

观赏羽衣甘蓝组织培养研究

王晓琴^{1,2}, 罗树旭², 黄毅生²

(1. 北京林业大学 园林学院, 北京 100083; 2. 华侨大学 福建 泉州 362021)

摘要:羽衣甘蓝(*Brassica Oleracea* var. *acephala*)具有较高的食用和观赏价值。研究以羽衣甘蓝的幼茎和嫩叶为外植体, 进行组织培养研究, 结果表明: 幼茎诱导愈伤组织的最佳培养基为 MS+6-BA 4.0 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L, 此配方对嫩叶作为外植体同样适宜, 诱导率高达 90% 以上; 以培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 不定芽分化率最高; 在生根阶段以培养基 1/2 MS+NAA 1.0 mg/L 生根效果最好, 生根率可达 100%, 生根 5.5 条/株, 根系健壮。

关键词:羽衣甘蓝; 外植体; 离体培养

中图分类号: S 635.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)08-0194-03

羽衣甘蓝(*Brassica Oleracea* var. *acephala*)为十字花科芸薹属甘蓝类的一个变种, 原产地中海至小亚西亚一带, 具有重要的食用价值, 同时也是一种观赏植物^[4]。我国已开始引种, 在我国大部分地区得到广泛的应用, 但种源主要依赖进口。建立在植物细胞全能性理论基础上的组织培养技术为解决种源自主问题提供可能^[5-9]。研究旨在利用组织培养方法, 初步探索羽衣甘蓝的快繁技术, 并为进一步开展非常规育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物观赏羽衣甘蓝(*Brassica Oleracea* var. *acephala*), 选取幼茎和嫩叶作为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基制备 以 MS 或 1/2 MS 为基本培养基, 外源激素使用 2,4-D、6-BA 和 NAA, 蔗糖为 3%, 琼脂为 1%, pH 值 5.8。

1.2.2 接种和培养 将外植体在 75% 乙醇中浸泡 1 min, 0.1% 升汞溶液消毒 8 min, 然后用无菌水漂洗 4~5 次, 在超净工作台上接种。在温度 25℃, 光周期 10~14 h/d, 光照强度 2 000~2 500 lx 的智能温控培养箱中进行培养。

1.3 试验设计

以幼茎和嫩叶为外植体, ①选择培养基: MS+6-BA 0.5~8 mg/L+NAA 0.1~3 mg/L+30 g 蔗糖+10 g 琼脂条, pH 值 5.8; ②诱导愈伤组织培养基: MS+6-BA 2~6 mg/L+2,4-D 0.05~1 mg/L+NAA 0.05~2 mg/L+

30 g 蔗糖+10 g 琼脂条, pH 值 5.8; ③诱导芽分化培养基: MS+6-BA 1~3 mg/L+NAA 0.05~0.5 mg/L+30 g 蔗糖+10 g 琼脂条, pH 值 5.8; ④生根培养基: 1/2 MS+6-BA 0~0.5+NAA 0.1 mg/L+15 g 蔗糖+10 g 琼脂条, pH 值 5.8。按不同浓度配比成培养基比较不同激素对愈伤组织诱导、不定芽形成和生根的影响。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度对比对诱导愈伤组织的影响

试验过程中, 幼茎在诱导过程中 7 d 左右切口开始膨大, 形成嫩黄色的愈伤组织, 2 周后形成完整的愈伤组织, 而嫩叶在诱导过程中, 叶片逐渐变为硬块状, 同样在切口处长出愈伤组织, 且体积逐渐扩大。

表 1 不同激素对比对幼茎愈伤组织诱导的影响

6-BA / mg · L ⁻¹	2,4-D / mg · L ⁻¹	接种数	愈伤率 / %	愈伤组织特征
2.0	0.05	20	48	黄色 疏散
2.0	0.1	20	75	黄绿 致密
2.0	0.5	20	40	白色 疏散
4.0	0.05	20	5	丛生芽
4.0	0.1	20	95	淡黄色, 致密
4.0	0.5	19	50	黄色 致密
8.0	0.05	20	5	丛生芽
8.0	0.1	20	20	以丛生芽为主
8.0	0.5	19	0	丛生芽

从表 1 可以看出, 6-BA 的浓度为 4.0 mg/L 时, 幼茎的愈伤组织诱导效果及长势均较好; 当降为 2.0 mg/L 时, 诱导率随之降低, 且长势较差; 当升至 8.0 mg/L 时, 倾向于诱导出不定芽。2,4-D 的浓度对愈伤组织诱导影响相反, 浓度过高倾向于诱导率较低, 且长势较差; 而较低则倾向于诱导不定芽。结果表明: 幼茎在 MS 培养基上添加 6-BA 4.0 mg/L、2,4-D 0.1 mg/L 的条件下, 愈伤组织长势良好, 颜色正常且结构致密, 以嫩叶为外植体, 此配方同样适宜, 愈伤组织诱导率较幼茎低, 但仍高达

第一作者简介: 王晓琴(1977-), 女, 讲师, 现为园林植物与观赏园艺专业在读博士, 研究方向为花卉生物技术。E-mail: wangxiaqin77@sohu.com。

收稿日期: 2008-02-30

90%。表1和表2结果基本一致,可以看出,6-BA 浓度超过 4.0 mg/L 的培养基中及 6-BA 的量与 2,4-D 的比值太大,不利于愈伤组织的诱导,更倾向诱导出丛生芽;而且在相同的处理下,幼茎和嫩叶作为外植体的诱导效果差异不显著。

表 2 不同激素对比对嫩叶愈伤组织的诱导

6 BA /mg * L ⁻¹	2 4-D /mg * L ⁻¹	接种数	愈伤率 / %	愈伤组织特征
2.0	0.05	20	10	淡黄色
2.0	0.1	20	75	淡黄色, 疏松
2.0	0.5	19	47.3	黄绿, 致密
4.0	0.05	21	0	丛生芽
4.0	0.1	20	90	淡黄色, 致密
4.0	0.5	20	50	淡黄, 致密
8.0	0.05	20	0	丛生芽
8.0	0.1	21	42.8	丛生芽为主
8.0	0.5	20	20	丛生芽

2.2 不定芽的诱导

一般认为,生长素与细胞分裂素之比值是植物不定芽分化的重要条件。生长素诱导根的分化,细胞分裂素倾向于诱导芽的分化,从表3可知,在培养基 MS + NAA 0.1 mg/L + 6-BA 2 mg/L 中,即 BA/NAA 为 20 时,芽分化率达到最高,达到了 80.9%;而比值过高或过低,均不利于芽的分化。而当 BA 为 1 mg/L, NAA 为 0.05 mg/L, BA/NAA 也为 20 时,则分化率只有 23.5%。由此可见,羽衣甘蓝不定芽的分化除了与 BA/NAA 之比有关外,与两者绝对含量有着更为密切的关系。当 NAA 浓度超过 0.1 mg/L 时,不利于不定芽的诱导。

表 3 不同浓度的 BA 和 NAA 对比对不定芽诱导的影响

BA/ mg * L ⁻¹	NAA/ mg * L ⁻¹	愈伤组织诱导数	芽分化率 / %	BA/NAA
1.0	0.05	21	28.6	20
1.0	0.1	20	33.3	10
1.0	0.5	22	22.7	2
2.0	0.05	20	30.0	40
2.0	0.1	21	80.9	20
2.0	0.5	20	35.0	4
3.0	0.05	20	20.0	60
3.0	0.1	21	28.6	30
3.0	0.5	22	18.2	6

2.3 生根诱导及练苗移栽

在试验中诱导生根选用 1/2 MS 培养基为基本培养基,激素选用 NAA 和 6-BA 按不同浓度配比组合进行。从表4可以看出,不论2种生长素以何种比例配比,生根率都为 100%,在培养基中分别添加 6-BA 和 NAA 各 0.5 mg/L,生根条数最多但长势欠佳;添加 NAA 0.1 mg/L 生根次数之,但根系长而粗,覆盖满培养基的底部,其他处理生根情况较不理想。添加 6-BA 对生根效果影响不显著,但是 NAA 和 6-BA 总浓度过高或过低,都不利于生根。综合来看,培养基中添加 NAA0.1mg/L

的 1/2 MS 培养基为最适生根培养基。也有报道称 NAA 浓度对羽衣甘蓝生根率影响不大,但以 0.4 mg/L 效果最好,不加 NAA 也可生根,但根短而细弱^[3]。

表 4 不同浓度 NAA 和 6-BA 对甘蓝生根的影响

6 BA/ mg * L ⁻¹	NAA/ mg * L ⁻¹	生根率 / %	株平均根数	根的特点
0	0.1	100	2.4	短、粗
0	0.5	100	5.5	长、粗
0	1	100	4.5	中等长度、粗
0.5	0.1	100	4.2	细长
0.5	0.5	100	6.3	粗短
0.5	1	100	2.3	细长

最后,将生根的羽衣甘蓝试管苗移入遮荫棚,练苗 5 d 左右,随后打开瓶盖 1~2 d,然后取出试管苗,清洗根部,定植于蛭石+珍珠岩(1:1)育苗盘中,适当控制生长环境,成活率高达 80%以上。

3 结论与分析

研究结果表明,羽衣甘蓝的幼茎和嫩叶作为外植体,诱导愈伤组织的最适培养基为 MS+6-BA 4.0 mg/L+2,4-D 0.1mg /L,幼茎诱导率为 95%,嫩叶作为外植体,诱导率高达 90%,且愈伤组织长势良好;以培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 不定芽诱导率最高,达到 80.9%;在生根阶段以培养基 1/2 MS+NAA 1.0 mg/L 生根效果最好,生根率可达 100%,生根 5.5 条/株,且根系健壮。

由于羽衣甘蓝形态特殊,嫩叶和幼茎受环境污染机会较少,经过接种前的消毒处理,试验过程中污染出现较少,而且愈伤组织的诱导效果良好,二者均是外植体的理想选择。另外预试验表明,如果改变激素组成,添加 NAA,而不用 2,4-D,外植体将直接诱导出丛生芽,不经过愈伤组织而达到快速扩繁的目的。

褐化和玻璃化是植物组织培养过程中的顽症,在树木和花卉上均见克服二者的研究报道^[12],但是研究试验过程中并未造成破坏性的影响,这可能与规范的试验操作有关,试验中并未需要添加活性碳来防止褐化,半透明试管苗比例也很低,原因之一可能是所用封口膜较好的满足了容器内外气体的交换,降低了玻璃化程度。从研究过程和结果来看,羽衣甘蓝组织培养已经成为成熟的技术体系,外植体选择、试验操作、试验用品(封口膜、培养瓶等)、培养基配比等是将组织培养技术推广应用到羽衣甘蓝快繁生产的关键环节。

参考文献

[1] 胡继金. 青霉素消除玻璃苗作用的研究[J]. 植物学通报, 1992, 9(增刊): 13.
[2] 孔祥生. 柿树试管繁殖的研究[J]. 植物学通报, 2002, 9(增刊): 11.
[3] 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.
[4] 宁淑香, 张明宇. 羽衣甘蓝无性系的建立[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2002, 29(4): 375-381.

香石竹组培中的玻璃化现象及防止

张 红¹, 王万新²

(1. 德州学院 农学系 山东 德州 253023; 2. 德州学院 机电系 山东 德州 253023)

摘 要: 玻璃化是香石竹组织培养中的一大障碍, 试验研究了 BA、琼脂、蔗糖、活性炭等因素对香石竹组培苗玻璃化的影响, 结果表明: 降低细胞分裂素的浓度, 提高琼脂的用量, 培养基中加入 0.5 g/L 活性炭对克服香石竹组培苗玻璃化有明显的效果; 增加蔗糖的用量对香石竹玻璃化的防止没有明显的作用; 香石竹组织培养中能有效防止玻璃化的适宜培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8 g/L+活性炭 0.5 g/L。

关键词: 香石竹; 组织培养; 玻璃化

中图分类号: S 682.2⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)08-0196-02

香石竹(*Dianthus caryophyllus*)又称康乃馨, 属石竹科, 石竹属, 原产南欧, 为多年生宿根草本花卉。香石竹是世界著名的切花之一, 具有产量高, 花色鲜艳, 花期长, 雅俗共赏等特点^[1]。其常规繁殖的繁殖系数较低, 且容易造成病毒的积累, 而采用香石竹的组培快繁技术可以短期内获得大量的无病毒苗木, 但香石竹组培过程中很容易产生玻璃化现象^[2,3], 限制了其组培技术的应用。该研究欲对香石竹组培中的玻璃化现象进行研究, 找到防止其玻璃化的有效措施, 对香石竹无病毒苗木的快速繁殖和推广具有重要的意义。

1 研究方法

1.1 材料

香石竹的健壮组培苗。

1.2 试验方法

第一作者简介: 张红(1971-), 女, 山东省德州市平原县人, 讲师, 硕士, 现主要从事生物技术与作物遗传育种的教学与研究工作。
E-mail: zhh71821@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-02-20

取健壮的香石竹组培苗, 以 MS 为基本培养基, pH 为 5.8~6.0, 每处理接种 20 瓶, 每瓶 3 苗, 培养温度在 (25±1) °C, 每天光照时数 12 h, 试验通过 4 个单因素试验对香石竹的玻璃化现象进行研究。

1.2.1 BA 浓度对组培苗玻璃化的影响 基本培养基: MS+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.0 g/L; BA 浓度分为 5 个水平: 0、0.2、0.5、1、2 mg/L。

1.2.2 琼脂用量对组培苗玻璃化的影响 基本培养基: MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L; 琼脂浓度分为 4 个水平: 6、7、8、10 g/L。

1.2.3 蔗糖浓度对组培苗玻璃化的影响 基本培养基: MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+琼脂 8.0 g/L; 蔗糖处理浓度分为 4 个水平: 10、20、30 g/L。

1.2.4 活性炭对组培苗玻璃化的影响 培养基为: MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 8.0 g/L; 设加入活性炭 0.5 g/L 和不加活性炭 2 个处理。

2 结果与分析

2.1 BA 浓度对组培苗玻璃化的影响

[5] 杨增海. 园艺植物组织培养[M]. 北京: 农业出版社, 1987.

[6] 奚元龄, 颜昌敬. 植物细胞培养手册[M]. 北京: 农业出版社, 1992.

Study on Tissue Culture of *Ornamental kale*

WANG Xiao-qin^{1,2}, LUO Shu-xu², HUANG Yi-sheng²

(1. Gardening School, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. Huaqiao University, Quanzhou, Fujian 362021, China)

Abstract: Ornamental collards have great nutrient and ornamental value. The results indicated that the optimum medium for induction was MS+6-BA 4.0 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L, for proliferation was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, and for rooting was 1/2 MS+NAA 1.0 mg/L. The rooting rates reached 100%.

Key words: Ornamental kale; Explants; Culture in vitro