

朝鲜蓟外植体诱导研究

白明生¹, 何丽颖², 陈彦云¹, 李国旗³

(1. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏银川 750021; 2. 西北农林科技大学生命科学院, 陕西杨凌 712100; 3. 宁夏大学西部生态与生物资源开发联合研究中心, 宁夏银川 750021)

摘要 [目的] 筛选诱导朝鲜蓟愈伤组织的最佳培养基和培养条件。[方法] 用朝鲜蓟的种子、根、叶柄、第三展开叶、第二展开叶、第一展开叶、心叶为外植体, 以 MS 培养基为基本培养基, 研究不同激素种类、不同浓度组合的 4 种培养基对朝鲜蓟愈伤组织的诱导及分化的影响以及不同外植体形成愈伤组织的能力。[结果] 按朝鲜蓟愈伤组织诱导率大小, 4 种培养基组合的排序为: MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L > MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L > MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L > MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 2.5 mg/L; 外植体的排序为: 第一展开叶 > 心叶 > 第二展开叶 > 叶柄 > 第三展开叶 > 根 > 种子。综合分析表明, 诱导朝鲜蓟愈伤组织的最佳条件为: 以第一展开叶和心叶为外植体, 在 MS + 6-BA 2.0 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L 培养基上, 诱导率可达 90.5%。[结论] 该研究为朝鲜蓟的组织培养和快速繁殖提供技术依据。

关键词 朝鲜蓟; 组织培养; 愈伤组织; 诱导

中图分类号 S336 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)26-11230-02

Study on the Induction of Explants of Artichoke

BAI Ming-sheng et al (College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract [Objective] The study aimed to screen the optimum medium and the cultural condition for inducing the artichoke callus. [Method] With the seeds, root, leafstalk, third unrolled leaf, second unrolled leaf, first unrolled leaf and heart leaf as the explants and MS medium as the basic medium, the 4 combinations of media with different phytohormone kinds and concn. on the induction and differentiation of artichoke callus and the ability of forming callus by different explants. [Result] The induction rate of artichoke callus on 4 combinations of media from big to small was follows: MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L > MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L > MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L > MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 2.5 mg/L and that of different explants in order was follows: first unrolled leaf > heart leaf > second unrolled leaf > leafstalk > third unrolled leaf > root > seed. The comprehensive analysis showed that the optimum condition for inducing the artichoke callus was follows: when first unrolled leaf and heart leaf as the explant were cultured on the medium of MS + 6-BA 2.0 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L, the induction of artichoke callus could reach 90.5%. [Conclusion] The study provided the technique basis for tissue culture and rape propagation of artichoke.

Key words Artichoke; Tissue culture; Callus; Induction

朝鲜蓟 (*Cynarascolymus* L.) 为菊科菜蓟属多年生草本植物, 主要以花蕾供食^[1]。原产欧洲地中海沿岸, 系由菜蓟 (*C. cardunculus* L.) 演变而成。早在 2 000 多年罗马人已经开始食用, 目前欧美国家种植较多, 以法国种植最多, 19 世纪由法国传入中国。

朝鲜蓟营养丰富, 花蕾中含有丰富的蛋白质、脂肪、糖类各种维生素及微量元素、菜蓟素、天门冬酰胺、黄酮类化合物等^[2]。研究表明, 朝鲜蓟可用来防治心血管疾病, 具有降低胆固醇以及治疗消化不良, 改善胃肠功能, 防止动脉硬化, 保护心血管等药用功效。其提取物有降血脂和抗氧化效果^[3]。

朝鲜蓟的常规繁殖方法是种子播种繁殖或无性繁殖, 但由于朝鲜蓟结籽率不高, 且用种子繁殖发芽率较低, 后代变异性较大, 难以保持优良性状; 而无性 (分株) 繁殖则因繁殖系数较低, 难以满足大面积种植的要求^[4-5]。因此须用组织培养来快速繁育朝鲜蓟。笔者通过选取植株的不同部位作为外植体, 研究不同激素种类及其浓度组合对愈伤组织的诱导及分化的影响, 从而筛选出朝鲜蓟愈伤组织的最佳外植体以及培养基浓度, 以期朝鲜蓟的组织培养和快速繁殖提供技术依据。

1 材料与方

1.1 材料 朝鲜蓟 (*Cynarascolymus* L.) 种子购于陕西天士力植物药业有限公司药源基地。

1.2 方法

1.2.1 朝鲜蓟苗的培养。 朝鲜蓟苗的培养方法采用无菌苗的培养法, 自然条件培养法。

1.2.2 无菌苗的培养。 选取粒大、饱满的朝鲜蓟种子, 用纱布将其包好, 在无菌条件下, 在体积分数为 75% 的酒精中浸泡 1 min, 再用质量分数为 0.1% 的 HgCl₂ 表面灭菌 10 min 后, 无菌水冲洗 4~6 次, 再在无菌水中浸泡 12 h。取出后用无菌吸水纸吸干表面残留水分, 接种于 MS 培养基中进行暗培养, 培养温度 25℃。出芽后光照培养。

1.2.3 自然培养。 将种子在 55℃ 温水中浸泡 30 min, 用玻璃棒不停搅拌种子, 当水温降至常温后再浸泡 12~16 h, 捞出用清水冲洗后用湿纱布包好, 放在 25℃ 的恒温箱中催芽。3~6 d 后, 种子基本露白, 有些已有嫩芽。将这些露白的种子播种于装有沙子的盆中进行充分催芽。3~7 d 后种子基本发芽, 将芽苗移栽于装有土壤的花盆中, 放在阳光充足的地方培养, 直至长出 3~4 片真叶。

1.2.4 对植株不同部位的离体培养。 用朝鲜蓟的种子、根、叶柄、第三展开叶、第二展开叶、第一展开叶、心叶为外植体, 用自来水洗净后分别清洗消毒。种子在 70% 酒精中浸泡 1 min, 在 0.1% 的 HgCl₂ 中浸泡 10 min; 根、叶柄、第三展开叶在酒精中浸泡 10~15 s, 在 0.1% 的 HgCl₂ 中浸泡 7~8 min; 第二展开叶、第一展开叶、心叶在酒精中浸泡 8 s, 在 0.1% 的 HgCl₂ 中浸泡 5 min, 无菌水洗 4~6 次后分别接种于①MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; ②MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; ③MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L; ④MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 2.5 mg/L 4 种培养基上。

基金项目 教育部重大项目 (505016); 教育部新世纪优秀人才支持计划 (NCET-05-0896)。

作者简介 白明生 (1971-), 男, 陕西定边人, 在读博士, 讲师, 从事植物资源开发利用的教学与研究工作。

收稿日期 2008-06-23

每瓶接种 4 块,每组重复 5 瓶。

1.2.5 诱导第一展开叶或心叶形成愈伤组织。采取新鲜的第一展开叶或心叶作为外植体进行诱导培养,以 MS 培养基为基本培养基,附加生长调节剂种类为 6-BA、KT、NAA、2,4-D。设 3 种不同激素组合,11 种浓度组合,每种浓度配制培养基 10 瓶,每瓶接种 4 块。外植体接种 40 d 后观察、统计。

2 结果与分析

2.1 植株不同部位的离体培养效果 接种 30 d 观察统计不同培养基和外植体诱导产生愈伤组织的试验结果(表 1)。

由表 1 可见,,在培养基②上,各种外植体愈伤组织诱导率相对较高,第一展开叶和心叶的诱导率可达 75%,叶柄、第二展开叶、第三展开叶愈伤组织的诱导率相对较低。其他 3 种培养基诱导率较低,其中培养基④的诱导率最低,最高仅 35% (第一展开叶)。

综合分析不同外植体愈伤组织诱导率大小,4 种培养基组合的排序为(表 1):培养基②>①>③>④;外植体的排序为:第一展开叶>心叶>第二展开叶>叶柄>第三展开叶>根>种子。种子的诱导率为零。

表 1 不同培养基和外植体对愈伤组织诱导率的影响
Table 1 Effects of different culture mediums and explants on callus induction rate

编号 No.	培养基//mg/L Culture medium	种子 Seed	根 Root	叶柄 Petiole	第三展开叶 Third expanded leaf	第二展开叶 Second expanded leaf	第一展开叶 First expanded leaf	心叶 Central leaf
①	MS+6-BA 2.0+NAA 0.5	0	0	20	10	10	50	60
②	MS+6-BA 2.0+NAA 0.2	0	5	45	20	50	75	75
③	MS+6-BA 2.0+NAA 1.0	0	0	10	0	20	35	20
④	MS+6-BA 0.5+NAA 2.5	0	0	10	0	20	35	20

2.2 不同激素浓度组合对第一展开叶形成愈伤组织的影响

以 MS 为基本培养基,以 6-BA+NAA、6-BA+2,4-D、KT+2,4-D 组合不同激素及不同浓度配比的培养基,培养 40 d 后观察其对愈伤组织形成的影响。由表 2 可见,在 6-BA+NAA 组合中,6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2~1.0 mg/L 范围内均能产生愈伤组织,在 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基中愈

伤组织长得较好,诱导率达 75.25%。而当 6-BA 浓度提高到 3.0 mg/L 时,能诱导产生愈伤组织,但愈伤组织量明显下降;在 6-BA 2.0 mg/L+2,4-D 0.2~1.0 mg/L 组合中,也能产生愈伤组织,在 6-BA 2.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L 培养基中,愈伤组织诱导率最高,可达 90.5%;在 KT+2,4-D 组合中,能够较快地产生愈伤组织,但诱导率不太高。

表 2 不同激素及浓度组合对第一展开叶形成愈伤组织的影响
Table 2 Effects of different hormones and their combinations on callus information of first expanded leaf

植物生长调节剂 Plant growth regulator//mg/L				外植体数//个 Explants number	愈伤组织诱导数//个 Callus induction number	诱导率//% Induction rate	出愈时间//d Callus inducing time
6-BA	NAA	2,4-D	KT				
2.0	0.5			40	19	47.25	9~10
2.0	1.0			40	26	60.50	7~9
2.0	0.2			40	31	75.25	6~8
3.0	0.5			40	16	40.00	8~15
3.0	1.0			40	15	37.50	10~15
3.0	0.2			40	8	50.00	10~15
2.0		0.5		40	38	90.50	8~10
2.0		1.0		43	28	65.12	8~10
2.0		0.2		41	30	73.17	8~10
		2.0	1.0	41	18	43.90	7~10
		1.0	2.0	44	26	59.09	7~10

3 结论与讨论

3.1 最佳外植体部位 通过对朝鲜蓟不同外植体的诱导,结果显示:愈伤组织的诱导率是第一展开叶(心叶)>第二展开叶>叶柄>第三展开叶,而根、种子基本不能形成愈伤组织,这可能是由于种子中含有抑制萌发成分,在人工种植中,采用沙藏处理种子,所需萌发时间较长^[6]。而根、第三展开叶等外植体细胞分化程度较高,脱分化较难,难以诱导形成愈伤组织。第一展开叶和心叶正处于分生状态,细胞分裂能力强,生长速度快,接种后形成的酚类物质少,不易褐化,易于脱分化形成愈伤组织。但是,就第一展开叶与心叶的选材优势比较而言,第一展开叶面积较大,可利用部分多;摘除后对苗的整体生长没有很大影响;并且在消毒过程中对消毒时间的控制要求没有心叶严格,因此认为外植体选择第一展开叶较合适。

3.2 诱导愈伤组织 培养基的种类和浓度对植物愈伤组织

的诱导至关重要。一般认为外植体分化的倾向取决于内源细胞分裂素的平衡,外源激素必须通过对内源激素平衡的调节才能产生作用。为了使内源激素生长素和细胞分裂素达到平衡,外加的细胞分裂素及生长素必须要求一定的比例,才能使器官发生类型达到预定的目的。

参考文献

[1] 白雪,张建丽,何洪巨. 朝鲜蓟的营养与保健功能[J]. 中国营养与食物,2005(11):47-48.
[2] 宋曙辉,何洪巨,武兴德,等. 朝鲜蓟的营养成分分析[J]. 营养学报,2006,28(3):273-274.
[3] MARAKIS G, WALKER A F, MIDDLETON R W, et al. Artichoke leaf extract reduces mild dyspepsia in an open study[J]. Pro Quest Agriculture Journals,2002,9(8):694-699.
[4] 刘立功. 朝鲜蓟的特性及繁殖技术[J]. 农业科技与信息,2003(9):24.
[5] 曹华. 朝鲜蓟的栽培[J]. 西北园艺,2003(5):23-24.
[6] 罗春梅,邱璐,杨清辉,等. 小红参愈伤组织的诱导及分化[J]. 华中农业大学学报,2006,25(2):182-185.