

不同浓度 NAA 对北五味子诱导成活率的影响

孔春雨, 刘广娜 (吉林农业科技学院, 吉林吉林 132109)

摘要 [目的]应用组织培养技术,研究北五味子组织培养诱导成活技术。[方法]采用 MS 基本培养基,添加不同浓度的植物激素,选择无污染的北五味子茎,进行组织培养随机试验。根据试验结果来研究不同浓度植物激素对北五味子诱导成活率的影响,筛选北五味子诱导分化较适合的培养基。[结果]培养基中以 MS + 琼脂 8 g/L + 蔗糖 30 g/L + 6-BA 0.15 mg/L + NAA 0.50 mg/L 的诱导效果较好。[结论]通过配制不同浓度 NAA 的培养基,对北五味子诱导分化进行试验研究,MS + 琼脂 8 g/L + 蔗糖 30 g/L + 6-BA 0.15 mg/L + NAA 0.50 mg/L 最适合北五味子茎分化。

关键词 北五味子茎;组织培养;培养基

中图分类号 S567.23⁺9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)06-02391-01

Influence of NAA with Different Concentration on the Survival Rate of *Schisandrae chinensis*

KONG Chun-yu et al (Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132109)

Abstract [Objective] The purpose of this study was to use the technology of tissue culture to study tissue culture induced survival techniques on *Schisandrae chinensis*. [Method] Adopting the basic medium of MS, adding different density of the phytohormone and choosing non-polluted stem of *Schisandrae chinensis* to carry out the random test. Study the impact of different density of the phytohormone on inducing the survival rate of *Schisandrae chinensis* according to the results and screen the appropriate medium for *Schisandrae chinensis*'s induction and differentiation. [Result] The inducing survival rate was the highest in the medium of MS + 0.15 mg/L 6-BA + 0.50 mg/L NAA + 30 g/L sucrose + 8 g/L agar. [Conclusion] Through preparing the mediums with different density of NAA, studied on *Schisandrae chinensis*'s induction and differentiation, then found out that the medium of MS + 0.15 mg/L 6-BA + 0.50 mg/L NAA + 30 g/L sucrose + 8 g/L agar was the most suitable medium for the stem of *Schisandrae chinensis*'s differentiation.

Key words Stem of *Schisandrae chinensis*; Tissue culture; Culture medium

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]。北五味子被广泛用于制药、造酒、饮料生产中^[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。陈雅君等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]。

笔者对北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 材料

1.1.1 五味子。选择无污染、生长健壮的茎尖、茎段。

1.1.2 药品与试剂。琼脂、蔗糖、MS 培养基母液、生长素 NAA、0.1% HgCl₂、6-BA、95% 酒精、70% 酒精棉球等。

1.2 方法

1.2.1 外植体灭菌。选取林区自然生长的健壮的北五味子的嫩茎段作为外植体。将外植体经流水冲洗,在超净工作台上先用 70% 酒精浸泡 30 s,然后用 0.1% 升汞溶液消毒 8 min,取出后用无菌水漂洗 4~6 次,再用无菌滤纸将外植体表面的水吸干,将材料切成 1 cm 长的小段,备用。

1.2.2 试验设计。试验于 2008 年 5 月在吉林农业科技学院植物组织培养实验室进行,7 月中旬完成。试验基础培养基为 MS + 琼脂 8 g/L + 蔗糖 30 g/L + 6-BA 0.15 mg/L,在此基础上分别添加不同浓度的 NAA。试验设 4 个 NAA 处理,分别为 0 (CK)、0.30 mg/L (A)、0.50 mg/L (B)、0.70 mg/L (C),10 次重复。

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

1.2.4 调查与统计方法。在试验后的 50 d (7 月 5 日) 调查五味子成活数,并对成活株数进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

试验结果见表 1。

表 1 不同浓度 NAA 对五味子成活率的影响

Table 1 Effects of different NAA concentration on the survival rate of *Schisandrae chinensis*

处理 Treat- ment	NAA//mg/L NAA	统计数 Count No.	成活数 Survival No.	污染数 Polluted No.	成活率 % Survival rate	平均成活 株数//株/瓶 Average survival no.
A	0.30	30	15	9	71.4	2.14 aAB
B	0.50	30	23	0	76.7	2.30 aA
C	0.70	30	17	3	63.0	1.89 abAB
CK	0	30	12	0	40.0	1.20 bB

注:成活率(%) = 成活数 / (接种数 - 污染数) × 100。每瓶 3 颗,共 30 颗。

Note: Survival rate (%) = Survival No. / (Inoculated no. - Polluted no.) × 100. 3 plants in each flask, 30 in total.

将嫩茎接种到不同浓度 NAA 的 MS 培养基上, A、B、C 3 种培养基上各外植体的诱导效果均较好。其中以 B 培养基的成活率最高,达 76.7%,而不加 NAA 的 CK 培养基的成活率仅为 40.0%,说明添加一定浓度的 NAA 对诱导五味子成活有一定的促进作用。对不同处理五味子成活株数进行方差分析和多重比较,结果表明:0.50 mg/L NAA 处理与 CK 存在极显著差异,0.30 mg/L NAA 处理与 CK 存在显著差异,0.70 mg/L NAA 处理与 CK 之间没有显著差异。

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

作者简介 孔春雨(1968-),男,吉林大安人,实验师,从事药用植物组织培养研究。

收稿日期 2008-12-01

(下转第 2406 页)

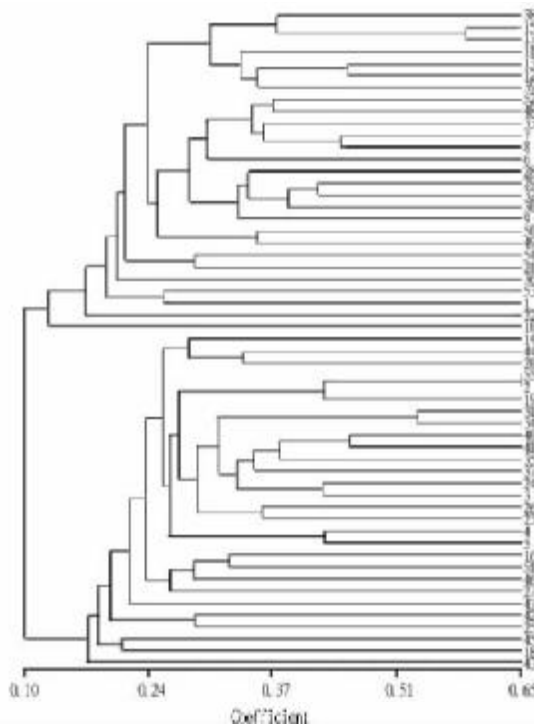


图1 云南省55份稻种资源的SSR聚类分析结果

Fig 1 SSR dendrogram of 55 varieties of rice

数为0.10~0.65,平均值为0.47。其中来自于江城县的香稻品种大香糯谷与来自于西蒙县的非香稻栽培品种尼感相似系数最大,为0.65,说明两者虽然产地不同但可能有相似的遗传背景。由图1还可知,在遗传相似系数0.10处所有材料分为明显的2类,第1类为粳稻类群包括27份水稻资源,其中香稻5份、非香稻22份;第2类为籼稻类群包括28份水稻资源,其中香稻5份、非香稻23份。

3 结论与讨论

该试验所利用的64对SSR引物共检测出624个等位基因,平均每个引物检测出9.75个等位基因,这表明SSR分子标记技术在研究物种多样性、分析物种遗传进化关系方面是一个很好的工具。

通过聚类分析研究表明,所有稻种资源准确区分为粳稻、籼稻两类,这是其他标记如同工酶和RAPD都无法做到准确做到的,准确区分籼粳类型对香稻育种和资源保护都有

重要价值。试验所选用的10个香稻品种并没有单独聚为一类,而是分散聚于籼稻和粳稻之中,这说明云南现有的香稻栽培品种并非为单一的遗传来源,而是从多个祖先分别起源的。同时,聚类分析也表明,很多名称相同或者相似的品种其亲缘关系并不相近,例如来自于墨江同命名为大香糯的2个香稻资源遗传相似系数只有0.27,而同命名为香糯但产地不同3个香稻遗传距离更远,分别聚于粳稻和籼稻亚类之中。这说明云南地方稻种资源中,异物同名现象很多,在稻种资源的搜集过程中如果仅依据名称进行,就有可能遗漏大量的遗传资源。

李存龙^[8]等在对云南地方稻种研究的基础上认为,多数香味基因以杂合体形式存在于非香稻资源中。该试验遗传多样性分析也表明,云南地方水稻栽培品种比地方香稻品种具有更为丰富的遗传多样性。因此在利用现有香稻资源选育新香稻品种的同时,有必要依靠云南丰富的非香稻栽培品种把不香品种中的优良基因包括隐形香味基因、高产性状基因、抗病虫害基因等引入到香稻品种中,以扩大香稻品种的遗传基础,拓宽目前香稻品种的遗传背景,从而尽早培育出我国拥有自主知识产权的名牌香米品种。

谢辞:该试验除水稻DNA提取外均在韩国农业与生物技术研究所(NIAB)完成。在此向该研究所所有工作人员表示感谢!

参考文献

- [1] 赵勇,杨凯,AKBAR ALI CHEEMA,等.利用水稻功能基因SSR标记鉴定水稻种质资源[J].中国农业科学,2002,35(4):349-353.
- [2] JAIN N, SAINI N, RANA P, et al. Microsatellite diversity for chromosome number 8 in Basmati rice [J]. Rice Genetics Newsletter, 2003, 19: 103-107.
- [3] 张涛,郑家奎,徐建第,等.香稻品种遗传多样性研究[J].中国农业科学,2008,41(3):625-635.
- [4] ZHU M Y, WANG Y Y, ZHU Y Y, et al. Estimating genetic diversity of rice landraces from Yunnan by SSR assay and its implication for conservation [J]. Acta Botanica Sinica 2004, 46 (12): 1458-1467.
- [5] MURRAY M G, THOMPSON W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. Nucleic Acids Research, 1980, 8: 4321-4325.
- [6] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1979, 76: 5269-5273.
- [7] BOSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314-331.
- [8] 李存龙,杨芬,罗龙,等.稻米香味研究进展及在香型软米杂交稻育种中的利用[J].西南农业学报,2008,21(1):220-225.

(上接第2391页)

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,五味子的贮量急剧减少,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。组织培养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] 朱俊义,刘雪莲,秦佳梅,等.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.