

# 不同基因型对白菜子叶培养不定芽再生的影响

张凤兰<sup>1</sup>, 高田义人<sup>2</sup>, 徐家炳<sup>1</sup>

(1. 北京市蔬菜研究中心, 北京 100089; 2. 日本国立岩手大学 农学部, 盛冈 020- 8550)

**摘要:** 探讨了基因型对白菜子叶培养不定芽再生的影响。结果表明, 不同基因型的不定芽再生率和平均每子叶生芽数差异极大, 在被检索的 123 个大白菜和 20 个小白菜品种中, 芽再生率为 0~ 97.5%, 平均每子叶生芽数为 1.0~ 10.7 个。17 个大白菜和 5 个小白菜品种的不定芽再生率在 80% 以上。芽再生率与品种起源地、结球类型及熟性无相关。

**关键词:** 大白菜; 小白菜; 基因型; 子叶培养

中图分类号: S634.3 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2002) 03- 0064- 06

白菜包括结球白菜和不结球白菜, 是我国重要的蔬菜作物之一, 在蔬菜周年供应中起着重要作用。通过六五以来的协作攻关, 我国在白菜杂交品种选育、抗病育种等方面取得较大进展。近年来, 基因工程技术的开发为作物品种改良开辟了新的途径, 但利用该项技术首先要建立一个高效组织培养和基因转化系统, 因为用农杆菌进行基因转化的效率受两个因素影响, 一是农杆菌感染外植体的频率, 二是被感染组织的再生频率<sup>[1]</sup>。

众所周知, 组织培养受基因型的影响很大, 基因型对不定芽再生频率的影响在大白菜和甘蓝型油菜的小孢子培养<sup>[2,3]</sup>、甘蓝型油菜和萝卜的子叶培养<sup>[4,5]</sup>及水稻的花药培养<sup>[6]</sup>等都有报道。本研究探讨了大白菜和小白菜基因型对子叶培养不定芽再生的影响, 找出不定芽再生率较高的品种, 为建立白菜基因转化系统提供选材指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

对从中国和日本搜集的 123 个大白菜品种和 20 个小白菜品种(表 1, 2)进行了子叶培养。其中, 国内品种 81 个, 日本品种 62 个。国内品种是由北京蔬菜研究中心从各地搜集的, 日本品种由日本泷井、坂田、协和和野崎种苗公司提供。

### 1.2 培养方法

子叶培养参照 Ono 等<sup>[4]</sup>的方法进行。将种子用体积百分数为 70% 的酒精表面杀菌 30 s, 后用含有效 Cl<sup>-</sup> 1% 的 NaClO 溶液灭菌 15 min, 用无菌蒸馏水洗 3 次, 每次 5 min。将种子播于含有 20~ 25 mL MS 培养基(0.8% 琼脂)、直径 90 mm 的培养皿中, 每皿 20 粒。发芽 4 d 后, 切下带叶柄 1~ 2 mm 的子叶插入装有 40~ 45 mL 芽再生培养基的培养皿中, 每皿 10 片。芽再生培养基为 MS 培养基中加入 5 mg/L BA(6-苄氨基嘌呤), 0.5 mg/L NAA(萘乙酸)和 2 mg/L AgNO<sub>3</sub>, 并用 0.8% 琼脂固化。培养 14~ 28 d 后, 调查子叶不定芽再生率和平均

每子叶产生的不定芽数。每个处理重复 3~ 4 次。

2 结果与分析

2.1 大白菜基因型对子叶培养芽再生的影响

123 个大白菜品种子叶培养的不定芽再生率和每子叶平均再生不定芽数列于表 1。其中 115 个品种有不定芽再生，再生率由 95- 4，郑杂二号，早丰 60 和山东 6 号的 2. 5% 到华阳 3 号，93- 3，91- 15 的 95%，基因型间再生率差异极大；有 8 个品种无不定芽再生。11 个中国品种( 华阳3 号，93- 3，91- 15，北京 80 号，北京新二号，新早 89- 8，大青口核桃

表 1 大白菜品种来源、特性及子叶培养不定芽再生情况

序号	品种名称	球型	生育期 ( d)	来 源	芽再生率 ( %)	每子叶平均 芽数
1	华阳 3 号	叠	40	山东大白菜良种服务中心	95. 0	3. 8
2	93- 3	拧	70	北京蔬菜研究中心	95. 0	5. 3
3	91- 15	叠	85	北京蔬菜研究中心	95. 0	5. 5
4	CR 黄健 65	合	65	日本协和种苗	92. 5	7. 9
5	CR 新黄	合	75	日本泷井种苗	90. 0	10. 7
6	北京 80 号	青麻叶	80	北京蔬菜研究中心	87. 5	8. 0
7	北京新二号	叠	85	北京蔬菜研究中心	86. 7	6. 3
8	新早 89- 8	叠	60	河南新乡市农科所	86. 7	7. 2
9	优黄	合	65	日本泷井种苗	85. 0	9. 5
10	メ 70	青麻叶	70	日本泷井种苗	83. 3	5. 2
11	湘南 2 号	合	65	日本坂田种苗	83. 3	8. 6
12	大青口核桃纹	叠	90	北京地方品种	83. 3	7. 1
13	北京 66 号	叠	65	北京蔬菜研究中心	82. 5	4. 3
14	弘法	合	65	日本泷井种苗	80. 0	4. 8
15	95- 3	合	70	北京蔬菜研究中心	80. 0	8. 0
16	新乡 90- 3	青麻叶	80	河南新乡市农科所	80. 0	4. 7
17	临选 3 号	叠	75	山东潍坊市农科所	80. 0	4. 9
18	黄ころろ	合叠	75	日本泷井种苗	76. 7	8. 7
19	丰收 90	叠	90	浙江温州市蔬菜种子公司	72. 7	5. 3
20	92- 3	叠	65	北京蔬菜研究中心	70. 0	2. 1
21	大兴核桃纹	青麻叶	90	北京地方品种	66. 7	7. 8
22	ほまれ	合叠	65	日本泷井种苗	65. 0	6. 1
23	津绿 75	青麻叶	75	天津农科院蔬菜所	65. 0	3. 9
24	青海	叠	60	日本坂田种苗	65. 0	2. 8
25	新あづま	舒	90	日本泷井种苗	63. 3	4. 5
26	夏宝	叠	60	日本泷井种苗	63. 3	7. 8
27	早熟 5 号	叠	55	浙江农科院蔬菜所	63. 3	3. 6
28	玉杯	合	80	日本泷井种苗	60. 0	4. 9
29	さくみどり 3 号	合叠	65	日本泷井种苗	60. 0	4. 7
30	94- 2	叠	55	北京蔬菜研究中心	60. 0	5. 3
31	健春	合	70	日本泷井种苗	57. 5	5. 5
32	H isfu 早 30 天	叠	40	台湾	55. 0	2. 1
33	95- 2	叠	55	北京蔬菜研究中心	53. 3	3. 8

续表

序号	品种名称	球型	生育期 ( d )	来 源	芽再生率 ( % )	每子叶平均 芽数
34	CR 黄健 75	合	75	日本协和种苗	53. 3	3. 4
35	92- 2	叠	55	北京蔬菜研究中心	53. 3	2. 2
36	英勋	合	65	日本泷井种苗	52. 5	4. 9
37	金将	合	85	日本泷井种苗	52. 5	6. 3
38	北京新一号	叠	85	北京蔬菜研究中心	52. 5	3. 6
39	北京小杂 61 号	叠	60	北京蔬菜研究中心	50. 0	2. 7
40	耐病花心	舒	85	日本协和种苗	50. 0	4. 4
41	牡丹江 2 号	舒	80	牡丹江市农科所	50. 0	5. 0
42	北京新三号	叠	80	北京蔬菜研究中心	50. 0	3. 9
43	潍白一号	叠	50	山东潍坊市蔬菜所	50. 0	3. 5
44	91- 6	叠	65	北京蔬菜研究中心	46. 7	8. 8
45	大青麻叶	青麻叶	90	天津地方品种	46. 7	4. 3
46	95- 5	青麻叶	90	北京蔬菜研究中心	45. 0	3. 2
47	95- 1	叠	60	北京蔬菜研究中心	43. 3	2. 6
48	王将	合叠	85	日本泷井种苗	42. 5	8. 1
49	晚钟	合	90	日本协和种苗	42. 5	5. 7
50	92- 3	叠	65	北京蔬菜研究中心	42. 5	4. 0
51	玉田包尖	青麻叶	90	河北地方品种	42. 5	6. 6
52	龙协白 5 号	合	80	黑龙江农科院园艺所	42. 5	4. 9
53	无双	合	70	日本泷井种苗	40. 0	5. 0
54	锦秋	合	75	日本泷井种苗	40. 0	6. 4
55	北京 70 号	合	70	北京蔬菜研究中心	40. 0	6. 5
56	八千代	合叠	90	日本坂田种苗	40. 0	3. 0
57	北京 67 号	合	70	北京蔬菜研究中心	40. 0	3. 1
58	冬峠	合	90	日本泷井种苗	36. 7	3. 9
59	明菜	合	60	日本协和种苗	33. 3	2. 9
60	晚辉	合	90	日本泷井种苗	32. 5	3. 1
61	初风	合	70	日本坂田种苗	32. 5	3. 7
62	北京小杂 50 号	叠	50	北京蔬菜研究中心	30. 0	2. 8
63	94- 3	叠	50	北京蔬菜研究中心	30. 0	4. 2
64	绿味	合	90	日本协和种苗	30. 0	4. 0
65	91- 48	舒	90	山东农科院蔬菜所	30. 0	2. 8
66	舞风	合叠	85	日本坂田种苗	30. 0	3. 1
67	丰研上将	叠	45	山东诸城市丰达种苗研究所	30. 0	3. 1
68	华阳白	叠	55	山东省大白菜良种服务中心	30. 0	2. 8
69	乡风	合	85	日本坂田种苗	27. 5	5. 9
70	高远	合叠	70	日本协和种苗	27. 5	4. 9
71	彩黄	合	85	日本坂田种苗	26. 7	3. 1
72	牡丹江 1 号	舒	80	牡丹江市农科所	26. 7	3. 8
73	83- 1	合	70	山东潍坊市农科所	26. 7	3. 5
74	北京小杂 57 号	叠	55	北京蔬菜研究中心	25. 0	2. 8
75	山东 7 号	叠	85	山东潍坊市农科所	25. 0	3. 8
76	牡丹江 3 号	舒	80	牡丹江市农科所	23. 3	4. 1
77	胶白 4 号	合	60	山东胶州大白菜研究所	23. 3	2. 3
78	京秋 80	叠	80	北京蔬菜研究中心	23. 3	2. 1

续表

序号	品种名称	球型	生育期 (d)	来 源	芽再生率 (%)	每子叶平均 芽数
79	中青麻叶	青麻叶	80	天津地方品种	23.3	2.7
80	东农 901	合	80	东北农业大学园艺系	22.5	2.8
81	鲁光 18	合	90	山东商河县大白菜良种服务中心	22.5	2.1
82	秦白 2 号	叠	85	陕西农科院蔬菜所	22.5	2.3
83	北京小杂 51 号	拧	55	北京蔬菜研究中心	20.0	3.1
84	野崎春蒔 1 号	叠	60	日本野崎种苗	20.0	3.6
85	满风	合	70	日本坂田种苗	20.0	3.8
86	龙协白 3 号	合	85	黑龙江农科院园艺所	20.0	3.0
87	鲁白 6 号	叠	60	山东潍坊市农科所	20.0	4.1
88	改良青杂 3 号	叠	85	山东胶州大白菜研究所	20.0	4.1
89	Ho mei	叠	50	台湾	20.0	3.3
90	白荣	合	60	日本协和种苗	17.5	4.5
91	胶白 1 号	叠	85	山东胶州大白菜研究所	16.7	1.8
92	95- 202	叠	80	北京蔬菜研究中心	16.7	2.2
93	93- 6	叠	75	北京蔬菜研究中心	16.7	2.7
94	空海 70	合	70	日本泷井种苗	16.7	4.2
95	夏王 45	叠	45	山东临朐县蔬菜良种场	15.0	3.6
96	秋光 9 号	叠	70	山东商河县大白菜良种服务中心	13.3	6.5
97	青云	合	90	日本坂田种苗	13.3	3.7
98	93- 4	合	70	北京蔬菜研究中心	12.5	2.7
99	北京小杂 60 号	叠	60	北京蔬菜研究中心	12.5	3.4
100	北京小杂 55 号	舒	55	北京蔬菜研究中心	12.5	4.1
101	秋丰	舒	95	山东商河县大白菜良种服务中心	10.0	2.7
102	秋光 50	叠	55	山东商河县大白菜良种服务中心	10.0	4.2
103	野崎 2 号	叠	70	日本野崎种苗	10.0	5.7
104	北京小杂 56 号	舒	55	北京蔬菜研究中心	10.0	2.5
105	中华春秋	舒	60	山东商河县大白菜良种服务中心	7.5	1.7
106	丰研小将	叠	40	山东诸城市丰达种苗研究所	5.0	2.5
107	95- 7	叠	85	北京蔬菜研究中心	5.0	3.5
108	富风	合叠	80	日本坂田种苗	5.0	1.0
109	としこし	合叠	85	日本坂田种苗	5.0	3.5
110	鲁白 8 号	叠	70	山东胶州大白菜研究所	3.3	2.0
111	92- 4	叠	65	北京蔬菜研究中心	2.5	1.0
112	山东 6 号	叠	80	山东济南蔬菜种苗有限公司	2.5	2.0
113	早丰 60	叠	60	山东临朐县蔬菜良种场	2.5	7.0
114	郑杂 2 号	叠	85	河南郑州市蔬菜所	2.5	6.0
115	95- 4	合	85	北京蔬菜研究中心	2.5	3.0
116	山东 5 号	合	85	山东临朐县蔬菜良种场	0	0
117	高抗 45	叠	45	山东商河县大白菜良种服务中心	0	0
118	丰风	合	100	日本坂田种苗	0	0
119	雪风	合叠	100	日本坂田种苗	0	0
120	鲁白 12 号	舒	60	山东济南蔬菜种苗有限公司	0	0
121	诸丰 50	合	50	山东诸城种子总公司	0	0
122	向阳	叠	60	江苏徐州蔬菜种子分公司	0	0
123	胶白 8 号	叠	85	山东胶州大白菜研究所	0	0

纹, 北京 66 号, 95- 3, 新乡 90- 3, 临选 3 号) 和 6 个日本品种( CR 黄健 65、CR 新黄、优黄、メ 70、湘南 2 号、弘法) 的不定芽再生率在 80% 以上, 其每子叶再生不定芽数为 3. 8~ 10. 7 个。大白菜品种的不定芽再生能力和其起源地、熟性、类型无关。在 17 个高再生率的品种中, 6 个日本品种都为早中熟品种( 60~ 75 d), 但 11 个中国品种的熟性差异很大, 从极早熟品种( 45 d) 到晚熟品种( 90 d)。直筒青麻叶类型的品种的再生能力较高, 参试的 8 个品种( 1 个日本品种和 7 个中国品种) 的不定芽再生率从 42. 5% ~ 95%。

2.2 小白菜基因型对子叶培养芽再生的影响

同大白菜一样, 小白菜的子叶培养不定芽再生能力也存在极大的基因型差异( 表 2), 在参试的 20 个小白菜品种中, 5 个品种( はまみなど、せいせん 26 号、安藤早生、红菜薹、美乡一号) 的芽再生率达 80% 以上, 平均每子叶再生不定芽数 4. 7~ 6. 5 个; 5 个品种( 绿菜一号、味美菜、CR 青都、青武、青帝) 无不定芽产生。

表 2 小白菜品种来源及子叶培养不定芽再生情况

品种名称	来 源	芽再生率( % )	平均每子叶再生不定芽数
はまみなど	日本坂田种苗	97. 5	6. 5
せいせん 26 号	日本协和种苗	95. 0	5. 4
安藤早生	日本协和种苗	93. 3	5. 8
红菜薹	日本坂田种苗	92. 5	4. 9
美乡一号	日本坂田种苗	83. 3	4. 7
みすぎ	日本坂田种苗	77. 5	4. 1
中国油菜	日本坂田种苗	57. 5	5. 5
Autumn poem	日本坂田种苗	56. 7	5. 0
白茎 Pak-choi	日本协和种苗	53. 3	4. 8
早阳一号	日本坂田种苗	46. 7	5. 7
せいせん 7 号	日本协和种苗	42. 5	3. 9
绿菜 2 号	日本坂田种苗	27. 5	2. 2
谢谢	日本协和种苗	20. 0	3. 6
青轴	日本坂田种苗	7. 5	2. 7
青美	日本坂田种苗	6. 7	2. 0
绿菜一号	日本坂田种苗	0	0
味美菜	日本坂田种苗	0	0
CR 青都	日本坂田种苗	0	0
青武	日本坂田种苗	0	0
青帝	日本坂田种苗	0	0

3 讨论

本研究对 123 个大白菜品种和 20 个小白菜品种进行了子叶培养, 发现无论是大白菜, 还是小白菜, 其不定芽再生率受基因型的影响极大, 在甘蓝型油菜<sup>[4]</sup>、萝卜<sup>[5]</sup>和小白菜<sup>[7]</sup>的子叶培养中也得到相同的结论。Ono 等<sup>[4]</sup>对甘蓝型油菜 96 个品种的研究发现: 体细胞发生能力和小孢子胚发生能力间无正相关关系。本试验因为未对 123 个大白菜品种进行相应的小孢子胚发生能力鉴定, 不能妄加论断。但 4 个小孢子胚发生能力高的品种 Ho mei, Hisfu 早 30 天, 北京小杂 51 号, 95- 202 的不定芽再生率仅分别为 20. 0%, 55. 0%, 20. 0%,

16.7%。而 3 个小孢子胚发生能力低的品种北京新二号、北京小杂 50 号和无双的不定芽再生率分别为 86.7%, 30%, 40%。由以上结果可见, 与甘蓝型油菜一样, 白菜的体细胞发生能力与小孢子胚发生能力间无相关关系。

本研究检索出 17 个大白菜品种和 5 个小白菜品种的子叶培养不定芽再生率高于 80%, 这些品种对将来进行基因转化的研究具有重要意义。

## 参考文献:

- [1] Takasaki T, Hatakeyama K, Ojima K, *et al.* Factors influencing *Agrobacterium*-mediated transformation of *Brassica rapa* L [J]. Breed Science, 1997, 47: 127– 134.
- [2] Kuginuki Y, Nakamura K, Hida K, *et al.* Varietal differences in embryogenic and regenerative ability in microspore culture of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. Breed Science, 1997, 47: 341– 346.
- [3] Ohkawa Y, Nakajima K, Keller W A. Ability to induced embryoid in *Brassica napus* cultivars [J]. Japan Journal Breeding, 1987, 37( Suppl2): 44– 45.
- [4] Ono Y, Takahata Y, Kaizuma N. Effect of genotype on shoot regeneration from cotyledonary explants of rape-seed (*Brassica napus* L.) [J]. Plant Cell Reports, 1994, 14: 13– 17.
- [5] Murakami T, Ono Y, Takahata Y. Phytohormonal and genotypic factors affecting shoot regeneration from cotyledonary explants of radish (*Raphanus sativus*) [J]. Plant Tissue Culture Letters, 1995, 12: 321– 323.
- [6] Miah M A A, Earle E D, Khush G S. Inheritance of callus formation ability in anther culture of rice, *Oryza sativa* L [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1985, 70: 113– 116.
- [7] Takasaki T, Hatakeyama K, Ojima K, *et al.* Effects of various factors (hormone combinations, genotypes and antibiotics) on shoot regeneration from cotyledon explants in *Brassica rapa* L [J]. Plant Tissue Culture Letters, 1996, 13: 177– 180.

## Effect of Genotypes on Shoot Regeneration from Cotyledonary Explants of Chinese Cabbage

ZHANG Feng-lan<sup>1</sup>, TAKAHATA Yoshihito<sup>2</sup>, XU Jia-bing<sup>1</sup>

(1. Beijing Vegetable Research Centre, Beijing 100089, China;

2. Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka 020-8550, Japan)

**Abstract:** Genotype factors influencing shoot regeneration from cotyledonary explants of Chinese cabbage were identified in this study. When 123 cultivars of *Brassica pekinensis* and 20 cultivars of *Brassica chinensis* were screened, a large variation in shoot regeneration frequency was observed, ranging from 0~ 97.5%. 17 *Brassica pekinensis* cultivars and 5 *Brassica chinensis* cultivars showed regeneration frequency higher than 80%. Shoot regeneration frequency was not related to origin, types and days to maturity of the cultivars.

**Key words:** *Brassica pekinensis*; *Brassica chinensis*; Genotype; Cotyledon culture