



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105052735 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 18

(21) 申请号 201510563910. 5

(22) 申请日 2015. 09. 07

(71) 申请人 镇江瑞繁农艺有限公司

地址 212400 江苏省镇江市句容市宁杭路  
112 号

(72) 发明人 姚悦梅 戴忠良 王建华 潘跃平  
吴国平 毛忠良 潘永飞 张振超  
秦文斌 肖燕 孙春青 马志虎  
孙国胜

(74) 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限  
公司 32200

代理人 曹翠珍

(51) Int. Cl.

A01H 1/06(2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法,步骤如下:播种育苗,选取 8-10 片叶、生长健壮旺盛无病虫害的幼苗;喷施诱变剂溶液;幼苗 15-20℃光照培养一周,重复喷施诱变剂溶液;1-5℃光照培养 10-12 天,然后 15-20℃的光照培养 3-4 天;选取褐变、萎蔫和畸形部分小的植株叶片,根据测定的抗寒生理指标,选取幼苗单株;将选出的幼苗露地栽培,在田间自然越冬,在一年中最冷的时候,采集植株叶片,根据测定的抗寒生理指标选取最优秀的突变体单株,花期套袋,自交结实,种荚变黄褐色时,收获种子。获得观赏性状优良、抗寒性较强的突变体植株,且突变体植株的抗寒性能稳定遗传给后代,拓宽了羽衣甘蓝推广种植的地域范围。

1. 获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法,其特征在于步骤如下:

(1)、羽衣甘蓝播种育苗,然后选取 8-10 片叶、生长健壮旺盛无病虫害的幼苗;

(2)、选取的幼苗均匀喷施诱变剂水溶液进行初次诱变,每株幼苗喷施量为 8-10mL;

(3)、把喷施诱变剂溶液的幼苗移入 15-20℃ 的光照培养箱内生长一周,重复步骤(2)的喷施步骤;

(4)、把喷施过两次诱变剂溶液的幼苗植株移入 1-5℃ 的光照培养箱内生长 10-12 天,然后移入 15-20℃ 的光照培养箱内生长 3-4 天;

(5)、选取褐变、萎蔫和畸形部分占整个幼苗植株比列小于 25% 的植株,取每一株幼苗上部位一致或相近的无损伤叶片,用于抗寒生理指标的测定,根据叶片内丙二醛,过氧化物酶和游离脯氨酸的含量,选取 12-15 个幼苗单株,备用;

(6) 将选出的幼苗露地栽培,在田间自然越冬,在一年中最冷的时候,在每个植株的心叶部位采集叶片,根据测定的丙二醛、过氧化物酶和游离脯氨酸的含量选取 3-5 个最优秀的突变体单株,花期套袋,自交结实,种荚变黄褐色时,收获种子。

2. 根据权利要求 1 所述的获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法,其特征在于步骤(2)中,所述的诱变剂溶液是浓度为 0.1-0.15%, pH 值 =7 的硫酸二乙酯水溶液。

3. 根据权利要求 1 所述的获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法,其特征在于步骤(5)中选取的幼苗单株,要求叶片中丙二醛含量低于对照组 5 倍以上,而过氧化物酶和游离脯氨酸含量高于对照组 50% 以上。

4. 根据权利要求 1 所述的获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法,其特征在于步骤(6)中选择突变体单株的依据是叶片中丙二醛含量低于对照 7 倍以上,而过氧化物酶和游离脯氨酸含量高于对照 70% 以上。

5. 根据权利要求 1 所述的获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法,其特征在于步骤(6)中叶片采集于每个植株的一致或相近部位。

## 一种获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种获得羽衣甘蓝耐寒突变体植株的方法,属于植物培育技术领域。

### 技术背景

[0002] 观赏羽衣甘蓝 (*B. rassaica oleracea* var. *acephala* f. *tricolor* Hort.) 是十字花科芸薹属甘蓝种的一个变种, 原产欧洲地中海至北海沿岸, 两年生草本植物, 观叶为主, 其叶片形态美观多变, 心叶色彩绚丽如花, 园艺品种形态多样。在华东地区观赏羽衣甘蓝是深秋、冬季和早春观赏的首选花卉, 具有较高的观赏价值和经济效益。在北方广大地区, 羽衣甘蓝只能秋季和春季观赏栽培, 冬季的低温和冰冻是羽衣甘蓝在北方栽培的主要障碍, 尤其是皱叶品种的羽衣甘蓝耐寒性相对较差, 在冬季低温来临时冻害严重, 制约了品种的进一步推广应用。因此获得耐寒性较强的羽衣甘蓝品种, 扩大羽衣甘蓝推广种植地区和延长观赏时间, 是很有必要性的。

### 发明内容

[0003] 为了克服现有技术的不足, 本发明的目的是提供一种获得具有较强抗寒性、观赏性状优良的羽衣甘蓝植株的方法, 该方法能显著缩短培育时间, 获得的耐寒植株新品系能扩大羽衣甘蓝种植区域。

[0004] 为实现上述目的, 本发明采取的技术方案如下:

[0005] 获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法, 步骤为:

[0006] (1)、羽衣甘蓝播种育苗, 然后选取 8-10 片叶、生长健壮旺盛无病虫害的幼苗;

[0007] (2)、选取的幼苗均匀喷施浓度为 0.1-0.15%, pH 值 = 7 的硫酸二乙酯溶液进行初次诱变, 每株幼苗喷施量为 8-10mL;

[0008] (3)、把喷施硫酸二乙酯溶液的幼苗移入 15-20℃ 的光照培养箱内内生长一周, 重复步骤 (2) 的喷施步骤;

[0009] (4)、把喷施过两次诱变剂溶液的幼苗植株移入 1-5℃ 的光照培养箱内内生长 10-12 天, 然后移入 15-20℃ 的光照培养箱内内生长 3-4 天;

[0010] (5)、选取褐变、萎蔫和畸形部分占整个幼苗植株比列小于 25% 的植株, 取每一株幼苗上部位一致或相近的无损伤叶片, 用于抗寒生理指标的测定, 测定叶片内丙二醛, 过氧化物酶和游离脯氨酸的含量, 选取 12-15 个幼苗单株, 要求丙二醛含量低, 而过氧化物酶和游离脯氨酸含量高; (具体而言是丙二醛含量低于对照组 5 倍以上, 而过氧化物酶和游离脯氨酸含量高于对照组 50% 以上);

[0011] (6) 将选出的幼苗露地栽培, 在田间自然越冬, 在一年中最冷的时候, 在每个植株的心叶部位采取叶片 (取一致或相近部位的叶片), 测定丙二醛、过氧化物酶和游离脯氨酸的含量; 选取 3-5 个最优秀的突变体单株, 花期套袋, 自交结实。种荚变黄褐色时, 收获种子; 选择突变体单株的依据是叶片中丙二醛含量低, 而过氧化物酶和游离脯氨酸含量高, 结合田间观赏性状优良; (具体而言是丙二醛含量低于对照 7 倍以上, 而过氧化物酶和游离脯

氨酸含量高于对照 70%以上)；

[0012] (7) 上述植株收获的种子和对照一起播种育苗,在 75-80 天苗龄时选取旺盛健壮生长一致的植株,放入  $-10 \sim -5^{\circ}\text{C}$  的低温光照培养箱内处理 3-4 天,后移入  $5-10^{\circ}\text{C}$  的光照培养箱内内生长一周左右,没有冻害现象发生,对照植株有不同程度的冻害发生。选取每个植株心叶部位的叶片(取一致或相近部位的叶片),测定丙二醛,过氧化物酶和游离脯氨酸的含量。结果显示诱变植株丙二醛含量低于对照植株 10 倍以上,而诱变植株的过氧化物酶(POD)和游离脯氨酸分别比对照的植株增加 120%和 95%以上。

[0013] 发明人通过化学试剂(硫酸二乙酯)诱变结合低温处理,获得观赏性状优良、抗寒性较强的突变体植株,且突变体植株的抗寒性能稳定遗传给后代,拓宽了羽衣甘蓝推广种植的地域范围。

[0014] 丙二醛、过氧化物酶(POD)和游离脯氨酸是鉴定植株抗寒性的重要指标,耐寒性强的品种在低温条件下植株体内的丙二醛含量较低,而过氧化物酶(POD)和游离脯氨酸含量较高。本发明通过生理指标测定和田间观察品比及耐寒性鉴定,证实本发明获得的观赏羽衣甘蓝新株系比常规育种获得新品种耐寒性大大提高。

### 具体实施方式

[0015] 以下将结合实施例具体说明本发明的技术方案,在以下实施例中所使用的观赏羽衣甘蓝材料,红色皱叶羽衣甘蓝为经市售获得,化学试剂硫酸二乙酯为市售获得。

[0016] 实施例 1

[0017] 获得羽衣甘蓝耐寒植株的方法,步骤如下:

[0018] (1)、8 月初羽衣甘蓝播种育苗,可以采用营养钵或花盆育苗(既方便处理幼苗,又能保证足够的营养生长空间),选取 8-10 片叶,生长健壮旺盛无病虫害的幼苗 600 株。

[0019] (2) 组别设置:共设置 6 组,其中 5 组为实验组,另一组为对照组,每组 100 株;

[0020] 实验组:喷施硫酸二乙酯(DES,诱变剂)溶液( $\text{pH}$  值 = 7),每组浓度分别是,A 组:0.05%;B 组:0.1%;C 组:0.15%;D 组:0.2%;E 组:0.25%;

[0021] 对照组:喷施 8-10ml 清水;

[0022] 实验组和对照组的喷施用量以每个植株全株叶面均湿润为宜(每株幼苗喷施量为 8-10ml)。

[0023] (3)、把实验组和对照组的幼苗移入  $15-20^{\circ}\text{C}$  的光照培养箱内内生长一周左右。观察发现实验组 E 浓度处理的幼苗 65%死亡,剩余幼苗多数植株叶片畸形;D 浓度处理的幼苗 52%死亡,20%植株叶片畸形;C 浓度处理幼苗 37%死亡,14%植株叶片畸形;B 浓度处理幼苗 24%死亡,9%植株叶片畸形;A 浓度处理幼苗 11%死亡,5%植株叶片畸形。对照幼苗生长正常。

[0024] (4)、重复步骤(2)。

[0025] (5)、把经过步骤(2)第二次喷施的实验组和对照组的植株移入  $1-5^{\circ}\text{C}$  的光照培养箱内生长 10-12 天,然后移入  $15-20^{\circ}\text{C}$  的光照培养箱内内生长 3-4 天。观察发现 E 浓度处理幼苗全部死亡;D 浓度处理幼苗还剩余 17 株均为畸形无法正常生长;C 浓度处理幼苗剩余成活 32 株,其中 20 株为不同程度畸形;B 浓度处理幼苗剩余成活 48 株,其中 18 株不同程度畸形;A 浓度处理幼苗剩余成活 63 株,其中 12 株不同程度畸形。对照组有部分幼苗叶片

边缘轻微萎蔫枯黄,属轻微冻害现象。

[0026] (6)、在实验组 A、B、C 三种浓度处理的幼苗中选取褐变、萎蔫和畸形部分占整个幼苗植株比列小于 25% 的植株,同时在对照组中随机挑选无冻害的幼苗 20 株,把挑选出来的每一株幼苗都取一致或相近部位的无损伤畸形叶片,用于抗寒生理指标的测定;分别测定丙二醛,过氧化物酶 (POD) 和游离脯氨酸三个指标的含量,结果显示诱变处理的每个单株幼苗中的丙二醛都低于对照幼苗平均值 5 倍以上,而过氧化物酶 (POD) 和游离脯氨酸都高于对照幼苗 70% 以上。在诱变处理过的幼苗中根据丙二醛含量较低,而过氧化物酶 (POD) 和游离脯氨酸较高为依据依次选取诱变处理后的 12-15 个最优幼苗单株,结果显示这些单株全部出自 B 浓度和 C 浓度处理的幼苗。说明诱变剂处理幼苗的最佳浓度在 0.1-0.15%。

[0027] (7)、选出的幼苗和对照幼苗全部露地栽培,在田间自然越冬,在 1 月中下旬,在每个植株的心叶部位采取叶片(取一致或相近部位的叶片),分别测定丙二醛,过氧化物酶 (POD) 和游离脯氨酸等三个指标的含量。根据丙二醛含量较低,而过氧化物酶 (POD) 和游离脯氨酸较高为依据,结合田间观赏性状优良,选取 3-5 个最优秀的突变体单株,花期套袋,自交结实。种荚变黄褐色时,收获种子。同时对照植株也选取 5 个单株花期套袋,自交结实,收获种子。

[0028] 实施例 2 抗寒性验证试验:

[0029] 诱变植株收获的种子 (H 组) 和对照植株 (CK 组) 收获的种子一起播种育苗,两种类型的植株在 75-80 天苗龄时各选取 50 株旺盛健壮生长一致的植株,放入  $-10 \sim -5^{\circ}\text{C}$  的低温光照培养箱内处理 3-4 天,后移入  $5-10^{\circ}\text{C}$  的光照培养箱内内生长一周左右。对照植株心叶部分有不同程度的冻害发生,叶缘有萎蔫褐变和卷曲现象。诱变处理后获得的植株没有冻害现象发生。

[0030] 采取诱变组和对照组每个植株的心叶部位叶片(取一致或相近部位的叶片),分别测定丙二醛,过氧化物酶 (POD) 和游离脯氨酸等三个指标的含量,结果见表 1。

[0031] 表 1

[0032]

	丙二醛 ( $\mu\text{mol/L}$ )	过氧化物酶 ( $\mu \cdot g\text{-IFW} \cdot \text{min}^{-1}$ )	游离脯氨酸 ( $\mu\text{g/g}$ )
H 组	0.9987	93.0725	391.60
CK 组	10.8082	41.8340	197.43

[0033] H 组植株为化学诱变处理后获得的突变体单株自交后代,过氧化物酶 (POD) 含量高于对照组 122.48%;游离脯氨酸含量高于对照 98.35%;对照组植株中丙二醛含量高于 H 类型植株 10 倍以上。

[0034] 证明了本发明有效的获得了观赏性状优良、抗寒性较强的突变体植株,且突变体植株的抗寒性能稳定遗传给后代。