

野罂粟胚性愈伤组织诱导和植株再生

李成浩* 赵波 杨传平 牛遇达 韩君

东北林业大学林学院林木遗传育种实验室, 哈尔滨 150040

Embryogenic Callus Induction and Plant Regeneration of *Papaver nudicaule* L.

LI Cheng-Hao*, ZHAO Bo, YANG Chuan-Ping, NIU Yu-Da, HAN Jun

Forest Genetics and Tree Breeding Laboratory, College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

1 植物名称 野罂粟(*Papaver nudicaule* L.)。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 (1)建立无菌培养体系培养基: 1/3MS。(2)胚性愈伤组织诱导培养基: 1/3MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA 0.1; 1/3MS+6-BA 1.0+NAA 1.0。以上培养基均加入10 g·L⁻¹蔗糖和5.5 g·L⁻¹琼脂, pH 5.8。(3)体细胞胚发育和植株再生培养基: 1/3MS+10 g·L⁻¹蔗糖+2.5 g·L⁻¹胶立得(Gelrite), pH 5.8。培养温度为20℃, 光强40 μmol·m⁻²·s⁻¹左右, 光照时间16 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌培养体系的建立 将野罂粟种子用自来水冲12 h后, 在超净工作台上用70%酒精浸泡30 s, 蒸馏水冲洗2遍, 转入1% NaClO溶液消毒10 min, 蒸馏水冲洗5遍, 然后接种到含1%蔗糖的1/3MS固体培养基上诱导发芽。培养15 d种子开始萌发, 培养1个月后发芽率达到36%。

4.2 胚性愈伤组织的诱导 将发芽后10 d的无菌苗的幼茎切成长约5 mm的小段, 并在每段表面划几刀使其产生伤口, 在培养基(2)上诱导胚性愈伤组织。诱导出的愈伤组织中呈半透明乳白色的疏松愈伤组织, 生长速度较快, 经过进一步诱导可以产生体细胞胚, 因此是胚性愈伤组织。添加6-BA 1.0+NAA 1.0的培养基中胚性愈伤组织诱导率高于添加6-BA 1.0+NAA 0.1的培养基。

4.3 体细胞胚的发育 将诱导出来的胚性细胞团转到培养基(3)中培养, 诱导体细胞胚。培养2周起, 全部胚性愈伤组织转变成一个独立的体细胞胚, 从1个外植体诱导的胚性愈伤组织能形成100个以上体细胞胚。体细胞胚发育速度很快, 可在1周内完成从球形胚到鱼雷形胚的发育过程, 发育过程中没有连体胚、多子叶胚等畸形胚形成。

4.4 植株再生 将胚性细胞里诱导的体细胞胚放入

培养基(3), 体细胞胚发育成完整植株。再生植株生长旺盛, 叶片生长到长约5 cm、宽约1 cm时, 单株根长3~5 cm, 数量可达60~80条, 生根率100%。此时可进行土壤移栽。

4.5 土壤移栽 再生植株用自来水洗去培养基, 移栽到土壤中, 置于温室(20℃左右)。移栽后3周内用塑料薄膜覆盖, 每天浇1次水。再生植株移入花盆中2 d即长出新叶片, 100%成活(图1)。

5 意义与进展 野罂粟为罂粟科多年生草本植物, 主要分布在我国东北三省、内蒙古、宁夏等地区。全草入药, 主要有效成分是吗啡烷类生物碱, 具有镇痛、镇咳、平喘等功效, 且无药物依赖性, 目前已有人开展野罂粟生物碱的新药开发研究。由于野罂粟野生资源非常有限, 仅靠野生采取远远满足不了市场需求, 人工栽培是保护生态环境和原料供应的有效方法。本文建立的野罂粟高效的体细胞胚发生和植株再生体系, 为野罂粟种质改良和快速繁殖、吗啡烷类生物碱代谢途径的调控提供了前提。迄今还未见野罂粟组织培养体系建立的报道。



图1 野罂粟再生植株的土壤移栽

收稿 2005-05-12 修定 2005-11-21

资助 教育部留学回国人员科研启动基金(教外司留[2005]383)。

*E-mail: chli0@163.com, Tel: 0451-82190607