

文章编号:1005 - 7129 (2008)02 - 0007 - 04 中图分类号:R282.2 文献标识码:A

五味子组织培养技术初探

李兴亮¹,滕世杰²,才国彬²

(1. 汪清县林业局,吉林 延边 133200;2. 吉林省林业厅,吉林 长春 130022)

摘要:以五味子带芽鳞的休眠芽、不带芽鳞的休眠芽和水培的新梢茎段为外植体,接种于不同激素配比的培养基中,进行组织培养快繁技术研究。结果表明,水培的新梢茎段是诱导丛生芽的最佳外植体,在 MS + 6 - BA1.5 mg L⁻¹ + IBA0.2 mg L⁻¹、pH 值 5.8 的初代培养基中,培养效果最为明显,分化率达到了 95%。

关键词:五味子;组织培养;快速繁殖;分化率

The technique of tissue culture for *Schisandra chinensis*

LI Xing - liang¹,TENG Shi - jie²,CAI Guo - bin²

(1. Forestry Bureau of Wangqing County, Yanbian 133200, China; 2 Forestry Department of Jilin Province, Changchun 130022, China)

Abstract: In study on the technique of tissue culture for *Schisandra chinensis*, the dormant bud with scale or removed or shoot rinsed then disinfected are used as explants. The culture medium modified with 30g/L sucrose 8g/L agar - agar or different concentrations growth regulator used for culture initiation. The shoot is the best explant used for axillary shoot multiplication and the best medium for initial culture is MS + 6 - BA1.5g/L + IBA0.2mg/L at pH 5.8. The frequency of differentiation is 95%.

Key words: *Schisandra chinensis*; tissue culture; rapid propagation; differentiation

五味子 (*Schisandra chinensis* Baill) 亦称北五味子,属五味子科五味子属多年生落叶木质藤本植物,主要分布在东亚;我国为本属植物的现代分布中心,分布范围东自黑龙江、西至西藏、北达内蒙古、西南到云南。其中以吉林、辽宁、黑龙江的五味子资源和五味子产量为最多,河北、山东、山西、内蒙古也有部分资源^[1]。

五味子的果实及种子均可入药,始载于《神农本草经》。具有收敛固涩、益气生津、补肾宁

心的功能。用于久嗽虚喘、梦遗滑精、遗尿尿频、久泻不止、自汗、盗汗、津伤口渴、短气脉虚、内热消渴、心悸失眠等病症^[2]。茎皮可作调料、香料,果实可制作饮料、果酒等。近年来,国内外市场对五味子的需求量一直呈上升趋势。近年来,关于五味子的组织培养工作,国内外还未见公开报导^[3,4]。因此,本文采用植物组织培养手段,着重研究五味子不同外植体、激素种类与配比等对分化的影响,从中筛选出最优技术参数组合,建立五味子组织培养快繁技术系统,为开发利用这一宝贵资源寻求新的苗木繁殖方法。

收稿日期:2007 - 10 - 17

作者简介:李兴亮(1959 -),男,吉林延吉人,工程师,主要从事营林生产管理工。

1 试验材料与研究方法

1.1 试验材料

本试验以尚未萌发的五味子带芽鳞休眠芽、不带芽鳞休眠芽和水培新梢茎段三种材料为外植体,进行诱导分化培养。

1.2 研究方法

1.2.1 外植体筛选

分别将带芽鳞的休眠芽、不带芽鳞的休眠芽和水培的新梢茎段,接种到 MS + IBA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + 6-BA $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基上,其中蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,pH 值 5.8~6.0。目的是筛选最佳外植体。

表 1 正交试验

处理	6-BA	IBA
1	1(1.5)	1(0.2)
2	1	2(0.5)
3	1	3(1.0)
4	2(2.0)	1
5	2	2
6	2	3
7	3(2.5)	1
8	3	2
9	3	3

1.2.2 激素组合筛选

利用正交试验设计(表 1),选择 6-BA 与 IBA 不同配比梯度进行试验,并考虑 ZT 对实验效果的影响,分别采用 6-BA 和 IBA 加 ZT 与不加 ZT 两种情况进行研究,以其达到预期效果。试验采用 MS 为基本培养基,每处理接种

表 3 五味子休眠芽未附加 ZT 分化率方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
组间	4 110.223	8	513.778	8.477	0.002
组内	545.448	9	60.605		
总和	4 655.671	17			

通过方差分析(表 3)可以看出,在未附加 ZT 的情况下,6-BA 和 IBA 配比组合对五味子

10 瓶,重复 2 次。试验数据采用 SPSS13.0 软件进行分析处理。

2 试验结果与分析

2.1 最佳外植体的筛选

表 2 五味子不同外植体试验结果比较

外植体	接种数	无菌苗数	污染率 / %	芽分化率 / %
不带芽鳞休眠芽	20	20	0	50
带芽鳞休眠芽	20	4	80	0
新梢茎段	20	20	0	40

从表 2 中可以看出,不带芽鳞的休眠芽和新梢茎段作为外植体时污染率极低,而不带芽鳞的休眠芽要比新梢茎段的芽分化率高 10%。带芽鳞的休眠芽由于芽鳞未剥去,其表面常附带有微生物,一旦存在良好条件就会迅速萌发,污染培养材料和培养基,所以污染率极高。而水培嫩茎在室内培养,接触外界的机会小,污染率相对较低。试验发现,水培嫩茎具有污染率低、存活率高和生长状况好等优良特性,但其受时间条件的限制,水培时间过长,自身储备的营养物质消耗殆尽,外界又很难补充,从而制约了试验进程。茎段分化的嫩苗粗壮,芽色深绿,由茎段诱导出的芽苗虽生长慢,但粗壮挺拔,有利于后期继代培养。因此,五味子的水培新梢茎段是组织培养最佳的外植体材料,但从节省试验材料方面考虑,利用不带芽鳞的休眠芽进行培养也可以。

2.2 最佳激素组合筛选

2.2.1 休眠芽未附加 ZT 培养

休眠芽的分化率影响效果极显著。说明因素水平间存在着极显著差异,因素的不同水平变化

对分化率有显著影响。为找出最佳激素配比方案,需通过多重比较方法进一步分析(表 4)。

表 4 五味子休眠芽未附加 ZT 分化率多重比较表(临界值 = 0.01)

处理	1	2	3	4	5	6	7	8
2	20.415 *							
3	30.970 **	10.555						
4	38.750 **	18.335 *	7.780					
5	5.695	26.110 **	36.665 **	44.445 **				
6	4.860	15.555	26.110 **	33.890 **	10.555			
7	2.140	18.275	28.830 **	36.610 **	7.835	2.72		
8	23.470 *	3.055	7.500	15.280	29.165 **	18.610	21.330 *	
9	1.250	21.665 *	32.220 **	40.000 **	4.445	6.110	3.390	24.720 *

分析结果表明,处理 3、4 与处理 1、5、6、7、9 分化率差异极显著,处理 5 与处理 8 分化率差异极显著,处理 1 与处理 2、8 分化率差异显著,处理 6 与处理 8 分化率差异显著。根据平均值大小可得出结论,在不附加 ZT 时,激素

BA 与 6-BA 的最佳配比组合为 4 号处理,即 $MS + BA0.2 \text{ mg L}^{-1} + 6-BA2.0 \text{ mg L}^{-1}$,其次为 3 号处理,即 $MS + IBA1.0 \text{ mg L}^{-1} + 6-BA1.5 \text{ mg L}^{-1}$ 。

2.2.2 休眠芽附加 ZT 培养

表 5 五味子休眠芽附加 ZT 分化率方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
组间	1 221.094	8	152.637	1.385	0.318
组内	991.689	9	110.188		
总和	2 212.783	17			

从表 5 可以看出,在附加 ZT 的情况下,6-BA 和 IBA 的配比组合对五味子休眠芽的分化率影响效果不显著。说明因素水平间无显著

差异,因素的不同水平变化对分化率无显著影响。因此,后续实验不予考虑。

2.2.3 新梢茎段未附加 ZT 培养

表 6 五味子茎段未附加 ZT 分化率方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
组间	12 811.111	8	1 601.389	26.205	0.000
组内	550.000	9	61.111		
总和	13 361.111	17			

从表 6 可以看出,在未附加 ZT 的情况下,6-BA 和 IBA 的配比组合对五味子新梢茎段的

分化率影响效果极显著,说明因素水平间存在着极显著差异,因素的不同水平变化对分化率

有显著影响。为找出最佳激素配比组合方案，需要通过多重比较方法进行确定(表 7)。

表 7 五味子茎段未附加 ZT 多重比较表(临界值 = 0.01)

处理	1	2	3	4	5	6	7	8
2	30.000 ^{**}							
3	5.000	25.000						
4	55.000 ^{**}	25.000	50.000 ^{**}					
5	35.000 ^{**}	5.000	30.000 ^{**}	20.000				
6	15.000	15.000	10.000	40.000 ^{**}	20.000			
7	15.000	15.000	10.000	40.000 ^{**}	20.000	0.000		
8	45.000 ^{**}	15.000	40.000 ^{**}	10.000	10.000	30.000 ^{**}	30.000 ^{**}	
9	90.000 ^{**}	60.000 ^{**}	85.000 ^{**}	35.000 ^{**}	55.000 ^{**}	75.000 ^{**}	75.000 ^{**}	45.000 ^{**}

分析结果表明,处理 1 与处理 2、4、5、8、9 分化率差异极显著,处理 3 与处理 4、5、8、9 分化率差异极显著,处理 6、7 与处理 8、9 分化率差异极显著。根据平均值大小可得出结论,激素 IBA 与 6-BA 在不附加 ZT 时的最佳配比组合为 1 号处理,即 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA1.5 mg L⁻¹,其次为 3 号处理,即 MS + IBA1.0 mg L⁻¹ + 6-BA1.5 mg L⁻¹。

综合上述分析可以看出,当外植体为不带芽鳞的休眠芽时,其最佳激素配比为 4 号处理,即 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA2.0 mg L⁻¹;当外植体为新梢茎段时,其最佳激素配比为 1 号处理,即 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA1.5 mg L⁻¹,二者的平均分化率分别为 40% 和 95%。外植体为新梢茎段的 1 号处理要比不带芽鳞的休眠芽的 4 号处理高 55%。因此,确定五味子的最佳培养基为 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA1.5 mg L⁻¹。

3 结论

3.1 五味子组培的最佳外植体为水培的新梢茎段。室内环境较室外环境优越,水培的嫩茎很少受微生物侵染,污染率低;分化率与存活率高,芽苗粗壮,颜色深绿,虽然生长慢些,但粗壮挺拔,有利于后期的继代培养。

3.2 五味子的最佳初代培养基为 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA1.5 mg L⁻¹。即当不附加 ZT 时,外植体的分化率较高。同时试验表明,激素 ZT 对实验结果没有影响。

3.3 当外植体为不带芽鳞的休眠芽时,其最佳激素配比为 4 号处理,即 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA2.0 mg L⁻¹;当外植体为新梢茎段时,其最佳激素配比为 1 号处理,即 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA1.5 mg L⁻¹,二者的平均分化率分别为 40% 和 95%。外植体为新梢茎段的 1 号处理的分化率要比外植体为不带芽鳞的休眠芽的 4 号处理的分化率高 55%。因此,五味子的最佳培养基为 MS + IBA0.2 mg L⁻¹ + 6-BA1.5 mg L⁻¹。

参考文献

- [1] 任步钧. 观赏花木栽培[M]. 北京:人民日报出版社,1985.
- [2] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京:中国农业出版社.
- [3] 曹孜义. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,1996.
- [4] Wilking C P, Dodds J H. Effect of various growth regulators on growth in vitro of cherry shoot tips[J]. Plant Growth Regul, 1982, 1: 209 - 216.