菌), 继续炼苗 3~5 d. 小心取出试管苗, 用自来水洗净根部粘附的培养基, 置于 800 倍 40% 多菌灵溶液中浸泡 0.5 h, 移栽到营养钵中, 浇透水. 生长期保温保湿, 适时喷杀菌剂, 以防杂菌滋生. 30 d 后统计移栽成活率.

基质配比为珍珠岩: 蛭石: 腐殖土=1:1:2. 基质用甲醛熏蒸一周后待用^[7,8].

2 结果与分析

2.1 不同植物生长调节剂配比对小红枫初代培养的影响

2.1.1 不同植物生长调节剂配比对愈伤组织诱导率的影响

外植体接种 7 d 后, 叶表面开始膨大, 产生愈伤组织, 发生早, 10 d 后愈伤组织大量发生, 叶片失去原有形状, 愈伤组织呈黄绿色团状结构, 继续培养, 表面披白色细绒毛.

实验表明: (1) 各种处理均能诱导愈伤组织的发生, 诱愈率均为 100%; (2) 在各种处理中, 愈伤组织生长旺盛或极旺盛, 结构松散. 其中, 在 8 号培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L 中, 愈伤组织生长极旺盛, 表面有大量红色芽点. 仅在 9 号培养基 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 1.0 mg/L 中, 愈伤组织发生晚, 生长极缓慢, 结构较致密. 因此, MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L 是小红枫叶片诱导愈伤组织的最佳培养基(表 1).

2.1.2 不同植物生长调节剂配比对小红枫叶片诱导不定芽的影响

在愈伤组织诱导过程中, 伴随着不定芽的发生, 在 2 号培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 中, 不定芽发生率高, 达 100%, 且芽生长健壮. 2,4-D 浓度为 0 时, 不定芽诱导率较高, 即 2,4-D 不利于小红枫不定芽的发生. 适当浓度配比的 6-BA 和 NAA 能够最大限度诱导不定芽的发生, 并能促进芽的健壮生长. 因此, 选择 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 作为小红枫叶片诱导不定芽的最佳培养基(表 1).

表 1 植物生长调节剂对小红枫初代培养的影响

试验序号	处理/mg·L ⁻¹				接种叶片块数	愈伤组织诱导块数	不定芽分化块数	愈伤组织诱导率/%	不定芽诱导率/%
	6-BA	NAA	KT	2,4-D					
1	1.0	0.05	1.0	0.5	30	30	0	100	0
2	2.0	0.05	0	0	30	30	30	100	100
3	3.0	0.05	0.5	1.0	30	30	6	100	20
4	1.0	0.1	0.5	0	30	30	12	100	40
5	2.0	0.1	1.0	1.0	30	30	0	100	0
6	3.0	0.1	0	0.5	30	30	0	100	0
7	1.0	0.5	0	1.0	28	28	7	100	25
8	2.0	0.5	0.5	0.5	30	30	0	100	0
9	3.0	0.5	1.0	0	29	29	8	100	27.6

2.2 不同培养基对愈伤组织诱导不定芽分化的影响

将小红枫愈伤组织接种在附加不同植物生长调节剂的培养基中诱导不定芽的发生.

由表 2 可知, 愈伤组织在培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+KT 0.5 mg/L 及 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.5 mg/L 中, 不定芽易发生, 诱芽率高, 且芽生长状况良好. 因此两者均可作为小红枫愈伤组织诱导不定芽再生的培养基. 从减少植物生长调节剂用量角度考虑, 选择 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+KT 0.5 mg/L 作为愈伤组织诱导不定芽分化的适宜培养基.

表 2 不同培养基对小红枫愈伤组织诱导不定芽分化的影响

植物生长调节剂组合 /mg · L ⁻¹	接种愈伤 块数	出芽愈伤 块数	诱芽率 /%	不定芽生长状况
6-BA 1.0+NAA 0.05+KT 0.5	30	30	100	苗高, 苗较壮, 新生叶片为嫩绿色, 之后转为红色
6-BA 3.0+NAA 0.1+KT 0.5	30	29	96.7	出苗数较 1 少, 但苗高, 苗壮
6-BA 5.0+NAA 0.01	30	17	56.7	出苗数虽然很多, 但是苗成丛生状横向生长
6-BA 5.0+NAA 0.05	30	3	10	有苗产生, 但苗弱, 且愈伤褐化
6-BA 5.0+NAA 0.1	30	6	20	苗较弱, 少数高
6-BA 5.0+NAA 0.2	30	2	6.7	有苗产生, 但苗弱, 且愈伤褐化
6-BA 0.5+NAA 0.1	30	18	60	苗高, 生长状况好
6-BA 0.5+NAA 0.5	30	4	13.3	有苗产生, 但苗弱, 且愈伤褐化
6-BA 0.5+NAA 0.05	30	19	63.3	幼苗生长好, 高且壮

2.3 不同浓度 NAA 及 IBA 对生根的影响

将初代培养及愈伤组织诱导获得的健康小苗从基部切断, 除去周围的小芽及组织, 接种到 1/2MS 培养基中培养, 壮苗。

将高 2~3 cm 的健壮小苗接种到不同浓度 NAA 或 IBA 的生根培养基中生根。5~7 d 出现根的分化。无根苗在含有 NAA 或 IBA 的 1/2MS 培养基中均能生根, 但不同浓度的 NAA 或 IBA 使根的表现不同。当 NAA 浓度为 0.01 mg/L 时, 生根率高, 诱导产生的根较长且长势好, 植株少落叶现象。无根苗在无植物生长调节剂的 1/2MS 培养基上也能生根, 根长纤细。由此可见, 选择 1/2MS 作为小红枫试管苗生根的培养基(表 3)。

表 3 不同浓度的 NAA 及 IBA 对生根的影响

NAA /mg · L ⁻¹	IBA /mg · L ⁻¹	接种 株数	生根 株数	生根 率/%	平均生根数 /条 · 株 ⁻¹	根生长状况
0	0	30	30	100	2.71	根较纤细, 须根较弱, 植株极少有落叶现象
0.01	0	30	23	76.7	1.42	主根伸长光滑, 须根细长发达; 植株生长健壮, 少落叶现象
0.05	0	30	20	66.7	1.12	根部由愈伤组织发生; 主根短、粗, 毛状, 须根细长光滑, 灰黑色根多; 植株生长差, 落叶现象明显
0	0.01	30	14	46.7	1.2	根粗壮、较短、光滑, 须根较发达, 灰黑色根多, 植株少有落叶现象
0	0.05	30	13	43.3	1.19	根光滑, 主根长, 须根短; 植株有落叶现象

注: 以 1/2MS 为基本培养基。

2.4 炼苗移栽

将生根苗放置于温室大棚中炼苗移栽。30 d 后经统计可知, 移栽成活率为 95.4%, 植株生长良好。移栽 40~45 d 后, 花开始开放。

3 讨论

3.1 在初代培养中, 既能产生愈伤组织, 又有不定芽的分化, 显著缩短了小红枫的组培快繁周期, 能快速获得大量组培苗; 同时, 可以有效减少随着愈伤组织培养代数增加而产生变异的可能性, 以保持组培品种的优良种性。这在组织培养中具有极为重要的意义。

3.2 2, 4-D 不利于小红枫不定芽的发生。6-BA 和 NAA 配合使用, 能显著提高不定芽的分化率。较低浓度的 6-BA 更有利于芽的分化和生长。KT 促进小红枫愈伤组织诱导不定芽的再生。实验表明, 在仅有 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基中, 不定芽的分化率较低, 出苗数少, 组培苗生长较弱; 加入 KT 后, 不定芽分化率显著提高, 出苗多, 苗壮且生长迅速。

3.3 小苗在 1/2MS 培养基中均能生根, 虽然根较纤弱, 但移栽成活率高, 植株生长正常。因此在壮苗过程中生根的健壮植株, 可以直接进行炼苗移栽, 缩短组培周期。



图1 愈伤组织及不定芽的诱导



图2 愈伤组织诱导不定芽的再生



图3 生根



图4 炼苗移栽

参考文献：

- [1] 艾丽皎. 优美的色彩植物——小红枫 [J]. 南方农业(园林花卉版), 2007(6): 13.
- [2] 周 淘, 张启翔. 观赏花卉组织培养中外植体材料的选取 [J]. 山东林业科技, 2003(1): 43—44.
- [3] 艾丽皎, 李名扬. 唐菖蒲球茎芽高频再生体系的建立 [J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27(6): 844—846.
- [4] 王小箐, 李 玲. 植物生长调节剂在植物组织培养中的应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [5] Johnson B. B. In Vitro Propagation of from Leaf Explants [J]. Hortscience, 1978, 13: 149—150.
- [6] 张 洁, 林春来, 王力超, 等. 西红花球茎组织培养的研究. 西南师范大学学报(自然科学版), 2007, 32(1): 68—72.
- [7] 孟月娥, 周子发, 李艳敏, 等. 紫叶酢浆草组培快繁技术研究 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(12): 290—291, 298.
- [8] 刘奕清, 王大平. 尾细梭的组织培养和快速繁殖. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27(2): 237—239.

Study on Tissue Culture of *Oxalis hedysaroides*

AI Li-jiao

Chongqing Gardens Virescence Science Research Institute, Chongqing 400042, China

Abstract: Leaf of *Oxalis hedysaroides* were used as explants for tissue culture and rapid propagation. This experiment showed that callus and buds were induced in proper medium. 1/2MS was good for rooting, the rooting rate was 100%.

Key words: *Oxalis hedysaroides*; leaf; tissue culture; rapid propagation