

紫薇的组织培养与快速繁殖

曹 受 金, 刘 辉 华, 田 英 翠

(中南林业科技大学, 湖南 长沙 410004)

摘 要: 以紫薇嫩茎产生的愈伤组织为外植体, 通过正交试验设计, 研究不同培养基对紫薇丛生芽诱导、增殖和生根的影响。结果表明: 不同浓度的 NAA、6-BA 及 KT 激素组合对紫薇愈伤组织丛生芽诱导培养的影响显著, 最佳诱导培养基为: MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L; 不同浓度激素组合对紫薇丛生芽增殖培养影响极显著, 最佳增殖培养基为: MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L; 不同培养基对紫薇生根培养的影响较显著, 生根培养适合的培养基为: 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 0.1 mg/L。

关键词: 紫薇; 丛生芽诱导; 丛生芽增殖; 生根培养

中图分类号: S 685.904⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)08-0149-03

紫薇 (*Lagerstroemia indica*) 为千屈菜科紫薇属木本花卉, 是近年来发展的重要园林观赏树种之一^[1]。紫薇传统繁殖方式为主要播种繁殖和扦插繁殖, 但繁殖速度较慢^[2]。利用组织培养的方法培育苗木, 具有繁殖速度快、繁殖系数高、保持繁殖材料及新植株的优良种性, 从而提高种苗质量, 具有重要的意义及应用前景。近年来, 国内外不少学者在紫薇组织培养领域进行了研究, 姜旭红等^[3]针对日本矮生紫薇扦插成活率不高, 播种繁殖易产生变异的问题, 首次成功地进行了快速繁殖。丁世民^[4]研究发现矮生紫薇的外植体以带腋芽茎段的成活率最高。杨彦伶等^[5]以保康野生紫薇的幼茎为外植体, 瞿宏杰等^[6]以保康紫薇的种子为外植体, 均建立了保康紫薇的快速繁殖体系。Niranjan^[7]等开发了紫薇人工种子胶囊单元的生产技术, 并且分析了影响种子萌发率的制约因素。但其研究仅局限于用固体培养基来诱导嫩茎或种子的萌发, 没有进行生根培养的优化。现以无果紫薇为研究对象, 通过正交试验设计方法, 进行紫薇组织培养快速繁殖, 确定紫薇组织培养关键环节丛生芽诱导、增殖、生根的最佳配方, 为加快紫薇工厂化生产提供理论依据和技术保证。

1 材料与方法

1.1 试验材料

外植体: 无果紫薇带芽的嫩茎, 于 2008 年 9 月采自

湖南省林业科学研究院。

1.2 无菌繁殖系的建立

以无果紫薇带芽的嫩茎为外植体, 先用自来水冲洗 4 h。在超净工作台上用 75% 的酒精浸 30 s, 用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min, 无菌水冲洗 3 次, 备用。切成 1 cm 长的茎段, 接种到 MS+2, 4-D 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 的培养基中进行 25 d 的愈伤组织诱导。培养基均以琼脂 7 g/L 为固化剂, 附加蔗糖 30 g/L, pH(5.8~6.2)。培养温度为(25±2)℃, 光照强度为 2 000~3 000 lx, 光照时间 12 h/d。

1.3 组织培养技术的优化

1.3.1 丛生芽诱导最佳培养基的筛选 在愈伤组织诱导培养 25 d 后, 从中选取浅绿色、有颗粒状突起、无褐变的愈伤组织进行紫薇丛生芽的诱导。在参考文献[4-6]研究的基础上, 生长素和分裂素的配比优化试验采用 3 因素 3 水平正交设计(见表 1), 基本培养基为 MS 培养基。每个处理接 30 瓶, 每瓶接 1 块愈伤组织, 重复 3 次, 25 d 后统计诱导率。

1.3.2 丛生芽增殖最佳培养基的筛选 待无菌苗长至 2~3 cm, 分别切取长度为 1~1.5 cm 的茎段(带 1~2 个腋芽)转接入丛生芽增殖培养基中进行增殖培养。在参考文献[4-6]的研究的基础上, 生长素和分裂素的配比优化试验采用 3 因素 3 水平正交设计(见表 1), 基本培养基为 MS 培养基。每个处理接 30 瓶, 每瓶接 1 个芽苗, 重复 3 次, 30 d 后, 统计芽高大于 1 cm 的芽数。

1.3.3 生根最佳培养基的筛选 当无根苗长至 2~4 cm 时切去基部组织, 接种于生根培养基上进行生根培养。在参考文献[4-6]的研究的基础上, 以基本培养基、NAA、6-

第一作者简介: 曹受金(1972), 男, 湖南衡阳县人, 博士, 副教授, 现主要从事林学的教学和研究工作。E-mail: csj5623263@163.com。

基金项目: 湖南省科技厅科技计划资助项目(2008NK3116)。

收稿日期: 2010-01-08

BA 为 3 因素,采用 3 因素 3 水平正交设计(见表 1)。每个处理接 30 瓶,每瓶接 1 个芽苗,重复 3 次,25 d 后,统计生根率、根长和根数。

表 1 丛生芽诱导、增殖与生根试验因素水平

因素	丛生芽诱导/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			丛生芽增殖/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			丛生芽生根/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		
	NAA	6-BA	KT	NAA	6-BA	KT	基本培养基	NAA	6-BA
水平 1	0.01	0.5	0.1	0.05	0.5	0.1	MS	0.1	0.1
水平 2	0.05	1.0	0.5	0.1	1.0	0.5	1/2MS	0.2	0.5
水平 3	0.1	2.0	1.0	0.2	2.0	1.0	1/4MS	0.5	1.0

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

试验结果表明,不同处理对丛生芽的诱导影响差异较大(见表 2)。9 个处理中紫薇丛生芽诱导率最高的是 4 号处理,即 MS+NAA 0.05 mg/L +6-BA 0.5 mg/L +KT 0.5 mg/L ,诱导率为 79.4 %。此时每个愈伤组织平均形成芽数较多,芽苗生长健壮。方差分析结果表明,各因素对紫薇丛生芽诱导的影响依次为 6-BA>NAA>KT。因子 B(6-BA)的 F 值为 30.89,大于 $F_{0.01}$ 水平,而因子 A(NAA)和 C(KT)的 F 值分别为 4.58 和 1.09,均小于 $F_{0.05}$ 水平,说明细胞分裂素 6-BA 对紫薇丛生芽诱导有显著性影响,而生长素 NAA 和细胞分裂素 KT 各水平对紫薇丛生芽诱导无显著性影响。

表 2 丛生芽诱导的正交实验的结果

处理号	因子种类/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			诱导率/%
	A: NAA	B: 6-BA	C: KT	
1	0.01	0.5	0.1	68.5
2	0.01	1.0	0.5	33.1
3	0.01	2.0	1.0	15.6
4	0.05	0.5	0.5	79.4
5	0.05	1.0	1.0	28.2
6	0.05	2.0	0.1	18.3
7	0.1	0.5	1.0	70.0
8	0.1	1.0	0.1	38.9
9	0.1	2.0	0.5	20.7
F 值	A			4.58
	B			30.89 **
	C			1.09

注: ** $P<0.01$,丛生芽的诱导率(%)=诱导发芽的外植体数/接种后未污染的外植体总数 $\times 100$ 。

2.2 丛生芽的增殖

试验结果表明,不同处理对丛生芽的增殖影响差异很大(见表 3)。9 个处理中紫薇丛生芽增殖系数最高的是 12 号处理,即 MS+NAA 0.05 mg/L +6-BA 2.0 mg/L +KT 1.0 mg/L ,增殖系数为 3.9 且增殖芽苗生长旺盛,苗木生长较快,茎干粗壮,叶色浓绿。方差分析结果表明,各因素对紫薇丛生芽增殖的影响依次为 NAA>

6-BA>KT。因子 A(NAA)和因子 B(6-BA)的 F 值分别为 59.18 和 46.25,均大于 $F_{0.01}$ 水平,因子 C(KT) F 值为 11.33,大于 $F_{0.05}$ 水平,这说明生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 对紫薇丛生芽增殖有极显著性影响,细胞分裂素 KT 对紫薇丛生芽增殖有显著性影响。

表 3 丛生芽增殖的正交实验的结果

处理号	因子种类/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			增殖系数
	A: NAA	B: 6-BA	C: KT	
10	0.05	0.5	0.1	2.7
11	0.05	1.0	0.5	3.2
12	0.05	2.0	1.0	3.9
13	0.1	0.5	0.5	2.3
14	0.1	1.0	1.0	2.4
15	0.1	2.0	0.1	3.0
16	0.2	0.5	1.0	1.5
17	0.2	1.0	0.1	2.1
18	0.2	2.0	0.5	2.5
F 值	A			59.18 **
	B			46.25 **
	C			11.33 *

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$,丛生芽的增殖系数=丛生芽的总数/接种后未污染的外植体总数。

2.3 生根培养基的筛选

从表 4 可以看出,在生根培养试验中生根率最高的是 24 号处理,即 1/2MS+NAA 0.5 mg/L +6-BA 0.1 mg/L ,生根率为 87.5%,平均根长为 1.7 cm ,平均根数达到了 2.7 条。平均根长最长的是 21 号处理(2.1 cm)。平均根数最多的是 20 号处理(3.6 条)。

生根率、平均根长和平均根数的方差分析结果表明,各因素对生根率的影响依次为基本培养基>NAA>6-BA。因子 A(基本培养基)和因子 B(NAA)的 F 值分别为 12.56 和 9.68,均大于 $F_{0.05}$ 水平,因子 C(6-BA) F 值为 3.25,小于 $F_{0.05}$ 水平,这说明基本培养基和生长素 NAA 对紫薇生根培养有显著性影响,细胞分裂素 6-BA 对紫薇生根培养无显著性影响。各因素对平均根长的影响依次为基本培养基>NAA>6-BA;各因素对平均根数的影响依次为 NAA>基本培养基>6-BA。3 个因子的 F 值都小于 $F_{0.05}$ 水平,说明 3 种基本培养基、生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 各水平对紫薇平均根长和平均根数都无显著性影响。综合比较 9 个试验处理的生根率、平均根长、平均根数生长结果,生根培养基选用生根率最高,根生长情况旺盛,平均根长较长和平均根数较多的 24 号处理。即紫薇生根培养适合配方为 1/2MS+NAA 0.5 mg/L +6-BA 0.1 mg/L 。

表 4 生根培养的正交实验的结果

处理号	因子种类 mg · L ⁻¹			平均根数/条	生根率/ %	平均根长/ cm
	A: 基本培养基	B: NAA	C: 6-BA			
19	MS	0.1	0.1	2.8	66.2	1.5
20	MS	0.2	0.5	3.6	76.1	1.8
21	MS	0.5	1.0	3.2	80.6	2.1
22	1/2MS	0.1	0.5	2.5	71.4	1.4
23	1/2MS	0.2	1.0	3.3	82.3	1.9
24	1/2MS	0.5	0.1	2.7	87.5	1.7
25	1/4MS	0.1	1.0	2.3	51.2	1.8
26	1/4MS	0.2	0.1	3.0	63.7	1.6
27	1/4MS	0.5	0.5	2.2	68.5	1.3
F 值	A			1.12	12.56 *	2.67
	B			1.45	9.68 *	2.44
	C			0.89	3.25	1.86

注 * $P<0.05$, 生根率(%)= 生根芽苗的总数/接种后未污染的外植体总数×100; 平均根数= 总根数/生根苗的总数; 平均根长= 总根长/生根苗的总数。

3 结论与讨论

培养基中的生长素和细胞分裂素对紫薇丛生芽诱导、增殖和生根具有十分复杂而又重要的作用, 一般情况下, 细胞分裂素与生长素之间的不同浓度配比可以有效地控制植物组织培养过程中芽和根的发生, 生长素和细胞分裂素比值高时, 会诱导根的形成, 生长素和细胞分裂素比值低时, 促进芽的分化与增殖。该研究通过正交试验设计, 筛选出最佳诱导培养基为: MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L; 最佳增殖培养基为: MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L; 生根培养适合的培养基为: 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 0.1 mg/L。

在丛生芽诱导分化过程中, 6-BA 作用更稳定, 低浓度的 6-BA 可以分化芽, 但芽分化过多会影响成苗。与 6-BA 相比, KT 诱导芽分化的活性较弱, 但能促进幼苗节间、叶片的伸长, 容易成苗。此外, 生长素 NAA 能够促进细胞伸长生长, 有利于丛生芽苗的生长。生长素和细胞分裂素配合, 共同促进芽的分化与生长。在丛生芽增殖过程中, 6-BA、KT 和 NAA 对紫薇丛生芽增殖培养影响显著, 其不同的浓度水平都会对丛生芽增殖效果产

生巨大的影响。

在生根培养基的筛选过程中, 基本培养基、生长素 NAA 对紫薇生根率有显著性影响, 细胞分裂素 6-BA 对紫薇生根培养无显著性影响。基本培养基、生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 各水平对紫薇平均根长和平均根数都无显著性影响。

参考文献

[1] 陈俊愉. 中国花卉品种分类学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001.
[2] 周玉敏, 徐自警. 紫薇的繁殖栽培技术[J]. 中国林副特产, 2009(1): 46-47.
[3] 姜旭红, 宋刚, 张虎, 等. 日本紫薇的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004(6): 707.
[4] 丁世民. 矮生紫薇离体快繁及其应用的技术研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
[5] 杨彦伶, 杨柳, 张亚东. 紫薇组织培养技术[J]. 林业科技开发, 2005(2): 50-52.
[6] 瞿宏杰, 王会. 不同培养基对紫薇试管苗的诱导、增殖、生根的影响[J]. 安徽农业科学, 2008(21): 8906-8907.
[7] Niranjani M H, Sudarshana M S. In vitro response of encapsulated somatic embryos of Lagerstroemia indica L. [J]. Indian J. Exp. Biol, 2005, 43(6): 552-554.

Tissue Culture and Rapid Propagation of Lagerstroemia indica

CAO Shou-jin, LIU Hui-hua, TIAN Ying-cui

(Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004)

Abstract: By orthogonal experiment the tendergreen stems were used as explants to study the effect of different medium on cluster shoots induction, proliferation and rooting experiment of *Lagerstroemia indica*. The results indicated that the significant impact to *Lagerstroemia indica* cluster shoots induction cultivated on different concentrations of hormone combinations. The optimal induction medium was MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L. There was a very significant impact to *Lagerstroemia indica* cluster shoots proliferation cultivated on different concentrations of hormone combinations. The optimal proliferation medium was MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+KT 1.0 mg/L. There was great impact to *Lagerstroemia indica* rooting cultivated in different treatments. The adaptive rooting medium was 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+6-BA 0.1 mg/L.

Key words: *Lagerstroemia indica*; cluster shoots induction; cluster shoots proliferation; rooting cultivation