

# 白花紫露草的组织培养与植株再生体系的建立

陈宝鑫, 王晓旭, 张倩怡, 吴 军, 姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学学院 辽宁 大连 116029)

**摘 要:**以白花紫露草嫩茎为材料,进行了愈伤组织诱导、分化、试管苗生根、试管苗移栽所需条件的研究。结果表明:1/2MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 是诱导愈伤组织的理想培养基;MS+BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L 是诱导愈伤组织形成,同时具有分化能力愈伤组织的理想培养基;1/2MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是诱导愈伤组织和不定芽分化的理想培养基;1/2MS+IAA 0.3 mg/L 是生根培养的理想培养基;以炉灰渣为试管苗的移栽扦插基质,移栽成活率为 98%,扦插成活率为 91%。

**关键词:**白花紫露草;组织培养;培养基

**中图分类号:**S 681.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)06-0084-03

白花紫露草(*Tradescantia fiumiensis*)鸭跖草科紫露草属多年生草本<sup>[1]</sup>。室内栽培的白花紫露草植株铺散,叶色美观,宜盆栽观赏,是书橱、几架的良好装饰植物。夏季又可作为吊挂廊下的观叶植物。作为一种观赏植物<sup>[2]</sup>,白花紫露草具有极高的观赏价值<sup>[3]</sup>,同时全株可做药用,具有消肿解毒、活血利尿等功效,能治痈疽中毒、溲痈结核、淋病等疾病<sup>[4]</sup>。正是由于白花紫露草具有重要的观赏和药用价值,使其市场需求量很大。但是因为白花紫露草在人工栽培的条件下难以形成种子,又不易进行人工无性繁殖,从而限制了白花紫露草的生产,难以满足人们的需求。因此,对白花紫露草进行了组织培养和无性系建立的研究,以期获得大量的种苗,满足人们生产栽培需要,并为该植物转基因等研究奠定了技术基础。同时也满足了日益增长的市场需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与灭菌

将栽培于花盆中生长旺盛的白花紫露草嫩茎剪成长 4~5 cm 的茎段后,放到 500 mL 的磨口广口瓶中,先用自来水振荡洗涤 4 次,每次持续 1 min 左右;接着用浓度 0.05% 安利洗涤剂振荡洗涤 5~10 min,再用自来水漂洗至无泡沫时转移至超净工作台上,用 70%~75% 的酒精灭菌 10~15 s 后,用无菌水冲洗 3~5 次;再用 0.05% 的升汞溶液振荡灭菌 14 min,最后用无菌水冲洗 4~5 次。即获得无菌材料。

**第一作者简介:**陈宝鑫(1987-),男,辽宁鞍山人,本科,研究方向为植物组织培养。

**通讯作者:**姜长阳(1954-),男,辽宁大连人,教授,现从事植物组培技术研究工作。E-mail:changyangjiang@126.com。

**收稿日期:**2008-12-27

### 1.2 培养条件

以 MS 或 1/2MS 的基本培养基 附加不同浓度的 BA、IAA、2,4-D 和 NAA;以 MS 为基本培养基时加蔗糖 30 mg/L;以 1/2MS 为基本培养基时加蔗糖 15 g/L;培养基胨力强度为 180 g/cm<sup>3</sup>,pH 5.4~5.8,光照时间 12 h/d,光强 2 500 lx 左右,培养温度 25℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织的诱导培养

表 1 不同浓度激素对愈伤组织诱导的影响

BA /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	IBA /mg·L <sup>-1</sup>	接种数量 /个	诱导个数 /个	平均 诱导率/%	长势
0	0	0	50	0	0	
0.1	0	0	50	0	0	
0.5	0	0	50	0	0	
1.0	0	0	50	0	0	
1.5	0	0	50	0	0	
2.0	0	0	50	0	0	
0	0.2	0	50	0	0	
0.1	0.2	0	50	2	4	+
0.5	0.2	0	50	38	78	++
1.0	0.2	0	50	13	25	+
1.5	0.2	0	50	6	11	+
2.0	0.2	0	50	3	6	+
0	0	0.2	50	0	0	
0.1	0	0.2	50	0	0	
0.5	0	0.2	50	0	0	
1.0	0	0.2	50	0	0	
1.5	0	0.2	50	0	0	
2.0	0	0.2	50	0	0	

注:++长势较好;+长势一般。

将无菌嫩茎切成 0.3 cm 左右的茎段后,接种到以 1/2MS 为基本培养基,附加不同浓度 BA、NAA、IBA 的培养基上,每种培养基接种 50 个材料,接种后观察 45 d 统计。由表 1 可见,在 1/2MS+BA 0.5 mg/L(单位下同)+NAA 0.2 培养基上诱导培养的愈伤组织不仅诱导率达到了 78%,而且诱导培养的愈伤组织长势较理想。

说明 1/2MS+BA 0.5+NAA 0.2 这一培养基是诱导白花紫露草愈伤组织的理想培养基。

将上述在 1/2MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 培养基上诱导愈伤组织,接种到以 MS 为基本培养基,附加不同浓度 BA、2,4-D、IAA 的培养基上,进行愈伤组织的增殖培养。每种培养基接种 50 块愈伤组织,接种后 50 d 观察统计。由表 2 可见,在 MS+BA 1.0+2,4-D 0.5 培养基上诱导培养的愈伤组织不仅诱导率为 96%,而且生长速度快,在该培养基上培养的愈伤组织,其外观呈浅绿色的颗粒状,质地较为疏松,生长速度快。一般认为,这种愈伤组织为具有分化能力的愈伤组织<sup>[9]</sup>。将在上述培养基上培养的愈伤组织,在相同的培养基上连续继代培养 3 代,每次继代的时间均为 50 d 所培养的愈伤组织外部形态保持不变,均为具有分化能力的愈伤组织。此结果说明,MS+BA 1.0+2,4-D 0.5 是诱导白花紫露草形成具有分化能力愈伤组织的理想培养基。

表 2 不同浓度激素愈伤组织诱导的影响

BA	2,4-D	IAA	接种数量	诱导个数	平均	长势
/mg·L <sup>-1</sup>	/mg·L <sup>-1</sup>	/mg·L <sup>-1</sup>	/个	/个	诱导率/%	
0	0	0	50	0	0	
0.1	0	0	50	0	0	
0.5	0	0	50	0	0	
1.0	0	0	50	0	0	
1.5	0	0	50	0	0	
2.0	0	0	50	0	0	
0	0.5	0	50	46	92	++
0.1	0.5	0	50	43	86	++
0.5	0.5	0	50	47	94	++
1.0	0.5	0	50	48	96	+++
1.5	0.5	0	50	43	86	++
2.0	0.5	0	50	25	50	+
0	0	0.5	50	0	0	
0.1	0	0.5	50	0	0	
0.5	0	0.5	50	0	0	
1.0	0	0.5	50	0	0	
1.5	0	0.5	50	0	0	
2.0	0	0.5	50	0	0	

注 +++长势好; ++长势较好; +长势一般。

2.2 愈伤组织的分化

将继代培养的颗粒状愈伤组织分散后,接种到以 1/2MS为基本培养基 附加不同浓度 BA、IBA、NAA 的培养基上进行愈伤组织的分化培养,每种培养基接种 50 个颗粒。接种后 20 d 开始分化,50 d 时观察统计。由表 3 可知,在细胞分裂素 BA 与生长素 NAA、IBA 配合使用的培养基上,愈伤组织可以分化出不定芽。但从愈伤组织的分化率和分化不定芽长势看,在 1/2MS+BA 0.2+NAA 0.1 的培养基上,不仅颗粒状愈伤组织分化率达到了 100%,平均每块愈伤组织的分化不定芽数达 3.5 个,并且分化苗长势好。对分化培养的不定芽进行分化继代培养,连续培养 3 代,不定芽以 40 d 分化出 5.6 个不定芽的速度进行分化,分化的不定芽呈丛生状,培养 40 d

的高度多在 0.5 cm 以上。该结果说明 1/2MS+BA 0.2+NAA 0.1 是诱导白花紫露草愈伤组织分化和不定芽分化的理想培养基。

表 3 不同浓度激素对白花紫露草愈伤组织分化诱导的影响

BA	NAA	IBA	接种数量	诱导个数	平均	长势
/mg·L <sup>-1</sup>	/mg·L <sup>-1</sup>	/mg·L <sup>-1</sup>	/个	/个	诱导率/%	
0	0	0.1	50	0	0	
0.1	0	0.1	50	0	0	
0.2	0	0.1	50	0	0	
0.3	0	0.1	50	0	0	
0.4	0	0.1	50	0	0	
0.5	0	0.1	50	0	0	
0	0.1	0	50	0	0	
0.1	0.1	0	50	14	28	++
0.2	0.1	0	50	50	100	+++
0.3	0.1	0	50	18	36	++
0.4	0.1	0	50	4	8	+
0.5	0.1	0	50	0	0	
0	0	0.2	50	0	0	
0.1	0	0.2	50	0	0	
0.2	0	0.2	50	2	4	+
0.3	0	0.2	50	5	10	+
0.4	0	0.2	50	0	0	
0.5	0	0.2	50	0	0	
0	0.2	0	50	0	0	
0.1	0.2	0	50	4	8	+
0.2	0.2	0	50	11	22	++
0.3	0.2	0	50	7	14	++
0.4	0.2	0	50	3	6	+
0.5	0.2	0	50	0	0	

注: +++长势好; ++长势较好; +长势一般。

2.3 不同浓度 BA、IAA 组和对白花紫露草生根的影响

当分化培养的不定芽生长到高 0.5 cm 以上时,将分化苗从基部剪下,接种到以 1/2MS 为基本培养基,附加不同浓度 IAA 的培养基上,每种培养基接种 100 个不定芽。接种后 10 d 后可见形成根原基。随后,根系迅速生长,25 d 时观察统计证明,在含有 0.3 IAA 的培养基中,不仅生根率达到了 99%,而且每株生根数达到 6.2 条,试管苗的高度为 5 cm 左右。把在这一培养基上培养的生根苗剪成具有 2 个芽,长 1~1.5 cm 的茎段,接种到相同的培养基上进行生根继代增殖培养,25 d 培养 1 代。连续培养 3 代,不仅生根苗生长非常旺盛、没有无效苗,而且每代的平均繁殖系数达到了 3.4。这说明 1/2MS+IAA 0.3 是白花紫露草生根培养的理想培养基。

2.4 试管苗的移栽和扦插

将生根试管苗培养瓶塞打开,置于光强度 4 000~5 000 lx 下练苗 3 d 后,把试管苗从培养瓶中取出,剪上半段,洗净基部的培养基,把具有根的试管苗移栽到表层为约 6 cm 厚的炉灰渣、下层为肥沃园土的温室苗床或花盆中。然后弥雾浇透水,保持湿度 95%以上、温

度 22℃以上、防止直射光照的条件下, 移栽成活率为 98%。把这些试管苗的茎和剪下的移栽试管苗上半段从培养瓶中取出后, 剪成至少具有 2 个生长点、长应 2 cm 左右的茎段后, 把下部放到 90 mg/L 的 IAA 溶液中处理 3 min, 扦插到事先已经浇透水并打上了深约 1 cm 小孔温室苗床的炉灰渣中, 接着, 弥雾喷浇于闭插孔后, 再按照与移栽试管苗相同的条件进行管理。20 d 后成活并正常生长, 扦插成活率为 91%。把移栽和扦插成活的试管苗移植到田间或花盆中栽培。移植的试管苗前 50 d 长势较慢、植株较小, 随后植株生长旺盛、长势整齐, 根系发达, 相当于非试管苗 1.5~2 倍。

### 3 讨论

虽然目前国内外已有观赏植物组织培养研究的报道<sup>[7-11]</sup>, 但迄今未见鸭跖草科植物及白花紫露草的组织培养、无性系建立和快速繁殖研究的报道。该研究以白花紫露草嫩茎为外植体, 将植株培养在不同成分的培养基中, 最后通过观察筛选出适宜嫩茎愈伤组织诱导、愈伤组织分化、不定芽生根的适宜培养基, 达到了植株再生、建立无性系的目的。由此不仅为白花紫露草的工厂化繁殖和未来转基因研究提供了技术基础, 而且也证明白花紫露草的非分生组织细胞也具有全能性。

以不定芽为材料进行分化培养, 40 d 能分化出 5.6 个不定芽。按照这个速率计算, 白花紫露草愈伤组织分化培养年增殖数为 5.6<sup>9</sup>。以生根继代增殖培养, 25 d 的繁殖系数为 3.4。按照这个繁殖速度, 每年增殖数为 3.4<sup>14, 6</sup>。因此, 不论采用哪种方法进行快速繁殖, 1 年都能繁殖出几百万株试管苗, 达到无性系建立、快速繁殖、

工厂化育苗的目的, 为满足人们对白花紫露草的需求提供了可能。在上述的 2 种快速繁殖方法中, 生根继代培养快速繁殖的方法具有试管苗生长旺盛、没有无效苗的特点。因此, 在生产上应采用生根试管苗继代培养的方法进行快速繁殖为宜。在生根培养中, 以不定芽为材料进行生根, 不论生根试管苗培养时间, 还是试管苗的长势都远不及继代培养的试管苗, 这主要与不定芽的长势弱有关。这说明试管苗的生根培养结果与用于培养的材料状态密切相关。

### 参考文献

- [1] 村越三千男. 原色图说植物大辞典[M]. 北京: 中文馆书店, 1938: 328.
- [2] 陈建华, 刘承平. 鸭跖草的家庭盆栽栽培[J]. 中国花卉盆景, 1995, 16(3): 115-116.
- [3] 马成亮. 鸭跖草的栽培[J]. 特种经济动植物, 2005, 32(5): 36-39.
- [4] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 2572.
- [5] 姜长阳. 培养基琼脂用量的商榷[J]. 植物生理学通讯, 1990, 16(2): 53-54.
- [6] 安利佳, 姜长阳. 植物组织培养导论[M]. 大连: 辽宁师范大学出版社, 1997: 55-60.
- [7] 向太和. 菊花组织培养植株再生及其后代的变异[J]. 杭州师范学院学报(自然科学版), 2006(1): 36-39.
- [8] 建德锋, 赵文若, 赵海锋. 菊花组织培养技术研究[J]. 北方园艺, 2007, 39(9): 32-36.
- [9] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 47-135.
- [10] 王家福. 花卉组织培养与快速繁殖技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 2006: 126-231.
- [11] 刘清林, 马伟, 郑玉梅. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 87-132.

## Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Tadescantia fluminensis*

CHEN Bao-xin, WANG Xiao-xu, ZHANG Qian-yi, WU Jun, JIANG Chang-yang

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China)

**Abstract:** Tissue culture and plantlet regeneration of *Tadescantia fluminensis* with the stem as an explant was studied in order to prove the optimum conditions of callus induction, the differentiation of buds, rooting and transplantation. The results showed that the medium 1/2MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L was the best for inducing callus; MS+BA 1.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L was the most suitable medium for the callus to differentiate; The optimum medium for forming callus and differentiation of adventitious bud was 1/2MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 1/2MS+IAA 0.3 mg/L was the ideal for rooting. Using cider as seeding matrix, the surviving rate of transplantation could reach 98% and that of graftage was 91% respectively.

**Key words:** *Tadescantia fluminensis*; Tissue culture; Medium