

# 大白菜应用小孢子培养应注意的问题

轩正英

(塔里木大学 植物科技学院, 新疆 阿拉尔 843300)

**摘 要:**综述了白菜育种中应用游离小孢子培养技术所应注意的基因型和供体植株的选择、挑选合适大小的花蕾、植株再生以及移栽技术、倍性鉴定等问题,以便提高该技术在白菜育种工作中利用的成功率和效率。

**关键词:**大白菜;游离小孢子;培养技术

**中图分类号:**S 634.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2007)09—0065—02

大白菜属于异花授粉作物,其杂种优势十分明显。近年来,常规育种的不足在实际工作中日渐明显,因此,各国学者开始寻找育种的新途径、新方法。游离小孢子培养技术是近年来兴起的一门加快育种进程的新方法。它具有单细胞、单倍体和较高胚胎发生率及较高同步性等特点,通过这种途径可以迅速获得纯合亲本系统,大大加快育种进程。因此,该技术近几年被广大育种工作者广泛利用。但仍有一些方面需要进一步改进和提高,育种工作中利用小孢子培养技术应注意以下问题。

## 1 选择合适的材料

不同基因型材料的出胚率差异很大。近年来,虽然在胚状体诱导技术上有了很大的进步,但基因型对小孢子出胚率还有着决定性的影响。有些材料很容易得到胚状体,而有些材料出胚率特别低或者不能出胚。一般来说选用南方早熟品种和卵圆品种出胚率较高,而北方品种出胚率很低或不能出胚。张凤兰等<sup>[1]</sup>提出用出胚率高的品种和不易出胚品种杂交,用其后代来进行游离

小孢子培养,从而提高不易出胚品种的出胚率。目前利用游离小孢子培养技术还不能达到想要什么材料就能获得什么材料的地步,还需要进一步研究出胚的机理以及提高出胚率的方法。

## 2 植株状态

植株状态对出胚率有很大的影响。一般健壮植株上的小孢子活力好,成活率高,而老弱病的母体植株的成胚率明显低于健壮植株。申书兴<sup>[2]</sup>研究表明,在植株处于初花期过后末花期以前这段时间采集适宜花蕾,并配合实施连续摘除将开花花蕾,可明显提高大白菜小孢子胚胎发生率。这可能与花蕾发育有较充足的营养供给,从而花蕾内小孢子发育同步性和细胞生理活性得到提高有关。

## 3 小孢子发育时期对胚状体发生的影响

小孢子发育时期对胚状体发生率有直接影响。一般用花蕾长度、花瓣长/花药等确定小孢子发育时期。曹鸣庆<sup>[3]</sup>等研究了大白菜蕾长与小孢子发育进程的关系。当蕾长为2.0~2.5 mm时,小孢子胚发生率最高,此时小孢子处于单核中期至单核靠边期。因此,严格挑选适宜时期的小孢子是能否培养成功的关键问题之一。在实际进行操作的时候,应该严格进行镜检来确定合适

作者简介:轩正英(1979-),女,讲师,硕士,主要从事蔬菜遗传育种方面的研究工作。  
收稿日期:2007—05—08

[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(24): 6465-6466.

[29] 索志立. 牡丹品种鉴定用 ISSR 引物的筛选与开发 [J]. 生物技术通报, 2006(183): 342-346.

[30] 周兴文, 杨秋生, 李永华. 牡丹基因组 AFLP 银染反应体系的建立和优化 [J]. 河南农业大学学报, 2006(6): 34-38.

[31] 侯小改, 尹伟伦, 李嘉珏, 等. 牡丹矮化品种亲缘关系的 AFLP 分析 [J]. 北京林业大学学报, 2006(5): 73-77.

[32] 侯小改, 尹伟伦, 李嘉珏, 等. 部分牡丹品种遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(8): 1709-1715.

[33] 刘萍, 王子成, 尚富德. 河南部分牡丹品种遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 园艺学报, 2006(6): 199-202.

[34] Sang T, Donoghue M J, Zhang D. Evolution of alcohol dehydrogenase genes in peonies (Paeonia): phylogenetic relationships of putative nonhybrid species. Mol Biol Evol, 1997, 14: 994-1007.

[35] Tank D C, Sang T. Phylogenetic utility of the glycerol-3-phosphate acyltransferase gene: evolution and implications in Paeonia (Paeoniaceae) [J]. Mol Phylogenet Evol 2001, 19(3): 421-429.

[36] 赵宣, 周志钦, 林启冰, 等. 芍药属牡丹组 (Paeonia sect. Moutan) 种间关系的分子证据: GPAT 基因的 PCR-RFLP 和序列分析 [J]. 植物分类学报, 2004, 42 (3): 236-244.

的小孢子发育时期。一般说来,在进行一次严格镜检后,在3~5 d内可以不用再进行,可根据镜检结果来确定合适大小的花蕾进行培养。

#### 4 胚状体发生以及植株再生

一般培养2~3 d可见小孢子第一次分裂,7~10 d或20 d左右能见到球形胚和心形胚,随后可形成鱼雷形、子叶形胚。当各种类型的胚状体转移到改良的MS培养基或B5培养基时,其再生植株的能力有很大差异。子叶型、鱼雷形胚再生胚率高,心形胚少数能再生植株,球形胚和异常胚不能进一步发育。所以将合适大小的胚状体及时转移到分化培养基是提高成苗率的关键。

周伟军<sup>[4]</sup>发现胚状体转移到固体培养基后立即进行低温诱导(2℃),常温(24℃)光下培养能很好地萌发并直接、迅速地再生成苗,继代后可长成完全正常的再生植株。低温诱导处理10 d其萌发胚率和成苗率均显著高于无低温处理的品种。

#### 5 植株移栽成活率的影响

游离小孢子培养诱导获得的植株,能否成功移栽是进一步研究的关键。外界温度高时,大白菜由于蒸腾作用太剧烈,所以成活率很低;应尽量避免高温季节,在比较凉爽的季节移栽,试管苗成活率高。试管苗因为适应较高的湿度,刚从试管中移栽出的幼苗,保证其湿度是提高其成活率的重要措施。所以,需要在营养钵上覆盖塑料膜,保证足够的湿度。试管苗由于生长较弱,在移栽前,应在培养室练苗2~3 d,然后在室内自然光条件下练苗4 d后才开始移栽。一旦移栽成活应逐渐让其接受较多的光照,以促进根系的发育。一般晴天移栽大白菜试管苗成活率高。在小孢子试管苗的继代越冬培养过程中将小孢子植株放入光照培养箱中低温处理,可以对试管苗起到练苗的作用,提高植株移栽成活率。一般来说,根系发达、节间短、茎粗壮的试管苗移栽易成活,弱

小的以及根系老化的组培苗移栽成活率低。

#### 6 再生株倍性的鉴定

张凤兰等<sup>[5]</sup>研究白菜由小孢子培养得到的植株有自然加倍成为二倍体植株的特点。虽然大白菜的自然加倍率很高,但仍有很多再生株为单倍体植株,这些植株无法得到其后代种子。因此,研究出简便的鉴定再生株倍性的方法非常重要。一般看来,鉴定倍性的方法主要有植株形态特征鉴定法、气孔及保卫细胞鉴定法、花粉活力鉴定法、染色体数目鉴定法等。植株形态特征鉴定法无需任何仪器设备,十分实用,但由于受个人经验水平的限制,鉴定结果差异很大。花粉生活力检测很大程度地受到嵌合植株和非整倍体的干扰。现在有人采用流式细胞仪进行倍性鉴定,结果比较准确,但现今具备此条件的单位还不多。由此可见利用染色体数目观察方法还是现今最实用的方法。但由于科技以及科研条件的进步,流式细胞仪一定会得到广泛的应用,今后还会出现更先进更方便准确的方法。

综上所述,在白菜育种中应用游离小孢子培养技术,应注意基因型和供体植株的选择、挑选合适大小的花蕾、植株再生以及移栽技术、倍性鉴定等问题,以便提高该技术在白菜育种工作中利用的成功率和效率。

#### 参考文献

- [1] 张凤兰,高田义.甘蓝型油菜小孢子培养胚发生能力的遗传分析[J].华北农学报,2001,16(1):27-32.
- [2] 申书兴,梁会芬.提高大白菜小孢子胚胎发生及植株获得率的几个因素研究[J].河北农业大学学报,1999,22(4):65-68.
- [3] 曹鸣庆,李岩,刘凡.基因型和供体植株生长环境对大白菜游离小孢子胚胎发生的影响[J].华北农学报,1993,8(4):1-6.
- [4] 周伟军,毛碧增.秋水仙碱及热击与低温诱导对油菜小孢子胚状体成苗率的影响[J].作物学报,2002,28(3):369-373.
- [5] 张凤兰,钉贯靖久.大白菜小孢子再生植株自然加倍率的探讨[J].北京农业科学,1993,11(2):23-25.

## Problems for Isolated Microspores Culture of Chinese Cabbage

XUAN Zheng-ying

(Institute of Plant Science and Technology; Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China)

**Abstract:** The existing problems for applying isolated microspores culture techniques to Chinese cabbage breeding, including selection of genotype and donor plant, picking of optimal sized flower buds, techniques for plant regeneration and transplanting, identification of chromosome configuration were summarized. In order to improve the efficiency of isolated microspores culture techniques in Chinese cabbage breeding.

**Key words:** Chinese cabbage; Isolated microspores; Culture technique