

美国红叶紫薇的组织培养与快速繁殖

陈怡佳, 崔媛媛, 张晓明, 邓小梅*

华南农业大学林学与风景园林学院, 广东省森林植物种质创新与应用重点实验室, 广州510642

摘要: 以美国红叶紫薇优株当年生半木质化枝条为外植体, 采用丛芽发生途径, 建立其组培快繁技术体系。结果表明, 最适腋芽诱导培养基为MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+IBA 0.05 mg·L⁻¹, 诱导率高达88%; 最佳增殖培养基为ZW (改良的WPM)+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+IBA 0.05 mg·L⁻¹, 增殖系数可达5.21, 芽高4.6 cm; 生根最适培养基为ZW+IBA 0.5 mg·L⁻¹, 生根率100%, 平均每株苗生根4~5条。炼苗后, 移栽于泥炭土和珍珠岩3:1 (V/V)的混合基质中, 成活率高达95%以上。

关键词: 美国红叶紫薇; 组织培养; 基本培养基; 快速繁殖

Tissue Culture and Rapid Micropropagation of *Lagerstroemia indica* 'Pink Velour'

CHEN Yi-Jia, CUI Yuan-Yuan, ZHANG Xiao-Ming, DENG Xiao-Mei*

College of Forestry and Landscape Architecture, Guangdong Key Laboratory for Innovative Development and Utilization of Forest Plant Germplasm, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: Tissue cultural techniques for *Lagerstroemia indica* 'Pink Velour' were studied through clustered bud cultivation with 1-year-old semi-lignified shoots as explants. The results showed that the suitable induction medium was MS medium containing 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA and 0.05 mg·L⁻¹ IBA, the induction rate of which reached 88%. The suitable proliferation medium with the robust and orderly buds was ZW (modified WPM) medium containing 0.5 mg·L⁻¹ 6-BA and 0.05 mg·L⁻¹ IBA, the multiplication coefficient of which was 5.21 roughly. The suitable rooting medium was ZW medium containing 0.5 mg·L⁻¹ IBA, the rooting rate of which reached 100%. The transplanting matrix were peat and perlite (3:1, V/V), and the transplanting survival rate of which was up to 95%.

Key words: *Lagerstroemia indica* 'Pink Velour'; tissue culture; basal medium; rapid propagation

紫薇是千屈菜科(Lythraceae)紫薇属落叶小乔木或灌木, 又名百日红、痒痒树、满堂红等, 其树形优美, 在炎夏开花, 花色艳丽, 花期长, 是优良的园林观赏树种。美国红叶紫薇是由湖南省林科院于2003年从美国引进的紫薇新优品种(李永欣等2012), 其新叶和嫩梢为酒红色, 具有良好的观叶效果, 花深粉红色, 花序长可达70 cm, 繁密而高雅, 具有极高的观赏价值。在广州6月上旬始花, 花期长达5个月。其适应性强, 耐旱, 可耐-23℃的低温。可用于园林绿化中的花带、花丛及其他配植, 也可制作树桩或盆景, 是绿化美化环境和家庭养花的优良园林植物, 应用前景巨大。

紫薇常规可采用种子繁殖, 但实生苗花色易发生变异(王晓明等2008)。目前, 在生产上美国红叶紫薇主要靠扦插繁殖, 插穗木质化程度极大地影响扦插生根, 半木质化程度的插穗成活率高(李

永欣等2012)。美国红叶紫薇为落叶树种, 新枝萌发后, 较好扦插时间为7~8月份, 扦插生产时间有限, 扩繁速度慢, 导致其苗木价格居高不下, 制约了其快速推广。本研究建立的美国红叶紫薇组培快繁技术体系为其规模化生产提供了有效途径。目前尚未见美国红叶紫薇的组培快繁报道。

材料与方法

1 植物材料

美国红叶紫薇(*Lagerstroemia indica* L. 'Pink Velour')优株引自湖南林业科学研究院, 为二年生扦插植株。

收稿 2015-03-20 修定 2015-06-02

资助 国家林业局林业公益性行业科研专项(201404116)。

* 通讯作者(E-mail: dxmei2006@scau.edu.cn; Tel: 020-85280259)。

2 外植体处理

剪取生长旺盛、无病虫害的当年生半木质化枝条, 剪去叶片上面部分, 留3~4 mm, 放入低浓度洗洁净水中漂洗, 用细毛刷清洗叶腋, 然后置于流水下冲洗30 min。在超净工作台上切成2~3 cm的带节茎段, 用75%酒精浸泡30 s, 无菌水冲洗1次; 用0.1%升汞溶液先消毒2~5 min, 其间不断摇晃, 无菌水冲洗1次; 再用0.1%升汞溶液先消毒2 min, 无菌水冲洗5次。切除上下切口处的褐化部分, 将材料切成1.5~2.0 cm、带有1~2个节间的茎段, 接种到诱导培养基上。

3 腋芽诱导培养

采用以下3种培养基进行腋芽诱导: (1) MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+IBA 0.02 mg·L⁻¹, (2) MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+IBA 0.05 mg·L⁻¹, (3) MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+IBA 0.1 mg·L⁻¹, 均添加白糖30 g·L⁻¹、卡拉胶8 g·L⁻¹, pH 5.8。每瓶接种1个外植体, 50瓶为一个重复, 重复3次。培养温度为(25±2) °C, 光照时间12 h·d⁻¹, 光强为30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹。20 d后, 观察腋芽生长状况, 统计诱导率和褐化率: 诱导率=(诱导率萌芽外植体数/接种外植体数)×100%; 褐化率=(褐化外植体/接种外植体数)×100%。

4 增殖培养

4.1 基本培养基的筛选

待诱导出的腋芽长至2 cm左右, 接入丛芽诱导培养基。采用1/2MS、MS、WPM、B₅、ZW(改良的WPM)共5种不同的基本培养基, 均添加6-BA 1.0 mg·L⁻¹、IBA 0.05 mg·L⁻¹、白糖30 g·L⁻¹、卡拉胶8 g·L⁻¹。每处理接种10瓶, 每瓶接种6个芽段, 重复3次。

4.2 植物生长调节剂水平及配比的筛选

采用L₉(3⁴)的正交实验设计, 以ZW为基本培养基, 设置6-BA (0.2、0.5、1.0 mg·L⁻¹)、IBA (0.02、0.05、0.1 mg·L⁻¹)二因素三水平共9个处

理。每处理10瓶, 每瓶接种6个芽丛, 重复3次。培养25 d后统计增殖系数=培养25 d后的总芽数/接种时的芽数, 并记录增殖芽生长情况。

5 生根培养

选取生长健壮、高1.5~2 cm的继代芽进行生根培养。以ZW作为基本培养基, 添加不同浓度(0.1、0.2、0.5、0.6、0.7 mg·L⁻¹)的IBA。每个浓度接种15瓶, 每瓶接种6株, 重复3次。15 d后统计生根率和生根系数: 生根率=(生根苗数/接种苗数)×100%; 生根系数=生根总数/接种苗数。

6 炼苗与移栽

生根培养20 d, 移至温室炼苗5~7 d, 然后将生根苗取出, 用流水洗净根部培养基, 移入已消毒处理的泥炭土和珍珠岩(3:1, V/V)的混合基质中, 覆盖并加盖遮阳网, 保持相对湿度80%~90%, 温度30 °C左右, 30 d后统计移栽成活率=(存活苗数/移栽苗数)×100%。

实验结果

1 腋芽诱导

由表1可见, 在3种培养基上茎段的褐化率均较低, 为6%~14%, 诱导率较高(80%以上), 表明以半木质化枝条作为外植体, 可成功建立无菌系。在培养基MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+IBA 0.05 mg·L⁻¹上腋芽诱导率最高, 达88%, 褐化率为8%, 且萌动最早, 接种5 d后开始萌动, 腋芽生长健壮, 叶色翠绿(图1-A), 此培养基最适合美国红叶紫薇的腋芽诱导。

2 增殖培养

2.1 基本培养基对增殖的影响

表2显示, 以MS及B₅为基本培养基, 增殖系数低, 芽细小、长势弱, 甚至会出现死亡, 表明这2种培养基不适合美国红叶紫薇的增殖培养; 在1/2MS与WPM基本培养基上, 芽较健壮, 但增值系数及平

表1 美国红叶紫薇茎段的腋芽诱导培养

Table 1 Bud induction from stem segments of *L. indica* 'Pink Velour'

培养基	诱导率/%	褐化率/%	萌动时间/d	生长状况
(1) MS+6-BA 0.5 mg·L ⁻¹ +IBA 0.02 mg·L ⁻¹	80	6	8	芽短, 叶色翠绿
(2) MS+6-BA 1.0 mg·L ⁻¹ +IBA 0.05 mg·L ⁻¹	88	8	5	芽长而壮, 叶色翠绿
(3) MS+6-BA 2.0 mg·L ⁻¹ +IBA 0.1 mg·L ⁻¹	82	14	8	外植体基部褐化严重, 芽短, 叶小

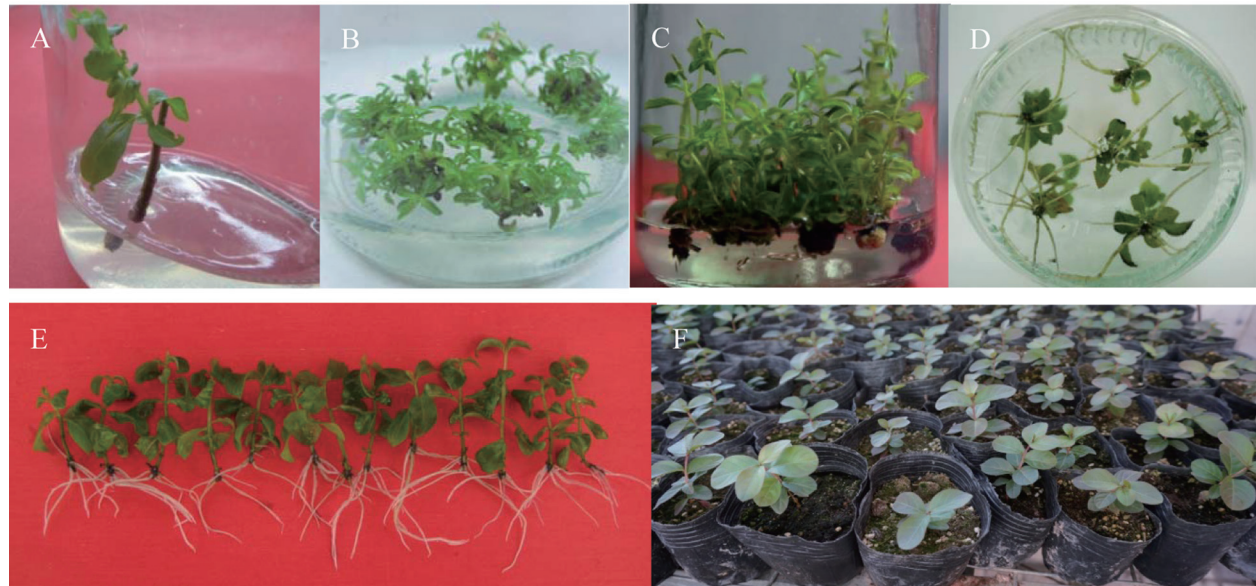


图1 美国红叶紫薇的组织培养与植株再生

Fig.1 Tissue culture and plant regeneration of *L. indica* 'Pink Velour'

A: 腋芽诱导; B: 1/2MS基本培养基上的增殖培养; C: ZW培养基上的增殖培养; D: 生根瓶苗; E: 组培生根苗根系; F: 生根苗移栽。

表2 不同基本培养基对美国红叶紫薇芽增殖的影响

Table 2 Effects of various basal media on shoot multiplication of *L. indica* 'Pink Velour'

基本培养基	平均芽高/cm	增殖系数	生长状况
1/2MS	1.6	2.79	芽嫩绿、细弱,基部萌生不定芽多而小
MS	<1.0	1.85	芽发黄、掉叶,新萌腋芽小而弱,甚至死亡
WPM	2.5	3.02	芽偏黄,基部不定芽多且较大
B ₅	1.2	1.65	芽发黄,新叶粉红,继而衰老死亡
ZW	3.4	3.34	芽翠绿、健壮,不定芽多,芽伸长生长快

均芽高都不及ZW培养基(图1-B); ZW为美国红叶紫薇丛生芽诱导最适基本培养基,增殖系数及平均芽高均最高,丛芽生长健壮,叶片翠绿而开展(图1-C)。

2.2 不同植物生长调节剂及配比对增殖的影响

表3显示,随着6-BA浓度的提高,美国红叶紫薇分化的不定芽数目增多,当6-BA浓度为0.5 mg·L⁻¹,小芽数多,叶片开展,叶色翠绿,植株健壮,有效芽(芽高>1 cm)数也较多。当添加1.0 mg·L⁻¹ 6-BA时,分化的小芽数目最多,叶片较小,但有效芽数大幅降低。IBA浓度为0.02~0.05 mg·L⁻¹时,芽健壮,基部愈伤组织较少;当IBA浓度达到0.1 mg·L⁻¹,基部愈伤组织增多,叶片上出现霜状愈伤组织组织,芽苗长势较差。综合增殖系数及芽生长状况,ZW+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+IBA 0.2 mg·L⁻¹为美

国红叶紫薇最适的增殖培养基,增殖系数平均可达到5.21,叶色翠绿,植株健壮。

3 生根培养及移栽

将芽接种在添加不同浓度IBA的生根培养基上,5~6 d都开始生根。IBA浓度为0.1 mg·L⁻¹时,根细长、植株矮小;随着IBA浓度的升高,平均根长逐渐降低,生根系数先升高后降低,根系由细弱变为粗壮。IBA浓度为0.5 mg·L⁻¹时,植株根系发达,叶色翠绿,植株增高快,幼苗生长状况好;当IBA浓度超过0.5 mg·L⁻¹后,植株叶片出现卷曲,根系短粗;当IBA浓度达到0.7 mg·L⁻¹时,叶片表面出现白色霜状愈伤组织(表4)。因此,美国红叶紫薇最佳生根培养基为ZW+IBA 0.5 mg·L⁻¹,生根率可达100%(图1-D、E)。

美国红叶紫薇经炼苗后移栽到灭菌基质中,

表3 不同浓度6-BA和IBA对美国红叶紫薇增殖的影响

Table 3 Effects of different concentrations of 6-BA and IBA on the multiplication of *L. indica* 'Pink Velour'

浓度/mg·L ⁻¹		增殖系数	生长状况
6-BA	IBA		
0.20	0.02	2.78	芽高低不齐、较细弱
0.20	0.05	2.89	芽细弱
0.20	0.10	3.15	芽细弱, 叶片发黄
0.50	0.02	4.53	芽健壮, 叶开展, 伸长生长快
0.50	0.05	5.21	芽健壮、伸长生长快、整齐
0.50	0.10	4.12	芽细弱, 叶片上出现愈伤组织
1.00	0.02	3.15	芽多、小
1.00	0.05	3.26	芽多、较大
1.00	0.10	2.87	芽长势差, 叶片出现玻璃化

表4 不同浓度IBA对美国红叶紫薇生根的影响

Table 4 Effects of different concentrations of IBA on rooting of *L. indica* 'Pink Velour'

IBA浓度/mg·L ⁻¹	平均根长/cm	生根系数	生根率/%	生长状况
0.1	3.52	2.73	63.6	植株矮小, 叶翠绿, 根细长
0.2	3.45	2.92	96.1	植株矮小, 叶翠绿且展开, 根细长
0.5	3.31	3.23	100.0	植株健壮, 芽苗增高快, 叶翠绿, 根系粗壮
0.6	2.01	4.54	95.7	植株高, 叶翠绿, 叶片微卷, 根粗短
0.7	1.85	3.45	89.4	植株矮小, 根粗短, 叶翠绿, 叶表面出现白色霜状愈伤组织

在广州10月移栽, 4~5 d新根萌发, 10 d左右开始萌发新叶, 新叶嫩绿开展, 揭开遮阳网几天后转为酒红色。30 d后苗高达3~4 cm (图1-F), 移栽成活率达到95%以上。

讨 论

本研究从美国红叶紫薇优良母株扦插苗上直接取材, 诱导腋芽生成植株, 克服了实生繁殖易丧失优良种性的缺点(王沙沙等2014), 可以进行大量快速繁殖, 为工厂化生产提供技术支持。

各种植物所需营养成分不尽相同, 因此, 选择合适的基本培养基对植物组织培养成败至关重要(钟宇等2001)。本文结果显示, MS基本培养基可用于美国红叶紫薇的腋芽诱导, 且诱导率高, 褐化率低, 芽翠绿健壮, 但不适合于增殖培养。这可能是在腋芽诱导时主要依靠外植体自身供给营养, 当新生腋芽脱离母体接种到培养基上时, 因不适应MS基本培养中无机营养离子浓度及配比而出现发黄掉叶, 甚至死亡的现象, 这与杨彦伶等(2005)和李晓青等(2009)的研究结果不符。李国瑞(2010)

探讨了基本培养基对紫薇种子萌发的影响, 并认为MS基本培养基是紫薇种子无菌发芽的最佳培养基, 这可能是因为紫薇茎段与种子作为不同外植体, 对基本培养基的适应有较大差异。在本研究中, 美国红叶紫薇也可在1/2MS上继代培养, 这与黄钦才(1984)、宋平(2009)对紫薇离体培养结论相似。但在1/2MS基本培养基上芽细弱矮小, 增殖系数不高, 采用ZW作为继代培养基, 增殖系数高, 芽苗生长健壮, 叶色翠绿。这可能是因为不同基因型在植株再生过程中对所需营养成分仍存在差异(孙洪雁等2014; Hand等2014; Poothong和Reed 2014)。

参考文献

- 黄钦才(1984). 紫薇腋芽培养. 植物生理学通讯, (3): 44
 李国瑞(2010). 紫薇快速繁殖及植株再生的研究[硕士论文]. 武汉: 华中农业大学
 李晓青, 王慧瑜, 张晓申, 赵海红(2009). 紫薇组培快繁技术研究. 现代农业科技, (19): 91, 93
 李永欣, 余格非, 王晓明, 曾慧杰(2012). 美国红叶紫薇扦插技术研究. 湖南林业科技, 39 (5): 112~114

- 宋平(2009). 紫薇再生体系的建立及多倍体诱导研究[硕士学位论文]. 北京: 北京林业大学
- 孙洪雁, 孙清荣, 李国田, 张琼, 李芹(2014). 苹果矮化砧木‘JM7’的组织培养及其离体叶片不定梢再生. 植物生理学报, 50 (6): 779~784
- 王沙沙, 潘学军, 张文娥(2014). 铁核桃离体培养与快速繁殖. 植物生理学报, 50 (4): 527~534
- 王晓明, 李永欣, 余格非, 曾慧杰(2008). 紫薇新品种及繁殖技术. 中国城市林业, 6 (1): 79~80
- 杨彦伶, 杨柳, 张亚东(2005). 紫薇组织培养技术. 林业科技开发, 19 (2): 50~52
- 钟宇, 张健, 罗承德, 陈其兵(2001). 西洋杜鹃组织培养技术体系研究(I)——基本培养基和外植体的选择. 四川农业大学学报, 19 (1): 37~39
- Hand C, Maki S, Reed BM (2014). Modeling optimal mineral nutrition for hazelnut micropropagation. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 119: 411~425
- Poothong S, Reed BM (2014). Modeling the effects of mineral nutrition for improving growth and development of micropropagated red raspberries. *Sci Hortic*, 165: 132~144