

金边扶芳藤微体快繁技术研究

吴祥春¹ 李青² 赵兰勇³ 丁世民⁴ 程建宏¹ 姚宏伟¹

(1. 山东省潍坊市园林管理局, 山东 潍坊 261041; 2. 北京林业大学, 北京 100083;

3. 山东农业大学, 山东 泰安 271018; 4. 山东潍坊职业学院, 山东 潍坊 261041)

摘要: 金边扶芳藤是近几年从欧洲引入的一种新型彩叶地被植物, 在园林绿化中用途广泛。本研究选取一年生金边扶芳藤当年萌发的新枝作为试验材料, 研究了不同取材部位、不同灭菌时间、不同浓度6-BA和NAA组合、不同培养温度对金边扶芳藤离体快繁的影响, 以及不同IBA和NAA浓度对试管苗生根的影响, 不同驯化和移栽条件对成活率的影响。结果表明: 外植体用带腋芽茎段效果较好; 灭菌时间8min效果最好。6-BA/IBA (0.1/0.02) 组合为最佳继代培养基。26~28℃的培养温度诱导效果最好, 平均增殖系数为6.40。1/2 MS+IBA (0.2) 与1/2 MS+NAA (0.2) 均为较理想的培养基组合。试管苗较为理想的驯化条件为光强3200Lx, 相对湿度90%~100%, 基质为蛭石。试管苗的生根条数, 驯化栽植方式对驯化成活率影响不大。

关键词: 金边扶芳藤; 组织培养; 快速繁殖; 炼苗; 移栽; 应用

金边扶芳藤 (*Euonymus fortunei* 'Emerald's Gold'), 是近几年从欧洲引入的一种新型彩叶地被植物, 其具有生长健壮、匍匐低矮、株型紧凑、叶色稳定、色彩艳丽、附着性强、季相变化明显以及耐修剪、耐寒、耐旱、耐碱、抗病、抗有害气体、吸滞粉尘能力强等特点, 可以用作花境色块、林缘地被、草坪点缀、垂直绿化、斜面护坡、防风固尘、花篱花境以及盆花盆景等, 在园林绿化中用途广泛, 是一种极具开发前途的优良地被植物。

由于该植物属珍稀种类, 数量较少, 传统繁殖方法如播种, 因其不能产生种子而无法进行; 采用扦插繁殖, 因速度太慢无法满足市场的巨大需求。而利用离体快繁方法进行工厂化繁育种苗不仅能大大提高繁殖系数, 还可以建立离体无性种质资源库, 节约种苗囤存土地。国内对金边扶芳藤组培快繁工厂化育苗技术及应用研究鲜见报道。本文研究了以MS为基本培养基, 通过设置系列细胞分裂素与生长素的浓度、不同的培养条件等试验, 筛选出诱导产生丛生芽及健壮根系的培养基配方, 通过不同的驯化炼苗及移栽条件设置试验, 探索出金边扶芳藤试管苗的炼苗及移栽的最佳模式, 形成产业化开发, 实现该类优质种苗生产的标准化、规模化、产业化, 满足市场需求。

1 材料和方法

1.1 材料

2003年7月, 用手枝剪采集山东潍坊市园林局试验苗圃内健壮一年生金边扶芳藤 (*Euonymus fortunei* 'Emerald's Gold') 苗木当年生新枝 (半木质化、腋芽饱满), 将新枝剪成20cm的小段 (选取部分顶芽茎段), 用湿润的消毒纱布包好, 带回放入冷藏箱中备用。

1.2 方法

1.2.1 培养基的制备 以MS为基础培养基, 各培养基中均添加30g/L的蔗糖, 8.0 g/L的琼脂, 培养基pH值调至6.2, 培养基在分装后放在121~123℃的条件下灭菌20min。

1.2.2 无菌培养繁殖体的建立

1.2.2.1 不同部位外植体对表面灭菌成活率的影响试验 选取采集的金边扶芳藤的带腋芽茎段 (至少有一个饱满的腋芽, 剪成2.5cm左右一段)、顶芽茎段 (剪成2.5cm左右), 用洗洁精水清洗15min (置于三角瓶内, 不断摇晃) 后再用清水反复冲洗干净, 用75%的酒精消毒1min后再用0.1%的升汞消毒8min, 无菌水冲洗5次, 然后置于一装有MS空白培养基的三角瓶内, 一瓶接种一个材料, 每次处理设三次重复, 分别于15d后调查灭菌效果。

1.2.2.2 不同灭菌时间对外植体成活率的影响试验 选取典型的带腋芽茎段 (半木质化、至少有一个饱满的腋芽, 2.5cm左右), 同1.2.2.1方式清洗, 用75%的酒精消毒1min后, 再用0.1%的升汞分别消毒3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11min, 无菌水冲洗5次, 同1.2.2.1方式接种、设置试验、调查效果。

1.2.3 试管苗的增殖研究

1.2.3.1 6-BA、IBA组合对丛生芽的诱导试验 (一) 将新芽切下后, 分别设置6-BA、IBA (1.5、0.4; 1.0、0.25; 0.5、0.1; 0、0)。上述数字是指该激素在1升培养基中所占的毫克数) 的不同浓度组合的MS培养基。每一处理的茎段数为30, 每瓶装1个, 共30瓶, 每次处理设三次重复, 置于光照时间为12h/d、光照强度为3000Lx、培养室温度为25℃的条件下培养, 30d后调查试验结果。

1.2.3.2 6-BA、IBA组合对丛生芽的诱导试验(二) 因增殖试验(一)无从生芽现象发生,增殖系数也偏低(理想数值应是大于5以上)。因而设置低浓度激素处理6-BA、IBA (0.4、0.08; 0.3、0.06; 0.2、0.04; 0.1、0.02; 0.05、0.01)进行丛生芽的诱导试验,其它试验处理同试验(一)。

1.2.3.3 6-BA、NAA组合对丛生芽的诱导试验(三) 将新芽切下后,分别设置6-BA、NAA (0.4、0.08; 0.3、0.06; 0.2、0.04; 0.1、0.02; 0.05、0.01)。上述数字是指该激素在1升培养基中所占的毫克数)的不同浓度组合的MS培养基。其它试验处理同试验(一)。

1.2.3.4 不同培养温度对试管苗生长与分化的影响 将金边扶芳藤试管苗,接入6-BA/IBA (0.1/0.02) MS分化培养基上,每一处理的茎段数为300,每瓶装10个,共30瓶,每次处理设三次重复,置于光照时间为12h/d、光照强度为3000Lx、培养室温度分别为22~24℃和26~28℃的温度条件下培养,一个月后检测生长情况。

1.2.4 试管苗生根技术研究

1.2.4.1 大量元素与IBA对生根的影响试验 将分化好的试管苗接种到MS、1/2 MS、1/4 MS三类不同的培养基上进行诱导生根试验,其中每类培养基又分别设置0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5共6种不同IBA的生根试验,每一处理的茎段数为300,每瓶装10个,共30瓶,每次处理设三次重复,置于光照时间为12h/d、光照强度为3000Lx、培养室温度为27℃的条件下培养,20d后调查生根情况。

1.2.4.2 大量元素与NAA对生根的影响试验 将IBA换成NAA,其他试验处理同1.2.4.1。

1.2.5 试管苗驯化及移栽技术研究

1.2.5.1 不同湿度对驯化成活率的影响试验 在以蛭石为基质、光照强度为3000Lx的条件下,分别设置冬暖大棚的自然湿度(60%~70%)和近饱和湿度(90%~100%,用厚度为0.009mm的微膜覆盖)两个处理,每个处理300株,30d后统计成活率。

1.2.5.2 不同栽植方式对驯化成活率的影响试验 在以蛭石为基质、覆膜、光照强度为3000 Lux的条件下,采用畦面栽培及塑料营养钵(规格为8cm×8cm)栽培两种方式,每个处理300株,对比试验,30d统计成活率。

1.2.5.3 不同规格的试管苗对驯化成活率的影响试验 在以蛭石为基质、覆膜、光照强度为3000Lx的条件下,按试管苗的生根情况设置两个处理,即X(1~2条根)、Y(3~4条根)处理。每个处理300株,对比试验,30d后统计成活率。

1.2.5.4 不同光照强度对驯化成活率的影响试验 在以蛭石为基质且覆膜的条件下,设置2400、2600、2800、3000、3200、3400、3600及3800Lx8个不同的光照处理,每个处理300株,对比试验,30d后统计成活率。

1.2.5.5 不同基质处理对试管苗成活率的影响试验 在覆膜、光照强度为3000Lx的条件下,设置蛭石、珍珠岩、

细沙、草炭以及1/2蛭石+1/2草炭5个不同的基质处理,每个处理300株,30d后统计成活率。

1.2.5.6 不同移植条件处理对驯化苗露地苗圃移植成活率的影响试验 将驯化完毕且长势良好的驯化苗移植于露地苗圃,设置A(50%遮阳网遮荫+微膜覆盖保湿)、B(50%遮阳网遮荫、不盖膜)、C(不遮荫、不盖膜)三个处理,每个处理300株。圃地做畦1m宽、15m长。定植完毕后,浇透水。10d后撤去覆膜,20d后撤去遮阳网,40d后统计成活率。

1.2.5.7 条件处理对驯化苗盆栽移植成活率的影响试验 将驯化完毕且长势良好的驯化苗移植于花盆,设置A(粘重培养土:园土3份、腐叶土1份、河沙1份)、B(中培养土:园土2份、腐叶土2份、河沙1份)、C(轻培养土:园土1份、腐叶土3份、河沙1份)三个处理。在保持营养钵土坨完整的情况下,将其移植于口径为20cm的大塑料钵内。定植完毕后浇透水后,遮荫3d,加强肥水管理及病虫害防治。40d后统计成活率及生长高度。

2 结果与分析

2.1 无菌培养繁殖体的建立

2.1.1 不同部位外植体对表面灭菌成活率的影响试验 在灭菌过程中,不同部位的外植体,其成活率有一定的差异,结果见表2-1。

结果表明:顶芽茎段由于组织幼嫩,对灭菌剂敏感,顶芽易枯死,接种成活率低;带腋芽茎段成活率较高,效果较好。

2.1.2 不同灭菌时间对外植体成活率的影响试验 在灭菌过程中,不同灭菌时间的处理,其成活率有一定的差异,结果见图2-1。

表2-1 不同外植体对表面灭菌成活率的影响试验结果

外植体类型	灭菌时间 (min)	外植体个数	成活个数	成活率 (%)
带腋芽茎段	8	40	27	67.5
顶芽茎段	8	40	9	22.5

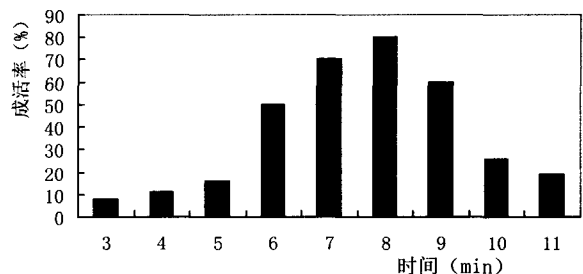


图2-1 不同灭菌时间对腋芽成活率的影响试验结果

2.2 试管苗的增殖研究

2.2.1 6-BA、IBA组合对金边扶芳藤丛生芽诱导试验(一)

表2-2 6-BA、IBA组合对金边扶芳藤丛生芽的诱导
试验结果(一)

6-BA/IBA (mg/L)	有无愈伤组织	有无丛生芽
1.5/0.4	有	无
1.0/0.25	有	无
0.5/0.1	有	无
0.0/0.0	无, 为单芽茎段	无

由表中结果得知, 6-BA在0.5(mg/L)以上时, 能诱导出愈伤组织, 无丛生芽发生。唯独MS空白培养基芽体健壮、浓绿、生长快(月增殖2.8倍)。

上述试验处理无丛生芽现象发生, 增殖系数也偏低(理想数值应是大于5以上)。因而需进一步设置低浓度激素处理进行丛生芽的诱导试验。

2.2.2 6-BA、IBA组合对金边扶芳藤丛生芽的诱导试验(二)

表2-3 6-BA、IBA组合对金边扶芳藤丛生芽的诱导
试验(二)

6-BA/IBA (mg/L)	生长状态	丛生芽
0.4/0.08	有愈伤组织	无
0.3/0.06	有愈伤组织和丛生芽	较少
0.2/0.04	有愈伤组织和丛生芽	较多
0.1/0.02	有丛生芽	大量
0.05/0.01	有丛生芽	较少

在本试验中, 有4组处理得到了丛生芽, 但0.3/0.06与0.2/0.04因在诱导丛生芽产生的同时, 也产生了愈伤组织, 考虑到遗传稳定性问题, 该二组合将不采用; 组合0.1/0.02与0.05/0.01都诱导出了丛生芽, 无愈伤组织产生, 其中以0.1/0.02组合诱导效果最好。

2.2.3 6-BA、NAA组合对金边扶芳藤丛生芽的诱导试验

表2-4 6-BA、NAA组合对金边扶芳藤丛生芽的诱导试验

6-BA/NAA (mg/L)	生长状态	丛生芽
0.4/0.08	愈伤组织	无
0.3/0.06	愈伤组织	无
0.2/0.04	愈伤组织	无
0.1/0.02	丛生芽	较少
0.05/0.01	单芽茎段	无

由表2-4结果得知, 采用6-BA、NAA组合进行金边扶芳藤丛生芽的诱导效果不甚理想, 浓度稍高时产生愈伤组织, 浓度低时无丛生芽, 尽管6-BA/NAA(0.1/0.02)能诱导出丛生芽, 但数量较少。

从表2-2、表2-3、表2-4试验结果可以看出, 以6-BA/IBA(0.1/0.02)组合诱导的丛生芽量较大, 且无

愈伤组织产生, 因而是最为理想的配比。

2.2.4 不同培养温度对金边扶芳藤试管苗生长与分化的影响。

表2-5 不同温度对金边扶芳藤试管苗生长的影响

温度 (℃)	茎段数 (个)	茎段平 均高(cm)	茎段数(丛 生芽(个)	茎段平均 高(cm)
22~24	300	1.1	646	2.8
26~28	300	1.1	682	3.1

结果表明: 在26~28℃的条件下(日光照时间为12h/d, 光照强度为3000Lx)培养1个月观测, 茎段数由原来的300变为682, 平均高度由1.1cm变为3.1cm, 平均增殖系数为6.40; 在22~24℃的条件下, 茎段数由原来的300变为646, 平均高度由1.1cm变为2.8cm, 平均增殖系数为5.48。温度较高时, 增殖系数较大。

2.3 试管苗生根技术研究

2.3.1 大量元素与IBA对生根的影响

由图2-2结果得知, 诱导生根的最佳培养基组合为1/2 MS+IBA(0.2), 其诱导生根率达到98.9%, 每茎段平均生根2.71条。

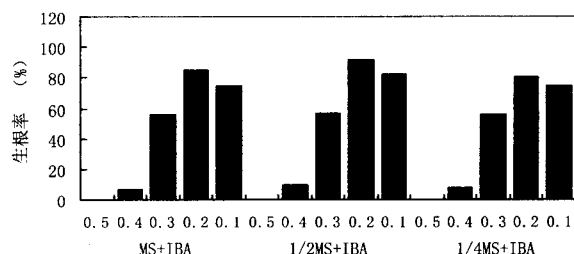


图2-2 大量元素与IBA对生根的影响

2.3.2 大量元素与NAA对生根的影响

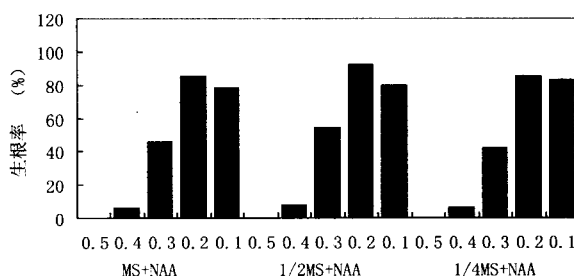


图 2-3 大量元素与NAA对生根的影响

由图2-3结果得知, 诱导生根的最佳培养基组合为1/2 MS+NAA(0.2), 其诱导生根率达到98.5%, 每茎段平均生根2.64条。

由上述结果得知, 诱导金边扶芳藤试管苗生根的最佳基本培养基为1/2 MS, NAA(0.2mg/L)与IBA(0.2mg/L)诱导生根均十分理想, 且二者差异不明显。

2.4 试管苗驯化及移栽技术研究

2.4.1 不同湿度对驯化成活率的影响

表2-6 湿度对驯化成活率的影响

相对湿度	试验株数	成活株数	成活率 (%)
60%~70%	300	103	34.3
90%~100%	300	255	85.0

由试验结果得知,湿度对驯化成活率的影响较大,具体结果见表2-6。

2.4.2 不同栽植方式对驯化成活率的影响

表2-7 不同栽植方式对驯化成活率的影响

栽培方式	试验株数 (株)	成活株数 (株)	成活率 (%)
营养钵栽	300	256	85.3
畦面栽植	300	260	86.7

由试验结果得知,两种栽植方式的试管苗成活率影响不大。

2.4.3 不同规格的试管苗对驯化成活率的影响

表2-8 不同规格的试管苗对驯化成活率的影响

根数量 (条)	试验株数 (株)	成活株数 (株)	成活率 (%)
X (1~2)	300	256	85.3
Y (3~4)	300	256	91.3

由试验结果得知,不同规格的试管苗成活率对驯化成活率影响不大。

2.4.4 不同光照强度对驯化成活率的影响

由图2-4的结果得知,随着光照强度增加,驯化成活率上升,3000Lx~3200Lx光强时驯化成活率较高,以3200Lux效果最好。然后随着光强增加,成活率逐步降低。较高光照强度有利于试管苗的成活。

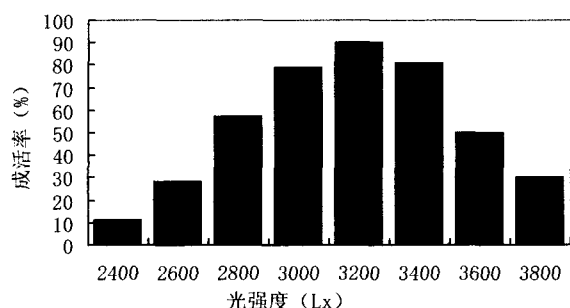


图 2-4 不同光照强度对驯化成活率的影响

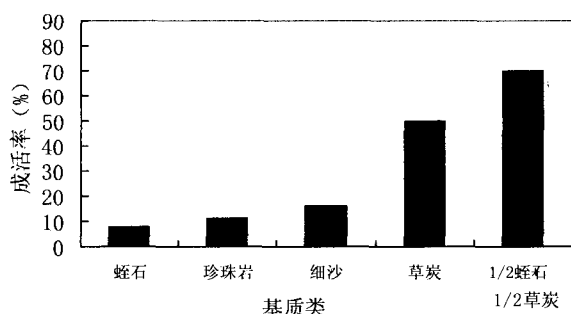


图2-5 不同基质处理对试管苗成活率的影响

2.4.5 不同基质处理对试管苗成活率的影响

由图2-5的结果得知,不同种类基质对驯化成活率影响较大,其中以蛭石加草炭较为理想。

2.4.6 不同移植条件处理对驯化苗移植成活率的影响

表2-9 不同移植条件处理对驯化苗露地移植成活率的影响

苗别	成活率	A处理	B处理	C处理
营养钵苗		95.5	62.2	15.2
裸根苗		26.4	12.1	0

从表2-9中可看出。同样栽培条件下,以营养钵栽培成活率较高,营养钵栽培、遮光50%并覆盖微膜的条件下成活率最高。

2.4.7 不同基质条件处理对驯化苗盆栽移植成活率的影响

表2-10 不同基质条件处理对驯化苗盆栽移植成活率的影响

移植条件	试验株数	成活株数	成活率 (%)	定植前平均高度 (cm)	调查时平均高度 (cm)	平均高度增长量 (cm)
A处理	300	278	92.7	6.4	12.6	6.2
B处理	300	278	92.7	6.3	14.8	8.5
C处理	300	278	92.7	6.4	13.5	7.1

由表2-10结果得知,营养钵栽培方式的驯化苗在上述三个处理中均有较高的成活率和较好的长势,其中B处理(中培养土:园土2份、腐叶土2份、河沙1份)效果最好,成活率为97.3%,40d的平均生长高度为8.5cm。

3 结论与讨论

建立标准化的离体快繁技术体系是实现种苗工厂化生产的保障和关键。本研究通过系列试验,建立了较为完善的金边扶芳藤离体快繁技术体系,为开展种苗工厂化生产提供了技术保障。具体技术体系为:选取一年生金边扶芳藤新枝的带腋芽茎段(半木质化、至少有一个饱满的腋芽,2.5cm左右),用洗洁精水清洗15min(置于三角瓶内,不断摇晃),然后再用清水反复冲洗干净,用75%的酒精消毒1min后再用0.1%的升汞消毒8min,无菌水冲洗5次,置于空白培养基上培养。切取经培养得到的新芽,置于6-BA/IBA (0.1/0.02) MS培养基上进行丛生芽诱导,培养温度为26~28℃,月平均增殖系数为6.40;繁殖达到一定规模后,进行生根诱导,诱导生根两种的培养基组合即1/2 MS+IBA (0.2)、1/2 MS+NAA (0.2) 均较为理想。金边扶芳藤试管苗较为理想的驯化条件为光照强度为3200Lx,相对湿度为90%~100%,基质为蛭石;驯化栽植方式为营养钵栽植。露地苗圃移植时,应架设50%遮阳网遮荫并采用微膜覆盖保湿,10d后方可撤掉覆膜,20d后方可撤去遮阳网。盆栽时,应采用中等黏度的培养土(即园土2份、腐叶土2份、河沙1份)作为基质。在保持营

养钵土坨完整的情况下, 将其转植于口径为20cm的大塑料钵内。定植完毕后浇透水后, 遮荫3d, 加强肥水管理及病虫害防治。

资料记载, 在部分植物离体快繁过程中, 继代次数过多(一般超过十几代), 往往会使组培苗的长势衰弱。本试验因试验次数有限, 未发生此类现象, 而迅速搞清金边扶芳藤是否也存在该现象, 既有一定的学术价值, 也有实际应用意义。

参考文献:

- [1] 于力. 金边扶芳藤 [J]. 林业实用技术. 2003, 8: 48
- [2] 王清连. 植物组织培养 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [3] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1986.
- [4] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程 [M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996: 225.

Study on the Micropropagation In Vitro of *Euonymus fortunei* 'Emerald's Gold'

Abstract: In recent years, *Euonymus fortunei* 'Emerald's Gold' has been introduced into China from Europe as a new colour cover crop, and it has been widely applied in construction of landscape and has a good exploiting perspective. This paper focused on the technology of rapid propagation of *Euonymus fortunei* in vitro. The main result is below:

1. In the process of founding *Euonymus fortunei* aseptis culture breed, the different part of explant and the time of aseptis have more infection on material. The results showed that the best explant was the stem with axillary buds for tissue culture. The better sterilizing time for explant was about 6~9 min, and optimal time is 8 min.
2. In the experimentation of inducing cluster bud in tube on *Euonymus fortunei* seeding, the consistence of incretion and the combination of different kinds have more infection on the result. The combination of 6-BA/IBA

(0.1/0.02) can induce more cluster bud and no damage tissue, the effect is best. Though 6-BA/NAA(0.1/0.02) can induce cluster bud, the quantity is small. The 6-BA, NAA is not ideal. In addition, the culturing temperature has some influence too. The effect is best on the temperature 26~28℃, the average quotiety is 6.40.

3. In the experimentation of rhizogenesis in tube on *Euonymus fortunei* seeding, the culture medium combination of 1/2 MS + IBA(0.2) and 1/2 MS + NAA(0.2) is better. The rate of inducing rhizogenesis can reach 98.9% and 98.5%, the amount rhizogenesis of each stalk are 2.71 and 2.64.

4. In the experimentation of domestication in tube on *Euonymus fortunei* seeding, the environmental factors are influential for surviving rate. The optimum light intensity was 3200 Lux, relative humidity was 90~100%, and the best basis was vermiculite. The tube seeding's rhizogenesis, the quomodo of domestication has less effect for surviving rate.

5. In the experimentation of transplanting *Euonymus fortunei*'s domestication seeding, the transplanting condition are influential for surviving rate. In the same condition, the surviving rate is higher in pot, and is best with 50% gobo and covering with membrane. The surviving rate of domestication seeding in pot is higher and has better growing in the three experimentation in different project, and the project B (the mixture of 40% garden soil, 40% humic soil and 20% sand in a pot) is best, the transplanting survival rate is 97.3%, and the average height reach 8.5 cm 40 d after transplanting on this mixture soil.

Keywords: *Euonymus fortunei* 'Emerald's Gold'; In vitro culture; Rapid propagation; Exercising seedling; Transplanting; Application

第一作者简介: 吴祥春(1969—), 男, 山东寿光人, 高级工程师, 硕士; 研究方向: 园林植物应用。