

文章编号:1003-8701(2013)02-0081-03

GA₃ 与 6-BA 对西洋参种胚离体培养效应的研究

胡选萍^{1,2}, 曹小勇¹

(1. 陕西理工学院生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723001; 2. 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723001)

摘 要: 研究了 GA₃ 与 6-BA 对于西洋参种胚生长的效应方式与效应程度。结果表明: (1) GA₃ 与 6-BA 对西洋参种胚的形态建成具有重要的调控作用; (2) GA₃ 与 6-BA 通过效应于西洋参种胚形态进而影响外植体愈伤组织的诱导与形成, I 型茎的膨大率与愈伤组织诱导率显著高于 II 型茎。

关键词: 西洋参; GA₃ 与 6-BA; 愈伤组织

中图分类号: S567.5+3

文献标识码: A

Effect of GA₃ and 6-BA on the in Vitro Culture of Embryo of American Ginseng

HU Xuanping^{1,2}, CAO Xiaoyong¹

(1. College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Hanzhong 723001; 2. Shaanxi Key Laboratory of Bio-Resources, Hanzhong 723001, China)

Abstract: The ways and extent of effect of GA₃ and 6-BA on growth of embryo of *Panax quique folium* L. were researched. The result showed that GA₃ and 6-BA played an essential role on morphology construction of embryo of *Panax quique folium* L.. The induction and formation of callus was affected by GA₃ and 6-BA. Moreover, the rate of enlarged explants and percentage of callus induction from I -type stem were much more than them from II -type stem.

Keywords: *Panax quique folium* L.; GA₃ and 6-BA; Callus

西洋参(*Panax quiquefolium* L.)又名美国参、花旗参、洋参、广东参,系五加科人参属多年生草本植物^[1]。我国自 20 世纪 80 年代成功大面积引种西洋参以来,已发展成为继美国、加拿大后世界第三大西洋参生产国和世界第一大消费国,而陕西留坝则以较大的栽种面积跻身全国四大产区之一^[2]。西洋参中含有皂苷、多糖、黄酮类、挥发油、微量元素等丰富的化学活性物质,具有抗缺氧、抗疲劳、抗应激、保肝、降血脂、增强免疫、防止动脉粥样硬化等多项生理功能^[3],是保健食品、药品开发的良好来源。本研究以西洋参种胚为基础材料,探索 GA₃ 与 6-BA 对西洋参种胚离体培养的效

应,为改变与调整外植体初始状态,提高西洋参种胚愈伤组织诱导效率,为西洋参大规模细胞悬浮培养生产有效食、药用代谢产物提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究使用从陕西汉中留坝地区当年采集并在沙土中保藏良好的西洋参种子作为基础研究材料。

1.2 方法

(1)材料预处理 挑选沙土中保藏的饱满、圆润并出现裂口的西洋参种子,去掉外种皮,用自来水冲洗掉供材表面杂质,并在流水下冲洗 1~2 h 备用。

(2)材料消毒 在超净工作台上,对去种皮西洋参种子采用乙醇和升汞配合消毒。70%的乙醇漂洗 30 s,0.1%的升汞浸泡 10 min,并用无菌蒸馏

收稿日期:2012-10-18

基金项目:陕西省资源生物重点实验室科研计划项目(09JS048)

作者简介:胡选萍(1975-),女,讲师,硕士,主要从事植物组织培养与细胞工程研究。

水冲洗 5 ~ 6 次。

(3)材料切分与无菌接种 :无菌条件下,将西洋参种子解剖取出完整种胚,接种于含有不同浓度 GA₃ 与 6-BA 的培养基上(表 1)。

表 1 西洋参种胚离体培养中激素种类与配比

培养基编号	激素种类与浓度(mg/L)
1	MS+ GA ₃ (0.15)
2	MS+ GA ₃ (0.3)
3	MS+ GA ₃ (0.5)
4	MS+ GA ₃ (1)
5	MS+ GA ₃ (2)
6	MS+ GA ₃ (2)+6-BA(0.5)
7	MS+ GA ₃ (5)
8	MS+ GA ₃ (10)
9	MS+ GA ₃ (10)+6-BA(1)

(4)离体培养 :培养温度(20 ± 2)℃,培养湿度 50% ~ 70%,光照强度为 1 500 ~ 2 000 lx,光照时

间为连续 12 h/d,定期观察。

所用培养基均以 MS 为基本培养基,蔗糖 3%,琼脂 0.6%,pH 为 5.8,在 121℃,1.1 kg/cm² 的高温高压下灭菌 20 min。

2 结果与分析

2.1 GA₃ 与 6-BA 对西洋参种胚形态的影响

西洋参种胚接种于不同激素比例的培养基上,表现出两种典型的形态差异性分化。当培养基只有 GA₃,无 6-BA 存在时,真叶成淡绿色,随着培养时间的延长,真叶逐渐展开,色泽变为深绿,胚轴较细,生长速度相对较快(Ⅰ型茎)(图 1),而且在培养初期几乎无胚根出现,后期出现胚根,但数量少,而且胚根相对较短。当培养基中 GA₃ 与 6-BA 同时存时,真叶成黄色,体积较小,展开速度很慢,而且胚轴均呈现出下端粗上端细的特殊形态(Ⅱ型茎)(图 2),胚根相对较多,生长速度也较快。

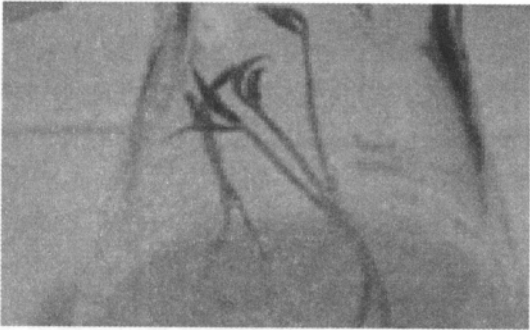


图 1 无 6-BA 存在时的西洋参种胚发育形态(Ⅰ型茎)

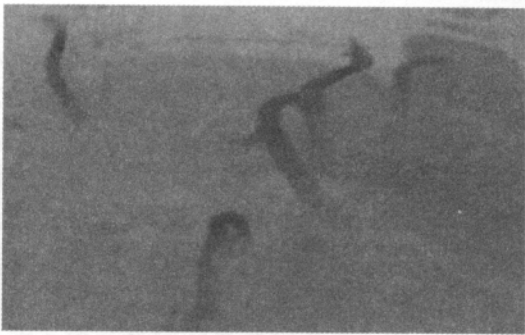


图 2 GA₃ 与 6-BA 均存在时西洋参种胚形态(Ⅱ型茎)

2.2 GA₃ 与 6-BA 对西洋参种胚生长的影响

将西洋参种胚接种于相应培养基后,第 3 天子叶展开,部分胚芽变为黄绿色,第 5 ~ 7 天胚芽开始明显伸长,子叶几乎不伸长,随着胚芽与胚轴

的伸长,子叶逐渐变黄脱落,第 10 天左右胚轴可以伸长到 2 ~ 4 cm,不同的激素处理下,西洋参胚的伸长速度不尽相同(表 2)。

较低浓度的赤霉素对西洋参种胚具有明显的

表 2 不同培养基中西洋参种胚的生长变化

编号	接种数(个)	伸长数(个)	伸长率(%)	胚轴长(cm)	胚根数(个)	胚根长度(cm)
1	30	21	0.70	2.67	5	2.18
2	28	22	0.79	2.68	4	1.87
3	26	23	0.88	2.60	11	1.70
4	30	26	0.87	2.73	2	2.45
5	25	23	0.92	3.03	6	0.60
6	30	17	0.57	1.60	6	0.40
7	45	26	0.58	2.87	12	2.12
8	36	23	0.64	3.40	9	2.30
9	35	22	0.63	1.23	3	0.65

伸长效应,当赤霉素浓度达到 2 mg/L 时,胚的伸长率达到最大值(92%)。高浓度的赤霉素对胚轴的伸长速度略有优势,但是伸长率相对下降,因此从伸长率与胚轴生长速度两个角度综合分析,赤霉

素浓度 2 mg/L 是西洋参种胚预培养的最佳浓度。另外,当培养基中有 6-BA 存在时,胚轴的伸长率与胚轴生长速度总体相对偏低,但是胚轴的直径相对较大。

2.3 GA₃ 与 6-BA 对西洋参胚轴愈伤诱导的影响

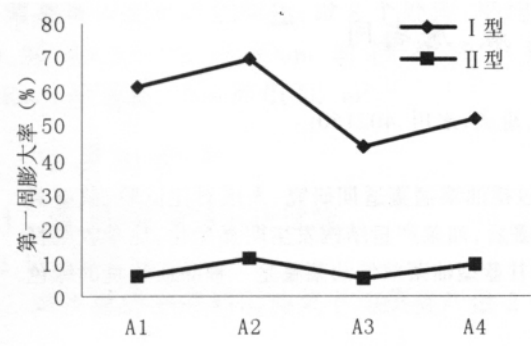


图 3 两种类型茎的膨大率

对于两种不同类型的胚轴,在附加有不同比例 6-BA 与 NAA 的培养基上,茎段外植体的膨大率与出愈率差异非常明显,具体表现出 I 型茎的膨大率与愈伤组织诱导率显著高于 II 型茎。对于 I 型茎而言,随着培养时间的延长,部分培养基处理中出愈率可以达到 100%,而且愈伤组织生长速度很快,多呈淡绿色或乳白色疏松愈伤组织;II 型茎的茎段外植体出愈不明显,最高出愈率仅为 10%左右,而且愈伤组织形成速度也很慢。

3 讨 论

GA₃ 与 6-BA 作为植物体的内源激素,对植物体细胞分化与形态建成具有关键调控作用。遗传与分子生物学研究表明,植物体通过正向作用因子与反向作用因子,启动赤霉素信号转导,从而调控伸长生长^[4]。本研究结果表明,在西洋参种胚预处理过程中,2 mg/L 的赤霉素浓度是一个促进种胚快速伸长并获得大量外植体的最佳选择。将西洋参种胚接种于同时含有 GA₃ 与 6-BA 培养基中,结果种胚形态发生与建成趋向另外一种途径(II 型茎),可能是由于 6-BA 存在时种胚细胞分裂横向生长旺盛,与 GA₃ 纵向伸长作用相拮抗,从而抑制了胚轴的纵向伸长,也正是 6-BA 的这种方向性调控作用,导致西洋参种胚离体培养中表现出特定的差异性形态。

将两种不同类型的胚轴,在无菌条件下切分为 0.5 cm 左右的茎段,分别接种于 4 种不同激素配比的诱导愈伤组织培养基上。以培养基类型为横坐标,分别以膨大率和出愈率为纵坐标,作图如下(图 3、图 4)。

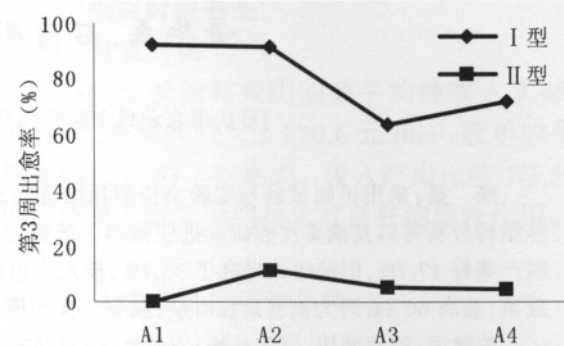


图 4 两种类型茎的出愈率

两种不同类型的茎,由于细胞活力状态不同,可以作为诱导愈伤组织的良好筛选材料。分别以 I 型茎与 II 型茎的茎段作为外植体诱导愈伤组织,结果表明 I 型茎比 II 型茎具有更强的脱分化潜力,形成愈伤组织的速度更快,愈伤质量也相对较好,可能是由于 II 型茎中 6-BA 含量较高,与培养基中 NAA 作用相互抵消,不利于细胞的脱分化与愈伤组织的形成。对于两种不同类型的西洋参种胚,除茎段外的其他外植体类型(胚芽、根段、叶片等),是否也表现出类似的脱分化倾向,诱导形成的愈伤组织在细胞分裂能力、变异潜力、分化水平,以及产生次生代谢产物的潜力等方面是否有差异,还有待进一步研究。而这些方面的探索对于西洋参愈伤组织诱导分化不定芽、愈伤组织诱变育种,以及利用细胞悬浮培养生产次生代谢产物具有重要的意义。

参考文献：

[1] 赵树清,载新荣. 西洋参研究进展[J]. 广东药学,2005,15(6): 63-65 .
[2] 李 焘,屈新运,王喆之. 陕西留坝西洋参药材 HPLC 指纹图谱的建立[J]. 中药材,2008,31(8) :1146-1149 .
[3] 王 蕾,王英平,许世泉,等. 西洋参化学成分及药理活性研究进展[J]. 特产研究,2007(3) :73-75 .
[4] 张国华,张艳洁,丛日晨,等. 赤霉素作用机制研究进展[J]. 西北植物学报,2009,29(2) :412-419 .