

大白菜与羽衣甘蓝杂交胚的发育及其离体培养

祝朋芳¹, 魏毓棠², 张 月¹

(¹ 沈阳农业大学林学院, 沈阳 110161; ² 沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

摘 要: 改良 Ogura胞质大白菜与羽衣甘蓝的种间杂合胚胎存在明显发育障碍, 败育始于球形胚阶段, 表现为胚乳细胞化及过度增生; 而对照大白菜与甘蓝型油菜杂合胚胎发育至心形早期胚乳仍呈游离核状态。大白菜与羽衣甘蓝杂合胚珠离体培养的有效取材时间为授粉后 6~17 d, 其中 9~11 d最佳。液体振荡培养可显著促进胚珠离体成苗, 而花器等营养添加物未见明显效果。

关键词: 大白菜; 羽衣甘蓝; 胚胎发育; 离体培养

中图分类号: S 634.1; S 635.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 02-0501-03

Growth of Interspecific Hybrid Embryos Between *Brassica campestris* ssp. *pekinensis* and *B. oleracea* var. *acephala* and Their *In Vitro* Culture

ZHU Peng-fang¹, WEI Yu-tang², and ZHANG Yue¹

(¹ Forestry College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; ² Horticultural College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: There were obvious obstacles in interspecific hybrid embryo growth between CMS *Brassica campestris* ssp. *pekinensis* × *B. oleracea* var. *acephala*. Embryos collapse began at sphere stage, with endosperm nuclei being surrounded by walls. Also, endosperms were inflated extremely. However, heart embryos between *B. campestris* ssp. *pekinensis* × *B. napus* grew well, and surrounded by endosperm nucleus. The available time for ovule rescue culture *in vitro* was in 6 to 17 days after pollination, and the best time was in 9 to 11 days. Shake culture in liquid media improved plantlets notably. Flower subsidiaries and other nutrient additives had not shown remarkable influence.

Key words: Chinese cabbage; Kale; Embryo growth; *In vitro*

本试验旨在通过监测大白菜 (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*) 与羽衣甘蓝 (*B. oleracea* var. *acephala*) 种间杂合胚胎发育进程, 并进行离体胚珠挽救培养, 为有效获得种间杂种 (祝朋芳和魏毓棠, 2006) 提供依据。

由于大白菜与甘蓝型油菜 (*B. napus*) 种间杂交具有较好的亲和性 (祝朋芳和魏毓棠, 2004), 试验中以其杂合胚胎发育作为对照。

1 材料与方法

以改良 Ogura CMS大白菜分别与羽衣甘蓝、甘蓝型油菜杂交授粉后 3~20 d的子房为试材, 用石蜡切片法检测胚胎发育, 切片厚度 8 μm。

子房灭菌后取胚珠在 MS+BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L上培养, pH 5.8, 温度 (25 ±2) °C, 光照 1 000~1 500 lx, 16 h/d。

胚珠发育天数试验中, 培养基附加琼脂 6.5 g/L。

收稿日期: 2006-10-30; 修回日期: 2007-01-22

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究计划资助项目 (20040329)

培养条件试验中, 采用授粉后 9~10 d 外形饱满的胚珠, 设液体振荡 (转速 100~200 r/min)、水解酪蛋白 (300 mg/L)、琼脂 (6.5 g/L)、花器附属物 (母本花萼及雌蕊)、酵母粉 (100 mg/L) 等处理, 重复 3 次。

2 结果分析与讨论

2.1 种间杂合胚胎发育

大白菜与羽衣甘蓝杂合胚在授粉后第 3 天发育至 4-细胞原胚, 胚乳开始稍稍细胞化 (图版, 1)。

第 7 天胚发育至多细胞球形, 胚乳明显细胞化 (图版, 2)。

第 10 天珠心组织急剧膨胀, 珠心细胞出现坏死。

第 12 天胚乳细胞占满了整个胚囊空间, 胚被挤压成椭球体, 胚周围染色加深, 呈现了较高的电子密度 (图版, 3), 胚乳细胞壁加厚, 整个胚珠外形凹陷皱缩。

第 16 天胚被急剧挤压, 珠心组织整个瓦解, 胚珠外形皱缩干瘪。至此, 受精胚胎不能继续发育而夭亡。

相比较之下, 大白菜与甘蓝型油菜杂合胚在授粉后第 5 天已发育至 8-细胞原胚, 胚乳呈游离核状态 (图版, 4)。

第 11 天发育至早期心形, 胚乳仍呈游离核状态, 在胚囊珠孔区出现胚乳核及核周细胞质的结节状聚集 (图版, 5), 像吸器一样供给胚营养。

由此可见, 种间生殖隔离较小的基本种大白菜与复合种甘蓝型油菜间杂合胚胎发育较为正常, 而种间生殖隔离较大的两基本种间杂合胚胎发育迟滞, 胚乳细胞不能适时解体, 断绝了胚发育的直接营养来源, 还占据了胚的生长空间, 使胚被挤压和受饥饿而夭亡。珠心组织过度膨胀和坏死也阻碍了营养物质运输 (Mohapatra, 1986)。

2.2 胚珠离体培养

经解剖发现, 子房内的受精胚珠与未受精胚珠在色泽、形状等方面明显不同, 受精胚珠大而饱满 (图版, 6)。

不同日龄子房中受精胚珠数及胚珠外形特征不同: 子房日龄越小, 其内存留的受精胚珠越多, 越圆润, 颜色越绿而半透明; 子房日龄越大, 胚珠越凹陷皱缩, 颜色越黄。

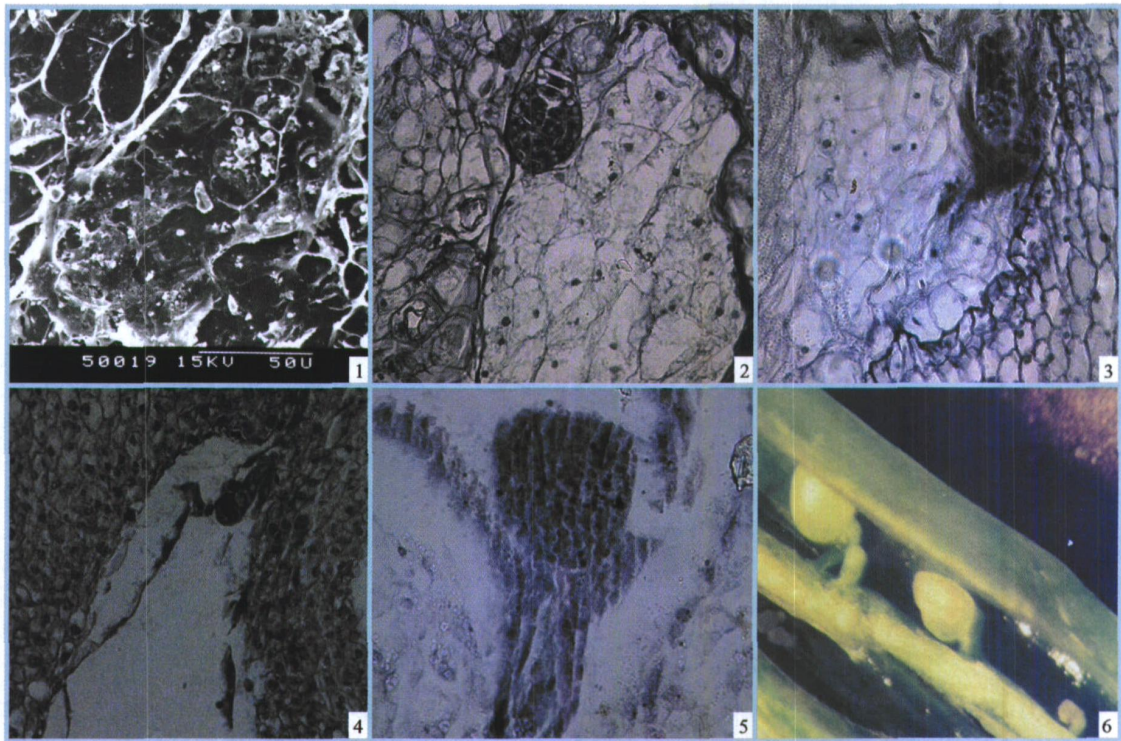
授粉后 20 d 以上的胚珠已近干瘪, 多仅在子房假隔膜处留下遗迹。

日龄 6~17 d 的受精胚珠在培养基上培养月余后, 均可不同程度地获得实生小苗。其中 9~11 d 的胚珠成苗率最高, 为 11.11%, 此时胚珠外表黄润, 微凹陷。其次为 12~14 d 的胚珠 (成苗率 5.36%)。授粉后 18 d 以上的胚珠未见成苗。

方差分析及多重比较结果表明, 不同培养条件下受精胚珠成苗率不同。液体振荡培养平均成苗率最高, 为 14.10%。这可能是由于液体振荡培养可以使胚珠与培养基密切接触, 促进了胚珠对营养成分的吸收, 也促进了椭圆形胚珠的均匀发育。李明山等 (1992) 在大白菜与萝卜杂交幼胚挽救时得到了类似的结果。

添加琼脂、水解酪蛋白、花器附属物各处理间差异不显著, 成苗率 8.75%~8.89%。酵母粉效果最差 (8.33%), 这可能与市售质量有关。

试验共离体挽救了 654 个胚珠, 获得了 39 株后代, 其叶片均具蜡粉, 叶缘皱褶或微波, 莲座期低温下心叶浅红或浅紫, 叶脉红或紫, 即出现了明显的父本性状; 春化特性也居于双亲之间, 为预期种间杂种。



图版说明：1. 4-细胞原胚及胚乳核周细胞壁；2. 多细胞球形胚及胚乳细胞化程度；3. 胚乳细胞及椭圆球形胚；4. 8-细胞原胚及游离核胚乳；5. 心形早期胚，游离核胚乳及细胞质；6. 受精胚珠（授粉后第6天）。

Explanation of plates: 1. 4-cell embryo, endosperm nuclei were surrounded by walls; 2. Multicellular spherical embryo, endosperm walls were obvious; 3. Endosperm filled the whole sac, and the embryo was crushed to be an ellipsoid; 4. 8-cell immature embryo and endosperm nucleus; 5. Early heart embryo, endosperm nucleus and tubercle cytoplasm; 6. Ovules fertilized (6th d after pollination).

References

- Li Ming-shan, Suo Yu-ying, Zhou Chang-jiu. 1992. Study on culture in vitro of hybrid embryos between Chinese cabbage and radish. *Acta Horticulturae Sinica*, 19 (4): 353 - 357. (in Chinese)
- 李明山, 索玉英, 周长久. 1992. 大白菜与萝卜属间杂种幼胚离体培养的研究. *园艺学报*, 19 (4): 353 - 357.
- Mohapatra D. 1986. Hybridization in *Brassica juncea* \times *B. campestris* through ovule culture. *Euphytica*, 37 (1): 83 - 88.
- Zhu Peng-fang, Wei Yu-tang. 2004. Preliminary results on interspecific cross between Chinese cabbage and kale. *China Vegetables*, (3): 9 - 11. (in Chinese)
- 祝朋芳, 魏毓棠. 2004. 大白菜和羽衣甘蓝种间杂交研究. *中国蔬菜*, (3): 9 - 11.
- Zhu Peng-fang, Wei Yu-tang. 2006. Studies on interspecific cross compatibility between *Ogura Brassica campestris* ssp. *pekinensis* and *B. oleracea* var. *acephala*. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (5): 1090 - 1092. (in Chinese)
- 祝朋芳, 魏毓棠. 2006. *Ogura* 胞质大白菜与羽衣甘蓝种间杂交的亲本性. *园艺学报*, 33 (5): 1090 - 1092.