

生菜子叶组织培养及全息现象的研究

宋英今¹, 季 静¹, 刘海学², 王 罡¹

(1. 天津大学, 300072; 2. 天津农学院, 300384)

摘 要:对生菜子叶在含有不同激素浓度的培养基上进行了诱导、分化及成苗的研究, 结果表明:在 MS+0.5 mg/L IAA+1.2 mg/L 6-BA 的培养基上能够实现较高的不定芽再生, 不定芽在 1/2MS 培养基上能健康成苗。同时以生菜子叶不同部位的切块为外植体, 用 MS+0.5 mg/L IAA+1.2 mg/L 6-BA 的培养基进行不定芽诱导试验, 发现生菜子叶不同部位的切块在离体培养时存在着全息现象。

关键词:生菜; 子叶; 组织培养; 植物激素; 全息现象

中图分类号:S 636.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2007)01-0142-03

生菜(*Lactuca sativa* var. *capitata* L.)是深受人们喜爱的一种蔬菜, 属菊科(*Asteraceae*)莴苣属(*Lactuca*), 是一种热量低, 生产周期短, 适宜栽培地区广, 栽种条件简单的可直接生食的蔬菜。植物全息胚理论^[1~2]认为, 植物体上任何一个在结构和功能上有相对明确的边界和相对独立的部分, 都是处于由体细胞向新个体发育的某个阶段上的胚胎。这种胚胎生活在亲体这样的天然培养基上, 在自主发育的同时发生了特化。特化的结果使这样的体细胞胚没有发育成新个体, 而是成了生物体的组成部分——器官, 此体细胞胚称为全息胚。全息胚既是构成生物体的结构单位, 又是相对独立的向新个体自主发育的发育单位。目前, 生物全息律已在医学、农业、园艺、中草药学等领域广泛应用, 并取得了显著的科学和经济效益。倪德祥^[3]首次以大蒜鳞茎、甜叶菊嫩茎段等为材料探讨了组织培养过程中有关实验形态学的生物全息律。随后, 芮和恺^[4]、汤朝起^[5]等先后以粗毛甘草、黄瓜子叶为材料, 观察离体器官形态发生中的生物全息现象, 但在有关生菜子叶不同切块组织培养不定芽诱导的研究中, 尚未有人探讨过其中的全息规律。为此, 本研究针对生菜组织培养中不定芽不易大量成苗的现象, 对所用的诱导培养基进行了激素浓度配比试验, 同时又以生菜子叶的不同切块为材料, 探讨了子叶不同级全息胚之间的全息相关性, 以期生菜现代育种的组织培养取材以及建立高效的遗传转化体系奠定基础。

第一作者简介:宋英今, 女, 1972年生, 博士, 天津大学农业与生物工程学院讲师, 研究方向为分子生物学。

通讯作者:季静, 女, 1965年生, 天津大学农业与生物工程学院教授。

收稿日期:2006-08-15

1 材料与方法

1.1 材料

供试的生菜品种为北京生菜, 由北京蔬菜研究中心生产。

1.2 方法

1.2.1 无菌播种和生菜不定芽诱导培养基 将北京生菜的种子用 75%酒精浸泡 30 s 后, 在摇床上用次氯酸钠浸泡 17 min, 转速 180 rmp/min, 无菌水冲洗 5 次, 播于用 50 mL 三角烧瓶装的 MS 培养基上, 前 3 d 暗光处理, 后 2 d 置于组织培养室, 每日光照 16 h。取材时选用生长状况良好的无菌子叶, 切成 0.3~0.5 cm² 大小, 然后置于以下不定芽诱导培养基上(表 1)。

表 1 10 种诱导生菜不定芽培养基

培养基代号	成分
MS1	MS+0.5 mg/L IAA+0.3 mg/L 6-BA
MS2	MS+0.5 mg/L IAA+0.6 mg/L 6-BA
MS3	MS+0.5 mg/L IAA+0.9 mg/L 6-BA
MS4	MS+0.5 mg/L IAA+1.2 mg/L 6-BA
MS5	MS+0.5 mg/L IAA+1.5 mg/L 6-BA
MS6	MS+1.0 mg/L IAA+0.3 mg/L 6-BA
MS7	MS+1.0 mg/L IAA+0.6 mg/L 6-BA
MS8	MS+1.0 mg/L IAA+0.9 mg/L 6-BA
MS9	MS+1.0 mg/L IAA+1.2 mg/L 6-BA
MS10	MS+1.0 mg/L IAA+1.5 mg/L 6-BA

1.2.2 愈伤组织和不定芽的诱导 生菜子叶诱导两周后, 观察统计愈伤诱导情况(产生愈伤组织的外植体数/接种的外植体数×100%)。第四周后, 统计不定芽发生情况(产生不定芽的外植体数/接种的外植体数×100%), 待不定芽长至 3 cm 左右时, 将芽切下转移到 1/2MS 固体培养基上进行生根培养。

1.2.3 生菜子叶全息试验 将无菌苗生菜子叶从顶部至基部逐一切割分离, 分成带柄完整子叶、整块无柄子叶、无柄子叶 1/2 切块、无柄子叶 1/3 切块等。选取不同

方式的子叶切块,分别接种于 MS 基本培养基和 MS + 0.5 mg/L IAA+1.2 mg/L 6-BA 的培养基中进行不定芽诱导试验。以上培养基中蔗糖浓度均为 3%、琼脂浓度为 0.8%,而 pH 调至 5.8。培养温度为 25℃,光照强度为 2 000Lx,每天光照时间为 12 h。每处理接种 40 个外植体,设 3 次重复,培养四周后观察统计不定芽诱导情况。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对北京生菜子叶愈伤组织和不定芽诱导率的影响

试验采用 MS 作为基本培养基,选用 5 日龄生菜子叶作为外植体,研究了 IAA 和 6-BA 共同作用对生菜不定芽诱导发生的效果(图 1)。试验表明,北京生菜的子叶具有很高的脱分化和再分化能力,接种两周后,所有培养基上的大多数外植体在子叶切口端产生明显可见的愈伤组织,其中愈伤诱导率最高的培养基为 MS4 培养基。在生菜子叶不定芽诱导过程中,相同 IAA 浓度培养基的生菜子叶外植体不定芽诱导率随 6-BA 浓度的增加而增加,但诱导的不定芽却不利于抽茎生长。试验中还发现已经诱导的愈伤组织块有的表现为蓬松的白色,呈透明状,手感松软,经过进一步的继代表明,这样的愈伤组织无分化能力。从图 1 中还可以看出,MS4 培养基不定芽诱导率最高,其分化率达到 87.3%。

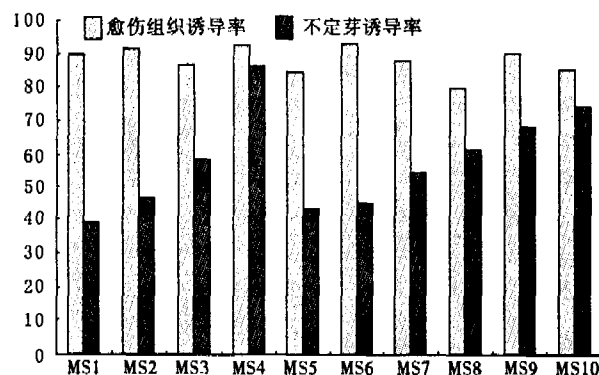


图1 不同培养基对北京生菜子叶不定芽诱导率的影响

2.2 外源激素处理对生菜子叶不定芽诱导率的影响

表2 北京生菜子叶不同部位切块的不定芽诱导率(%)

培养基	带柄完整子叶	子叶柄	无柄子叶	无柄子叶 1/2 切块 上	无柄子叶 1/2 切块 下	无柄子叶 1/3 切块 上	无柄子叶 1/3 切块 中	无柄子叶 1/3 切块 下
MS	0	0	0	0	0	0	0	0
MS4	74.3	79.8	67.3	27.5	66.6	23.9	55.7	60.8

由表 2 看出,子叶不同切块在不加任何激素的 MS 培养基上不能诱导不定芽的生长,当添加了 IAA 和 6-BA 时,生菜子叶愈伤组织和不定芽的诱导能力才得以发生。这说明对于某一全息相关质(全息相关的内容)来说,它的表达与否以及表达程度(全息相关度)是全息胚与环境相互作用的结果,也即:全息现象的表达是有条件的,环境条件合适则某一全息相关质就可以表达,且全息相关度较高;反之,条件不合适则某一全息相关

质就得不到表达或表达程度较低,这也说明全息对应关系是相对的。因此,不同的子叶切块作为一个全息胚在所选用的不加任何激素的 MS 培养基上不能诱导产生愈伤组织和不定芽。

2.3 子叶不同切块在不定芽诱导能力上的差异

由表 2 看出,无柄子叶 1/2 切块和 1/3 切块时,分别从“上块一下块”和“上块一中块一下块”的不定芽诱导率逐渐增大;而子叶柄不定芽诱导率最高,为 79.8%。这说明生菜子叶不定芽的发生主要集中在子叶柄处。这种现象与 Robb^[6]百合鳞片诱发小鳞茎,以及倪德祥^[3]用蒜瓣培养所发现的规律是一致的。钟华鑫等^[7]研究黄瓜子叶不同部位的有丝分裂状况与离体培养反应间的关系时发现,黄瓜子叶不同部位的细胞其有丝分裂指数从上到下呈梯度递增,这与培养子叶的芽器官发生多集中于子叶柄部的结果相符合。由生物全息律可知,生物体每一相对独立部分作为一个全息胚在化学组成的模式上与整体相同,是整体的成比例的缩小,因此,上述试验中的子叶柄、1/2 子叶切块及 1/3 子叶切块作为外植体均可看作是一个个全息胚。子叶切块不定芽诱导能力上的梯度变化,说明了不同切块的全息胚和整体的不完全的、相对的、特化了的、全息对应关系以及不完全相同的全息相关度和全息相关质。

2.4 子叶切块大小对全息现象的影响

本试验中由表 2 可以看到带柄完整子叶不定芽的诱导率较高,为 74.3%,这可能是整张叶片中内源激素的作用比较强,而且全息效应的表达比较完全所致。无柄子叶的不定芽诱导率为 67.3%,而其 1/2 切块的不定芽诱导率分别为 27.5%和 66.6%,1/3 切块的不定芽诱导率分别为 23.9%、55.7%和 60.8%。用全息生物学来解释,这是因为生物体是一个大系统,构成整体的全息胚分属于不同的层次,大全息胚中又包含着小全息胚。所谓全息胚的级就是这整体以下的全息胚的层次,由高到低,由大到小依次称为第 1 级、第 2 级、第 3 级,等等。全息胚的级越低,全息胚的独立性越大,全息胚与整体的全息相关度越小,全息胚与整体的联系就越疏远。因此本研究中,带柄完整子叶和完整无柄子叶比子叶 1/2 切块和 1/3 切块的芽诱导率要高。另外,从表 2 中的结果看出,完整叶片的不定芽诱导率反而比子叶柄的不定芽诱导率低,这可能是因为子叶柄有两个切口,也就是说子叶柄和培养基的接触面大于完整叶片的基部,其营养成分和激素的吸收都比完整叶片多的缘故。

3 讨论

全息胚学说^[8]的观点认为,生物体由处于不同发育阶段的、具有不同特化程度的全息胚组成,全息胚具有生长性、滞留性和重演性。植物的枝、叶等都是特化了的全息胚。从叶片重新诱导不定芽,也就是全息胚的重

演性,而重演需要全息胚分化促进剂。本文中的 IAA 和 6-BA 可能就是一种全息胚分化促进剂。按全息胚学说的观点,生菜子叶切块后,任何一块都是一个全息胚,它们的生理、生化特性应该与整体相对应。当然,随着植物种类的不同、植物发育年龄的差异,培养环境中物理化学条件的差别,以及外植体本身的生理、生化状况的变化,也可能会使外植体全息能力的表达有所不同。我们所用的生菜子叶整张叶片,1/2 切块以及 1/3 切块,都可看作是一个个全息胚,其对应部位应具有相似性。由此可见,生物全息律不仅能让我们对于生物体内在的联系有个系统的认识,而且还可用来分析植物组织培养中出现的某些现象,从而得到更完美的解释。

参考文献:

- [1] 付京花,甄二英,宋辛峰,等. 生物技术在降解秸秆木质素中的应用[J]. 饲料工业,2001,22(6),38-39.
- [2] 潘锋,史小丽,杨树林,等. 多菌种混合发酵稻草生产蛋白饲料的研究[J]. 粮食与饲料工业,2001,(8),25-26.
- [3] 倪德祥. 生物全息律在植物组织培养中的应用初探[M]. 济南:山东大学出版社,1985.
- [4] 芮和悦. 粗毛甘草离体器官形态发生中的生物全息现象[J]. 中草药,1989(8),43.
- [5] 汤朝起. 黄瓜子叶组培中器官发生的全息现象[J]. 复旦学报(自然科学版),1996,35(2),183-187.
- [6] Robb S M. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum*[J]. Thun J Exp Bot,1957,8,348-352.
- [7] 钟华鑫,杜勤,周利民,等. 黄瓜子叶有丝分裂与离体培养反应关系的研究[J]. 科学通报,1993,38(16):1506-1509.

Research on Tissue culture and the Holographic Phenomenon of *Lactuca sativa* var. *capitata* L

SONG Ying-jin¹, JI Jing¹, LIU Hai-xue², WANG Gang¹

(1 Agriculture and Biology Engineering College, Tianjin University, 30072; 2 Tianjin Agricultural University, 300384)

Abstract: The factors that influence callus induction, shoot differentiation and growth of *Lactuca sativa* var. *capitata* L. Cotyledon were studied and an efficient regeneration system was established. Shoot regeneration were better achieved from the medium of MS + 0.5mg · L⁻¹ IAA + 1.2mg · L⁻¹ 6-BA using different part of cotyledon explant. The shoots could grow up well from the medium of 1/2MS without addition of hormone. the holographic phenomenon can be seen using different part of cotyledon explant.

Key words: *Lactuca sativa* var. *capitata* L.; Cotyledon; Tissue culture; Phytohormone; The holographic phenomenon

大葱冬季



在北方冬季,人们习惯把大葱晒干,拧成小把后捆成大捆,搭在房屋的房檐下或贮藏在房内保管越冬,这种贮藏方法虽然能贮藏较长时间,但是葱薹和心叶却全部干枯,不能食用。而采用下面的保鲜方法,不仅可以防止葱薹和心叶干枯,而且还可以保持大葱新鲜。

1 择址 一般可选择在庭院或自家的小菜园,园内既没有阳光照射,又有利于降温的地方阴凉处。

2 挖坑 一般贮藏 50 kg 左右的大葱,可挖长 1 m,宽 60 cm 的方坑,坑底留 3~4 cm 的浮土,把挖出来的土围在坑上面的四周,打成硬沿,

在沿上用竹片或细木棍搭成 30~40 cm 高的支架棚梁,防止浮土或雨雪进入坑内。

3 贮藏 把大葱的干烂叶子摘去,放到阴凉处根朝下临时存放一段时间,待到外界气温下降到 0℃ 后,将大葱从一头摆放于坑里,葱根可扎进坑底浮土上吸收土壤水分,促进发芽生长,保持鲜嫩。

4 管理 大葱放入坑内后,下雨雪时要用塑料布盖好,雨雪过后敞开,进入冬季时,用草席盖在支架上,雪后要及时清除积雪,使其通风透气。

5 食用 食用时,在头一天晚上,将葱从坑内取出,放在外屋解冻,第二天早晨即可食用。用此法保鲜的大葱,鲜嫩如新葱。

(冯国明 吉林省大安市龙沼镇农业信息服务站农技组,131300)

