

# 桔梗胚珠培养中愈伤组织诱导培养基的优化

徐芳芳<sup>1</sup>, 赵丽莉<sup>1</sup>, 荀洋<sup>2</sup>, 杨丽<sup>1</sup>, 金江山<sup>1</sup>, 严一字<sup>1</sup>

(1. 延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 延边朝鲜族自治州种子管理站, 吉林 延吉 133001)

**摘要:**以桔梗未受精胚珠为试材, 研究比较了不同生长素和细胞分裂素组合对其愈伤组织诱导及鲜重大小的影响, 以筛选最佳诱导培养基。结果表明: 诱导桔梗未受精胚珠愈伤组织形成的比较理想的培养基组合有 2 个, 一是 N6+1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L KT, 其诱导率最高, 达到了 100%, 同时愈伤组织平均鲜重较大; 二是 N6+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT, 其诱导率较高为 90%, 愈伤组织平均鲜重最大。

**关键词:**桔梗; 胚珠; 组织培养; 诱导率; 愈伤组织鲜重

**中图分类号:**Q 949.783.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0106-03

桔梗[*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC] 属桔梗科桔梗属多年生草本植物, 别名道拉基、四叶菜、包袱花、僧帽花、苦梗、铃铛花、土人参等。由于其体内含有皂苷成分, 通常被用于中药材料, 具有溶血<sup>[1]</sup>、镇静、镇痛及解热作用, 还具有降血压<sup>[2]</sup>、抗溃疡<sup>[3]</sup>、祛痰、扩张血管等功效。同时, 桔梗可食用, 现已是朝鲜族饭桌上风味小菜之一<sup>[4]</sup>。桔梗还具有其它用途, 如可作为观赏植物、美容、戒酒等。

桔梗为常异花授粉植物, 由于雌雄蕊异熟, 在自然状态下结实主要靠异花授粉<sup>[5]</sup>。因此现存的桔梗种子资源绝大部分都是杂合的, 几乎没有纯系品种。这给桔梗的遗传规律研究、良种繁育以及种质资源的保存等育种实践带来了很多困难。

目前以花粉、花药以及未受精的胚珠作为材料, 利用组织培养技术培育成单倍体植株的实例很多, 愈伤组织的诱导是获取单倍体植株的第一步, 也是十分重要的一步。该研究以未受精桔梗胚珠为接种材料, 以 N6 作为基本培养基, 分别添加 9 组不同的激素组合, 比较不同激素组合对诱导胚珠愈伤组织及其鲜重大小的影响, 以筛选出最佳的诱导培养基, 为今后对桔梗未受精胚珠组织培养研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

接种材料为延边大学农学院试验田种植的多年生桔梗。参考张美萍<sup>[6]</sup>的桔梗胚胎学研究结果, 取 1.7 cm 的花蕾, 此时胚珠为单核胚囊时期。

诱导培养基以 N6 为基本培养基, 生长素为 2,4-D、NAA、IAA, 细胞分裂素为 KT、GA、6-BA, 其组合如表 1 所示。每培养基中均含琼脂为 7 g/L, 蔗糖为 50 g/L, pH 为 5.8。

表 1 N6 基本培养基的不同激素处理

Table 1 Different hormone treatments in the N6

处理号 No. of treatment	激素组合 Hormone combination
1	1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L KT
2	1.0 mg/L 2,4-D+0.2 mg/L 6-BA
3	1.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L GA
4	0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT
5	0.5 mg/L NAA+0.2 mg/L 6-BA
6	0.5 mg/L NAA+0.5 mg/L GA
7	0.1 mg/L IAA+0.1 mg/L KT
8	0.1 mg/L IAA+0.2 mg/L 6-BA
9	0.1 mg/L IAA+0.5 mg/L GA

### 1.2 试验方法

将选好的花蕾用酒精和升汞消毒后, 将花蕾用解剖刀剥离, 取出胚珠接到不同激素组合的培养基上, 3 次重复, 每次重复接种 10 块胚珠, 40 d 后统计愈伤组织诱导结果。同时, 用电子天平称取各处理每次重复的平均大小的 3 块愈伤组织, 调查其愈伤组织的平均鲜重。

### 1.3 数据分析

试验数据利用新复极差法 (LSR) 进行多重比较分析。

**第一作者简介:**徐芳芳(1989-), 女, 吉林白城人, 硕士研究生, 现主要从事中药材桔梗的组织培养等研究工作。E-mail: xff615@163.com.

**责任作者:**严一字(1964-), 女, 黑龙江北安人, 博士, 副教授, 现主要从事中药材桔梗的栽培和育种等教学与科研工作。E-mail: yiz-yan@ybu.edu.cn.

**收稿日期:**2014-03-13

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素组合的桔梗胚珠愈伤组织诱导率的比较

愈伤组织诱导率的调查结果如图 1 所示。对 9 组处理数据进行方差分析,结果表明各个处理间存在极显著差异,即  $F=180.143 > F_{0.05(8,18)} = 2.51 > F_{0.01(8,18)} = 3.71$ 。在 5% 和 1% 显著水平上,处理 1 的诱导率均显著大于其它的处理,达到了 100.0%。其次是处理 4,诱导率为 90.0%,处理 4 除了与处理 2 之间不存在显著差异外,与其它处理间均存在显著差异。诱导率最低的是处理 6,仅为 23.3%,且均极显著小于其它处理。

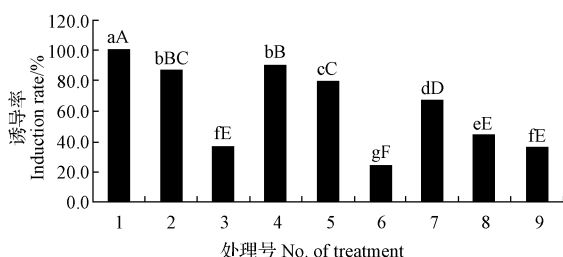


图 1 不同激素处理对愈伤组织诱导率的影响

Fig. 1 Effect of different hormone treatments on induction rate of ovule calli

### 2.2 不同激素种类对桔梗胚珠愈伤组织诱导率的影响

从表 2 可知,以 KT、6-BA 和 GA 为细胞分裂素时的平均诱导率分别为 85.57%、69.67% 和 31.90%,即 KT 高于 6-BA 和 GA,GA 的平均诱导率最差;以 2,4-D、NAA 和 IAA 为生长素时的愈伤组织平均诱导率分别为 74.47%、64.10% 和 48.57%,即 2,4-D 高于 NAA 和 IAA,

表 2 不同激素种类对胚珠愈伤组织诱导率的比较

Table 2 Comparison of induction rate of ovule calli under the different hormone treatments

激素种类 Variety of hormone	激素组合 Hormone combination	诱导率 Induction rate/%	平均诱导率 Average induction rate/%
0.1 mg/L KT	KT+2,4-D	100.0	85.57
	KT+NAA	90.0	
	KT+IAA	66.7	
0.2 mg/L 6-BA	6-BA+2,4-D	86.7	69.67
	6-BA+NAA	79.0	
	6-BA+IAA	43.3	
	GA+2,4-D	36.7	
0.5 mg/L GA	GA+NAA	23.3	31.90
	GA+IAA	35.7	
	2,4-D+KT	100.0	
	2,4-D+6-BA	86.7	
1.0 mg/L 2,4-D	2,4-D+6-BA	86.7	74.47
	2,4-D+GA	36.7	
	NAA+KT	90.0	
	NAA+6-BA	79.0	
0.5 mg/L NAA	NAA+GA	23.3	64.10
	IAA+KT	66.7	
	IAA+6-BA	43.3	
0.1 mg/L IAA	IAA+6-BA	43.3	48.57
	IAA+GA	35.7	

而 IAA 的平均诱导率最差。因此,以 KT 为细胞分裂素时和以 2,4-D 为生长素时有利于诱导桔梗未受精卵胚珠愈伤组织的形成。

### 2.3 不同激素组合的桔梗胚珠愈伤组织鲜重的比较

从图 2 可知,不同激素组合的愈伤组织平均鲜重处理序号的大小排列顺序为 4>7>1>5>2>8>3>6>9。对 9 组处理数据进行方差分析,其结果表明各个处理间愈伤组织平均鲜重差异存在极显著,即  $F=3605.513 > F_{0.05(8,18)} = 2.51 > F_{0.01(8,18)} = 3.71$ 。无论在 5% 显著水平上还是在 1% 显著水平上,处理 2 除了与处理 8 无显著差异外,其它 7 组处理间均表现为差异显著。处理 4 的胚珠愈伤组织鲜重极显著大于其它处理,为 0.2739 g;其次是处理 7,为 0.2170 g;再次是处理 1,为 0.1989 g。而处理 9 的平均鲜重最小,仅为 0.0126 g。

通过称其不同激素组合的愈伤组织鲜重可知,愈伤组织诱导率高的组合,其鲜重不一定是最大的;同样,诱导率低的处理,其鲜重也不一定是最小的。诱导桔梗胚珠愈伤组织平均鲜重最大的激素组合是 N6+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT。

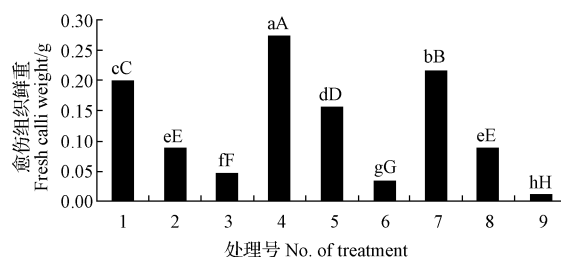


图 2 不同激素处理对愈伤组织鲜重的影响

Fig. 2 Effect of different hormone treatments on average fresh weigh of ovule calli

### 2.4 不同激素种类对桔梗胚珠愈伤组织鲜重大小影响

从表 3 可知,以 KT、6-BA、GA 为细胞分裂素时的愈伤组织平均鲜重分别为 0.2299、0.1112、0.0312 g,即 KT 高于 6-BA 和 GA,GA 的愈伤组织鲜重最小;以 2,4-D、NAA、IAA 为生长素时的愈伤组织平均鲜重分别为:0.1113、0.1553、0.1057 g,即 NAA 高于 2,4-D 和 IAA,而 2,4-D 的平均愈伤组织鲜重最小。因此,以 KT 为细胞分裂素时和以 NAA 为生长素时对桔梗未受精卵胚珠愈伤组织鲜重的大小影响比较大。

## 3 讨论与结论

该研究结果表明,不同激素处理组合中,桔梗胚珠愈伤组织诱导率最高的是 1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L KT,即 100.0%;其次是 0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT,即 90.0%。桔梗胚珠愈伤组织平均鲜重最大的激素组合是 0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT;其次是 0.1 mg/L IAA+0.1 mg/L KT 和 1.0 mg/L 2,4-D+

表 3 不同激素种类对胚珠愈伤组织  
鲜重大小的影响

Table 3 Effect of different varieties of hormone on  
fresh weigh of ovule calli

激素种类 Variety of hormone	激素组合 Hormone combination	愈伤组织鲜重 Fresh calli weight/g	平均愈伤组织鲜重 Average fresh calli weight/g
KT	KT+2,4-D	0.1989	0.2299
	KT+NAA	0.2739	
	KT+IAA	0.2170	
6-BA	6-BA+2,4-D	0.0885	0.1112
	6-BA+NAA	0.1577	
	6-BA+IAA	0.0875	
GA	GA+2,4-D	0.0466	0.0312
	GA+NAA	0.0344	
	GA+IAA	0.0126	
2,4-D	2,4-D+KT	0.1989	0.1113
	2,4-D+6-BA	0.0885	
	2,4-D+GA	0.0466	
NAA	NAA+KT	0.2739	0.1553
	NAA+6-BA	0.1577	
	NAA+GA	0.0344	
IAA	IAA+KT	0.2170	0.1057
	IAA+6-BA	0.0875	
	IAA+GA	0.0126	

0.1 mg/L KT。结合愈伤组织诱导率高低和愈伤组织鲜重大小,得出诱导桔梗胚珠愈伤组织形成的比较理想的诱导培养基组合是 N6+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT 和 N6+1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L KT。

吴京姬等<sup>[7]</sup>得出以 2,4-D+KT 为激素组合时,桔梗叶片、茎段的愈伤组织诱导率较高,但没有达到 100% 的结果。而舒雯等<sup>[8]</sup>研究表明,单独使用 2,4-D 诱导桔梗叶片愈伤组织时的诱导率却达到了 100%。该试验结果表明,使用激素 2,4-D+KT 组合时,愈伤组织诱导率达

到了 100%。造成这些研究结果差异的原因也许与采用的外植体不同有关。

以桔梗未受精胚珠为外植体时,在诱导率高的 2,4-D+KT 和 NAA+KT 2 种激素组合中,愈伤组织鲜重产生差异的原因可能是由于生长素 2,4-D 对细胞的伸长作用没有 NAA 大而导致的。武冲等<sup>[9]</sup>认为,生长素 2,4-D 可能会影响分化后的植株的倍性,吴京姬等<sup>[7]</sup>认为,高浓度的 2,4-D 不利于愈伤组织分化。而该研究中以 N6+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT 和 N6+1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L KT 为诱导培养基得到的愈伤组织的分化率有何差异,以及诱导培养基中的 2,4-D 浓度对诱导出的愈伤组织分化的影响还有待进一步探讨。

### 参考文献

- [1] 朱社敏,费远志. 各种桔梗溶血作用的比较[J]. 中草药,1991,22(7): 324-325.
- [2] 高云芳,陈超,张海洋,等. 桔梗总皂苷对大鼠高脂血症的影响[J]. 中草药,2000,31(10):764-765.
- [3] 张树臣,杨晓静,侯桂华,等. 白花桔梗与紫花桔梗药理作用比较[J]. 大连大学学报,2000,21(6):71-75.
- [4] 周涛. 桔梗系列保健食品的开发[J]. 农牧产品开发,2000(5):44-47.
- [5] 吴基日,严一字,吴松权,等. 桔梗自花传粉结实率低的原因及其解决方法[J]. 延边大学农学院学报,2005,27(1):56-60.
- [6] 张美萍. 桔梗(*Platycodon grandiflorum* A. DC)胚胎学研究[J]. 吉林农业大学学报,1992,14(2):25-30.
- [7] 吴京姬,吴基日,严一字,等. 培养基组成对桔梗组织培养的影响[J]. 延边大学农学院学报,2006,28(1):18-23.
- [8] 舒雯,高山林. 桔梗的组织培养[J]. 植物资源与环境学报,2001,10(3):63-64.
- [9] 武冲,唐树梅,张勇,等. 植物花粉培养研究进展[J]. 农业基础科学,2008,24(11):146-149.

## Optimization of Media for Inducing Ovule Culture of *Platycodon grandiflorum*

XU Fang-fang<sup>1</sup>, ZHAO Li-li<sup>1</sup>, XUN Yang<sup>2</sup>, YANG Li<sup>1</sup>, JIN Jiang-shan<sup>1</sup>, YAN Yi-zi<sup>1</sup>

(1. Agricultural College, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002; 2. Seed Management Station of Yanbian State, Yanji, Jilin 133001)

**Abstract:** Taking unfertilized ovules of *Platycodon grandiflorum* as materials, the effect of different combinations of auxin and cytokinin on the callus induction and fresh weight were studied and compared, in order to screen out the best induction medium. The results showed that two optimal media for inducing unfertilized ovules to form calli were selected, the first optimal medium was N6+1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L KT, the induction rate was 100% and the average fresh weight of callus was large; the second optimal medium was N6+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT, the induction rate was 90% and the average fresh weight of callus was the largest.

**Key words:** *Platycodon grandiflorum*; ovule; tissue culture; induction rate; fresh calli weight