

药用甘薯西蒙 1 号胚状体的诱导及植株再生

军事医学科学院天然药物室(北京 100850)

尤 勇*

山东师范大学生物系

张慧娟

摘 要 甘薯西蒙 1 号(Simon 1)的叶片在 MS+2,4-D 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+ABA 5 mg/L 的培养基上易于诱导出愈伤组织。来源于叶片的愈伤组织分为胚性(EC)和非胚性(NEC), NEC 的增殖速度大于 EC, 继代培养时应及时将两种愈伤组织剥离才能保证 EC 的增殖。EC 继代在 MS+2,4-D 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+ABA 2.5 mg/L 的培养基上可保证早期胚状体的正常发育, 高浓度的 ABA 对胚状体的发育有抑制作用。正常发育的胚状体转移到 1/2 MS 培养基上可再生成完整植株, 来源于胚状体的再生植株移栽成活率高, 能够象营养繁殖的植株一样结实。

关键词 甘薯 胚性愈伤组织 非胚性愈伤组织 胚状体 再生植株

西蒙 1 号(Simon No.1)甘薯 *Ipomoea batatas*(L.) Lam 是巴西联邦国立农科大学发现的药用甘薯品种, 在临床上对各种出血性疾病及胰岛素非依赖型糖尿病有显著疗效^[1], 同时还具有抗肿瘤作用^[2], 日本国立癌症预防研究所将其誉为“抗癌之王”。甘薯是雌雄异株, 北方不易开花结实, 平时多以块根繁殖。但 Simon 1 甘薯的药用部分块根的产量较低^[3], 采用营养繁殖会消耗大量块根。采用有性繁殖方法又会使其后代性状严重分离, 不符合高产优质的要求。高频率产生、发育良好的胚状体不但解决了甘薯大规模繁殖的需要, 而且可以保持优良品种以及为良种繁殖提供不同遗传背景的育种材料。本实验首次从西蒙 1 号的叶片中诱导出胚性愈伤组

织, 并实现了胚性愈伤组织的增殖及胚状体的发生及发育, 为 Simon 1 甘薯在我国的大面积推广以及工厂化育苗打下了基础。

1 材料与方法

1.1 材料: Simon 1 甘薯由中国农科院辛淑英研究员提供。

1.2 方法: 选取实验田中生长健壮的 Simon 1 甘薯植株的叶片作为外植体, 先用自来水冲洗 2 h, 然后用 70% 乙醇灭菌, 无菌水冲洗两次, 再用 10% 次氯酸钠溶液灭菌 5 min, 无菌水冲洗 4 次, 然后将叶片切成 0.5 cm×0.5 cm 的方块接种在 1~4 号培养基上。培养温度为 27℃~28℃, 光照时间为 14 h, 光照强度 1 500~2 000 lx, 详细记录愈伤组织诱导的速度、颜色、大小和衰老的情况。

表 1 实验所用培养基

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
基本培养	MS	MS	MS	MS	MS	MS	1/2MS	MS
蔗糖浓度 (g/L)	30	30	30	30	30	30	15	30
植物激素 (mg/L)	2,4-D 0.5	2,4-D 0.5 KT 0.5	2,4-D 0.5 KT 0.5 ABA 5	KT 0.5 ABA 5	2,4-D 0.5 KT 0.5 ABA 2.5	KT 0.5 ABA 5		

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导: 为探索以甘薯叶片为外植体诱导胚性愈伤组织的培养条件, 实验选用了 4 种植物激素, 设计了 1 号、2 号、3

号、4 号 4 种培养基(表 1)。将叶片接种在 4 种培养基上, 发现培养在前 3 种培养基上的叶片可形成愈伤组织。

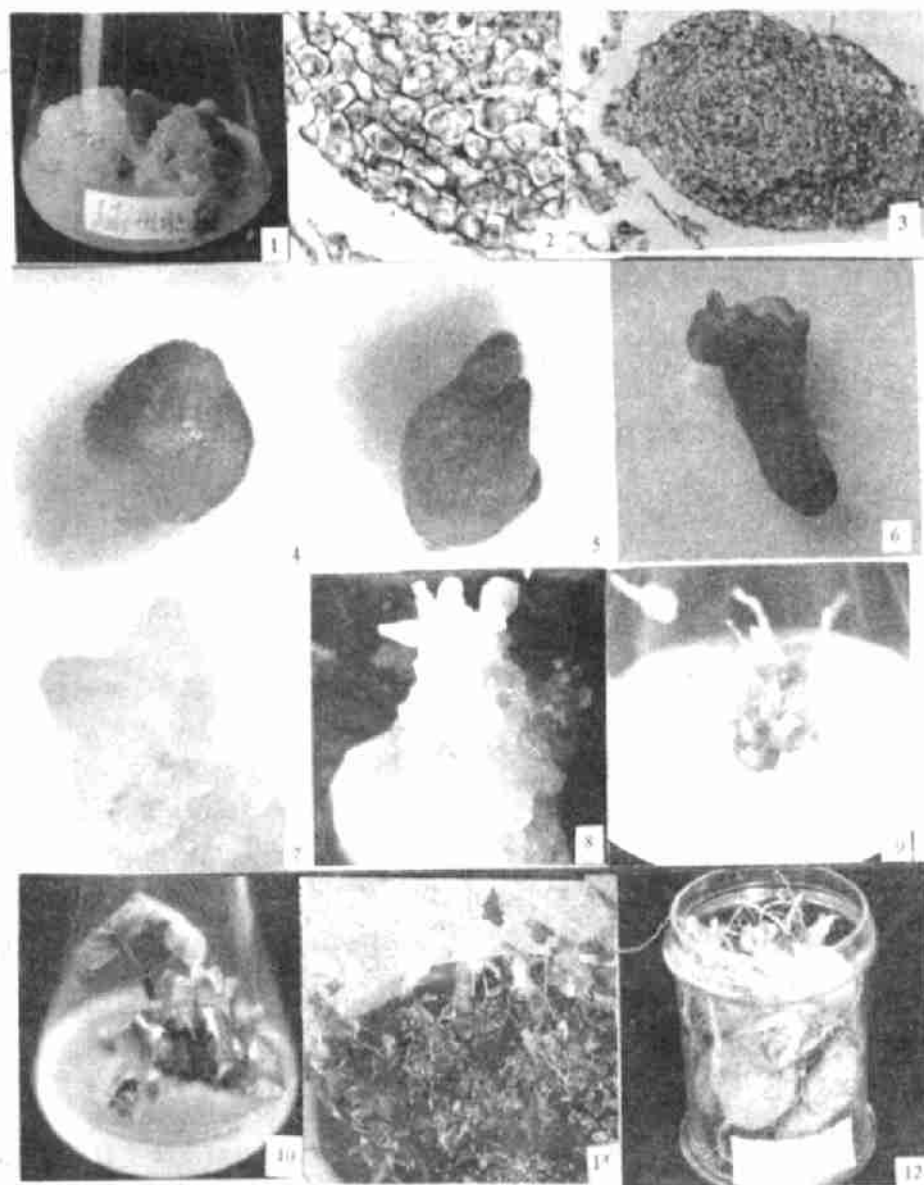
在 4 种培养基上形成的愈伤组织表现出

* Address: You Yong, Natural Medicine Laboratory, Academy of Military Medical Sciences, Beijing

尤 勇 男, 28 岁。1994 年毕业于山东师范大学生物系, 获得植物学硕士学位。1997 年获得理学博士学位。1997 年 8 月入军事医学科学院天然药物室博士后流动站工作。研究方向主要集中在植物的种质保存及分子标记上, 现主要研究濒危药用植物的遗传多样性及资源保护。已发表论文数篇。

不同的颜色和生长速度,其中在1号培养基形成浅褐色表面湿润的愈伤组织,其生长缓慢、易进一步褐变死亡。2号培养基形成白色表面湿润的愈伤组织,其生长迅速,显微镜下观察其结构松散、大多为长管状、弯弓状的细胞组成,细胞的液胞较大。3号培养基最初形

成较致密淡绿色愈伤组织,后该愈伤组织逐渐分化为两种类型:一种是生长迅速的白色松散愈伤组织,另一种为致密的淡黄色愈伤组织,表面凹凸不平,愈伤组织生长较慢(图1-1),另该愈伤组织的细胞较规正,核仁明显(图1-2)。白色松散愈伤组织生长迅速,容易



1-由叶片诱导出的胚性愈伤组织 2-胚性愈伤组织的石蜡切片 3-球型胚的石蜡切片 4-球型胚 5-心型胚 6-鱼雷胚 7-子叶胚 8-不同发育时期的胚状体 9-发育后期的子叶胚 10-胚状体再生植株 11-移栽的再生植株 12-再生植株的结实

图1 西药1号甘草胚状体的诱导及植物再生

将淡黄色愈伤组织覆盖。为了促进致密愈伤组织的生长,特将两种愈伤组织在解剖镜下

剥离开,然后将致密的淡黄色愈伤组织继代在3号培养基上,使其增殖。4号培养基上的叶片没有愈伤组织形成。

2.2 胚状体的发生和发育:在3号培养基上增殖5周的致密愈伤组织一部分仍继代在3号培养基上,另一部分转接到5、6号培养基上,经过两周的培养,将5号培养基上愈伤组织在解剖镜下剥离观察,发现愈伤组织从表面到内部存在不同发育时期的胚状体(图1-

将胚性愈伤组织接种到7号、8号培养基上,发现接种到7号培养基的胚性愈伤组织在接触培养基的部位形成许多粗根,愈伤组织表面形成粗壮白色突起,两周以后突起都发育成子叶期的胚,胚的发育比较一致,这些子叶期胚可以完整地形成植株(图1-9、10)。在8号部分培养基上胚性愈伤组织能够保持原来的绿色,两周以后接触培养基的部位形成少量细根,愈伤组织表面也形成一些粗壮白色突起,但量少于7号培养基,这些粗壮突起有的为子叶期的胚状体,有的是畸型发育的胚。

2.4 试管苗的移栽:将胚状体再生形成的一簇簇植株小心剥离开,然后用清水洗净根部残留的培养基,移栽到装有蛭石的营养钵中。营养钵放置在光线较弱的地方,上方罩一个塑料外套。移栽苗要定期喷水,经过一周的炼苗,再移栽到大田中,移栽苗易成活,生长良好(图1-11)。移栽苗象正常营养繁殖的植株一样结实(图1-12)。

3 讨论

通过甘薯组织培养再生植株,大多以茎尖为外植体,因为茎尖培养易直接形成完整植株或通过胚状体途径再生植株,但以叶片为外植体的未见报道。本文首次采用2,4-D、

8),这些胚状体包括发育早期的子叶胚、鱼雷胚、心型胚、球型胚(图1-7、6、5、4)。继代在3号培养基上的致密愈伤组织经石蜡切片观察发现愈伤组织内部只存在球型胚期的胚状体(图1-3)。

2.3 植株的再生:实验发现将5号培养基上发育良好的胚状体接种在7、8号两种培养基上,胚状体能够进一步发育并再生出植株,胚状体发育情况见表2。

KT、ABA 的激素组合从甘薯叶片中诱导出胚性愈伤组织,并使胚状体萌发成完整的小植株。同1、2、3号培养基相比,4号培养基没能诱导出愈伤组织,说明生长素2,4-D对于甘薯愈伤组织的诱导是必需的,这同姚敦义诱导分化愈伤组织的结论一致^[4],他也发现生长素2,4-D是必需的。将胚性愈伤组织由3号培养基转移到5号培养基后胚状体能够发育到子叶期,而3号培养基上胚性愈伤组织内的胚状体大多停滞在球形胚期。由此可认定高浓度的ABA有利于最初胚性愈伤组织的诱导和增殖,但不利于胚状体的发育,只有降低ABA浓度才能有利于胚状体的进一步发育,ABA的作用可能与它调控植物内源激素的水平有关。

在1号培养基上诱导出的愈伤组织易褐化,且生长缓慢。在3号培养基上2,4-D与KT的搭配使用既有利于提高胚性愈伤组织的生长速度,又可防止胚性愈伤组织的褐化,这说明KT对愈伤组织的褐化有一定的抑制作用,KT的这种作用在其它植物胚状体研究中也报道^[5]。

胚状体只有转接到不含激素的培养基上才能再生出植株^[6],本实验结果进一步证明了这个结论。对于甘薯胚状体,大量元素和蔗

表 2 胚性愈伤组织产生子叶期胚及生根的统计

培养基	接种瓶数	胚性愈伤组织(块)	含子叶期胚的愈伤组织(块)	产生粗状根的愈伤组织(块)	产生细根的愈伤组织(块)	出现根 的日期(d)
7号	7	37	28	13	11	11
	4	30	24	7	6	11
8号	6	38	16		17	7
	3	18	9		11	7

糖浓度均减半的 MS 培养基比 MS 培养基更适合其正常的萌发及植株再生, 作者认为高浓度的蔗糖会造成培养基中渗透势过高, 而不利胚状体的再生。

参考文献

1 叶庆林, 等. 福建医学院学报, 1992, 26: 16

- 2 许建华, 等. 福建医科大学学报, 1997, 31(1): 20
- 3 钮福祥, 等. 江苏农业科学, 1996, (6): 29
- 4 姚敦义, 等. 植物生理学通讯, 1981, (4): 41
- 5 刘春明, 等. 植物学报, 1991, 33(5): 378
- 6 张树录, 等. 植物生理学通讯, 1985, (6): 15

(1998-06-04 收稿)

Studies on Embryogenesis and Plant Regeneration of Sweet Potato

(Simon. 1) (*Ipomoea batatas*) in Tissue Culture

You Yong and Zhang Huijuan* (Natural Drug Department, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850; *Department of Biology, Shandong Normal University)

Abstract High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration was realized through the leaf culture of "Simon 1", the medium containing MS+2. 4-D 0. 5 mg/L+KT 0. 5 mg/L+ABA 5 mg/L was testified to be suitable for the inducing of embryogenic callus. The calluses induced from the leaf had two types: non-embryogenic callus (NEC) and embryogenic callus (EC). NEC grew faster than EC and had no ability to differentiate. In order to enhance the proliferation of the embryogenic callus, NEC and EC must be separated. ABA are essential to induce EC, but higher level of ABA inhibits the constant development of embryoid. When EC was subcultured on medium in which ABA concentration was half of induced medium, the embryoid developed normally. The embryoid developed well on 1/2 MS without growth regulators, plantlets from embryoids could grow normally and give high yield.

Key words sweet potato (Simon. 1) *Ipomoea batatas* Lam. non-embryogenic callus (NEC) embryogenic callus (EC) embryoid plantlet

中药蛇床子的粉末 X 衍射分析[△]

中国协和医科大学

中国医学科学院

中国药科大学

药物研究所(北京 100050)

周俊国*

吕 杨

郑启泰

蔡金娜

王峥涛

徐珞珊

摘 要 对 3 种及不同产地 12 个样品的中药蛇床子进行了粉末 X 衍射分析。结果表明, 不同产地蛇床子的衍射图谱按其几何拓扑性质大致可分为 4 类相似衍射模糊图形, 与 TLC 分析的结果基本一致, 为中药鉴别提供了新的谱学分析依据。

关键词 中药鉴定 蛇床子 粉末 X 衍射

中药蛇床子为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cusson 的干燥成熟果实。具有补肾壮阳、祛风燥湿、杀虫等功效^[1]。近代研究表明蛇床子具有抗肿瘤、抗诱变、抗真菌、抗变态、抗骨质疏松、抗心率失常等多种药理

作用^[2~7]。蛇床是广布种, 具很大的生态幅。作者在 80 年代对蛇床子类药材进行品种整理和质量评价研究时发现蛇床子种内在不同分布区域及同一居群内不同个体间, 其香豆素类成分已发生显著变化^[8]。如分布于福建、

* Address: Zhou Junguo, Institute of Materia, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing

[△]国家自然科学基金资助项目

注: 蛇床子样品衍射数据 $d(I/I_0)$ 存入中药材 X 衍射图谱数据库, 需要者请与郑启泰教授联系。