

## 甘蓝与菜心中间杂种 F<sub>1</sub> 代花药培养初报

梁红 何丽贞 覃广泉

(仲恺农业技术学院, 广州 510225)

花药培养和小孢子培养是大量获得单倍体和纯合二倍体的主要方法之一。在芸苔属中,花药培养和小孢子培养已在白菜 (*B. Pekinensis*)、甘蓝 (*B. oleracea*)、油菜 (*B. napus*)、芥菜 (*B. juncea*) 和阿比西尼亚芥 (*B. carinata*) 等蔬菜中有许多成功的报道,并在培养条件、基因型作用、培养基选择和供体植株选择等方面有较深入的研究<sup>[2,3,5,7-11]</sup>,但种间杂种 F<sub>1</sub> 代的花药培养尚未见报道。为了探讨芸苔属种间杂种花药培养的可能性,获得有价值的异源染色体杂种,我们开展了本研究工作。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 试验材料

购自广东省种子公司的早秋甘蓝 (*Brassica oleracea* subsp. *capitata* L., 2n=18, CC, 日本进口) 和 60 天菜心 (*B. parachinensis* Bailey, 2n=20, AA, 广州产)。甘蓝 (1990 年 9 月初播种) 和菜心 (1991 年 1 月下旬播种) 均盆栽于网室中供试。

#### 1.2 杂交和杂种胚培养

杂交于 1991 年 3 月—5 月进行,开花前 1, 2 天去雄套袋,开花时授粉,参照以前的方法<sup>[1,4,5]</sup>,杂交授粉后 20—25 天解剖角果取杂种胚培养于改良 White 培养基上,附加 3%蔗糖和 0.8%琼脂。共获甘蓝与菜心杂种 F<sub>1</sub> 代植株 5 株。

#### 1.3 花药培养

杂种 F<sub>1</sub> 代的花药培养于 1991 年 10 月至 1992 年 2 月进行,取长 2—3mm 的花蕾 (小孢子单核期) 在 0—4℃ 下预处理 2—4 天,经 0.1%HgCl<sub>2</sub> 消毒 15 分钟后剥蕾取花药,培养于下列培养基上:(a). H+BA 0.05mg/L+NAA 1.0mg/L+蔗糖 120g/L+琼脂 8g/L; (b). H+BA 1.6mg/L+NAA0.5mg/L+2, 4-D 0.5mg/L+蔗糖 120g/L+琼脂 8g/L; (c). MS+BA 1.0mg/L+NAA 2.0mg/L+2, 4-D 2.0mg/L+蔗糖 60g/L+琼脂 8g/L; (d) MS+BA 1.0mg/L+NAA2.0mg/L+2, 4-D2.0mg/L+GA<sub>3</sub> 2.0mg/L+CH 300mg/L+蔗糖 60g/L+琼脂 8g/L; (e) MS+BA 1.0mg/L+NAA 4.0mg/L+2, 4-D 2.0mg/L+蔗糖 60g/L+琼脂 8g/L。

每个 100ml 三角瓶装 40ml 培养基,接种花药 60 个,室温培养,自然光照 (散射光)。花药培养约 22 天后陆续长出愈伤组织,愈伤组织转移至分化培养基 MS+IBA 0.2mg/L+BA 2.0mg/L+蔗糖 20g/L+琼脂 8g/L 中分化成苗,幼苗 5 片叶时移栽于小花盆中,一个月后转大花盆栽于网室中。

#### 1.4 染色体制片

取生长健壮的根尖,用 0.002mol/L 的 8-羟基喹啉水溶液预处理 4 小时,卡诺氏液固定 4 小时后转入 70%酒精中保存。常规压片法制片,醋酸洋红染色。

本工作得到广东省自然科学基金资助。  
本文于 1993 年 7 月 9 日收到。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同培养基对花药培养的影响

杂种花药在 5 种培养基中都有一定的生长, 膨大达原体积的 2—3 倍, 但只有少数花药能诱导出愈伤组织。每种培养基各接种 5 瓶共 300 个花药, 愈伤组织诱导率分别为: 培养基 (a) 4.33% (13 个); (b) 0.67% (2 个); (c) 7.00% (21 个); (d) 3.33% (10 个); (e) 4.00% (12 个)。经分化培养, 只有来自培养基 (c) 的愈伤组织分化出 3 株小苗, 盆栽于网室中, 成活 2 株。从基本培养基看, MS 有较高的愈伤组织诱导率。比较培养基 (c)、(d) 和 (e), 可以看出附加 GA<sub>3</sub> 和提高 NAA 浓度均对愈伤组织诱导不利。

### 2.2 花粉植株的性状表现

花粉植株 1992 年 6 月盆栽于网室, 均在同年 11 月上旬开花, 根尖细胞染色体数分别为 17 (花培 1 号) 和 34 (花培 2 号), 见图 1。



图 1 甘蓝×菜心 F<sub>1</sub> (2n=19, A)、花培 1 号 (n=17, B) 和花培 2 号 (2n=34, C) 根尖细胞染色体

两植株叶型和株型介于双亲之间, 叶色浓绿, 不结球, 表现出杂种性状。比较起来, 花培 1 号生长较慢, 器官小, 株矮, 花药萎缩, 不能自交, 回交不育, 表现出典型的单倍体特性 (图版 1-3, 5)。花培 2 号生长正常, 植株和器官较大, 自交结实率为每果种子  $2.00 \pm 1.09$  粒, 回交菜心结实率为每果种子  $16.58 \pm 4.21$  粒, 回交甘蓝结实率为每棵  $0.20 \pm 0.42$  粒, 表现出二倍体特性 (图版 1-2, 4)。由于花培 1 号和花培 2 号供体株相同, 基本性状相似, 染色体数目呈倍数变化, 故可初步确定花培 1 号为单倍性非整倍体。花培 2 号为其自然加倍的二倍性非整倍体。两花粉植株均保持杂种性状, 因而进一步确定其染色体的亲本来源, 将是十分有意义的。花培 2 号表现出高度自交不亲和性, 在杂种优势利用上有一定价值, 我们将继续进行研究。

## 参 考 文 献

- [1] 梁 红, 冯 午. 园艺学报, 1990, 17: 203—210.
- [2] Chen J L and Beversdorf W D. Euphytica, 1991, 58: 145—155.
- [3] Chiano M S *et al.* Acta Horticulture, 1990, 280: 321—328.
- [4] Inomata N, Japan J Breed, 1976, 27: 295—304.

- [5] Leela George and Rao P S, *Plant Sci Letters*, 1982, 26: 111--116.  
[6] Nishi S. *Japan J Breed*, 1959, 8: 218--222.  
[7] Ockendon D J. *Ann Appl Biol*, 1988, 113: 319--329.  
[8] Phan V *et al.* *Plant Science*, 1985, 39: 219--226.  
[9] Takakata Y *et al.* *Euphytica*, 1991, 58: 51--55.  
[10] Takakata Y *et al.* *Plant Science*, 1991, 74: 235--242.  
[11] 杨增海. 园艺作物组织培养, 北京: 农业出版社, 1987, pp209--225.

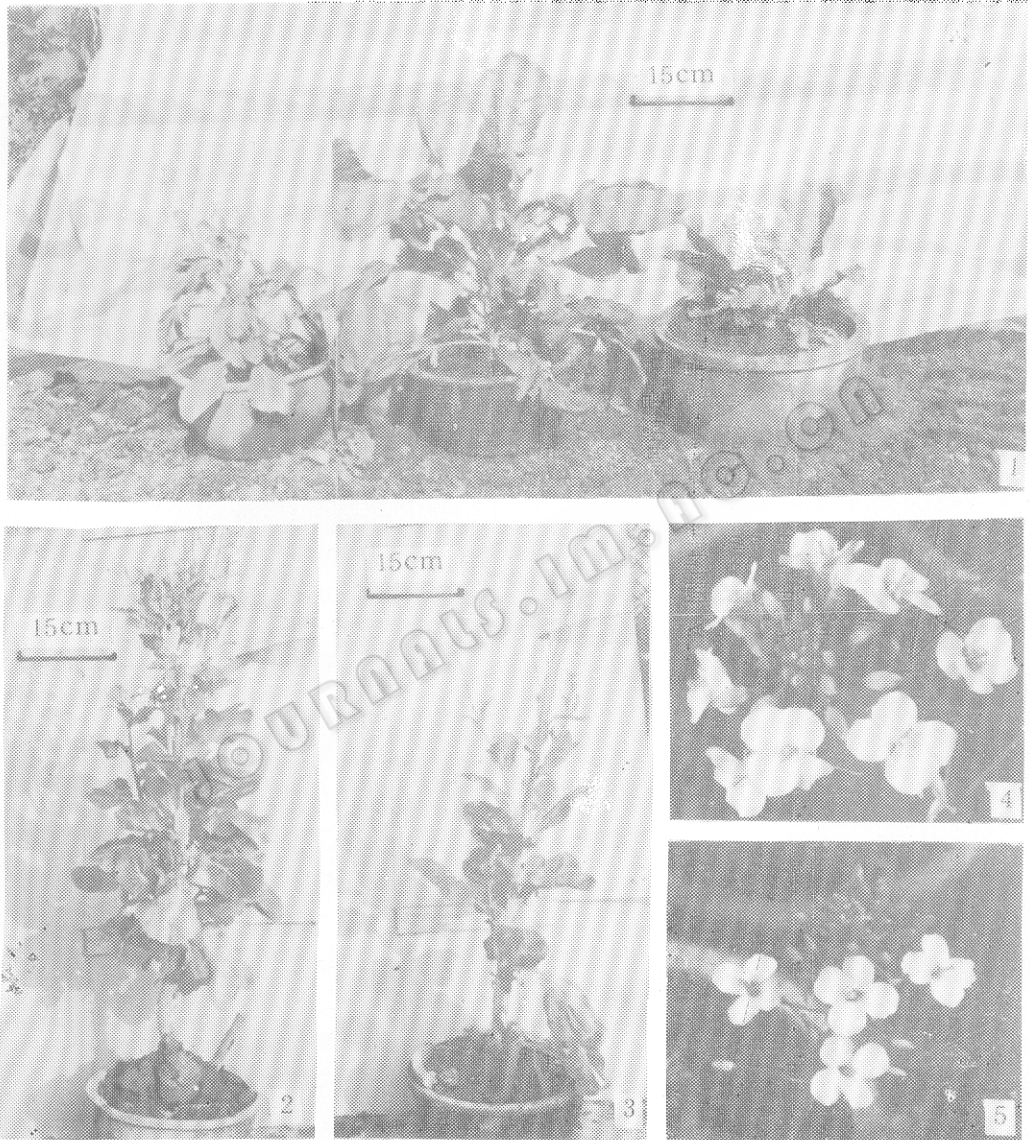
## The Anther Culture of the F<sub>1</sub> Hybrids Between *Brassica oleracea* and *Brassica parachinensis*

Liang Hong      He Lizhen      Qin Guangquan

(*Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou 510225*)

**Abstract** By means of pollinating bud stigma and hybrid embryo culture the F<sub>1</sub> hybrids between *Brassica oleracea* and *B. parachinensis* was obtained. Two anther regeneration plants were obtained by cultivating the anthers of the F<sub>1</sub> hybrids on media MS+2, 4-D 2.0mg/L+NAA 2.0mg/L+BA 1.0mg/L+sucrose 60g/L+agar 8g/L. There were 17 and 34 chromosomes in root tip cells of regeneration plants, respectively. The plant with 17 chromosomes was shorter than the plant with 34 chromosomes and had smaller flowers. This plant showed highly sterile. The plant with 34 chromosomes grew and fertilized normally. Both plants showed hybrid nature in morphology and similar in leaf shape, leaf colour and plant shape. According to these, we affirm that the plant with 17 chromosomes is mono-aneuploid and the plant with 34 chromosomes is di-aneuploid.

**Key words** *Brassica parachinensis*, interspecific hybrid, anther culture



1. *B. parachinensis*, *B. oleracea* × *B. parachinensis*, *B. oleracea* (let to right)  
2. Anther plant No. 2, 3. Anther plant No. 1  
4. Flower of anther plant No. 2  
5. Flower of anther plant No. 1