

文章编号:1001-7380(2017)03-0015-04

红叶紫薇“一步法”快速繁殖试验

吕 铭¹,王肖雄²,何汝峰¹,胡恒康¹,张启香^{1*}

(1. 浙江农林大学 浙江 临安 31100; 2. 宁波林丰种业科技有限公司 浙江 宁波 315601)

摘要:以红叶紫薇当年生新枝具腋芽茎段为外植体材料,研究其灭菌时间长短对外植体污染率及腋芽萌发率的影响,根据基本培养基上其离体腋芽萌发诱导情况,对培养基(MS,1/2MS,WPM,1/2WPM)进行筛选,并根据植物生长调节剂(BA,NAA,KT)及其质量浓度的不同配合,筛选出无菌苗“一步法”增殖、生根培养基。试验结果显示:使用0.1% HgCl_2 对外植体灭菌12 min,能在保证低污染率(13.33%)的同时,获得较高的腋芽萌发率(80.00%);1/2MS培养基上的腋芽萌发率(96.67%)和腋芽长度(1.60 cm)均显著高于其他3种培养基;在1/2MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L KT培养基中,无菌芽可同时增殖及生根,芽增殖系数(4.67)、苗高(2.53 cm)、生根率(100%)及根数(4.33条)均显著高于其他处理。

关键词:红叶紫薇;快速繁殖;植物生长调节剂

中图分类号:S723.1⁺32;S685.99

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2017.03.004

Micro-propagation of Red Crape Myrtle

LYU Ming¹,WANG Xiao-xiong²,HE Ru-feng¹,HU Heng-kang¹,ZHANG Qi-xiang^{1*}

(1. Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, China; 2. Ningbo Linfeng Seed Industry Co. Ltd., Ningbo 315601, China)

Abstract: The annual shoots of Red Crape Myrtle were used as explant for in vitro micro-propagation. Different sterilization manners, basal media and plant growth regulators were selected for one-step multiplication. The results showed that HgCl_2 sterilization for 12 min could keep explant in low contamination percentage but high germination rate. The germination rate (up to 96.67%) of axillary bud and bud length (1.6 cm) of explant cultured on 1/2MS basal medium were significantly higher than those on MS, WPM and 1/2MS. The in vitro shoots could grow and multiply in one-step. Shoot length (up to 2.53 cm), root percentage (100%) and root number (4.33) of in vitro shoots cultured on 1/2MS supplemented with 1.0 mg/L BA, 0.1 mg/L KT were significantly higher than those on other treatments. And the multiplication coefficient could also reach 4.67.

Key words: *Lagerstroemia indica* Pink Velour;Rapid micro-propagation;Plant growth regulator

紫薇(*Lagerstroemia indica* L.)又名痒痒花,痒痒树,百日红,无皮树,是千屈菜科(Lythraceae)紫薇属一种落叶灌木或小乔木^[1],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,大多叶色为绿色。红叶紫薇是近年来培育出的紫薇新优品种,其新叶和嫩梢为酒红色,花深粉红色,花序长可达70 cm,繁密而高雅,花期长达5个月,具

有极高的观赏价值。红叶紫薇(*L. indica* Pink Velour)适应性强,耐旱、耐寒,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^[2]。目前,普通紫薇通常以扦插、组织培养等方式繁殖。但是其中再生体系建立不完整,很多研究局限于丛生芽诱导阶段,生根和组织培养苗移

收稿日期:2017-04-29;修回日期:2017-05-17

基金项目:浙江省大学生新苗人才计划项目“红叶紫薇快繁关键技术的研究”(2016R412024)

作者简介:吕 铭(1995-),男,浙江桐乡人,大学本科。主要从事观赏植物组织培养研究工作。

*通信作者:张启香(1975-),女,江苏南京人,博士,教授。主要从事植物组织培养和发育生物学研究工作。

栽方面研究不够,没有进行大规模生产验证,因此,在指导生产应用上还存在一定的缺陷,难以满足科研、生产的需求。另一方面,通过种子建立再生体系后代容易产生表型分离和变异,所以此种方法不适于杂交品种^[3]。

本试验以美国红叶紫薇优株的当年生半木质化枝条为外植体,采用丛芽发生途径,通过增殖、生根,建立了组织培养快繁体系。本研究以红叶紫薇1年生新枝为外植体,通过腋芽诱导,并将无菌芽“一步法”增殖和生根,可大大缩短红叶紫薇苗快繁周期,节省大量人工成本,为红叶紫薇工厂化生产提供了良好的技术平台。

1 材料与方 法

1.1 材 料

所用材料由浙江农林大学智能温室以及浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室培育基地提供。选取长势健壮的红叶紫薇1年生半木质化具腋芽,修剪后长度约为3 cm的新枝为外植物体进行培养。

1.2 方 法

1.2.1 适宜的外植体灭菌时间 将材料分别用0.1% HgCl₂处理8,10,12,14 min,经无菌水冲洗3—5次,置于超净工作台上备用。接种于MS培养基中,各试验每个处理接种3管(每管接种1个)。培养条件为:光照时间每天16 h,培养温度在(25±1)℃左右,培养湿度保持在80%以上,光照度为3 000 lx。培养10 d后统计污染率和腋芽萌发率。

1.2.2 基本培养基筛选 选取在MS培养基中长势一致的红叶紫薇无菌苗(于实验室已接种生长2月左右的无菌苗),在超净工作台上分别接种到MS,1/2MS,WPM,转1/2WPM 4种培养基,蔗糖30 g/L。各试验每个处理接种3管(每管接种1个)。培养条件同上。培养28 d后,统计腋芽萌发率和腋芽长度。

1.2.3 无菌苗一步法增殖生根培养基筛选 利用筛选的最佳基本培养基,选取在MS培养基中长势一致的红叶紫薇无菌苗(与基本培养基筛选中材料相同),采用正交试验,基本培养基1/2MS附加BA(0,0.5,1.0,2.0 mg/L),NAA(0,0.01,0.02,0.04 mg/L),KT(0,0.1,0.2,0.4 mg/L)3因素4水平的16组试验处理。每个处理接种10管(每管接种1个),培养28 d后,统计增殖系数、苗高度、生根率以

及每株生根数。通过4个指标得出培养红叶紫薇“一步法”增殖、生根最佳培养基。

1.3 数据处 理

应用SPSS 19系统软件对数据进行统计并进行显著性分析。

2 结 果 与 分 析

2.1 灭菌时间对外植体污染率及腋芽萌发率的影响

以红色紫薇为外植体,进行灭菌时间对外植体污染率和萌发率影响的试验,外植体灭菌培养10 d后观察发现,不同处理时间对外植体的污染率和腋芽萌发率均有显著性差异(见表1)。处理8 min污染率最高,外植体腋芽萌发率也最高,随着灭菌时间增加,污染率逐渐下降,萌发率也略下降,其中灭菌12 min的处理表现为低污染率和高萌发率。因此,处理12 min为红叶紫薇外植体的最佳灭菌时间。

表 1 灭菌时间对污染率的影响

处理灭菌时间/min	污染率/%	腋芽萌发率/%
8	100.00±0.00 a	93.33±5.77 a
10	63.33±5.77 b	83.33±15.28 a
12	13.33±5.77 c	80.00±10.00 a
14	0.00±0.00 d	3.33±15.49 b

表中数据为平均值±标准差,同列中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)

2.2 基本培养基对红叶紫薇腋芽萌发的影响

以MS,1/2MS,WPM,1/2WPM 4种培养基培养28 d后,统计腋芽萌发率和腋芽长度。由方差分析可知,不同基本培养基对红叶紫薇腋芽诱导萌发以及腋芽伸长均有显著性差异(见表2),其中1/2MS培养基的外植体腋芽萌发率及芽都长于其他3个处理,腋芽萌发率为96.67%,腋芽长度为1.6 cm。幼苗叶片颜色深绿,茎健壮;以MS为基本培养基,腋芽萌发率及腋芽长度分别为76.67%和0.57 cm,但部分幼苗褐化,叶片深绿色,茎略显红紫色;当培养基为WPM时,腋芽萌发率下降至53.33%,腋芽长度仅为0.17 cm左右,幼苗颜色略显红色,表现为矮小,并伴有褐化现象的发生;当培养基为1/2WPM的时候,腋芽萌发率低至16.67%腋芽长度为0.33 cm左右,该培养基培养的幼苗褐化现象严重,死亡率高。

2.3 不同种类生长调节物质对红叶紫薇“一步法”快速繁殖的影响

由方差分析可知,以 1/2MS 为基本培养基,分别添加不同质量浓度的 BA,NAA,KT,培养 28 d 后,生长调节物质对红叶紫薇增殖生根具显著性影响(见表 3,图 1)。当培养基中添加 1.0 mg/L BA,0.1 mg/L KT 时,红叶紫薇无菌苗增殖系数、生根率及每株苗生根数量显著高于其他处理。芽增殖系数 4.67,苗高 2.53 cm,生根率为 100%,平均根数达到 4.33 条。研究结果表明,1/2MS 基本培养基,添加 1.0 mg/L BA, 0.1 mg/L KT 对红叶紫薇“一步法”

成苗最佳。

表 2 不同基本培养基对茎段腋芽萌发诱导的影响

处理	腋芽萌发率/%	腋芽长度/cm
MS	76.67 ± 11.55 b	0.57 ± 0.21 b
1/2MS	96.67 ± 5.77 a	1.60 ± 0.36 a
WPM	53.33 ± 5.77 c	0.17 ± 0.58 b
1/2WPM	16.67 ± 5.77 d	0.33 ± 0.15 b

表中数据为平均值±标准差,同列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

表 3 不同处理对无菌苗增殖以及生根的影响

处理	生长调节物质/(mg/L)			增殖系数/%	苗高度/cm	生根率/%	生根数/个
	BA	NAA	KT				
1	0	0	0	1.00 ± 0.00 c	0.63 ± 0.15 bc	6.67 ± 5.57 c	0.67 ± 0.58 b
2	0	0.01	0.1	1.00 ± 0.00 c	0.73 ± 0.31 bc	6.67 ± 5.57 c	1.00 ± 1.00 b
3	0	0.02	0.2	1.00 ± 0.00 c	0.60 ± 0.17 bc	13.33 ± 15.28 c	0.67 ± 0.58 b
4	0	0.04	0.4	1.00 ± 0.00 c	0.40 ± 0.20 bc	26.67 ± 25.17 c	1.33 ± 1.15 b
5	0.5	0.01	0.2	1.67 ± 0.58 bc	0.47 ± 0.15 bc	36.67 ± 11.55 bc	1.67 ± 1.15 b
6	0.5	0	0.4	1.33 ± 0.58 bc	0.60 ± 0.20 bc	36.67 ± 20.82 bc	1.33 ± 0.58 b
7	0.5	0.04	0	2.00 ± 1.00 bc	0.57 ± 0.25 bc	23.33 ± 23.09 c	1.00 ± 0.00 b
8	0.5	0.02	0.1	1.67 ± 1.15 bc	0.50 ± 0.17 bc	20.00 ± 10.00 c	1.67 ± 0.58 b
9	1	0.02	0.4	1.67 ± 0.58 bc	0.70 ± 0.26 bc	30.00 ± 10.00 bc	1.67 ± 1.15 b
10	1	0.04	0.2	2.00 ± 0.00 bc	0.90 ± 0.46 bc	66.67 ± 15.28 ab	2.33 ± 0.58 ab
11	1	0	0.1	4.67 ± 1.15 a	2.53 ± 0.40 a	100.00 ± 0.00 a	4.33 ± 1.15 a
12	1	0.01	0	1.67 ± 0.58 bc	0.40 ± 0.10 bc	80.00 ± 20.00 a	1.33 ± 0.58 b
13	2	0.04	0.1	3.67 ± 2.08 bc	0.27 ± 0.58 c	66.67 ± 15.28 ab	1.00 ± 0.00 b
14	2	0.02	0	4.33 ± 0.58 bc	0.23 ± 0.15 c	13.33 ± 5.77 c	1.00 ± 0.00 b
15	2	0.01	0.4	4.67 ± 2.30 b	0.17 ± 0.12 c	16.67 ± 5.77 c	1.33 ± 0.58 b
16	2	0	0.2	4.33 ± 0.58 bc	0.30 ± 0.10 c	20.00 ± 10.00 c	1.00 ± 0.00 b

表中数据为平均值±标准差,同列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

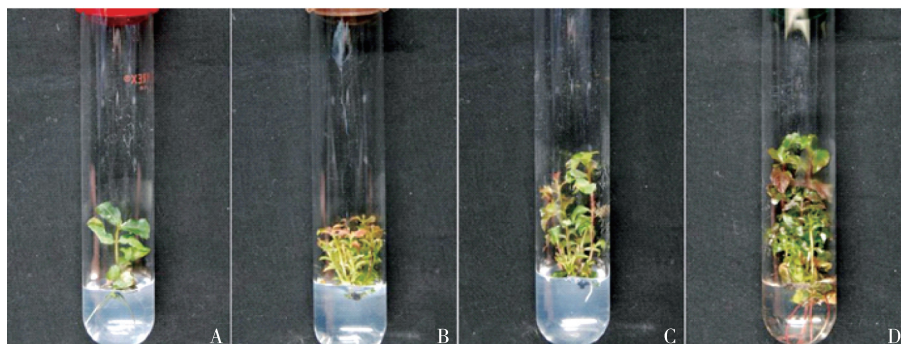
3 讨论

本试验对红叶紫薇外植体的培养条件进行初步研究,合适的消毒剂及其用量和消毒处理时间对于带腋芽的红叶紫薇外植体萌发有着显著差异。具体为 0.1% HgCl₂ 处理 12 min 为最佳的处理时间,表现为低污染率(13.33%)的同时有较高的萌发率(80.00%)。

试验前,笔者查阅相关资料发现:低质量分数的无机盐对于红叶紫薇的诱导萌发效果较好,所以

本试验采用 MS,1/2MS,WPM,1/2WPM 4 种培养基对红叶紫薇进行筛选,从而得出最佳萌发培养基。重点关注 1/2MS 培养基和 1/2WPM 培养基。试验证明,培养基 WPM 对红叶紫薇的生长萌发没有明显效果。由试验数据及其方差分析发现,1/2MS 培养基的效果显著高于其他 3 种基本培养基。

通过培养基筛选得出最佳培养基 1/2MS 后,采用正交试验,1/2MS 培养基附加 BA(0,0.5,1.0,2.0 mg/L),NAA(0,0.01,0.02,0.04 mg/L),KT(0,0.1,0.2,0.4 mg/L)3 因素 4 水平的 16 组试验处



A 1/2MS 基本培养基 不添加任何植物生长调节剂

B 1/2MS 基本培养基 添加 2.0 mg/L BA, 0.04 mg/L NAA, 0.1 mg/L KT

C 1/2MS 基本培养基 添加 1.0 mg/L BA, 0.01 mg/L NAA, 0.0 mg/L KT

D 1/2MS 基本培养基 添加 1.0 mg/L BA, 0.00 mg/L NAA, 0.1 mg/L KT

图 1 不同植物生长调节剂与质量浓度对红叶紫薇“一步法”增殖生根的影响

理。研究表明,红叶紫薇腋芽诱导萌发对于无机盐需求较低,在丛生芽诱导分化过程中,6-BA 作用更稳定,低质量浓度的 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,其不同的质量浓度水平都会对丛生芽增殖效果产生巨大的影响^[5]。正交试验中发现,13—16 组处理中高质量浓度 6-BA 使得红叶紫薇的增殖系数比较大,但是又影响了成苗的发育。试验得出的最佳培养基为 1/2MS 附加 BA (1 mg/L),KT (0.1 mg/L),此培养基对于红叶紫薇的生长以及生根的综合效果最好:增殖系数达到 4.67,苗高度达到 2.53 cm,生根率 100%,平均根数 4.33 条。

彩叶植物是由于自然界的变异、人工育种或经栽培选育而来,导致植物叶片色彩发生变化的原因很多,包括遗传、生理、环境条件、栽培措施,甚至病虫害都可能造成植物叶色的改变。由于彩叶植物较易变异,一般采取无性繁殖。2014 年,王沙沙等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红叶的缺点,同时,可以进行大量快速繁殖,可为工厂化生产提供技术支持。

褐化是指外植体在诱导脱分化或再分化过程中,自身组织从表面向培养基释放褐色物质,以致培养基逐渐变成褐色,外植体也随之进一步变褐而

死亡的现象^[13]。褐变一般与培养基的成分有关,低质量浓度的无机盐和合适的激素配比可以适当减轻材料的褐变程度,其中细胞分裂素 BA 或 KT 能提高多酚氧化酶的活性。有人通过柿树组织培养防止褐变的试验,认为配方中改良 MS (大量元素减半) 和 1/2MS 的效果最好, WPM 其次, MS 的效果较差,表明低质量分数的无机盐可减轻外植体褐变。对红掌组织培养中发现 1/2MS 培养基结合适当的生长物质调剂水平对降低外植体褐化程度有显著的影响^[4]。本试验发现,当使用 WPM 培养基和 1/2WPM 培养基的时候,幼苗出现的程度不一的褐化现象,生长萎靡,甚至枯死。WPM 培养基与 1/2WPM 培养基, MS 培养基与 1/2MS 培养基处理之间,发现低离子浓度的培养基 (1/2WPM, 1/2MS), 幼苗生长的状况比高离子浓度培养基更加好。本研究发现,低质量浓度的 1/2MS 培养基更加适合红叶紫薇的诱导萌发与生长,资料与文献相符合。

“一步法”快速繁殖是植物组织培养过程中利用优化的培养基及培养条件,将传统的芽诱导增殖和生根 2 个步骤合二为一,即在保证诱导成苗率和植株生长良好的前提下,把外植体接种于一种培养基上,通过优化培养基的配方,使无菌芽高效增殖并在同一培养基上诱导生根成苗,大大提高快速繁殖效率的一种方法^[14-16]。

为快速研究最佳培养基配方,笔者研究了“一步法”红叶紫薇快速繁殖体系。本试验采用正交设计研究“一步法”对红叶紫薇的增殖和生根,发现 BA (1 mg/L) + NAA (0 mg/L) + KT (0.1 mg/L) 对于红

(下转第 22 页)

参考文献:

- [1] 聂少平, 蔡海兰. 铁皮石斛活性成分及其功能研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(23):356-361.
- [2] 陈晓梅, 王春兰, 杨峻山, 等. 铁皮石斛化学成分及其分析的研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(19):1634-1640.
- [3] 赵兴兵, 吴维佳, 庞璐, 等. 珍稀濒危药材铁皮石斛组培快繁关键技术研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(3):27-30.
- [4] 许奕, 宋顺, 王安邦, 等. 不同培养基对铁皮石斛壮苗生根的影响及移栽条件优化[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8):247-249.
- [5] 严旭超, 钟均宏, 周颖军, 等. 铁皮石斛试管苗移栽与大棚栽培管理[J]. 园艺与种苗, 2015(11):51-52.
- [6] 吴雅, 史骥清, 滕士元, 等. 铁皮石斛组培苗移栽基质的筛选[J]. 现代农业科技, 2010, 2010(6):107-108.
- [7] GUPTA S D, JATOTHU B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis[J]. Plant Biotechnology Reports, 2013, 7(3):211-220.
- [8] 任桂萍, 王小菁, 朱根发. 不同光质的 LED 对蝴蝶兰组织培养增殖及生根的影响[J]. 植物学报, 2016, 51(1):81-88.
- [9] MA X, WANG Y, LIU M, et al. Effects of green and red lights on

the growth and morphogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets in vitro[J]. Scientia Horticulturae, 2015, 190:104-109.

- [10] CAO D H, HONG C H, KIM S K, et al. LED light for in vitro and ex vitro efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.)[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(6):1-9.
- [11] 杨维杰, 梁君, 杨林林. 不同 LED 光质对铁皮石斛生长及多糖含量的影响[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(8):1188-1190.
- [12] 尚文倩, 王政, 侯甲男, 等. 不同红蓝光质比 LED 光源对铁皮石斛试管苗生长的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(5):155-159.
- [13] 陈星星, 徐明辉, 何松林. 新型光源发光二极管(LED)下白掌组培苗移栽后生长状况研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30(19):196-200.
- [14] CAO D H, HONG C H, JUNG H B, et al. Growth and morphogenesis of encapsulated strawberry shoot tips under mixed LEDs[J]. Scientia Horticulturae, 2015, 194:194-200.
- [15] 吴雅, 史骥清, 滕士元, 等. 铁皮石斛组培苗移栽基质的筛选[J]. 现代农业科技, 2010(6):107-108.
- [16] 魏星, 顾清, 戴艳娇, 等. 不同光质对菊花组培苗生长的影响[J]. 中国农学通报, 2008, 24(12):344-349.

(上接第 18 页)

叶紫薇的生长以及生根的综合效果最好;增殖系数达到 4.67,苗高度达到 2.53 cm,生根率 100%,平均根数 4.33 条。

本研究建立了红叶紫薇“一步法”快速繁殖体系,对于大部分植物来说,都可以使用本方法快速筛选最佳培养基以及配方。本文只是初步筛选了最佳培养基,有关红叶紫薇快速繁殖培养体系的建立还需要后续试验来完善。

参考文献:

- [1] 方文培.中国植物志[M].北京:科学出版社,1983:94.
- [2] 陈怡佳,崔媛媛,张晓明,等. 美国红叶紫薇的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学报,2015(6):882-886.
- [3] 蔡能,王小明,李永欣,等. 紫薇优良品种‘晓明 1 号’组培快繁体系的建立[J]. 中国农学通报,2016,32(1):22-27.
- [4] 唐丽丹. 紫薇组织培养快繁研究初探[D]. 郑州:河南农业大学,2014.
- [5] 曹受金,刘辉华,田英翠. 紫薇的组织培养与快速繁殖[J]. 北方园艺,2010(8):149-151.
- [6] 邓成军,张少华,巴音克西克,等. 枣组培快繁技术及正交设计

应用试验[J]. 山西果树,2004(1):5-6.

- [7] 王轲. 四种紫薇属植物快繁与再生体系的建立[D]. 北京:北京林业大学,2015.
- [8] 王轲,石俊,鞠易倩. 黑钻石系列紫薇品种组培快繁体系的建立[C]//中国观赏园艺研究进展(2014). 中国园艺学会观赏园艺专业委员会,2014:5.
- [9] 李晓青,王慧瑜,张晓申,等. 紫薇组培快繁技术研究[J]. 现代农业科技,2009(19):91,93.
- [10] 李国瑞. 紫薇快速繁殖及植株再生的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2010.
- [11] 红叶乔木紫薇市场商机无限[J]. 农民科技培训,2010(2):44.
- [12] 王献. 我国紫薇种质资源及其亲缘关系的研究[D]. 北京:北京林业大学,2004.
- [13] 张宏平,姬爱国,和林涛. 植物组培快繁褐化现象研究进展[J]. 农业工程,2013,3(5):128-132.
- [14] 任杰,丁增成,刘祚军,等. “一步法”诱导三角紫叶酢浆草再生体系的形成[J]. 中国农学通报,2009,25(3):60-62.
- [15] 贾志远,葛晓敏,唐罗忠. 木本植物扦插繁殖及其影响因素[J]. 世界林业研究,2015,28(2):36-41.
- [16] ZHANG Q Y, LUO F X, LIU L, et al. In vitro induction of tetraploids in carpe myrtle (*Lagerstroemia indica* L.) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2010, 101(1):41-47.