

东北刺人参组培快繁的可行性研究

朴炫春¹, 廉美兰¹, 刘继生¹, 金国振²

(1. 延边大学农学院, 吉林 龙井 133400; 2. 延吉市人民公园, 吉林 延吉 133000)

摘要: 在 MS 培养基中加入 BA 1.0 mg/L 时可产生 3 个健壮的丛生苗, 采用组织培养技术快速繁殖刺人参幼苗具有可行性, 这对保护和开发濒危的刺人参资源具有极其重要的意义。

关键词: 东北刺人参; 人工繁殖; 组培快繁

中图分类号: S567.53

文献标识码: A

文章编号: 1004-7999(2006)01-0010-04

东北刺人参(*Oplopanax elatus* Nakai)又名刺参, 被子植物, 五加科, 刺参属, 多年生落叶灌木, 是我国长白山特有的植物资源之一^[1]。东北刺人参是融药用、观赏、食用等为一体的颇有开发利用价值的野生植物^[2]。东北刺人参的面积在 666.7 hm² 以上, 株数可高达 100 万株, 但目前由于人为采挖, 使大部分东北刺人参资源遭到破坏, 已处于濒危状态, 被列为国家二级保护植物^[3]。天然生长的东北刺人参种子结实率低, 采到的种子发芽率也很低^[4], 目前采用变温处理打破种子休眠的方法, 发芽率也仅达 55.5%^[5]; 虽然东北刺人参可采用分株、压条或扦插等方式进行繁殖^[6], 但由于有假死现象, 经一段时间后才能恢复生长, 而且近年来由于资源濒危, 刺人参无性繁殖材料来源也成为一大难题。在组织培养方面, 从刺人参外植体诱导愈伤组织进而诱导胚状体或体细胞胚的研究至今尚无成功的报道。本研究旨在利用刺人参种子苗进行丛生芽的诱导和培养, 以探索快速、大量繁殖的可行性, 为刺人参的人工繁殖提供实用性技术。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 外植体准备

将已打破休眠的东北刺人参种子催芽并播种于装有蛭石的播种盘中, 浇水覆膜后放置于温室, 待种子出苗, 2 片子叶展开, 真叶露出时将小苗拔出, 用清水洗净待用。

1.1.2 无菌接种

在超净工作台上进行操作, 将外植体先放入 75% 酒精中浸泡 20 s, 不断搅拌, 然后将准备好的小苗放入 2% 次氯酸钠溶液中, 分别处理 7, 15, 30 min, 然后用无菌水冲洗 3~4 次, 将已消毒的外植体接种于 2.5×10(φ×h) 的试管中, 培养基为 MS+7 g/L 琼脂+30 g/L 蔗糖, pH 值为 5.8, 每天进行外植体污染程度的调查。

收稿日期: 2005-10-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30560094)。

作者简介: 朴炫春(1963—), 男(朝鲜族), 吉林龙井人, 延边大学农学院园艺系副教授, 博士。

1.2 培养方法及条件

在 MS 培养基中分别加入 0(对照), 0.5, 1.0 和 5.0 mg/L BA, 每处理设 3 次重复. 在上述培养基中均加入 30 g/L 的蔗糖和 7 g/L 的琼脂, pH 值调节为 5.8. 用 100 mg/L 的三角瓶注入培养基 20 mg/L, 每瓶接入 3 个外植体, 瓶口用锡箔纸盖严. 培养室温度为 $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$, 湿度 70%, 光照时间 16 h/d, 光照强度 1 600 Lux.

1.3 数据分析

利用 SAS(Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) 程序进行统计分析, 采用邓肯氏新复极差法进行比较, 显著水平 ≤ 0.05 .

2 结果与分析

2.1 初代培养时灭菌时间的影响

将外植体在 2% 次氯酸钠溶液中分别处理 7, 15 和 30 min, 其污染和成活结果如表 1. 培养 5 d 后陆续出现污染, 至 10 d 左右污染基本结束, 在 15 min 次氯酸钠处理中污染率较低, 为 10%, 且 90% 的外植体成活. 7 min 处理的污染率最高, 为 85%, 但没有因消毒而引起外植体死亡的现象; 30 min 处理无污染, 但外植体成活率低(5%), 大多数外植体受到损伤.

表 1 消毒时间对外植体污染和成活的影响

Table 1 Effects of disinfectant time on the contamination and survival rate of explants

时间/min Time	污染率/% Contamination rate	成活率/% Survival rate
7	85	100
15	10	90
30	0	5

2.2 丛生苗诱导及生长

将无菌外植体分别接种于含 0, 0.5, 1.0 和 5.0 mg/L BA 的 MS 培养基中, 培养 10 d 后, 1.0, 5.0 mg/L BA 处理的外植体切口部位开始膨大, 开始显现不定芽, 20 d 时各处理间不定芽出现明显的差异, 40 d 时丛生苗的数量和生长状态有显著差异.

BA 对刺人参组培丛生苗数量和株高的影响如图 1. 由此可知, BA 1.0 mg/L 处理中, 丛生苗数为 3, 显著多于其它处理, 在 5.0 mg/L BA 处理中, 丛生芽数较多, 但这些丛生芽的成苗率低, 大于 1 cm 的苗平均只有 1 个; 株高随着 BA 浓度的增加而增加, 未加 BA 处理时最高, 1 mg/L BA 时为 3 cm, 达到较好的继代培养高度, 而 5 mg/L BA 处理的成苗株高仅为 1 cm.

由表 2 可知, 未加 BA 处理时, 由于苗数仅为 1, 所以其鲜物重和干物重显著高于其它处理, 而 0.5 和 1.0 mg/L BA 处理间在幼苗鲜物重和干物重上无显著性差异, 两处理的单体苗鲜物重约为 600 mg, 干物重约为 60 mg. 而 5.0 mg/L BA 处理的苗鲜物重和干物重最低, 其干物质含量仅为 8.6%, 少于其它处理, 且有玻璃化现象出现.

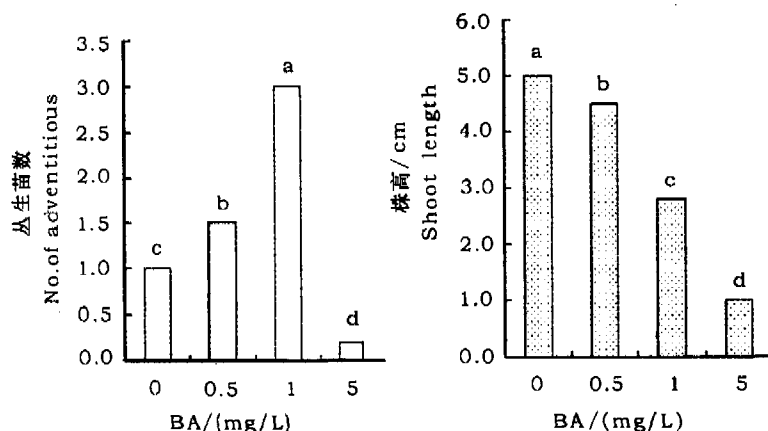


图 1 BA 对刺人参组培丛生苗数和株高的影响

Fig. 1 Effects of BA on the adventitious numbers and shoot length of *Oplopanax elatus* in vitro

表 2 BA 对刺人参组培苗生长的影响

Table 2 Effects of BA on the growth of *Oplopanax elatus* in vitro

BA/(mg/L)	鲜物重(mg/plantlet) Fresh weight	干物重(mg/plantlet) Dry weight	干物质含量/% Dry matter content
0	1 103.2 a	110.6 a	10.0
0.5	631.4 b	61.3 b	9.7
1.0	589.7 b	59.8 b	10.1
5.0	103.4 c	8.9 c	8.6

3 讨论

国内外对东北刺人参的研究较少,对组培的研究更少,1991 年 Lee 等以东北刺人参花序为外植体诱导愈伤组织,并进一步进行细胞培养,而后从单个细胞中获得胚状体^[7],但至今无进一步的研究报道,可能是因为胚状体诱导率过低所致;以东北刺人参二年生实生苗的茎段、嫩叶和叶柄为外植体接种在含有不同激素的培养基中培养,进行愈伤组织诱导研究,结果从茎段、叶柄诱导出大量愈伤组织^[8],但未能够诱导出胚状体.韩国国立森林科学院是研究树木体细胞胚诱导及大量培养的权威机构,据调查,该研究院对刺人参体细胞胚的诱导进行了多年的研究,但至今尚未成功.

本研究结果表明,在 MS 培养基中加入 1.0 mg/L 的 BA 可产生质量较好的丛生苗,虽增殖系数并不很高,但可看出大量扩繁刺人参苗的可行性.今后可通过调节植物生长调节剂、有机和无机物的含量来选拔适宜的培养基,通过改善温度、光照等微环境条件提高增殖率,同时利用生物反应器进行规模化生产的研究;目前丛生苗发根阶段的研究还处于初始阶段,有望通过内外因子的调节和采用瓶外发根等方式诱导发根并提高发根率;组培苗的驯化和提高幼苗成活率是组培成败的重要因素,传统组培苗的生长方式是异养生长,发根阶段可采用无糖培养法,并通过提高光照强度、CO₂ 浓度和调节湿度等方法提高培养苗的光合作用能力,促使其进行自养生长,从而提高成活率.

对大多数木本植物建立组织培养体系尽管较难,但至目前的研究结果来看,刺人参丛生

苗的扩繁有可行性,一旦该培养体系建成,就会发挥出巨大的作用,且比东北刺人参的其它繁殖方式,即有性繁殖和无性繁殖方式具有更好的效果和更高的实用性。

4 结语

- 1)用种子苗诱导丛生芽进行大量扩繁具有可行性。
- 2)种子苗用 2% 次氯酸钠消毒 15 min 时外植体污染率低,且成活率高。
- 3)在 MS 培养基中加入 1.0 mg/L BA 时分化苗较多,生长状态良好。

参考文献:

- [1] 刘继生,张鹏,沈海龙,等.东北刺人参播种苗移栽试验[J].东北林业大学学报,2003,31(6):26-27.
- [2] 周麟.长白山东北刺人参的资源调查及其开发利用[J].特产研究,2002(3):44-46.
- [3] 孙仑,常挂英,李咏梅.刺人参的现代研究进展[J].中国野生植物资源,2001,20(6):27-28.
- [4] 郑文杰.东北刺人参人工栽培实验及物候观测初报[J].辽宁林业科技,1994,1:44-47.
- [5] 张鹏,刘继生,潘宜才,等.东北刺人参人工扩繁技术研究现状[J].延边大学农学学报,2003,25(1):65-68.
- [6] 王章淮.东北刺人参的引种繁殖[J].自然资源研究,1980,3:61-63.
- [7] Lee C, Lee S. A pollen taxonomic study of the genus *Fatsia* Decne and Planch and its relatives (Araliaceae)[J]. Korean Journal of Plant Taxonomy, 1991, 21(1):9-26.
- [8] 金英善,曹后男,刘继生,等.东北刺人参愈伤组织的诱导[J].延边大学农学学报,2003,2(1):16-19.

Feasibility of micropropagation of *Oplopanax elatus* Nakai

PIAO Xuan-chun¹, LIAN Mei-lan¹, LIU Ji-sheng¹, JIN Guo-zhen²

(1. Agricultural College of Yanbian University, Longjing Jilin 133400, China;

2. People's Park of Yanji City, Yanji Jilin 133000, China)

Abstract: Three vigorous shoots were obtained in MS medium added 1.0 mg/L BA. Rapid propagation of plantlets in *Oplopanax elatus* was feasible by using tissue culture, and this technique had significance for utilizing and protecting the natural resource of *Oplopanax elatus* which is in severe danger.

Key words: *Oplopanax elatus* Nakai; artificial propagation; tissue culture