

# 结球白菜幼胚培养技术研究

张广楠, 邵登魁, 侯全刚, 李江, 李全辉

(青海省农林科学院 园艺所, 青海省蔬菜遗传与生理重点实验室, 青海 西宁 810016)

**摘 要:**以结球白菜亲本为试材,从胚龄选择、激素水平的筛选和生根培养基的筛选 3 个方面,进行了结球白菜幼胚培养技术研究。结果表明:胚龄为 18~25 d 的幼胚最易培养,最佳激素水平为:MS+NAA 0.6 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+30 g/L 蔗糖+0.7%琼脂,最适生根培养基为:1/2MS+NAA 0.3 mg/L+30 g/L 蔗糖+0.7%琼脂。

**关键词:**结球白菜;幼胚;组织培养

**中图分类号:**S 635.103.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2013)08-0048-03

结球白菜(*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*)主要分布于我国北方各省,因其具有产量高、品质好、营养丰富且耐贮藏运输等优点,其栽培面积和消费量在中国居各类蔬菜之首。青海省属高原大陆性气候,气候冷凉、昼夜温差大、降雨少而集中、日照长,非常适宜白菜类蔬菜的种植生产。随着结球白菜种植面积的逐步扩大和产业化水平的不断提高,具备高产、抗寒和抗病等优良品性的白菜新品种既是育种工作者的研究目标也是广大农户的需求。该研究旨在通过对结球白菜幼胚的培养研究,优化幼胚的影响因素,建立结球白菜幼胚培养技术体系,为今后结球白菜的育种、胚挽救、提高外植体再生能力等研究工作奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为结球白菜亲本材料 QB1004。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 材料处理** 以 75%酒精将角果表面消毒 30 s 后置于 0.1%的升汞溶液中灭菌 10 min,无菌水冲洗 3~4 次后用镊子剥取角果内胚珠,用镊子取出胚珠后,用解剖针挑出幼胚,将幼胚接入培养基中,每瓶放置幼胚 8 个,重复 3 次。胚龄选择及激素水平筛选试验的基本培养基选用 MS+30 g/L 蔗糖+0.7%琼脂,pH 5.8。暗培养 5 d 后转入组培培养间培养。培养条件为:光照强度 2 000 lx,每天光照 14 h,温度 25℃。

**1.2.2 胚龄的选择** 晴天上午摘取开放后 3、5、8、10、

12、14、16、18、20、22、25 d 的角果,在无菌条件下在基本培养基中进行幼胚培养。接种 15 d 后统计成活率。并对幼胚生长发育情况进行调查记载。

**1.2.3 激素水平的筛选** 在基本培养基中添加 NAA(0.2、0.4、0.6),6-BA(0.5、1.0、1.5)2 种激素,试验采用正交设计共 9 种水平(mg/L)。挑取 18 d 左右的幼胚进行培养。接种 15 d 后统计成活率,观察幼苗生长特征,筛选出最佳激素水平组合。

**1.2.4 生根培养基的筛选** 生根试验基本培养基选择 1/2MS+30 g/L 蔗糖+0.7%琼脂,pH 5.8。在基本培养基中添加不同浓度 NAA(0、0.1、0.2、0.3、0.4 mg/L)。选取 3~5 cm 丛生芽,转接至不同培养基中,每瓶接幼苗 3 株,重复 6 次。培养条件光照强度 2 000 lx,每天光照 14 h,温度 25℃。培养 15 d 后统计生根情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 胚龄对结球白菜幼胚培养的影响

由表 1 可知,随着结球白菜幼胚胚龄的逐渐增长,出苗率也在逐渐增长。胚龄太小的幼胚不易挑取且培养过程中也易死亡;而 18~25 d 的幼胚易挑取,成活率高也易培养成苗。因此,确定白菜幼胚培养的最佳胚龄

表 1 胚龄对结球白菜幼胚培养的影响

胚龄 /d	角果长度 /cm	接种数 /个	出苗数 /个	成活率 /%	幼胚特征	15 d 后幼苗生长特征
3~8	0.5~1.5	144	0	0	幼胚无法挑出	无苗
8~10	1.5~2.0	144	4	4.2	幼胚极小 不易挑取	幼苗逐渐变黄死亡
10~12	2.0~2.5	144	15	10.4	幼胚小	幼苗多数逐渐变黄死亡
12~14	2.5~3.0	144	32	22.2	幼胚小	少数幼苗叶片变绿伸展
14~16	3.0~3.5	144	51	35.4	幼胚较小	少数幼苗叶片变绿伸展
16~18	3.5~4.0	144	78	54.2	幼胚较易挑取	半数幼苗叶片变绿伸展
18~20	4.0~4.5	144	92	63.9	幼胚较易挑取	半数以上幼苗叶片变绿伸展
20~22	4.5~5.0	144	107	74.3	幼胚易挑取	大部分幼苗叶片变绿伸展
22~25	5.0~5.5	144	116	80.6	幼胚易挑取	大部分幼苗叶片变绿伸展

**第一作者简介:**张广楠(1979-),女,本科,助理研究员,现主要从事蔬菜遗传育种与栽培工作。E-mail:enan31@163.com。

**基金项目:**国家大宗蔬菜产业技术体系西宁综合试验站资助项目(CARS-25-G-49);青海省蔬菜遗传与生理重点实验室资助项目(SCZDSYS-2011-03)。

**收稿日期:**2012-12-28

时间为 18~25 d。

## 2.2 不同激素水平对结球白菜幼胚培养的影响

不同激素水平对结球白菜幼胚的成活率及生长发育均有一定的影响。由表 2 可以看出,在不同的激素水平组合中,5、8、9 号组合幼苗的成活率较高,分别为 88.2%、88.9%和 89.6%;4、8、9 号组合的幼苗株高较高,分别为 3.48、3.22 和 3.57 cm;4、5、8 号组合的叶片数较多,分别为 8.2、8.5 和 9.1 片。分别用 4、5、8 和 9 号组合培养基对结球白菜丛生苗进行了继代培养,发现 9 号培养基中丛生苗生长势强、发育速度快,叶片大、叶片数多且有部分苗产生不定根,说明 9 号培养基对结球白菜幼苗的生长发育有较好的影响,因此确定 MS+NAA

表 2 不同激素水平对结球白菜幼胚培养的影响

编号	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	6-BA /mg·L <sup>-1</sup>	接种数 /个	出苗数 /个	成活率 /%	平均株高 /cm	平均叶片 数/片
1	0.2	1.0	144	121	84.0	2.21	7.1
2	0.2	0.5	144	114	79.2	2.15	6.7
3	0.2	1.5	144	118	81.9	2.34	6.9
4	0.4	1.0	144	126	87.5	3.48	8.2
5	0.4	0.5	144	127	88.2	2.76	8.5
6	0.4	1.5	144	119	82.6	3.11	7.8
7	0.6	1.0	144	122	84.7	2.31	7.5
8	0.6	0.5	144	128	88.9	3.22	8.1
9	0.6	1.5	144	129	89.6	3.57	9.1

0.6 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+30 g/L 蔗糖+0.7%琼脂的激素水平最适宜白菜幼胚的生长发育。

## 2.3 不同浓度 NAA 对结球白菜幼苗生根的影响

由表 3 可知,结球白菜幼苗生根率随 NAA 浓度的增加而增长。当 NAA 浓度达到 0.4 mg/L 时,生根率及平均根长均达到最大值分别为 91.7%和 2.54 cm,但是株高及生长势却较浓度为 0.3 mg/L 的低,分析原因是由于根系过于发达反而会抑制幼苗的生长发育。当 NAA 浓度为 0.3 mg/L 时,生根率、平均每苗生根数都较高分别为 89.8%和 5.2 条,生长势也较强,株高达到了 6.0 cm。因此,当 NAA 浓度为 0.3 mg/L 时,对结球白菜幼苗的生根及生长发育是最有利的,筛选出适合结球白菜的生根培养基为 1/2MS+NAA 0.3 mg/L+30 g/L 蔗糖+0.7%琼脂。

表 3 不同浓度 NAA 对结球白菜幼苗生根的影响

编号	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	转接数 /个	生根苗 数/个	生根率 /%	平均株高 /cm	平均每苗生 根数/条	平均根长 /cm
1	0	108	83	76.9	5.1	3.8	2.15
2	0.1	108	89	82.4	5.4	4.7	2.24
3	0.2	108	92	85.2	5.3	4.9	2.02
4	0.3	108	97	89.8	6.0	5.2	2.17
5	0.4	108	99	91.7	5.7	5.6	2.54

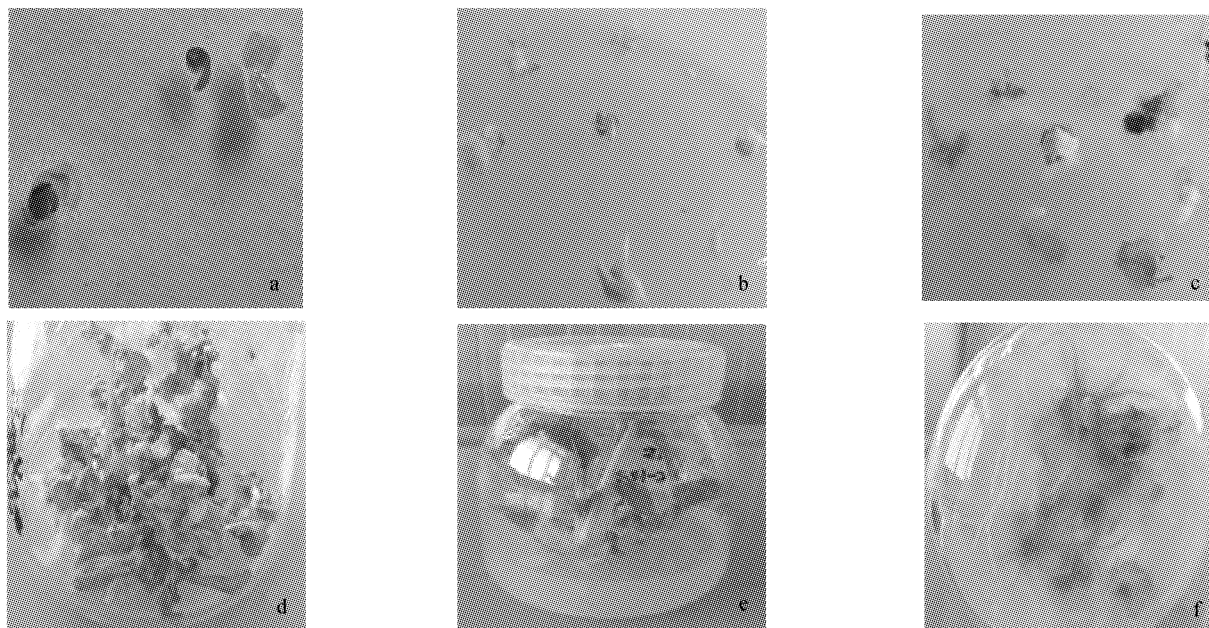


图 1 结球白菜幼胚培养的生长发育

注:a:无菌条件下挑取的白菜幼胚;b:培养 7 d 的白菜幼胚;c:培养 16 d 的幼胚发育成幼苗;d:40 d 的白菜丛生苗;e:继代转接的白菜幼苗;f:转入生根培养基后白菜生根。

## 3 结论与讨论

近年来,我国专家和学者对于幼胚培养的研究多集中在小麦、玉米、百合、枣等作物中,蔬菜作物中大多是利用幼胚进行加代培养或利用组织培养进行扩繁,结球白菜属于芸苔属,是离体不定芽再生困难型植物<sup>[1]</sup>。在

该试验中,通过对结球白菜亲本材料的幼胚培养,认为结球白菜幼胚培养的最佳时间为 18~25 d,这与吴沿友等<sup>[2]</sup>对于油菜幼胚的研究和满红等<sup>[3]</sup>对结球甘蓝幼胚胚龄研究的结论一致。在激素水平的研究上,得出 MS+NAA 0.6 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+30 g/L 蔗糖+0.7%

琼脂的激素水平最适宜白菜幼胚的生长发育,并筛选出适合结球白菜的生根培养基为:1/2MS+NAA 0.3 mg/L+30 g/L蔗糖+0.7%琼脂。杨慧莹等<sup>[4]</sup>通过不同浓度 NAA 和 BA 对比对结球白菜不定芽离体再生能力进行了遗传分析研究,认为当 NAA 浓度在 0.5~1.0 mg/L 时,不定芽的形态相对良好,这与该试验结果相吻合。樊明琴等<sup>[5-6]</sup>通过添加 NAA 和 TDZ 激素对结球白菜离体子叶培养获得了再生植株,比较而言,认为 TDZ 虽表现出较强的细胞分裂素活性,但是价格较昂贵,因此选用 NAA 和 6-BA 作为添加激素是合理有效的。

#### 参考文献

[1] Lim H T, You Y S, Park E J, et al. High plant regeneration, genetic

stability of regeneration, and genetic transformation of herbicide resistance gene (bar) in Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*) [J]. Acta Hort, 1998, 459:199-208.

[2] 吴沿友,蒋九余,帅世文,等. 十字花科几种植物的胚培养研究[J]. 广西植物, 1996(4):367-369,398.

[3] 满红,张成合,柳霖坡,等. 结球甘蓝二、四倍体间杂交三倍体的获得及细胞学鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2005(4):43-46.

[4] 杨慧莹,王鸣刚,武丽娜,等. 结球白菜带柄子叶外植体不定芽离体再生能力的遗传分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2010(2):332-338.

[5] 樊明琴,朱月林,朱丽华. 爱知结球白菜组培再生株与实生株的性状比较[J]. 植物资源与环境学报, 2005(1):31-34.

[6] 樊明琴,朱月林,朱丽华. 结球白菜高效离体子叶不定芽再生的研究[J]. 南京农业大学学报, 2005(1):21-24.

## Research on the Tissue Culture Technology of *Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* Immature Embryos

ZHANG Guang-nan, SHAO Deng-kui, HOU Quan-gang, LI Jiang, LI Quan-hui

(Qinghai Province Key Laboratory of Vegetable Genetics and Physiology, Institute of Horticulture, Qinghai Academy of Agricultural and Forestry Research, Xining, Qinghai 810016)

**Abstract:** Taking *Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* as material, from the immature embryos' age, the plant growth regulators level and the root culture medium, the immature embryo culture technology of *Brassica campestris* L. ssp were studied. The results showed that the age of immature embryos for its tissue culture was 18~25 d, the best plant growth regulators level was MS+NAA 0.6 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+30 g/L sucrose+0.7% agar, the best root culture medium was 1/2MS+NAA 0.3 mg/L+30 g/L sucrose+0.7% agar.

**Key words:** *Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*; immature embryo; tissue culture

## 蔬菜生长重点在于养根

根是作物吸收水分和养分的动力源,如果根系发育不良就会影响作物的产量。在蔬菜苗期,育壮苗、发壮秧,很重要的一项指标就是培养壮根,若是蔬菜苗期根系不好,容易导致植株长势不良,开花坐果晚或畸形果多等情况,从而影响大棚蔬菜的效益,而在作物生长期根系的发达与否更是关系到蔬菜产量高低的关键。

苗期育壮根。壮根是壮苗的一项重要指标,根系发达,植株缓苗就快,吸收水分养分的能力强,抗病抗逆性也会加强,如果根系不好,就很有可能导致植株瘦弱,生长不良,因此,蔬菜苗期一定要留意壮根的培养。

生长期重在养根。在冬春季节,气温较低,根系生长发育慢,在生产管理中若节制不好根系的生长发育环境,就很有可能导致萎蔫现象的发生,冬春季节的萎蔫死棵现象多是因为根系发育不良造成的。因此在作物的生长期一定要重视养根,在浇水施肥时,要留意多用一些菌肥或腐植酸肥料,以便加强根系生机,增进根系发育。

结果期重在护根。在蔬菜结果期,若根系发育不好就很容易导致水分和营养吸收不足,继而产生畸形果。其具体的管理方法是留意肥水的供给不宜过大,避免肥液的浓度过大影响新根的生成或烧根现象的发生,至于具体施用什么肥料,应该依据具体的作物,视不同的生长阶段施用,以黄瓜为例,在生长前期应以氮肥为主,促使植株粗壮,后期恰当增加磷钾肥的施用量,以利于提高作物的品质。浇水的时候不能浇大水,免得影响根系的呼吸作用,使根系的功能下降,活力降低,影响果实的发育,尤其是在冬春地温较低的时候,更是要留意护根,根系好,不仅能够增长作物吸收水分、养分的能力,还会增长植株的抗性。

在此,提示各位菜农朋友们,在冬春季节,留意对作物根系的养护,为大棚蔬菜的增产增收奠定坚实的基础。