

# 北五味子初代腋芽培养影响因素研究

张正海, 张悦, 李爱民, 陈晓丹

(中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130112)

**摘要:**为探讨北五味子组培快繁技术,对影响北五味子初代腋芽培养的外植体木质化程度、培养基 pH、培养基硬度和激素组合进行研究。结果表明:初代腋芽培养适宜的外植体是折之即断的幼嫩茎段;培养基适宜的 pH 4.79;适宜的硬度为每升培养基添加 5.0 g 琼脂粉;适宜的激素搭配是 6-BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.01 mg·L<sup>-1</sup> + GA<sub>3</sub> 0.1 mg·L<sup>-1</sup>。

**关键词:**北五味子;初代腋芽;木质化程度;pH;硬度;激素

**中图分类号:** 文献标识码:A **文章编号:**1002-2767(2015)04-0140-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.04.0140

以带腋芽茎段为外植体建立起来的北五味子[*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.]组培快繁技术体系中,外植体的灭菌效果、萌发和生长速度直接影响着组培快繁技术体系的建立效率<sup>[1-2]</sup>,外植体木质化程度<sup>[3-4]</sup>、培养基 pH<sup>[5-6]</sup>、培养基硬度<sup>[7]</sup>以及激素搭配<sup>[8]</sup>对初代外植体的灭菌效果、萌发和生长速度都有不同程度的影响,本试验针对影响北五味子初代腋芽培养的 4 个因素进行研究,为北五味子组培快繁提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试外植体取自北五味子新品种红珍宝 5-8 月份旺盛生长的枝条,为中国农业科学院特产研究所选育。

### 1.2 方法

**1.2.1 消毒方法及培养条件** 外植体用洗衣粉水浸泡 10 min,自来水冲洗 8 h,用 75%酒精消毒 30 s,无菌水冲洗 5 次,再用 0.1%升汞消毒 10 min,无菌水冲洗 5 次,剪成长约 2 cm 的带腋芽茎段,除特殊说明,外植体均浅埋入不加激素、大量元素减半、pH 3.77、琼脂粉为 5 g·L<sup>-1</sup>的 B<sub>5</sub> 培养基中,在室温 25℃,光暗周期 14/8 h,光照强度 2 500 lx,湿度 60%~75%条件下培养。

**1.2.2 木质化程度对外植体污染、成活和萌芽生长的影响** 8 月上旬,选取已经开始木质化的枝

条,从枝条顶端幼嫩部分开始,以茎段由细变粗明显的第 1 个带腋芽茎段为极幼嫩外植体,第 2 个折之即断的带腋芽茎段为幼嫩外植体,第 4 个带腋芽茎段为半木质化外植体,第 6 个带腋芽茎段为木质化外植体,每处理 3 次重复,每重复 10 瓶,每瓶 8 个芽,28 d 后调查污染率,成活率和萌芽平均高度。污染率(%)=污染数/接种数×100;成活率(%)=(接种数-污染数-死亡数)/(接种数-污染数)×100。

### 1.2.3 培养基 pH 对外植体萌发和生长的影响

用 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液调节培养基的 pH,5 月上旬,将经过灭菌处理的幼嫩外植体接种于 pH 分别为 3.77、4.13、4.73、5.21 和 5.69 的培养基中,每处理 3 次重复,每重复 30 个腋芽,42 d 后调查萌发率和萌芽均高。

**1.2.4 幼嫩外植体组织匀浆 pH 测定** 在 8 月上旬,从栽培园随机摘取生长旺盛折之即断的幼嫩外植体,低温保存,用-18℃冷冻研钵迅速研磨粉碎,挤压过滤,取组织匀浆滤液,用雷磁 PHS-3C 精密 pH 计测定幼嫩外植体组织匀浆的 pH,重复 5 次,取平均值。

**1.2.5 培养基硬度对外植体死亡、萌发和生长的影响** 在 6 月中旬,将经处理的幼嫩外植体分别接种于加入 5.0、5.5、6.0、6.5 和 7.0 g·L<sup>-1</sup> 琼脂粉的培养基中,每处理 3 次重复,每重复 30 个腋芽,42 d 后调查死亡率、萌发率和萌芽均高。

**1.2.6 激素对外植体萌发和生长的影响** 在 6 月上旬,将经过灭菌处理的幼嫩外植体接种于添加不同激素种类和浓度的培养基中,每处理 3 次重复,每重复 17 个腋芽,14 d 后调查萌发率,42 d 后调查萌芽均高。

收稿日期:2014-09-18

基金项目:科技部农业科技成果转化资金资助项目(2012 GB23260575)

第一作者简介:张正海(1981-),男,河南省洛阳市人,硕士,助理研究员,从事药用植物栽培育种研究。

通讯作者:李爱民(1956-),男,硕士,研究员,从事药用植物栽培育种研究。E-mail:zuojialam@163.com。

1.2.7 数据分析 试验数据用 SAS8.2 软件进行分析,对不符合方差分析的百分数进行反正玄转换后再分析<sup>[9]</sup>,方差分析采用最小显著性差异法(LSD 法),显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 木质化程度对外植体污染、成活和萌芽生长的影响

由表 1 可知,外植体污染率随木质化程度增加而增加,差异达到显著水平,木质化外植体污染率达到 90%,这是由于茎段木质化程度增加,茎段变硬,表皮变得粗糙,腋芽增大,不利于操作和消毒造成;除极幼嫩茎段外,外植体的成活率均达到 100%,这是由于外植体浅埋入培养基中,培养基的稀释作用和抗氧化成分极大地缓解了残留升汞对外植体的伤害,但极幼嫩茎抵抗逆境能力较弱,导致成活率偏低;幼嫩和半木质化外植体萌芽平均高度大于极幼嫩和木质化的外植体,这是由于极幼嫩外植体腋芽还未发育完成,已木质化外植体腋芽处于抑制状态,而幼嫩和半木质化外植体腋芽已经形成且保持萌发活力。因此,综合外植体木质化程度对污染率、成活率和萌发活力的影响,北五味子初代腋芽培养应选幼嫩茎段作为外植体。

表 1 木质化程度对外植体污染率、成活率和萌芽生长速度的影响

Table 1 Effect of lignification degree on the pollution rate,survival rate and growth rate of explants			
木质化程度 Lignification degree	污染率/% Pollution rate	成活率/% Survival rate	萌芽均高/cm Growth rate
极幼嫩 Very young	20.0 d	84.7 b	0.19 d
幼嫩 Young	40.0 c	100.0 a	0.35 b
半木质化 Semi lignified	60.0 b	100.0 a	0.45 a
木质化 Lignification	90.0 a	100.0 a	0.30 c

2.2 培养基 pH 对外植体萌发和生长的影响

由表 2 可知,外植体萌发率受培养基 pH 影响显著,在培养基 pH 为 4.73 时,外植体萌发率达到 73.3%,可能是由于培养基 pH 为 4.73 最接近于幼嫩外植体自然 pH;萌芽均高随培养基 pH 升高而降低,是因为随着培养基 pH 升高,培养基

逐渐变硬,影响外植体对水分和营养物质的吸收。

表 2 培养基 pH 对外植体萌发率和萌芽生长速度的影响

Table 2 Effect of medium pH value on the germination rate and growth rate of explants		
培养基 pH pH of medium	萌发率/% Germination rate	萌芽均高/cm Growth rate
3.77	46.7 b	1.15 a
4.13	43.3 c	0.78 b
4.73	73.3 a	0.69 c
5.21	22.2 e	0.57 d
5.69	33.3 d	0.49 d

2.3 幼嫩外植体组织匀浆 pH 测定

五味子幼嫩外植体组织匀浆的 5 次 pH 测定结果为 4.96、4.81、4.71、4.73、4.76,平均值为 4.79;结合培养基 pH 对外植体萌发率的影响可知,五味子初代腋芽萌发所需适宜 pH 在 4.79 左右,pH 过高和过低都不利于初代腋芽萌发和生长。

2.4 培养基硬度对外植体死亡、萌发和生长的影响

由表 3 可知,幼嫩外植体的死亡率随培养基硬度增加而增加,差异达到显著水平,在琼脂粉添加量为 7 g·L<sup>-1</sup>时死亡率达到 32.5%,萌发率和萌芽均高也随培养基硬度增加而降低,差异达到显著水平,主要是由于培养基硬度增加使幼嫩外植体脱水,导致死亡率增加、萌发率和萌芽均高降低,由试验结果可知,在培养基对外植体支持能力许可的情况下,降低琼脂粉添加量有利于初代腋芽的成活、萌发和生长。

表 3 培养基硬度对外植体死亡率、萌发率和生长速度的影响

Table 3 Effect of medium hardness on the mortality,germination rate and growth rate of explants			
琼脂粉量/g Agar powder	死亡率/% Mortality	萌发率/% Germination rate	萌芽均高/cm Growth rate
5.0	0.0 e	100.0 a	1.01 a
5.5	3.3 d	76.6 b	0.96 b
6.0	6.0 c	72.4 c	0.85 c
6.5	6.7 b	51.8 d	0.71 d
7.0	32.5 a	35.7 e	0.50 e

2.5 激素对外植体萌发和生长的影响

从表 4 看出,6-BA 和 GA<sub>3</sub> 对外植体萌发均有促进作用。GA<sub>3</sub> 的促进作用显著大于 6-BA,高浓度的 6-BA 和 GA<sub>3</sub> 均对外植体的萌发表现出显著抑制作用;NAA 对于初代腋芽生长速度影响显著,低浓度 GA<sub>3</sub> 对初代腋芽生长有促进作用,单独 6-BA 和 GA<sub>3</sub> 处理后期萌芽生长速度缓慢,低浓度 6-BA、NAA 与低浓度 GA<sub>3</sub> 配合使用对初代腋芽后期生长促进作用显著,在 6-BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.01 mg·L<sup>-1</sup> + GA<sub>3</sub> 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 时达到最大值。

表 4 激素对外植体萌发率和生长速度的影响

Table 4 Effect of hormone on germination rate and growth rate of explants

激素浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) Hormone concentration			萌发率/% Germination rate	萌芽均高/cm Growth rate
6-BA	NAA	GA <sub>3</sub>		
0.1			40.0 g	2.21 c
0.5			48.9 e	1.85 d
		0.1	78.0 a	1.44 f
		0.5	65.3 c	1.07 g
0.1	0.01		72.5 b	3.14 b
0.1	0.01	0.1	62.8 d	4.33 a
0.1	0.01	0.5	45.0 f	1.67 e

3 结论

外植体污染率随木质化程度增加而增加,极幼嫩的外植体灭菌后死亡率高,极幼嫩和木质化的外植体萌芽生长速度慢,初代腋芽培养以折之即断的幼嫩外植体最好,且幼嫩茎段浅埋入培养基成活率最高。外植体萌发率随培养基 pH 升高

而整体降低,在 pH 接近幼嫩茎段茎组织自然 pH4.79 时萌发率最高;萌芽生长速度随培养基 pH 升高而降低,初代腋芽培养最适宜培养基 pH 为 4.79。外植体死亡率随培养基硬度增加而增加,萌发率和萌芽生长速度随培养基硬度增加而降低,初代腋芽培养适宜培养基硬度为每升添加 5.0 g 琼脂粉。

低浓度的 6-BA 和 GA<sub>3</sub> 对外植体萌发有促进作用,GA<sub>3</sub> 的促进作用大于 6-BA,单独 6-BA 和 GA<sub>3</sub> 处理后期萌芽生长速度缓慢,低浓度 6-BA、NAA 与低浓度 GA<sub>3</sub> 搭配对初代腋芽后期生长促进作用显著,在 6-BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.01 mg·L<sup>-1</sup> + GA<sub>3</sub> 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 时达到最大值。对于北五味子初代腋芽培养的最适培养基将做进一步的试验研究。

参考文献:

[1] 陈丽静,齐欣,王玉坤,等.北五味子快繁体系的建立[J].中草药,2010,42(3):575-578.  
[2] 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.  
[3] 周婧,杨美纯,岑秀芬,等.红腺忍冬外植体灭菌与芽诱导研究[J].南方农业学报,2011,42(2):124-127.  
[4] 招雪晴,苑兆和,徐榕,等.自由人槭‘秋焰’组织培养中外植体的选择研究[J].山东林业科技,2009(4):70-72.  
[5] 蒋小满,柏新富,赵建萍,等.植物组织培养因子与培养基中 pH 值的关系[J].植物生理学通讯,2005,41(6):802-804.  
[6] 曹新祥,韩小云.植物组织培养中的 pH 值[J].杭州师范学院学报:自然科学版,2003,2(1):60-63.  
[7] 王莉,周进.激素配比及培养基硬度对银白杨组培苗发根情况的影响[J].西藏科技,2000(5):67-73.  
[8] 杨洁.植物激素与烟草腋芽生长的关系及其调控研究[D].长沙:湖南农业大学,2013.  
[9] 崔继哲,陈伯杰.百分数和分级资料的统计分析[J].北方园艺,1993(3):9-10.

Study on Influencing Factors of Primary Axillary Buds Culture of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.

ZHANG Zheng-hai,ZHANG Yue,LI Ai-min ,CHEN Xiao-dan

(Institute of Special Wild Economic Animals and Plants,China Academy of Agricultural Sciences,Changchun,Jilin 130112)

**Abstract:** In order to study the rapid propagation technology,the effect of lignification degree of explants,pH , hardness and hormone combination of medium on the primary axillary bud culture of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. was studied. The results showed that the suitable explant for primary axillary bud culture was the young and easy break stem segments. The suitable medium pH was 4.79,the suitable hardness was medium added 5 g·L<sup>-1</sup> agar powder; the suitable hormone combination was 6-BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA0.01 mg·L<sup>-1</sup> + GA<sub>3</sub>0.1 mg·L<sup>-1</sup>.

**Keywords:** *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. ; primary axillary bud; lignification degree; pH; hardness; hormone