

羽衣甘蓝组织培养及快繁技术

王 会 (襄樊职业技术学院生物工程系;湖北 441021)

羽衣甘蓝 (*Brassica Oleracea* var *acephala*) 为十字花科芸薹属甘蓝的一个野生种,一二年生草本植物。原产地中海至小亚西亚一带,在我国栽培历史不长,尤其是观赏羽衣甘蓝近 10 年才有少量种植。它是长江中下游地区晚秋和初冬的优良观叶植物,色彩鲜艳,观赏期为 11 月~翌年 3 月。羽衣甘蓝由于品种不同,叶色丰富多变,叶形也不尽相同,整个植株形如牡丹,所以也被称为“叶牡丹”、“牡丹菜”等。

1 材料及培养条件

1.1 材料 波浪叶羽衣甘蓝大喉红色种子。

1.2 培养条件 以 MS 为基本培养基,诱导培养基(mg/L,下同)为(1)MS+2,4-D 0.5+GA 0.5,增殖培养基为(2)MS+6-BA 1.0+IAA 0.2,生根培养基为(3)MS+NAA 0.05~0.2。以上培养基均加入 3% 蔗糖,0.7% 琼脂,pH 5.8,培养温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$,光照时间 12h/d,光照强度 2000Lx。

2 培养方法

2.1 无菌材料的获取 取羽衣甘蓝种子,装入小纱布袋,无菌水冲洗后浸种 12~24h,然后在超净工作台上用 70% 酒精浸泡 1min,无菌水冲洗 2 次后放入 0.1% HgCl_2 消毒 14min,用无菌水冲洗 5 次后播种于培养基上,经 $23 \sim 25^{\circ}\text{C}$ 暗培养 3d 后进行光培养 1 周,即可得到羽衣甘蓝无菌小苗。

2.2 丛芽的诱导与增殖 在超净台上取羽衣甘蓝无菌小苗的顶芽、茎段(1~1.5cm)接种到诱导培养基上,培养 1 周后顶芽及茎段开始膨大、增厚,逐渐变成乳白色愈伤组织,2 周后渐渐分化出绿色小芽点,3 周后可见明显的丛生芽。将丛

生芽分切成大小 1cm 左右,接种到增殖培养基上,丛芽不断分化增生,1 周后即可继代,增殖系数可达 6~10。

2.3 根的培养 将高 2~3cm、生长健壮的无根小苗接种到生根培养基(3)上,1 周后苗基部长出辐射状粗壮的白色小根,2 周后根长达 1~2cm,每株苗根数 10~25 条,生根率达 100%。

3 试管苗的移栽与管理

当试管苗长至 4~5cm、有 5~6 片叶时可移栽。移栽前,将小苗带瓶移入温室 2 周左右,然后打开瓶盖炼苗 3~5d,取出苗后,用清水冲洗掉苗基部的培养基,将根部放入 1000 倍百菌清溶液中浸根 3~5min,然后定植于泥碳土+炭化糖灰+珍珠岩(2:1:1)育苗盘中。刚定植的小苗应遮光 50% 左右,温度控制在 20°C 左右,湿度以 70% 为好,以后保持不干不湿。羽衣甘蓝喜充足光照,喜肥耐肥,因此缓苗后要保证充足光照,光照不足苗体细弱。移苗 1 周后开始追肥,每周叶面喷施一次,保证充足肥水。

4 小 结

诱导培养时发现顶芽比茎段更易形成愈伤组织,表现在形成愈伤组织时间短、丛生芽多。生根时生长素浓度不宜偏高,偏高易形成愈伤组织,降低苗的成活率。培养温度不宜超过 25°C ,否则试管苗会变黄、枯萎。出苗时间宜掌握在秋季,以便羽衣甘蓝幼苗经寒冷刺激更好着色和结球。

收稿日期:2005-06-30

裂素浓度的提高而增加,最高可达 4.0 倍(BA1.0mg/L),但此时由于植株分蘖过多,生长瘦弱,苗体高度仅 2.1cm,苗的质量较差;而当 BA 浓度为 0.2mg/L 时,小苗的增殖倍率为 2.5,较理想,小苗高度可达 3.2cm,苗体生长健壮、翠绿,故最适增殖培养基为 MS+BA0.2mg/L+KT5.0mg/L+IAA 0.3mg/L(见表 2)。

表 2 生长素和细胞分裂素对小苗增殖的影响

细胞分裂素 BA (mg/L)	生长素 KT 和 IAA 不同浓度(mg/L)下的增殖倍率									
	KT		IAA		KT		IAA		KT	
	0	0.1	2.5	0.2	5.0	0.3	7.5	0.4	10.0	0.5
0	0.9		1.5		1.9		1.8		1.6	
0.1	1.0		1.7		2.1		2.0		1.9	
0.2	1.3		2.0		2.5		2.2		2.0	
0.5	1.9		2.2		3.1		2.4		2.2	
1.0	2.1		2.4		4.0		2.7		2.4	

2.3 生长素对小苗生根的影响 试验结果表明(见表 3),生长素 NAA 对非洲菊根的诱导起重要作用。在没有 NAA 的培养基中,小苗的生根率非常低,平均只有 19%,生根苗只有 1 条根,且根非常短,平均只有 0.43cm;当在培养基中加入生长素 NAA 后,随 NAA 浓度的不断提高,小苗生根率、根条数和根长度逐渐发生变化,在 NAA 浓度达 0.15mg/L 时生根率达最高,为 95%,每株苗平均根数为 3.6 条,平均根长为 1.20

cm,小苗根粗壮,植株翠绿挺拔,为最佳生根配方;随 NAA 浓度进一步提高,生根率和每株苗生根数都明显下降,但小苗根的长度明显增加,根细长、根的分枝增多,植株长势明显比 NAA 为 0.15mg/L 时弱。

表 3 生长素对小苗生根的影响

生长素 NAA(mg/L)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
接种数(棵)	100	100	100	100	100	100
平均根数(条)	0.89	2.05	2.40	3.60	2.10	1.90
生根率(%)	19	55	70	95	69	50
平均根长(cm)	0.43	0.81	0.85	1.20	2.88	2.86

3 小 结

经过采用非洲菊幼嫩花蕾为外植体,使用不同的培养基激素组合,筛选出非洲菊诱导的最适培养基配方组合是 1/2MS+BA10.00mg/L+IAA0.50mg/L,外植体在此培养基上生长 10d 后就可形成愈伤组织,60d 后愈伤组织上的不定芽生长正常,再生率为 93.5%,芽平均高度可达 0.96cm;非洲菊增殖的最适培养基为 MS+BA0.2mg/L+KT5.0mg/L+IAA0.3mg/L,小苗的增殖倍率为 2.5,小苗高度达 2.3cm,苗体健壮,翠绿;非洲菊长根的最适培养基为 1/2MS+NAA 0.15mg/L,生根率最高可达 95%,每株苗平均根数为 3.6 条,平均根长 1.2cm,小苗根粗壮,植株翠绿挺拔。