

紫花地丁组培快繁技术研究

付印东<sup>1</sup>, 孙晓梅<sup>2</sup>, 杨宏光<sup>2</sup>, 王亚斌<sup>2</sup>

(1. 沈阳市植物园景观部, 辽宁 沈阳 110163; 2. 沈阳农业大学 林学院 辽宁 沈阳 110161)

摘要:以紫花地 萌茎尖为外植体进行组织培养研究,结果表明:外植体用 70%酒精处理 30 s 0.1% HgCl<sub>2</sub> 处理 6 min 效果最佳;最佳生长和增殖培养基为:MS+BA 3 mg/L+NAA 0.1 mg/L;最佳生根培养基为:1/2 MS+BA 0.3 mg/L+AC 0.3 g/L,生根率达 100%。

中图分类号:S 682.1<sup>+</sup>9 文献标识码:B 文章编号:1001-0009(2008)05-0200-02

紫花地丁(*Viola yedoensis*)为堇菜科堇菜属多年生草本植物。其开花早、花期长,株型紧密、低矮,是布置花坛花境、点缀草坪道路的良好材料。同时还具有抗烟尘、抗污染、抗有毒有害气体等特点,因此是具有开发潜力的地被植物。但目前紫花地丁还处于野生状态,现对紫花地丁的组织培养进行了研究,为其进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在沈阳农业大学林学院组织培养实验室进行,以沈阳农业大学植物园内野生紫花地丁种子播种所得幼苗为试验材料。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的采集 待播种苗长出 2 片真叶时,切去根部,用地上部分作外植体。

1.2.2 外植体的消毒 选取健壮无病的外植体,自来水冲洗 3~4 遍,冲洗干净后置于超净工作台上进行表面灭菌,消毒液使用 70%乙醇和 0.1%升汞溶液。表面灭菌后用无菌水浸洗 4~5 次,以尽可能洗掉残留在外植体上的消毒液,每次 2 min 以上,最后放在灭菌后的滤纸上备用。

1.2.3 培养基的配置 以下所用培养基均含有蔗糖 3%,琼脂 8 g/L, pH 5.8。光照培养,每天光照 16 h,光强 2 000 lx,温度(25±2)℃。初代培养和继代培养:设 9 种处理,配方如下:MS; MS+NAA 0.1 mg/L; MS+NAA 0.2 mg/L; MS+BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L; MS+BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L; MS+BA 3 mg/L+NAA 0.1 mg/L; MS+BA 3 mg/L+NAA 0.2 mg/L; MS+BA 1 mg/L; MS+BA 3 mg/L。生根培养:设 8 种处理,配方如下:1/2 MS+BA 0.1 mg/L; 1/2 MS+BA

0.1 mg/L+AC 0.3 mg/L; 1/2 MS+BA 0.2 mg/L; 1/2 MS+BA 0.2 mg/L+AC 0.3 g/L; 1/2 MS+BA 0.3 mg/L; 1/2 MS+BA 0.3 mg/L+AC 0.3 g/L; 1/2 MS+BA 0.5 mg/L; 1/2 MS+BA 0.5 mg/L+AC 0.3 g/L。

1.3 试验结果调查

定期观察苗的生长情况,20 d 后统计平均每株新展叶数、叶色及苗的生长状况。1 个月后统计增殖倍数、增殖芽数、平均每株分化芽数。定期观察根的发生时间,统计生根率和平均根数。

增殖倍数=可见芽总数/接种时总芽数;平均每株分化芽数=增殖芽总数/接种时总芽数;平均每株新展叶数=新展叶总数/接种总苗数;生根率(%)=生根苗数/接种的总苗数×100;平均根数(条)=总根数/生根总苗数。

2 结果与分析

2.1 不同消毒时间对紫花地丁外植体消毒效果的影响

表 1 不同消毒时间对紫花地丁外植体消毒效果的影响

70%酒精 /s	0.1%HgCl <sub>2</sub> /min	接种株数 /个	污染数 /个	污染率 /%	成活数 /个	成活率 /%
15	2	30	26	86.7	28	93.3
15	4	30	20	66.7	29	96.7
15	6	30	10	33.3	28	93.3
15	8	30	7	23.3	14	46.7
30	2	30	26	86.7	30	100
30	4	30	17	56.7	29	96.7
30	6	30	8	16.7	25	83.3
30	8	30	3	10.0	10	33.3
45	2	30	21	70.0	26	86.7
45	4	30	15	50.0	23	76.7
45	6	30	9	30.0	20	66.7
45	8	30	0	0	9	30.0
60	2	30	18	60.0	20	66.7
60	4	30	7	23.3	13	43.3
60	6	30	5	16.7	7	23.3
60	8	30	0	0	4	13.3

由表 1 可以看出,随着酒精和 HgCl<sub>2</sub> 消毒时间的增加,外植体的污染率和成活率都降低;酒精处理 60 s, HgCl<sub>2</sub> 处理 8 min 时污染率为 0,但成活率最低为

第一作者简介:付印东(1973-),男,工程师,主要从事园林植物栽培育种工作。  
通讯作者:孙晓梅。  
基金项目:沈阳农业大学中、青年硕士生导师资助项目。  
收稿日期:2007-12-30

13.3%。酒精处理 30 s, HgCl<sub>2</sub> 处理 2 min 时成活率高达 100%, 但污染率为 86.7%。综合考虑污染率和成活率, 酒精处理 30 s, HgCl<sub>2</sub> 处理 6 min 为最佳, 污染率为

16.7%, 成活率为 83.3%。  
2.2 不同激素配比对紫花地丁生长及增殖培养的影响

表 2 不同激素配比对紫花地丁生长及增殖培养的影响

培养基	接种数 / 个	平均株高 / cm	平均每株新 展叶数/ 个	增殖芽数 / 个	增殖 倍数	叶色	生长势
MS	50	5.7	6	23	1.46	浅绿	较弱
MS+NAA 0.1	50	6.3	5	30	1.60	浅绿	中等
MS+NAA 0.2	50	6.5	3	35	1.70	浅绿	强
MS+ BA 1+NAA 0.1	50	5.5	6	93	2.78	绿	强
MS+ BA 1+NAA 0.2	50	5.4	4	129	2.86	绿	强
MS+ BA 3+NAA 0.1	50	4.6	4	342	7.84	绿	强
MS+ BA 3+NAA 0.2	50	5.0	5	254	6.08	绿	强
MS+BA 1	50	3.5	4	156	4.12	浅绿	较弱
MS+BA 3	50	3.3	4	166	4.32	黄	最弱

由表 2 可以看出, 不同培养基中外植体均可形成不定芽, 且新叶展开数量差异不大, 与激素配比关系不大。不加激素有不定芽分化, 但长势较弱, 增殖倍数最小为 1.46。随着 BA 浓度的增高, 增殖倍数不断升高, 但 BA 的浓度超过一定值时会抑制不定芽的生成。当 BA 浓度为 3 mg/L, NAA 浓度为 0.1 mg/L 时增殖倍数达到最大值 7.84。只加 BA 时, 外植体长势不强, 且叶色偏浅绿, 甚至发黄。

2.3 不同培养基配方对紫花地丁生根生长的影响

表 3 不同培养基配方对紫花地丁生根生长的影响

培养基	接种数 / 个	生根株数 / 株	生根率 / %	平均生根数 / 条
1/2 MS+ BA 0.1	30	22	73.3	3
1/2 MS+ BA 0.2	30	27	90	4
1/2 MS+ BA 0.3	30	30	100	4
1/2 MS+ BA 0.5	30	30	100	4.5
1/2 MS+ BA 0.1+AC 0.3	30	25	83.3	5
1/2 MS+ BA 0.2+AC 0.3	30	29	96.7	4.5
1/2 MS+ BA 0.3+AC 0.3	30	30	100	5
1/2 MS+ BA 0.5+AC 0.3	30	30	100	4
1/2 MS+ AC 0.3	30	18	60	4

由表 3 可以看出, 其配方均可以分化出不定根, 生根率最低的也有 60%。当 BA 浓度大于 0.3 mg/L 时, 生根率达到 100%。AC 对平均生根数和根的长度影响不大。由表 3 可以看出最佳生根培养基配方为 1/2 MS+BA 0.3 mg/L+AC 0.3 g/L。

3 结论与讨论

3.1 结论

研究得出紫花地丁外植体用 70%酒精处理 30 s, 0.1%HgCl<sub>2</sub> 处理 6 min 效果最佳, 污染率为 16.7%, 成活率为 83.3%。最适宜紫花地丁生长和增殖的培养基配方为 MS+BA 3 mg/L+NAA 0.1 mg/L。最适宜紫花地丁生根的培养基配方为 1/2 MS+BA 0.3 mg/L+AC 0.3 g/L, 生根率达 100%, 平均每株根的数目 5 条左右, 根健壮, 根毛比较丰富。

3.2 讨论

有研究表明, 培养基中使用细胞分裂素和细胞生长素对不定芽的诱导起着关键性的作用, BA 与 IAA 配合使用效果优于单独使用, 这与试验的研究结果相一致。还有研究表明, BA 对诱导生根的作用很大, 但在研究中加入不同浓度的 BA 虽然对紫花地丁生根影响并不明显。在增殖过程中, 9 种增殖培养基均可诱导紫花地丁产生不定根, 甚至只加 MS 的培养基中也有发根现象。原因可能由于紫花地丁本身就是一种生根能力较强的植物。在试验中发现, AC 对诱导生根也有一定的促进作用, 加入 AC 的培养基较不加的生长快, 健壮。同时 AC 还具有吸附作用, 吸附培养基中的有害物质, 但 AC 也吸附营养物质, 因此在使用 AC 时, 要注意与激素的配合使用。

参考文献

[ 1 ] 黄海帆, 李萍. 彩叶草的组织培养 [ J ]. 植物生理学通讯, 2003 39( 4): 339.  
[ 2 ] 马成亮. 紫花地丁的栽培及利用价值 [ J ]. 特种经济动植物, 2002( 2): 19.  
[ 3 ] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[ M ]. 北京: 中国林业出版社, 1991.

Study on the Tissue Culture and Rapid Propagation Technique of the *Viola yedoensis*

FU Yin-dong<sup>1</sup>, SUN Xiao-mei<sup>2</sup>, YANG Hong-guang<sup>2</sup>, WANG Ya-bin<sup>2</sup>

( 1. Landscape Department of Shenyang Arboretum, Liaoning Shenyang 110163 China; 2. Shenyang Agriculture University College of Forest, Liaoning, Shenyang 110161, China )

**Abstract:** Selecting the vigorous and healthy stem top of *Viola yedoensis* as explants carried on the industrialized rapid clonal propagation technology research. The results showed that plant hormone combination of MS+BA 3 mg/L+NAA 0.1 mg/L was the best for callus induction and growth. 1/2 MS+BA 0.3 mg/L+AC 0.3 g/L was the best for rootage, rooting rate was 100%.  
**Key word:** *Viola yedoensis*; Explant; Tissue culture