

低温预处理和基因型对甘蓝型油菜 小孢子胚胎发生的影响^{*}

朱彦涛^{1,2}, 李殿荣², 杨淑慎¹

(1 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;

2 陕西省杂交油菜研究中心, 陕西 大荔 715105)

[摘 要] 以生长在大田自然环境下的 16 个甘蓝型油菜品种(系)和杂交组合为材料进行游离小孢子培养, 探讨材料的低温预处理方式、处理时间、花序长度及其基因型对油菜小孢子胚胎发生的影响。结果表明, 冷冻处理的油菜花序, 其小孢子无胚胎发生能力; 30~40 cm 长的花序冷藏处理 10 d, 小孢子仍有一定的胚胎发生能力; 花序长度在 0~40 cm 时, 用于处理的花序越长, 则能进行小孢子胚胎发生的花序的有效处理时间越长; 但随着花序处理时间的延长, 小孢子产胚率有下降的趋势。此外, 材料的基因型对小孢子产胚率有重要影响。

[关键词] 油菜; 低温预处理; 小孢子培养; 单倍体; 胚状体

[中图分类号] S634.303.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)05-0088-07

游离小孢子培养是目前产生油菜单倍体的有效途径^[1,2], 其优点是单细胞, 单倍性, 群体数量大, 无体细胞干扰, 培养快速。利用小孢子培养技术进行油菜单倍体育种, 已受到世界各国育种家们的广泛重视^[3~6]。但小孢子培养的影响因素较多, 其中供体材料的生长条件是小孢子培养能否成功的关键因素之一^[2,3]。因此, 国外进行油菜小孢子培养的供体植株, 一般来源于光温等条件受到严格控制的人工气候室, 这样可获得高的基因型频率和产胚量^[7,8], 使油菜小孢子培养进入育种的实际应用阶段。人工气候室投资大, 运转费用高, 目前国内绝大多数科研和育种单位还不具备这一条件, 只能取材于大田和普通温室, 加之各单位的栽培条件又大相径庭, 因而能培养成功的基因型及其产胚频率明显降低^[9~11]。这说明国外建立于人工气候室条件下的油菜小孢子培养技术体系, 要应用于国内大田自然条件下的供体材料小孢子培养还存在一些实际问题。因此, 要系统建立适合我国大田条件下油菜小孢子培养的有效技术体系, 提高大田材料的产胚基因型频率和产胚率, 就必须对大田环境下小孢子培养的一些环节进行可行性试验。基于此, 本试验在大田材料游离小孢子培养中, 对供体材料低温预处理的方式(冷藏、冷冻)、处理时间和花序长度等进行了较系统的研究, 现将结

果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究采用的甘蓝型油菜品种(系)和杂交组合共有 16 个材料, 均来自于大田自然环境。

1.2 试验内容与方法

初花期, 随机从生理状态一致的植株上按以下要求选取主花序和上部一次分枝花序, 用于低温预处理。供体材料的处理方法为: I. 从田间选取花蕾, 直接用于小孢子游离培养(CK)。II. 从田间选取花蕾, 放入 0~4 °C 冰箱进行冷藏处理, 分别于冷藏 6, 12, 17, 24, 48, 72 和 96 h 时选蕾培养。III. 从田间选取 1~3 cm 长的花序, 放入 0~4 °C 冰箱进行冷藏处理, 分别于冷藏 1, 2, 3, 4, 5 和 6 d 时选蕾培养。IV. 从田间选取 10~20 cm 长的花序, 插入体积分数 10% NLN 溶液中, 然后置入 0~4 °C 冰箱冷藏, 散射光, 每 2 d 换液 1 次, 分别于冷藏 1, 2, 4, 6, 8 和 10 d 时选蕾培养。V. 从田间选取 30~40 cm 长的花序, 插入体积分数 10% NLN 溶液中, 然后置入 0~4 °C 冰箱冷藏, 散射光, 每 2 d 换液 1 次, 分别于冷藏 1, 2, 4, 6, 8, 10 和 15 d 时选蕾培养。VI. 从田间选取 30~40 cm 长的花序, 插入体积分数 10% NLN 溶

^{*} [收稿日期] 2004-08-10

[基金项目] 陕西省科学技术研究发展计划项目(2002K02-G2-1)

[作者简介] 朱彦涛(1967-), 男, 陕西扶风人, 助理研究员, 在职硕士, 主要从事油菜生物技术研究。

[通讯作者] 杨淑慎(1956-), 女, 陕西黄陵人, 教授, 硕士, 主要从事植物抗逆生理与植物细胞工程研究。

液中, 并放入 0~4 °C 冰箱, 散射光, 适应 1 d, 然后转入-5~0 °C 冰柜分别冷冻处理 5, 10 和 20 d, 再重新放入 0~4 °C 冰箱适应 1 d, 选蕾培养。

冷藏条件下花蕾和花序对小孢子胚胎发生的影响采用 Topas、省-7、XC5○、XC6○、ZT4○、T342、Z154 和 Z159 共 8 个材料, 按处理方法 I、II 和 III 进行; 冷藏条件下花序长度对小孢子胚胎发生的影响采用 N403○、N421○、Cn27 和 Cn39 共 4 个材料, 按处理方法 I、III 和 IV 进行; 冷藏和冷冻处理对小孢子胚胎发生的影响采用 D40、D95、D187 和 D194 共 4 个材料, 按处理方法 I、V 和 VI 进行。

1.3 小孢子培养方法

供体材料按 I~VI 的方法处理后, 均要选蕾进行游离小孢子培养。选蕾时通过镜检, 每个材料每次选取小孢子处于单核晚期至双核早期的花蕾约 50 个, 用于游离小孢子培养。小孢子培养基采用 NLN 培养基(Lichter R, 1982), pH 5.8, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌。小孢子的游离、离心操作和培养过程主要参考 Teresa C T 等^[5]的方法进行, 并做以下改进: 花蕾采用体积分数 70% 酒精消毒 30 s, 再用 1 g/L 氯化汞消毒 10 min; 以含 130 g/L 蔗糖的 B₅

培养基(pH 6.0, 采用 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min)作洗液; 小孢子培养 48 h 时用新鲜的培养基对原培养基进行置换。培养 1~3 d 时在倒置显微镜下观察小孢子的发育情况, 培养 25 d 时统计各处理的成胚情况。

2 结果与分析

2.1 花蕾和花序冷藏对小孢子胚胎发生的影响

由表 1 可知, 在处理方法 II 和 III 中, 对同一材料而言, 随着冷藏处理时间的延长, 平均每花药的产胚率均有下降趋势。在处理时间(1~4 d)相同时, 处理 III 的平均每花药产胚率明显大于处理 II, 而且适于培养的冷藏处理时间也较处理 II 长。在处理 I 中, 8 个材料在培养时均产生了胚状体; 处理 II 在冷藏 1 d 内, 8 个材料也不同程度有胚状体产生, 但冷藏处理超过 1 d, 各材料的产胚率明显下降; 处理 III 在冷藏 4 d 内, 各材料也有胚状体产生, 但超过 4 d, 产胚率也明显下降。因此从现有材料看, 若对花蕾冷藏处理时, 一般适于 1 d 内取蕾培养, 超过 1 d 则花蕾发黄, 小孢子的生活力迅速下降; 若对 1~3 cm 长的花序冷藏处理时, 一般适于 4 d 内取蕾培养。

表 1 花蕾和花序冷藏对小孢子胚胎发生的影响

Table 1 Effects of cold pretreatment of buds and inflorescences on microspore embryogenesis

材料 Materials	处理方法 Ways of pretreatment											
	I				II				III			
	时间/h Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/h Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/d Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther
ZT4○	0	50	35	0.117	6	50	18	0.060	1	50	19	0.063
					17	25	4	0.027	2	50	12	0.040
					24	50	8	0.027	3	45	0, c	/
					48	50	1	0.020	4	50	4	0.013
					72	47	0	0	5	50	5	0.017
					96	50	0, c	/	6	50	0	0
T342	0	45	10	0.037	6	50	7	0.023	1	45	0, c	/
					17	50	8	0.027	2	50	11	0.037
					24	13	2	0.026	3	50	0, c	/
					48	50	0	0	4	50	5	0.017
					72	49	0, c	/	5	49	0	0
					96	49	0, c	/	6	50	1	0.003
XC5○	0	50	220	0.733	6	50	166	0.553	1	50	207	0.690
					17	38	79	0.346	2	25	0, c	/
					24	50	175	0.583	3	50	65	0.217
					48	50	0, c	/	4	50	15	0.050
					72	50	0	0	5	50	0	0
					96	60	0, c	/	6	55	0	0

续表 1 Continued Table 1

材料 Materials	处理方法 Ways of pretreatment											
	I				II				III			
	时间/h Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/h Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/d Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther
XC6○	0	48	95	0.330	6	50	126	0.420	1	50	111	0.370
					17	50	90	0.300	2	50	90	0.300
					24	25	11	0.073	3	50	56	0.187
					48	50	0	0	4	50	1	0.003
					72	50	0, c	/	5	50	0, c	/
					96	55	0, c	/	6	50	0, c	/
Z154	0	25	535	3.567	6	25	295	1.967	1	50	245	0.817
					12	50	138	0.460	2	50	206	0.687
					24	50	104	0.347	3	50	60	0.200
					48	50	0, c	/	4	48	17	0.059
					72	50	0, c	/	5	50	33	0.110
					96	35	0, c	/	6	50	0, c	/
Topas	0	50	160	0.533	6	38	136	0.596	1	50	136	0.453
					12	50	79	0.263	2	50	88	0.293
					24	36	45	0.208	3	25	34	0.227
					48	50	0, c	/	4	50	0, c	/
					72	44	0, c	/	5	50	4	0.013
					96	50	0, c	/	6	55	0, c	/
Z159	0	50	51	0.170	6	50	11	0.037	1	49	23	0.078
					12	50	8	0.027	2	50	18	0.060
					24	50	7	0.023	3	48	15	0.052
					48	30	0	0	4	50	5	0.017
					72	45	0, c	/	5	50	0, c	/
					96	45	0, c	/	6	50	0, c	/
省-7 Sheng-7	0	47	11	0.039	6	50	10	0.033	1	50	15	0.050
					12	50	11	0.037	2	50	0	0
					24	36	4	0.019	3	50	3	0.010
					48	50	1	0.003	4	50	0	0
					72	50	0	0	5	25	0	0
					96	50	0, c	/	6	50	0, c	/

注：“c”表示染菌，“○”表示自交系。下表同。
Note: “c” stands for contaminated microbes, “○” stands for selfing line. The following tables are the same.

此外, 培养材料的污染因素也值得考虑。在处理Ⅱ中, 供试材料冷藏若超过 1 d, 则培养材料的污染率明显上升, 经统计达 66.67%。在处理Ⅲ中, 供试材料冷藏若超过 4 d, 则污染率由 4 d 内的 15.63% 增加到 43.75%, 也呈上升趋势。处理花序的污染率明显低于处理花蕾, 这可能是由于处理花蕾时, 由于花蕾柄较短, 细菌很容易从花蕾柄伤口处进入花蕾外植体内部, 致使表面消毒难以真正达到完全杀灭细菌的目的; 而对于花序来说, 细菌进入外植体的距离较长, 其屏障作用相应增强, 污染率则相应降低。

2.2 不同长度花序冷藏对小孢子胚胎发生的影响

表 2 结果显示, 在处理方法Ⅲ和Ⅳ中, 对同一材料而言, 随着冷藏处理时间的延长, 平均每花药的产胚率也分别有下降的趋势。但在处理时间(1, 2, 4, 6 d)相同时, 处理Ⅳ的产胚率大于处理Ⅲ, 而且适于培养的冷藏时间也较处理Ⅲ长。处理Ⅲ在冷藏 4 d 内, 4 个材料在培养时均不同程度有胚状体产生, 超过 4 d 时, 各材料的产胚率则明显下降; 处理Ⅳ在冷藏 8 d 内, 各材料均有胚状体产生, 超过 8 d 时, 则无胚状体产生。因此, 10~20 cm 长的花序冷藏处理时, 一般适于 8 d 内取蕾培养, 超过 8 d 则培养无效。在试验中同样发现, 随着所处理花序长度的增加, 培养材料的污染率也大大降低。

以上结果说明, 同一材料的花序长度不同, 适于培养的有效处理时间长短就不同; 在处理时间相同时, 其胚胎发生能力也各不相同。一般用于处理的花

序越长, 适于培养的处理时间越长, 在相同的处理时间内, 所培养材料的胚状体产量(胚状体数/花药)就越高, 而且随着处理时间的延长, 这种效果越明显。其原因可能是, 随着花序长度的增加, 体内一些抑制

胚胎发生的物质浓度降低, 花序离体贮存对小孢子的不良影响程度就越小, 维持小孢子生活力所需的正常营养物质的合成和供应也就越充分, 因而适宜于培养的时间也就相应延长。

表 2 不同长度花序冷藏对小孢子胚胎发生的影响

Table 2 Effects of cold pretreatment of inflorescences with different lengths on microspore embryogenesis												
材料 Materials	处理方法 Ways of pretreatment											
	I				III				IV			
	时间/h Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/d Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/d Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther
Cn27	0	60	163	0.453	1	55	166	0.503	1	52	225	0.721
					2	13	40	0.513	2	25	90	0.600
					4	50	56	0.187	4	50	79	0.263
					6	50	0, c	/	6	50	73	0.243
									8	50	0	0
									10	40	0	0
Cn39	0	30	10	0.056	1	49	0, c	/	1	50	15	0.050
					2	25	9	0.060	2	50	22	0.073
					4	50	1	0.003	4	25	0	0
					6	50	0	0	6	50	5	0.017
									8	50	3	0.010
									10	50	0	0
N 403○	0	13	2	0.026	1	50	7	0.023	1	50	10	0.033
					2	43	3	0.012	2	43	7	0.027
					4	25	0	0	4	10	1	0.017
					6	25	0	0	6	50	0	0
									8	60	0	0
									10	70	0, c	/
N 421○	0	30	414	2.300	1	50	178	0.593	1	45	200	0.741
					2	46	92	0.333	2	46	275	0.996
					4	50	10	0.033	4	25	144	0.960
					6	50	0, c	/	6	47	12	0.043
									8	50	13	0.043
									10	60	0	0

2.3 冷藏和冷冻处理对小孢子胚胎发生的影响

游离的小孢子若有生活力, 一般在培养初期体积明显增大, 表明小孢子已经合成了用于分裂的细胞物质, 这时如果条件合适, 将进一步进行细胞分裂, 并产生胚状体。表 3 中的 4 个材料分别培养 1~3 d 时, 经冷藏处理的花序, 其小孢子明显膨大, 培养 25 d 时, 不同程度地有胚状体产生; 而对经冷冻处理 5, 10, 20 d 的花序中所游离的小孢子镜检时, 却无一个材料出现膨大, 培养 25 d 时也无胚状体产生。可见, 试图通过冷冻处理来贮存花序的低温处理方式对小孢子培养无效, 而冷藏处理方式对小孢子胚的产生是有效的。由表 3 也可知, 在处理 V 中, 对同一材料而言, 随冷藏时间延长(1~15 d), 产胚率的下降趋势明显。而且在冷藏处理 10 d 内, 各材料

也不同程度的有胚状体产生。因此, 冷藏处理 30~40 cm 长的花序时, 一般适于 10 d 内取材培养。

2.4 低温预处理时间对小孢子胚胎发生的影响

虽然供体材料的基因型和花序长度不同, 即无论采取 I~V 的哪种处理方法, 小孢子培养 1~3 d 时会明显膨大, 培养 25 d 时也不不同程度有胚状体的产生, 只是对于同一材料、同一处理方法而言, 处理时间不同, 小孢子胚胎发生的情况则不相同, 一般随着处理时间的延长, 小孢子的产胚率有下降趋势。经观察, 在处理 IV 和 V 中, 冷藏处理 8~10 d 时, 一些最终未能产胚的材料小孢子经过培养也可发育到小细胞团阶段; 冷藏处理 10 d 时, D 187 和 D 194 2 个材料仍有一定数量的胚状体产生; 冷藏处理 15~19 d 时, 一些未产胚的材料, 在培养 2 d 时小孢子还

有一定数量的膨大。经统计,在前 5 种处理方法中,较短时间(1~ 2 d)冷藏处理时,小孢子仍能保持较高的产胚率,较长时间(3~ 10 d)冷藏处理时,小孢子产胚率有所下降,而且对于同一材料来说,随着花序长度的增加,花序冷藏处理的有效时间相应延长。

表 3 花序的冷藏和冷冻对小孢子胚胎发生的影响

Table 3 Effects of cold and frozen pretreatment of inflorescences on microspore embryogenesis

材料 Materials	处理方法 Ways of pretreatment											
	I				V				VI			
	时间/h Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/d Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther	时间/d Time	蕾数 Buds	产胚数 Embryoids	胚/药 Embryoids/ Anther
D40	0	49	8	0.027	1	38	3	0.013	5	50	0	0
					2	50	0	0	10	50	0	0
					4	50	1	0.003	20	50	0	0
					6	50	0	0				
					8	50	0	0				
					10	45	0, c	/				
					15	47	0	0				
D187	0	47	25	0.089	1	50	22	0.073	5	47	0	0
					2	50	19	0.063	10	50	0	0
					4	25	9	0.060	20	50	0	0
					6	35	9	0.043				
					8	37	0, c	/				
					10	30	2	0.011				
					15	30	0	0				
D95	0	13	2	0.026	1	37	6	0.027	5	55	0	0
					2	50	10	0.033	10	55	0	0
					4	50	0, c	/	20	50	0	0
					6	49	0, c	/				
					8	55	4	0.012				
					10	55	0	0				
					15	50	0	0				
D194	0	35	110	0.524	1	25	71	0.473	5	55	0	0
					2	50	133	0.443	10	51	0	0
					4	40	0, c	/	20	55	0	0
					6	14	3	0.036				
					8	25	5	0.033				
					10	40	8	0.033				
					15	50	0	0				

2.5 基因型对小孢子胚胎发生的影响

在表 1 中,供体材料处理的方法和时间均相同时,不同基因型之间的胚状体产量有明显差异,如对于 Z154 和 T342 2 个基因型而言,平均每花药的产胚率在处理 I 中,即不经冷藏处理时,前者是后者的 96.41 倍;在处理 III 中,即冷藏 4 d 时,前者是后者的 3.47 倍。因此,在处理方法和处理时间相同时,有些基因型的产胚率高,有些相应较低,还有些基因型则不能产胚,说明不同基因型的胚胎发生能力不同。由表 2 和表 3 也可以得出同样的结论,这与前人关于材料的产胚能力与材料的基因型有关的结论是一致的^[12, 13]。基因型对小孢子胚胎发生的影响,还表现

在冷藏处理的有效时间上。在花序长度相同时,有些基因型冷藏处理较长时间,小孢子在培养时仍有一定的胚胎发生能力,而有些基因型的小孢子则不能产胚。如表 3 的处理 V 中,D40 冷藏处理超过 4 d 时已无胚状体产生,而 D187 和 D194 2 个基因型冷藏 10 d 时还有一定的胚胎发生能力。

3 讨论

单倍体在植物遗传育种中的作用是不言而喻的。在花药培养中,一般对花蕾进行低温预处理,并且认为低温预处理对花药培养有重要作用^[14~ 17]。1982 年, Lichter 在对甘蓝型油菜花药培养方法进

行改进的基础上,首次通过游离小孢子培养获得了再生植株,他的试验采用了花蕾低温预处理(其试验只处理了花蕾,且处理时间和处理液均与本试验不同),但不经处理的花蕾也有胚状体的形成,故认为低温预处理对小孢子胚胎发生也许不必要^[1]。目前,国外油菜小孢子培养的供体植株均来源于生长受到严格控制的人工气候室,供体材料一般不经过低温预处理。国内油菜小孢子培养的供体植株一般来自于大田自然环境,有关低温预处理的报道也很少见。一些试验虽对花蕾的低温预处理有所涉及^[9,18],但都着眼于提高材料的产胚率。本试验对低温预处理延长供体材料取材时间的效果进行了较系统的研究和评价,有关这方面的报道还未曾见到,这对建立大田材料游离小孢子培养程序是一个重要的补充。

在国外,供体材料一般生长在较低温度的人工

气候室中,花期较长,取样时间可达1~2个月^[7,19],有足够的时间取材培养。但在大田自然条件下,花期温度较高,每个材料可供取材的时间一般只有12d左右,所以要对花期集中的较多基因型材料在有限的时间内取材培养显然是不可能的。本研究采用0~40cm长的花序冷藏处理0~10d,不同程度均有胚状体的形成。对于同一材料而言,用于处理的花序越长,能进行小孢子胚胎发生的花序的有效处理时间就越长。但随着供体材料处理时间的延长,胚状体的产量有所下降,而且不同基因型的产胚能力有明显差异。本研究结果表明,适宜的低温预处理,能使供体材料的小孢子尽可能地保持生活力,有效地减缓小孢子退化的速度。供体材料低温预处理对扩大大田材料的取材规模、延长取样培养时间、有效缓解大田材料取材与培养之间的矛盾具有重要作用。

[参考文献]

- [1] Lichter R. Induction of haploid plants from isolated pollen of *B. rassica napus* [J]. *Z Pflanzenphysiol* Bot, 1982, 105: 427- 434
- [2] 钟维瑾, 方光华, 唐克轩, 等. 甘蓝型油菜游离小孢子培养诱导胚状体再生植株 [J]. *上海农业学报*, 1990, 6(4): 11- 16
- [3] Chuong P V, Pauls K P, Beversdorf W D. High-frequency embryogenesis in male sterile plants of *B. rassica napus* through microspore culture [J]. *Can J Bot*, 1988, 66: 1676- 1680
- [4] Cloutier S, Capadocia M, Landry B S. Study of microspore culture responsiveness in oilseed rape (*B. rassica napus* L.) by comparative mapping of a F₂ population and two microspore-derived populations [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 91: 841- 847
- [5] Teresa C T, Laurencja S, Angela N, et al. Selection for high erucic acid content in winter oilseed rape (*B. rassica napus* L.) on microspore-derived embryos [J]. *J Appl Genet*, 1999, 40(4): 305- 315
- [6] 黄剑华, 陆瑞菊, 周志疆, 等. 应用小孢子和花药培养技术筛选油菜抗菌核病材料 [J]. *植物生理学通讯*, 2001, 37(3): 226- 227
- [7] Coventry J, Kott L. Manual for microspore culture technique for *B. rassica napus* [M]. Ontario, Canada: Crop Science Department, University of Guelph, 1988. 6- 7.
- [8] Lo K H, Pauls K P. Plant growth environment effects on rapeseed microspore development and culture [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99: 468- 472
- [9] 余凤群. 甘蓝型油菜未成熟小孢子培养技术体系的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 1994
- [10] 官春云. 油菜小孢子培养和双倍体育种研究 I. 供体植株和小孢子密度对小孢子培养的影响 [J]. *作物学报*, 1995, 21(6): 665- 670
- [11] 陈 军, 陈正华, 刘澄清, 等. 甘蓝型油菜游离小孢子培养的胚胎发生 [J]. *遗传学报*, 1995, 22(4): 307- 315
- [12] Chuong P V, Deslauriers C, Kott L, et al. Effects of donor genotype and bud sampling on microspore culture of *B. rassica napus* [J]. *Can J Bot*, 1988, 66: 1653- 1657
- [13] 余凤群, 刘后利. 供体材料和培养基成分对甘蓝型油菜小孢子胚状体产量的影响 [J]. *华中农业大学学报*, 1995, 14(4): 327- 332
- [14] 上海植生所. 油菜花药培养研究(初报) [J]. *遗传学报*, 1977, 4(4): 311- 314
- [15] Keller W A, Armstrong K C. Embryogenesis and plant regeneration in *B. rassica napus* anther cultures [J]. *Can J Bot*, 1977, 55: 1383- 1388
- [16] George L, Kao P S. *In vitro* induction of pollen embryos and plantlets in *B. rassica juncea* through anther culture [J]. *Plant Sci Letters*, 1982, 26(1): 111- 116
- [17] 钟维瑾, 方光华, 唐克轩, 等. 甘蓝型油菜花药培养中若干因素对花粉胚状体诱导和植株再生的影响 [J]. *上海农业学报*, 1990, 6(2): 7- 14
- [18] 陈正华, 寸守铣, 陈之征, 等. 用细胞工程技术选育油菜双低新品种 [A]. 胡 含, 王恒立. *植物细胞工程与育种* [C]. 北京: 北京工业大学出版社, 1990. 55- 63
- [19] Lilian N, Christian M, Kristina G. Induction of secondary embryogenesis in microspore-derived embryos of *B. rassica napus* L. [J]. *Plant Science*, 1995, 111: 219- 227

Effects of low temperature pretreatment and genotypes on embryogenesis of microspores in *Brassica napus* L.

ZHU Yan-tao^{1,2}, LI Dian-rong², YANG Shu-shen¹

(1 College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Hybrid Rapeseed Research Center of Shaanxi Province, Dali, Shaanxi 715105, China)

Abstract: Effects of ways and time of low temperature pretreatment, lengths of inflorescences and genotypes of materials on embryogenesis of microspores were studied on isolated microspore culture of 16 cultivars (lines) and crossing combinations in *Brassica napus* L. in the field environment. The result showed that microspores had no embryogenesis capability when the rapeseed inflorescences were frozen pretreatment and that microspores still had certain embryogenesis capability when the inflorescences with 30-40 cm lengths were cold pretreated for 10 d. For inflorescences of 0-40 cm lengths, the longer of the length, the longer of the efficient pretreatment time in which microspores could conduct embryogenesis was longer. However, the embryoid yield trended to decline with the prolongation of pretreatment time of inflorescences. The experiment also proved that the genotypes of donor materials have an important effect on microspore embryogenesis rate.

Key words: rapeseed; low temperature pretreatment; microspore culture; haploid; embryoid

(上接第 87 页)

Abstract ID: 1671-9387(2005)05-0085-EA

The predatory functional responses and searching efficiency of *Protophylla japonica* on *Rhopalosiphum maidis*

ZHANG Shi-ze, HUA Bao-zhen, XU Xiang-li

(College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The experiment results showed that the functional response of predation on *Rhopalosiphum maidis* by the female and male of *Protophylla japonica* belonged to the type of Holling II. Female adults had a larger attacking rate than male adults. Relationship between amount of aphid preyed by ladybirds and aphid density showed a negative accelerative curve. The daily maximum number of aphid preyed theoretically by the female and male adult ladybirds were 87.3 and 93.4 aphids respectively. The searching efficiency decreased with the increase of predator density. The mutual interference among individual predators and preys could be described by Hassell equation. χ^2 test showed that the theoretical expectation fit the observed values.

Key words: *Protophylla japonica*; *Rhopalosiphum maidis*; functional response; searching efficiency