

网络出版时间:2013-07-18 15:59

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130718.1559.002.html>

甘蓝小孢子胚状体分化不定芽再生植株的研究

刘莹莹¹, 张恩慧¹, 许忠民¹, 杨安平², 程永安¹,
程 慧¹, 程芳芳¹

(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100;

2 杨凌职业技术学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】【目的】探讨甘蓝小孢子胚状体诱导不定芽的适宜生根转接高度及添加烯效唑对再生植株生长的影响, 寻找胚状体芽生根和再生植株生长发育的最佳培养条件, 为甘蓝小孢子培养技术体系的不断完善奠定基础。【方法】以“绿球 66”甘蓝游离小孢子为材料, 诱导分化出不定芽, 根据芽高度不同分为 $\geq 1.0 \sim < 2.0$ cm (小芽) 和 $\geq 2.0 \sim < 3.5$ cm (大芽) 2 组, 分别转接到 MS+NAA 0.2 mg/L+烯效唑(0(对照), 0.01, 0.05, 0.1 mg/L)+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L 培养基上诱导生根, 培养再生植株, 观测再生植株的生长情况, 筛选不定芽适宜转接高度和烯效唑最佳质量浓度。【结果】甘蓝小孢子胚状体诱导生成不定芽高度 $\geq 1.0 \sim < 3.5$ cm 时转接生根, 不仅能促进胚状体丛生芽中小芽继续生长, 而且有利于增加当代小孢子再生植株数量。对照甘蓝小孢子再生植株根系根瘦弱细长、数量少、韧性较差; 添加 0.01 和 0.05 mg/L 烯效唑后, 再生植株根短粗、数量多、韧性强、健壮, 且以 0.05 mg/L 烯效唑处理的再生植株生长最好。生根培养基中添加 0.01 和 0.05 mg/L 烯效唑后, 小芽再生植株移栽到营养钵和定植到田间的成活率分别为 90.7%, 98.8% 和 89.7%, 97.6%, 大芽再生植株则分别为 91.0%, 100.0% 和 94.4%, 97.7%。【结论】甘蓝小孢子在 MS+NAA 0.2 mg/L+烯效唑 0.05 mg/L+ Suc 30 g/L+Agar 7 g/L 培养基中生根再生的植株, 其移栽到营养钵和田间的成活率均超过了 97.6%。

【关键词】 甘蓝; 小孢子; 不定芽; 生根; 再生植株

【中图分类号】 S635.104⁺.3

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)08-0149-06

Adventitious bud regeneration plant differentiation from cabbage microspore embryoid

LIU Ying-ying¹, ZHANG En-hui¹, XU Zhong-min¹, YANG An-ping²,
CHENG Yong-an¹, CHENG Hui¹, CHENG Fang-fang¹

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

2 Yangling Vocational & Technical College, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】This article discussed the effects of root switching height and uniconazole on adventitious bud induced by cabbage microspore embryo to obtain the best cultivation condition. 【Method】Cabbage cultivar “Lvqiu66” was selected as the material. According to bud height, the cultivars were divided into $\geq 1.0 \sim < 2.0$ cm group (small bud) and $\geq 2.0 \sim < 3.5$ cm (big bud) group before being transferred to medium of MS+NAA 0.2 mg/L+uniconazole (0 (CK), 0.01, 0.05, 0.1 mg/L)+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L to induce root and culture regeneration plant. The growth conditions of adventitious bud were

* [收稿日期] 2012-10-24

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD02B01); 国家大宗蔬菜产业技术体系项目(CARS-25-G-47); 西北农林科技大学重点推广项目(XTG-2009-17, XTG-2010-18); 陕西省科学技术研究发展计划项目(2010K01-09-2); 陕西省教育厅科学研究项目(11JK0642); 杨凌职业技术学院科学研究项目

[作者简介] 刘莹莹(1986—), 女, 河南濮阳人, 在读硕士, 主要从事甘蓝生物技术研究。E-mail: liu42315@163.com

[通信作者] 张恩慧(1960—), 男, 陕西扶风人, 教授, 研究生导师, 主要从事甘蓝育种与生物技术研究。E-mail: ganlan606@126.com

observed and the best concentration of uniconazole was analyzed. 【Result】 The height of $\geq 1.0 \sim < 3.5$ cm could promote the growth of cabbage microspore embryoids induced adventitious bud and significantly improve the number of regeneration plants. Regeneration plant root system of control was thin slender with less number and poor toughness while adding uniconazole improved the quantity, toughness and robustness. 0.05 mg/L uniconazole was the best treatment. The transplanting survival rates and engraftment rates of regeneration plants of small bud group were 90.7%, 98.8% and 89.7%, 97.6%, respectively and that of big bud group were 91.0%, 100.0% and 94.4%, 97.7%, respectively. 【Conclusion】 Regeneration plants of cabbage microspore in the medium of MS+NAA 0.2 mg/L+uniconazole 0.05 mg/L+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L were the best with transplanting survival and engraftment rates of higher than 97.6%.

Key words: cabbage; microspore; adventitious bud; take root; regeneration plant

甘蓝(*Brassica oleracea* L.)为十字花科芸薹属蔬菜类作物,其主要用于鲜食(炒食、凉拌、煮食)和加工(泡菜、腌渍、脱水干制等)食用。近年来,随着甘蓝国内需求量和出口贸易量的快速增加,甘蓝种植面积呈现逐年扩大的趋势。据统计,2010年,我国的甘蓝栽培面积达 96.3 万 hm^2 ^[1],已成为我国主要栽培蔬菜种类。

但是,伴随着甘蓝栽培面积的快速增加和高山栽培模式的迅速发展,甘蓝栽培品种育种工作则相对滞后,国内育成的某些栽培品种类型已不能适应产业发展的需求。因此,创制新资源和选育新品种成为当前甘蓝育种工作的主要目标。目前,甘蓝新资源自交系的创制主要有 2 种方法,一是通过连续自交定向选择的常规选育方法,二是利用小孢子培养再生植株的单倍体育种方法。相比而言,后者更具优势,因为利用甘蓝小孢子培养创制新资源自交系,纯合速度快,仅需 1~2 年,易克服自交衰退,是缩短新品种选育周期的一种最有效的育种方法^[2]。

甘蓝小孢子培养技术体系的建立和新资源双单倍体(DH)系的成功创制,为选育多类型甘蓝品种创造了条件。甘蓝小孢子培养再生植株需经过游离小孢子发育成胚状体,继而诱导培养长出不定芽;再将不定芽转接到生根培养基培养;最后生长成为完整再生植株等 3 个主要培养时段。在这 3 个培养时段中,不同发育因素对植株再生和生长的影响尚有待探索。

为此,本研究以甘蓝小孢子胚状体诱导的不定芽为试材,分析不定芽高度和培养基中烯效唑质量浓度对其再生植株生长的影响,旨在获得不定芽诱导生根和再生植株生长发育的最佳培养条件,为甘蓝小孢子培养技术体系的不断完善和甘蓝育种效率的提高奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

以西北农林科技大学园艺学院新育成的国鉴杂种一代甘蓝品种“绿球 66”为培养游离小孢子的供体品种,通过对游离小孢子培养后获得发育正常、生长健壮的子叶型胚状体,将胚状体转接到 $B_5 + 6\text{-BA}$ 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L 固体培养基上,在温度为 23~25 $^{\circ}\text{C}$ 、光照强度为 2 000~2 500 lx、光照时间 12~14 h/d 的条件下培养,诱导子叶型胚状体分化不定芽。

1.2 方法

1.2.1 不定芽高度对再生植株的影响 将子叶型胚状体诱导分化的不定芽自基部切下,按其高度分为 $\geq 1.0 \sim < 2.0$ cm (小芽)和 $\geq 2.0 \sim < 3.5$ cm (大芽) 2 组,分别转接到 MS+NAA 0.2 mg/L+烯效唑 0.05 mg/L+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L 培养基上诱导生根,培养再生植株。每个不定芽转接 1 个指型瓶(直径 3.0 cm),每处理 30 个不定芽,3 次重复。在温度 25 $^{\circ}\text{C}$ 、光照 12 h/d、光强 2 000 lx 的条件下诱导培养,定期观察不定芽的生根情况,每隔 5 d 观察 1 次再生植株的生长势,连续观察 5 次,比较不同高度不定芽对生根和再生植株生长势的影响。

1.2.2 烯效唑质量浓度对再生植株根系生长的影响 将高度 $\geq 1.0 \sim < 2.0$ cm (小芽)和 $\geq 2.0 \sim < 3.5$ cm (大芽) 2 组不定芽,分别转接到添加不同质量浓度(0 (对照,CK), 0.01, 0.05, 0.1 mg/L)烯效唑的 MS+NAA 0.2 mg/L+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L 培养基上诱导生根,培养再生植株。每个不定芽转接 1 个指型瓶(直径 3.0 cm),每处理 30 个不定芽,3 次重复。培养条件与 1.2.1 相同,考察烯效唑质量浓度对再生植株根系生长的影响。

1.2.3 添加不同质量浓度烯效唑的培养基中再生

植株移栽后的生长差异 在 不定芽生根培养 25 d 时,打开瓶口通风 5 d,随后从指型瓶中取出生根的小孢子再生植株,洗净根系,移栽到营养钵炼苗,7 d 后定植于大田,正常栽培管理。在再生植株不同生长阶段(移栽后 7 d 和定植后 7 d),调查比较添加不同质量浓度烯效唑培养基中再生植株的移栽成活率、定植成活率和生长势。

1.2.4 再生植株生长势的调查 (1)净生长高度。将 2 组不定芽转接到生根培养基后,在指型瓶外标记测量起点,随后每隔 5 d 测量 1 次再生植株的生长高度,计算再生植株的净生长高度。

(2)初显根时间。将不定芽转接到生根培养基至根系肉眼可见的时间(d)。

(3)茎粗。将再生植株移栽到营养钵时,利用游标卡尺测量再生植株第 2 片至第 3 片真叶节间的茎粗。

(4)叶片数量和最长叶片长度。将再生植株移栽到营养钵时,统计再生植株叶片长度≥1 cm 的叶片数,利用游标卡尺测量叶片中最长叶片的长度。

(5)根系数量和最长根长度。将再生植株移栽到营养钵时,洗净根系,统计根系数量,利用游标卡尺测量根系中最长根的长度。

(6)移栽或定植成活率。将再生植株移栽到营

养钵中炼苗的第 7 天,或炼苗后定植到田间的第 7 天,统计再生植株成活株数,计算成活率。

1.3 数据统计分析

试验数据采用 DPS 7.05 版软件进行统计分析处理,用 Microsoft Excel 软件做图。

2 结果与分析

2.1 不定芽高度对甘蓝小孢子诱导再生植株生长的影响

由表 1 可以看出,不同高度甘蓝小孢子不定芽在生根培养基上生成的再生植株生长势表现不同。当生根转接的不定芽较小时,诱芽再生的植株净生长高度随着生长时间的延长呈降低趋势,初显根时间为 6 d。当不定芽较大时,诱芽再生植株的净生长高度以诱导培养 25 d 时最大,为 5.43 mm;以诱导培养 5 d 时最小,为 3.81 mm,随着生长时间的延长呈增加趋势,初显根时间为 7 d。再生植株移栽到营养钵时,小芽和大芽生成的再生植株除茎粗存在极显著差异外,叶片和根系的其他性状之间差异均不显著。结果表明,在甘蓝小孢子培养中,当用胚状体诱导不定芽时,可选择高度≥1.0~<3.5 cm 的芽进行试验,有利于增加当代小孢子的再生植株数。

表 1 不定芽高度对甘蓝小孢子诱导再生植株生长势的影响

Table 1 Influence of adventitious bud height on growth of cabbage microspore regeneration plant

不定芽高度/cm Adventitious bud height	净生长高度/mm Net growth height					初显根时间/d Incipient root days
	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	
≥1.0~<2.0	4.49±0.002 3 aA	4.13±0.006 8 aA	3.37±0.006 2 bB	2.81±0.004 5 bB	2.40±0.003 1 bB	6
≥2.0~<3.5	3.81±0.003 0 bB	4.07±0.003 8 aA	4.44±0.007 5 aA	4.98±0.004 0 aA	5.43±0.003 8 aA	7

不定芽高度/cm Adventitious bud height	茎粗/mm Diameter	叶片 Leaf		根系 Root	
		数量 Number	最长叶片长度/cm Longest leaf length	数量 Number	最长根长度/cm Longest leaf length
≥1.0~<2.0	1.02±0.000 3 bB	5.48±0.270 0 a	2.91±0.047 3 a	15.10±0.750 3 a	3.27±0.051 3 a
≥2.0~<3.5	1.27±0.002 1 aA	5.54±0.240 0 a	2.95±0.072 1 a	14.70±0.707 7 a	3.32±0.056 9 a

注:数据以“平均值±标准误”表示。同列数据后标不同小写字母者表示在 P=0.05 水平差异显著,标不同大写字母者表示在 P=0.01 水平差异极显著。下表同。

Note:The data in the table are “average value±standard error”. Different lowercase letters indicate significant difference at the level of P=0.05 and different uppercase letters indicates significant difference at the level of P=0.01. The same as follows.

2.2 烯效唑质量浓度对甘蓝小孢子诱导再生植株根系生长的影响

由图 1 可以看出,2 组高度不同的甘蓝小孢子不定芽转接到添加了不同质量浓度烯效唑的生根培养基中后,其生成的再生植株根系数量均比对照多,其中根系数量最多的是添加 0.05 mg/L 烯效唑处理,0.01 mg/L 烯效唑处理次之;最长根长度均比对照短;最长根长度与对照相差最小的为 0.01 mg/L

烯效唑处理,0.05 mg/L 烯效唑处理次之。各处理间的根系数量和最长根长度均存在极显著差异。观察发现,对照再生植株根系瘦弱细长、数量少、韧性较差(图 2-I);培养基中添加烯效唑处理的再生植株根短粗、数量多、韧性强、健壮(图 2-II,III,IV)。由此表明,在 MS+NAA 0.2 mg/L+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L 不定芽生根培养基中添加适量的烯效唑,有利于甘蓝小孢子诱导再生植株根系健壮生长

及其坚韧性的增强。

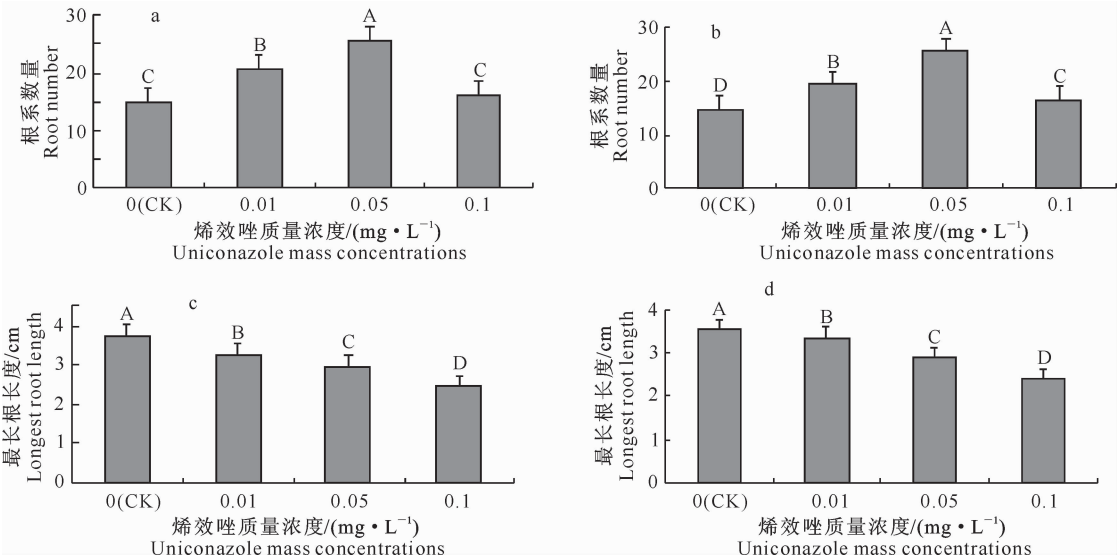


图 1 烯效唑质量浓度对甘蓝小孢子诱导再生植株根系生长的影响

a,c. 小芽;b,d. 大芽;图柱上标不同大写字母者表示在 $P=0.01$ 水平差异极显著

Fig. 1 Influence of uniconazole mass concentrations on root growth of cabbage microspore induced regeneration plant

a,c. Small adventitious bud group;b,d. Big adventitious bud group;Different uppercase letters on the histogram indiates significant difference at the level of $P=0.01$

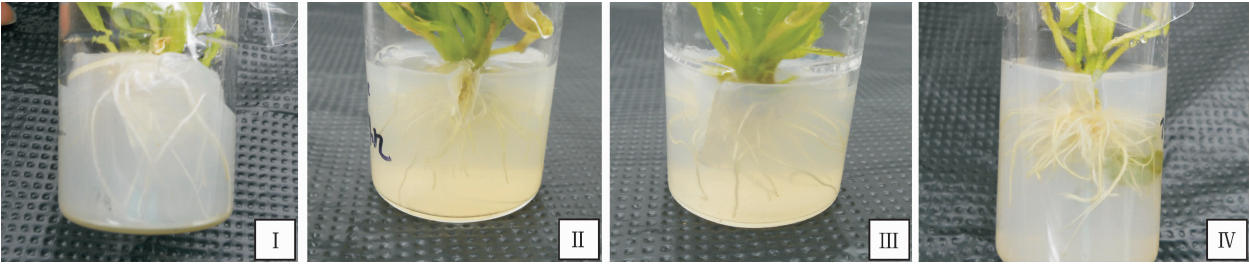


图 2 甘蓝小孢子诱导再生植株根系在添加不同质量浓度烯效唑培养基中生长情况的比较

I. 0(CK); II. 0.01 mg/L; III. 0.05 mg/L; IV. 0.1 mg/L

Fig. 2 Comparison of cabbage microspore induced regeneration plant root growth after adding uniconazole with different mass concentrations

2.3 甘蓝小孢子诱导再生植株移栽后的生长差异 表 2 所示。

甘蓝小孢子诱导再生植株移栽后的生长差异如

表 2 甘蓝小孢子诱导再生植株移栽后的生长差异

Table 2 Growth difference of cabbage microspore induced regeneration plant after transplant							
不定芽 高度/cm Adventitious bud height	生根培养基中 烯效唑质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Uniconazole concentration of rooting medium	营养钵栽培 Block cultivation			田间栽培 Field cultivation		
		移栽株数 Number of transplanting	第 7 天株数 Number of transplanting in the 7 day	移栽成活率/% Ratio of transplant	定植成活株数 Colonization number of survival	定植成活率/% Ratio of colonization	缓苗后植株表现 Slow seedling after plant performance
≥1.0~<2.0	0(CK)	63	49	77.8 cC	43	87.8 cC	生长势弱 Growth potential weak
	0.01	75	68	90.7 bB	61	89.7 bB	较健壮 Less strong
	0.05	84	83	98.8 aA	81	97.6 aA	健壮 Strong
	0.1	54	37	68.5 dD	31	83.8 dD	生长势弱 Growth potential weak

续表 2 Continued table 2

不定芽 高度/cm Adventitious bud height	生根培养基中 烯效唑质量浓度/ (mg·L ⁻¹)	营养钵栽培 Block cultivation			田间栽培 Field cultivation		
	Uniconazole concentration of rooting medium	移栽株数 Number of transplanting	第 7 天株数 Number of transplanting in the 7 day	移栽成活率/% Ratio of transplant	定植成活株数 Colonization number of survival	定植成活率/% Ratio of colonization	缓苗后植株表现 Slow seedling after plant performance
≥2.0~<3.5	0(CK)	65	50	76.9 cC	46	92.0 cC	生长势弱 Growth potential weak
	0.01	78	71	91.0 bB	67	94.4 bB	较健壮 Less strong
	0.05	87	87	100.0 aA	85	97.7 aA	健壮 Strong
	0.1	60	42	70.0 dD	38	90.5 dD	生长势弱 Growth potential weak

由表 2 可知,在甘蓝小孢子不定芽生根培养基中添加一定质量浓度的烯效唑,不仅增强了再生植株根系的柔韧性,也基本上提高了再生植株的移栽成活率。将指型瓶中不定芽诱导生成的再生植株适时移栽到营养钵炼苗和定植田间后发现,生根培养基中添加 0.01 和 0.05 mg/L 烯效唑处理的再生植株移栽成活率均极显著高于对照,小芽再生植株的移栽和定植成活率分别为 90.7%,98.8% 和 89.7%,97.6%,大芽再生植株分别为 91.0%,100.0%和 94.4%,97.7%;而添加 0.1 mg/L 烯效唑处理再生植株的移栽和定植成活率均极显著低于对照。由此表明,生根培养基中添加 0.01 和 0.05 mg/L 烯效唑有利于改善甘蓝小孢子的培养效果,易获得较多的田间小孢子 DH 植株,且以 0.05 mg/L 烯效唑处理效果最好,但添加过量的烯效唑则会适得其反。

3 讨 论

甘蓝游离小孢子培养相对于油菜^[3-5]、大白菜^[6]、花椰菜^[7-8]、芥蓝^[9]等其他十字花科作物困难,一是因为其基因比较特殊,甘蓝小孢子出胚较其他作物困难,多数材料对常规培养无反应或胚产量较低;二是缺少培养胚状体再生植株的有效方法,因此胚状体再生植株比率也比较低,单个胚状体当代形成的再生植株数量极少,从而难以对当代 DH 株群的性状进行鉴定评价。本试验结果表明,在甘蓝小孢子不定芽高度为≥1.0~<3.5 cm 时即可转接生根,不定芽越小其缓芽越轻,再生植株生根越快,有利于增加再生植株数量。

烯效唑(分子式 C₁₅H₁₈N₃OCl)属于三唑类化合物,是一种高活性植物生长延缓剂,具有促根壮苗、延缓植物生长、增强抗逆性等作用。周恒等^[10]报道,在草莓试管苗培养基中添加 0.03~0.05 mg/L 烯效唑能迅速恢复弱苗的长势,形成植株矮壮、叶色浓绿、根粗的壮苗。周祖富等^[11]报道,在马铃薯试

管苗培养基中添加 0.001~0.005 mg/L 烯效唑,可以起到壮苗效果,使茎秆增粗,叶色增绿,促进不定根发生,根数增多,但当烯效唑的质量浓度超过 0.005 mg/L 时则使茎生长受到严重抑制。本试验结果也表明,在甘蓝胚状体不定芽生根培养基中添加 0.01 和 0.05 mg/L 烯效唑,能够促进初生根、次生根的发生和生长,再生植株根系健壮,根系数量增加,生长旺盛,且以 0.05 mg/L 烯效唑处理效果最好;但当烯效唑质量浓度为 0.1 mg/L 时,则会导致再生植株根系数量减少,根系粗短,生长减弱,原因可能是过高质量浓度烯效唑抑制了细胞分裂。

植物组培苗的根茎叶比较脆嫩、柔韧性弱,不论从培养瓶移出直接移栽或经短暂炼苗再移栽,根茎叶均易断裂,从而导致再生植株严重缓苗或死亡。罗璉等^[12]报道,完整的植物根系由主根、侧根、根毛以及一定数量的不定根组成,侧根和根毛数量十分庞大,根系的生理功能也主要由它们完成,损伤侧根和根毛对植物生长不利。冯乃杰等^[13]报道,用适宜质量浓度烯效唑浸种对大豆木质部和韧皮部面积的增加起促进作用,有利于根系维管组织的分化,从而提高移栽成活率并促进移栽后植株的生长发育。陈龙清等^[14]研究认为,烯效唑对地被菊试管苗有促进生根作用,试管苗移栽成活率高。本研究结果也显示,在生根培养基中添加适量的烯效唑,能极显著地提高所有甘蓝小孢子不定芽再生植株的定植成活率,最高可达 97.7%。这可能是因为烯效唑促进了试管苗根茎叶木质部和韧皮部的生长,增强了其柔韧性,移栽植株时侧根、根毛和茎叶不易被损伤破坏,从而提高了甘蓝 DH 植株的定植成活率。

4 结 论

在甘蓝小孢子培养中,当胚状体诱导不定芽高度≥1.0~<3.5 cm 时即可转接生根,不定芽越小其缓芽越轻,再生植株生根越快,同时能促进胚状体丛生芽中小芽继续生长,有利于增加当代小孢子再

生植株的数量。甘蓝胚状体不定芽在 MS+NAA 0.2 mg/L+烯效唑 0.05 mg/L+Suc 30 g/L+Agar 7 g/L 培养基中生根,再生植株生长旺盛,根系健壮、坚韧,根系数量多,营养钵移栽成活率和田间定植成活率均超过 97.6%。

[参考文献]

[1] 杨安平,张恩慧,王莎莎,等. 甘蓝类蔬菜小孢子培养研究进展[J]. 中国农学通报,2008,24(7):332-338.
Yang A P,Zhang E H,Wang S S,et al. The advances of studies on microspore culture in cabbage vegetables [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2008,24(7):332-338. (in Chinese)

[2] 马勇斌,张恩慧,李殿荣,等. 利用甘蓝游离小孢子不定芽叶片再生 DH 植株技术研究 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2011,39(4):111-116.
Ma Y B,Zhang E H,Li D R,et al. Study on plantlet regeneration technique of DH lines with leaf of adventitious buds from isolated microspore culture in cabbage (*Brassica oleracea* L.) [J]. Journal of Northwest A&F University:Natural Science Edition,2011,39(4):111-116. (in Chinese)

[3] Li H J,Pu X B,Zhang J F,et al. Establishment on isolated microspore culture optimized system for restorer of new cytoplasmic male sterile(NER) of *Brassica napus* L. [J]. Agricultural Science&Technology,2010,11(1):182-185.

[4] 李浩杰,蒲晓斌,张锦芳,等. 甘蓝型油菜 NER 游离小孢子培养能力研究 [J]. 西南农业学报,2009,25(6):1518-1521.
Li H J,Pu X B,Zhang J F,et al. Influencing factors on microspore culture of restorer of new cytoplasmic male sterile (NER) (*Brassica napus* L.) [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences,2009,25(6):1518-1521. (in Chinese)

[5] Hoffmann F,Thomas E,Wenzel G. Anther culture as a breeding tool in rape [J]. Theor Appl Genet,1982,61:225-232.

[6] 蒋武生,原玉香,张晓伟,等. 小白菜游离小孢子培养及其植株再生 [J]. 河南农业大学学报,2005,39(4):398-405.
Jiang W S,Yuan Y X,Zhang X W,et al. Isolated microspore culture and regenerated plant of Chinese cabbage [J]. Journal of Henan Agricultural University,2005,39(4):398-405. (in Chinese)

[7] Joao Carlos da Silva Dias. Effect of incubation temperature regimes and culture medium on broccoli microspore culture em-

bryogenesis [J]. Euphtica,2001,119:389-394.

[8] 赵前程,吉立柱,蔡荣旗,等. 花椰菜游离小孢子培养及植株再生研究 [J]. 华北农学报,2007,22(6):65-68.
Zhao Q C, Ji L Z, Cai R Q, et al. Study on isolated-microspore culture and plant regeneration of Cauliflower [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica,2007,22(6):65-68. (in Chinese)

[9] 何杭军,王晓武,汪炳良,等. 芥蓝游离小孢子培养初报 [J]. 园艺学报,2004,31(2):239-240.
He H J,Wang X W,Wang B L,et al. Embryogenesis and plant regeneration of Chinese kale via isolated microspore culture [J]. Acta Horticulturae Sinica,2004,31(2):239-240. (in Chinese)

[10] 周恒,罗静. 烯效唑在草莓组织培养中的应用研究 [J]. 中国南方果树,2010,39(5):69-70.
Zhou H,Luo J. The research progress of effects of uniconazole on strawberry tissue culture [J]. South China Fruits,2010,39(5):69-70. (in Chinese)

[11] 周祖富,黎兆安,杨美纯,等. 烯效唑对马铃薯试管苗的壮苗效应 [J]. 亚热带植物科学,2008,37(3):49-50.
Zhou Z F,Li Z A,Yang M C,et al. Effects of uniconazole on potato plantlets *in vitro* [J]. Subtropical Plant Science,2008,37(3):49-50. (in Chinese)

[12] 罗璉,孙长忠,王琦,等. 根系的发育及其激素调控研究 [J]. 安徽农业科学,2008,36(26):11219-11222.
Luo L,Sun C Z,Wang Q,et al. Study on root system formation and its regulation by phytohormones [J]. Journal of Anhui Agri Sci,2008,36(26):11219-11222. (in Chinese)

[13] 冯乃杰,阎秀峰,郑殿峰,等. 两种植物生长调节剂浸种对大豆根系解剖结构的影响 [J]. 植物生理学通讯,2010,46(7):687-692.
Feng N J,Yan X F,Zheng D F,et al. Two kinds of plant growth regulator of soybean seed soaking root anatomical structure influence [J]. Plant Physiology Communications,2010,46(7):687-692. (in Chinese)

[14] 陈龙清,张雨琴,袁芳亭. PP333 及矮壮素对地被菊试管生根的影响 [J]. 植物生理学通讯,2000,36(5):425-427.
Chen L Q,Zhang Y Q,Yuan F T. Effects of PP333 and CCC on rooting of tube-plantlet in groundcover *Chrysanthemum* [J]. Plant Physiology Communications,2000,36(5):425-427. (in Chinese)