

菊苣组织培养及植株再生

杨春燕¹, 廖明安¹, 韩永芬², 唐成斌², 王小利²

(1. 四川农业大学 林学院园艺学院, 四川 雅安 625014; 2. 贵州省草业研究所, 贵州 独山 558200)

摘要:以普那菊苣叶柄为外植体进行组织培养试验, 结果表明: 菊苣叶柄在 5 种培养基上均可诱导出愈伤组织, 总出愈率在 90% 以上, 但分化效果因培养基的不同而有较大的差异。诱导愈伤组织及分化的最佳培养基为: MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; 生根培养基为: MS+IBA 0.2 mg/L。

关键词: 菊苣; 组织培养

中图分类号: S 636.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)06-0173-03

菊苣(*Cichorium intybus* L.) 是菊科菊苣属多年生草本植物, 菊苣中的提取物如醇提取物、正己烷提取物等是重要的免疫促进及免疫调节剂^[1-2]; 菊苣嫩叶及利用菊苣肉质根软化栽培获得的芽球可食用, 具有清肝利胆、健胃消食、利尿消肿的作用^[3], 是新兴的特种蔬菜^[4-5]; 菊苣的根、茎、叶可做饲草; 此外, 菊苣花蕾呈紫蓝色, 且花期长, 可用于绿化美化环境。目前, 对菊苣的研究主要集中在栽培及生理生化方面, 对其组织培养方面的报道较少^[6]。试验以菊苣叶柄为外植体, 进行不同培养基的筛选, 建立其离体培养再生体系, 为今后进行生物工程遗传改良菊苣品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为贵州省草业研究所提供的菊苣品种——普那(*Cichorium intybus* L. cv. Puna) 菊苣种子。

1.2 无菌材料的建立

取普那菊苣种子在 0.1% 的 HgCl₂ 溶液中消毒 15 min, 然后用无菌水冲洗 6~8 次, 在无菌条件下接种在 MS 培养基上, 以获得无菌材料。

1.3 愈伤组织的诱导分化及生根

取 15~18 d 生长健壮的普那菊苣无菌苗叶片, 切取 0.3~0.5 cm 真叶叶柄接种于诱导分化培养基中培养, 每个三角瓶接种 15 个材料, 每处理重复 3 次。诱导分化培养基为: (1) MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;

(2) MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; (3) MS+TDZ 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; (4) MS+TDZ 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L; (5) MS+TDZ 0.01 mg/L+NAA 0.2 mg/L; pH 5.6, 蔗糖 3%, 琼脂 1%, 培养温度控制在 25℃ 左右, 每天的光照时间为 12 h, 光照强度为 1500 lx。培养 10 d 后统计愈伤组织诱导率, 培养 25 d 后统计愈伤组织分化率。30 d 后切取高度在 3~4 cm 的芽转接在生根培养基上, 观察菊苣的生根情况。生根培养基: MS+IBA 0.2 mg/L。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对菊苣愈伤组织诱导效果的影响

由表 1 可知, 尽管在培养基 (1) MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 和 (2) MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 上的出愈率达 90% 以上, 在培养基 (3) MS+TDZ 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L、(4) MS+TDZ 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L 及 (5) MS+TDZ 0.01 mg/L+NAA 0.2 mg/L 上的出愈率达到 100%, 但各处理诱导愈伤组织的状况却有一些差异。各处理在接种的第 7 d 开始在切口两端出现些微愈伤组织, 愈伤组织呈透明状; 之后愈伤组织逐渐由外植体两端向中间部分生长, 愈伤组织质地疏松。在培养基 (1) 上的诱导效果最差, 生长势也较其他组合差, 愈伤组织呈浅黄绿色泛白; 在培养基 (3)~(5) 上的诱导效果最好, 生长势最强, 愈伤组织呈黄绿色至绿色, 但是随着培养时间的增加, 其愈伤组织的老化速度明显快于培养基 (1) 和 (2); 在培养基 (2) 上诱导效果、生长势均介于其他处理之间, 愈伤组织呈黄绿色。

2.2 不同培养基对菊苣愈伤组织分化能力的影响

在这 5 种培养基上都可以高频诱导出愈伤组织, 但愈伤组织的分化能力却有显著的差异 (如图 1、图 2 所示)。在培养基 (1) 中的愈伤组织分化能力最差, 分化率低, 出芽时间晚, 约在 20 d 左右才有芽点发生, 且极易生

第一作者简介: 杨春燕 (1982-), 女, 在读硕士, 研究方向为设施园艺。E-mail: ycy26955190@yahoo.com.cn。

通讯作者: 廖明安。

基金项目: 贵州省科技成果重点推广计划资助项目 (黔科合成字 (2006)5027 号)。

收稿日期: 2008-02-05

根,生根率在 60%以上。在培养基(3)、(4)、(5)上尽管分化能力强,出芽时间早,在 12~16 d 以有芽点发生(浓度低至 0.01 mg/L、0.1 mg/L TDZ 的 TDZ 分化效果好于 1.0 mg/L TDZ),但芽苗形态异常,长出的芽苗呈半透明水浸状、植株肿胀、畸形且体内含水量高(如图 3 所示),接触培养基的底部愈伤组织呈褐色腐烂状,生根培养困难。在培养基(2)上的愈伤组织分化能力较强,在 15 d 左右观察到芽点发生,芽生长较快,芽苗形态正常。

2.3 生根培养

当芽的高度在 3~4 cm 左右时,切取生长健壮的植株转接到生根培养基上,所有的植株都能正常生长,培

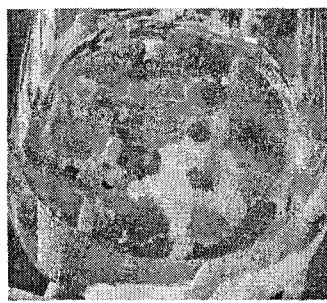
养 7~8 d 时可观察到根的发生,根生长较快,主根清晰,须根较多(如图 4 所示),第 10 天时统计生根率为 100%。

表 1 不同培养基对菊苣诱导分化的影响

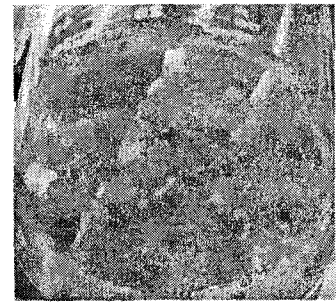
培养基类型	接种外		分化率 /%	出现芽点的 时间/d
	植株数	诱导率 /%		
(1)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	45	93.3	17.8	20
(2)MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	45	91.1	77.80	15
(3)MS+TDZ 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	45	100.0	66.7	16
(4)MS+TDZ 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L	45	100.0	84.4	13
(5)MS+TDZ 0.01 mg/L+NAA 0.2 mg/L	45	100.0	86.7	12



MS+TDZ 0.01 mg/L+NAA 0.2 mg/L



MS+TDZ 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L



MS+TDZ 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L

图 1 附加 TDZ 的培养基愈伤分化情况(15 d)



MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L(15 d)



MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L(20 d)

图 2 附加 6-BA 或 KT 的培养基愈伤分化情况

3 结论与讨论

6-BA+NAA、KT+NAA、TDZ+NAA 组合均能很容易的启动菊苣脱分化,而菊苣再分化因植物生长调节剂的不同而有显著差异,TDZ 启动再分化效果最好,KT 其次,6-BA 最差;但是 KT 诱导的芽苗的生长状况最好,其次是 6-BA,TDZ 诱导的芽苗生长状况最差。在添加 6-BA 的培养基上愈伤组织易再分化出根,影响了芽的分化。综合来看,MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2

mg/L 培养基是最佳的诱导分化培养基。

导致玻璃化现象产生的原因众多,如^[7-8]:激素、琼脂及蔗糖浓度,培养材料的差异,无机盐离子浓度,培养的环境条件等。试验中,在其他培养条件一致的情况下,植物生长调节剂 TDZ 的添加可能是导致菊苣愈伤分化出现玻璃化苗的主要原因。TDZ(N-苯基-N'-1,2,3-噻二唑-5-脲)是人工合成的苯基脲衍生物^[9],具有的高细胞分裂素活性^[10],在试验中,当 TDZ 浓度降低到 6-BA、KT 的 1/100 时,对菊苣诱导分化的影响仍然比

6-BA、KT 强,这与前人在其他植物上的研究结果一致^[10]。在培养过程中,培养基内添加 TDZ 导致培养容器内乙烯含量的增加^[11-13],过量的乙烯致使叶绿素分解及细胞的畸形发展,破坏了细胞的结构^[14]。高浓度的细

胞分裂素加上乙烯浓度高等因素,这可能是在添加了 TDZ 的培养基上诱导分化出的芽苗形态异常,产生玻璃化现象的原因^[8]。



图3 玻璃化苗(MS+TDZ 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L)

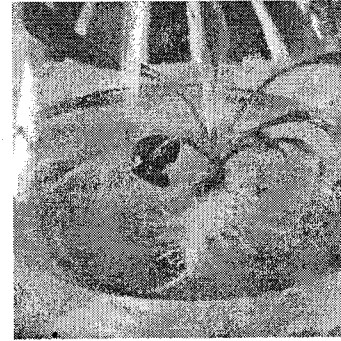


图4 生根培养(MS+IBA 0.2 mg/L)

参考文献

- [1] Kim Meehye, Shin Hyun Kyung. The water-soluble extract of chicory influences serum and liver lipid concentrations, Cecal short-chain fatty acid concentrations and fecal lipid excretion in rats[J]. The Journal of Nutrition, 1998,128:10.
- [2] 王小芬,尚靖,杨洁,等. 菊苣药理药效研究进展[J]. 新疆中医药, 2006,24(3):80-82.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(维吾尔药卷)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:327.
- [4] 张德纯,王德槟,徐秀容,等. 菊苣箱(槽)式立体无土软化栽培技术[J]. 中国蔬菜,2000(4):36-39.
- [5] 盛国华. 菊苣纤维可促进人体钙吸收[J]. 食品工业科技,2000,21(4):4.
- [6] 宋书锋,曹凤,杨培志,等. 普那菊苣高效再生体系建立和遗传转化研究[J]. 分子植物育种,2006,4(4):565-570.
- [7] 潘瑞焱. 植物组织培养[M]. 广东高等教育出版社,2000:56-57.
- [8] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2002:25.
- [9] 徐晓峰,黄学林. TDZ:一种有效的植物生长调节剂[J]. 植物学通报, 2003,20(2):227-237.
- [10] 周俊彦,郭扶兴. 苯基脲衍生物的细胞分裂素活性[J]. 植物生理学通讯,1990(4):7-13.
- [11] 黄学林,李筱菊,傅家瑞,等. Thidiazuron 对苜蓿愈伤组织的乙烯生成及其体细胞胚胎发生的影响[J]. 植物生理学报,1994,20(4):367-372.
- [12] Hutchinson M J, Murr D P, Krisharaj S. Dose ethylene play a role in TDZ regulated somatic embryogenesis of geranium(*Pelargonium × hortorum*) hypocotyls cultures[M]. In Vitro Cell Deve Biol-Plant,1997,33:136-141.
- [13] 徐华松,陆祖军,王永繁,等. TDZ 对莴苣(*Lactuca sativa* L.)器官发生及乙烯形成的影响[J]. 广西植物,1999,19(1):92-94.
- [14] 邵长文,梅茜,孙涌栋,等. 植物组织培养中玻璃化控制研究进展[J]. 长江蔬菜,2004(5):34-36.

Tissue Culture and Plant Regeneration of Chicory

YANG Chun-yan¹, LIAO Ming-an¹, HAN Yong-fen², TANG Cheng-bin², WANG Xiao-li²

(1. College of Forestry and Horticulture, Sichuan Agriculture University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2. Guizhou Institute of Prataculture, Dushan, Guizhou 558200, China)

Abstract: The tissue culture and plant regeneration of Puna chicory was carried out using leafstalk as explants. The results showed: leafstalk could induce callus on five inducing differentiation culture medium, the rate of callus induction was over 90%, but the effect of bud differentiation was different in culture medium. The optimum medium for callus induction and bud differentiation was MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; The optimum medium for root formation was MS+IBA 0.2mg/L.

Key words: Chicory; Tissue culture