

甘蓝 CMS 下胚轴和子叶的离体培养 与植株再生研究

许念芳¹, 张恩慧¹, 李殿荣², 许忠民¹, 程永安¹, 王小艳¹, 马勇斌¹

(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2 陕西省杂交油菜研究中心, 陕西 大荔 715105)

[摘 要] **【目的】**探索一种利用甘蓝胞质雄性不育系(CMS)下胚轴和子叶进行快速扩繁的技术,为利用 CMS 大量繁殖甘蓝杂交种提供一条新途径。**【方法】**以甘蓝 CMS 05-2-10 为试材,将苗龄 5~7 d 无菌苗的下胚轴和子叶切下,接种于 MS 培养基上,45~50 d 后统计再生芽数,比较 6-BA 与 NAA 不同质量浓度配比对不定芽的诱导情况;将诱导出的不定芽接种于添加不同质量浓度(0, 0.1, 0.3, 0.5 mg/L)NAA 的 MS 生根培养基上,20 d 后比较生根率和根的长势。**【结果】**在对下胚轴和子叶进行不定芽诱导时,MS 培养基中分别添加 1.0 和 4.0 mg/L 的 6-BA 对下胚轴、子叶的诱导效果较好,其芽再生频率和分化系数分别为 83.3%, 53.0% 和 3.6, 3.0。在 MS 培养基中添加 1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA,其对下胚轴不定芽的诱导效果较好,芽再生频率为 80.7%,分化系数为 3.4,褐化率为 1.5%;在 MS 培养基中添加 4.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA,其对子叶不定芽的诱导效果较好,芽再生频率为 50.0%,分化系数为 3.2,褐化率为 3.4%;二者的褐化率均明显低于仅添加 6-BA 的处理。在 MS 生根培养基中添加 0.3 mg/L NAA 时,不定芽的生根效果较好,生根率达 100%,且根系生长健壮。**【结论】**利用甘蓝胞质雄性不育系 CMS 05-2-10 的下胚轴和子叶作为外植体进行不定芽的诱导,对于下胚轴,其适宜培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂;对于子叶,其适宜培养基为 MS+4.0 mg/L 6-BA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂。不定芽诱导生根的最适培养基为 MS+0.3 mg/L NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂。

[关键词] 甘蓝;胞质雄性不育系;下胚轴;子叶;离体培养;植株再生

[中图分类号] S635.04⁺3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)04-0115-06

Study on tissue culture and plant regeneration of hypocotyl and cotyledon of cytoplasmic male sterile line in cabbage

XU Nian-fang¹, ZHANG En-hui¹, LI Dian-rong², XU Zhong-min¹,

CHENG Yong-an¹, WANG Xiao-yan¹, MA Yong-bin¹

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

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

Abstract: **【Objective】**This experimentation aimed to explore fast propagation technology using hypocotyl and cotyledon of cytoplasmic male sterile line in cabbage to offer a way to produce hybrid cabbage by using cytoplasmic male sterile line. **【Method】**Cytoplasmic male sterile CMS 05-2-10 of cabbage was studied. Hypocotyl and cotyledon taken from 5—7 d seedling were inoculated in MS medium. The number of adventitious buds after 45—50 days was counted, and the result of hormone combinations of 6-BA and NAA on adventitious buds of induction was compared; adventitious buds were inoculated on MS medium

* [收稿日期] 2009-09-28

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BADB1B02, 2006BAD01A7-2-04); 陕西省“13115”重大科技专项(2008ZDKG-03); 农业部公益性行业(农业)科研专项经费项目(nyhyzx07-007)

[作者简介] 许念芳(1985—), 女, 山东济南人, 在读硕士, 主要从事甘蓝育种与生物技术研究。E-mail: xunianfang2009@163.com

[通信作者] 张恩慧(1960—), 男, 陕西扶风人, 教授, 硕士生导师, 主要从事甘蓝育种与生物技术研究。

E-mail: GanLan606@126.com

supplement with different concentrations(0,0.1,0.3,0.5 mg/L)of NAA. The condition of rooting rate and growth vigour of root was analyzed.【Result】When adventitious bud of hypocotyl and cotyledon were induced,the effects of adding 1.0 and 4.0 mg/L 6-BA in MS medium on adventitious bud regeneration were better,shoot regeneration frequency and coefficient of differentiation were 83.3%,53.0%and 3.6,3.0 respectively. The effect of adding 1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA in MS medium on adventitious bud regeneration of hypocotyl was better,shoot regeneration frequency was 80.7%,coefficient of differentiation 3.4,browning rate 1.5%;The effect of adding 4.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA in MS medium on adventitious bud regeneration of cotyledon was better,shoot regeneration frequency was 50.0%,coefficient of differentiation 3.2,browning rate 3.4%. Both of them can significantly reduce browning rate in comparison with only adding 6-BA. The effect of adding 0.3 mg/L NAA in MS medium on rooting culture was better,rooting rate of adventitious bud reached 100%,and the root can grow strongly.【Conclusion】Taking the hypocotyl and cotyledon of cytoplasmic male sterile CMS 05-2-10 of cabbage as explants to induce adventitious bud,the suitable medium on adventitious bud regeneration of hypocotyl is MS+1.0 mg/L 6-BA+30 g/L sucrose+8 g/L agar;the suitable medium on adventitious bud regeneration of cotyledon is MS+4.0 mg/L 6-BA+30 g/L sucrose+8 g/L agar. The suitable medium for root induction is MS+0.3 mg/L NAA+30 g/L sucrose+8 g/L agar.

Key words:cabbage;cytoplasmic male sterile line;hypocotyl;cotyledon;tissue culture;plant regeneration

甘蓝(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L)属于十字花科芸薹属二年生草本植物,为异花授粉作物,具有显著的杂种优势。利用其杂种优势,已成为进一步提高甘蓝产量、改进品质、增强抗性的一条主要途径^[1]。甘蓝杂交种的生产途径主要有 2 条^[2]:一是利用自交不亲和系,杂种纯度仅达 95%;二是利用雄性不育系,杂种纯度可达 100%。甘蓝萝卜质胞质雄性不育系(CMS)近年来才被国外改良成功,其为生长发育正常的不育源,引入国内的时间较短。目前,国内甘蓝育种者所拥有的骨干杂交种的亲本系多为自交不亲和系,其回交育成的 CMS 的保持系也多为自交不亲和系,从而导致雄性不育系的保持相对困难、结籽少、种子繁殖系数低,很大程度上影响了利用 CMS 大量生产杂种一代种子的进程,限制了高杂交率种子的推广与利用。目前,国内外虽然已有甘蓝组织培养和无性系建立的报道^[3-8],但对甘蓝 CMS 的研究报道较少。因此,本试验对 CMS 下胚轴、子叶的离体培养和植株再生条件进行了研究,欲探索一种利用甘蓝 CMS 下胚轴和子叶进行快速扩繁的技术,以期利用 CMS 大量繁殖甘蓝杂交种提供一条新途径。

1 材料与方法

1.1 材料

选用西北农林科技大学园艺学院甘蓝育种研究

室提供的甘蓝胞质雄性不育系,即甘蓝 CMS 05-2-10 为试材。

1.2 方法

1.2.1 无菌幼苗的培养 将试材种子放入灭菌纱布袋中,在蒸馏水中浸泡 1 h 后取出,放入灭菌烧杯中,用体积分数 70%酒精消毒 30 s,再用 1 g/L 升汞消毒 10 min,无菌水冲洗 3~5 次,然后将无菌种子播种到三角瓶中的 MS 培养基上,于室温(25 ℃)、黑暗条件下培养 2 d,待种子露白后,转移到 25 ℃、光照 14 h/d、光强 2 000~2 500 lx 的条件下,培养 5~7 d 后即得无菌幼苗。

1.2.2 6-BA 诱导分化不定芽适宜质量浓度的筛选

在超净工作台上将无菌苗从三角培养瓶中取出,将其下胚轴切成 1 cm 长、子叶切成 2 片作为外植体。接种于分别添加 0(对照,CK),1.0,2.0,3.0,4.0 和 5.0 mg/L 6-BA 的 MS 培养基上,筛选诱导不定芽的最适 6-BA 质量浓度。

1.2.3 6-BA 与 NAA 配比诱导分化不定芽适宜质量浓度的筛选

在添加有适宜质量浓度 6-BA 的下胚轴不定芽诱导的培养基上,再分别添加 0,0.05,0.1,0.2,0.3,0.4 和 0.5 mg/L NAA,筛选用下胚轴诱导不定芽时 6-BA 和 NAA 2 种激素的适宜配比。在添加有适宜质量浓度 6-BA 的子叶不定芽诱导的培养基上,再分别添加 0,0.05,0.1,0.3,0.5 和 1.0 mg/L NAA,筛选用子叶诱导不定芽时 6-BA 和

NAA 2 种激素的适宜配比。

1.2.4 生根培养基中适宜 NAA 质量浓度的筛选
待不定芽生长至 1.5~2.5 cm 高时,将其自基部切下,并转入分别含有 0(CK),0.1,0.3,0.5 mg/L NAA 的 MS 生根培养基上诱导生根,比较不同质量浓度 NAA 对生根率和根系长势的影响。

1.2.5 不定芽和不定根的诱导培养条件及数据统计
将不定芽和不定根诱导培养基的 pH 值调至 5.8,MS 基本培养基中含蔗糖 30 g/L、琼脂 8 g/L。不定芽在 23~25 ℃、光照 12~14 h/d、光强 2 000~2 500 lx 的条件下诱导培养,45~50 d 后统计诱导不定芽的分化结果;不定根诱导在 23~25 ℃、光照

12 h/d、光强 2 000~2 500 lx 的条件下培养,20 d 后统计不定根的诱导结果。芽再生频率=(出芽外植体数/接种外植体数)×100%,分化系数=出芽总数/出芽外植体数,生根率=(生根不定芽数/接种不定芽数)×100%。

2 结果与分析

2.1 6-BA 对甘蓝 CMS 下胚轴和子叶诱导不定芽的影响

6-BA 对甘蓝 CMS 下胚轴和子叶诱导不定芽的影响如表 1 所示。

表 1 MS 培养基中添加不同质量浓度 6-BA 对甘蓝 CMS 外植体诱导分化不定芽的影响
Table 1 Effects of adding different concentrations of 6-BA in MS medium on adventitious buds of induction for cabbage CMS explant

外植体 Explant	6-BA 质量 浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration of 6-BA	接种外植体数 Inoculation number	出芽外植体数 No. of budding explant	出芽总数 No. of adventitious buds	芽再生频率 Shoot regeneration frequency		分化系数 Differentiation coefficient	
					测定值/% Value	较对照增 减比例/% Compared with CK	测定值 Value	较对照 增减比例/% Compared with CK
下胚轴 Hypocotyl	0(CK)	150	45	50	30.0 dD	—	1.1 eD	—
	1.0	150	125	450	83.3 aA	177.7	3.6 aA	227.3
	2.0	150	90	189	60.0 bB	100.0	2.1 bB	90.9
	3.0	150	68	122	45.3 cC	51.0	1.8 cC	63.6
	4.0	150	48	77	32.0 dD	6.7	1.6 dC	45.5
	5.0	150	33	36	22.0 eE	-26.7	1.1 eD	0
子叶 Cotyledon	0(CK)	100	10	10	10.0 dD	—	1.0 cC	—
	1.0	100	33	36	33.0 cC	230.0	1.1 cC	10.0
	2.0	100	46	129	46.0 bB	360.0	2.8 aA	180.0
	3.0	100	35	70	35.0 cC	250.0	2.0 bB	100.0
	4.0	100	53	159	53.0 aA	430.0	3.0 aA	200.0
	5.0	100	45	86	45.0 bB	350.0	1.9 bB	90.0

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$)。下表同。
Note:The ones marked by lowercase letters behind the same column data show that the difference is significant($P<0.05$),and that by up-percase letters show that the difference is extremely significant($P<0.01$). The same as the following tables.

由表 1 可以看出,用下胚轴诱导不定芽时,向 MS 培养基中添加了不同质量浓度 6-BA 的 5 个处理中,除 5.0 mg/L 6-BA 诱导的不定芽数较对照减少外,其余 4 组的芽再生频率较对照增加 6.7%~177.7%,其中 1.0,2.0,3.0 mg/L 6-BA 处理组的芽再生频率为 45.3%~83.3%,分化系数为 1.8~3.6,与其他处理组的差异均达显著水平。综合分析可知,用下胚轴诱导不定芽时,以 MS 培养基中添加 1.0 mg/L 6-BA 的诱导效果较好。用子叶诱导不定芽时,在 MS 培养基中添加了不同质量浓度 6-BA 的 5 个处理,其诱导的不定芽数均高于对照,芽再生频率较对照提高了 230.0%~430.0%,分化系数较对照提高了 10.0%~200.0%,其中以 MS 培养基

中添加 4.0 mg/L 6-BA 的诱导效果较好,芽再生频率和分化系数分别为 53.0%和 3.0。下胚轴和子叶接种 30 d 后均能分化出不定芽(图 1 和图 2),但在以下胚轴外植体诱导不定芽的过程中,高质量浓度(5.0 mg/L)的 6-BA 会抑制芽分化,且褐化现象严重(图 3)。

2.2 6-BA 与 NAA 配比对甘蓝 CMS 下胚轴和子叶诱导不定芽的影响

由表 2 可以看出,MS 培养基中添加 1.0 mg/L 6-BA 与不同质量浓度 NAA,对下胚轴不定芽的诱导效果较仅添加 6-BA 差,除 1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA 组合对不定芽的诱导效果(芽再生频率和分化系数分别为 80.7%和 3.4)与对照无显著性

差异外,其他 6-BA 与 NAA 组合对不定芽的诱导效果均与对照呈现出显著差异,芽再生频率和分化系数均低于对照。MS 培养基中添加 4.0 mg/L 6-BA 与不同质量浓度 NAA,对子叶不定芽的诱导效果也较仅添加 6-BA 的差,其中只有 4.0 mg/L 6-BA +

0.3 mg/L NAA 组合诱导不定芽的效果较好,芽再生频率和分化系数分别为 50.0%和 3.2,且与对照无显著性差异。用下胚轴和子叶诱导不定芽,在含一定质量浓度 6-BA 的培养基中添加 NAA,虽不能增强其诱导效果,但可显著降低褐化率。



图 1 甘蓝CMS下胚轴培养35 d 诱导的不定芽
Fig.1 Adventitious buds of cabbage CMS hypocotyl cultured 35 days



图 2 甘蓝CMS子叶培养40 d 诱导的不定芽
Fig.2 Adventitious buds of cabbage CMS cotyledon cultured 40 days



图 3 添加5.0 mg/L 6-BA诱导培养 20 d褐化的甘蓝CMS下胚轴
Fig.3 Browning of the cabbage CMS hypocotyl cultured 20 days for adding 5.0 mg/L 6-BA

表 2 6-BA 与不同质量浓度 NAA 配比对甘蓝 CMS 外植体诱导分化不定芽的影响
Table 2 Effects of hormone combinations of 6-BA and different concentration of NAA on buds' induction and differentiation of cabbage CMS explant

外植体 Explant	6-BA 质量 浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration of 6-BA	NAA 质量 浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration of NAA	接种外 植体数 Inoculation number	出芽外植 体数 No. of budding explant	出芽总数 No. of Adventitious buds	芽再生频率/% Shoot regeneration frequency	分化系数 Differentiation coefficient	褐化率/% Browning rate
下胚轴 Hypocotyl	1.0	0	150	125	450	83.3 aA	3.6 aA	16.7
	1.0	0.05	150	100	270	66.7 cCD	2.7 cBCD	8.9
	1.0	0.1	150	90	234	60.0 dDE	2.6 cdCD	3.1
	1.0	0.2	150	121	411	80.7 aAB	3.4 abAB	1.5
	1.0	0.3	150	111	333	74.0 bBC	3.0 bcABC	2.6
	1.0	0.4	150	102	214	68.0 cC	2.1 deDE	1.8
	1.0	0.5	150	80	144	53.3 eE	1.8 eE	1.6
子叶 Cotyledon	4.0	0	100	53	159	53.0 aA	3.0 aA	23.3
	4.0	0.05	100	33	99	33.0 bB	3.0 aA	11.7
	4.0	0.1	100	35	102	35.0 bB	2.9 aA	6.1
	4.0	0.3	100	50	160	50.0 aA	3.2 aA	3.4
	4.0	0.5	100	18	34	18.0 cC	1.9 bB	3.3
	4.0	1.0	100	11	15	11.0 dD	1.4 cB	4.6

2.3 NAA 对甘蓝 CMS 不定根诱导的影响

由表 3 可知,甘蓝不定芽容易诱导出再生根,MS 培养基中添加不同质量浓度 NAA 的各处理,生根率均达 100%;其中添加 0.1 mg/L NAA 处理的最粗根直径、根数、根鲜质量和最长根长度均大于对照;添加 0.3 和 0.5 mg/L NAA 的处理中,除最长根长度小于对照外,其余指标值均显著高于对照。综合分析认为,以 MS 培养基中添加 0.3 mg/L NAA 处理的生根效果最好,平均最粗根直径为 0.47 mm,较对照增加 840.00%;平均根数为 26 条,较对

照增加 85.71%;平均根鲜质量为 0.17 g,较对照增加 325.00%;平均最长根长度为 5.74 cm,仅较对照减少 6.36%。由此得出,培养基中添加 NAA 对甘蓝不定芽生根有一定的诱导效果,其主要作用在于促进根系健壮生长。图 4 为培养基中分别添加 0.1,0.3 和 0.5 mg/L NAA 对不定芽生根的诱导效果。从图 4 可以看出,添加 0.30 mg/L NAA 对不定芽生根具有较好的诱导效果,其诱导的根系生长健壮。

表 3 不同质量浓度 NAA 对甘蓝 CMS 不定芽生根的影响

Table 3 Effects of different concentrations of NAA for adventitious buds taking roots									
NAA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration of NAA	生根率/% Root of differentiation	最粗根直径 Root diameter		根数 No. of root		根鲜质量 Root fresh weight		最长根长度 Root length	
		测定值/mm Value	较对照增加比例/% Compared with CK	测定值 Value	较对照增加比例/% Compared with CK	测定值/g Value	较对照增加比例/% Compared with CK	测定值/cm Value	较对照增加比例/% Compared with CK
0(CK)	100	0.05 cC	—	14 cB	—	0.04 cC	—	6.13 aA	—
0.1	100	0.07 cBC	40.00	16 bcB	14.29	0.12 bB	200.00	7.63 bB	24.47
0.3	100	0.47 aA	840.00	26 aA	85.71	0.17 aA	325.00	5.74 bcBC	—6.36
0.5	100	0.17 bB	240.00	20 bAB	42.86	0.13 bAB	225.00	5.34 cC	—12.89

注:每个处理的数据为 10 株苗的平均值。
Note:The data of every treatment is the average of ten plants.

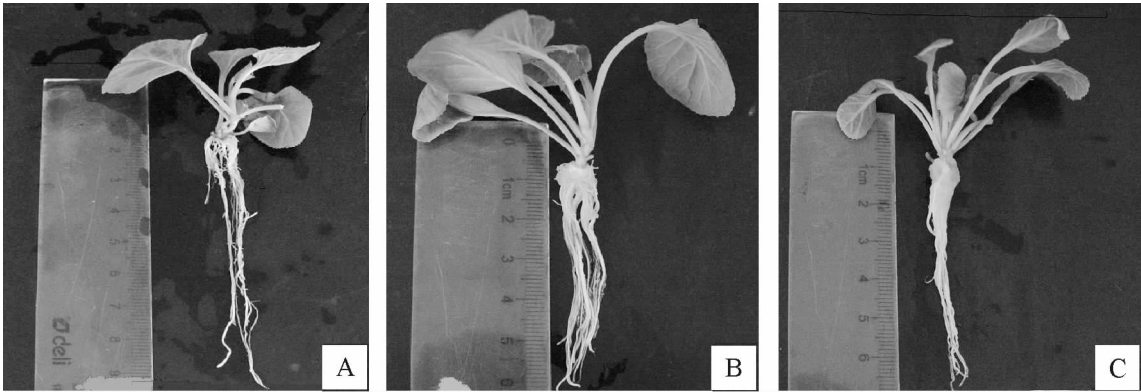


图 4 MS 培养基中添加不同质量浓度 NAA 对甘蓝 CMS 不定芽生根的诱导效果
A. 0.1 mg/L NAA; B. 0.3 mg/L NAA; C. 0.5 mg/L NAA

Fig. 4 Induction effects of adding different concentrations of NAA in MS on adventitious buds of cabbage CMS rooting

3 讨 论

十字花科芸薹属作物在无性繁殖时,添加一定质量浓度的外源激素能够促进外植体不定芽的分化^[9]。本研究以甘蓝 CMS 05-2-10 的下胚轴和子叶作为外植体诱导不定芽,在 MS 培养基中添加细胞分裂素 6-BA,可知在 6-BA 质量浓度分别为 1.0, 4.0 mg/L 时,有利于下胚轴、子叶不定芽的分化,该结果与李光远等^[10]、周禾等^[11]的研究结果一致。由此说明,对下胚轴和子叶进行不定芽诱导分化时,添加一定质量浓度的 6-BA 可促进外植体细胞的快速分裂,限制愈伤组织的生长并改变其发育途径,直接促进不定芽的形成,从而提高了不定芽的诱导效果。

在植物离体培养中,外源细胞分裂素、生长素对不定芽的诱导和生长发育具有重要作用。一般认为,细胞分裂素与生长素质量浓度的适宜配比是植物不定芽分化的重要条件,细胞分裂素有利于芽的诱导分化,生长素有利于根的诱导分化,二者同时使用,质量浓度比值高时产生芽,质量浓度比值适中时可能维持原组织生长而不发生分化^[12-13]。本研究结

果表明,在 MS 培养基中分别添加 1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA 及 4.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L,有利于甘蓝胞质雄性不育系 CMS 05-2-10 下胚轴、子叶不定芽的诱导;不定芽的诱导再生能力以下胚轴较强,6-BA 和 NAA 2 种激素共同使用,能明显降低下胚轴和子叶诱导不定芽时的褐化率。

根系健壮是试管苗成为再生植株的重要保证。研究表明^[14-15],在不定根形成过程中,生长素起着主要作用。本研究将下胚轴和子叶诱导的不定芽转入含有不同质量浓度 NAA 的 MS 培养基上,结果均能诱导出再生根,但所诱导的根系生长势存在差异,其中以 MS 培养基中添加 0.3 mg/L NAA 诱导生根的效果较好,且再生根生长旺盛,根系短而粗壮,根数较多,有利于试管苗的再生。

4 结 论

利用甘蓝 CMS 05-2-10 的下胚轴和子叶作为外植体,在诱导培养再生植株的技术体系中,选用长度为 1 cm 的下胚轴或将子叶切成 2 片,接种于添加一定质量浓度 6-BA 的 MS 培养基中,有利于子叶和

下胚轴不定芽的诱导。对于下胚轴,其适宜培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂,芽再生频率为 83.3%,分化系数为 3.6;对于子叶,其适宜培养基为 MS+4.0 mg/L 6-BA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂,芽再生频率为 53.0%,分化系数为 3.0。不定芽诱导生根的最适培养基为 MS+0.3 mg/L NAA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂,生根率 100%,且根系生长健壮。外植体子叶或下胚轴诱导培养 45~50 d 后,可获得具有 6~7 片真叶的健壮幼苗。

[参考文献]

[1] 何启伟. 十字花科蔬菜优势育种 [M]. 北京:农业出版社, 1993.
He Q W. Heterosis breeding of cruciferous vegetables [M]. Beijing: Agriculture Press, 1993. (in Chinese)

[2] 方智远,孙培田,刘玉梅,等. 几种类型甘蓝雄性不育的研究与显性不育系的利用 [J]. 中国蔬菜, 2001(1): 6-20.
Fang Z Y, Sun P T, Liu Y M, et al. Investigation of different types of male sterility and application of dominant male sterility in cabbage [J]. China Vegetables, 2001(1): 6-20. (in Chinese)

[3] 余简明,蔡小宇,徐鹤林,等. 结球甘蓝无菌苗子叶和下胚轴诱导再生植株 [J]. 江苏农业学报, 1996, 12(1): 56-58.
Yu J M, Cai X N, Xu H L, et al. Studies on plant regeneration and conditions for gene transformation of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 1996, 12(1): 56-58. (in Chinese)

[4] 金国良,张恒庆. 六种甘蓝下胚轴和子叶无性系建立的研究 [J]. 河南大学学报:自然科学版, 2006, 36(3): 76-79.
Jin G L, Zhang H Q. The research on the clone construction about hypocotyl and cotyledon of six kinds of *Brassica oleracea* [J]. Journal of Henan University: Natural Science Edition, 2006, 36(3): 76-79. (in Chinese)

[5] 吕爽,王超. 结球甘蓝离体培养的研究进展 [J]. 北方园艺, 2004(3): 6-7.
Lü S, Wang C. The research progress of tissue culture in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) [J]. Northern Horticulture, 2004(3): 6-7. (in Chinese)

[6] 丁建刚,李成琼,宋洪元. 结球甘蓝下胚轴高效植株再生系统的研究 [J]. 广西农业科学, 2003(5): 10-12.
Ding J G, Li C Q, Song H Y. High-efficiency regeneration system for cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) hypocotyls [J]. Guangxi Agricultural Science, 2003(5): 10-12. (in Chinese)

[7] 朱艳. 甘蓝的离体培养与植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(3): 352.

Zhu Y. Study on tissue culture and plant regeneration of cabbage [J]. Plant Physiology Communications, 2004, 40(3): 352. (in Chinese)

[8] Kwon O C, Maeda E. Effect of figaron on the organogenesis of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) hypocotyl segments cultured *in vitro* [J]. Korean Soc Hort Sci, 1987, 28(2): 126-130.

[9] 何小兰,吴敬音,朱卫民,等. 6-BA 和 AgNO₃ 对甘蓝型油菜带柄子叶外植体不定芽再生的影响 [J]. 江苏农业学报, 2001, 17(4): 211-214.
He X L, Wu J Y, Zhu W M, et al. Effects of 6-BA and AgNO₃ on adventitious shoot regeneration from the explants of cotyledon with petiole of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2001, 17(4): 211-214. (in Chinese)

[10] 李光远,王宜娜,王凤华. 不同激素对结球甘蓝下胚轴离体培养的影响 [J]. 安徽农学通报, 2007, 13(15): 59-60.
Li G Y, Wang Y N, Wang F H. Influence of hormone on tissue culture of under hypocotyls of cabbage (*Brassica oleracea* L.) [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2007, 13(15): 59-60. (in Chinese)

[11] 周禾,郭蓓,杨起简. 甘蓝下胚轴离体培养直接分化成苗的研究 [J]. 北京农学院学报, 1995, 10(1): 12-15.
Zhou H, Guo P, Yang Q J. A study on the direct plant regeneration of hypocotyl of cabbage [J]. Journal of Beijing Agricultural College, 1995, 10(1): 12-15. (in Chinese)

[12] 成细华,戴大鹏. 大白菜真叶的组织培养及植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(4): 310-311.
Cheng X H, Dai D P. Study on tissue culture and plant regeneration of true leaf in Chinese cabbage [J]. Plant Physiology Communications, 2001, 37(4): 310-311. (in Chinese)

[13] 于占东,何启伟,牟晋华,等. 大白菜组织培养与植株再生研究 [J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(4): 391-395.
Yu Z D, He Q W, Mou J H, et al. Study on the tissue culture and plant regeneration of Chinese cabbage [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2005, 27(4): 391-395. (in Chinese)

[14] 王艳,贺宾,曾幼玲,等. 甘蓝型油菜带柄子叶高频率再生植株的研究 [J]. 中国油料作物学报, 2004, 26(4): 68-90.
Wang Y, He B, Zeng Y L, et al. High efficiency of plant regeneration from petiolate cotyledons in rapeseed (*Brassica napus*) [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004, 26(4): 68-90. (in Chinese)

[15] 曹家树,余小林,黄爱军,等. 提高白菜离体培养植株再生频率的研究 [J]. 园艺学报, 2000, 27(6): 452-454.
Cao J S, Yu X L, Huang A J, et al. Enhancement of plant regeneration frequency of *in vitro* cultured Chinese cabbage [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2000, 27(6): 452-454. (in Chinese)