

苦皮藤试管苗生根培养研究

¹ 马艳 ¹ 肖娅萍 ² 王彩玲 ¹ 王哲之

¹ (陕西师范大学生命科学院 西安 710062)

² (武汉钢铁公司子女学校 武汉 430080)

摘要 探讨了培养因子对诱导苦皮藤(*Celastrus angulatus* Maxim)试管苗生根的作用,采用正交试验设计法测试了苦皮藤生根关键因素多效唑(MET)、吲哚丁酸(IBA)、暗培养及培养基中盐浓度(简称培养基)的效应。方差分析结果显示,暗培养对苦皮藤生根作用极显著,因子作用大小依次为:暗培养>培养基>MET×IBA>MET>IBA×培养基>IBA。诱导苦皮藤组培苗生根的最佳因素配比为:1/2 MS+MET 3.0 mg·L⁻¹+IBA 0.8 mg·L⁻¹和1/2 MS+MET 3.0 mg·L⁻¹+IBA 0.5 mg·L⁻¹,暗培养12 d效果最好。

关键词 组织培养,苦皮藤,生根

The Study of Root Induction in *Celastrus angulatus* in vitro

¹MA Yan ¹XIAO Ya-Ping ²WANG Cai-Ling ²WANG Zhe-Zhi

¹(College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062)

²(The appendant school of Wugang group, Wuhan 430080)

Abstract In this work, the effects of culture factors (MET, IBA, culture medium and culturing in dark) on root formation were studied in tissue culture of *Celastrus angulatus*. The results showed that the root induction was significantly affected by duration of culture in dark, while other factors were least effective. The order of their efficiencies was: duration of culture in dark > culture medium > MET × IBA > MET > IBA. The best culture medium for root induction of *Celastrus angulatus* was that containing: 1/2 MS+MET 3.0 mg·L⁻¹+IBA 0.8 mg·L⁻¹ or 1/2 MS+ MET 3.0 mg·L⁻¹ + IBA 0.5 mg·L⁻¹ for 12 days, in dark.

Key words Tissue culture, *Celastrus angulatus* Maxim, Rooting

苦皮藤 (*Celastrus angulatus* Maxim) 是卫矛科南蛇藤属多年生落叶木质藤本植物,既是天然的杀虫剂又是重要的中草药。随着人们环保意识的增强和对有机合成农药残留问题的认识,开发天然源杀虫剂已成为一个热点,苦皮藤因此而备受关注(王进忠等,2000)。为了有效保护野生资源及生态环境,我们开展了苦皮藤组织培养快速繁殖的研究,但苦皮藤愈伤组织的诱导及不定芽的分化较易而生根较难。本试验探讨了植物生长调节剂及其不同浓度对比对诱导苦皮藤试管苗生根的效应,为其快速繁殖和工业化生产提供有效途径,为解决植物组织培养中木本植物生根难等问题积累资料。

教育部“利用生物技术保护与开发秦巴山区珍稀濒危药用植物资源研究”项目资助。

通讯作者。Author for correspondence. E-mail: yapingxiao@yahoo.com.cn

收稿日期:2003-07-30 接受日期:2004-01-12 责任编辑:白羽红

1 材料与方法

1.1 材料

植物材料采用本实验室的苦皮藤试管苗。

1.2 方法

我们采用不同培养基与不同激素配比，筛选影响苦皮藤生根的关键因素，采用正交试验设计，研究关键因素的主效应和交互作用。选用 $L_{18}(3^7)$ 正交表，其因子水平见表1，激素浓度单位为 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。统计生根百分率，作方差分析及统计假设测验。以MS为基本培养基，培养温度 (25 ± 1) ，光照14 h/d，光强2500 Lx。

2 结果与分析

2.1 影响苦皮藤组培生根的重要因素

我们进行了多组试验诱导根的发生，结果见表2。在含IBA $0.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和多效唑(MET) $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MS培养基暗培养10 d后转入1/2MS培养基置于光下，第四天可观察到根的发生。根的发生率较高，并且苗生长健壮、叶片翠绿，移栽成活率高(图1)。若不进行暗培养，根的发生率较低。表明多效唑与IBA的配合及暗培养是诱导苦皮藤生根的重要因素。

2.2 各因素对组培苗生根的效应

接种20 d后统计，苦皮藤组培苗生根状况差异很大(表3)。暗培养4 d的外植体转入

表1 $L_{18}(3^7)$ 因子水平表

Factor	A	B	C	D
Level	MET	IBA	Medium	Day in darkness
1	3.0	0.2	1/4 MS	4
2	2.0	0.5	1/2 MS	8
3	1.0	0.8	MS	12

表2 不同培养基及培养条件对苦皮藤生根的诱导结果(培养20 d后观察)

Medium ($\cdot\text{L}^{-1}$)	NO.of shoot	Light/dark	NO.of shootrooting	Rooting percentage (%)
MS	40	Light/dark	0	0
1/2MS	40	Light/dark	0	0
B5	40	Light/dark	0	0
MS+IBA0.2 MS+IBA0.4+KT0.2	40	Light/dark	0	0
MS+6-BA1+NAA0.2	40	Light/dark	0	0
MS+6-BA2+NAA0.2	40	Light/dark	0	0
MS+6-BA3+NAA0.2 MS+active carbon	40	Light/dark	0	0
MS+MET	40	Light/dark	0	0
MS+IBA0.7+MET3:1/2MS	40	Light	3	7.5
*MS+IBA0.7+MET3:1/2MS	40	Dark/light	35	87.5

* 先在MS+多效唑 $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基上暗培养10 d，后转入1/2 MS培养基进行光培养

* The shoots were cultured on the MS medium with IBA $0.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and MET ($3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) in the darkness or in the light for 10 d, then transferred on 1/2MS in the light

光培养条件下未见生根(图2);暗培养8 d的外植体转入光培养条件下6 d后有少量的根(图3);暗培养12 d的外植体转入光下2 d即可生根,且生根率较高,最高可达85%(图4)。1/2 MS培养基上的生根率普遍高于MS和1/4 MS。

试验组合中,以12号最好,移入光下2 d即可生根,每个植株有1~6条,生根率高达85%(图4)。

极差分析结果(表4)表明,因子及其互作效应的主次顺序是:因子D > 因子C > A × B > 因子A > B × C > 因子B > A × C。因子D极差最大,说明暗培养是苦皮藤生根的关键因素,以暗培养12 d效果最好;因子C次之,表明培养基中无机盐浓度对苦皮藤生根有重要影响,以1/2MS为最佳;A × B以水平2为好,考虑到A是仅次于A × B的因子,且以K₁为佳,所以MET与IBA的最佳组合选3.0 mg·L⁻¹+0.5 mg·L⁻¹和1.1 mg·L⁻¹+0.8 mg·L⁻¹两种。全试验的最优组合是 1/2 MS + MET 3.0 mg·L⁻¹ + IBA 0.5 mg·L⁻¹与 1/2 MS + MET 3.0

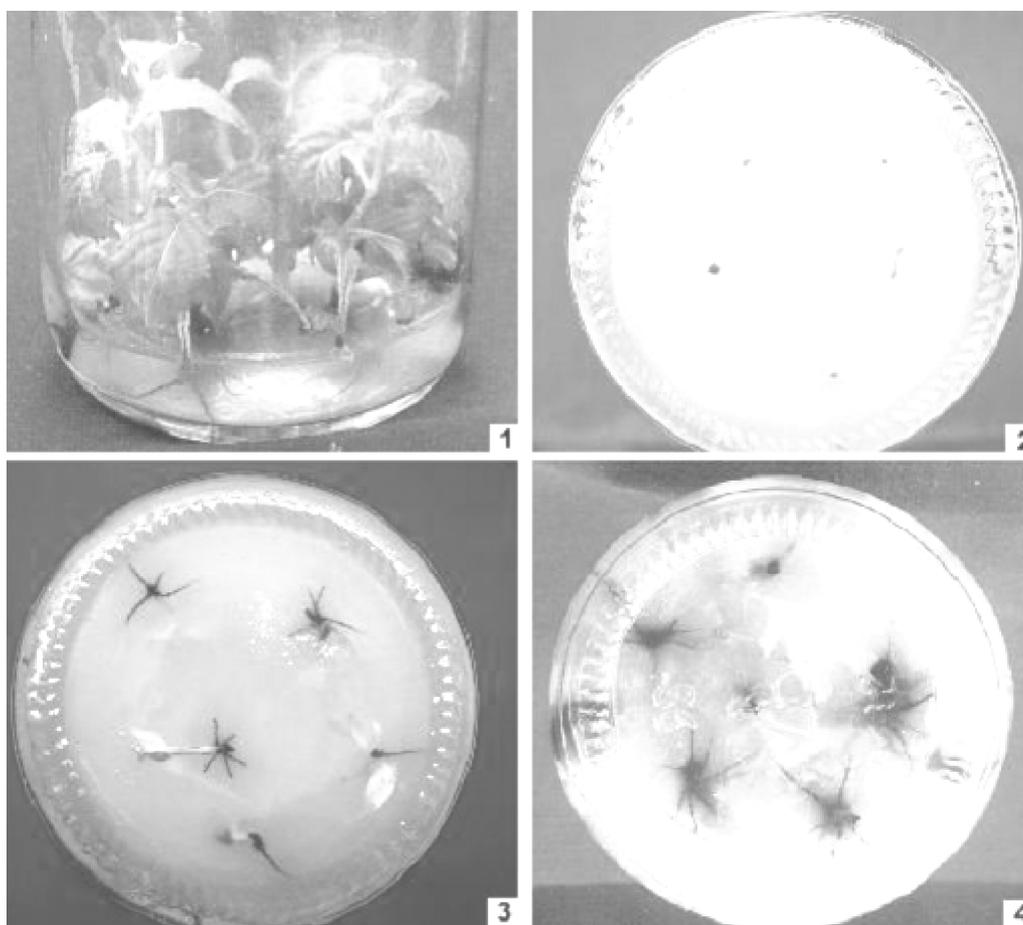


图1 已生根的试管苗。图2 暗培养4 d,无根。图3 暗培养8 d,少量根。图4 暗培养12 d,大量根形成。

Fig.1 Tube shoot with roots. **Fig.2** 4 days in dark, no root. **Fig. 3** 8 days in dark, a few roots. **Fig. 4** 12 days in dark, many roots.

mg·L⁻¹ + IBA 0.8 mg·L⁻¹，暗培养 12 d。组合 正是 12 号处理组合，也是 18 个处理组合中生根率最高的；组合 不在试验中，还需进一步试验验证。

但极差分析不能给出误差的估计量，不作误差分析，无法估计各因子各水平之间的差异是由于试验误差造成的还是水平间实质性变化。因此，为了进一步反映各因子之间的差异，

表 3 L₁₈(3⁷)正交试验处理组合与结果统计

Table 3 Treatments and statistics of orthogonal experiment L₁₈(3⁷)

No.Exp	1	2	3	4	5	6	7	Rooting percentage (%)
	A	B	A × B	C	A × C	B × C	D	
1	3.0	0.2	1	1/4MS	1	1	4	0
2	3.0	0.5	2	1/2MS	2	2	8	35.7
3	3.0	0.8	3	MS	3	3	12	55.0
4	2.0	0.2	1	1/2MS	2	3	12	78.0
5	2.0	0.5	2	MS	3	1	4	0
6	2.0	0.8	3	1/4MS	1	2	8	25.0
7	1.0	0.2	2	1/4MS	3	2	12	64.0
8	1.0	0.5	3	1/2MS	1	3	4	0
9	1.0	0.8	1	MS	2	1	8	33.3
10	3.0	0.2	3	MS	2	2	4	0
11	3.0	0.5	1	1/4MS	3	3	8	32.0
12	3.0	0.8	2	1/2MS	1	1	12	85.0
13	2.0	0.2	2	MS	1	3	8	25.0
14	2.0	0.5	3	1/4MS	2	1	12	55.0
15	2.0	0.8	1	1/2MS	3	2	4	0
16	1.0	0.2	3	1/2MS	3	1	8	32.0
17	1.0	0.5	1	MS	1	2	12	50.0
18	1.0	0.8	2	1/4MS	2	3	4	0

表 4 L₁₈(3⁷)极差分析

Table 4 Audio visual analysis concerning to *Celastrus angulatus* rooting *in vitro*

Ki	A	B	A × B	C	A × C	B × C	D
K ₁	207.7/6	199.0/6	193.3/6	176.0/6	185.0/6	205.3/6	0
K ₂	183/6	172.7/6	209.7/6	230.7/6	202.0/6	174.7/6	183.0/6
K ₃	179.3/6	198.3/6	167.0/6	163.3/6	183.0/6	190.0/6	387/6
R	38.7/6	26.3/6	42.7/6	67.4/6	19.0/6	30.6/6	204.0/6

表 5 苦皮藤试管苗生根率的方差分析

Table 5 Analysis of standard deviation concerning to *Celastrus angulatus* rooting rates *in vitro*

Factor	SS	DF	MS	F
A	79.46	2	39.732	1.429
B	74.863	2	37.432	1.309
A × B	154.663	2	77.332	2.705
C	427.563	2	39.002	7.479*
A × C	36.333	2	18.167	0.634
B × C	78.003	2	39.002	1.364
D	12493.499	2	6246.500	218.531**
e	114.336	4	28.584	

* F_{0.05}(2,4) = 6.944*, F_{0.005}(2,4) = 26.28**

以便寻求最佳水平,我们进行了方差分析(表5)。结果显示,因子D(暗培养天数)作用极显著,因素C(培养基中无机盐浓度)的作用显著,其他因子作用不显著。说明暗培养和低盐培养基对苦皮藤试管苗生根具有重要作用。

3 讨论

组培苗的生根是一个复杂的生理生化过程。通常认为,生长素与细胞分裂素之间的比值大时有利于根的形成(Barz *et al.*, 1977)。本试验在这样配比的培养基上没有观察到苦皮藤根的发生,且试管苗基部易形成愈伤组织,但添加吲哚丁酸和多效唑的培养基上才有根的生长,并且苗生长健壮、叶片翠绿,移栽成活率高。罗士伟和许智宏(1987)在无籽西瓜生根试验中表明,降低无机盐浓度有利于生根,根多而粗壮,生根也快。我们在试验中发现采用1/2 MS、1/4 MS培养基的生根率普遍高于MS培养基,但采用1/4 MS培养基的生根率却不及1/2 MS培养基高,而且根较细、较弱,显示无机盐浓度过低不一定有利于苦皮藤生根。有研究发现,桃新梢转入1/2 MS附加 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 萘乙酸培养基中经12 d暗培养比不经暗处理的发根率增加20%(曹孜义和刘国民,1995)。本试验结果与其结果基本一致,其原因可能是某些与生根有关基因的表达受光调控。有关光对苦皮藤生根作用机制尚待进一步研究。

参 考 文 献

- 王进忠,孙淑玲,苏红田,2000.植物源杀虫剂的研究利用与现状及展望.北京农学院学报,15(2): 72~73
- 罗士伟,许智宏,1987.经济植物组织培养.北京:科学出版社,43
- 曹孜义,刘国民,1995.实用植物组织培养技术教程.兰州:甘肃科学技术出版社,59
- 巴尔茨,赖因哈德,岑克主编,夏镇澳等译,1983.植物组织培养及其在生物技术上的应用.北京:科学出版社,235~236