

# 观赏型羽衣甘蓝组织培养影响因素的研究

李明银<sup>1</sup>, 黄丽梅<sup>2</sup>

(1. 绵阳师范学院 园林科学研究所, 四川 绵阳 621000 2. 绵阳师范学院 生命科学院 四川 绵阳 621000)

**摘 要:**以观赏型羽衣甘蓝幼嫩叶片和幼嫩叶柄为外植体, 研究了外植体、培养基类型、光照条件、不同浓度 AgNO<sub>3</sub> 和生长调节剂对羽衣甘蓝愈伤组织及不定芽的诱导的影响。结果表明: 幼嫩叶片作为外植体诱导分化率高于幼嫩叶柄; MS 培养基对愈伤组织的诱导效果好于 LS, LS 培养基对根的诱导效果好于 MS; 12 h/d 的光照条件有利于愈伤组织的诱导分化; AgNO<sub>3</sub> 对愈伤组织的培养有一定的作用, MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+AgNO<sub>3</sub> 1.0 mg/L 时愈伤组织诱导分化最好。低浓度 TDZ 诱导外植体分化更快, 相同浓度下的 6-BA 对愈伤组织的诱导率均高于 TDZ。

**关键词:**羽衣甘蓝; TDZ; AgNO<sub>3</sub>; 愈伤组织诱导  
**中图分类号:**S 635.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2009)11—0099—03

观赏型羽衣甘蓝(*Brassica oleracea* var *acephala*), 十字花科芸薹属 2 a 生草本植物, 为食用甘蓝(卷心菜、包菜)的园艺变种, 可耐-6℃低温。叶色有淡红、紫红、白、黄等, 鲜艳多样, 而不同种类的羽衣甘蓝呈现出不同的叶斑。当温度低于 15℃时, 羽衣甘蓝中心叶片由绿色开始转为各种颜色, 绚丽如花, 有红、玫瑰红、黄、紫红、白、绿色等颜色, 同时其彩斑表现与发育时期有关, 并受环境条件控制, 因此容易形成不同的奇彩异斑类型。观赏期可长达4个月, 观赏价值极高<sup>[1]</sup>。由于种子

是由第 2 层细胞发育而成的, 故一般植物的嵌合性状只能通过扦插、分株等无性繁殖保持, 而通过种子繁殖则会丢失嵌合性状<sup>[2]</sup>, 而羽衣甘蓝的彩斑叶型可通过种子遗传。顾卫红研究结果表明, 羽衣甘蓝的叶型性状由显隐性基因控制, 在各种叶型的遗传中, 皱叶对圆叶、裂叶对皱叶、裂叶对圆叶均表现为显性, 同时具有数量性状的遗传特征; 花色性状的遗传也是由显隐性基因控制, 通常深色对浅色表现为显性<sup>[3]</sup>。研究发现, 羽衣甘蓝的叶斑是由于部分细胞质体突变形成的, 但其彩斑性状能够通过种子稳定遗传, 因此控制羽衣甘蓝叶斑的基因与细胞核有关。因此对控制花斑色彩的基因进行提取, 转入其他的植物中, 可以培育出具有叶斑的新品种。而组织培养是基因转移必需过程。羽衣甘蓝的组织培养受许多因素的影响, 诸如生长素、细胞分裂素等。目前, 国内已有利用幼嫩茎段、花药、腋芽、花茎、花蕾、花丝为外

**第一作者简介:**李明银(1952-), 男, 博士, 研究方向为植物遗传育种。E-mail: mingyinli@126.com。  
**基金项目:**四川省教育厅资助项目(2006C-048); 绵阳师范学院科技处资助项目(MA2005008)。  
**收稿日期:**2009-06-10

## Study on Preventing Browning of Explants during *Brassica oleracea* L. Tissue Culture

LI Ran-hong<sup>1</sup>, YU Li-jie<sup>2</sup>, LI Xiao-dong<sup>1</sup>

(1. Department of Biology, Mudanjiang Teachers College, Mudanjiang, Heilongjiang 157012, China; 2. Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025, China)

**Abstract:** Took Zhanggan 11 as material for the trial, discussed the affection of the basic medium (MS, 1/2MS), PVP (polyethylene pyrrole-2-one), Vc(ascorbic acid), AgNO<sub>3</sub> and the pretreatment on the effectiveness of browning prevention. The results showed that on 1/2 MS medium, the browning phenomenon was lighter, with MS for the medium, the browning phenomenon was much more serious. The antioxidant played an important role in inhibiting browning. PVP inhibited the browning more effectively. Explants taken after tree pretreatment may be good for browning inhibition.

**Key words:** *Brassica oleracea* L.; Tissue culture; Browning

植体<sup>[4-6]</sup>,以 6-BA,NAA 等为调节物质进行羽衣甘蓝组织培养的报道<sup>[7-11]</sup>。但尚未见 TDZ 浓度、叶柄等的影响的报道。为此该试验利用幼嫩叶片、叶柄比较在不同光照时间条件下、培养基中不同浓度 TDZ 及 AgNO<sub>3</sub>的培养效果。

1 试验材料

供试植物材料盆栽于绵阳师范学院苗圃地,为白绿色斑皱叶型观赏型羽衣甘蓝。

2 结果与分析

2.1 不同外植体对愈伤组织诱导及不定芽形成的影响

将观赏羽衣甘蓝幼嫩心叶和幼嫩叶柄进行消毒处理以 MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L 为培养基比较幼嫩心叶和幼嫩叶柄对愈伤组织诱导及不定芽形成的影响。表 1 显示,幼嫩叶片的愈伤组织诱导率为 43.3%,高于叶柄的愈伤组织诱导率 28.6%,且形成的愈伤组织增殖较快,而叶柄诱导产生的愈伤组织较少,

不定芽分化很慢。幼嫩叶片还可以不经愈伤组织阶段直接分化出不定芽。因此,幼嫩叶片作为羽衣甘蓝离体培养的外植体较叶柄为好。

表 1 不同外植体对愈伤组织诱导及不定芽形成的影响

外植体类型	接种数 / 个	形成愈伤组织数 / 个	愈伤组织诱导率 / %	不定芽形成天数 / d	形成不定芽的外植体数 / 个
叶片	30	13	43.3	25	4(芽带根)
叶柄	21	6	28.6	30	1(芽无根)

2.2 2 种不同培养基对愈伤组织、不定芽及不定根诱导的影响

以幼嫩叶片外植体,比较 MS 和 LS 加 6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 对愈伤组织诱导、不定芽及不定根形成的影响。表 2 显示,MS 培养基对愈伤组织和不定芽的诱导效果较 LS 明显。不定根的诱导效果以 LS 为好,诱导率为 88.9%,且产生的不定根多,长势好,有二级侧根。因此,MS 培养基适用于诱导愈伤组织和不定芽,而 LS 培养基适用于生根。

表 2 不同培养基类型对愈伤组织、不定芽及不定根诱导的影响

外植体类型	接种数 / 个	形成愈伤组织数 / 个	愈伤组织诱导率 / %	不定芽形成天数 / d	形成不定芽的外植体数 / 个	形成不定根外植体数 / 个
MS	30	11	36.7	28	3(芽带根)	18(不定根少)
LS	27	4	14.8	28	2(芽带根)	24(根多,势好)

2.3 AgNO<sub>3</sub>对愈伤组织诱导及不定芽形成的影响

以 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 为培养基比较不同 AgNO<sub>3</sub>浓度对愈伤组织及不定芽诱导的影响。表 3 指出,AgNO<sub>3</sub>对愈伤组织的培养有一定的作用当 AgNO<sub>3</sub>浓度为 1 mg/L 时,对愈伤组织和不定芽的诱导效果最好,愈伤组织诱导率为 81.0%,形成不定芽的平均数为 5,高于其它处理。

表 3 不同浓度的 AgNO<sub>3</sub>对愈伤组织诱导及不定芽形成的影响

AgNO <sub>3</sub> 浓度 / mg · L <sup>-1</sup>	接种数 / 个	形成愈伤组织数 / 个	愈伤组织诱导率 / %	不定芽形成天数 / d	形成不定芽的外植体数 / 个
0	21	9	56.3	26	2
1	21	17	81.0	26	5
3	21	13	65.0	26	2
5	21	11	61.1	32	3

2.4 TDZ 对羽衣甘蓝离体培养的影响

以 MS+NAA 0.2 mg/L 为基础培养基,比较 TDZ 及 6-BA 对愈伤组织、不定芽及继代培养的影响。表 4 显示,低浓度 TDZ 诱导外植体分化更快,相同浓度下的 6-BA 对愈伤组织的诱导率均高于 TDZ。

表 4 6-BA 和 TDZ 对愈伤组织诱导的影响 (30 d 后统计)

调节剂浓度 / mg · L <sup>-1</sup>	接种数 / 个	愈伤组织形成天数 / d	愈伤组织数 / 个	愈伤组织诱导率 / %
6-BA	1	21	11	100
	2	21	11	100
	3	21	11	100
	4	21	11	100
TDZ	1	21	7	95.2
	2	21	7	90.5
	3	21	11	95.2
	4	21	11	85.7

试验结果显示,幼嫩叶片作为外植体诱导分化率高于幼嫩叶柄;MS 培养基对愈伤组织的诱导效果好于 LS,LS 培养基对根的诱导效果好于 MS;12 h/d 的光照条件有利于愈伤组织的诱导分化;MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+AgNO<sub>3</sub>1.0 mg/L 时愈伤组织诱导分化最好。



图 1 AgNO<sub>3</sub>培养基愈伤组织



图 2 无 AgNO<sub>3</sub>培养基愈伤组织



图 3 不定芽诱导



图 4 不定苗生长

3 讨论

3.1 不同有机物含量对愈伤组织诱导、不定芽形成和不定根形成的影响

比较 MS 和 LS 2 种培养基的配方可知, MS 培养基有机物较多, LS 培养基含量较少。MS 对愈伤组织和不定芽的诱导效果明显。LS 不定根的诱导效果为好。原因有待进一步研究。

3.2 AgNO<sub>3</sub>对愈伤组织诱导及不定芽形成的影响

AgNO<sub>3</sub>中 Ag<sup>+</sup> 可以通过竞争性结合于细胞膜上的乙烯受体蛋白, 从而起到抑制乙烯活性的作用<sup>[12]</sup>。在许多植物培养基中加入适量的 AgNO<sub>3</sub>, 能起到促进愈伤组织器官发生或体细胞胚胎发生的作用, 能使某些原来再生困难的物种分化出再生植株<sup>[13]</sup>。Pua 等观察到 AgNO<sub>3</sub> 并不减少乙烯的形成, 但能促进芽的诱导分化<sup>[14]</sup>。石淑稳等发现, 分化培养基中附加 AgNO<sub>3</sub> 可促进甘蓝型和白菜型油菜子叶不定芽的形成和生长<sup>[15]</sup>。王超楠观测到, 圆叶红心、皱叶红心羽衣甘蓝培养基中加入 AgNO<sub>3</sub> 后, 褐化现象明显减轻, 出胚率有明显提高<sup>[16]</sup>。该试验中 1 mg/L AgNO<sub>3</sub> 对愈伤组织和不定芽的形成有明显的促进作用。但随着浓度的增加则 AgNO<sub>3</sub> 对愈伤组织和不定芽的形成产生抑制作用。

3.3 TDZ 对愈伤组织诱导和不定芽形成的影响

TDZ 是人工合成的苯基脲衍生物之一, 具有生长素和细胞分裂素双重作用的特殊功能, 具有很强的细胞分裂活性, 也能刺激试管内培养细胞的内源生长素水平, 能诱导外植体从愈伤组织形成到体细胞胚胎发生的一系列不同反应。对植物芽的增殖和再生, 体细胞胚胎发生等有重要作用<sup>[17-18]</sup>, 同浓度的 TDZ 诱导愈伤组织的效力高于 6-BA、KT<sup>[19]</sup>。但在该试验中, 相同浓度下的 TDZ 对愈伤组织的诱导效果不如 6-BA 好, 可能是不同基因型的植物材料具不同反应所致。

参考文献

[ 1 ] 俞奔驰, 黄富宇, 吕平, 等. 观赏羽衣甘蓝的组织培养[ J ]. 广西热带农

业, 2006(5): 34-36.  
[ 2 ] 李明银, 何云晓. Plant Chimeras and Application in the Breeding of the Ornamental Plant[ J ]. 植物学通报, 2005, 22(6): 641-647.  
[ 3 ] 顾卫红, 郑洪建, 张燕, 等. 观赏型羽衣甘蓝新品系的选育及其主要遗传性状的传递规律初探[ J ]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2002, 20(2): 129-132.  
[ 4 ] 宁淑香, 张明宇, 张洪英, 等. 羽衣甘蓝无性系的建立[ J ]. 辽宁大学学报, 2002, 29(4): 375-381.  
[ 5 ] 黄普乐, 吴伟锋, 孙崇波, 等. 羽衣甘蓝花药离体培养研究[ J ]. 浙江农业科学, 2005(2): 114-115.  
[ 6 ] 祝朋芳, 刘丽, 周广柱, 等. 羽衣甘蓝的离体培养研究[ J ]. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(4): 249-251.  
[ 7 ] Maskita W, Skirvin R M. In vitro regeneration from hypocotyl and seedling cotyledons of tronchuda (Brassica oleracea var. tronchuda Bailey) [ J ]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 1989, 19: 159-165.  
[ 8 ] 韩晓光. 羽衣甘蓝丛生芽诱导和植株再生研究[ J ]. 安徽农业科学, 2006, 34(3): 454-455.  
[ 9 ] 祝朋芳. 羽衣甘蓝的离体培养研究[ J ]. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(4): 249-251.  
[ 10 ] 宁淑香, 张明宇, 张洪英, 等. 羽衣甘蓝无性系的建立[ J ]. 辽宁大学学报, 2002, 29(4): 375-381.  
[ 11 ] 孟志卿, 徐东生, 王继珍. 羽衣甘蓝组织培养研究[ J ]. 武汉大学学报(理学版), 2005, 51(S2): 273-277.  
[ 12 ] Pua E G, Chi G L. De novo shoot morphogenesis and plant growth of mustard (Brassica juncea) in vitro in relation to ethylene[ J ]. Physiologia Plantarum, 1993, 88(3): 467-474.  
[ 13 ] 石淑稳, 周永明, 王新发. 影响油菜子叶外植体不定芽高频率再生的因素[ J ]. 西北植物学报, 1998(4): 4-9.  
[ 14 ] 王超楠, 冯辉, 姜凤英, 等. 羽衣甘蓝花药培养胚状体诱导初报[ J ]. 中国蔬菜, 2006(6): 23-24.  
[ 15 ] 张鹏, 傅爱根, 王爱国. AgNO<sub>3</sub>在植物离体培养中的作用及可能的机制[ J ]. 植物生理学通讯, 1997, 33(5): 376-379.  
[ 16 ] 金晓玲, 何平. 大叶樟的组织培养与植株再生植物[ J ]. 生理学通讯, 2003, 39(2): 149.  
[ 17 ] Thomas J C, Vatteran F R. Cytokinin activity induced by thidiazuron [ J ]. Plant Physiol, 1986 81: 681.  
[ 18 ] 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.  
[ 19 ] 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.

The Research on Influence Factors on Tissue Culture of *Brassica oleracea* var. *Acephala*

LI Ming-yin<sup>1</sup>, HUANG Li-mei<sup>2</sup>

(1. Institute of Landscape Science, Mianyang Teachers College, Mianyang, Sichuan 621000, China; 2. Life science Department, Mianyang Teachers College, Mianyang, Sichuan 621000, China)

**Abstract:** The young leaves and petioles of ornamental *Brassica oleracea* var. *Acephala* were used to induce callus and adventitious shoots. In vitro culture by different medium, different light conditions, different concentrations of AgNO<sub>3</sub> and hormones. The results showed: young leaf of *Brassica oleracea* var. *Acephala* as explants was better than petiole in vitro culture. The MS was good for callus induction and LS was suit for rooting. 12 h/d light was propitious to the induction and differentiation of callus. MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L with 1 mg/L AgNO<sub>3</sub> had best effect on callus induction and adventitious shoot differentiation. The optimum medium for proliferation was MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L.

**Key words:** *Brassica oleracea* var. *Acephala*; TDZ; AgNO<sub>3</sub>; Callus induce