

车前的组织培养

江西省科学院生物资源所(南昌 330029) 涂艺声*

摘 要 报道了车前外植体的愈伤组织诱导及其植株再生的研究结果。单独的外源生长素 2,4-D 适宜诱导外植体脱分化产生愈伤组织,只有单独添加 6-BA 时,才适宜再生芽的分化,当 NAA 与 6-BA 配合添加培养基中,则有利于再生根的繁茂生长,从而形成完整的再生植株。

关键词 车前 外植体 离体培养 再生植株

车前 *Plantago asiatica* L. 是车前科植物,种子和全草入药。车前籽粒富含亚油酸^[1]、大量蛋白质、维生素 A 和维生素 C。近年来研究还发现车前子能提取一种高级宇航润滑油和植物胶,车前子的浸提液可制作夏季降暑的上品饮料。国外把它作为容积性泻药,避孕药载体及工业原料,对车前子的需要量越来越大^[2]。

车前在江西吉安老区是一种传统的经济作物,栽培历史达 300 年之久,随着近年来车前子出口日本、新加坡、中南亚各国,其经济价值大增,当地农民自发由零星栽培发展到近 667 万平方米面积,但因扩种车前发生了严重的车前真菌性病害,以致连续几年使用各类药剂防治未能控制病情,至 1993 年,87.5% 的田块颗粒无收。这种毁灭性病害,使得该作物在传统种植区无法继续栽种。根据目前病况和类似的历史教训,只有培育车前抗病品种,才能根本解决生产问题。为了探索车前抗病育种的快速途径(与常规育种比较),采用生物技术创造车前抗病株是本研究的目的所在,而车前离体培养技术的建立是利用生物技术筛选抗病种源的必备手段。目前关于车前离体培养技术的理论和应用研究国内外尚未见报道,笔者近年来对车前的离体培养技术进行了探索,为深入诱变筛选抗病突变体打下了良好的基础。

1 材料与方法

1.1 供试种:“卢陵”车前(本省吉安县栽培种)。

1.2 实验方法:取成株幼花梗,幼花穗或当年成熟种子,用 0.1% 汞液表面消毒 10min 左右,倾去药液,再用无菌水漂洗 6 遍后,以灭菌的滤纸吸干材料上的水滴。在无菌条件下,将幼花梗、花穗对半纵开,再切断成 0.6cm 长作外植体备用;消过毒的种子在无菌条件下接种在 MS 基本培养基上发芽,待无菌苗长出 10d 后,取其分割成下胚轴,茎尖、子叶、子叶柄、胚根作外植体。将上述各类外植体接种到配制好的培养基上。

1.3 培养基及其培养条件:诱导脱分化和再分化植株的基本培养基为 MS 添加不同的植物激素 KT、6-BA、2,4-D、NAA 等进行对比试验,培养基 pH5.8 左右,培养温度 22~25℃,光强 1500Lx,每日照光 10h 左右。

2 结果

2.1 植物激素对外植体脱分化及再分化的调控:在基本培养基 MS 中添加不同的植物激素用于诱导外植体脱分化和再分化芽。实验结果(表 1)表明,最适诱导车前外植体脱分化产生愈伤组织的培养基是单独添加生长素 2,4-D 的“6”、“7”,其诱导率最高(90%以上)。但生长素类激素抑制再分化芽的发生,芽的再生只有在无外源生长素存在的培养基“1”、“2”、“3”上才发生,并且车前外植体芽器

* Address: Tu Yisheng, Jiangxi Provincial Academy of Sciences, Nanchang

官的分化更依赖 6-BA 的调节,而 KT 的效果不甚明显,6-BA 对车前再生芽诱导作用的时间进程见图 1。当生长素与细胞分裂素配合使用时,车前愈伤组织再生根的分化活跃,几乎试验使用的若干种两类激素不同浓度组合的培养基,均能刺激发生繁茂的再生根,但无再生芽发生。这说明车前离体培养脱分化和再分化不同器官时,所要求的植物激素各类及其水平有很大差别的,激素的调节对车前组织培养极关重要。

表 1 不同激素处理车前外植体脱分化及器官形成的影响

培养基代号	激素 (mg/L)	材料	愈伤组织诱导率(%)	芽的分化	根的分化
1	6-BA 0.5	下胚轴	35.5	++	-
		子叶柄	33.1	+	-
2	6-BA 1	下胚轴	35.9	++	-
		子叶柄	31.3	++	-
3	6-BA 2	下胚轴	28.7	++	-
		子叶柄	28.1	+	--
4	NAA 1	下胚轴	70.2	-	+
		子叶柄	61.8	-	+
5	NAA 3	下胚轴	69.8	--	-
		子叶柄	65.2	--	-
6	2,4-D 1	下胚轴	92.3	-	-
		子叶柄	91.8	-	-
7	2,4-D 3	下胚轴	100	-	-
		子叶柄	100	-	-
8	6-BA 1,NAA 1	下胚轴	71.1	-	++
		子叶柄	67.2	-	++
9	6-BA 1,2,4-D 1	下胚轴	78.9	-	++
		子叶柄	75.2	-	++
10	KT 1	下胚轴	25.4	-	-
		子叶柄	21.6	-	-
11	KT 1,2,4-D 1	下胚轴	63.7	-	+
		子叶柄	59.8	-	+
12	不加激素	下胚轴	8.3	-	-
		子叶柄	0	-	-

* 基本培养基:MS “+”表示有芽(根)分化
“++”表示分化率高 “-”表示无分化能力

2.2 车前不同器官的外植体筛选:试验接种了 7 种不同器官的外植体(表 2),在 MS+2,4-D 3mg/L 培养基上,愈伤组织诱导率在各材料之间差别不明显。但外植体在分化培养基 MS+6-BA 1mg/L 上再分化芽的能力存在明显的差别,在分化培养基上 10d,切口愈

伤组织开始转绿,并逐渐发生芽形成芽丛,每个外植体分化芽多达几十个,少则 5 个,它们分化芽的能力强弱顺序为:下胚轴>茎尖>子叶柄>子叶,由此可知,进行车前离体培养注重选择外植体材料,对其所建成的培养系统规模才可能庞大,它将对筛选车前离体培养变异株是有利的。

表 2 车前外植体诱导的愈伤组织和再生芽能力的比较[△]

外植体	愈伤组织诱导率(%)	再生芽分化率(%)	芽的生长情况
下胚轴	100	100	生长正常的芽丛
茎尖	98	93.8	生长正常的芽丛
子叶柄	100	82.5	生长正常的寡芽
子叶	98	57.2	生长正常的寡芽
胚根	94	0	有根分化,无芽发生
幼花梗	100	0	有根分化,无芽发生
幼花蕊	100	0	有根分化,无芽发生

[△]诱导愈伤组织培养基为 MS+2,4-D 3mg/L,芽分化培养基为 MS+BA 1 mg/L

2.3 试管苗的生根和移栽:自再生芽从分化培养基上长出后,再培养半个月,无根苗具有两叶一心,便可将苗基部从组织块上切下分割成单芽,接种到 MS+6-BA0.5 mg/L+NAA 0.1mg/L 培养基上生根,经一周左右试管苗基部长出 3~5 条粗壮的根,再培养一周后,完整的再生植株可移出试管,种植在细沙盆中,每日定期浇水 2 次,玻璃罩保温,培养温度 15℃左右,车前移栽苗 98%能成活。半个月后,成活的移栽苗有新叶长出,这时可以截去玻璃罩,酌情浇水。车前植株再生及其移栽苗见图 2。

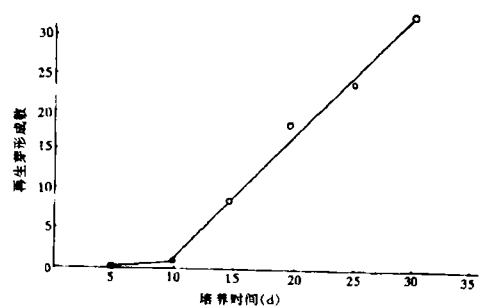


图 1 6-BA 对车前下胚轴芽器官形成的诱导作用

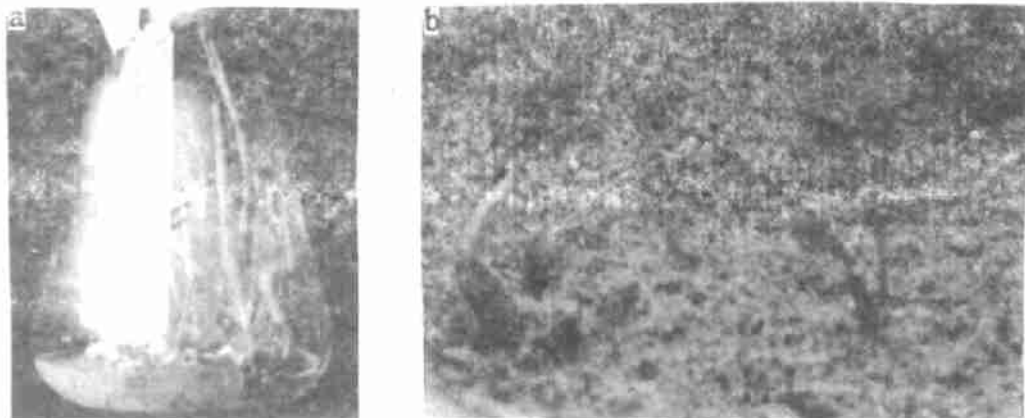


图2 车前植株再生

a-试管多芽苗 b-移栽成活的试管苗

3 讨论与小结

刘涿^[3,4]认为诱导烟草离体器官发生的外源激素作用与内源激素含量有关。本实验中6-BA的添加直接关系到芽的再生,而添加生长素2,4-D,NAA等都会抑制再生芽的发生,这种分化类型与烟草器官再生的激素调控相似,故可能是车前离体组织中内源生长素含量尚高,而再生芽的发生要求高的细胞分裂素作用,以致车前再生芽的形成依赖于外源6-BA。不同的器官(根)发生要求的植物激素种类不同,器官发生过程中外源激素之间的相互作用极为微妙。本研究通过调节激素,成功地建立了车前试管再生植株的培

养系统,为人工微环境无性系筛选及人工诱变创造车前细胞抗病突变株研究储备了技术手段。试验结果(图1)还显示离体培养10d左右的组织细胞是分生活跃期,此时的离体材料对辐射或化学诱变敏感,可能有效创造变异发生。目前笔者正在深入车前细胞工程筛选抗病变异株的工作。

参考文献

- 1 刘寿山主编. 中药研究文献摘要. 北京: 科学出版社, 1979, 126
- 2 刘君哲. 植物分类学报, 1992, 30(2): 125
- 3 刘涿, 等. 实验生物学报, 1980, 13(2): 223
- 4 刘涿, 等. 植物生理学报, 1986, 12(1): 104

(1995-01-05 收稿)

Tissue Culture of Asiatic Plantain (*Plantago asiatica*)

Tu Yisheng

The callus of a "Luling" strain of *Plantago asiatica* was induced by 2,4-D. When the induced callus was transferred to 2,4-D free MS medium, budgenesis was observed about 2 weeks afterward only by the addition of 6 BA alone. Rootgenesis of the bud was stimulated by NAA and 6-BA added to the MS medium thereafter. Finally, the completed plantlet could be obtained.

关键词: 车前, 组织培养, 芽, 根, 试管苗

上海市清华科技函授学院面向全国常年招生

为弘扬祖国医学,培养新型专业技术人才,本院以下专业继续面向全国招生:

1. 中医专业和中西医结合专业: 选用全国高等院校函授教材,各科均由专家教授执教、辅导。参加高等教育中医专业自学考试及格,国家承认其大专学历。

2. 性医学与不孕症专业: 学习国内外性医学精华,并以我国第一部彩色性病图谱指导临床和教学。

3. 针灸推拿骨伤专业: 以其独特的疗效,成为世界热门。教材博采众家手法技巧精华,医理精深,价值极高,且图像明了,易懂易学易用,后两专业学制一年,发钢印结业证。详见简章,汇报名费5元即寄。来函请寄 200085 上海 085-314 信箱上海市清华科技函授学院韩宇虹收 电话:(021)58554512