

文章编号: 1001-9499 (2006) 04-0057-03

小蔓长春花离体快繁技术

王春霞¹ 孙朝晖² 曾春风² 温秀军²

(1. 河北政法职业学院, 石家庄 050061; 2. 河北省林业科学研究院, 石家庄 050061)

摘要: 以小蔓长春花嫩枝的茎段和茎尖为外植体, 经90天的增殖培养试验表明, 最适宜的增殖培养基为 MS+6-BA 0.8~1.2 mg·L⁻¹+IBA 0.2~0.4 mg·L⁻¹, 诱导生根的最佳培养基为 1/2MS+IBA 0.1~0.5 mg·L⁻¹, 生根率为 96.3%~100%。瓶外生根试验结果表明, 用 1000~1200 mg·L⁻¹ IBA 蘸根, 生根率达 81%。

关键词: 小蔓长春花; 离体快繁; 增殖和生长; 生根诱导; 瓶外生根

中图分类号: S685.99

文献标识码: A

小蔓长春花 (*Vinca minor*) 属夹竹桃科常绿藤本植物, 原产于欧洲温带地区、印度、热带美洲。我国曾于 20 世纪 70 年代从欧洲引入, 栽植于西北地区, 生长良好^[1]。河北省林业科学研究院 2001 年从捷克引进小蔓长春花的耐寒品种, 经过 2 年的露地栽培, 表现出了较好的抗寒性。该植物为常绿蔓生亚灌木, 春季开花, 花紫罗兰色, 花期较长, 喜在半荫环境下生长, 既可用于城市园林地被, 也可用于室内盆栽观赏。该植物的叶片和嫩茎含有的长春胺是治疗心脑血管疾病的有效药物之一^[2], 因此又是很好的药用植物。为加快繁殖抗寒型小蔓长春花苗木, 开展了组培离体快繁技术研究。

1 材料与方法

1.1 试验方法

1.1.1 无菌繁殖系的建立

春季在河北省林业科学研究院森保所引种试验地采集新生小蔓长春花嫩枝为外植体, 剪去叶片, 放入容器中, 自来水下冲洗 30 min, 置于超净工作台上。用 70% 酒精表面消毒 10 s, 无菌水漂洗 2 次, 再用 0.1% 的升汞消毒 40~60 s, 无菌水冲洗 6~8 次。剪取 1~2 cm 带腋芽的茎段和茎尖接入启动培养基 1/3 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+IBA 0.1 中, 5~10 天腋芽萌发, 当芽生长至 3 cm 以上时, 切割下来接入增殖培养基中。

1.1.2 增殖培养

在增殖培养基 MS+6-BA 1.0+IBA 0.2 中培养数代后, 获得一定数量的不定芽。为筛选最佳增殖培养基, 选择继代次数相同、高度约 3 cm、带生长点的单株试管苗, 接入以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA、IBA 和 TDZ 组合培养基中, 每瓶 10 株。培养、观察、记录 2 代 (约 45 天 1 代), 调查统计 30 天、60 天及 90 天时的增殖数量。

1.1.3 生根培养

瓶内生根试验: 试管苗增殖到一定数量后, 选择高度基本一致的单株不定芽接入 1/2 MS 附加不同浓度的 IBA 培养基中诱导生根, 每个处理 3 瓶, 每瓶接种不定芽 12 株, 重复 3 次。40 天后对每个处理的生根率、根数、根长等进行调查, 筛选最佳生根培养基。

瓶外生根试验: 将增殖后未经生根诱导的试管苗直接移入温室, 瓶中自然光下炼苗 3 天后取出, 剪取高 7 cm 左右的芽苗, 蘸取不同浓度的 IBA 滑石粉浆扦插在蛭石基质中, 以空白处理 (即试管苗直接插入蛭石中) 为对照, 每个处理 30 株, 重复 3 次, 用塑料薄膜搭拱棚覆盖保湿, 7 天后逐渐揭棚。30 天后调查生根情况。温室平均温度 16℃, 相对湿度 40%~75%。

1.2 培养条件

以上培养基均加入 5g·L⁻¹ 琼脂, pH5.8~6.0, 增殖培养基加入 3% 蔗糖, 生根培养基加入 2% 蔗糖。培养室温度 15~25℃, 湿度 40%~

70%，光周期 $10\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ ，光照强度 $1\ 000\text{ lx}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对试管苗增殖培养的影响

单株试管苗培养 20 天后，就有一部分苗生长高度达到 10 cm 以上，随时将这些芽截成约 3 cm 高的芽段，接入相同激素组合的新培养基中。原瓶中基部的芽仍继续培养，但因将顶芽截掉，基部叶腋处的隐芽便可萌发生长，至 $40\sim 45$ 天时更换培养基，同时将较高的芽继续截段增殖。调查培养 30 天、60 天和 90 天时的增殖芽数，其统计结果（表 1）表明，30 天时，表现最好的是 5 号

培养基 $\text{MS} + 6 - \text{BA}1.2 + \text{IBA}0.2$ ，增殖系数为 4.3；60 天时，5 号培养基仍表现最佳，增殖系数为 8.0；培养至 90 天时，优势不再明显，2 号、4 号和 7 号培养基的增殖系数已接近或超过 5 号，均达 12 以上。1 号培养基与 7 号、8 号、9 号培养基比较，加入 $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TDZ 有利于芽的增殖，但浓度不宜过高，高于 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 便对生长起抑制作用。3 号和 6 号培养基的激素组合也可以获得一定的增殖率，但随着培养时间的延长，增殖率增长缓慢。综合上述试验结果，培养小蔓长春花试管苗的最佳增殖培养基是 $\text{MS} + 6 - \text{BA}\ 0.8\sim 1.2 + \text{IBA}0.2\sim 0.4$ 。

表 1 不同激素组合对芽苗增殖的影响

培养基号	激素组合 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			接种芽数(个)	30d		60d		90d	
	6-BA	IBA	TDZ		增殖总芽数(个)	增殖系数	增殖总芽数(个)	增殖系数	增殖总芽数(个)	增殖系数
1	1.0	0.2	0.0	30	79	2.6	120	4.0	297	9.9
2	1.0	0.4	0.0	40	136	3.4	208	5.2	483	12.1
3	1.0	0.6	0.0	30	81	2.7	117	3.9	233	7.8
4	0.8	0.2	0.0	30	90	3.0	180	6.0	413	13.8
5	1.2	0.2	0.0	50	216	4.3	400	8.0	630	12.6
6	1.5	0.5	0.0	40	108	2.7	164	4.1	272	6.8
7	1.0	0.2	0.01	40	114	2.9	241	6.0	531	13.3
8	1.0	0.2	0.05	100	175	1.8	333	3.3	718	7.2
9	1.0	0.2	0.1	50	85	1.7	179	3.6	350	7.0

2.2 生根培养

2.2.1 不同浓度 IBA 对试管苗瓶内生根的影响

瓶内生根培养 7 天时即可见不定根从苗的基部产生。IBA 浓度高于 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，芽基部则先膨大形成白色的愈伤组织，根从愈伤组织中发出，IBA 浓度越高，愈伤越严重。40 天时统计生根率、根数、根长的结果（表 2）表明，附加 IBA 0.1 、 0.3 、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，生根率均能达到 96% 以上，三者差异不显著；当浓度升到 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，生根率显著降低。平均根数在 IBA 为 $0.1\sim 0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内是递增趋势，以 $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最高，平均每株产生 4.0 条根，显著高于其他处理。单根长则是随着 IBA 浓度的增高而降低，以 IBA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最长，平均达 2.31 cm 。综合分析，诱导小蔓长春花试管苗生根的最佳培养基为 $1/2\text{ MS} + \text{IBA}\ 0.1\sim 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 2 不同浓度 IBA 对试管苗瓶内生根的影响

IBA 浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	接种芽数(个)	生根数(个)	生根率(%)	平均根数(条)	平均根长(cm)
0.1	108	104	96.3abAB	2.1cC	2.31aA
0.3	108	106	98.1abAB	2.8bBC	1.88bA
0.5	108	108	100.0aA	3.3bAB	0.96cB
0.8	108	100	92.6bcAB	4.0aA	0.84cB
1.0	108	90	83.3cB	2.7bBC	0.79cB

* 用邓肯氏法测定差异显著性（小写字母为 0.05 水平，大写字母为 0.01 水平），字母相同者表示差异不显著（下同）

2.2.2 不同浓度 IBA 对试管苗瓶外生根的影响

瓶外生根培养 30 天后的调查结果（表 3）表明， $1\ 000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $1\ 200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA 对小蔓长春花的生根效果最好，生根率达到了 81%，极显著优于其他几个处理，浓度升高或降低生根率都有所下降，单株平均生根数极显著高于对照，与其他处理没有差异。在平均根长上用 IBA 的处理不如对照。

综合评价,用 IBA1 000~1 200 mg·L⁻¹处理小蔓长春花试管苗,可促进其生根,且根系发达,生根率提高。

表3 不同浓度 IBA 对试管苗瓶外生根的影响

浓度 (mg·L ⁻¹)	试验株 数(株)	生根株 数(株)	生根 率(%)	平均根 数(条)	平均根 长(cm)
500	90	53	59bB	2.75abAB	2.10bcB
1000	90	73	81aA	3.09 aAB	2.50bB
1200	90	73	81aA	3.72 a A	2.07cB
1500	90	37	41cC	2.75 abAB	2.22bcB
2000	90	36	40cC	1.78bc BC	2.13bcB
0 (CK)	90	25	28dD	1.32cC	3.12aA

2.3 炼苗及移栽

将瓶内生根的试管苗移出培养室,于自然温室中炼苗3天后,洗净培养基,栽入蛭石基质中,覆盖塑料薄膜保湿,7天以后逐渐揭开薄膜,30天时成活率为92%,移栽至装有营养土的营养钵中继续炼苗30天后,植入大田。瓶外生根苗在蛭石中生长30天后,栽入营养钵中,炼苗30天植入大田,可比瓶内生根苗提前30天出苗。

3 结论与讨论

3.1 小蔓长春花离体培养适宜的外植体为幼嫩的茎段和茎尖,经消毒后,接入1/3 MS+6-BA1.0+IBA0.1培养基中可成功诱导腋芽萌发。将芽苗接入MS+6-BA0.8~1.2+IBA0.2~0.4培养基中可获得最佳的增殖培养。加入TDZ对芽苗的增殖作用不大,且不经济。生根诱导培养基以1/2MS+IBA0.1~0.5最佳,生根率可达96.3%~100%。小蔓长春花的瓶外生根可选择IBA1 000~1 200mg·L⁻¹蘸根,生根率可达81%,且根系发达。

3.2 增殖培养的预备试验中发现,细胞分裂素6

-BA为1.0 mg·L⁻¹左右,TDZ在0.01 mg·L⁻¹时,顶芽伸长很快,可截断进行增殖,当6-BA浓度提高到2.0 mg·L⁻¹、TDZ在0.2 mg·L⁻¹时苗基部便产生大量的愈伤组织,愈伤组织上可产生不定芽,但不定芽细弱、叶片小、叶色浅、高生长差,因此不可采用。将6-BA保持在1.0 mg·L⁻¹左右时,较短的时间内便可获得大量高质量的小蔓长春花组培苗。

3.3 试管苗瓶外生根是近年来人们探索组培快繁的一项成功的技术,它可以缩短工厂化育苗时间,降低生产成本。但对于不同品种来说,所需要的技术并不相同,如有的品种直接扦插于基质中就能得到很高的生根率,而小蔓长春花试管苗不用激素处理,则生根率很低,因此探讨了用IBA进行蘸根处理提高生根率的方法。瓶外生根试验表明,小蔓长春花是比较适合瓶外生根的品种。因为小蔓长春花试管苗的木质化程度较高,茎段比较粗壮,高生长能力强,很容易获得既高又粗壮的无根苗,瓶外生根率也较高。

参 考 文 献

- [1] 张宗勤,杨金祥.小蔓长春花的生物学特性及种苗繁殖[J].西北植物学报,1995,15(4):314~317
 - [2] 陈齐.小蔓长春花组织培养的研究[J].中国医科大学学报,1995,26(2):72~74
 - [3] 曾炳山,刘英,许煌灿等.长嘴黄藤离体快繁研究[J].福建林学院学报,2002,22(2):169~171
 - [4] 高遐虹,李梅,朱燕虹.满天星试管苗瓶外生根试验[J].北京农学院学报,1996,11(2):38~41
 - [5] 董玲,陈静娴,聂凡.组培满天星最佳生根途径试验报告[J].安徽农业科学,1997,25(3):272~274
- 第1作者简介:王春霞(1962-),女,副教授,1983年毕业于东北林业大学,主要从事园林方面的教学和科研工作。

收稿日期:2006-04-18

Study on in Vitro Propagation Techniques of *Vinca minor*

WANG Chunxia

(Hebei Professional College of Political Science and Law, Shijiazhuang 050061)

Abstract Tissue culture was made with the stem-segments and shoot tips of *Vinca minor* as explants. By the multiplication culture of 90 days, the result showed that the optimum medium was MS + 6-BA 0.8~1.2 mg·L⁻¹ + IBA 0.2~0.4 mg·L⁻¹. The best rooting medium was 1/2 MS + IBA 0.1~0.5 mg·L⁻¹. The rooting rate was 96.3%~100%. The rooting rate of *Vinca minor* tissue cultured shoots by treating with 1 000~1 200 mg·L⁻¹ IBA ex vitro was 81%.

Key words *Vinca minor*; In vitro propagation; Multiplication and growth; Rooting of in vitro and ex vitro