

蒜香藤组培快繁技术研究

闫海霞, 邓杰玲, 关世凯, 黄昌艳, 何荆洲, 卜朝阳, 张自斌*

(广西壮族自治区农业科学院花卉研究所, 广西南宁 530007)

摘要:【目的】探讨不同基本培养基、不同植物生长调节剂对蒜香藤组织培养的影响, 筛选出各培养阶段的最佳培养基, 建立组培快繁体系, 为其快速繁殖和遗传转化提供理论和技术基础。【方法】以蒜香藤的带芽茎段为外植体, 研究了不同灭菌方法、不同培养基类型、不同植物生长调节剂及其浓度对蒜香藤组培快繁的影响。【结果】茎段灭菌的最佳组合宜先用75%酒精拭擦茎段再用0.10%升汞浸泡8~12 min, 污染率为0, 成活率为100.00%; 适宜的增殖培养基为WPM+6-BA1.50 mg/L+NAA 0.10 mg/L, 增殖系数为4.86; 适宜的生根培养基为WPM+IBA 0.20~0.30 mg/L; 移栽基质以体积比为2:1的泥炭混合珍珠岩为宜, 移栽成活率为100.00%。【结论】采用酒精结合升汞处理蒜香藤茎段即可取得良好的消毒效果, 使用含相应生长调节剂浓度的WPM培养基可获得较高的增殖系数和生根率, 在合适比例的泥炭混合珍珠岩基质上移栽效果佳。

关键词: 蒜香藤; 茎段; 木本培养基; 生根; 增殖

中图分类号: S687.9 文献标识码: A

Study on Rapid Propagation of *Pseudocalymma alliaceum*

YAN Hai-xia, DENG Jie-ling, GUAN Shi-kai, HUANG Chang-yan, HE Jing-zhou, BU Zhao-yang, ZHANG Zi-bin*

(Flower Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Guangxi Nanning 530007, China)

Abstract 【Objective】The aim of the experiment was to discuss the effects of different basic medium and different plant growth regulators on the tissue culture of *Pseudocalymma alliaceum*. The best medium of each stage was screened out, and the tissue culture and rapid propagation system were established to provide a technical and theoretical basis for rapid propagation and genetic transformation. 【Method】Using *Pseudocalymma alliaceum*'s stems with buds as materials, the effects of different sterilization methods, media and concentration of plant hormone on *Pseudocalymma alliaceum*'s rapid propagation were researched. 【Result】The results showed that the best method of sterilization was to first wipe stem segments with 75% alcohol and then to soak in 0.10% HgCl₂ for 8-12 minutes, and the contamination rate was 0 and the survival rate was 100.00%. WPM+6-BA1.50 mg/L+NAA 0.10 mg/L was the most suitable culture medium for multiplication, and the multiplication coefficient was 4.86; WPM+0.20-0.30 mg/L IBA was the optimum culture medium for rooting; peat mixed perlite with volume ratio of 2:1 was the optimum transplanting substrate, and transplanting survival rate was 100.00%. 【Conclusion】*Pseudocalymma alliaceum*'s stems achieved the best disinfection with alcohol and HgCl₂, while higher multiplication coefficient and rooting rate could be obtained using WPM media containing appropriate concentrations of plant growth regulators. The matrix of peat mixed perlite in an appropriate rate was the best for transplanting.

Key words: *Pseudocalymma alliaceum*; Stem; Woody plant medium; Rooting; Multiplication

【研究意义】蒜香藤(*Pseudocalymma alliaceum*)为紫葳科蒜香藤属多年生常绿植物^[1], 又名紫铃藤、张氏紫薇, 原产于热带美洲, 生态适应性广, 是优

良的垂直绿化植物, 也是新兴的藤本花卉类群。蒜香藤一年可开多次花, 尤其在夏末初秋的9-10月开花最旺。因其花、叶在搓揉之后会散发出浓郁的大蒜香, 故而得名。蒜香藤可用于篱笆、围墙美化或凉亭、棚架装饰, 此外, 还可用作阳台攀援花卉或垂吊花卉, 在广东等沿海地区多数用于盆栽。近年来, 随着城市垂直绿化逐渐兴起, 市场对藤本花卉的需求越来越大, 但传统繁育已无法满足市场对优质种苗的需求, 因此亟待开展藤本花卉繁育技术多样化

收稿日期: 2018-01-17

基金项目: 广西创新驱动发展专项资金项目(桂科AA17204046-1, 桂科AA17204045-6); 南宁市重点研发计划项目(20172136-2); 广西农业科学院项目(2015YT89, 桂农科2018YT33)

作者简介: 闫海霞(1981-), 女, 副研究员, 主要从事花卉新品种选育与示范推广工作, E-mail: 819307232@qq.com; *为通讯作者: 张自斌, E-mail: candou154@126.com。

研究。蒜香藤市场前景广阔,是藤本花卉的主流类群,开展其繁育技术多样化研究有利于藤本花卉的规模化 and 产业化。【前人研究进展】国内对蒜香藤的繁殖研究不多,主要集中在扦插繁育技术上^[2-3]。如廖美兰等^[4]以不同浓度 GGR6 号及不同基质进行扦插,得出基质以细沙为宜,以 300 mg/LGGR6 号生根粉蘸后扦插,生根率可达 90%;周亮等^[5]探讨了不同生长调节剂及不同浓度、不同基质、不同插穗长度和直径对生根的影响,研究发现以直径 0.50 ~ 0.80 cm 长度 10 cm 的插穗、采用割伤 + IBA (200 mg/L) 速蘸处理、用泥炭和河沙比例 4:1 作基质进行扦插效果最好。但扦插繁殖周期长,占用空间大。而组织培养技术具有繁殖速度快、繁殖系数大,繁殖后代整齐一致,能保持原有品种的优良性状,不受季节限制等优点,已广泛应用于各种观赏植物^[6-7],组培快繁在紫葳科物种上的应用也有相关报道^[8-11]。【本研究切入点】目前国内鲜见有关蒜香藤组培快繁的报道。【拟解决的关键问题】以蒜香藤的带芽茎段为外植体,通过不同灭菌方法获得无菌苗,进而在附加不同种类和浓度的植物生长调节剂的培养基上分别进行初代培养基、继代培养基、生根培养基的筛选,建立其组培快繁体系,为其今后的快速繁殖和遗传转化提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试蒜香藤植株由广西壮族自治区农业科学院花卉研究所提供。1000 mL MS 培养基的配置:将 40 g MS 培养基固体粉末加热溶解于 1000 mL 蒸馏水中,调节 pH 为 5.8 ~ 6.0。1000 mL WPM 培养基的配置:将 2.14 g WPM 培养基固体粉末、0.56 g 硝酸钙、20 g/L 蔗糖、4 g/L 琼脂加热溶解于 1000 mL 蒸馏水中,调节 pH 为 5.8 ~ 6.0。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒灭菌 以蒜香藤的带芽茎段(未萌发)为外植体,洗衣粉浸泡 8 ~ 10 min 后用自来水冲洗,在超净工作台上,先用 75% 酒精拭擦茎段,无菌水冲洗 3 次,再用 0.10% 升汞处理 8 ~ 12 min,无菌水冲洗 3 次。接入 MS 培养基后,每天观察污染情况,连续观察 15 d 后统计污染率、成活率。污染率(%) = 污染数/接种数 × 100,成活率(%) = 萌芽数/接种数 × 100。

1.2.2 增殖培养 将萌发的新芽切取下来,接在附加了不同植物生长调节剂的培养基上。30 d 后统计并计算增殖系数:增殖系数 = 增殖植株数/接种数。

1.2.3 生根培养 当增殖出的小苗长至高 2.00 ~ 2.50 cm 时,转接于生根培养基中。30 d 后统计并计算生根率:生根率(%) = 生根植株数/接种数 × 100。

1.2.4 炼苗移栽 将已生根的组培瓶苗在室外炼苗 1 ~ 2 d,然后打开瓶盖再炼苗 1 ~ 2 d,洗净培养基,生根苗在 50% 多菌灵可湿性粉剂 800 ~ 1000 倍溶液中浸泡 10 min 后移栽到基质中,浇透定根水,15 d 统计移栽成活率:移栽成活率(%) = 成活植株数/移栽植株数 × 100。

1.3 统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行方差分析及 Duncan's 多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同处理对蒜香藤茎段灭菌的影响

由表 1 可知,茎段采用的灭菌方法不同,其污染率和成活率有所不同。方差分析表明,各处理污染率从高到低依次为 1 > 2 > 3 > 4 = 5 = 6,除了处理 4、5 和 6 之间差异不显著外,处理 1、2、3 的污染率差

表 1 不同灭菌方法对蒜香藤茎段灭菌的影响

Table 1 Effects of different methods on stem sterilization of *Pseudocalymma alliaceum*

处理 Treatment	酒精拭擦 Alcohol	升汞(分) HgCl ₂	接种数(株) Inoculated number	污染数(株) Contamination number	成活数(株) Survival number	污染率(%) Contamination rate	成活率(%) Survival rate
1	否	8	100	79.33a	20.67c	79.33a	20.67c
2	否	10	100	71.33b	28.67c	71.33b	28.67c
3	否	12	100	48.67c	51.33b	48.67c	51.33b
4	是	8	100	0d	100.00a	0d	100.00a
5	是	10	100	0d	95.33a	0d	95.33a
6	是	12	100	0d	91.67a	0d	91.67a

注:同列数据后不同小写字母表示差异达显著水平($P < 0.05$)。下同。

Note: In the same series, values with different lower case letters mean the difference was significant ($P < 0.05$). Similarly hereinafter.

表 2 不同基本培养基、植物生长调节剂对比对蒜香藤增殖培养的影响

Table 2 Effects of different hormones combinations on subculture of *Pseudocalymma alliaceum*

处理 Treatment	基本培养基 Basic medium	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	接种数(株) Inoculated number	新芽数(株) New bud	增殖系数 Multiplication	生长情况 Growing situation
X ₁	MS	0.5	0.05	50	145.00f	2.90f	长势差 植株小、细弱
X ₂	MS	1.0	0.05	50	153.00ef	3.06ef	长势差 植株小、细弱
X ₃	MS	1.5	0.05	50	163.33def	3.27def	长势良 植株矮小、挺拔
X ₄	MS	0.5	0.10	50	154.00ef	3.08ef	长势差 植株较小
X ₅	MS	1.0	0.10	50	165.33def	3.31def	长势良 植株小、挺拔
X ₆	MS	1.5	0.10	50	169.00de	3.38de	长势优 植株挺拔
X ₇	MS	0.5	0.15	50	183.00cd	3.66cd	长势良 植株矮小、挺拔
X ₈	MS	1.0	0.15	50	197.67bc	3.95bc	长势优 植株挺拔
X ₉	MS	1.5	0.15	50	214.33b	4.29b	长势良 植株矮小、挺拔
X ₁₀	WPM	0.5	0.05	50	185.00cd	3.70cd	长势差 植株小
X ₁₁	WPM	1.0	0.05	50	209.00b	4.18b	长势良 植株挺拔
X ₁₂	WPM	1.5	0.05	50	211.00b	4.22b	长势良 植株挺拔
X ₁₃	WPM	0.5	0.10	50	197.00bc	3.94bc	长势良 植株矮小
X ₁₄	WPM	1.0	0.10	50	201.00bc	4.02bc	长势优 植株健壮
X ₁₅	WPM	1.5	0.10	50	243.00a	4.86a	长势优 植株健壮
X ₁₆	WPM	0.5	0.15	50	204.33bc	4.09bc	长势良 植株矮小、挺拔
X ₁₇	WPM	1.0	0.15	50	218.67b	4.37b	长势良 植株矮小、挺拔
X ₁₈	WPM	1.5	0.15	50	220.00b	4.40b	长势优 植株健壮

异均达显著水平,其中处理 4、5 和 6 均为 0。在成活率上,各处理从高到低依次为 4 > 5 > 6 > 3 > 2 > 1,其中处理 4 成活率最高,为 100.00%,但与处理 5、6 的成活率无显著差异。由此表明,茎段拭擦酒精后可显著降低污染,提高成活率。随着升汞浸泡时间的增加,污染率和成活率变化趋势因拭擦酒精与否而有所不同。茎段不拭擦酒精,随着升汞浸泡时间增加,污染率逐渐降低,成活率逐渐升高;茎段拭擦酒精后,随着升汞浸泡时间增加,污染率均为 0,成活率逐渐降低。茎段灭菌采用酒精拭擦后再用升汞浸泡 8~12 min 的灭菌效果最佳。

2.2 不同处理对蒜香藤增殖培养的影响

由表 2 数据分析可知,各处理的增殖系数从高到低依次为 X₁₅ > X₁₈ > X₁₇ > X₉ > X₁₂ > X₁₁ > X₁₆ > X₁₄ > X₈ > X₁₃ > X₁₀ > X₇ > X₆ > X₅ > X₃ > X₄ > X₂ > X₁。方差分析表明,在 MS 培养基中,在相同的 NAA 浓度下,随着 6-BA 浓度的增加,增殖系数逐渐增加,但增幅不显著;在相同的 6-BA 浓度下,随着 NAA 浓度的增加,增殖系数逐渐增大,当 6-BA 和 NAA 达到实验最大浓度,即 1.5 mg/L,增殖系数为 MS 组中的最大值。在 WPM 培养基上,当 NAA 浓度相同时,随着 6-BA 浓度的增加增殖系数逐渐增

加,当 6-BA 浓度相同时,随着 NAA 浓度的增加增殖系数逐渐增加,其中在 NAA 为 0.1 mg/L、6-BA 为 1.5 mg/L 时增殖系数增加最显著,为 4.86,且显著高于其他 17 个处理。因此,结合植株生长情况可得出,适宜蒜香藤增殖培养的培养基为 WPM + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L,增殖系数为 4.86。

2.3 不同处理对蒜香藤生根培养的影响

由表 3 可知,各处理的生根率从高到低依次为 T₇ > T₈ > T₆ > T₄ > T₃ > T₂ > T₅ > T₁。除了 T₇ 与 T₈、T₄ 与 T₃ 之间差异不显著外,各处理的生根率差异均达显著水平。各处理的平均根数从高到低依次为 T₈ > T₆ > T₇ > T₄ > T₃ > T₅ > T₂ > T₁,其中 T₈ 的平均根数显著高于其他培养基。在生根时间上,各处理从长到短依次为 T₅ > T₁ > T₃ > T₂ > T₄ > T₆ > T₈ > T₇,T₇、T₈ 的最短生根时间显著短于其他处理。由此表明,IBA 浓度以及基本培养基类型对生根具有显著影响。在 MS 培养基上,随着 IBA 浓度增加,生根率逐渐升高,最短生根时间呈先降低后升高的趋势。在 WPM 培养基上,随着 IBA 浓度的增加,生根率呈现先升后降的变化趋势,最短生根时间呈先降后升的变化趋势,当 IBA 浓度为 0.2 mg/L 时,生根率达最大,为 96.67%,最短生根时间

表3 不同培养基对蒜香藤生根培养的影响

Table 3 Effects of different medium on rooting of *Pseudocalymma alliaceum*

处理 Treatment	基本培养基 Basic medium	IBA (mg/L)	接种数(株) Inoculated number	生根率(%) Rooting rate	平均根数 (条/株) Root number	最短生根时间(d) Rooting time	生长情况 Growing situation
T ₁	MS	0	50	62.00f	3.58e	36.00a	长势差 根细
T ₂	MS	0.1	50	80.67d	3.77de	30.33b	长势良 根粗壮
T ₃	MS	0.2	50	84.67c	3.97cd	31.00b	长势良 根粗壮
T ₄	MS	0.3	50	86.00c	4.15bc	27.33bc	长势良 根很长
T ₅	WPM	0	50	77.33e	3.91cd	37.33a	长势良 根粗
T ₆	WPM	0.1	50	91.33b	4.31b	25.00c	长势好 根较粗壮
T ₇	WPM	0.2	50	96.67a	4.17bc	20.00d	长势好 根非常粗壮
T ₈	WPM	0.3	50	94.67a	4.97a	20.33d	长势好 根非常粗壮

最短,为20 d,当 IBA 浓度为0.3 mg/L 时,生根率为94.67%,最短生根时间为20.33 d。方差分析已表明 WPM + IBA 0.2 mg/L 的生根率、最短生根时间和 WPM + IBA 0.3 mg/L 无显著差异,但是 WPM + IBA 0.3 mg/L 平均根数显著高于 WPM + IBA 0.2 mg/L。因此,蒜香藤的适宜生根培养基为 WPM + IBA 0.2 ~ 0.3 mg/L,生根率高,根数多,生根时间短,长势好,根较粗壮。

2.4 不同处理对蒜香藤移栽的影响

通过表4可知,各处理成活率从高到低依次为 $S_4 > S_5 > S_1 > S_6 > S_3 > S_2$,除了 S_1 与 S_6 处理之间差异不显著外,各处理的成活率差异均达显著水平;其中 S_1 处理成活率最高,为100.00%,且植株健壮,长势好,缓苗时间短; S_2 处理成活率最低,为57.33%,且植株长势差,缓苗时间长。因此,蒜香藤的移栽基质以泥炭混合珍珠岩,体积比为2:1的移栽效果最佳。

3 讨论

外植体的灭菌效果取决于灭菌剂的种类和灭菌时间。本实验采用了2种不同的灭菌剂,其中酒精

灭菌采用拭擦方式,与多数外植体采用酒精浸泡的方式有所不同。擦拭可以极大地缩短茎段接触酒精时间,在一定程度上减轻了酒精对外植体的毒害作用,有利于提高茎段成活率。从实验可知,蒜香藤的外植体灭菌较容易,原因可能是茎段表面较光滑,从自然界中携带的微生物较少。

在蒜香藤的增殖培养和生根培养中,以 MS 和 WPM 为基本培养基的培养效果有所不同。WPM 为基本培养基更有利于蒜香藤的增殖和生根培养,虽然现今大多以 MS 为基本培养基进行紫葳科植物的组织培养,但由于组织培养的基本培养基和物种间并没有必然的联系,因此同科植物的研究对于目标物种的研究仅是一个参考。即使同一物种,在不同培养阶段,基本培养基不同培养效果有所不同,如在进行丰花月季叶片的愈伤组织诱导时,在 MS, B5, White, WPM 4 种基本培养基中,以 MS 培养基的诱导率最高^[12]。同一品种在同一培养阶段使用的基本培养基也有可能不同,如月季‘卡罗拉’的不定芽增殖培养基、生根培养基分别是 MS + 2.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA, 1/2 MS + 0.3 mg/L IBA^[13],但由于植株的生理状态或组培条件的差异,不定芽增

表4 不同移栽基质对蒜香藤移栽的影响

Table 4 Effects of different media on transplanting of *Pseudocalymma alliaceum*

处理 Treatment	移栽基质 Transplanting medium	移栽数(株) Transplanting number	成活数(株) Survival number	成活率(%) Survival rate	生长情况 Growing situation
S ₁	泥炭	50	46.00c	92.00c	长势良 缓苗时间长
S ₂	珍珠岩	50	28.67e	57.33e	长势差 缓苗时间最长
S ₃	园土	50	38.00d	76.00d	长势差 缓苗时间长
S ₄	泥炭:珍珠岩 = 2:1	50	50.00a	100.00a	长势好 植株健壮 缓苗时间很短
S ₅	泥炭:园土 = 2:1	50	48.00b	96.00b	长势良 缓苗时间较短
S ₆	园土:珍珠岩 = 2:1	50	45.67c	91.33c	长势良 缓苗时间较短

殖培养基、生根培养基也可以分别采用 WPM + 3.00 mg/L 6-BA + 0.10 mg/L NAA 和 WPM + 0.30 mg/L IBA^[14]。

WPM 培养基是一种在 MS 培养基的基础上改良的低盐培养基,主要用于木本植物,针对性较强。蒜香藤是一种木质藤本,在 MS 培养基上的增殖和生根效果较差,可能是 MS 培养基中的氮盐偏高,而 WPM 培养基的氮盐偏低,因为 MS 培养基中的 KNO₃ 在 WPM 中被 K₂SO₄ 代替,MS 培养基中的 NH₄NO₃ 用量在 WPM 中也仅有 1/4。具体原因还有待于进一步研究。

4 结 论

通过实验得出:茎段灭菌的最佳组合宜先用 75% 酒精拭擦茎段再用 0.10% 升汞浸泡 8~12 min,污染率为 0,成活率为 100.00%;适宜的增殖培养基为 WPM + 6-BA 1.50 mg/L + NAA 0.10 mg/L,增殖系数为 4.86;适宜的生根培养基为 WPM + IBA 0.20~0.30 mg/L,生根率高,植株的根数多、粗壮,生根时间短,长势好;移栽基质以体积比为 2:1 的泥炭混合珍珠岩为宜,移栽成活率为 100.00%,植株长势好,健壮,缓苗时间很短。

参考文献:

[1] 陈国菊,刘厚诚,吴筱颖,等. 遮荫对蒜香藤生长和叶片组织结构的影响[A]. In: 雷建军. 中国园艺学会第五届青年学术讨论会论

文集[C]. 广州: 广州出版社 2002: 683-686.

- [2] 冯嘉仪. 四种木质藤本植物叶片性状及扦插繁殖研究[D]. 广州: 华南农业大学 2016: 37-42.
- [3] 林茂,李进华,孙利娜,等. 优良观赏藤本植物的扦插育苗技术[J]. 黑龙江农业科学 2015(3): 172-173.
- [4] 廖美兰,杜铃,黄欣. 蒜香藤的扦插育苗试验[J]. 林业实用技术 2014(2): 52-53.
- [5] 周亮,黄建平,黄白云,等. 蒜香藤的扦插繁殖技术探讨[J]. 中南林业调查规划 2012, 31(4): 62-64.
- [6] 晏姝,胡德活,韦如萍,等. 南洋楹组培快繁技术优化研究[J]. 中南林业科技大学学报 2017, 37(6): 65-69.
- [7] 闫海霞,蒋月喜,王晓国,等. 蝶豆的组织培养与快繁技术研究[J]. 西南农业学报 2016, 29(8): 1977-1981.
- [8] 齐雨,李森,刘梦颖,等. 凌霄组织培养及快速繁殖的研究[J]. 河北林业科技 2008(4): 1-3.
- [9] 王红梅. 蓝花楹组培技术研究[J]. 西部林业科学 2008, 37(3): 18-22.
- [10] 阳莉,石大兴,麦苗苗,等. 蓝花楹组织培养与快速繁殖研究[J]. 热带亚热带植物学报 2012, 20(1): 26-32.
- [11] 张国武,殷琪,李蕊萍,等. 蓝花楹组织培养研究[J]. 林业与环境科学 2016, 32(6): 59-62.
- [12] 赵松峰. 不同培养基及糖浓度对丰花月季叶愈伤组织诱导的影响[J]. 北方园艺 2009(4): 56-58.
- [13] 俞艳芳,管帮富,毛平生,等. 月季‘卡罗拉’组培快繁研究[J]. 现代园艺 2012(7): 3-4.
- [14] 闫海霞,蒋月喜,黄昌艳,等. 月季‘卡罗拉’的组培快繁技术[J]. 热带作物学报 2016, 37(9): 1741-1746.

(责任编辑 陈 格)