

## 菊苣组织培养及无性系建立的研究

高琳娜, 陈鹏彦, 姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学学院, 辽宁 大连 116029)

**摘要:**以具有有利变异性状的菊苣叶柄为材料,进行了组织培养及无性系建立的研究。结果证明:MS+BA0.4mg/L+2,4-D 丁酯 1.6mg/L 是诱导叶柄形成具有分化能力愈伤组织的理想培养基;1/2 MS+ AgNO<sub>3</sub>20.5mg/L+BA0.3mg/L+NAA0.1mg/L 是愈伤组织和不定芽分化的理想培养基;1/3MS+IAA0.2~0.4mg/L 是变异菊苣不定芽生根的理想培养基;炉灰渣是菊苣试管苗移栽的理想基质。

**关键词:**菊苣;无性系;快速繁殖

**中图分类号:**S688.4;Q943.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-0907(2008)03-0054-03

### In Vitro Culture of Chicory and its Clones Establishment

GAO Lin-na

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

**Abstract:**A study on the technique of tissue culture and establishment of asexual system of *Cichorium intybus* was conducted. The results indicated that the ideal medium for induction and differentiation of buds from stem segments are MS+BA0.4mg/L+2,4-D1.6mg/L and 1/2 MS+ AgNO<sub>3</sub>20.5mg/L+BA0.3mg/L+NAA0.1mg/L, respectively. The medium of 1/3MS+IAA0.2~0.4 mg/L is suitable for root growth.

**Key words:***Cichorium intybus*;Clone;Rapid propagation

菊苣(*Cichorium intybus*)又称法国苦苣、吉康利、苦白菜等,属于菊科菊苣属多年生草本植物<sup>[1,2]</sup>,菊苣的嫩叶可以炒食、做汤或做色拉;软化栽培后的菊苣芽球可用以生吃,或做成鲜美开胃的凉拌菜;欧美等国还有人把菊苣的肉质根加工成咖啡的代用品或添加剂。由于菊苣中含马栗树皮素、马栗树皮甙、野葛苣甙、山葛苣素和山葛苣苦素等苦味物质,作为蔬菜食用具有促进胆汁分泌、改善睡眠、调节新陈代谢等功效,使其成为很受人们欢迎的新兴蔬菜<sup>[3]</sup>。由于受到环境的影响,过去在北方难以进行栽培,但因近年来市场对菊苣的需求量很大,辽宁南部地区的农民开始进行栽培。在对菊苣的栽培品种——中甸一号进行栽种中,偶尔可以发现生长非常旺盛、可食嫩叶产量高、适合在辽宁南部地区栽培的优良变异植株,用这种变异植株的种子进行繁殖,后代由于性状分离等原因,有利性状无法保持。为此,2004年当人们在种植中再次发现这种优良变异植株时,我们采用组织培养的方法对菊苣的优良变异植株进行了组织培养及无性系建立的研究,现报道如下:

#### 1 材料和方法

##### 1.1 材料及灭菌

将田间生长旺盛、具有有利变异性状的菊苣采回来后,切去叶片,将叶柄放到磨口瓶中,用自来水冲洗4次后,用0.05%安利洗涤液洗涤30min,洗至无泡沫时置于超净工作台上,用75%乙醇灭菌20s后迅速用无菌水洗涤3次,接着用0.1%HgCl<sub>2</sub>溶液振荡灭菌1min,再用0.05%HgCl<sub>2</sub>溶液振荡灭菌12min,接着

用无菌水振荡洗涤6次,即获得无菌材料。

##### 1.2 培养条件

培养基以MS、1/2MS和1/3MS为基本培养基,附加不同浓度的细胞分裂素BA和生长素IAA、NAA、2,4-D丁酯。以MS为基本培养基时,加蔗糖30g/L;以1/2MS为基本培养基时,加蔗糖15g/L;以1/3MS为基本培养基时,加蔗糖10g/L。培养基胍力强度为180g/cm<sup>24</sup>,pH值5.8~6.0,培养温度18~26℃,光照10~12h/d,光照强度2000~3000lx。

##### 1.3 试验方法

1.3.1 愈伤组织诱导培养 将无菌叶柄切成0.2cm左右的块,接种到以MS为基本培养基,附加不同浓度的BA、NAA、IAA和2,4-D丁酯的培养基上,进行愈伤组织的诱导,60d后观察统计。

1.3.2 愈伤组织及不定芽的分化培养 将在诱导菊苣叶柄形成愈伤组织的理想培养基上诱导出的叶柄颗粒状愈伤组织接种到附加不同浓度BA、NAA的1/2 MS+ AgNO<sub>3</sub>20.5mg/L和1/3MS+ AgNO<sub>3</sub>20.5mg/L培养基上,进行愈伤组织的分化培养。

1.3.3 不定芽生根培养 将上述分化培养的不定芽从基部剪下,接种到以1/2MS和1/3MS为基本培养基,附加不同浓度IAA、NAA和IBA的生根培养基上进行生根培养。培养到10d时有的培养基上可见形成根原基,培养30d时观察统计。

1.3.4 试管苗移栽 将生根苗培养瓶瓶塞打开,置于光照约5000lx、温度20℃左右的条件下炼苗4d后,用镊子取出,洗去基部培养基,移栽到上面铺着5~6cm厚不同基质的温室苗床

上,20d后观察统计。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织的诱导

在不用激素或 BA 与 IAA 配合使用条件下,不能诱导叶柄块形成愈伤组织;而浓度分别为 0.4mg/L、0.8mg/L、1.2mg/L、1.6mg/L、2.0mg/L 的 BA 与浓度为 0.5mg/L、1.0mg/L、1.5mg/L、2.0mg/L 和 2.5mg/L 的 NAA、2,4-D 丁酯配合使用时,几乎所有的叶柄块都能够诱导形成愈伤组织,但诱导的愈伤组织生长速度及外部形态却差异较大。在 BA 浓度为 0.4mg/L、2,4-D 丁酯浓度为 1.6mg/L 的培养基上,不仅愈伤组织的诱导率为 98%,愈伤组织的生长速度快,而且所诱导的愈伤组织外观呈淡绿色的颗粒状,愈伤组织颗粒间连接松散、质地疏松。一般认为,这种愈伤组织为具有分化能力的愈伤组织<sup>[5,6]</sup>。除 MS+BA0.4mg/L+2,4-D 丁酯 1.6mg/L 这一培养基外,在其它培养基上诱导的愈伤组织从形态、结构、颜色和质地等性状上看,均为没有分化能力的愈伤组织或分化能力差的愈伤组织。把在 MS+BA0.4mg/L+2,4-D

丁酯 1.6mg/L 培养基上诱导的浅绿色颗粒状愈伤组织,在同一培养基上连续继代培养 9 代,形成的愈伤组织仍为具有分化能力的愈伤组织。这说明 MS+BA0.4mg/L+2,4-D 丁酯 1.6mg/L 是诱导菊苣叶柄形成具有分化能力愈伤组织的理想培养基。

### 2.2 愈伤组织与不定芽的分化培养

培养结果表明:培养 10d 左右,有的愈伤组织颗粒形成了绿色的芽点;培养到 40d 时进行统计,结果如表 1 所示。由表 1 可见,只有部分培养基能诱导颗粒状愈伤组织分化。其中在 1/2 MS+AgNO<sub>3</sub>20.5mg/L+BA0.3mg/L+NAA0.1mg/L 培养基上不仅分化率达 98.0%,而且分化的不定芽为高 1cm 左右、长势较旺盛的丛生状。把分化形成的丛生芽从基部切下,接种到相同培养基上进行分化不定芽分化继代培养,45d 后 1 个不定芽又会分化形成一丛生生长较为旺盛的丛生不定芽,40d 时平均分化增殖率为 7.2 倍。经过连续 11 次的继代培养,其分化率和长势基本保持不变。由此说明,该研究中菊苣叶柄愈伤组织和不定芽分化的理想培养基为 1/2MS+AgNO<sub>3</sub>20.5mg/L+BA0.3mg/L+NAA0.1mg/L。

表 1 不同植物生长物质浓度对比对愈伤组织分化的影响<sup>①</sup>

激素(mg/L)		1/2 MS			1/3MS		
BA	NAA	分化数(颗)	分化率(%)	长势	分化数(颗)	分化率(%)	长势
0	0	0	0		0	0	
0.3	0	111	55.5		124	62.0	++
0.3	0.1	196	98.0	+++	136	68.0	++
0.3	0.2	68	34.0	++	69	34.5	+
0.3	0.5	66	33.0	+	8	4.0	
0.3	1.0	20	10.0		0	0	
0.6	0	0	0		0	0	
0.6	0.1	118	59.0	++	136	68.0	++
0.6	0.2	27	13.5	+	42	21.0	+
0.6	0.5	21	10.5	+	0	0	
0.6	1.0	0	0		0	0	
0.9	0	0	0		0	0	
0.9	0.1	16	8.0	+	0	0	
0.9	0.2	0	0		0	0	
0.9	0.5	0	0		0	0	
0.9	1.0	0	0		0	0	

注:①接种颗粒数均为 200;+++为长势好;++为长势较好;+为长势一般

### 2.3 生根培养

由表 2 可见,在附加 NAA 和 IBA 的生根培养基中,难以诱导生根;在 IAA 浓度达到和超过 0.8mg/L 时,也难以诱导生根;而在 IAA 浓度为 0.2~0.4mg/L 的生根培养基上,不仅生根率达 90%

以上,而且单株生根数也达到 5.2 条以上;并且 1/3MS 培养基上的生根效果好于 1/2MS。观察还表明,在上述 1/3 MS 生根培养基上,不仅生根率高、根数多,而且试管苗长势旺盛,培养至 30d 时,可以长成株高为 3cm 左右、具有 6 条以上根的试管苗。表明,1/

表 2 不同培养基对生根的影响<sup>①</sup>

IAA(mg/L)	NAA(mg/L)	IBA (mg/L)	生根数(根)	生根率(%)	根数(根)	长势
0	0	0	0/0	0/0	0/0	
0.2	0	0	46/48	92/96	5.3/6.4	+++ /+++
0.4	0	0	45/47	90/94	5.2/6.8	+++ /+++
0.8	0	0	29/26	54/52	3.2/3.2	++ /+++
1.2	0	0	0/6	0/12	0/2.1	/++
0	0.2	0	16/25	32/50	4.5/3.7	++ /++
0	0.4	0	13/6	26/11	2.1/1.5	+ /+
0	0.8	0	2/2	10/10	1.5/2	+ /+
0	1.2	0	0/0	0/0	0/0	
0.2	0	0	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.4	0/0	0/0	0/0	
0	0	0.8	0/0	0/0	0/0	
0	0	1.2	0/0	0/0	0/0	

注:①接种数量均为 50;表中"/"前为 1/2MS,后为 1/3MS;+++好;++较好;+一般

3MS+IAA0.2~0.4mg/L 是变异菊苣不定芽生根的理想培养基。

#### 2.4 移栽

由表 3 可见,以炉灰渣和河沙为移栽基质成活率较高,且长势较好。观察还表明,以炉灰渣为移栽基质时,不仅成活率最高,而且成活苗长势也最好。这说明炉灰渣是菊苣试管苗移栽的理想基质;把在温室中移栽成活试管苗移植到田间,通过 3 次小批量试验证明,具有优良变异性状的菊苣试管苗长势旺盛而整齐,优良的变异性状保持不变,单位面积可食嫩叶产量比实生苗提高 13%~18%。

表 3 不同移栽基质对成活的影响<sup>①</sup>

基质	成活数(个)	成活率(%)	长势
园土	0	0	
河沙	42	84	++
炉灰渣	49	98	++
珍珠岩	36	72	+

注:①移栽数量为 50 株; ++长势好; +长势一般

#### 3 讨论

迄今为止,虽然已有菊科莴苣属菊苣组织培养的报道<sup>[7,8]</sup>,但未见栽培菊苣变异植株组织培养及无性系建立报道。本研究利用变异菊苣的叶柄为外植体进行了愈伤组织诱导与分化、不定芽分化与生根、试管苗移栽与移植的研究。叶柄愈伤组织能以较高分化率分化出不定芽,证明菊苣的叶柄在离体条件下仍具有较强的生长分化力,这不仅证明栽培菊苣非分生组织细胞也具有全能性,而且还说明,通过组织培养的方法,能使大批栽培中偶尔发生的有利变异植株得到保存,为优良变异品系保存和利用提供了可能。

对芽进行分化培养,40d 时的分化率为 7.2,按照这个增殖速度,年增殖率为 7.29。这说明,通过这种方法进行快速繁殖,一年内可增殖出大量的具有有利变异性状菊苣试管苗。这为优良

(上接 15 页)

法。将呼伦湖“湖船牌”香脆虾、达里湖“三去”鲫鱼、“三去”滑子鱼等绿色食品推向全国,创内蒙古优质品牌。

集资、引资建设专业鱼饲料生产厂,为广大渔户服务。鱼饲料立足于内蒙古自有原料,降低成本,开发多种适合内蒙古地区不同鱼类食用的饲料,走饲料加工厂带动养鱼发展的产业化经营道路。

同有关部门协作,研究盐湖生物产品在医疗保健上的利用价值,研发新产品,建设盐湖制品龙头企业,开拓国内外市场,充分挖掘内蒙古的盐湖渔业资源,发展特色渔业,增加渔业产出。

#### 5.2 水产品流通市场建设方向

各级渔业部门把拓宽水产品流通渠道和规范水产品市场作为主要内容,推进水产品集散地和产地批发市场建设,发展规范的渔户经纪人队伍。

各地渔业协会组织渔户在市区、城镇建设水产品连锁专营店,并制定协会公约,引导渔户规范参与市场竞争,在创建、保护水产品品牌,维护水产品市场,保护渔户经济利益方面发挥重要作用。

通过“内蒙古渔业信息网”及其他媒体的宣传,将以无公害、绿色、有机为特色的内蒙古水产品推向全国。

政府通过政策引导,资金支持,鼓励个人和企业在呼、包、鄂

植株的工厂化育苗,满足生产上对优良菊苣种苗的需求提供了可能。

在生根培养时,使用 IAA 效果较好,这是因为 IAA 为植物天然生长素在光照条件下分解。把待生根的不定苗接种到以 IAA 为生长素的生根培养基中,7d 左右诱导形成根原基,此时 IAA 因光照大部分分解,使其含量降低到不至于抑制根的伸长生长的浓度。

在移栽过程中,炉灰渣为理想的移栽基质,这是因为炉灰渣为黑色物质,具有很好吸光作用,有利于增温,为幼苗生长提供较高温度,并且炉灰渣是经高温炼烧后所得,所带杂菌少,加之其来源较广,四季皆可获得,因此,炉灰渣是变异菊苣试管苗移栽的理想基质。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴(第四册)[M].北京:科学出版社,1972.669.
- [2] 李书心.辽宁植物志(下册)[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,1991.604.
- [3] 张宝海,孙京涛,韩向阳.30种新兴叶菜栽培[M].北京:中国农业出版社,2003.88-96.
- [4] 姜长阳.培养基琼脂用量的商榷[J].植物生理学通讯,1990,26(2):53-54.
- [5] 安利佳,姜长阳.植物组织培养导论[M].大连:辽宁师范大学出版社,1996.68-72.
- [6] 胡尚连,王丹.植物生物技术[M].西安:西安交通大学出版社,2004.35-40.
- [7] 程林梅,高洪文,赵茂林.菊苣组织培养与植株再生的研究[J].草业学报,2002,11(4):105-107.
- [8] 宋书峰,曹凤,杨培志,等.普那菊苣高效再生体系建立和遗传转化的研究[J].分子植物育种,2006,4(4):565-570.

(责任编辑 吴云霞)

三市兴建大型水产品批发市场,逐步形成流通领域的龙头企业,走批发市场带动型的内蒙古渔业产业化发展道路。

#### 参考文献:

- [1] 中国农业部渔业局.中国渔业年鉴(2007卷 内蒙古部分)[M].北京:中国农业出版社,2007.
- [2] 曾水湖,施通池.完善休渔制度 促进资源保护[J].中国渔业经济,2004,(1):38-39.
- [3] 叶新太,等.渔业在沿黄农业经济开发的地位及发展对策[J].中国渔业经济,2003,(增刊):11-12.
- [4] 蔡学廉.我国休闲渔业的现状与前景[J].渔业现代化,2005,(1):5-7.
- [5] 周咏.大型国有水产企业实施产业化经营的探讨[J].中国渔业经济,2003,(3):33-34.
- [6] 孟和平,张利,王保文,等.达里湖东北雅罗鱼的种群特征[J].华北农学报,2007,22(专辑):124-127.
- [7] 张利,孟和平,李志明,等.达里湖鲫鱼的种群特征[J].华北农学报,2007,22(专辑):128-130.
- [8] 王俊,朱存良,哈素海水库渔业综合开发可行性研究[J].华北农学报,2007,22(专辑):144-146.
- [9] 武二栓,孟和平,袁满川,等.乌梁素海网围养殖草鱼及氮、磷转化试验[J].内蒙古农业科技,2007,(4):78-79. (责任编辑 侯旭光)