

2,4-D 对成熟与非成熟西洋参种胚体细胞胚发生的影响

晋海军, 秦公伟, 刘艳丽, 张改娟, 曹小勇

(陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723000)

摘 要:以西洋参成熟种子及未成熟种子为试材, 在无菌操作条件下剥取种胚, 将其依次接种在不同 2,4-D 浓度的 MS 培养基中, 在光照和暗培养条件下分别进行培养, 研究 2,4-D 对西洋参种胚体细胞胚发生的影响。结果表明:成熟种胚在不同浓度 2,4-D 中皆可发生体细胞胚, 最佳浓度为 0.5 mg/L, 光照可以促进体细胞胚发生;未成熟种胚不能形成体细胞胚。说明成熟种胚体细胞胚发生需要 2,4-D 诱导, 未成熟种胚的表现与成熟种胚差异显著;西洋参种胚在发育控制上与人参存在明显不同。

关键词:西洋参;合子胚;2,4-D;体细胞胚

中图分类号:S 567.5⁺3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)23-0114-03

西洋参为五加科(Araliaceae)人参属多年生草本植物,学名为 *Panax quinquefolium*, *Panax* 意指治疗百病,而 *quinquefolium* 则是指西洋参为 5 枚小叶的掌状复叶。西洋参性凉味甘,苦味较弱,以干燥根入药,药材名西洋参^[1],具有滋补、强心、造血、健胃、镇静、降血脂、抗癌和抗衰老等多种医疗作用^[2]。西洋参原产于北美洲(主要是加拿大和美国),我国在 20 世纪 80 年代起成功地大面积引种西洋参,到目前为止已形成东北、华北、华中(陕西留坝)、康滇四大栽培区。经过 20 多年的努力,我国已发展成为继美国、加拿大后的西洋参第三大生产国和第一大消费国。目前国内外种植的西洋参仍然是一个混杂的未经过选育的群体,尚未有确定的栽培品种^[3],由于西洋参生长周期长,易受多种病虫害影响,以及气候、环境及栽培技术等多方面的限制,选育工作存在诸多困难;植物生物技术是一个有效地辅助育种手段,到目前为止国内外对人参属植物包括人参、西洋参的快速繁殖已开展了较为系统而深入的研究^[4-11],但至今尚未确立稳定的西洋参快速繁殖体系,因此仍然需要对其繁殖技术进行研究。该试验以西洋参成熟及未成熟种胚为材料,接种到添加不同浓度 2,4-D 的 MS 培养基上,了解不同发育状态种胚体细胞胚发生的变异情况,探寻西洋参体细胞胚高效

发生的途径。

1 材料与方法

试验所用西洋参种子购自陕西省留坝县,成熟种子为采摘后约 20 月的种子,个别种子开始发芽,种子解剖图见图 1;未成熟种子为采摘后约 8 月的种子,此时种子部分裂口,胚率为 50%~70%。挑选籽粒饱满且已裂口的种子,剥去种皮,自来水冲洗;70%酒精处理 30 s 后,再用 0.1%升汞消毒 15 min,无菌水漂洗 4 次后,剥取种胚,接种到添加不同浓度的 2,4-D 的 MS 培养基上;培养温度(25±1)℃,遮光暗培养,部分放在光照条件下作对照(光照 16 h/d)。

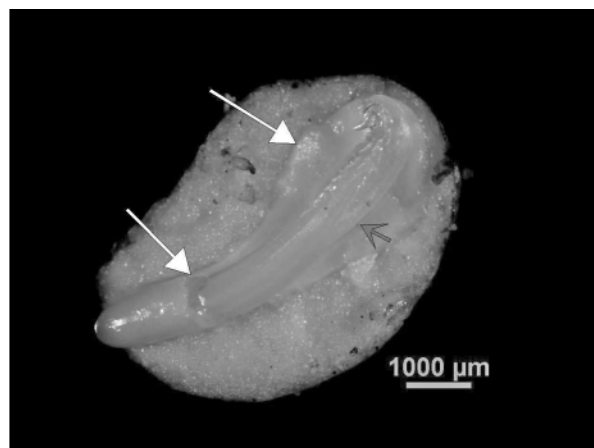


图 1 西洋参成熟种子解剖图

注:长箭头示子叶(上)及剥去的子叶痕迹及节头(下);短箭头示胚芽。

2 结果与分析

西洋参成熟种胚接种后不久便开始膨大,胚轴伸

第一作者简介:晋海军(1980-),男,在读硕士,现主要从事利用植物生物技术进行资源的保护与开发研究工作。

责任作者:曹小勇(1964-),男,硕士,教授,现主要从事植物资源开发利用研究工作。

基金项目:陕西省重点实验室科研资助项目(09JS048)。

收稿日期:2011-09-08

长增粗,子叶展开、增厚,10 d 左右其边缘陆续产生黄绿色突起并进一步发育成愈伤组织。外植体不同部位发生愈伤组织的能力有明显差异,其中子叶诱导愈伤组织的能力明显较胚轴强。经过大约 25 d,愈伤组织上体细胞胚的发生逐步增加。体细胞胚大多有 2 枚子叶,但也有具 3 枚子叶。体细胞胚的发生有单个点状和成团簇状形成 2 种情况(图 2)。未成熟种胚接种后的表现与成熟种胚类似,但愈伤组织发生率较低,且未观察到体细胞胚发生。由表 1、2 可知,成熟种胚愈伤组织和体细胞胚发生率均较未成熟种胚高;在不同浓度的 2,4-D 中成熟种胚愈伤组织诱导率均达 100%,而未成熟种胚仅在高浓度下诱导率达 100%;光照对成熟种胚愈伤组织诱导没有影响,但对体细胞胚发生有所提高。成熟种胚需要 2,4-D 诱导体细胞胚发生,高浓度 2,4-D 显示抑制体细胞胚发生,而未成熟种胚在观

察的时间段未能形成胚体细胞胚发生。

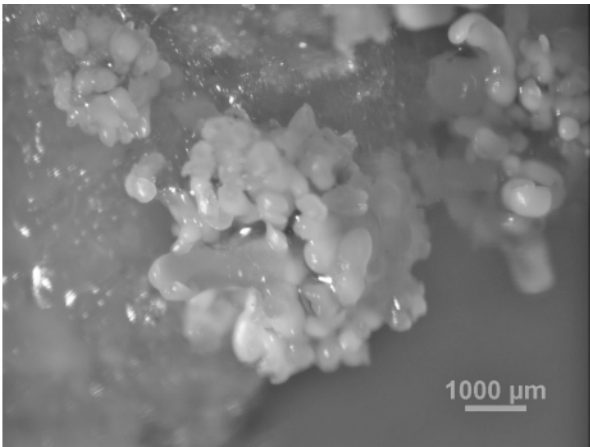


图 2 西洋参成熟种胚上簇状体细胞胚的发生

表 1 暗培养条件下不同浓度 2,4-D 对成熟种胚与未成熟种胚愈伤组织和体细胞胚诱导的影响

2,4-D/mg·L ⁻¹	成熟种胚			未成熟种胚		
	外植体数	愈伤组织发生率/%	体细胞胚发生率/%	外植体数	愈伤组织发生率/%	体细胞胚发生率/%
0	28	0	0	26	0	0
0.5	30	100	46.7	20	80	0
1.0	29	100	41.4	27	58.8	0
2.0	47	100	10.6	31	90.9	0
4.0	37	100	10.8	35	100	0

注:1 个月统计愈伤组织的诱导率,45 d 左右统计体细胞胚发生率,下同。

表 2 光照条件下不同浓度 2,4-D 成熟种胚愈伤组织和体细胞胚诱导的影响

培养基	接种外植体数	愈伤组织发生率/%	体细胞胚发生率/%
0	23	0	0
0.5	25	100	60
1.0	31	100	47.6
2.0	35	100	17.1
4.0	30	100	3.33

3 讨论

康春风^[12]、唐巍^[13] 分别利用种胚和由种胚所获得的愈伤组织,研究了生长素诱导体细胞胚发生,结果表明,高浓度的 2,4-D 对体细胞胚发生的抑制效应,与该试验结果相近。Choi 等^[14] 研究人参的试验表明,未成熟完整合子胚可在没有添加任何生长调节物的 MS 培养基上形成体细胞胚,而成熟合子胚只有在切分子叶后才能形成;而该试验显示西洋参的未成熟种胚不能形成胚体细胞胚发生,成熟种胚则是需要 2,4-D 诱导体细胞胚发生,表现出尽管人参与西洋参十分相近,但在发育模式的控制机制上存在明显不同。

参考文献

[1] 崔德深,高镇生. 西洋参[M]. 北京:科学出版社,1984.
[2] Yuan C S,Wang C Z,Wicks S M,et al. Chemical and pharmacological studies of saponins with a focus on American ginseng[J]. J Ginseng Res, 2010,34(3):160-167.
[3] Schluter C,Punja Z K. Genetic diversity among natural and cultivated field populations and seed lots of american ginseng(*Panax quinquefolius*

L.) in Canada[J]. Int J Plant Sci,2002,163(3):427-439.
[4] Jung J J,Staba E J,Jung Y K. American and Korean ginseng tissue cultures- growth, chemical analysis and plantlet production[J]. In vitro, 1974,9(4):253-259.
[5] 孙国栋,张琪. 西洋参试管苗的诱导[J]. 植物学通报,1983(1):43-44.
[6] 桂耀林,郭仲琛,徐廷玉,等. 西洋参组织培养中的胚胎发生[J]. 植物学报,1987,29(2):223-224.
[7] 阎贤伟,陆维新. 影响西洋参体细胞胚发生和试管植株再生条件的研究简报[J]. 植物生理学通讯,1987(1):24-27.
[8] Wang A S. Callus induction and plant regeneration of American ginseng[J]. Hort Science,1990,25:571-572.
[9] 汤飞宇,翟志席,郭玉海. 西洋参体细胞胚胎发生及植株再生[J]. 中国农业科技导报,2004,6(5):23-26.
[10] Kim O T,Kim T S,In D S,et al. Optimization of direct somatic embryogenesis from mature zygotic embryos of *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. J Plant Biol,2006,49(5):348-352.
[11] Rajae Sfindla,Hélène Desilets,Sylvie Laliberté,et al. The effects of CO₂ enrichment, increased light irradiance, and reduced sucrose concentration on acclimatization of micropropagated American ginseng plantlets[J]. Journal of Herbs,Spices and Medicinal Plants,2008,13(3):97-106.
[12] 康春风. 西洋参(*Panax quinquefolium* L.) 体细胞胚发生及其影响因素的研究[D]. 哈尔滨:东北农学院,1993.
[13] 唐巍. 西洋参高频体胚发生及再生植株开花的激素调控[J]. 生物技术通报,1994(6):9-11.
[14] Choi Y E,Soh W Y. Effect of plumule and radicle on somatic embryogenesis in the culture of ginseng zygotic embryos[J]. Plant Cell Tiss Org Cult,1996,45(2):137-143.

“库拉索”芦荟的组织培养研究

刘思言¹, 姚 丹¹, 关淑艳¹, 李胜男¹, 王丕武²

(1. 吉林农业大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以“库拉索”芦荟为试材,以 MS 为基本培养基,添加不同浓度的 NAA 和 6-BA,研究不同浓度激素组合对“库拉索”芦荟不定芽诱导及组培苗生根的影响。结果表明:MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+AC 500 mg/L 为最佳的不定芽诱导培养基;继代培养以 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+AC 500 mg/L 的效果最好;生根培养基以 MS+NAA 1.5 mg/L+AC 0.12%最佳。

关键词:“库拉索”芦荟;组织培养;不定芽诱导

中图分类号:S 682.33 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2011)23-0116-03

芦荟(*Aloe*)系百合科芦荟属多年生常绿肉质草本植物^[1-2],其含有大量具有特定功能的活性成分^[3-9],对肠胃病、肝病、糖尿病、肺结核、心脏病、冻疮、烧伤、皮肤溃疡等有独特的疗效^[10],且具有增强人体免疫功能、抑制癌细胞扩散的作用。全世界共有各类芦荟品种 500 多个,大部分生长在热带和亚热带地区,在世界各地广泛开发应用的大致有 20 多种^[11]。“库拉索”芦荟原产于非洲,拉丁语有“味苦”之意,在我国叫翠叶芦

荟,也称美国芦荟,株体高,叶片大而肥厚,含叶肉多,幼株表皮布有白色斑点,成株后消退^[12],是国内外大规模种植和用于加工生产的品种,有关生产专利和研究报道较多。该试验以“库拉索”芦荟为材料,以 MS 为基本培养基,6-BA 及 NAA 为调节激素对芦荟进行无性快繁研究,旨在找出最佳的培养基及解决培养过程中出现的问题。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为“库拉索”芦荟。

1.2 试验方法

选取生长良好的“库拉索”芦荟,首先用自来水冲洗干净,然后用 70%的酒精消毒 30 s,再用 0.1%的升汞灭菌 10 min,最后用无菌水冲洗 3~4 次,放在无菌

第一作者简介:刘思言(1979-),女,吉林四平人,硕士,讲师,研究方向为作物生物技术。E-mail:siyan_2001@163.com。

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项资助项目(2008ZX08004-004);吉林省科技厅科技发展计划资助项目(201101111)。

收稿日期:2011-09-12

Effect of 2,4-D on Somatic Embryogenesis in Mature and Immature Zygotic Embryo of *Panax quinquefolium*

JIN Hai-jun, QIN Gong-wei, LIU Yan-li, ZHANG Gai-juan, CAO Xiao-yong

(College of Bioscience and Engineering, Shaanxi University of Technology, Key Laboratories of Shaanxi Resources Biological, Hanzhong, Shaanxi 723000)

Abstract: The mature and immature *Panax quinquefolium* seeds were used as test materials, and the zygotic embryo were dissected out aseptically and placed on solid MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-D in the light and dark culture conditions, effect of 2,4-D on the somatic embryogenesis of american ginseng were studied. The results showed that somatic embryogenesis could occur on the mature embryos at different concentrations of 2,4-D and the optimal concentration were 0.5 mg/L, and illumination could stimulate the process; The immature embryo could form somatic embryo. The conclusion were that 2,4-D stimulated somatic embryogenesis on the mature embryos, the responses between mature and immature embryo were apparently different; The developmental control mechanism in zygotic embryo of *Panax quinquefolium* was from that in *Panax ginseng*.

Key words: *Panax quinquefolium*; zygotic embryo; 2,4-D; somatic embryogenesis