

利用花托与花序轴组培快繁青花菜雄性不育株的研究

唐征, 张小玲, 刘庆, 罗天宽, 胡彩英, 王易群

(温州市农业科学院 生物所, 浙江 温州 325006)

摘要:以青花菜的花托和花序轴作外植体进行组织培养, 可成功诱导出苗, 并以此来保存突变不育株。试验表明: 不同的青花菜品种在同一种培养基上诱导率差别很大(2.3% ~ 83.3%), 05A-743-2 在 MS + BA 0.2mg/L + KT0.2mg/L + NAA 0.01mg/L 培养基上花托诱导率最高可达 83.3%, 花序轴诱导率达 72.2%; 用 MS + BA 0.5mg/L + NAA 0.002mg/L 继代培养, 苗正常、健壮, 增殖系数可达 5.98; 用 1/2MS + IBA 0.02mg/L 进行生根培养, 生根率达 91.7%, 平均根数 13.0 条; 利用全光照自动喷雾过渡培养组培苗, 成活率达 100%, 组培苗可瓶外生根, 效果比瓶内生根好。

关键词:青花菜; 花托; 花序轴; 组培快繁; 不育株; 突变株

中图分类号:S336 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-8581(2007)03-0054-03

Studies on Tissue Culture of Receptacles and Rachides, and Consequent Rapid Multiplication of Male Sterile Lines in *Brassica oleracea* L. var. *italica* Phenck

TANG Zheng, ZHANG Xiao-ling, LIU Qing, LUO Tian-kuan, HU Cai-ying, WANG Yi-qun

(Institute of Biotechnology, Wenzhou Academy of Agricultural Sciences, Wenzhou 325006, China)

Abstract: Tissue culture of *Brassica oleracea* L. var. *italica* Phenck, which was done with its receptacles and rachides as explants, succeeded in seedling inducement. Datum indicated that different varieties of the vegetable had significant difference in inducing rate (2.3% ~ 83.3%) on the same culture medium, and 05A-743-2 had the uppermost receptacle inducing rate of 83.3% and the rachis inducing rate of 72.2%, both on MS + BA 0.2mg/L + KT 0.2mg/L + NAA 0.01mg/L culture medium. Seedlings showed favorable growth after being cultivated consequently on MS + BA 0.5mg/L + NAA 0.002mg/L with a proliferation coefficient of 5.98. The rhizogenic rate was 91.7% with 13 pieces of roots in average on 1/2MS + IBA 0.02mg/L. Seedlings' survival rate reached 100% by full-light, automatic-spraying and transitional culture methods. Moreover, the effect of rhizogenesis outside bottles was better than that inside bottles.

Key words: Broccoli; Receptacle; Rachis; Tissue culture and rapid multiplication; Sterile plant; Mutant plant

青花菜 (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Phenck) 俗称西兰花, 原产于地中海东部沿岸地区, 为十字花科甘蓝的一个变种, 以绿色花球为产品器官的一、二年生草本植物, 含有丰富的维生素、胡萝卜素和矿物质, 营养丰富, 风味极佳, 是一种高档的营养和保健蔬菜。深受消费者喜爱。

青花菜的组织培养自 20 世纪 70 年代以来相继有所报道, 研究的目的是为了实现离体快繁, 借以扩大稀缺种质资源的数量, 满足育种和生产上的需要。温州市农科院生物所从 2003 年开始进行青花菜育种研究, 在 2005 年的种质资源中发现了几株不育突变株, 由于不了解该突变株的不育机制和保持系, 用常规的育种方法无法保存突变株, 因此, 我们进行了青花菜的组培快繁技术研究, 本研究利用青花菜突变株的花托和花序轴为外植体, 系统地研究了青花菜的诱导、增殖、生根和移栽等技术环节, 掌握了一套青花菜组培快繁的技术程序, 为突变株的保存、研究及利用打下坚实的基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 青花菜不育株为 05A-761-1, 05A-755-1, 05A-765-2, 05A-750-1, 05A-743-2, 均于 2005 年 9 月种植于温州市农科院试验场。

1.2 培养基 诱导培养基: (1) MS + KT 0.2mg/L + NAA 0.01mg/L (单位下同); (2) MS + BA 0.2 + KT 0.2 + NAA 0.01; (3) MS + BA 1.0 + KT 0.2 + NAA 0.01; (4) MS + BA 2.0 + KT 0.2 + NAA 0.01; (5) MS + BA 0.2 + KT 0.2 + NAA 0.1; (6) MS + BA 0.2 + KT 0.2 + NAA 0.001; (7) MS + BA 0.2 + KT 0.2。增殖培养基: (8) MS + BA 1.0 + NAA 0.01; (9) MS + BA 0.5 + NAA 0.002; (10) MS + BA 0.2 + NAA 0.002; (11) MS + BA 0.1 + NAA 0.001。生根培养基: (12) 1/2MS + NAA 0.4; (13) 1/2MS + NAA 0.02; (14) 1/2MS + NAA 0.001; (15) 1/2MS + IBA 0.4; (16) 1/2MS + IBA 0.02; (17) 1/2MS + IBA 0.001; (18) 1/2MS。以上培养基糖浓度均为 30g/L, 并添加琼脂 0.7%, pH 5.8。

收稿日期: 2006-10-31

基金项目: 浙江省温州市重点科研项目 (N2005A003)。

作者简介: 唐征 (1971-), 男, 江西奉新人, 浙江大学在读硕士研究生, 农艺师, 主要从事蔬菜育种和生物技术研究。

1.2 试验方法

1.2.1 诱导培养 取较大未开放的花蕾和较嫩的花序轴,经常规消毒灭菌后,切取花托和花序轴(切成1mm左右的片段)分别接种到(2)号培养基上,每瓶接种5个;另切取05A-743-2的花托和花序轴分别接种到(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)号培养基上,每瓶接种5个。30d后考察出苗情况。

1.2.2 增殖培养 将诱导出的05A-743-2正常芽转接到(8)、(9)、(10)、(11)号增殖培养基上,每瓶接种5个,25d后考察增殖情况,计算增殖系数。

1.2.3 生根培养 通过继代增殖形成的无根苗接种到(12)、(13)、(14)、(15)、(16)、(17)、(18)号培养基上进行生根培养,20d后考察生根情况。

1.2.4 试管苗移栽 组培苗根长到1.5cm时,选生根整齐的瓶苗移栽到带有全日照喷雾系统的苗床上,10d后移栽到大田,20d后考察成活情况。

1.2.5 试管苗瓶外生根 继代增殖形成的无根苗不经过生根培养,直接扦插到带有全日照喷雾系统的苗床上,

培养室温度: $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$,每天用40W日光灯补充光照12h。15d后考察生根情况,移栽到大田,20d后考察成活情况。

2 结果与分析

2.1 不同青花菜品种对诱导率的影响 不同品种的青花菜花托和花序轴接种到(2)号培养基上后,5d后开始产生愈伤组织,13d后开始出芽,30d后统计结果如表1。从表1可以看出,不同的青花菜品种诱导率差别很大。其中,花托诱导率以05A-743-2最好,诱导率达83.3%,05A-761-1次之,为69.0%,其余依次为05A-755-1、05A-765-2、05A-750-1;花序轴诱导率以05A-761-1最好,诱导率达83.3%,05A-743-2次之,为72.2%,05A-750-1的诱导率最差,诱导率仅为2.3%。综合花托和花序轴的诱导率来看:05A-743-2>05A-761-1>05A-755-1>05A-765-2>05A-750-1,这是由于不同的青花菜品种对激素的敏感程度不同而引起的;花托比花序轴的诱导率稍高,而且单个外植体的出芽数和芽质量也比花序轴的好。

表1 不同的青花菜品种的诱导率比较

供试品种	培养基	花托			花序轴		
		接种个数(个)	出芽个数(个)	诱导率(%)	接种个数(个)	出芽个数(个)	诱导率(%)
05A-761-1	(2)	42	29	69.0	42	35	83.3
05A-755-1	(2)	41	6	14.6	48	4	8.3
05A-765-2	(2)	36	3	8.3	42	3	7.1
05A-750-1	(2)	43	2	4.6	42	1	2.3
05A-743-2	(2)	36	30	83.3	36	26	72.2

2.2 不同培养基对诱导率的影响 从表2看出,当NAA为0.01mg/L时,BA浓度在0~2mg/L范围内,随着BA浓度的升高花系轴的诱导率升高,BA浓度为2.0mg/L时,诱导率高达100.0%。花托在BA浓度为0.2mg/L时,诱导率最高,为83.3%;当BA浓度为0.2mg/L时,NAA(在0~0.1mg/L范围内)浓度为0.01mg/L时诱导

效果最好,花托诱导率为83.3%,花序轴为72.2%,浓度太高或过低都不利于青花菜的诱导。综合比较花托和花序轴的诱导情况,虽然当BA浓度为1、2mg/L时有很高的诱导率,出苗极多但芽苗玻璃化严重,BA浓度为0.2mg/L、NAA为0.01mg/L时,诱导率较高,出苗多,苗正常。适合用于青花菜的诱导。

表2 不同外植体在不同培养基上的诱导率

培养基	BA	NAA	花托			花序轴		
			接种个数(个)	出芽个数(个)	诱导率(%)	接种个数(个)	出芽个数(个)	诱导率(%)
(1)	0	0.01	36	1	2.8	42	6	14.3
(2)	0.2	0.01	36	30	83.3	36	26	72.2
(3)	1.0	0.01	48	37	77.1	36	35	97.2
(4)	2.0	0.01	42	33	78.6	36	36	100.0
(5)	0.2	0.1	36	8	22.2	42	28	66.7
(6)	0.2	0.001	36	4	11.1	42	9	21.4
(7)	0.2	/	36	4	11.1	42	1	2.4

2.3 不同培养基的增殖效果 将诱导出的正常不定芽转接到继代培养基上,在不定芽的基部先形成愈伤组织,后续分化出不定芽,25d后统计出芽情况。BA浓度在0~1mg/L内,随着BA浓度的升高,不定芽的出芽数量增加,增殖系数增大,(8)号培养基增殖系数最大,达到

6.73,其次是(9)号培养基,为5.98,其后依次是(10)和(11)号培养基,分别为4.70和3.60。同时发现,(8)号培养基由于BA浓度过高,基部形成大量的愈伤组织,不定芽短缩、透明、玻璃化严重,(9)号培养基不定芽正常、健壮,增殖系数较高,适合青花菜的增殖培养,(10)和

(11)号培养基,BA 浓度偏低,有大量的侧芽形成(见表3)。

表3 不同培养基的增殖效果

培养基	BA	NAA	接种芽数 (个)	增殖芽数 (个)	增殖系数
(8)	1.0	0.01	80	538	6.73
(9)	0.5	0.002	80	478	5.98
(10)	0.2	0.002	80	376	4.70
(11)	0.1	0.001	80	288	3.60

2.4 不同培养基的生根效果 从表4可以看出,随着NAA 的浓度升高,生根率下降,但每株的平均根数增多,NAA浓度为0.4mg/L时,平均根数可达14.3根;IBA 0.02mg/L的效果最好,生根率可达91.7%,平均根数为13.0条,浓度过高或偏低都会抑制青花菜生根;相同浓度的NAA 和IBA 相比,IBA 的作用效果好。NAA 浓度高时,平均根数虽多,但植株基部形成大量愈伤组织,根短粗,畸形;IBA 的生根整齐,大小均匀,效果较好。

表4 不同培养基的生根效果

培养基	NAA	IBA	接种芽数 (个)	生根芽数 (个)	生根率 (%)	平均根数 (条)
(12)	0.4	/	96	47	49.0	14.3
(13)	0.02	/	84	43	51.2	7.9
(14)	0.001	/	72	52	72.2	5.4
(15)	/	0.4	72	41	56.9	5.4
(16)	/	0.02	72	66	91.7	13.0
(17)	/	0.001	75	55	73.3	4.5
(18)	/	/	70	51	72.9	4.1

2.5 试管苗过渡培养和移栽 试管苗经过生根培养后,选择生根整齐的移栽,移栽前打开瓶苗放室内炼苗2d,移栽到全光照自动喷雾的苗床上,用细沙作基质。温度控制为33℃,湿度为90%,时间设定为每10min 喷雾1次,10d后,组培苗有大量新根生出,移栽到大田,20d后的,成活率高达100%。

2.6 试管苗瓶外生根 未经过生根培养的无根苗,直接扦插到带有全日照喷雾系统的苗床上。用细沙作基质,温度控制为33℃,湿度为90%,时间设定为每10min 喷雾1次,15d后调查,组培苗有大量新根生出,生根效果比瓶内培养好,生根率达98%,平均根数15.6条,移栽到大田,20d后考察成活情况,成活率高达100%,利用组培苗瓶外生根,不但节省了生根所需的成本,也可以缩短培养时间。

3 讨论

利用青花菜叶片、子叶、下胚轴、花蕾和花梗等外植体离体培养可以实现无性繁殖、建立再生体系。国外报道了

Anderson^[1]等利用花蕾和Johnson^[2]等利用茎、叶、叶肋分化再生植株进行离体繁殖的研究。国内最早由钟仲贤^[3]和李曙轩^[4]等进行了花蕾、花器官和叶片、中肋、花序柄等外植体的组织培养,在基本培养基MS 或B5 附加一定量的生长素和细胞分裂素配比的条件下取得了不错效果。王怀名^[5]用花蕾、子叶、子叶节、胚根和下胚轴离体培养,试管苗获得了较高的移栽成活率。赖正峰^[6]等用茎段和腋芽诱导出苗,繁殖系数达到4~6。

青花菜以花托和花序轴作外植体进行组织培养,可成功诱导出苗,花托诱导率最高可达83.3%,花序轴诱导率达100%;继代培养,增殖系数可达5.98;用1/2MS + IBA 0.02 进行生根培养,生根率达91.7%,平均根数13.0条;利用全光照自动喷雾过渡培养组培苗,成活率达100%,试管苗瓶外生根,生根效果很好,生根率可达98%,平均根数15.6条。

由于青花菜品种对激素的敏感程度不同,不同的品种在同一种培养基上的诱导率相差很大(2.3%~83.3%),在继代和生根培养中情况是否相同有待于进一步研究;胡开林等试验表明提高培养基中琼脂浓度至11~14g/L,增加培养基的渗透势及采用透气性较好的棉塞和牛皮纸封口时,能基本克服玻璃苗的发生^[7~10]。本试验表明,适当的控制BA 和NAA 的浓度也能避免青花菜组培苗玻璃化。

参考文献:

- [1] Anderson W C. Tissue culture propagation of broccoli (*Brassica oleracea Italica* group) for use in F₁ hybrid seed production[J]. J. Avenor. Society Horticulture Science, 1977, 102(1): 69~73.
- [2] Johnson B B. In vitro propagation of broccoli from stem, leaf and leaf rib explant[J]. Hortscience, 1978, 13(3): 246~247.
- [3] 钟仲贤, 陈谢棠. 茎椰菜试管苗繁殖的初步研究[J]. 植物生理学通讯, 1981, (6): 40~42.
- [4] 李曙轩, 袁文达. 青花菜叶片、中肋及花序柄的组织培养[J]. 浙江农业大学学报, 1983, 9(4): 299~306.
- [5] 王怀名. 青花菜的离体繁殖和形态发生[J]. 园艺学报, 1988, (11): 252~258.
- [6] 赖正峰, 林加耕. 日本高干青花菜组织培养初探[J]. 亚热带植物科学, 2005, 34(1): 64.
- [7] 罗天宽, 张小玲, 唐征, 等. 糖及pH 值对生姜脱毒试管苗继代增殖和生根的影响[J]. 江西农业学报, 2006, 18(6): 81~82.
- [8] 王宏航, 李朝森, 刘慧琴. 观赏蕨类植物组培快繁及其移栽技术[J]. 江西农业学报, 2006, 18(5): 125~126.
- [9] 秦耀国, 雷建军. 青花菜遗传育种与生物技术应用研究进展[J]. 北方园艺, 2004, (2): 11~13.
- [10] 徐伟忠, 丁潮洪, 朱丽霞. 一种新型光自养微繁殖体系的建立——植物非试管快繁技术[J]. 江西农业学报, 2006, 18(3): 55~59.