

北五味子组织培养中愈伤组织的诱导¹⁾

朱俊义 刘雪莲 秦佳梅 顾地州

(通化师范学院, 通化, 134002)

摘 要 以北五味子的嫩茎段、叶片、叶柄、果柄为外植体, 以 MS 和 B₅ 附加不同激素配比的培养基为基质, 探讨了诱导北五味子愈伤组织较合适的外植体及培养基。结果表明: 北五味子的嫩茎段是愈伤组织诱导的理想外植体, 而培养基中以 MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.2 mg/L + 2,4 - D0.1 mg/L + IBA0.3 mg/L 和 B₅ + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.2 mg/L + KT0.1 mg/L 的诱导效果较好。

关键词 北五味子; 愈伤组织; 外植体

分类号 S722.37

Callus Induction of *Schisandra chinensis* (Turcz.) in Vitro/Zhu Junyi, Liu Xuelian, Qin Jiamei, Gu Dizhou (Tonghua Normal University, Tonghua 134002, P. R. China)//Journal of Northeast Forestry University. -2006, 34(6). -41~42

The tender stem segments, leaves, petioles and fruit stacks of *Schisandra chinensis* (Turcz.) as explants were cultured on various media (MS and B₅) with different kinds of hormones. Results showed that tender stem segments are good explants of callus induction, and the optimal media are MS + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.2 mg/L + 2,4 - D0.1 mg/L + IBA0.3 mg/L and B₅ + 6 - BA1.0 mg/L + NAA0.2 mg/L + KT0.1 mg/L.

Key words *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill; Callus; Explants

北五味子 (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill) 是五味子科五味子属的多年生落叶木质藤本, 是长白山区具有重要经济价值的药用植物^[1-3]。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、饮料生产中^[4-6]。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^[7]。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。而北五味子的人工繁殖主要是以种子进行有性繁殖, 在繁殖过程中优良性状无法控制, 有些甚至丢失。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^[8]、周鑫^[9]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, 而该研究中没有提到愈伤组织的诱导问题。文中以北五味子的嫩茎段、叶片、叶柄、果柄为外植体, 在不同激素组合的培养基上诱导愈伤组织的产生, 为今后用愈伤组织分化茎叶体, 进一步生根培养并形成完整植株做准备。

1 材料与方法

于5—6月份, 选取林区自然生长的健壮的北五味子的嫩茎段、叶片、叶柄、果柄作为外植体。将各种外植体经流水冲洗4~5h, 在超净工作台上先用70%酒精浸泡30s, 再用0.2%升汞溶液消毒8~10min, 取出后用无菌水漂洗4~6次, 然后用无菌滤纸将外植体表面的水吸干, 将材料切成1cm长的小段, 叶柄上要带有一小部分叶片, 果柄上要带有果原基, 然后分别接种于不同激素浓度配比的诱导培养基上。培养温度(25±2)℃, 光照12h·d⁻¹, 光照强度1500~2000lx。

以MS、B₅为基本培养基^[10-11], 添加不同种类和不同质量浓度的激素(MS中蔗糖为3%, B₅培养基中蔗糖为2%, 琼脂为0.64%), pH值5.8, 培养基配比如下(激素单位均为mg/L):

- (1) MS + 6 - BA1.0 + NAA0.2;
- (2) MS + 6 - BA1.0 + NAA0.2 + 2,4 - D0.1;
- (3) MS + 6 - BA1.0 + NAA0.2 + 2,4 - D0.1 + IBA0.1;
- (4) MS + 6 - BA1.0 + NAA0.2 + 2,4 - D0.1 + IBA0.3;
- (5) MS + 6 - BA1.0 + NAA0.2 + 2,4 - D0.1 + IBA0.5;
- (6) B₅ + 6 - BA1.0 + NAA0.1 + KT0.1;
- (7) B₅ + 6 - BA1.0 + NAA0.2 + KT0.1;
- (8) B₅ + 6 - BA1.0 + NAA0.3 + KT0.1;
- (9) B₅ + 6 - BA1.0 + NAA0.4 + KT0.1;
- (10) B₅ + 6 - BA1.0 + NAA0.5 + KT0.1。

2 结果与分析

2.1 MS培养基上各外植体的愈伤组织诱导效果

将北五味子嫩茎段和叶片接种到MS诱导培养基上进行培养, 一周后4号培养基中嫩茎段和叶片的切口处有愈伤组织出现, 呈黄绿色, 生长良好, 诱导率最高达70%。而其它培养基在20d以后才开始陆续诱导出愈伤组织, 1号培养基的诱导时间最长, 达30d。不同激素组合对愈伤组织的诱导影响很大(表1), 不添加2,4-D的1号培养基虽然也能诱导出愈伤组织, 但诱导时间较长, 且诱导率很低; 而添加了2,4-D的培养基愈伤组织的诱导效果较好。这是因为, 2,4-D是诱导愈伤组织活力最高的激素, 它的添加刺激了愈伤组织的形成。添加IBA的培养基愈伤组织的诱导率有提高的趋势, 而且适当的生长素与细胞分裂素的比例有利于愈伤组织的诱导。无论在哪个培养基上嫩茎段的诱导效果要好于叶片。

将叶柄和果柄接种到MS培养基上, 在不添加2,4-D的1号培养基上, 叶柄和果柄的诱导效果均较差(表1)。在细胞分裂素和生长素比例适中的4号培养基上, 诱导效果相对较好, 且果柄的诱导效果要好于叶柄。

2.2 B₅培养基上各外植体的愈伤组织诱导效果

将北五味子嫩茎段、叶片作为外植体接种到B₅诱导培养基上进行培养(表2), 两周左右, 各处理外植体的切口处均有愈伤组织出现, 7号培养基上嫩茎段的愈伤组织诱导率高达75%, 且愈伤组织生长良好。随着生长素NAA浓度的升高, 愈伤组织的诱导率有先升后降的趋势, 同样证明了细胞分裂素与生长素的比例影响愈伤组织的诱导。叶片的愈伤组织诱

1) 吉林省科技厅资助项目(20040904 - 21 - 2)。

第一作者简介: 朱俊义, 男, 1966年5月生, 通化师范学院, 教授, 东北师范大学生命科学学院在读博士研究生。

通讯作者: 朱俊义 (E-mail: swx0527@163.com)。

收稿日期: 2006年4月18日。

责任编辑: 李金荣。

导效果在9号培养基上较好。愈伤组织在B₅培养基上继续培养也能形成胚状体,且可培养较长时间不死亡。

表1 MS培养基上各外植体的愈伤组织诱导效果

培养基 代号	激素质量浓度/mg·L ⁻¹				嫩茎段			叶 片			叶 柄			果 柄		
	6-BA	NAA	2,4-D	IBA	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%
1	1.0	0.2	0	0	30	5	16.7	28	2	7.1	18	1	5.6	20	2	10.0
2	1.0	0.2	0.1	0	36	22	61.1	31	12	38.7	24	10	41.7	27	15	55.6
3	1.0	0.2	0.1	0.1	30	17	56.7	35	13	37.1	27	12	44.4	32	18	56.3
4	1.0	0.2	0.1	0.3	30	21	70.0	32	18	56.3	30	17	56.7	30	19	63.3
5	1.0	0.2	0.1	0.5	28	17	60.7	26	12	46.2	30	16	53.3	28	15	53.6

表2 B₅培养基上各外植体的愈伤组织诱导效果

培养基 代号	激素质量浓度/mg·L ⁻¹			嫩茎段			叶 片			叶 柄			果 柄		
	6-BA	NAA	KT	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%	外植 体数	形成愈伤组织 的外植体数	诱导 率%
6	1.0	0.1	0.1	28	13	46.4	26	10	38.5	20	9	45.0	28	11	39.3
7	1.0	0.2	0.1	28	21	75.0	30	13	43.3	28	17	60.7	24	16	66.7
8	1.0	0.3	0.1	32	20	62.5	30	13	43.3	20	11	55.0	22	13	59.1
9	1.0	0.4	0.1	30	18	60.0	32	15	46.9	32	14	43.8	27	16	59.3
10	1.0	0.5	0.1	28	14	53.6	28	12	42.9	30	11	36.7	30	15	50.0

将叶柄、果柄接种到不同激素配比的B₅培养基上(表2),7号培养基上各外植体的诱导效果均较好,果柄的愈伤组织诱导率较高,达66.7%,叶柄的诱导率为60.7%;而叶柄、果柄在其它培养基上的愈伤组织诱导率均不如7号。

3 结论与讨论

无论在何种培养基上,嫩茎段的诱导效果都最好,愈伤组织诱导率最高可达75%,果柄次之,叶柄再次之,而叶片的效果最差。因此,可以选取嫩茎段来进行北五味子的组织培养。

各外植体在MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L+2,4-D0.1 mg/L+IBA0.3 mg/L和B₅+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L+KT0.1 mg/L培养基上的诱导效果均较好;在某些B₅培养基(6号、7号和8号)上的愈伤组织诱导效果要好于在MS培养基上的诱导效果。除了细胞分裂素与生长素种类和比例的原因以外,还可能是由于B₅培养基中有机物的含量较高,有利于北五味子愈伤组织的诱导,在今后的试验中有待进一步加以研究证实。

参 考 文 献

[1] 赵国栋,王西燕,廉士君.北五味子全光照喷雾嫩枝扦插试验初

报[J].吉林林业科技,1995,24(6):13-14.

[2] 臧日华,张利国,李绍奎.吉林地区野生药用植物资源的调查[J].吉林林业科技,2003,32(4):24-29.

[3] 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.

[4] 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.

[5] 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.

[6] 聂江力,付玉杰,王振宇.黑龙江省北五味子资源及其保健品开发利用[J].植物研究,2002,22(1):121-124.

[7] 赵福德,刘孝坤.北五味子人工栽培技术[J].吉林林业科技,2005,34(2):37-40.

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

[9] 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.

[10] 曹孜义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2002:6.

[11] 曹孜义.现代植物组织培养技术[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2003.

2007年《中国林副特产》征订启事

《中国林副特产》(双月刊)国内外公开发行人,是全国唯一林副特产方面的应用技术性科技期刊,是“中国学术期刊(光盘版)”、“中国期刊网”、“万方数据库数字化期刊群”全文收录期刊,并被国家科技部收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。

本刊以应用技术为主,立足林业,为林区经济建设服务。重点报道林副特产资源的开发、保护和利用,研究成果,产品信息,生产管理和国内外研究动向,使林区特色资源优势尽快转化为经济优势,以促进我国林区经济的发展。坚持以刊登新成果、新技术为办刊宗旨,主要栏目有试验研究、应用技术、资源与调查、综述等。具体内容包括山野菜、中草药、果树、油料、香料、蜜源等林区特产经济植物的调查、保护、开发、种植和加工;野生动物的调查、养殖、加工;食用菌的引种、栽培、加工;林区农作物种植;园林绿化;林业多种经营管理经验;科技信息等。

适于从事林业、农业的科研、教学、生产、经营等相关人士订阅。

国内统一刊号CN23-1303/S,邮发代号14-202,双月20日出版。每册定价5.00元,全年30.00元。也可直接向本刊编辑部订阅。

地址:(157011)黑龙江省牡丹江市爱民区北山街15号《中国林副特产》编辑部

电话:0453-6527409 传真:0453-6528052 <http://www.fbsic.com> E-mail:zglftc@sohu.net

附: 期刊交换函

我刊拟与贵刊长期互换期刊,贵刊如同意请发E-mail告知。

《中国林副特产》编辑部

2006年8月3日