

五味子组培苗生长优化研究

张正海, 张悦, 李爱民, 李玉环

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 132112)

摘要:以五味子新品种“红珍珠”无菌苗茎段为试材,以 MS 为基本培养基,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验设计方法,研究了不同培养基与不同浓度 NAA 和 6-BA 组合对五味子组培苗初代接种和继代增殖的影响。结果表明:初代接种最适培养基为 MS+0.1 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA,继代增殖最佳培养基为 MS+0.1 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA,6-BA 与 NAA 比值为 5 时,愈伤率高、愈伤组织大小适中,利于组培苗生长。

关键词:五味子;组培苗;优化生长

中图分类号:S 567.9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)10-0133-03

五味子(*Schisandrachinensis*(Turcz.)Baill)为五味子科五味子属木质藤本植物,其果实和种子均可入药^[1]。人工栽培和品种选育研究始于 20 世纪 70 年代,目前已有规范的栽培技术并在收集和保存优良与特异种质资源基础上选出“红珍珠”等新品种品系^[2],随着五味子产业的发展,对高产、优质、特色的五味子新品种需求日益增强,组培快繁技术是满足需求的有效途径,其组织培养相关研究报道很多,集中于愈伤组织诱导培养、体细胞胚发生和器官再生方面^[3-9],在具体工作中还存在幼苗生长速度慢和生根率低等难题。该试验通过研究培养基与激素搭配对五味子组培苗及愈伤组织生长速度的影响,为完善五味子组织快繁技术提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材取自中国农业科学院特产研究所选育的五味子新品种“红珍珠”无菌苗茎段。

1.2 试验方法

根据预试验结果,选用微量元素不变,大量元素按 MS、1/2MS 及 1/4MS 比例变化的基本培养基、以 NAA 和 6-BA 作为参试激素,采用四因素三水平的 $L_9(3^4)$ 正交设计。将组培苗置于 25℃,光照 12 h/d,光照强度 1 500~2 000 lx 条件下培养,以生长 45 d 的五味子无菌苗生长平均高度作为考察指标。采用观察记录与统计

分析的方法对试验进行分析,试验数据采用 SAS 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 培养基及激素搭配对组培苗生长速度影响试验

由表 1 可知,处理 1 除几株叶片枯死外,其余的植株都生长良好,叶片颜色、茎节间距、茎的粗细都正常,10 d 左右开始生长,开始生长得最早,生长最快;30 d 以后生长速度减慢,可能是植株分泌物或愈伤过大抑制了生长。处理 2 植株叶片颜色嫩绿,节间较短,茎粗壮,开始生长较处理 1 晚,30 d 以后开始快速生长,生长较处理 1 慢,呈松树形,上部叶片小,下部叶片大,生长旺盛,植株幼嫩。处理 3 植株生长正常,叶片浓绿,茎粗细正常,节间较短,呈矮化状态,个别植株生长较高。处理 1、2、3 生长状况较好及均较高,表明 MS 培养基和激素搭配比例合适。处理 5 无枯叶植株,整体生长整齐度,植株生长状态较好。其它处理整体生长状态很差,出现枯死和不生长状况。

由表 1 未去死亡植株和去除死亡植株的初步统计结果看出,影响组培苗生长速度的主次因素顺序均为培养基>6-BA>NAA;且组培苗生长速度随培养基浓度减小而降低,随 6-BA 浓度增加而呈现先增加后降低趋势,随 NAA 浓度增加呈现先降低而后增加趋势;试验以平均高度最高者为优,由未去除死亡植株试验观察结果可以看出,MS+0.6 mg/L 6-BA+0.06 mg/L NAA 生长最好;统计结果表明,MS+0.3 mg/L 6-BA+0.06 mg/L NAA 生长最好。由去除死亡植株试验观察结果可以看出 MS+0.3 mg/L 6-BA+0.03 mg/L NAA 生长最好,统计结果表明,MS+0.3 mg/L 6-BA+0.06 mg/L NAA 生长最好。2 个统计结果都表明,MS+0.3 mg/L 6-BA+0.06 mg/L NAA 植株生长最好。

第一作者简介:张正海(1981-),男,硕士,研究实习员,现主要从事药用植物栽培及育种等研究工作。

责任作者:李爱民(1956-),男,硕士,研究员,现主要从事药用植物栽培及育种等研究工作。

基金项目:吉林省科技发展规划资助项目(20080904)。

收稿日期:2012-03-05

表 1

培养基及激素搭配对组培苗生长速度的影响

Table 1

Impact of medium and auxin matching to growth rate of tissue culture sprout

处理 Treatment	培养基 Medium	6-BA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	未去死亡植株 Not eliminate die plant		去除死亡植株 Eliminate die plant	
				均高 Average height/cm	统计数 Statistic	均高 Average height/cm	统计数 Statistic
1	1(MS)	1(0.1)	1(0.01)	1	1.03	1.11	36
2	1	2(0.3)	2(0.03)	2	1.10	1.19	38
3	1	3(0.6)	3(0.06)	3	1.17	1.17	36
4	2(1/2 MS)	1	2	3	0.82	0.82	44
5	2	2	3	1	0.97	0.97	50
6	2	3	1	2	0.89	0.89	39
7	3(1/4 MS)	1	3	2	0.60	0.60	42
8	3	2	1	3	0.71	0.71	37
9	3	3	2	1	0.52	0.58	36
未去死亡植株 Not eliminate die plant	T1j	3.30	2.45	2.63	2.52		
	T2j	2.68	2.78	2.44	2.59		
	T3j	1.83	2.58	2.74	2.70		
	Rj	1.47	0.33	0.30	0.18		
去除死亡植株 Eliminate die plant	T1j	3.47	2.53	2.71	2.66		
	T2j	2.68	2.87	2.59	2.68		
	T3j	1.89	2.64	2.74	2.70		
	Rj	1.58	0.34	0.15	0.04		

由表 2 可知,各因素主次顺序及显著性为培养基>6-BA>NAA。由表 3 可知,1 水平 MS 植株均高最高且与其它水平差异均显著;2 水平 6-BA 植株均高最高且与其它水平差异显著;3 水平 NAA 植株均高最高且与其它水平有差异,结果表明,MS+0.3 mg/L 6-BA+0.06 mg/L NAA 组合最有利于组培苗植株快速生长。

表 2 正交实验方差分析

Table 2 Variance analysis of orthogonal test

方差来源 Variance source	自由度 Degree of freedom	离差平方和 Dispersion quadratic sum	方差 Variance	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
培养基 Medium	2	0.416	0.208	1560.25	0.0006	a
6-BA	2	0.020	0.010	75.25	0.0131	b
NAA	2	0.004	0.002	15.75	0.0597	c
S 误	8	0.440				

注:大写字母表示 $P<0.01$ 水平;小写字母表示 $P<0.05$ 水平;同一列中不同字母代表差异显著,下同。

Notes:Capital letter expresses $P<0.01$ level;Small letter expresses $P<0.05$ level; Significant differences treatments in the same column are indicated by different letters, the same below.

表 3 各因素不同水平方差分析

Table 3 Variance analysis of different levels of factors

培养基 Medium			6-BA			NAA		
水平 Level	均高 Average height	显著性 Significance	水平 Level	均高 Average height	显著性 Significance	水平 Level	均高 Average height	显著性 Significance
1	1.16	A	2	0.96	A	3	0.91	A
2	0.89	B	3	0.88	B	1	0.90	AB
3	0.63	C	1	0.84	B	2	0.86	B

2.2 正交验证试验

验证试验以 MS 为培养基,以 6-BA 和 NAA 绝对浓度不同,浓度比例均为 5 进行试验,由表 4 可知,在激素

浓度比例相同绝对浓度不同的条件下,组培苗生长速度随激素绝对值浓度降低而增加,结果表明,各处理生长速度差异达显著水平。在 MS+0.3 mg/L 6-BA+0.06 mg/L NAA 和 MS+0.1 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA 培养基中组培苗生长良好,愈伤大小均适中,MS+0.1 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA 生长速度最快。

表 4 验证试验结果

Table 4 The result of verifying test

培养基 Medium	6-BA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	总高 Total height/cm	统计数 Statistic	均高 Average height/cm	差异显著性 Significance
MS	0.1	0.02	49.9	51	0.98	A
MS	0.3	0.06	46.6	49	0.93	B
MS	0.9	0.18	49.2	54	0.91	C
MS	1.8	0.36	36.5	50	0.73	D

2.3 激素搭配比例对愈伤组织产生的影响

由表 5 可知,愈伤组织的产生随培养基浓度减小而增加;随着 6-BA 与 NAA 比值增大,愈伤组织产生减少,

表 5 激素搭配比例对愈伤组织的影响

Table 5 The result of auxin matching to the development of callus

处理 Treatment	培养基 Medium	BA/NA 值 Value of BA to NA		统计数 Statistic	愈伤数 Callus number	愈伤率 Callus rate/%	均高 Average height/cm
		6-BA	NAA				
7	1/4 MS	0.1	0.06	1.7	42	21	50
4	1/2 MS	0.1	0.03	3.3	44	12	27
5	1/2 MS	0.3	0.06	5	50	4	8
1	MS	0.1	0.01	10	39	0	0
2	MS	0.3	0.03	10	41	0	0
3	MS	0.6	0.06	10	36	0	0
9	1/4 MS	0.6	0.03	20	40	0	0
8	1/4 MS	0.3	0.01	30	37	4	11
6	1/2 MS	0.6	0.11	60	39	0	0

当 6-BA 与 NAA 比值等于 5 时,愈伤组织大小和愈伤率适中,当 6-BA 与 NAA 比值大于 5 时,不产生愈伤组织;处理 8 说明 6-BA 与 NAA 比值增大对愈伤产生的抑制效应可被培养基浓度减小促进愈伤组织增加的效应逆转。组培苗平均高度随愈伤率增加呈下降趋势,表明组培苗平均高度与伤率增加呈弱负相关关系,相关值为-0.5。

3 结论

试验结果表明,适当比例的培养基浓度利于组培苗正常生长,于减少枯黄率,适当的激素搭配比例和激素绝对浓度利于组培苗快速萌发、生长,适当控制愈伤组织的生长速度利于组培苗的快速生长。

以 MS+0.1 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA 做培养基,外植体 10 d 左右开始萌发,萌发时间最早,开始生长最快,适合做初代接种培养基。用 MS+0.1 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA 做培养基,组培苗愈伤组织大小适中,生长时间最长,平均生长高度最高,节间最多,增殖率最高,适合做继代增殖和生长培养基。当 6-BA 与 NAA 比值等于 5 时,愈伤率和愈伤组织大小适中,随着 BA 和 NAA 绝对浓度增加,组培苗生长速度降低,比值小于 5

时,愈伤率和愈伤组织大小随比值减小而增加和严重,比值大于 5 时,愈伤率低或不发生愈伤。随 MS 培养基盐浓度增加,组培苗出现叶片枯黄和死亡率增加,愈伤率降低和愈伤组织减小。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大词典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2009:387-388.
- [2] 李爱民. 北五味子栽培与选种技术[M]. 北京:金盾出版社,2008:12-24.
- [3] 刘丽娟. 激素对五味子愈伤组织诱导的影响[J]. 通化师范学院学报,2007,28(4):20-21.
- [4] 武立丹,金东淳,周桐,等. 北五味子愈伤组织诱导研究[J]. 延边大学农学报,2008,30(3):167-171.
- [5] 朱俊义,刘雪莲,刘立娟,等. 通化师范学院生物系[J]. 植物生理学通讯,2006,42(3):580.
- [6] 牛遇达. 北五味子体细胞胚胎发生[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2007.
- [7] 张晓薇,夏媛,李凤兰,等. 北五味子组织培养研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(9):3933-3935.
- [8] 张佳,金东淳,金海林,等. 筛选北五味子愈伤组织诱导中不同因素的最佳条件[J]. 延边大学农学报,2011,33(1):40-44.
- [9] 陈丽静,齐欣,王玉坤,等. 北五味子快繁体系的建立[J]. 中草药,2011,42(3):575-578.

Optimized Study on Growth of Tissue Culture Sprout of *Schisandrachinensis*(Turcz.) Baill

ZHANG Zheng-hai, ZHANG Yue, LI Ai-min, LI Yu-huan

(Institute of Special Wild Economic Animals and Plants, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 132112)

Abstract: Chosen stem section of aseptic seedling of schisandrae new cultivar 'Red pearl' as test materials, and MS medium as minimal medium, effect of medium and different concentration NAA and 6-BA on first-generation inoculation and subculture of tissue culture sprout of *Schisandrachinensis*(Turcz.) Baill were studied by the methods of orthogonal test design f $L_9(3^4)$. The results showed that the medium MS+0.1 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA was suitable for the early generation inoculation, the medium MS+0.1 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA was suitable for subculture and growth. When the ratio of 6-BA/NAA was 5, the rate of callus and the size of callus was moderate and was conducive to tissue culture sprout growth.

Key words: *Schisandrachinensis*(Turcz.) Baill; tissue culture sprout; optimize