

植物激素在高羊茅组织培养中的应用与进展

唐小艳¹, 易自力¹, 蒋建雄¹, 刘清波², 陈智勇¹

(1. 湖南农业大学细胞工程重点实验室, 湖南 长沙 410128;

2. 湖南农业大学生物科学与技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘要:概述了生长素、细胞分裂素和脱落酸3类植物激素在草坪草离体培养中的功能,重点综述了草坪草高羊茅愈伤组织诱导、继代、分化及再生苗生根等组织培养各阶段植物激素的应用现状,分析了目前存在的问题并提出了展望。

关键词:植物激素; 高羊茅; 组织培养; 生长素; 细胞分裂素; 脱落酸

中图分类号:S482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-060X(2006)03-0134-03

Progress of plant hormone application in tissue culture of Tall Fescue

TANG Xiao - Yan¹, YI Zi - Li¹, JIANG Jian - Xiong¹, LIU Qing - Bo², CHEN Zhi - Yong¹

(1. key Laboratory of Cell Engineering, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, PRC;

2. Bio - science and Technology College, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, PRC)

Abstract: The function of Auxin, cytokinin and abscisic acid in turfgrass tissue culture was reviewed. It focused on the current application of plant hormone in Callus inducing culture, Callus secondary culture, Differential culture and Rooting culture in tissue culture of Tall Fescue. The problems were summarized and the strategy for the future research was proposed.

Key words: plant hormone; tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.); tissue culture; auxin; CTK; ABA

高羊茅 (*Festuca arundinacea* Schreb.) 又称苇状羊茅, 是多年生冷季型禾草, 也是最耐践踏的草坪草之一, 在中国应用广泛。它具有抗干旱、耐瘠薄、抗病、绿期长、适应性广等特点, 但存在叶片粗糙、没有匍匐茎、夏季生长缓慢、易遭杂草侵害等不足之处^[1]。随着生物技术的发展, 利用遗传转化手段改良高羊茅品质性状、提高其抗逆性已成为目前草业工作者研究的热点, 而组织培养是进行植物包括草坪草遗传转化操作的基础和前提。

组织培养的成功与否, 除了要选择正确的外植体、基本培养基、适宜的环境条件外, 最关键的影响因素就在于适宜的激素种类和浓度配比。尽管各类植物激素的生理作用具有相对的专一性, 但植物激素在相互作用中, 有重叠和互补效应^[2], 具体试验

中, 激素的种类和浓度的选择十分复杂, 并且难以掌握, 因此在植物组织培养及植株再生的不同时期, 对激素种类和浓度的筛选始终是组培工作的重点和难点。本文重点总结了激素在高羊茅愈伤组织的诱导、继代、分化及植株生根等组织培养各阶段的应用及进展情况, 以便为该领域今后的研究提供有益的信息。

1 草坪草组织培养中常用的植物激素及功能

植物激素是一类能够调控植物生长、发育和衰老的物质, 主要包括生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸和乙烯等5类物质。对禾本科草坪草而言, 起主要作用的是生长素、细胞分裂素和脱落酸。

生长素的主要作用是促进细胞伸长生长, 促进组培苗节间的伸长及根的形成。对草坪草尤其是禾本科草坪草来说, 愈伤组织的诱导、胚状体的产生以及试管苗的快繁和生根都是必需的。不同品种对生长素的敏感性不同, 这就需要通过大量试验来确定其最佳浓度。在草坪草的组织培养中常用的生长素

收稿日期: 2005-12-30

基金项目: 湖南省自然科学基金(05JJ3036)和湖南省教育厅科学研究重点项目(05A022)资助。

作者简介: 唐小艳(1970-), 女, 湖南永州市人, 在读硕士。研究方向: 植物基因工程。

通讯作者: 易自力

有如下几种:2,4-二硝基苯酚(2,4-D)、吲哚丁酸(IBA)、萘乙酸(NAA)、吲哚乙酸(IAA)。

细胞分裂素具有促进细胞分裂和分化,延迟组织衰老,增强蛋白质合成,抑制顶端优势,促进丛生芽的生长及显著改变其它激素作用的特点。在草坪草组织培养以及再生系统的建立中常用的细胞分裂素是:6-苄基腺嘌呤(BA或6-BA或BAP)、激动素(KT或KIN)。

脱落酸(ABA)有促进脱落、降低蒸腾、促进休眠、抑制生长等功能,脱落酸还能增强植物的抗逆性。在草坪草的愈伤组织诱导中,ABA有助于胚胎晚期的蛋白质合成和淀粉的累积以及体胚的成熟。提高培养基中ABA含量,有利于增加培养基的渗透势,使体细胞胚处于逐渐脱水状态;对于松软无定型、呈果冻状或棉絮状的愈伤组织,添加ABA能使愈伤组织转变为结构致密的胚性愈伤组织,从而提高再生绿色植株的能力。

2 草坪草高羊茅组织培养各个阶段植物激素的应用现状

2.1 愈伤组织的诱导

高羊茅愈伤诱导时生长素2,4-D是关键因素。据报道,诱导培养基中单用激素2,4-D时,最佳2,4-D浓度是5~9 mg/L^[3-6],高于12 mg/L或低于2 mg/L则对愈伤组织的诱导有强烈抑制作用^[1],高羊茅外植体在高浓度2,4-D存在下才能诱导出最佳的愈伤组织,这与一般禾本科作物诱导愈伤组织2,4-D浓度通常为2 mg/L有差异。王诚等^[7]报道,MS培养基中分别加入IAA、NAA、KT、6-BA均无愈伤组织形成,惟有MS+2,4-D上产生了愈伤组织。Bai^[2]等报道,在培养基中添加9 mg/L 2,4-D,愈伤组织诱导率较高,在此范围内,愈伤组织诱导率随2,4-D浓度的提高而提高。

高羊茅愈伤诱导时细胞分裂素配合生长素使用比单用生长素效果好,因为其合适的浓度及两者之间的适宜配比不但可以诱导细胞分裂和生长,而且能控制细胞分化和形态建成。高羊茅愈伤诱导培养基中常用的细胞分裂素是BA或KT,浓度一般为0.01~0.5 mg/L,ZT虽然活性高,但因太昂贵,一般不用。张万军等^[8]研究认为,5 mg/L 2,4-D+0.02 mg/L KT是高羊茅种子愈伤组织诱导最佳激素组合,诱导率达92%。Bai^[2]发现,诱导培养基上添加0.1 mg/L BA,可以提高高羊茅种子愈伤组织的诱导率;而钱海丰等^[1]报道:在9 mg/L 2,4-D上添加

0.2 mg/L BA对高羊茅的愈伤组织诱导存在负效应。可见,细胞分裂素在此应用变幅相当窄。

高羊茅愈伤诱导时添加ABA有利于胚性愈伤组织的形成,ABA浓度一般为0.1~5 mg/L。胡张华等^[9]在N₆+9 mg/L 2,4-D上添加2.0 mg/L ABA,发现愈伤组织诱导率明显提高,且能有效抑制胚芽和根的形成。马生健等^[10]报道,ABA在高羊茅胚性愈伤组织诱导中是一种具有全面生理功能的物质,能抑制多种畸形胚胎的产生,维持细胞胚性结构不被破坏。

2.2 愈伤组织的继代

愈伤组织的继代培养一方面可使愈伤组织增大,另一方面可促使非胚性愈伤组织转变为具有再生能力的胚性愈伤组织。在继代培养时适时地降低培养基中的2,4-D浓度以及适当增加BA或KT等细胞分裂素浓度,将有利于高羊茅愈伤组织的保持和体细胞胚的形成。钱海丰等^[1]将先在9 mg/L的2,4-D上培养的愈伤组织转移到5 mg/L 2,4-D继代培养基上,10~15 d后再转移至分化培养基上光照培养,分化率达73.3%。支大英等^[11]对比研究了MB+5 mg/L 2,4-D和MB+3 mg/L 2,4-D两种培养基上愈伤继代情况,发现3 mg/L 2,4-D培养基上继代5个月的愈伤组织仍保持很高分化能力,而在5 mg/L 2,4-D上继代3个月后的愈伤组织分化能力明显降低。

2.3 愈伤组织的分化及再生苗生根

在高羊茅愈伤组织分化过程中,BA是重要的激素之一,BA浓度一般为1.0~3.0 mg/L,其次是KT。BA的活性大于KT的活性。高羊茅胚性愈伤组织的分化对2,4-D的浓度要求很低,有的品种只有除去它才可获得再生植株。有研究者指出:分化培养基上增添低浓度NAA有利于植株分化,同时也可促进再生苗生根^[1,12],但NAA浓度不宜过高,否则会导致芽过多过高而抑制根的发生,从而使再生植株成活率降低。钱海丰等^[1]以MS+2 mg/L BA+0.5 mg/L NAA为分化培养基,得到了较好的分化效果。

许多试验表明,无论是否添加激素,采用1/2MS作生根培养基,均能很好地诱导高羊茅不定芽生根。但生根培养基中添加微量NAA或IAA,分化不定根的时间短、根粗壮。

3 存在的问题及展望

(1)组织培养过程中外源激素的添加具有盲目

性。原因是有的激素在植物体内合成及代谢途径仍然不清楚,尤其是人们对各种激素相互协同、拮抗的作用机理极不明确。今后有望从细胞分子生物学与分子遗传学两个方面进行研究,以阐明植物激素作用的分子机理。(2)目前,对内源激素的测定尚无准确、简便的方法,对内源激素难以定量、定性分析,因此无法准确估测内源激素对外源激素的干扰程度。随着内源激素检测手段的不断推进,以后可在要进行组织培养的植物上先进行内源激素的测定,以探明内源激素在组织培养过程中的生理机制,为外源激素的添加指明方向。(3)天然激素来源困难,难以提取,量少而昂贵,如天然脱落酸售价高达230美元/mg,极大地限制了其在农业生产中的应用,而人工合成激素与天然激素在作用上有一定差距。今后可利用现代生物手段深入开展植物激素的研究,如利用转基因植物作为研究植物激素的工具。

参考文献:

- [1] 钱海丰,薛庆中.激素对高羊茅愈伤组织诱导及其分化的影响[J].中国草地,2002,1(1):46-60.
 - [2] Bai Y, Qu R. Factors influencing tissue culture responses of mature seeds and immature embryos in turf-type tall fescue[J]. Plant Breeding, 2001, 120: 239-242.
 - [3] Torello W A, Symington A G, Rufner R. Callus initiation, plant regeneration, and evidence of somatic embryo-genesis in red fescue[J]. Crop Sci, 1984, 24: 1037-1040.
 - [4] Bai Y, Qu R. An evaluation of callus induction and plant regeneration in twenty-five turf-type tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) cultivars[J]. Grass Forage Sci, 2000, 55: 326-330.
 - [5] 吴关庭,胡张华,陈笑芸,等.高羊茅辐射敏感性和辐照处理对其成熟种子愈伤诱导的影响[J].核农学报,2004,18(2):104-106.
 - [6] 陈智勇,易自力.提高高羊茅愈伤组织诱导率的研究[J].草业学报,2003,12(4):69-72.
 - [7] 王 诚,李 青,辛 燕.高羊茅种子愈伤组织诱导及植株再生研究[J].北京林业大学学报,2004,26(1):66-69.
 - [8] 张万军,李天红,王 涛,等.高羊茅高频植株再生体系的建立及其影响因子的分析[J].农业生物技术学报,2004,12(2):157-161.
 - [9] 胡张华,陈火庆,吴关庭,等.高羊茅悬浮细胞系的建立及绿色植株的高频再生[J].草业学报,2003,12(3):95-99.
 - [10] 马生健,曾富华,余炳生,等.高羊茅愈伤组织的诱导与内源激素含量研究[J].湛江师范学院学报,2002,23(6):53-56.
 - [11] 支大英,韩晓光,赵军胜,等.8种基因型的高羊茅的组织培养与植株再生[J].山东大学学报(理学版),2004,39(4):109-114.
 - [12] 余桂红,马鸿翔,余建明,等.草坪型高羊茅成熟种子胚性愈伤组织诱导及植株再生[J].江苏农业学报,2004,20(1):38-43.
- ~~~~~
- (上接第133页)
- 具有非常大的发展前景。
- 参考文献:**
- [1] 黄正明,杨新波.水芹的本草考证[J].中草药,2001,32(1):59.
 - [2] 朱有昌.东北药用植物[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1989.835-837.
 - [3] 吴细卿,朱德蔚.我国芹菜品种类型及利用初探[J].作物品种资源,1990,29-11.
 - [4] 刘寿山.中药研究文献摘要[M].北京:科学出版社,211.
 - [5] 金晓玲,张 雁.芹菜茎叶的营养成分比较分析[J].浙江师大学报,1996,19(1):60-61.
 - [6] 董钰明,张 军,刘 晖,等.芹菜汁中总黄酮的含量测定[J].兰州医学院学报,2000,26(1):13.
 - [7] 陈建初,董绍华.芹菜黄酮及其在主要制汁过程中的变化[J].浙江农业大学学报,1998,24(3):279-282.
 - [8] 张 桂,畅天狮.从芹菜中提取黄酮类物质的研究[J].食品科学,2002,23(8):121-125.
 - [9] 刘世民,微波法提取芹菜中黄酮类物质的探讨[J].食品研究与开发,2004,6(25):48-50.
 - [10] 郑瑞昌,黄阿根,钱建亚.水芹黄酮提取工艺的研究[J].扬州大学学报,2001,4(4):50-51.
 - [11] 黄正明,杨新波,曹文斌.茵陈四黄注射液组分改变与实验疗效的研究[J].中成药研究,1987,(11):23.
 - [12] 黄正明,杨新波,曹文斌,等.水芹退黄降酶疗效的实验研究[J].中国药理学杂志,1989,24(2):24-25.
 - [13] 黄正明,杨新波,曹文斌.水芹提取液预防 CCL₄ 对肝损伤的作用[J].中国药理学杂志,1990,25(6):373.
 - [14] 黄正明,杨新波,曹文斌,等.芹灵冲剂的保肝作用[J].中国医院药学杂志,2000,20(1):5-7.
 - [15] 黄正明,杨新波,曹文斌,等.水芹复方注射液抗肝炎的药理研究[J].中成药,1990,12(4):27-28.
 - [16] 黄正明,杨新波,曹文斌,等.水芹水提物在鸭原代肝细胞培养中对 DHBV 抑制作用初步研究[J].中国医学杂志,1997,32(11):720-723.
 - [17] 杨新波,黄正明,曹文斌,等.水芹乙酸乙酯提取物在 2215 细胞培养内对乙型肝炎病毒表面抗原和 E 抗原的抑制作用[J].解放军药理学学报,2000,16(1):4-8.