



橙花长寿花叶柄组织培养技术研究

彭承霞, 王力超, 梁国鲁, 李 柯, 夏 兰, 陆方方

(西南大学 园艺园林学院, 重庆 北碚 400715)

摘要: 以橙花长寿花叶柄作为外植体, 对其进行不定芽诱导及增殖培养研究, 结果表明: 最适宜叶柄分化的培养基为 MS+6-BA0.5mg/L+NAA2.0mg/L, 最适合芽增殖的培养基为 MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.4mg/L, 生根培养基为 1/2MS+IBA0.2mg/L, 试管苗移栽基质中成活率达 98%。

关键词: 长寿花; 叶柄; 组织培养

中图分类号: S682 **文献标识码:** B **文章编号:** 1672-450X (2008) 01-0020-03

Research on Tissue Culture and Plantlet Reproduction From Leafstalk of *Kalanchoe blossfeldiana* with Orange Flower

PENG Cheng-xia, WANG Li-chao, LI Ke, XIA Lan, LU Fang-fang

College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715

Abstract: The inducing adventitious shoots and proliferation culture of *Kalanchoe blossfeldiana* was studied by using the leafstalks as explants. The results indicated that the most appropriate media in culture leafstalks was MS+BA 0.5 mg/L + NAA 2.0 mg/L; The appropriate medium for inducing buds from explants was MS+BA 0.5 mg/L + NAA 0.4 mg/L and the most appropriate medium of 1/2MS+ IBA 0.2 mg/L for rooting. The plantlets are transplanted into nutrient matrix with 98% survival ratio.

Key words: *Kalanchoe blossfeldiana*; leaf stalk; tissue culture

长寿花 (*Kalanchoe blossfeldiana* CV. Tom Thumb) 属景天科伽蓝菜属多年生常绿多浆草本植物, 别名矮生伽蓝菜、寿星花等, 原产非洲热带马达加斯加岛^[1]。长寿花植株小巧玲珑, 株型紧凑, 叶片翠绿, 冬、春两季开花, 花色有深红、橙红、粉红、白色、黄色等, 花朵密集, 适宜盆栽和花坛栽培, 既可观叶又可观花, 是一种极具发展潜力的新品花卉^[2]。

长寿花耐旱性强, 容易栽培, 一般为扦插繁殖, 但繁殖速度慢, 不能满足市场需要。用组培方法离体繁殖, 受季节影响小, 繁殖速度快, 是一种重要育苗手段。长寿花离体繁殖多用叶片及茎尖为外植体^[3-6], 而利用叶柄再生则报道少。本研究以橙花长寿花叶柄为试材, 研究无菌体系的建立、增殖、生根及移栽技术, 以期长寿花种苗工厂化生产奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料来源

供试材料为西南大学实验苗圃的盆栽长寿花。

1.2 材料处理

从取材茎段上摘下叶片, 剪去叶片部分, 留基部

2~3cm长叶柄, 用自来水冲洗30min后置于超净工作台上, 用70%~75%的酒精灭菌30s, 再用0.1%升汞灭菌6min, 经无菌水漂洗4~5遍后备用。

1.3 试验方法

1.3.1 不定芽诱导培养基的筛选

以MS为基本培养基, 附加不同浓度的激素(表1), 蔗糖30.0g/L, 卡拉胶5.8g/L, pH5.8左右, 将已消毒灭菌的叶柄切成1cm左右的小段, 接种到诱导培养基上, 每瓶2段, 每处理接种20段, 置于(25±2)℃、光强1500~2000lx下培养。接种50d后观察不定芽发生情况。

1.3.2 继代增殖培养基的选择

切取初代培养的不菌苗接种到增殖培养基上, 每处理接种24苗, 培养30d后, 统计出芽的增殖倍数。

1.3.3 生根培养基的选择

将切下的长3~4cm的丛生芽, 接种到不同的生根培养基中, 每瓶5苗, 各接种4瓶, 20d后统计生根情况。

1.3.4 炼苗与移栽

待试管苗长到4~5cm高时, 打开瓶口炼苗2~3d后, 取苗, 用清水洗去根基部培养基, 放入800倍多



菌灵水溶液中浸泡 20min 左右, 移栽于配制好的基质中。移栽后保持较高空气湿度, 遮荫 5~7d。

2 结果与分析

2.1 不同激素培养基对长寿花叶柄初代培养的影响

试验中看到(表 1), 在不同激素的培养基上, 部分叶柄既无愈伤也无不定芽产生, 有的叶柄能直接分化不定芽, 有的仅产生愈伤组织, 诱导率也各不相同。在 NAA0.5~2.0mg/L 范围内, 芽数随浓度的升高而增加, 出愈率也随之增加, 培养基为 MS+6-BA0.5mg/L+NAA2.0mg/L 时诱导的芽数达到最多(55%), 当 NAA 浓度达到 3.0mg/L 时, 分化芽数反而减少, 愈伤率也降低; 此外还可以看到, IBA 的诱导效果明显不及同浓度的 NAA, 表明适当浓度的 NAA 有利于不定芽的产生。

2.2 不同激素组合对长寿花不定芽继代增殖培养的影响

试验结果(表 2)表明: 在 BA0.2mg/L + NAA0~0.6mg/L 范围内, 芽的增殖系数在 1.58~1.88, 变化不大; 6-BA 浓度提高到 0.5mg/L 后, 在 NAA0~0.4mg/L 时, 随着 NAA 浓度增加, 产生总芽数随之增加, 最高可到 2.42 倍; 但在 NAA 提高到 0.6mg/L 时, 增殖系数反而下降。在 BA 浓度较高的 6-BA1.0mg/L + NAA0~0.6mg/L 的培养基中, 增殖系数均未超过 1.8。在 6-BA 和 NAA 浓度达 1.0 和 0.6mg/L 的情况下, 芽苗均明显

表 2 激素组成与橙花长寿花不定芽增殖效果的关系

激素组成 (mg/L)	接种芽数 (个)	出芽数 (个)	增殖系数 (倍)
6-BA + NAA			
0.2 + 0	24	40	1.67
0.2 + 0.2	24	38	1.58
0.2 + 0.4	24	45	1.88
0.2 + 0.6	24	44	1.83
0.5 + 0	24	14	0.58
0.5 + 0.2	24	39	1.63
0.5 + 0.4	24	58	2.42
0.5 + 0.6	24	17	0.71
1.0 + 0	24	43	1.79
1.0 + 0.2	24	37	1.54
1.0 + 0.4	24	21	0.88
1.0 + 0.6	24	32	1.33

玻璃化, 影响了芽丛的增殖。本实验范围内, 丛生芽增殖的最适培养基为 MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.4mg/L。

2.3 生根培养基对长寿花再生苗生根的影响

试验结果(表 3)表明: 盐浓度减半的 1/2MS+IBA0.2mg/L 培养基为最佳生根培养基, 不仅生根率高(达 95%), 而且根粗而长, 条数较多, 小苗枝叶生长旺盛, 有利移栽成活; 在盐浓度较高的 MS 和 MS+IBA0.2mg/L 培养基中, 苗出根慢, 根的生长较差, 植株有徒长现象。

3 小结与讨论

(1) 试验结果表明: 适于长寿花叶柄分化的培养基为 MS+6-BA0.5mg/L+NAA2.0mg/L; 最适增殖培养

表 1 不同激素组合对橙花长寿花叶柄不定芽诱导的影响

激素组成 (mg/L)	接种数 (段)	出芽叶柄数 (段)	芽分化率 (%)	平均芽数 (个/段)	出愈率 (%)
6-BA 0.2 + NAA0.5	20	7	35	1.0	15
6-BA0.2 + NAA1.0	20	10	50	1.5	15
6-BA 0.5 + NAA2.0	20	11	55	2.1	25
6-BA 0.5 + NAA3.0	20	6	30	0.9	10
6-BA 0.2 + IBA0.5	20	6	30	1.9	5
6-BA 0.2 + IBA1.0	20	5	25	0.6	30
6-BA 0.5 + IBA2.0	20	2	10	0.5	20
6-BA 0.5 + IBA3.0	20	4	20	1.6	20

表 3 培养基组成对橙花瓶苗生根效果的影响

培养基组成	接种数 (苗)	生根	生根率 (%)	平均根数	苗的状态
MS		17	85	8~9	根细, 苗弱、徒长
MS+ IBA 0.2mg/L	20	19	95	6~8	根较细, 苗长势较差
1/2MS		18	90	12~15	根较粗, 苗生长较好
1/2MS+ IBA 0.2mg/L		19	95	14~17	根粗而长, 枝叶健壮



基为 MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.4mg/L; 适于生根的培养基为 1/2MS+IBA0.2mg/L。移栽成活率达 98%。

(2) 在初代培养中, 外植体的表现差异较大: 有些叶柄不能直接诱导不定芽, 而是产生愈伤组织, 甚至有些只直接产生不定根, 这除了受培养基组成影响外, 可能与外植体本身的生理状况也有关, 具体原因有待进一步探讨。

(3) 在芽的诱导培养中, 分化率最高仅 55%, 而出愈率却高达 30%, 如何提高不定芽分化率、降低出愈率需要继续研究。

参考文献:

- [1] 华金渭, 刘南洋, 吴华芬, 等. 长寿花栽培技术 [J]. 中国花卉园艺, 2005, (6): 29.
- [2] 黄海帆, 李保印, 李平. 影响长寿花离体培养及植株再生的几个因素 [J]. 中国农学通报, 2004, 20 (2): 12-14.
- [3] 张瑞姿, 郭晓霄. 长寿花叶片再生体系的研究 [J]. 山西林业科技, 2005, (1): 8-9.
- [4] 陈玉梁, 支小刚, 张艳萍, 等. 长寿花叶盘离体培养及植株高效再生研究 [J]. 中国农学通报, 2004, 20 (10): 33-35.
- [5] 冯林剑, 贾东坡, 张信栓. 不同培养条件下长寿花叶片再生体系的构建 [J]. 中国农学通报, 2006, 22 (5): 79-81.
- [6] 孙新政, 李庆伟, 梁明勤. 白花长寿花组培快繁技术研究 [J]. 中国农学通报, 2006, 22 (2): 39-42.

(上接第9页)

5级: 叶片严重皱缩或落叶 1/2 以上。

发病指数 = $\{ \sum (\text{发病级别} \times \text{各级株数}) / (\text{最高分级级别} \times \text{调查总数}) \} \times 100$

防治效果 (%) = $\{ (\text{空白区最终病情指数} - \text{处理区最终病情指数}) / \text{空白区最终病情指数} \} \times 100$

2 结果与分析

各处理最终病情差异显著性测定结果 (表 1) 表明, 常规硫磺粉防治的防效极显著地优于氟硅唑·咪鲜胺热雾剂的 3 个处理 ($P=0.01$); 热雾剂处理依参试胶树受药雾量和均匀度的降低 (每带、隔带、隔二带施烟雾) 而效果逐渐下降, 其中每带施烟雾处理的效果最好, 防效达 80% 以上, 显著优于隔带处理 ($P=0.05$) 和极显著优于隔二带处理 ($P=0.01$), 隔带处理亦极显著优于隔二带处理。

表 1 最终病情指数统计分析

处理	重复 I	重复 II	重复 III	平均	防效 (%)
每带施放烟雾	7.9	8.5	9.7	8.7	80.2dC
隔带施放烟雾	17.6	11.5	13.9	14.3	67.4cC
隔二带施放烟雾	24.2	32.1	21.2	25.8	41.2bB
喷施硫磺粉	1.2	0.6	0.6	0.8	98.2eD
CK	38.8	45.5	47.3	43.9	

3 讨论

常规硫磺粉防治技术受天气的影响大, 喷施硫磺粉后持续 2~5d 出现最高温度 $> 25^{\circ}\text{C}$ 的多云间晴天气, 才可获得良好的防治效果^[2]。本试验 2007 年 3 月 11 日喷药后的 1 周, 日平均温度 22.8°C , 日最高温度 $> 25^{\circ}\text{C}$ 的天气有 5d, 平均日照时数为 4h, 日平均云量为 7, 天气状况以多云间晴为主, 有利于硫磺粉的药效发挥, 防效达 98.2%。然而, 在河口垦区, 在橡胶树白粉病流行期间这样有利于防治的天气过程并不多见, 大多是以阴天或阴雨天气为主。因此, 在不利于喷施硫磺粉的天气条件下应用 20% 氟硅唑·咪鲜胺热雾剂防治亦可以达到较好的防治效果。本项试验结果可以看出, 在只施一次药的情况下, 20% 氟硅唑·咪鲜胺热雾剂每带施烟雾处理的防效能达 80.2%, 可在生产上进一步试验和应用。同时在病情较重时可加大烟雾剂剂量。从试验结果来看, 20% 氟硅唑·咪鲜胺热雾剂应用前景良好, 是可以取代 15% 粉锈宁烟雾剂的一种新的热雾剂类型, 其生产性应用的技术、规范和经济上的容许性等, 还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 张丽萍, 白建相, 邵志忠, 等. 河口地区橡胶白粉病防治失败原因的研究 [J]. 云南热作科技, 2002, (4): 1-7.
- [2] 谭伏美, 王树明. 云南河口地区应用硫磺粉防治橡胶白粉病技术总结 [J]. 热带农业科学, 2003, (3): 8-13.