北五味子种子诱导分化培养基筛选研究

王艳玲，奚广生

(吉林农业科技学院，吉林 吉林 132109)

摘　要：采用MS基本培养基，添加不同种类和不同浓度的植物激素，选择无污染的北五味子种子，进行组织培养随机试验，筛选北五味子诱导分化较适合的培养基。结果表明：E(MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+GA_3 0.6 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L)处理对北五味子诱导成活率最高，对北五味子种子诱导效果最好。

关键词：北五味子；组织培养；培养基

中图分类号：S 567.7+9　文献标识码：A　文章编号：1001-0009(2009)07-0242-03

五味子(*Schisandra chinensis*)是木兰科五味子属多年生木质藤本植物，是长白山区具有重要价值的药用植物[1]。五味子不但可药用，还用于保健品、饮料，提取芳香油等。北五味子的茎皮可作调料、香料，果汁可作饮料、果酒等。目前，北五味子被广泛用于制药、造酒、饮料生产业中[2-3]。

目前由于多年来人为因素的破坏，野生资源大幅度减少，依靠野生资源已远远不能满足中药材市场、制药和加工企业日益增长的需求。通过组织培养技术可培育出具有优良性状的北五味子新品种。陈雅君、周鑫通过以带腋芽的嫩茎为外植体，诱导腋芽分化，并进一步形成完整植株[4-6]。

现对五味子种子进行组织培养，探讨适宜北五味子种子培养的培养基和培养条件。

1　材料与方法

1.1　试验材料

1.1.1　五味子　选择无污染、生长健壮的五味子种子。

1.1.2　试验药品与试剂　琼脂、蔗糖、MS培养基母液、生长素NAA、2,4-D酒精、6-BA、GA_3、95%酒精、70%酒精棉球等。

1.2　试验方法

1.2.1　试验设计　试验于2007年5月11日在吉林农业科技学院植物组织培养实验室开始进行，试验设6个处理，10次重复，首先配制培养基。A：MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+GA_3 0.4 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L；B：MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.3 mg/L+GA_3 0.6 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L；C：MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L+GA_3 0.8 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L；D：MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+GA_3 0.2 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L；E：MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+GA_3 0.6 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L；F：MS+NAA 0.5 mg/L+2,4-D 0.7 mg/L+GA_3 0.8 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L。

1.2.2　操作过程　选择无污染去皮五味子种子作为外植体，将外植体经流水冲洗，备用。在超净工作台前，将五味子种子放在70%酒精中灭菌30 s，无菌水冲洗干净，再放入0.1%$HgCl_2$灭菌10 min，无菌水冲洗干净，接种于准备好的培养基上，每瓶3粒种子。

1.2.3　培养条件　培养温度：(20±2)℃，光照时间：8 h/d，相对湿度：70%~80%，光照强度：1 500~2 000 lx。

2　结果与分析

2.1　培养50 d的调查结果

在试验后的50 d(7月5日)对五味子成活数情况进行调查，其调查情况如表1。

表1　不同处理的五味子种子诱导分化成活数

培养基	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$
A	2	1	1	1	1	1	0	1	2	0	1.0
B	0	1	2	2	1	0	1	2	1	2	1.2
C	2	1	0	1	0	2	0	0	1	2	0.9
D	3	2	2	2	1	0	2	1	1	2	1.6
E	2	2	3	3	2	1	2	3	2	2	2.2
F	3	3	2	2	2	0	2	1	3	2	2.0

将种子接种到不同浓度的2,4-D和不同浓度的GA_3配比的培养基上，E、F_2种培养基诱导效果较好。其中以E培养基2,4-D浓度为0.5 mg/L配以GA_3浓度为0.6 mg/L的成活率最高，达73.33%，F培养基2,4-D浓度为0.7 mg/L配以GA_3浓度为0.8 mg/L的成活率达

第一作者简介：王艳玲(1965-)，女，硕士，副教授，研究方向为药用植物组织培养。

基金项目：吉林省教育厅科研资助项目。

收稿日期：2009-02-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

66.67%,次之。而其他浓度的配比成活率不高,说明添加一定浓度的2,4-D和GA_3对诱导五味子成活有一定的作用。

表2 不同培养基上经过50 d对五味子成活率的影响

培养基	外植体数/个	成活数/个	成活率/%
A	30	10	33.33
B	30	12	40
C	30	9	30
D	30	16	53.33
E	30	22	73.33
F	30	20	66.67

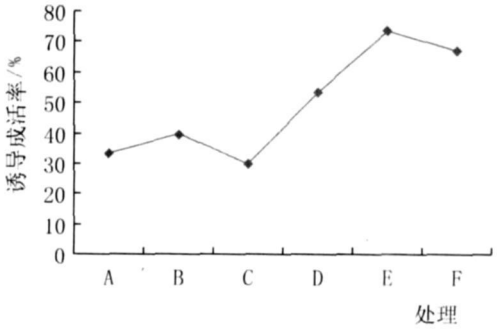

图1 不同处理与五味子成活率的关系

2.2 不同处理对五味子诱导成活率的影响

由图1可知,E处理诱导成活率最高,F处理诱导成活率次之,较高浓度的2,4-D配以较低浓度的GA_3的C处理诱导成活率最低,但并不是越高浓度之间配比越好。各个处理相比结果表明2,4-D与GA_3的作用还是显著的。处理E:MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+$GA_3$0.6 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L对北五味子种子诱导效果成活率最好。

2.3 方差分析

由以上的调查数据,可以看出其中以E培养基2,4-D浓度为0.5 mg/L配以GA_3浓度为0.6 mg/L的成活率最高,F培养基2,4-D浓度为0.7 mg/L配以GA_3浓度为0.8 mg/L的成活率次之,因此要运用以上数据对其进行方差分析,以确定处理的平均数间差异是否显著。

表3 不同浓度NAA处理对五味子成活影响的方差分析表

变异来源	*SS*	*DF*	*MS*	*F*	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
处理间	14.4833	5	2.8967	4.5339**	2.38	3.37
处理内	34.5	54	0.6389			
总变异	48.9833	59				

注:**表示处理间差异极显著。

方差分析结果表明:$F=4.5339>F_{0.01}$,处理间存在极显著差异。

由于处理间存在极显著性的差异,所以需对其进行多重比较,使用LSR法。

表4 M=6时各组距的SSR值和LSR值

	K=6	*K*=5	*K*=4	*K*=3	*K*=2
$SSR_{0.05}$	3.2	3.14	3.08	2.98	2.83
$SSP_{0.01}$	4.17	4.12	4.03	3.92	3.76
$LSR_{0.05}$	0.809	0.794	0.779	0.753	0.715
$LSR_{0.01}$	1.054	1.041	1.019	0.991	0.951

表5 不同处理对五味子成活平均数间差异显著性检验

培养基代号	平均数	差异显著性 a=0.05	差异显著性 a=0.01
E	2.2	a	A
F	2.0	a	AB
D	1.6	ab	AB
B	1.2	b	AB
A	1.0	b	B
C	0.9	b	B

多重比较结果表明:E处理与A、C处理存在极显著差异,F处理与A、B、C处理存在显著差异,D处理与其他处理没有显著差异。通过该试验可以得出结论:E处理(MS+NAA 0.3 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+$GA_3$0.6 mg/L+6-BA 2.0 mg/L+蔗糖30 g/L+琼脂8 g/L)最适合北五味子种子诱导分化,F处理次之。

3 讨论

近年来,国内外对五味子的需求逐年增加,导致五味子药源供应不足,北五味子在野生条件下,主要靠营养繁殖,由母株地下横走茎形成不定芽,次年长成新的植株,繁殖速度很慢[6]。由于森林的减少,适宜环境被破坏,五味子的贮量急骤减少,人工栽培是解决这一矛盾的好方法。五味子种子一般需层积处理4个月以上才能发芽,发芽率较低。用组织培养的方法繁殖苗木可以解决五味子栽培上优质苗木繁育及快速繁殖苗木的问题。通过组织培养克服了传统人工栽培存在的繁殖系数小、生产周期长等问题,能够快速繁殖五味子苗木,并能提供规格整齐、优质、无病毒的五味子种苗,有利于工业化生产。加快五味子资源的人工培育,并利用组织培养、细胞培养等生物技术提高五味子成苗率和药效,使其尽快成为振兴地方经济和农民脱贫致富的中药产业。

参考文献

[1] 应国清,俞志明,单剑锋.北五味子有效组分的研究进展[J].河南中医,2005,25(6):84-87.

[2] 屈惠鸽.五味子酿酒工艺及产品质量研究[J].食品科学,2005,26(1):112-115.

[3] 陈雅君,李英俊.北五味子复合保健饮料研制初报[J].东北农业大学学报,1998,29(2):195-200.

[4] 陈雅君,吴秀菊,关政华.药用植物北五味子的组织培养[J].植物研究,1999,19(3):318-322.

[5] 周鑫.五味子的组织培养[J].中国林副特产,2001,11(4):6-7.

[6] 朱俊仪.北五味子组织培养中愈伤组织的诱导[J].东北林业大学学报,2006,11(6):41-42.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

杜仲成熟胚离体培养研究

孙　宁[1], 刘玉芹[2], 赵新海[3], 陈小强[1], 张　磊[1]

(1. 天津农学院 农学系, 天津 300384; 2. 天津农学院 园艺系, 天津 300384; 3. 天津农学院 计算机科学与信息工程系, 天津 300384)

摘　要: 以杜仲种子为外植体进行离体培养, 研究了胚培养方法、培养条件和影响因素。结果表明: 可采用种子 70%酒精处理 30 s, 0.1%升汞 4 min, 无菌条件下剖开种皮取胚接种, 可有效控制污染, 亦可保证胚的存活率; 通过控制 NAA、6-BA、2, 4-D 浓度配比可获得杜仲胚苗或愈伤组织; MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 1.5 mg/L 蔗糖 20%培养基, 最适于不定芽的分化和增殖, 分化率达 90%; 1/2MS+IBA 1.5 mg/L+蔗糖 20%对不定芽生根的诱导效果最好, 生根率达 90.3%。

关键词: 杜仲; 成熟胚; 离体培养; 培养基

中图分类号: S 567.28+9　文献标识码: A　文章编号: 1001-0009(2009)07-0244-03

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)是我国特有树种, 经济价值很高, 资源稀少, 不仅是我国传统的贵重中药材, 具有补肾壮腰和抑制肿瘤生长等作用, 特别是对血压有双向调节功能[1-3]; 它也是温带最有开发利用前景的胶源植物, 在它的叶片、树皮、根皮和果皮中都含有杜仲胶, 因而受到世人的普遍重视[4]。

近年来, 由于其价值的不断发现, 杜仲价格剧涨, 导致乱砍滥伐、种子产量减少且破坏了原来就为数不多的杜仲资源。杜仲一般采用种子繁殖、扦插或通过伐桩来产生萌蘖, 但发芽率不高, 使得杜仲的供应十分困难, 生产中种苗的缺口很大。组织培养是解决种苗快繁的有效方法之一。目前已有部分应用杜仲愈伤组织和植株再生的研究的报道[5-9]。试验利用杜仲的成熟胚为试材对其萌发、不定芽增殖和试管苗生根进行了探讨和试验, 旨在为杜仲的离体培养研究和种苗的快速繁殖提供理论和技术支持。

第一作者简介: 孙宁(1979-), 女, 河北承德人, 硕士, 实验师, 现从事植物细胞工程研究工作。E-mail: sning79@sina.com。

通讯作者: 张磊(1952-), 男, 辽宁锦州人, 教授, 现主要从事遗传学和植物细胞工程学研究。

基金项目: 天津市科技攻关计划资助项目(05YFGZNC01200)。

收稿日期: 2009-02-10

1　材料与方法

1.1　试验材料

取当年生饱满杜仲种子为材料。

1.2　试验方法

1.2.1　外植体的灭菌和预培养　种胚灭菌采用 A.带种皮和 B.裸胚(剥去种皮)灭菌 2 种方法。分别经 70%酒精浸泡 30 s, 后用 0.1% $HgCl_2$ 处理 3、4、5、6 min, 然后用无菌水冲洗 3~4 次。培养基为无激素 MS 培养基。灭菌后裸胚直接接种, 带种皮种子在无菌条件下用解剖刀剥去种皮后将胚接种于无激素 MS 培养基中。

Screening Culture Medium of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils's Induction and Differentiation.

WANG Yan-ling, XI Guang-sheng

(College of Jilin Agriculture Science and Technology of Jilin, Jilin 132109, China)

Abstract: Adopting MS basic culture medium, adding different kinds and different concentration of the plant hormones, choosing non-pollution seeds of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils, cloing the random testing of tissue culture. Result Shoued The E treatment had the best sunival rate of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils's induction, also had the best effect on the seeds of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.

Key words: *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils; Tissue culture; Culture medium

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net