

参考文献:

- 1 Lambden P R, Cooke S J, Caul E O, Clarke I N. Cloning of noncultivable human rotavirus by single primer amplification. *Journal of Virology*, 1992, 66 (3): 1817 ~ 1822
- 2 Natsuaki T, Yamashita S, Doi Y, Yon K. *Radish yellow edge virus*, a seed-borne small spherical virus newly recognized in Japanese radish (*Raphanus sativus* L.). *Annals of Phytopathological Society of Japan*, 1979, 45 (3): 313 ~ 320
- 3 Natsuaki T, Yamashita S, Doi Y, Okuda S, Teranaka M. *Radish yellow edge virus*, a seed-borne virus with double-stranded RNA, of a possible new group. *Annals of Phytopathological Society of Japan*, 1983, 49 (5): 593 ~ 599

羽衣甘蓝游离小孢子培养初报

姜凤英^{1,2} 冯 辉^{1*} (¹ 沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161; ² 辽宁省农科院花卉研究所, 沈阳 110161)

Embryogenesis and Plant Regeneration of Ornamental Kale via Isolated Microspore Culture

Jiang Fengying^{1,2} and Feng Hui^{1*} (¹ College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; ² Floriculture Institute of Liaoning Academy of Agricultural Science, Shenyang 110161, China)

关键词: 羽衣甘蓝; 小孢子; 胚状体

中图分类号: S 635.9 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 05-0884-01

本文介绍了羽衣甘蓝 (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) 游离小孢子培养诱导出胚状体, 并获得再生植株的研究结果。国内还未见羽衣甘蓝小孢子培养成功的报道。

将 5 个羽衣甘蓝 F₁ 杂交种 ‘红欧’、‘白欧’、‘皱叶红心’、‘皱叶白心’和 ‘皱叶玫红’穴盘育苗, 盆栽。开花后, 取长 3.0 ~ 5.0 mm 的花蕾分离小孢子。用 NLN-13 培养液稀释, 以每皿 2.5 mL 悬浮液分装入 60 mm 的培养皿内, 用 Parafilm 封口, 置于恒温箱中静置暗培养。2 周后观察胚状体发生情况。挑出子叶期的胚接种到改良 MS 培养基上, 置于 25 °C、12 h/d 光照的培养室中继续培养。

结果表明: 在 NLN-13 培养基上, 游离小孢子热激培养 1 d 后, 部分小孢子出现明显的膨大。培养 2 ~ 3 d, 小孢子发生第 1 次分裂。红欧和皱叶红心小孢子发生细胞分裂, 并在培养 3 周后, 获得了胚状体 (图版, 1), 出胚率分别为 0.10 和 0.34 胚/蕾。其他 3 个品种无胚状体形成。在添加 BA (0.05 ~ 0.6 mg/L) 和 NAA (0 ~ 0.4 mg/L) 的 NLN-13 培养基上, 小孢子培养 2 ~ 3 d 后, 有 4 个品种小孢子细胞分裂, 其中红欧、皱叶红心和皱叶白心获得了胚状体, 出胚率分别为 0.32, 0.58 和 0.37 胚/蕾。胚状体经过 30 d 培养分化成幼苗 (图版, 2)。

在上述 NLN-13 培养基上, 分别添加 50、100、150 μL 的琼脂糖 (500 mg/L) 和活性炭 (10 000 mg/L), 小孢子培养 2 ~ 3 d 后, 5 个供试品种的细胞分裂情况与未添加的相似。培养 15 ~ 20 d, 挑出子叶期的胚, 将剩下的胚分成两组, 一组在添加琼脂糖和活性炭 100 μL 的新鲜培养基上培养, 另一组置于未加琼脂糖和活性炭的基本培养基上培养。15 d 后观察发现, 前者培养基上幼胚发育快, 大部分能发育成子叶形胚; 后者培养基上幼胚发育迟缓, 只有少部分能发育成子叶形胚。将子叶形胚接种到改良 MS 培养基上, 培养 3 ~ 5 d, 胚状体开始变绿, 胚根伸长并长出根毛。经过 15 d 的培养, 整个胚状体变成绿色, 同时分化出小芽。在添加和不加活性炭的培养基上都能诱导成苗 (图版, 3), 但前者芽苗长得健壮, 不经过壮苗培养就可直接转接到生根培养基上诱导生根, 移栽成活后, 获得小孢子植株 (图版, 4)。琼脂糖和活性炭对提高羽衣甘蓝小孢子胚状体发育有促进作用。



图版说明: 1. 小孢子培养获得的胚状体; 2. 小孢子胚萌发成幼苗; 3. 继代苗; 4. 成活小孢子植株。

Explanation of plates: 1. Embryoid via isolated microspore culture; 2. The cotyledonary embryoid formed plantlet; 3. Regenerated plantlet; 4. Survival plantlet from microspore culture

收稿日期: 2005 - 02 - 21; 修回日期: 2005 - 07 - 18

基金项目: 国家 ‘863’ 项目 (2004AA241120)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: fenghuiaaa@263.net)