

管菊,万劲,陈嘉裔. 多肉植物白牡丹 (*Graptopetalia* 'Titubans') 组培快繁技术[J]. 江苏农业科学,2017,45(14):36-38.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.14.011

# 多肉植物白牡丹 (*Graptopetalia* 'Titubans') 组培快繁技术

管菊<sup>1</sup>, 万劲<sup>2</sup>, 陈嘉裔<sup>3</sup>

(1. 西南林业大学园林学院, 云南昆明 650224; 2. 三江学院, 江苏南京 210012; 3. 昆明绿岛园艺有限公司, 云南昆明 650224)

**摘要:**以白牡丹叶片及幼嫩茎段为外植体, 建立无菌快繁体系, 在此基础上筛选适合白牡丹组培快繁不同生长阶段的最适培养基。结果表明:最适宜的外植体材料为叶片, 灭菌方法为 75% 乙醇处理 15 s、0.1% HgCl<sub>2</sub> 处理 12 min; 最佳的丛生芽诱导培养基为 MS + 2 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA, 芽诱导量可达 10.8 个/张; 最适增殖培养基为 MS + 0.2 mg/L NAA + 2 mg/L 6-BA + 1 mg/L KT, 增殖倍数可达 11.57; 使用切根苗于干燥基质上进行生根炼苗可取得较好效果, 炼苗成活率可达 95%。

**关键词:**多肉植物; 白牡丹; 组织培养

**中图分类号:** S682.330.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)14-0036-03

白牡丹 (*Graptopetalia* 'Titubans') 由景天科石莲花属多肉植物静夜 (*Echeveria derenbergii*) 与风车草属胧月 (*Graptopetalum paraguayense*) 杂交培育而来, 是目前较为流行的多肉园艺品种之一。白牡丹茎叶肉质化, 全株被白粉, 互生叶排列成莲座形, 如牡丹花绽放, 具有很高的观赏价值<sup>[1]</sup>。白牡丹繁殖方式目前仅局限于扦插以及分株繁殖, 白牡丹规模繁殖一直存在技术瓶颈。因此, 对于白牡丹组培快繁技术进行研究具有一定意义, 本研究将为白牡丹组培扩繁提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为西南林业大学大棚内种植的多肉植物白牡丹。选取的外植体分别为白牡丹植株的叶片、茎段。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 培养条件** 本试验采用 MS 为基本培养基, 附加 0.4% 1 500 g/cm<sup>2</sup> 强度卡拉胶、30 g/L 蔗糖, pH 值调节至 5.8~6.0, 121 ℃ 高压灭菌锅中灭菌 15 min 备用。选用日本

三洋 MLR-351H 型培养箱进行组织培养, 光照度设定为 3 000 lx, 设定每天的光照时间为 18 h, 培养温度为 25 ℃。

**1.2.2 材料与消毒** 选取长势良好的植株茎段与叶片为供试材料。叶片要求为从基部与茎段分离的完整叶片, 叶片饱满挺拔、表面无伤痕; 茎段要求为当年生幼嫩茎段, 表面无伤痕、无虫害。剪取材料后, 将材料首先置于洗衣粉中浸泡约 10 min, 在浸泡过程中, 用软毛刷轻轻刷洗, 将材料表面残留的污物清除; 之后再材料置于流水中冲洗, 冲洗约 3 h, 冲洗完成后, 将材料置于超净台内, 用 75% 乙醇快速浸泡 15 s; 取出后立即置于无菌水中清洗, 再用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒, 设置 4、8、12、16 min 4 个时间梯度的消毒处理, 之后用无菌水清洗 5~6 次, 总清洗时间不少于 15 min; 将清洗后的材料置于灭菌滤纸上吸去多余水分, 接种入 MS 空白培养基中, 每瓶接种 1 株, 每个处理 20 瓶, 3 次重复。3 d 后开始记录污染率、污染类型、死亡率, 之后每天记录 1 次, 15 d 后结束记录。

**1.2.3 诱导培养** 以 MS 为基本培养基, 分别附加不同含量的 NAA、6-BA (表 1), 使用之前试验中所得的最适外植体材料以及最适消毒方法, 将外植体接种于分别附加不同激素含量的培养基中, 每种处理接 20 瓶, 每瓶接种 1 株, 重复 3 次, 30 d 后统计诱导情况。

**1.2.4 增殖培养** 根据初代培养中白牡丹无菌苗诱导培养的长势情况, 确定白牡丹无菌苗的增殖培养方式。将初代培养中诱导得到的白牡丹丛生芽或愈伤组织接种于以 MS 为基

收稿日期: 2016-12-19

基金项目: 西南林业大学科技创新项目 (编号: C16051)。

作者简介: 管菊 (1991—), 女, 云南宣威人, 硕士研究生, 从事观赏植物繁殖与栽培研究。E-mail: 710029000@qq.com。

通信作者: 陈嘉裔, 硕士, 从事观赏植物育种与繁殖研究。E-mail: wansju@foxmail.com。

片愈伤组织形成的影响, 其中 2,4-D 对愈伤组织诱导有着关键性作用, 以 2.0 mg/L 2,4-D 再附加 0.5 mg/L 6-BA、0.5 mg/L NAA 的激素组合诱导效果最好; 1.0 mg/L NAA 促进试管苗生根的效果最好。

## 参考文献:

- [1] 林丽仙, 谢志南, 苏明华, 等. 虎尾兰吸收甲醛及其保护酶活性的初步研究[J]. 福建农业学报, 2009, 24(3): 258-261.
- [2] 李泽鸿, 张璐, 刘文涛, 等. 虎皮兰中 4 种重金属元素的含量测定[J]. 北方园艺, 2010(1): 153-154.

- [3] 林越平, 王凤兰, 黄子锋. 金边虎尾兰的栽培管理技术[J]. 农业与技术, 2008, 28(3): 89-90.
- [4] 周宇, 闫国华, 张开春, 等. 虎尾兰叶片切段扦插育苗技术[J]. 中国花卉园艺 (技术版), 2006(4): 25.
- [5] 刘建雄, 李涛涛. 虎尾兰外植体的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1987, 54(4): 54.
- [6] 黄凤兰, 李静, 张茜, 等. 虎尾兰的组织培养技术研究[J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(1): 131-136.
- [7] 谢怡青, 温清英. 金边虎尾兰的组织培养和快速繁殖[J]. 农业科技通讯, 2007(6): 56.

表 1 白牡丹无菌苗诱导培养的试验方案

处理	因素	
	A:6-BA 含量(mg/L)	B:NAA 含量(mg/L)
1	1	0.1
2	1	0.2
3	1	0.3
4	2	0.1
5	2	0.2
6	2	0.3
7	3	0.1
8	3	0.2
9	3	0.3

本培养基,分别附加不同含量 NAA、6-BA、KT 的培养基中,进行增殖培养,采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计(表 2、表 3),每种处理接 20 瓶,每瓶接种 3 株,重复 3 次,30 d 后统计增殖情况。

表 2 增殖培养  $L_9(3^4)$  因素与水平

水平	因素		
	A:NAA 含量(mg/L)	B:6-BA 含量(mg/L)	C:KT 含量(mg/L)
1	0	0	0
2	0.1	1	1
3	0.2	2	2

表 3  $L_9(3^4)$  正交设计试验方案

试验号	试验水平			试验方案		
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	NAA 含量(mg/L)	6-BA 含量(mg/L)	KT 含量(mg/L)
1	1	1	1	0	0	0
2	1	2	2	0	1	1
3	1	3	3	0	2	2
4	2	1	2	0.1	0	1
5	2	2	3	0.1	1	2
6	2	3	1	0.1	2	0
7	3	1	3	0.2	0	2
8	3	2	1	0.2	1	0
9	3	3	2	0.2	2	1

1.2.5 生根培养与炼苗移栽 采用 1/2MS 培养基进行生根培养,当植株长至 4~5 cm 时进行炼苗移栽。炼苗基质采用椰糠+珍珠岩以 1:1 体积比例混配,121 ℃ 高压蒸汽灭菌对基质进行消毒。由于景天科植物生根较为容易,故分别选取未经生根培养、经过生根培养且根长为 4~5 cm 的 2 种材料进行炼苗培养。先将瓶口打开,逐渐与外界环境接触,提高种苗的适应能力,5 d 后将小苗取出,在自来水下用镊子、软毛刷等洗净附着在根部的培养基,种于含水量不同的基质中(表 4),每个处理接种 20 株苗,3 次重复,保持空气湿度在 70% 以上,30 d 后统计成活率及根系情况。

表 4 白牡丹无菌苗炼苗培养方案

处理	材料状态	基质状态
1	切根苗	保持湿润
2	未切根苗	保持湿润
3	切根苗	保持干燥
4	未切根苗	保持干燥

2 结果与分析

2.1 不同植物器官及不同  $HgCl_2$  消毒时间对外植体成活率的影响

表 5 显示,随着  $HgCl_2$  消毒时间的增加,污染率大幅度降低,这说明使用  $HgCl_2$  处理对材料表面所携带的污染物具有较好的灭杀效果;但是随着  $HgCl_2$  处理时间的延长,植物成活率明显降低,说明过长时间的  $HgCl_2$  接触会对白牡丹外植体造成较大伤害。

表 5 不同植物器官及不同  $HgCl_2$  消毒时间对外植体的影响

外植体	$HgCl_2$ 消毒时间(min)	3 d 污染率(%)	15 d 污染率(%)	15 d 成活率(%)
茎段	4	100.00	100.00	0
叶片	4	95.00	100.00	0
茎段	8	41.67	71.67	3.33
叶片	8	28.33	36.67	23.33
茎段	12	31.67	63.33	18.33
叶片	12	8.33	18.33	40.00
茎段	16	0	11.67	13.33
叶片	16	0	3.33	8.33

不同植物器官用  $HgCl_2$  处理的效果也是不同的,使用茎段作为外植体时,大部分处理成活率要低于以叶片为外植体的处理组,这说明相比茎段,叶片更适宜作为外植体。同时,使用茎段作外植体时,3 d 后的污染率仍然在不断上升,与 15 d 时相比,各处理的污染率上升幅度均大于以叶片为外植体的处理组,这一现象可能与茎段上存在灭菌死角、自身所带的内生菌较多有关,也进一步说明了相比茎段,叶片更适宜作为外植体。

综合白牡丹生长特性,由于白牡丹自身生长速度缓慢,难以取得如花茎这类内生菌相对较少的外植体材料,故较适的外植体材料为叶片,最佳消毒处理方法为采用 75% 乙醇处理 15 s、0.1%  $HgCl_2$  处理 12 min。

2.2 不同培养基下无菌苗的诱导培养

表 6 显示:使用白牡丹叶片为外植体,在合适培养基配方下叶片即可以直接诱导出大量丛生芽。在试验中发现,NAA 与 6-BA 含量比值与丛生芽的发生有密切关联,6-BA 含量范围为 1~3 mg/L 时,当 6-BA/NAA 值 <10,则大部分叶片开始只生根不长芽,最终叶片死亡;当 6-BA/NAA >10 时,大部分叶片逐渐开始发生膨大,最终形成水渍状的愈伤组织;6-BA/NAA 值 =10 时,丛生芽诱导效果最好。当 6-BA 含量为 2 mg/L、NAA 含量为 0.2 mg/L 时,白牡丹丛生芽诱导效果最好,在灭菌接种约 8 d 时,叶片首先出现一定膨大,部分区域发生开裂,可见内部嫩绿色膨大组织;之后 15 d 左右时,在近基部的叶片区域以及叶片开裂的区域内,萌发出大量丛生芽,丛生芽平均萌发量达 10.8 芽/张,诱导效果良好。

2.3 不同培养基下无菌苗的增殖培养

由表 7 可见,第 3 组处理 2 mg/L 6-BA + 2 mg/L KT 的增殖倍数最高,但增殖长势最差,出现了严重的玻璃化现象,导致之后无法正常继代生长,故此配方不具备可行性;而在第 1 组不添加激素的培养基中,丛生芽长势最好,说明此培养基适合作为白牡丹的壮苗培养基使用,在出现丛生芽长势变差、

表 6 30 d 时不同培养基下丛生芽诱导情况

处理	6-BA 含量 (mg/L)	NAA 含量 (mg/L)	丛生芽诱导量 (芽/张)
1	1	0.1	0.8
2	1	0.2	0
3	1	0.3	0
4	2	0.1	2.5
5	2	0.2	10.8
6	2	0.3	8.7
7	3	0.1	0
8	3	0.2	5.7
9	3	0.3	9.3

表 7 30 d 时不同激素组合下丛生芽增殖情况

试验号	NAA 含量 (mg/L)	6-BA 含量 (mg/L)	KT 含量 (mg/L)	增殖倍数	增殖长势
1	0	0	0	1.50	+++++
2	0	1	1	10.52	++
3	0	2	2	14.48	+
4	0.1	0	1	7.21	+++
5	0.1	1	2	10.32	++
6	0.1	2	0	6.85	+++
7	0.2	0	2	7.15	++
8	0.2	1	0	4.87	+++++
9	0.2	2	1	11.57	+++

注:“+”表示长势情况,“+”越少表示越趋向于玻璃化,“+”越多表示丛生芽越壮。

需要壮苗生根时,可选用此配方。综合各组增殖倍数以及长势来看,第 9 组 0.2 mg/L NAA + 2 mg/L 6-BA + 1 mg/L KT 为最佳增殖培养基处理,在此激素组合下丛生芽有较高的增殖倍数,在长势上也较为良好,利于转接继代。

由表 8 可以看出,KT、6-BA 在 0.05 水平下影响显著,说明这 2 种激素在丛生芽增殖时与增殖倍数有着较大相关性,而 KT 影响度相较于 6-BA 更大,说明 KT 对于白牡丹丛生芽的增殖倍数较 6-BA 更为敏感。NAA 对丛生芽增殖倍数影响较小,结合丛生芽增殖长势,NAA 含量可能与维持丛生芽正常形态有关,通过配合 NAA 的添加,使得丛生芽在高速增殖的同时仍然保持一定的正常长势,避免出现玻璃化现象。

表 8 不同激素组合对增殖倍数的方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
NAA	1.510	2	0.755	0.877	0.533
6-BA	48.787	2	24.393	28.351	0.034
KT	68.489	2	34.245	39.800	0.025
误差	1.721	2	0.860		

2.4 炼苗移栽

白牡丹的炼苗与常规组培苗炼苗区别较大。首先,组培苗所产生的根系在炼苗过程中难以存活,这表明在白牡丹快繁过程中不宜进行瓶内生根。此外,在白牡丹的炼苗过程中进行保湿处理并不利于其生长,而相对干燥的环境更加利于白牡丹新根的萌发及存活。组培苗切根后移栽于保持湿润的介质中,大部分植株在 8 d 左右时切口处即发生溃烂,导致植株死亡。由表 9 可见,带根的组培苗在保持湿润的介质中始终无明显变化,30 d 内未见新根形成,且有部分组培苗出现溃烂死亡。带

根的组培苗移栽于干燥介质中,虽然根系很快出现死亡,植株出现了萎焉现象,但大部分植株在 25 d 左右后即出现了新根并存活下来,只有少部分植株死亡。将组培苗切根后移栽入保持干燥的介质中,相比以上几组植株成活情况好,植株移栽后在 12 d 时即见新根产生,炼苗成活率可达 95%。

表 9 白牡丹无菌苗炼苗 30 d 后的生长情况

处理	材料状态	基质状态	成活率 (%)	新根出现时间 (d)
1	切根苗	保持湿润	6.67	—
2	带根苗	保持湿润	73.33	—
3	切根苗	保持干燥	95.00	12
4	带根苗	保持干燥	81.67	25

3 结论与讨论

不同多肉植物,根据自身特性的不同,可以用不同的诱导方式以及增殖手法来进行组培扩繁。在实际操作中,需要视无菌苗生长情况进行科学选择,如大和锦、玉露、十二卷、寿等这些多肉,首先需要通过诱导形成绿色球状小体或愈伤组织,再来诱导产生丛生芽<sup>[2]</sup>。本试验中的白牡丹,在对叶片进行诱导时直接就可以诱导出丛生芽,通过对丛生芽的增殖培养,即可获得高效增殖扩繁体系,若对其进行愈伤诱导培养反而影响了其增殖进程,没有太大意义。

在增殖培养中,经过方差分析发现,白牡丹丛生芽增殖倍数与 KT、6-BA 显著相关,而 NAA 虽然与增殖倍数无显著相关,但与丛生芽形态关联密切,丛生芽在 NAA 与 KT、6-BA 组合下达到最优繁殖水平,这与宋晓涛等的研究结论<sup>[3-4]</sup>基本一致,但夏时云等在对龟甲龙的增殖培养中,使用 NAA 与 KT 的组合配方也取得良好繁殖<sup>[5]</sup>。同时,本研究中 KT 与增殖倍数的相关性较 6-BA 高,这说明有可能仅使用 KT 的效果也会较好,这还有待进行验证。

在对多肉植物的炼苗过程中,常规的保湿条件并不利于多肉的炼苗与移栽。在相对干燥的情况下,白牡丹植株不但没有出现萎焉枯死的现象,反而有利于新根的萌发,这与多肉植物平时的养护种植有一定类似<sup>[6]</sup>,在常规繁殖中,也是相对干燥的环境更有利于根系产生及植株生长,这可能是由多肉植物原本的生境以及自身的一些特性所决定的,具体是哪些因素造成的,也有待进一步研究。

参考文献:

[1] 丁一凡,刘宇,刘娅妮,等. 银川地区景天科多肉花卉新品种形态特征与栽培管理初报[J]. 农业科学研究,2015,36(2):86-90.

[2] 孙涛,金蕊,李德森. 康平寿的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2003,39(3):232-232.

[3] 宋晓涛,沈萌,左志宇,等. 十二卷属植物西山寿的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2007,43(5):883-884.

[4] 张昊鹏,宋晓涛,张耀,等. 白银寿的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2008,44(5):951-952.

[5] 夏时云,孙涛,李德森. 龟甲龙的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2004,40(5):589-589.

[6] 胡海波,郝永丽,高博,等. 多肉植物繁殖特性概述[J]. 农业工程技术,2016,36(1):64-67.