

科研简报

通过游离小孢子培养获得绿菜花
(*Brassica oleracea* var *italica*)再生植株
Plant Regeneration from Isolated Microspore Culture
of *Brassica oleracea* var *italica*

70年代初, Nitsch 等首先在毛叶曼陀罗等茄科植物成功地应用游离小孢子培养方法获得胚胎和再生株。绿菜花 (*Brassica oleracea* var *italica*) 的游离小孢子培养, 最早见于 1991 年 Takahata 等的报道。由于技术难度较大, 迄今在国内还没有见到绿菜花游离小孢子培养成功的报道。

1 材料和方法

选择国内外供试的“巴绿青花菜”等 13 种基因型进行游离小孢子培养。

取花蕾长 3.0~5.5mm 的花序, 7% (W/V) 饱和次氯酸钙溶液 (加一滴吐温 20) 表面消毒 15min, 无菌水洗 3 次。然后将花蕾放于研钵中, 加入少量 B5 洗涤培养基, 用研棒轻压, 45 μ m 孔径尼龙筛网过滤, 收集滤液, 100g 离心 3 次, 每次 3min。最后一次离心后, 将小孢子悬浮于经过滤灭菌不含任何激素的 1/2N LN 改良培养基中。将小孢子密度调整为 1×10^6 ml⁻¹ 石蜡膜 (Parafilm) 封口, 进行 32 $^{\circ}$ C、1 天热激诱导处理, 后置 25 $^{\circ}$ C 下继续培养, 2~3 周后分类计数从球形期到子叶期各阶段的胚数量, 转到 6000lx 14h/d 的光照, 25 $^{\circ}$ C 温度下继续培养。将获得的子叶期胚转置同样条件下培养 24~72h。胚转绿后, 移到含糖 2% (W/V) 和 1.2% 琼脂粉的 B5-2 固体培养基的 90mm 培养皿或 100ml 三角瓶中继续培养。光温同上, 直到幼苗长成 (约 3~4 周左右)。在培养开始时, 每培养皿加入 0.1ml 活性炭悬浮液, 也可以在更换培养基后加入活性炭。

将带根幼苗洗去根部残留培养基后, 移栽到含蛭石: 花卉营养土 (1: 2) 的营养钵中。前一周内用大烧杯罩苗, 以保持湿度, 有利于保持组培苗的驯化, 生长健壮后, 定植于温室。

2 结果与讨论

本试验对 13 份绿菜花供试材料的游离小孢子培养能力进行初步研究, 其中 8 种基因型 (占全部材料的 61.5%) 有胚胎发生, 并获得 5 种基因型的再生株, 共 207 株。基因型对绿菜花游离小孢子培养的影响很大, 基因型“巴绿青花菜”, 出胚率最高, 达 37.08%。加入活性炭后, 子叶胚比对照提前 3~4 天出现, 数量和质量也提高, 比对照提高 2.5 倍。

有些绿菜花基因型由于培养小孢子本身释放有毒代谢产物, 有众多小孢子膨大破裂, 胚胎发生停留在 4~8 个细胞阶段。活性炭的加入能吸附培养基中有害物质, 有效地提高出胚数量, 促使胚提前成熟。

(北京农林科学院蔬菜研究中心, 张德双 曹鸣庆 北京 100081; 东北农业大学, 秦智伟 哈尔滨)