

热带园林

观赏羽衣甘蓝的组织培养

俞奔驰¹ 黄富宇² 吕平¹ 韦丽君¹ 苏文潘¹ 万秀勇³

(1广西亚热带作物研究所, 南宁 530001; 2广西农垦山圩农场; 3广西南宁蔬菜研究所)

摘要:以观赏羽衣甘蓝无菌叶柄为外植体, 进行不定芽的诱导试验, 结果表明在 MS + NAA0.1 mg/L 的条件下, 6-BA 1.2~1.5 mg/L 为最适诱导分化浓度; 芽的继代增殖以 MS + NAA0.1 mg/L + 6-BA 0.8~1.2 mg/L 增殖率较高, 芽苗质量最好; 在生根培养中以改良 MS + PPP₃₃₃1.0 mg/L 生根效果好, 生根率达 100%, 芽苗生长较快, 植株最健壮, 变异小。

关键词:观赏羽衣甘蓝 叶柄 组织培养

观赏羽衣甘蓝 (*Brassica oleracea* var *acephala* DC) 为十字花科芸苔属甘蓝的一个变种, 又称绿叶甘蓝、无头甘蓝、海甘蓝等。原产以意大利为中心的地中海至小亚细亚一带, 2年或多年生, 多为矮生种。株高 30~40 cm, 叶片椭圆形到长椭圆形, 叶片宽而厚, 披蜡粉, 有细波纹状折叠, 叶柄短, 叶片紧凑, 层层重叠着生, 植株形状似倒伞状; 叶色丰富, 心部叶色较深, 色彩五彩斑斓, 有紫红、粉红、淡黄色、蓝绿等色, 特别适合秋、冬、春三季室内外装饰观赏, 是珍贵的观叶植物。目前, 在我国, 大多数观赏羽衣甘蓝品种都需从国外引进 F₁ 代杂交种, 价格昂贵, 成本较高。应用组织培养技术对羽衣甘蓝进行快速繁殖, 不仅可以解决种源问题, 减少由于 F₁ 代种子纯度不够引起的成本高问题, 还可解决自交繁殖引起的种性分离问题。羽衣甘蓝再生体系的建立还有助于提供育种中间材料, 为转基因育种提供外源转化受体系统。本试验以观赏羽衣甘蓝无菌苗叶柄为材料进行组织培养, 使用材料少, 成本低, 可能成为离体繁殖进口羽衣甘蓝杂交一代的可行途径。

1 材料与方 法

1.1 无菌材料的获得

选取观赏羽衣甘蓝健康侧芽茎段, 除去叶片, 用浓洗衣粉液振荡洗涤 20 min, 流水漂洗 2~3 h。无菌条件下用 75% 酒精表面灭菌 30 S, 无菌水冲洗 3 次,

再用 0.2% HgCl₂ 消毒 8 min, 无菌水冲洗 5 次, 无菌滤纸吸干水, 切成 1.5~2.5 cm, 至少具有 1 个以上腋芽的侧芽茎段, 接种于 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基中, 15~20 天后得到无菌苗植株。把无菌苗叶柄切成长约 1.5 cm, 接到诱导分化培养基上, 暗培养 5 d, 后继续丛芽诱导培养。

1.2 培养条件

诱导分化培养基: MS + 6-BA 0.8~2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L (以下培养基浓度均为 mg/L); 继代增殖培养基: MS + 6-BA 0.4~1.6 + NAA 0.1; 生根培养基 ① MS + NAA 0.5, ② 改良 MS + NAA 0.5 (有机物和肌醇加倍), ③ MS + NAA 0.1 + PPP₃₃₃ 1.0 (多效唑), ④ 改良 MS + NAA 0.5 + PPP₃₃₃ 1.0。以上培养基均附加 3% 白沙糖、7% 琼脂, pH 均调至 5.8, 培养温度为 25 ± 2 °C, 光强约为 80 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间为 16 h·d⁻¹。

2 结果与分析

2.1 不同 6-BA 浓度对外植体诱导的影响

将叶柄转入不同 6-BA 浓度的诱导分化培养基培养, 结果 (表 1) 表明 6-BA 浓度在 1.0 mg/L 以下时, 叶柄虽然膨大, 但不能诱导出芽。在 6-BA 1.0 mg/L 以上时, 培养 7 d 后, 叶柄膨大, 部分切口产生淡黄色颗粒状愈伤组织; 培养 10 d 后, 愈伤组织表面分化出绿色芽点; 部分叶柄不经愈伤组织直接诱导出

丛生芽,诱导率随6-BA浓度的增加而增大,当6-BA浓度达1.6 mg/L以上时,诱导率虽达80%以上,但玻璃化严重。实验表明在MS+NAA0.1 mg/L条件

下,最适叶柄诱导分化6-BA浓度为1.2~1.5 mg/L,诱导率在45%以上,芽生长健壮。

表1 不同6-BA浓度对叶柄诱导的影响(培养20天后统计)

6-BA(mg.L ⁻¹)	接种数(个)	诱导率(%)	平均芽数(个)	生长状态
0.8	20	0	0	
0.9	20	0	0	
1.0	20	15	0.2	芽少
1.1	20	25	0.35	芽少
1.2	20	45	1.2	芽多,生长正常
1.3	20	65	2.1	芽较多,生长正常
1.4	20	70	3.2	芽比较多,生长正常
1.5	20	80	4.3	芽比较多,生长正常,有少量玻璃化
1.6	20	80	5.6	玻璃化较严重
1.7	20	85	8.2	玻璃化严重
1.8	20	85	9.0以上	丛生芽,完全玻璃化
1.9	20	90	9.0以上	丛生芽,完全玻璃化
2.0	20	86	9.0以上	丛生芽,完全玻璃化

2.2 不同6-BA浓度对丛芽继代增殖的影响

将无菌苗的丛生芽切开接入继代增殖培养基中,30 d后调查发现,当6-BA浓度在0.6 mg/L以下时,增殖系数低。当6-BA浓度达1.4 mg/L时,有玻璃化

现象,随着浓度的增高玻璃化越来越严重(见表2)。在MS+NAA0.1 mg/L条件下,最适合的继代增殖6-BA浓度为0.8~1.2 mg/L,增殖系数在3.4以上,增殖苗生长良好。

表2 不同6-BA浓度对丛芽继代增殖的影响

处理	6-BA(mg.L ⁻¹)	接种芽数(个)	增殖系数	芽生长情况
1	0.4	30	1.1	生长良好
2	0.6	30	1.4	生长良好
3	0.8	30	3.4	生长良好
4	1.0	30	4.2	生长良好、有少量愈伤产生
5	1.2	30	5.0	生长势一般、有愈伤产生
6	1.4	30	5.6	芽细小,有玻璃现象
7	1.6	30	8.5	芽细且弱,玻璃严重

2.3 不同培养基组分对生根的影响

将生长到2~3 cm的丛生芽切成单芽转入生根培养基培养,5 d后发现小苗切口开始膨大,形成愈伤组织,7 d后开始生根;20 d后4种培养基生根率均达100%,但其生长状况差异很大,结果见表3。在不加多效唑的培养基①、②中,苗生长纤细,节间较长,徒长较明显,各叶之间叠生不明显,叶边缘波浪状折叠退化明显,叶色青绿色,心叶不呈紫色,腊粉退化,可能是由于生长过快,植株体内激素积累不足所致。附加

多效唑的③、④培养基中,均生根粗壮整齐,有二级侧根产生,生根试管苗健壮,不徒长,各叶之间叠生明显,叶边缘波浪状叠生,叶披腊粉,叶色和原生植株一致呈青紫色,心部叶色深紫色。③、④培养基均适合作生根培养,其中④优于③,试管苗更粗壮,生根数量更多,根长适中,为最适宜培养基。

2.4 生根试管苗移栽

将培养20 d以上的生根试管苗,移入遮光85%的炼苗棚炼苗3~5 d,然后打开瓶盖1~2 d,将试管

苗取出,用清水洗净根部培养基,将根部放入1000倍百菌清溶液中浸根3~5 min,然后定植于蛭石+珍珠岩(1:1)育苗盘中,刚定植的小苗应加小拱膜遮光、保温、保湿,湿度以约70%为好,温度控制在约20℃

为宜,小苗成活率达86%以上。羽衣甘蓝喜充足光照,喜肥耐肥,因此缓苗后要保证光照充足,光照不足,苗多病纤弱。移苗1周后开始追肥,每周叶面追肥1次,有利于形成健壮出圃苗。

表3

20天后不同培养基组分对生根的影响

培养基	接种(瓶)苗数	生根率(%)	平均根数(条)	生长状况
①	30	100	6.3	根纤细,无二级侧根,苗顶优势明显,较细弱,节间长
②	30	100	8.6	根较粗壮,有二级侧根,苗长势快,苗稍纤细,节间长
③	30	100	13.7	根略弱,有二级侧根,苗生长最慢,较壮,节间短
④	30	100	17.4	根粗壮,有二级侧根,苗生较快,节间短,最健壮

3 小结与讨论

结果表明:利用观赏羽衣甘蓝的无菌苗叶柄作为外植体,诱导不定芽分化的最适宜培养基为MS+NAA0.1+6-BA1.2~1.5 mg/L,分化率达45%以上;继代增殖适宜培养基为MS+NAA0.1 mg/L+6-BA0.8~1.2 mg/L,增殖系数达3.4以上,试管苗生长质量好;诱导生根培养基以改良MS+NAA0.4 mg/L+PPP₃₃₃1.0 mg/L效果好,生根率可达100%,根生长势好,植株变异小。可为市场提供大批量优质的F₁代种苗,满足市场需求。

羽衣甘蓝组织培养的研究已有一定报道^[1-5],本试验中发现当6-BA浓度达1.6 mg/L以上时,分化率和增殖系数都有较大提高,可产生大量的丛生芽,但玻璃化严重,严重影响羽衣甘蓝的批量生产,孟志卿^[5]认为在培养基中附加10~40万青霉素G钾,可消除玻璃化现象,为实现工业化生产提供可能。存在的另一个

问题是羽衣甘蓝本属耐低温型作物,不耐高温,在南方繁殖,由于温度高,生长快,易导致植株形态改变。本试验在生根培养基附加多效唑,可明显地抑制生长,减少变异,为在南方批量生产提供可能。

参与文献

- [1] 韩晓光. 羽衣甘蓝丛生芽诱导和植株再生研究. 安徽农业科学. 2006. 34(3):454~455.
- [2] 祝朋芳. 羽衣甘蓝的离体培养研究. 沈阳农业大学学报. 2003-08. 34(4):249~251.
- [3] 刘建,周莉娟等. 羽衣甘蓝的组织培养. 植物生理学通讯. 2001. 37(6):529.
- [4] 王会. 羽衣甘蓝组织培养及快繁技术. 上海农业科技. 2006. 02:22.
- [5] 孟志卿,徐东生等. 羽衣甘蓝组织培养研究. 武汉大学学报(理学版)2005. 51(S2):273~277.

农业部预测今年蝗虫将中等发生

小启:

本刊2006年第4期第45页“PCR相关技术在植物病原细菌检测和鉴定中的应用”一文,为华南热带农业大学科技基金资助项目;通讯作者为宋卡魏,华南热带农业大学硕士研究生,主要从事植物采后病理学研究。

农业部有关负责人表示,由于去年秋季较长,蝗虫产卵和孵化数量较多,冬季气温总体偏暖,蝗虫越冬基数较大,预测今年蝗虫总体将中等发生,海南、广西等南方沿海蝗区、新疆和华北局部地区可能偏重发生。

各级农业部门要早动员、早部署、早准备、早落实,重点做好蝗虫防治应急预案,制定重大病虫害防治经费管理办法和重大病虫害发生趋势和防治预案。组织开展蝗虫监测预报,跟踪境内外蝗虫发生、发展动态,及时准确发布预报和报告蝗情。对已经成熟的生物防治、生态控制和卫星定位技术,要加大推广应用力度。

摘自《农药》2006-4-287