

# 长寿花离体快繁研究

陈梅, 莫饶\* (华南热带农业大学农学院, 海南儋州 571737)

**摘要** [目的]研究长寿花离体快繁的培养基配方和培养条件。[方法]以长寿花的幼嫩叶片作为外植体,以MS为基本培养基,诱导出不定芽进行快速繁殖,并比较添加4种浓度的BA和NAA对长寿花不定芽的诱导和生根效果的影响。[结果]长寿花幼嫩叶片的诱导和生长与生长素、细胞分裂素2种激素有关系,两者的配比直接影响了叶片的再生频率。长寿花叶片诱导和不定芽增殖的最适培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,最适生根培养基为1/2 MS+NAA 0.5 mg/L,不定芽在此培养基上的生根率最高,移栽成活率为95%。通过直接诱导可获得较高的不定芽诱导率,同时增殖培养的增殖系数达到10,大大缩短了常规育苗时间。[结论]该研究建立了长寿花组织培养的再生体系,为其快速繁殖及大规模的工厂化育苗提供科学依据。

**关键词** 长寿花;组织培养;快速繁殖

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)32-10336-02

## Study on in Vitro Rapid Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana*

CHEN Mei et al (College of Agronomy, South China University of Tropical Agriculture, Danzhou, Hainan 571737)

**Abstract** [Objective] The aim of the research was to study the medium formula and culture conditions for in vitro rapid propagation of *Kalanchoe blossfeldiana*. [Method] With tender leaves of *K. blossfeldiana* as explant and MS as basic medium, adventitious buds were induced for rapid propagation. And the effects of adding 4 concentrations of BA and NAA on the induction of adventitious buds and rooting effect of *K. blossfeldiana* were compared. [Result] The induction and growth of tender leaves in *K. blossfeldiana* had relations with 2 kinds of hormone including auxin and cytokinin, and the matching of auxin and cytokinin had a direct effect on the regeneration frequency of leaves. The optimum medium for the induction of leaves and the proliferation of adventitious buds was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L and the optimum rooting medium was 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L on which the adventitious buds obtained highest root rate with their transplanting surviving rate of 95%. By direct induction, higher inducement rate of adventitious buds could be obtained and propagation coefficient of propagation culture reached 10, which shortened the time of conventional seedling. [Conclusion] The research established the regeneration system of tissue culture in *K. blossfeldiana* and provided scientific basis for its rapid propagation and factory-cultivated seedling in large scale.

**Key words** *Kalanchoe blossfeldiana*; Tissue culture; Rapid propagation

长寿花(*Kalanchoe bossfeldiana* Stapf)又称矮生伽蓝菜、圣诞伽蓝菜、寿星花,为景天科多年生短日照植物,是优良的室内观赏花卉。近年来,长寿花已经成为一种有发展潜力的新品种花卉,前景看好。其普通的繁殖方法为茎段及叶片扦插,易受季节影响,而用组织培养的方法不受天气、季节的影响,且繁殖速度快,已经成为一种重要的育苗手段。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 取长寿花的幼嫩叶片作为外植体。

### 1.2 方法

**1.2.1 培养基和培养条件。**试验所用培养基配方见表1。培养基均附加蔗糖30.0%,琼脂粉6.4%,pH值5.8~6.0,121℃下高压灭菌20 min。培养温度25~28℃,光照强度1500 lx,光照周期12 h/d。

**1.2.2 外植体处理。**剪下从地里采集的完整植株带叶柄的幼嫩叶片,用洗涤剂浸泡10 min,然后用自来水冲洗20 min,晾干水分。在超净工作台上用75%(体积分数)的酒精溶液消毒30 s;取出后放入1 g/L升汞(HgCl<sub>2</sub>)溶液中消毒

15 min;然后用无菌水冲洗3~5次,无菌滤纸吸干水分。在超净工作台上,将其切成1~2 cm的小块接种于诱导培养基①~④中,每瓶接15个外植体,每个处理接种10瓶。

**1.2.3 长寿花苗的增殖培养。**将从丛生芽团切成小块,接种于②号培养基上进行继代增殖培养。

**1.2.4 生根培养。**将经增殖培养长成的无根苗切成单株,接种于⑤~⑧号培养基上进行生根培养。

**1.2.5 移栽。**经生根培养长出完整植株后,打开培养基瓶盖炼苗3 d,用自来水冲洗掉根部培养基后将其移栽至苗床,移栽后注意遮阴保湿。

## 2 结果与分析

**2.1 不同培养基对叶片再生的影响** 接种后30 d,叶片明显膨胀,厚度比原来增大2~3倍,叶片切口处产生少量结构紧密的愈伤组织。接种后50 d左右,愈伤组织处开始分化出绿色小芽;60 d后,不定芽的发生频率迅速上升,形成簇生芽,叶片再生率最高达80%(表2)。

表2 不同培养基对叶片再生的影响

培养基	接种数//个	分化数//个	再生频率//%
①	150	90	60
②	150	120	80
③	150	70	46
④	150	60	40

由表2可以看出,培养基①~④都能够诱导长寿花的叶片再生,其中添加了低浓度激素6-BA的培养基更适宜诱导长寿花叶片再生,在6-BA浓度相同的情况下,添加低浓度NAA(0.1 mg/L)其叶片再生频率为60%,而添加高浓度的NAA(0.5 mg/L)其再生频率为80%。因此,适合长寿花叶片诱导的培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L。

由叶片分化得到的不定芽继续在培养基②上进行增殖

表1 培养基配方

培养基	基本成分	附加成分//mg/L	
		6-BA	NAA
①	MS	1.0	0.1
②	MS	1.0	0.5
③	MS	2.0	0.1
④	MS	2.0	0.5
⑤	1/2 MS		
⑥	1/2 MS		0.1
⑦	1/2 MS		0.3
⑧	1/2 MS		0.5

**作者简介** 陈梅(1982-),女,广东乐昌人,硕士研究生,研究方向:细胞工程与种质创新。\* 通讯作者,E-mail: xiaotaomo@tom.com。

**收稿日期** 2007-06-19

培养,每 20 d 转瓶 1 次,其增殖速度非常快,增殖系数达到 10 以上(图 1)。

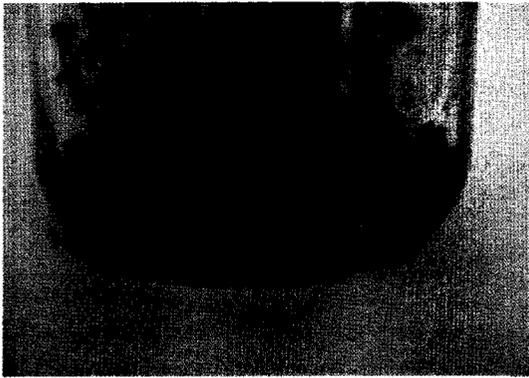


图 1 丛生芽增殖

**2.2 不同培养基对不定芽生根及移栽成活率的影响** 将壮苗培养后高 1.5~2.0 cm 的不定芽切下,转入生根培养基⑤~⑧中,结果都会生根,只是生根的数量和所需天数不尽相同。通过比较观察,培养基⑧的生根时间最短,15 d 左右即可生根(图 2),并且根数多,根系良好,移栽成活率高。因此,培养基⑧是长寿花生根的最适培养基。



图 2 长寿花生根

(上接第 10221 页)

胞膜结构和功能的损伤<sup>[5]</sup>,该研究结果表明,金银花离体叶片受到旱害后,随 PEG 浓度增加,植株伤害加重,丙二醛含量增加,膜质过氧化反应加剧。正常情况下,植物体内自由基与清除系统保持平衡,体内自由基水平较低,不会引起伤害。而逆境条件下,自由基大量产生,平衡被打破,产生伤害,由于 SOD、POD 能清除活性氧自由基,是膜结构的保护酶<sup>[6]</sup>,具有防止膜脂质过氧化,维持膜结构完整性的作用,在一定程度上保护着细胞膜系统。金银花离体叶片受到旱害后,随 PEG 浓度增加,其过氧化物酶活性升高,超氧化物歧化酶活性升高,这是植物进行自我保护的一种自然反应<sup>[6]</sup>。逆境中保护酶增强或维持较高水平,才能清除活性氧自由基并使之保持较低水平,从而防止其对生物膜结构和功能的破坏。外源激素 KT 可参与调节渗透胁迫对植物造成的伤害,KT 既是细胞内自由基产生的抑制剂,又是细胞内已形成的自由基的消除剂,可以抑制衰老过程中自由基引发膜脂质过氧化作用和膜透性增大<sup>[9]</sup>,抑制叶片的衰老<sup>[10]</sup>。该研究中,KT 能有效促进金银花离体叶片的 SOD 和 POD 活性的升高,大大延缓了由于 PEG 渗透胁迫而造成的酶活性的降

将炼苗后的小苗从培养基中取出,轻轻洗去根部培养基,注意不要伤根,并在 0.5% 的多菌灵溶液中消毒片刻,然后移栽于椰糠:河沙=1:1 的混合基质中。在移栽初期,注意遮阴、保湿,1 周后小苗成活率达 95% (图 3)。



图 3 移栽成活

### 3 小结与讨论

该试验以长寿花的幼嫩叶片为外植体,用 4 种不同浓度激素的诱导培养基和生根培养基组合进行对比试验。结果表明:长寿花幼嫩叶片的诱导和生长与生长素、细胞分裂素 2 种激素有关,两者的配比直接影响了叶片的再生频率,长寿花叶片诱导和不定芽增殖的最适培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,最适宜的生根培养基为 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L。笔者通过直接诱导出芽的方式,获得了较高的不定芽诱导率。同时增殖培养的增殖系数达到 10,大大缩短了常规育苗时间。该试验建立了长寿花组织培养的再生体系,为其快速繁殖及大规模工厂化育苗提供了科学依据。

### 参考文献

- [1] 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.
- [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.

低,表明 KT 能促进 SOD 活性增加,减轻因 PEG 渗透胁迫而造成的对细胞膜的伤害,减缓膜的脂质过氧化过程,从而恢复细胞膜的选择透性,起到保护和恢复细胞膜正常功能的作用。

### 参考文献

- [1] 杨吉华.金银花水土保持效益的研究[J].生态学杂志,1997,16(3):35-38.
- [2] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [3] 李合生,陈翠连,洪玉枝.植物生理生化实验原理和技术[M].武汉:华中农业大学出版社,1998:136-137.
- [4] 李锦树,王洪春,王文英,等.干旱对玉米叶片细胞透性及膜脂的影响[J].植物生理学报,1983,9(3):223-229.
- [5] 赵会贤.水分胁迫对小麦幼苗保护酶体系的影响及其与抗旱性的关系[J].西北农业学报,1992,1(1):28-32.
- [6] 王以芝.PEG 对不同抗旱类型大豆种子萌发的影响 [J].大豆科学,1986(1):41-46.
- [7] MCCORD J M.Superioxide dismutas:hemocuprein [J].J Biol Chem,1969,244:6049-6055.
- [8] 王宝山.生物自由基与植物膜伤害[J].植物生理学通讯,1989(2):12-16.
- [9] 莱谢母·哈勒维·A H,法伦克尔·C.植物衰老过程与调控[M].胡文玉,译.沈阳:辽宁科学技术出版社,1986:111-113.
- [10] 尹路明.多胺与激动素对稀脉浮萍离体叶状体衰老的影响[J].植物学报,1994,36(7):522-527.