

## 白花长寿花组培快繁技术研究

孙新政, 李庆伟, 梁明勤

(河南农业职业学院植物科学系, 河南中牟 451450)

**摘要:** 以白花长寿花的茎段为试材, 通过组织培养进行快繁研究, 结果表明, 丛生芽的增殖以 MS+BA 2.0mg/L+IBA 0.1mg/L+GA<sub>3</sub> 2.0mg/L+蔗糖 40g/L 最适; 生根培养用 MS+BA 0.1mg/L+IBA 0.4mg/L+GA<sub>3</sub> 1.5mg/L+蔗糖 40g/L 最好。试管苗移栽基质中成活率达 99%。

**关键词:** 白花长寿花; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S681; Q949.751.1 文献标识码: A

### Research on the Technology of *Kalanchoe blossfeldiana* with White Flower Tissue Culture and Rapid Reproduction

Sun Xinzheng, Li Qingwei, Liang Mingqing

(Henan Vocational College of Agriculture, Zhongmu Henan 451450)

**Abstract:** The stem of *Kalanchoe blossfeldiana* with white flower were used as explants in tissue culture to investigate the optimum for its rapid propagation. the experimental results showed of MS supplemented with 2.0mg/L BA, 0.1mg/L IBA, 2.0mg/L GA<sub>3</sub> and 40g/L sugar for proliferation of the sub-cultured buds; MS supplemented with 0.4mg/L IBA, 0.1mg/L BA, 1.5mg/L GA<sub>3</sub> for and 40g/L sugar rooting. The plantlets are transplanted into nutrient matrix with 99% survival ratio.

**Key words:** *Kalanchoe blossfeldiana*, Tissue culture, Propagation

长寿花 (*Kalanchoe blossfeldiana*) 又叫矮生伽蓝菜、寿星花、假川莲, 是景天科伽蓝菜属多年生肉质植物, 原产马达加斯加<sup>[1]</sup>。长寿花有深红、橙红、粉红、白色等花色, 花期冬、春两季, 其植株小巧玲珑, 株型紧凑, 叶片翠绿, 花朵密集, 是观叶和观花的优良花卉, 一直深得消费者喜爱。长寿花耐干旱, 栽培易, 装饰效果好, 已成为一种有发展潜力的“新品种花卉”, 前景看好。可用于水培盆栽、微型盆栽、大型盆栽、花坛布置等室内外栽培。普通的繁殖方法为茎段及叶片扦插, 而用组培方法受季节影响小, 繁殖速度快, 已成为一种重要的育苗手段<sup>[2]</sup>。长寿花的离体繁殖多用叶片作外植体, 以带芽茎段为材料的较少<sup>[3-5]</sup>, 而以叶片为外植体诱导再生植株时间长且后代变异频率高<sup>[6]</sup>。品种及外植体类型对离体器官再生成苗有很大影响, 不同基因型的植株有不同的适宜培养基, 目前国内主要是对长寿花的研究在红色长寿花品种上报道较

多<sup>[7-9]</sup>。作为特殊品种系列的白色长寿花, 受到众多追求个性消费者的青睐<sup>[9]</sup>。但对其研究的不多<sup>[10]</sup>。此项试验以白色长寿花茎段为外植体, 研究外植体的建立、增殖、生根及移栽, 以期建立简便、高效且能保持品种优良性状的离体再生体系, 为名优新品种大规模工厂化生产和快速推广奠定基础

#### 1 材料与方法

##### 1.1 材料来源

2005年4月7日上午取材, 试验材料选自于河南农业职业学院花木中心, 剪中上部枝条带回室内。

##### 1.2 外植体表面灭菌

对有腋芽的茎段, 去除叶片, 留 1/3 叶柄, 剪成 3~5cm 左右的带腋芽茎段, 自来水清洗 10min 洗去表面泥土, 用洗洁精液浸泡洗涤 2~3min, 流水冲洗 60min 后滤纸吸干水分置于超净工作台上, 用体积浓度 70%~75% 的酒精灭菌 20 苗, 倒去酒精, 再用 0.1%

基金项目: 河南农业职业学院科研专项基金“两种植物快繁技术与开发”(2005K02178)。

第一作者简介: 孙新政, 男, 1961年生, 副教授, 主要从事园艺植物栽培、生理研究与教学。E-mail: sunxinzheng@163.com。通信地址: 451450 河南中牟河南农业职业学院植物科学系。通讯作者: 李庆伟, E-mail: liqingwei2003@163.com, Tel: 0371-67290723。

收稿日期: 2005-11-09, 修回日期: 2005-11-13。

升汞(每升加3滴吐温-80)灭菌7~9min,最后用无菌水漂洗4~5遍,无菌滤纸吸干水分,用灭过菌的剪刀剪去带腋芽茎段的两端及叶柄切口与灭菌剂接触部分后,剪成有腋芽的茎段,接种到初代培养基上,芽头向上。

### 1.3 培养基

1.3.1 芽的诱导培养基 将灭菌后的有腋芽茎段接种到MS培养基上,附加体积浓度3%的蔗糖,质量浓度0.7%的琼脂,PH5.5~6.0,以专用组培瓶(上海稼丰园艺用品有限公司生产,型号是ZP5-330广口瓶)为培养容器,每瓶30ml培养基,121~123℃高压灭菌15~20min。

1.3.2 芽的增殖与生根培养基 以MS为基本培养基,采用 $L_{16}(4^4)$ 设计进行4因素4水平的正交实验(见表1),附加质量浓度0.7%的琼脂。根据设计安排16组实验,每组接种5瓶,每瓶接种3个1~2cm初代培养萌发的腋芽,重复3次。

表1  $L_{16}(4^4)$ 因子水平表

水平	BA(mg/L)	IBA(mg/L)	GA <sub>3</sub> (mg/L)	蔗糖(g)
1	0.1	0.1	0.5	20
2	0.5	0.2	1.0	30
3	1.0	0.3	1.5	40
4	2.0	0.3	2.0	50

以上培养条件为:温度为(25±1)℃,以日光灯为光源,每天连续光照10~12h,光照强度是2000~3000Lx,空气相对湿度70%~80%。

表2 不同激素含量组合对继代培养的影响

处理	BA(mg/L)	IBA(mg/L)	GA <sub>3</sub> (mg/L)	蔗糖(g)	增殖率	平均生根数		
1	1(0.1)	1(0.1)	1(0.5)	1(20)	1.3	6.5		
2	1(0.1)	2(0.2)	2(1.0)	2(30)	1.1	6.7		
3	1(0.1)	3(0.3)	3(1.5)	3(40)	1	7.2		
4	1(0.1)	4(0.4)	4(2.0)	4(50)	1	7.4		
5	2(0.5)	1(0.1)	2(1.0)	4(50)	4.2	4.3		
6	2(0.5)	2(0.2)	1(0.5)	3(40)	4.0	4.4		
7	2(0.5)	3(0.3)	4(2.0)	2(30)	3.7	4.6		
8	2(0.5)	4(0.4)	3(1.5)	1(20)	3.5	4.8		
9	3(1.0)	1(0.1)	3(1.5)	2(30)	9.5	2.1		
10	3(1.0)	2(0.2)	4(2.0)	1(20)	9.2	2.3		
11	3(1.0)	3(0.3)	1(0.5)	4(50)	8.8	2.5		
12	3(1.0)	4(0.4)	2(1.0)	3(40)	8.4	3.0		
13	4(2.0)	1(0.1)	4(2.0)	3(40)	15.4	0.6		
14	4(2.0)	2(0.2)	3(1.5)	4(50)	15.1	0.8		
15	4(2.0)	3(0.3)	2(1.0)	1(20)	14.6	0.9		
16	4(2.0)	4(0.4)	1(0.5)	2(30)	14.0	1.2		
类别	芽苗	生根	芽苗	生根	芽苗	生根	芽苗	生根
K1	1.100	6.950	7.600	3.350	7.025	3.650	7.150	3.625
K2	3.850	4.525	7.350	3.550	7.075	3.675	7.075	3.625
K3	8.975	2.400	7.025	3.800	7.275	3.751	7.200	3.751
K4	14.775	0.875	6.725	4.050	7.325	3.750	7.325	3.750
R	13.675	6.075	0.875	0.700	0.300	0.100	0.250	0.126

注:括号内的数字代表激素含量水平。K代表各处理水平上增殖系数之和或生根数之和,1、2、3、4表示浓度水平。

GA<sub>3</sub>影响最小。

低浓度BA水平对芽的增殖效果较小,仅为1.100;随着BA浓度水平的升高,芽的增殖效果也非常明显,最高可达14.775。但是,在低浓度BA水平下,随着生长素IBA浓度水平的增大,长寿花的根数

### 1.4 瓶苗移栽

在温室中,瓶苗移栽至草炭:珍珠岩:蛭石=1:1:1的混合基质中,保持较高空气湿度,基质见干见湿。

### 1.5 增殖率与平均生根数计算

增殖率=增殖芽苗数/接种外植体数,取三次重复的平均值。平均生根数=生根条数/接种外植体数。

## 2 结果与分析

### 2.1 芽的诱导过程观察

在接种后7天左右,腋芽开始出现萌动;第10天时腋芽萌发露出新梢第一对小叶;第20天左右,第一节茎段长出;30天腋芽长出的两个新梢达3~5cm(见图1)。

### 2.2 芽的增殖与生根情况

对表2直观分析可以看出,不同处理间的茎段增殖与生根差异较大,茎段平均增殖率最高的可达15.4,最低仅为1;诱导生根的最大平均生根数为7.4条,而最小平均生根数只有0.6条。说明在不同的激素水平的组合中,总有对芽的增殖和生根起重要影响因子的激素。R为极差,其值越大,表示该因素越重要,R代表处理中最大增殖系数之和与最小增殖系数之和的差。通过表2可以看出,对芽的增殖各激素的影响顺序为:BA>IBA>GA<sub>3</sub>>蔗糖;对生根影响最大的激素浓度也是BA,其次是IBA和蔗糖,

量明显增多;细胞分裂素BA从低浓度到高浓度变化过程中,每次随着浓度的递增,IBA同一浓度水平下平均生根数明显减少,说明激素对植物材料的作用是相互影响的。GA<sub>3</sub>对芽的增殖效果随其浓度的增大而效果也增大,但是对根的诱导也随其浓度的增

大而增大,但不算明显(为 0.100),这可能与其生理特性有密切关系。蔗糖总体来讲,对芽的增殖和生根诱导效果都影响不大( $R=0.250$  或  $0.126$ )。

对  $L_{16}(4^4)$  正交试验进行单因子方差分析,结果表明,BA 表现极显著,IBA 表现显著, $GA_3$  和蔗糖表现不显著。这与直观分析基本相吻合。笔者认为,最适宜的芽增殖培养基是:MS+BA2.0mg/L+ IBA 0.1mg/L+ $GA_3$  2.0mg/L+ 蔗糖 40g/L;最适宜生根培养

基是:MS+BA 0.1mg/L+IBA0.4mg/L+ $GA_3$ 1.5mg/L+ 蔗糖 40g/L。因这两种培养基配方并没有在试验中出现,笔者又对其进行了结果验证,验证结果表明:在 MS+BA2.0mg/L+IBA0.1mg/L+ $GA_3$  2.0mg/L+ 蔗糖 40g/L 中芽的增殖率为 11.386(见图 2),略低于试验最高增殖率;在 MS+BA 0.1mg/L+IBA0.4mg/L+ $GA_3$ 1.5mg/L+ 蔗糖 40g/L 中平均生根数为 6.5(见图 3),和试验最大数基本一致。

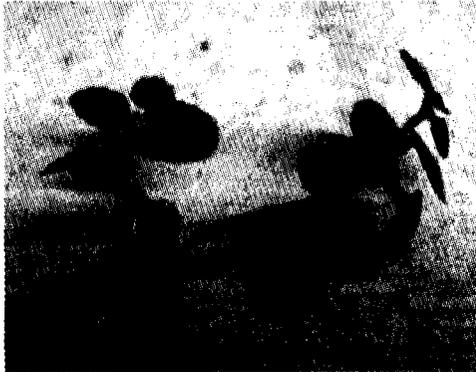


图1 初代培养30d



图3 生根苗



图2 从生芽苗生长情况

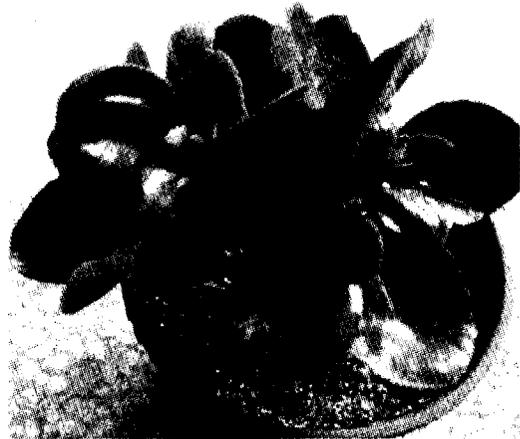


图4 栽植30d后的瓶苗

### 2.3 瓶苗移栽

长寿花瓶苗移栽须经一周左右时间炼苗。在瓶苗长之 4~5cm 高时,有 6~8 条根系,放入温室内,先打开瓶口,进行瓶内外空气互换后盖上,散射光下 3d;打开瓶口,加少许水与培养瓶中,直接开口,并逐渐增加直射光照射,至全见光,计 4~5d。炼苗结束后,取出试管苗,用清水洗去根基部培养基,放入 800 倍多菌灵水溶液中浸泡 3~5 秒后栽植于配制好的基质(草炭:珍珠岩:蛭石 =1:1:1)中,并浇透水。栽植后保持较高空气湿度,进行遮荫 5~7d,栽植成活率可达 99%(见图 4)。

### 3 讨论

(1)在长寿花的茎段组织培养过程中,使用 75% 酒精 +0.1% 升汞两种灭菌剂同时对外植体进行表面灭菌,并在 0.1% 升汞中添加 3 滴吐温—80,有效地提

高了表面灭菌效果。这对以后其他植物组织培养的表面灭菌提供了借鉴。

(2)使用茎段培养具有诱导率和生根率高、增殖速度快、易于移栽等优点。而利用叶片或其他器官进行培养在培养过程中容易发生不同程度、不同方向和不确定变异,且变异的频率较高。茎段培养可以作为离体繁殖长寿花种苗的重要途径。

(3)不同激素比对长寿花茎段的增殖和生根有明显的影响,在生长素浓度相对高时,容易诱导根系产生。细胞分裂素浓度较高时,可以产生大量从生芽苗,但以浓度低时,从生芽苗质量好。

(4)正交设计的应用,能大大减少试验次数,同时准确率也较高。此项试验是通过正交设计来筛选适宜长寿花茎段增殖和生根的最佳培养基配方,在试验中取得了事半功倍的效果。由于植物材料的初代

培养对培养基要求不甚严格,加上初代培养的灭菌接种等技术的原因,在初代培养中采用正交设计来筛选增值培养基,可能会因为污染等问题而影响试验结果。

### 参考文献

- 1 华金渭,刘南祥,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 苏慧,黄凤兰,尉红梅,等.长寿花快繁体系的建立[J].内蒙古农业科技,2005,(2):23~25
- 5 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
- 6 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,1997.91~94,123~126
- 7 林秀莲,赖钟雄,黄双龙,等.红花长寿花茎段及叶片的离体培养与快速繁殖[J].亚热带农业研究,2005,1(2):1~5
- 8 陈超,王桂兰,田立民,等.长寿花胚性愈伤组织诱导及胚状体再生[J].园艺学报,2004,31(2):249~252
- 9 颜俊.长寿花品种选择与盆花生产[J].中国花卉园艺,2005,16:12~14
- 10 李凤兰,胡国富,杜景红,等.长寿花(KalanchoeblossfeldianaCV. TomThumb)花序芽培养及植株再生[J].东北农业大学学报.2003,34(3):314~317

(责任编辑:秦守亮)