

油菜小孢子培养和双单倍体育种研究 · 影响甘蓝型油菜和芥菜型油菜种间杂种胚产量的因素

李 桐 官春云 陈社元 王国槐 刘忠松

(湖南农业大学, 湖南长沙 410128)

摘 要 对甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂交 F_1 代杂种进行离体小孢子培养研究。结果表明: (1) F_1 杂种胚产量受亲本基因型的影响; (2) 在 F_1 杂种花粉可育率为 30% ~ 43% 的范围内, F_1 杂种花粉可育率对有效胚产量无明显影响; (3) 供体植株年龄对高胚产量的材料无明显影响, 对低胚产量的材料有明显影响。 (4) 提出用花药颜色来选择适合的小孢子培养的花蕾的指标, 花药颜色以绿带点黄或绿带黄为宜; (5) 提出胚从 NLN 液体培养基转到半固体 B_5 培养基培养 3 d 后再转至固体 B_5 培养基, 比从 NLN 液体培养基直接转到固体培养基的培养方式相对较好, 可提高胚再生频率; (6) 诱导植株再生最适合的胚龄是 27 d, 0.2 ~ 0.3 cm 大小的胚比 0.6 ~ 0.8 cm 的胚好。*

关键词 甘蓝型油菜; 芥菜型油菜; 小孢子; 胚发生; 基因型

中图分类号: S565 文献标识码: A

Studies on Microspore Culture and Double Haploid Breeding on Rape

· Influencing Factors on Microspore Culture of F_1 Hybrids between *Brassica napus* and *Brassica juncea*

LI Xun GUAN Chun-Yun CHEN She-Yuan WANG Guo-Huai LIU Zhong-Song

(Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract The microspore culture of the interspecific F_1 hybrids between *Brassica napus* and *Brassica juncea* was investigated. The results showed: (1) The embryo output of the F_1 hybrids was related to the genotype of their parents; (2) The pollen fertility of the F_1 hybrids with a rate from 30% to 43% had no obvious effect on the efficient embryo output; (3) The donor plant age had obvious effect on those hybrids with lower embryo yield and no much effect on those with higher yield; (4) The anther color with yellowish green was the most suitable for the induction of embryogenesis; (5) It was better to transfer the embryo cultures from liquid NLN to semisolid B_5 medium for 3 days and then to the solid B_5 medium increasing regeneration as comparing with the transfer from the liquid directly to the solid; (6) The embryos with 27 days in age and 0.2 cm to 0.3 cm in size were ideal explants for getting the regeneration.

Key words *Brassica napus*; *B. juncea*; Microspore culture; Embryogenesis; Genotype

油菜小孢子培养是生物工程研究的重要内容^[1~3], 由于小孢子培养长成的植株是单倍体, 只具有配子染色体数, 因此当外源基因导入时, 它不会出现嵌合体, 也不会有显、隐性遮盖的现象, 是基因工程的理想受体。自 1982 年 Licher 首次进行甘蓝型油菜小孢子培养并获得胚及再生植株以来^[4], 在甘

蓝型油菜小孢子培养技术 (如小孢子密度、培养条件、培养基) 等方面都作了大量的研究^[6~9], 其培养技术日益成熟, 已成为甘蓝型油菜获得单倍体的主要途径。近年来, 在白菜型油菜^[10,11]、芥菜型油菜^[12]、甘蓝^[11,13]、埃塞俄比亚芥^[14] 等都有报道, 说明这一技术已引起国内外广泛的重视。但甘蓝型油菜

*基金项目: 湖南省科技厅重点项目 (97J KY1005)。

作者简介: 李桐 (1939 -) 女, 湖南溆浦人, 教授, 博导, 主要从事植物遗传教学和科学研究。Tel: + 86-0731-4618782, E-mail: lixun39@163.net

Received (收稿日期): 2001-07-10, Accepted (接受日期): 2002-07-12.

与芥菜型油菜种间杂种小孢子培养迄今很少见到报道。由于甘蓝型油菜具有较好的丰产性,而芥菜型油菜具有耐旱、耐瘠、抗裂荚黄籽等优良特性,育种家企图将两者优良性状集中于一体,育成新的品种。以往采用杂交、自交、回交等常规育种的方法,要获得具双亲优良特性的稳定杂种一般要 7~8 年,而小孢子培养技术可以大大缩短育种年限。为了以高效快速获得甘蓝型油菜与芥菜型油菜种间杂种的优良植株,本文对其 F_1 代种间杂种胚产量与亲本的关系,与 F_1 花粉可育性的关系, F_1 代种间杂种胚产量与株龄,与花药颜色的关系,以及胚转移方式,胚大小和胚龄对 F_1 胚产量的影响进行了研究。

1 材料与方法

1.1 研究材料

本试验所使用的亲本共 8 个,其中甘蓝型油菜 (*Brassica napus*) 4 个,芥菜型油菜 (*Brassica juncea*) 4 个。按常规杂交方法共配制了 5 个组合,其组合名称及编号列于表 1。

表 1 甘×芥 F_1 代亲本组合名称及编号
Table 1 Combination of F_1 hybrid between
Brassica napus and *Brassica juncea*

亲本组合 Combination	F_1 杂种编号 Numbering of F_1 hybrid
970220 ×HL970	No. 22
970230 ×Π658	No. 23
970240 ×TY523	No. 24
970250 ×SD620	No. 25
970220 ×SD620	No. 26

1.2 小孢子培养方法

按 Coventry 等(1988)^[15]方法进行。所有用于小孢子培养的亲本和杂种植株均种植在昼/夜温度为 24 ± 2 / 21 ± 2 ,至现蕾后昼/夜温度控制在 $10/5$,每天 16 h 光照的生长室中,所取的花蕾首先用 7% 次氯酸钙消毒处理 10~15 min,进行表面消毒,然后用无菌水冲洗 3 次,再将蕾倒入已灭菌的研钵中,加 B_5-1 洗液把蕾研碎,过滤、离心 4 次,调节小孢子浓度为 $0.75 \sim 1 \times 10^5$ 个小孢子/mL。再让小孢子悬浮在 NLN 液体培养基中,在 30 黑暗条件下培养 14 d,然后放在摇床上(60 r/min)振动培养 7 d,温度控制在 25 ,并保持良好的通气状况,促进胚的形成。当胚龄达 21 d 时,再转入 B_5 固体培养基上,

放在 4 、每天光照 8 h 条件下培养 10 d,进行冷处理,再转到 27 12 h/12 h 光照/黑暗交替条件下培养,使胚发育成小植株,再转入土壤中。

采用这一方法对不同组合、不同株龄、不同药色、不同胚转移方式、不同胚龄、大小对胚产量的影响进行了比较。比较试验采用完全随机区组设计,重复 3 次。

1.3 培养方式

将组合 970220 ×HL970 的 F_1 杂种(编号为 No. 22),在小孢子培养的过程中,采用了将胚由 NLN 液体培养基,经 B_5 半固体培养基再转入 B_5 固体培养基的培养方式与直接由 NLN 培养基转入固体培养基的培养方式进行比较。 B_5 半固体培养基是指培养基其他成分完全相同,仅加入琼脂的量由每 1000 mL 加入 8 g 降至 4 g,使 B_5 培养基成糊状。

1.4 细胞学观察

花药颜色和小孢子发育时期的关系,参照文献[16,17]进行。取自油菜始花期主花序或分枝上的完整花盘,逐个花药进行观察。花粉育性的观察参照文献[18]进行,取油菜植株不同部位的花蕾,共计 30 个,每个蕾中取 1 个花药,观察 1000 粒花粉,然后计算花粉的可育率。凡是花粉育性不正常者,就确认为真杂种。

2 主要结果

2.1 甘蓝型油菜 ×芥菜型油菜杂种胚产量与亲本基因型的关系

甘蓝型油菜 ×芥菜型油菜 F_1 杂种胚产量与亲本基因型的关系密切。由表 2 可以看出:1) 不同组合 F_1 杂种胚产量有差异;2) 高胚产量的双亲, F_1 杂种胚产量也高,如 No. 22;3) 低胚产量的双亲, F_1 杂种胚产量也低,如 No. 23。高胚产量与低胚产量的亲本杂交,杂种的胚产量似乎受母本的影响较大,如 No. 25、No. 26,这两个组合父本都是 SD620,母本一个为高胚产量的 970220,另一个为低胚产量的 970250,结果与高胚产量的母本杂交,其杂种的胚产量要高,为 310 ± 10 ,与低胚产量的母本杂交,其杂种胚产量相对较低,仅 23 ± 4 个胚。对这结果,本实验未作反交,因此还有待进一步证实。

2.2 甘蓝型油菜 ×芥菜型油菜 F_1 花粉育性对胚产量的影响

甘蓝型油菜 ×芥菜型油菜 F_1 花粉可育率平均

表2 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种胚产量与亲本基因型的关系

Table 2 Embryo yield of parents and their F₁ hybrids from *B. napus* × *B. juncea*

亲本或杂种 Parent or hybrid	有效胚产量(120个蕾) Efficient embryo yield (120 buds) $\bar{X} \pm SE$
甘 970220	280 ±6
芥 HL970	8 ±2
970220 × HL970	362 ±10
甘 970230	12 ±10
芥 II 658	0
970230 × II 658	21 ±4
甘 970240	20 ±12
芥 TY523	0
970240 × TY523	28 ±5
甘 970250	18 ±5
芥 SD620	3 ±2
970250 × SD620	23 ±4
甘 970220	280 ±6
芥 SD620	3 ±2
970220 × SD620	310 ±10

为 38.4%，变异范围为 30%~43%，从表 3 可以看出花粉可育率与有效胚产量关系并不密切，如 No. 22，可育率为 39%，有效胚产量为 362 ±10，而 No. 25，可育率为 38%，有效胚产量仅 23 ±4 胚。在本试验中，还观察到不同组合的 F₁ 杂种胚的发育状况很不一致。高胚产量的材料，如 No. 22、No. 26，胚出现时间最早，小孢子悬浮在 NLN 液体培养基中，在 30℃ 黑暗条件下培养 10 d，肉眼就可见到胚，再放在摇床上，振动培养 7 d，就可见许多鱼雷状胚出现，小孢子在发育进程中，同步性较好。而其他材料 (No. 23~25) 出现胚的时间是 12~14 d，经摇床振动培养 7 d 后，可见到少量 1~1.2 cm 以上大胚，余下均为

心形胚、球状胚或一些畸形胚，小孢子发育同步性差。

2.3 甘蓝型油菜和芥菜型油菜 F₁ 植株的株龄对胚产量的影响

株龄是指种子播种后到进行小孢子培养取样这段时期的长短。株龄对胚产量低的材料的有效胚产量的影响大于胚产量高的材料 (表 4)。如 No. 23，当株龄为 75 d 时，接种 120 个蕾，3 次重复平均获 5 ± 1.5，No. 24 获 2.3 ±1.5 个胚；株龄增加，则有效胚产量明显增加。但对胚产量高的材料，株龄影响不十分明显，如 No. 22 当株龄为 75 d 时，获 298 ±10 胚，当株龄为 95 d 时获 362 ±10 胚。

2.4 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 花药颜色对胚产量的影响

根据我们的观察^[16]，一个花盘上的花药色可分为 6 级：黄色、黄带点绿、黄带绿、绿带黄、绿带点黄和绿色 (图 1)。本研究中对花药颜色与小孢子发育时期与胚产量的关系作了研究。结果表明：当花药色为黄色或黄带点绿时，小孢子发育时期为三核期 (图 2)；当花药色为黄带绿时，大多数小孢子发育时期为二核期 (图 3)，少数为单核晚期；当花药色为绿带黄和绿带点黄时为单核期 (图 4, 5)；当花药色为绿色时为单核早期——四分体——减数分裂期。根据花药的不同颜色分别进行接种时，只有花药色为绿带黄或绿带点黄可产生大量胚，分别为 362 ±10 和 280 ±14 (表 5)。因此，在小孢子培养中，取花药色为绿带黄或绿带点黄最为适宜，此时的小孢子发育时期为单核期。生长在生长室的油菜植株，处于抽薹期，大约有 40% 的花蕾的花药色为绿带黄。因此，在小孢子培养中，根据花药色取材，是一个十分快捷、准确的好方法。对提高胚产量起着决定性的作用。

表3 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 花粉育性对有效胚产量的影响

Table 3 Effect of pollen fertility on efficient embryo yield from the microspore culture of *B. napus* × *B. juncea*

F ₁ 杂种编号 No. of F ₁ hybrid	F ₁ 花粉可育率 Rate of F ₁ pollen fertility (%)	有效胚产量 (120个蕾) Efficient embryo yield (120 buds)	胚出现的最早时间 Earliest time of embryo emergence (d)	胚发育状况(21 d) Embryo development state (21 days old)
No. 22	39	362 ±10	10	胚发育同步性好，多数为鱼雷胚，0.8~1 cm 大小
No. 23	30	21 ±4	14	胚发育同步性差，球状胚，心形胚，少数鱼雷胚，胚大于 1.2 cm
No. 24	42	28 ±5	12	胚发育同步性差，胚大于 1 cm
No. 25	38	23 ±4	14	胚发育同步性差，胚大于 1.2 cm
No. 26	43	310 ±10	10	胚发育同步性好，胚小于 1 cm

表 4 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种株龄对胚产量的影响Table 4 Effect of donor plant age on microspore embryogenesis in F₁ hybrid between *B. napus* × *B. juncea*

株 龄 Age of donor plant (d)	有效胚产量 [*] (有效胚/120 个蕾) Efficient embryo yield (Efficient embryo /120 buds)		
	No. 22 $\bar{X} \pm SE$	No. 23 $\bar{X} \pm SE$	No. 24 $\bar{X} \pm SE$
70	0	0	0
75	298 ±10	5 ±1.5	2.3 ±1.5
80	280 ±6	4 ±2.6	1.6 ±1.4
85	306 ±8	6 ±2.3	10 ±1.6
90	222 ±12	21 ±4	28 ±5
95	362 ±10	10 ±3.2	6 ±3.6
100	37 ±6	7 ±2	0

*注:有效胚产量:指在小孢子培养 21 d 后,所获得的单倍体胚状体,从液体培养基上转入固体培养基上的鱼雷形胚的数目。

Note:Efficient embryo yield: The number of haploid embryo in the development of torpedo stage obtained from the microspores culture for 21 days or more after transferred from liquid medium to solid medium.

表 5 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 花药颜色与胚产量的关系 (材料:No. 22)Table 5 Anther color and microspore embryogenesis in F₁ hybrid No. 22 of *B. napus* × *B. juncea*

花药颜色 Anther color	小孢子发育时期 Microspore development stage	胚产量(胚/120 蕾) Embryo yield (embryos/120 buds)
黄色 Yellow	三核期 Trinucleate	0
黄带点绿 Somewhat greenish yellow	三核期 Trinucleate	0
黄带绿 Greenish yellow	二核—单核晚期 Binucleate—late uninucleate	60 ±16
绿带黄 Yellowish green	单核晚期—单核中期 Late uninucleate—Mid uninucleate	362 ±10
绿带点黄 Somewhat yellowish green	单核中期—单核早期 Mid Uninucleate—Early uninucleate	280 ±14
绿色 Green	单核早期—四分子—减数分裂期 Early uninucleate—Tetrad—Meiosis	21 ±7

表 6 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种胚 No. 22 转移方式对胚产量的影响Table 6 Effect of transfer method on embryo yield in F₁ hybrid No. 22 of *B. napus* × *B. juncea*

液体培养基 Liquid media		固体培养基 Solid media	
胚 数 No. of embryos($\bar{X} \pm SE$)	再生率 Regeneration rate (%)	胚 数 No. of embryos($\bar{X} \pm SE$)	再生率 Regeneration rate (%)
224 ±20	10.7	226 ±40	20.7

2.6 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种胚龄和胚的大小对胚产量的影响

胚龄是指从接种到胚被转移到固体培养基上,这段时间的长短。杂交组合 No. 22,胚龄为 27 d 的胚,再生率最高为 15.14% (表 7)。胚的大小对植株

2.5 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种胚转移方式对胚产量的影响

本实验设计了两种转移胚的方式:一种是当胚龄 21 d 时,由液体 NLN 培养基转移到 B₅ 半固体培养基上,3 d 后,再转到 B₅ 固体培养基上。另一种方式是当胚培养到 27 d 时直接转到 B₅ 固体培养基上,然后,都放入 4—8 h 光照的生长室中 10 d,结果如表 6。前一种培养方式可促进再生和营养生长,如叶片色深绿且较厚,有的一个培养皿中有 17 个胚都长成小植株(图 6),再生率平均由 10.7% 提高到 20.7%。故经过半固体培养基再转到固体培养基的培养方式比由液体培养基直接转到固体培养基相对要好,可提高胚的再生率。

再生也有一定影响, No. 22 以接种 0.2~0.3 cm 的胚,其胚的再生植株的频率最高,为 41.3% (表 8)。这些植株大部分为畸形小植株,叶皱缩,茎膨大变粗,移栽不可能成活(图 7),少数是正常植株(如图 8),移栽后可成为单倍体小植株。

表7 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种 No. 22 的
胚龄对胚产量的影响

Table 7 Effect of embryo age on embryo yield in F₁
hybrid No. 22 of *B. napus* × *B. juncea*

胚龄 Embryo age	胚数 Embryos	再生植株 Regeneration	
		植株数 Plantlets	植株百分率 Plantlet rate (%)
17	59	7	11.90
22	149	15	10.06
23	292	32	10.95
27	845	128	15.14
30	186	16	8.60
34	320	38	11.87

表8 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种 No. 22 的
胚大小对胚产量的影响

Table 8 Effect of embryo size on embryo yield in F₁
hybrid No. 22 of *B. napus* × *B. juncea*

胚的大小 Embryo size (cm)	胚的数目 Embryos $\bar{X} \pm SE$	再生植株数 Regeneration plantlet	再生植株率 Regeneration rate (%)
0.2~0.3	126 ±10	52	41.3
0.4~0.5	176 ±15	41	23.3
0.6~0.8	91 ±6	6	6.5

3 讨论

3.1 F₁ 杂种胚产量与亲本基因型的关系

本试验所用的甘 × 芥 F₁ 杂种不同组合材料的胚产量有明显差异,说明胚产量这一性状是受基因所控制。近年来,在几种植物中利用分子标记技术,已证实了基因位点控制了胚产量和再生能力^[19,20]。

3.2 F₁ 杂种的育性与胚的染色体组成

甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜的 F₁ 代花粉育性有一个广泛的范围。本试验材料的花粉育性、不育花粉的产生是由于染色体分配不均衡,染色体行为异常所致。因为甘蓝型油菜染色体组型为 aacc = 38,芥菜型油菜染色体组型为 aabb = 36,这两个亲本杂交所获得的 F₁ 代的染色体组型为 aabc = 20 + 8 + 9 = 37。在减数分裂时有 10 对染色体联会形成二价体,其余 b 组的 8 条染色体和 c 组的 9 条染色体均为单价体,不能均衡的分向细胞的两极,在后期将随机进入细胞的某一级或在赤道板上消失,因此便会产生 $n = 10 \sim 27$,具有不同数目染色体的小孢子,与作者在甘蓝型油菜 × 白菜型油菜 F₁ 代细胞学观察的染色体行为是一致的^[21]。从本试验证

明了,具有不同数目染色体组成的小孢子,在离体培养条件下,有发生胚胎的能力。

据 Struss 等报道^[22],a、b、c 三染色体组可能有某种同源性,平均配对为:10.42 + 8.18 + 0.066 + 0.004。Truco 和 Quiros 等^[19]利用同工酶、RFLP、RAPD 等分子标记技术,建立了芸薹属 a、b、c 基因组遗传图,结果发现:a、b 基因组间同源区段的图距为 312 cM,b、c 基因组间为 588.7 cM,a、c 基因组间为 824.4 cM。这从细胞水平和分子水平都说明 a、b、c 基因组间相互联会和交换提供了理论基础。以甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 代为材料,就有可能产生各种染色体数目的异附加系和异代换系。种间杂种小孢子培养为创造新的种质资源提供了一条快速的新途径。

3.3 株龄与胚产量的问题

本试验表明,株龄是影响胚产量低材料的重要因素。当株龄在 75~95 d 时,它们的胚产量随株龄增加而增加,而胚产量高的材料,无论株龄长或短,均可获得大量的胚。以上结果说明在小孢子培养过程中,小孢子再生完整植株的遗传潜力与它的发育过程有关。株龄的差异,反映了发育过程的差异,处在不同发育过程,生理状况有差异,导致胚产量的差异。

3.4 花药颜色与胚产量的问题

本试验的结果表明:花药颜色与胚产量关系很大。根据花药颜色来确定小孢子发育时期,简单、方便、准确、容易掌握,而且不易受环境的影响。过去采用蕾的大小确定小孢子发育时期,由于花蕾大小不但受基因型影响也受环境影响,实际掌握难以准确。后来,提出用花药长度为花瓣长度的 1/3~3/4,一般蕾长不超过 4.5 mm 的形态指标^[15],由于用于小孢子培养的花蕾较小,要确定它的相对比例也并不容易。鉴于以上原因,我们提出并实践了用花药颜色的形态指标来确定小孢子发育时期是简单易行,可大大提高小孢子培养接种效率。

References

- [1] Guan C-Y (官春云). Bioengineering of *Brassica* (芸薹属生物工程). Changsha: Hunan Science Technology Press, 1999. 217—237
- [2] John H Dodds, Lorin W. Robert. *Experiments in Plant Tissue Culture* (3rd edition). Cambridge University Press, 1995
- [3] Fukuoka H, Ogawa T, Matsuoka M, et al. Direct gene delivery into isolated microspores of rapeseed (*Brassica napus* L.) and the production of fertile transgenic plants. *Plant Cell Reports*, 1998, 17 (5):

- 323—328
- [4] Lichter R. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Z Pflanzenphysiol*, 1982, 105: 427—434
- [5] Guan C-Y(官春云). Studies of microspore culture and doubled haploid breeding on rape I. Effect of donor plant and microspore density on microspore culture in *Brassica napus*. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1995, (21): 666—670
- [6] Swanson E B, Coumans M P, Wu S C, et al. Efficient isolation of microspores and the production of microspore derived embryos from *Brassica napus*. *Plant Cell Rep*, 1987, 6: 94—97
- [7] Chuong P V, Beversdorf W D. High frequency embryogenesis through isolated microspore culture in *Brassica napus* L. and *B. carinata* Braun. *Plant Sci*, 1988, 39: 219—226
- [8] Charne D G, Beversdorf W D. Improving microspore culture as a rapeseed breeding tool: the use of auxins and cytokinins in an induction medium. *Can J Bot*, 1988, 66: 1671—1675
- [9] Lichter R. Efficient yield of embryoids by culture of isolated microspores of different *Brassicaceae* species. *Plant Breeding*, 1989, 103: 119—123
- [10] Cao M Q, Li Y, Liu F. Influence of genotype and donor plant growth environment on embryogenesis from isolated microspores in Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*). *Acta Agri Boreali-Sin* (华北农学报), 1993, 8: 1—6
- [11] Rudolf K, Bohance B, Hansen N. Microspore culture of white cabbage, *Brassica oleracea* var. *Capitata* L.: genetic improvement of non-responsive cultivars and effect of genome doubling agents. *Plant Breeding*, 1999, 118(3): 237—241
- [12] Lionneton E, Beuret W, Delaitre C, et al. Improved microspore culture and doubled-haploid plant regeneration in the brown condiment mustard (*Brassica juncea*). *Plant Cell Reports*, 2001, 20(2): 126—130
- [13] Silve Dias J C da. Effect of activated Charcoal on *Brassica oleracea* microspore culture embryogenesis. *Euphytica*, 1999, 108(1): 65—69
- [14] Barro F, Martin A. Response of different genotypes of *Brassica carinata* to microspore culture. *Plant Breeding*, 1999, 118: 79—81
- [15] Coventry J, Kott L, Beversdorf W D. Manual for Microspore Culture. Department of Crop Science Technical Bulletin OAC Publication 0489, 1988
- [16] Li Xun(李桷). Introduction of Chromosomal Heredity(染色体遗传导论). Changsha: Hunan Science Technology Press, 1991, 428—436
- [17] Li Xun(李桷). Cytogenetic studies on rapeseed. The studies on meiosis of pollen mother cell (PMC) and microsporogenesis. *Oil Crops of China* (中国油料), 1984, 2: 5—11
- [18] Li Xun(李桷). Cytogenetic studies on rapeseed. The smear technique of the microspore development stages. *Oil Crops of China* (中国油料), 1986, 2: 17—20
- [19] Ajjaska H, Kuginuki Y, H da K Shiratori, et al. Mapping of loci affecting the cultural efficiency of microspore culture of *Brassica rapa* L. *Syn campestris* L. using DNA polymorphism. *Breed Sci*, 1999, 49: 187—197
- [20] Truco M J, Quiros C F. Structure and organization of the B genome based on a linkage map in *Brassica nigra*. *Theor Appl Genet*, 1994, 89: 590—598
- [21] Li Xun(李桷). Cytological Observation on the interspecific hybrid F₁ between *Brassica napus* L. and *Brassica chinensis* L. *Acta Genetica Sinica* (遗传学报), 1978, 5(1): 41—44
- [22] Stress O, Quiros C F, Rbbelen G. Mapping of molecular markers on *Brassica* B-genome chromosomes added to *Brassica napus*. *Plant Breed*, 1992, 108: 320—323

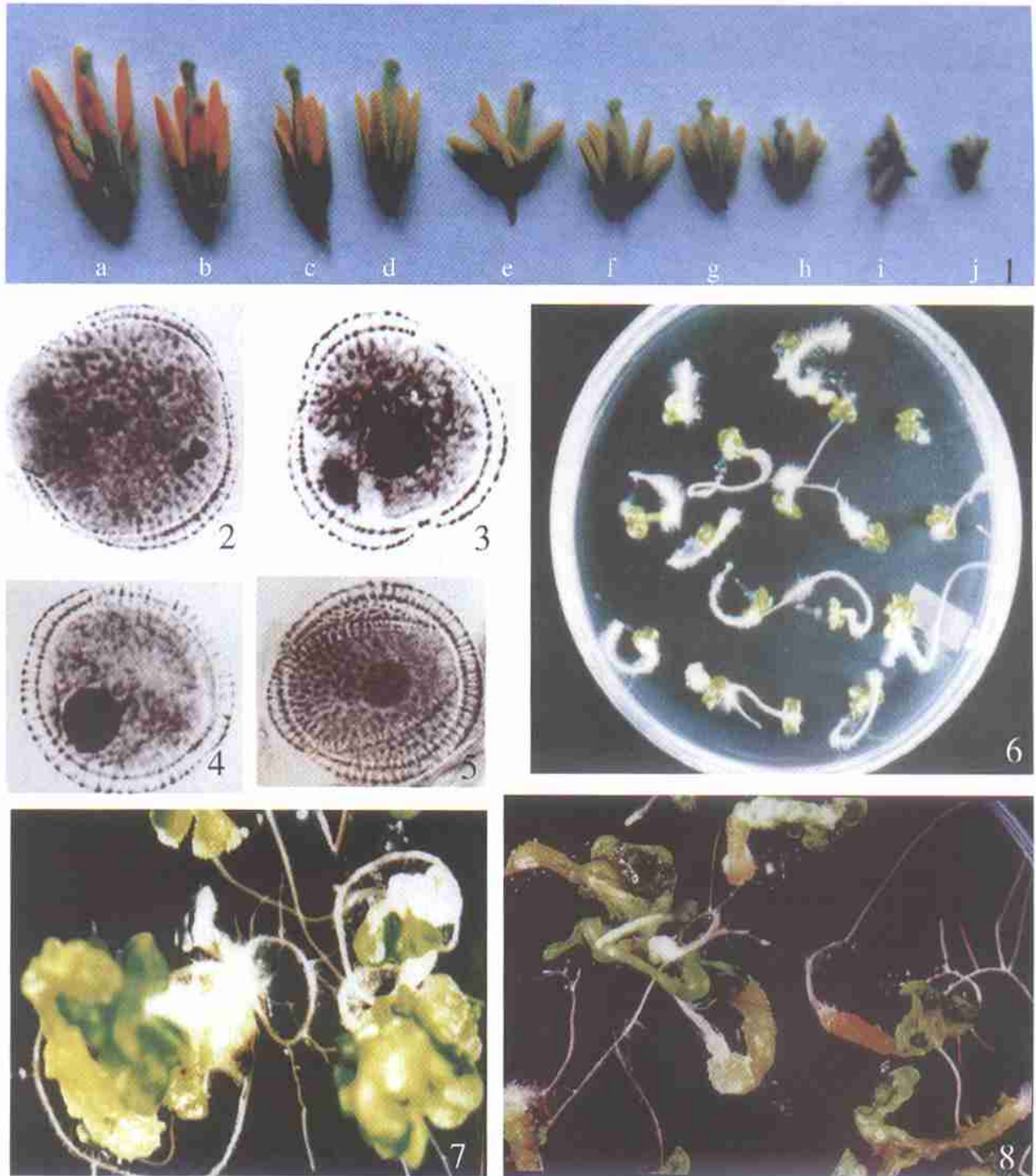
欢迎订阅 2004 年《河北农业大学学报》

《河北农业大学学报》是由河北农业大学主办的综合性农业学术期刊。主要刊登农学、园艺、植物保护、林学、畜牧兽医、食品科学、农业机电工程、土木建筑工程等学科及交叉学科的基础理论研究和应用研究方面的学术论文、研究简报及快报,读者对象为科技工作者、高等农科院校师生及农业管理人员。

《河北农业大学学报》为季刊,季首月出版,国内外公开发行,标准 16 开本,110 页,每期单价 6.00 元,全年定价 24.00 元。全国各地邮局均可订阅,国内统一刊号:CN 13-1076/S,邮发代号:18-43。国际标准刊号:ISSN 1000-1573,国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)。如错过订阅时间,请直接与本刊编辑部联系购买及补定。

编辑部地址:河北省保定市河北农业大学,邮编:071001,联系电话:0312-7521323,7521322

E-mail: xuebaol@mail.hebau.edu.cn



图版 说明: 1. 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种在一个花盘上花药颜色变化规律。2. 当花药颜色为黄色和黄带点绿时(1-a, b, c)小孢子发育时期为三核期。3. 当花药颜色为黄带绿时(1-d, e)小孢子发育时期为二核期。4- 5. 花药颜色为绿带黄和绿带点黄时(1-f, g, h)小孢子发育时期为单核晚期和单核中期。6. 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种小孢子再生的小植株。7. 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种小孢子培育的畸形小植株。8. 甘蓝型油菜 × 芥菜型油菜 F₁ 杂种小孢子培育的正常小植株。

Explanation of Plate : 1. Color change of the anther in a disc from the F₁ hybrid of *B. napus* × *B. juncea*. 2. Yellow and somewhat greenish yellow (1-a, b, c) anther color was coincident with the microspore development stage of trinucleate. 3. Greenish yellow (1-d, e) anther color mean the microspore development at binucleate stage. 4-5. Greenish yellow (1-f, g, h) anther color and the microspore development at late-uninucleate or mid-uninucleate stage. 6. Regeneration plantlet from embryogenesis of F₁ hybrid of *B. napus* × *B. juncea*. 7. Abnormal plantlet from microspore culture of F₁ hybrid of *B. napus* × *B. juncea*. 8. Normal plantlet from microspore culture of F₁ hybrid of *B. napus* × *B. juncea*.