

杜仲组培快繁技术的研究

朱翠英¹, 张真¹, 谢经霞², 薛灿英³

(1. 山东农业大学科技学院, 山东 泰安 271000; 2. 济宁市林业局; 3. 梁山县林业局)

摘要:对杜仲组培快繁的技术方法进行了研究。基本培养基为 MS; 诱导分化培养基为: MS + NAA 0.1 (mg/L) + 6-BA 0.5 (mg/L); 生根培养基为: 1/2MS + NAA 0.05 (mg/L) + IBA 0.02 (mg/L) + 活性炭。

关键词:杜仲; 组培; 培养基

中图分类号: S792.99; S722.3+7

文献标识码: B

文章编号: 1002-204X(2005)06-0032-02

杜仲 (*Eucommia ulmoides*) 为杜仲科杜仲属的落叶乔木, 仅 1 属 1 种, 为我国特产, 有“活化石植物”之称。其叶、果实、皮中含有的杜仲胶是重要的橡胶资源, 树皮是传统的中药材, 可治疗肾虚腰痛、足膝酸痛、关节炎、阳痿遗精等, 对高血压有“双向调整功能”。杜仲还含有丰富的维生素、胡萝卜素、氨基酸和其他微量元素。

杜仲作为用材、水土保持、绿化的经济树种, 集“一林、一胶、两材、三效益 (即杜仲林, 杜仲胶, 木材、药材, 社会效益、经济效益、生态效益) 于一体, 发展杜仲具有一定的可行性, 前景广阔, 但由于杜仲资源稀少, 繁殖材料缺乏, 大面积种植有一定的困难。本研究旨在采用组培快繁技术繁殖杜仲, 探寻杜仲快速繁殖、规模化生产的新途径。

1 组培育苗的材料与方法

1.1 材料

材料取自杜仲树, 以抽生的嫩茎作为组织培养的外植体。

1.2 方法

1.2.1 消毒

试验材料按以下程序进行消毒处理: 取嫩茎一剪除叶柄及叶片切成 3~5 cm 长的茎段置于烧杯中→流水冲洗 15 分钟→放入烧杯中并加 75% 酒精摇动杀菌 1 分钟→用无菌水冲净→最后加入 0.1% 氯化汞溶液浸泡 6~7 分钟→用无菌水冲洗 10 次→之后用无菌滤纸吸干水分→准备接种。

1.2.2 接种及培养条件

在超净工作台上, 将嫩茎切成 1.5~2.0 cm 具腋芽小段, 将其放入配置好的培养基中, 封好瓶口后移至培养架上, 进行诱导分化培养。培养室温度 25℃, 光照强度 1000~2000 lx (勒克斯)。

1.2.3 培养基

诱导愈伤组织及分化的培养基: MS + NAA 0.1 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L; 生根培养基: 1/2MS + NAA 0.05 mg/L + IBA 0.02 mg/L + 活性炭 (激素配比见表 1)。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导及茎芽分化

将外植体接在 MS 培养基上, 接后 2~3 周长出愈伤组织, 再经 1~2 周的培养, 茎段愈伤组织分化出丛生芽, 将细胞分裂素 6-BA 和生长素 NAA 以不同浓度配比, 进行组合筛选试验, 结果见表 2。

由表 3 可以看出, 不同浓度的配比之间均有极显著的差异。II 号组合是最有效的配比, 即 MS + NAA 0.1 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L

表 1 不同培养基的激素配比

编号	分化培养基		生根培养基			
	NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	无机盐 离子浓度	蔗糖浓度 (g/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)
I	0.05	0.4	1/4MS	30	0.05	0.02
II	0.1	0.5	1/4MS	15	0.01	0.01
III	0.2	0	1/2MS	30	0.05	0.01
IV	0	0.3	1/2MS	15	0.01	0.02
V			1/2MS	15	0.05	0.02

表 2 不同激素配比的诱导分化率

编号	NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	接种数 (p)	分化率 (%)
I	0.05	0.4	20	37.5
II	0.1	0.5	20	74.7
III	0.2	0	20	17.6
IV	0	0.3	20	6.9

表 3 不同浓度 NAA、6-BA 配比与分化率的多重比较

水平	平均数	与下列各水平之差		
		IV	III	I
II	59.81	44.58**	35.01**	22.04**
I	37.77	22.54**	12.97**	
III	24.80	9.57**		
IV	15.23			

$D_{0.05} = 0.920$ $D_{0.01} = 1.205$

分化率达 75%, 只添加 NAA 或 6-BA 的培养基, 愈伤组织的分化率很低。

2.2 生根培养

在中间繁殖体增殖到一定数量后, 即开始进行生根与壮苗的培养。根据经验, 生根和壮苗培养一般采用 1/2 或 1/4 培养基, 去除细胞分裂素, 增加生长素的量及减少培养基中糖含量和提高光照强度来实现生根。鉴于此, 生根培养中进行了无机盐、糖及生长素配比试验, 结果见表 4。

收稿日期: 2005-10-20

微量毒死蜱的离子阱气—质联用的分析条件研究

李萍, 闫永利, 王仙琴, 马昕, 郝俊虎

(宁夏出入境检验检疫局综合技术中心, 宁夏 银川 750001)

摘要:以离子阱质谱分析微量毒死蜱,通过对离子扫描范围、扫描周期、扫描次数、选择离子范围条件的改变,分析信噪比及相似度的变化,探讨以离子阱串联质谱仪分析微量毒死蜱的条件。

关键词:离子阱串联质谱; 离子存储技术; 二级质谱; 毒死蜱

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 1002-204X(2005)06-0033-02

农药残留是植物产品进出口必须检验的项目,也是国外为我国植物产品出口设置贸易壁垒的重点。而目前国内普遍应用液相色谱、气相色谱选择性检测器进行农药定性、定量分析,其优点是选择性强、灵敏度高。但是单一使用保留时间来定性定量不免影响结果的准确性。现在,人们已经运用气质联用技术,通过对残留物质结构的鉴定增加定性的准确性。

离子阱质谱是20世纪80年代以后发展的质量型质谱检测器,它与四级质谱区别在于电离后形成的碎片离子被存储于离子阱中,可进行反复多次扫描。用离子阱质谱进行农药残留分析的文献报道尚不多见。质谱全扫描因仪器本底或杂质的干扰导致灵敏度低,达不到微量分析的要求。笔者尝试改变离子扫描范围、选择离子范围、扫描周期、扫描次数、使用二级质谱,提高检测的灵敏度,寻找对微量毒死蜱分析的最佳条件,为用离子阱质谱进行毒死蜱农药残留分析奠定基础。

1 试验仪器、材料

Varian Saturn 2000 气质联用仪,离子阱质量检测器(具有 SIS 功能)。

毒死蜱标准溶液:10 μ g/mL,溶剂为环己烷。

表4 培养基中无机盐、糖和生长素浓度对杜仲试管苗生根的影响

编号	无机盐 离子浓度	蔗糖浓度 (g/L)	NAA 浓度 (mg/L)	IBA 浓度 (mg/L)	生根率 (%)
I	1/4MS	30	0.05	0.02	44.1
II	1/4MS	15	0.01	0.01	38.0
III	1/2MS	30	0.05	0.01	34.7
IV	1/2MS	15	0.01	0.02	71.9
V	1/2MS	15	0.05	0.02	81.5

表5 不同处理与生根率的多重比较

水平	平均数	与下列各水平之差			
		III	II	I	IV
V	64.54	28.47**	26.5**	22.96**	6.57**
IV	57.97	21.9**	19.93**	16.39**	
I	41.58	5.51**	3.54**		
II	38.04	1.97**			
III	36.07				

色谱柱: CP—SIL8, 30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.25 μ m。

2 试验方法

色谱条件: ①柱温: 170 $^{\circ}$ C, 3min $\xrightarrow{\text{升温}}$ 240 $^{\circ}$ C, 0min, 平均升温 10 $^{\circ}$ C/min; ②进样口温度 260 $^{\circ}$ C, 不分流进样; ③载气: 氮气, 1 mL/min。

为探讨不同质谱条件对分析结果的影响,改变扫描方式及扫描参数如下。

2.1 全谱扫描不同扫描范围对分析结果的影响

改变扫描范围①m/z 40~650; ②m/z 90~350; ③m/z 200~320。每个范围扫描3次。比较不同扫描范围下响应值、噪音、信噪比、谱库检索相似度的变化,以选择合适的扫描范围。

2.2 选择离子存储(SIS)与全谱扫描比较

当其他条件相同时,选择全谱扫描与选择离子储存,比较响应值、噪音、信噪比、谱库检索相似度的变化,探讨选择离子储存技术对微量毒死蜱分析的可行性。

收稿日期: 2004-11-12

$D_{0.05} = 0.8613$ $D_{0.01} = 1.0959$

从表5中可以看出,培养基中不同浓度的无机盐、糖和生长素对杜仲试管苗生根影响极显著。而以较低浓度的无机盐、半糖量(15g/L)和适量的 NAA(0.05mg/L)、IBA(0.02mg/L),即 V 号生根培养基的生根效果最好。

3 讨论

本研究结果表明,采用组培的方法繁殖杜仲,生产周期短,繁殖系数高,成本低,经济效益高。另外,组培快繁可以保证种苗形状一致,克服种子繁殖苗木观赏形状不一致的缺点,提高苗木的商品规格,有利于进行工厂化生产。

参考文献:

- [1] 南京林业学校主编. 园林树木学. 北京: 中国林业出版社, 1996
- [2] 郑万均, 等. 中国树木志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1985
- [3] 陈有民, 等. 园林树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 19
- [4] 许瑞芬, 王臣, 等. 美国红栎的快速繁殖. 北方园艺, 2003(5): 54~55
- [5] 刘沛, 等. 中国兰花的组织培养. 中国花卉盆景, 2003(10): 26

责任编辑: 褚庆芳