

油菜 小孢子 培養에 의한 胚 發生의 品種間 比較

作物試驗場 木浦支場 張永錫, 黃鍾珍, 鄭東熙

Comparision of the Embryogenesis from isolated microspores cultures among varieties in oil seed rape (*Brassica napus* L. spp. *oleifera*)

Crop Experiment Station Mokpo Branch, Y. S. JANG, J. J. HWANG and D. H. CHUNG

實驗 目的

유채의 花粉培養을 통한 半數體 誘導를 위해 春播型 品種과 秋播型 品種間의 花穗 크기와 약의 길이별로 單離한 小孢子 培養을 하여 품종별로 胚 發生에 효율적인 花穗 採取時期를 검토코자 실시하였음.

材料 및 方法

- 供試品種 :
 - 春播型 品種 : Lisandra, ATR Tower, Lergo
 - 秋播型 品種 : 한라유채, 영산유채
- 栽培條件
 - 播種期 및 開花期 : 파종기 - 1993년6월5일, 개화기 - 1994년1월12일
 - 施肥條件 : N-P-K = 16-16-16
 - 全 생육기간동안 온실 내에서 생육하였고 灌水는 2일 간격으로 실시하였음.
- 花穗採取 : 품종별 식물체의 主莖花穗가 3-4개 개화한 시기에 花穗크기가 2.3 - 4.2mm인 花穗를 채취하였음.
- 小孢子的 單離 : 1% NaClO로 소독한 후 호르몬이 첨가되지 않은 B5-13 培地液을 사용하여 單離하였음.
- 培養條件 : 培養密度를 1×10^6 cells/ml로 조정 NLN-13培地로 처음 3일간은 32.5℃ 고온으로 배양한 뒤 25℃ 暗條件으로 培養시켰음.

結果 및 考察

1. 胚 發生은 春播型이 秋播型에 비해 현저히 높았으며, 春播型 중에는 Lisandra가 가장 많았음.
2. 花穗크기별 胚 發生은 2.8-3.2mm, 2.3-2.7mm, 3.3-3.7mm, 3.8-4.2mm의 순으로 많았으며 花穗의 크기는 2.8-3.2mm가 胚 發生에 효율적이었음.
3. 秋播型 품종들은 花穗의 크기가 2.3-3.2mm까지의 花粉만이 胚 發生이 가능했고 3.3mm부터는 胚 發生이 전혀 되지 않았음.
4. 小孢子的 발육시기는 MU(miduninucleate stage)와 LU(late uninucleate stage)의 小孢子가 胚 發生이 효율적이었음.

Table 1-1. Comparison of genotype, bud-size and microspore nuclear stage on embryo yield in Brassica napus isolated microspore culture

Varieties	Growth habit	Bud-size (mm)	Microspore stage (%)					Embryo number
			EU	MU	LU	VG	VSS	
Lisandra	Spring type	2.3-2.7	49	37	14			1,463 ^a
		2.8-3.2	8	41	51			4,565
		3.3-3.7	6	40	54			1,217
		3.8-4.2		12	66	22		474
Lergo	Spring type	2.3-2.7	41	46	13			585
		2.8-3.2	4	40	45	11		1,392
		3.3-3.7	1	32	30	37		372
		3.8-4.2			37	61	2	116
ATR ⁺ Tower	Spring type	2.3-2.7	38	47	17			43
		2.8-3.2	2	61	36	1		320
		3.3-3.7		37	19	44		437
		3.8-4.2			37	59	4	184

^a No. of embryos per 1x10⁵ microspores cultured.

Note: EU, early uninucleate stage, MU:miduninucleate stage, LU:late uninucleate stage; VG, vegetative and generative nuclei present; VSS, Vegetative and two nuclei present.

Table 1-2. Comparison of genotype, bud-size and microspore nuclear stage on embryo yield in Brassica napus isolated microspore culture

Varieties	Growth habit	Bud-size (mm)	Microspore stage (%)					Embryo number
			EU	MU	LU	VG	VSS	
Hallayuchae	Winter type	2.3-2.7	38	44	18			321
		2.8-3.2		63	39	8		381
		3.3-3.7			23	69	8	0
		3.8-4.2			15	64	21	0
Youngsanyuchae	Winter type	2.3-2.7	38	44	18			321
		2.8-3.2		59	35	6		327
		3.3-3.7			27	66	7	0
		3.8-4.2			14	62	24	0

^a No. of embryos per 1x10⁵ microspores cultured.

Note: EU, early uninucleate stage, MU:miduninucleate stage, LU:late uninucleate stage; VG, vegetative and generative nuclei present; VSS, Vegetative and two nuclei present.

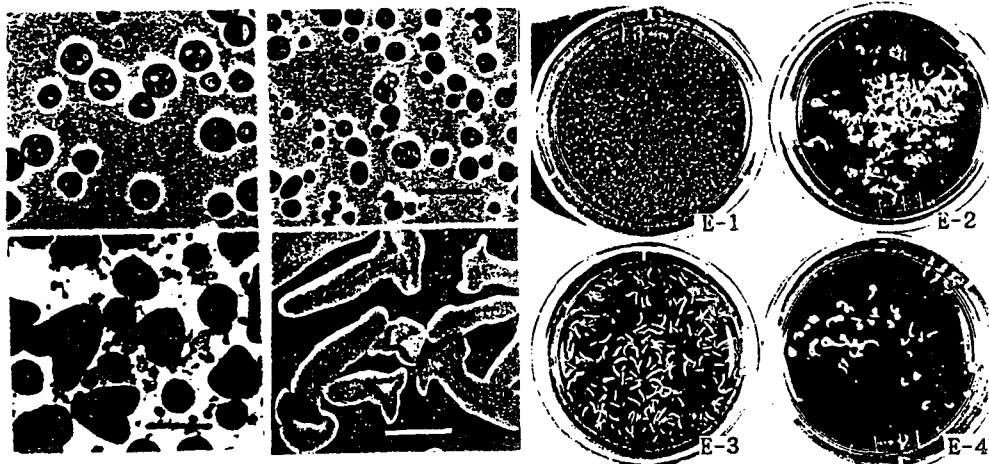


Fig.4 Development of isolated microspores in vitro. (A) Freshly isolated microspores. Bar=50 μ m. (B) Microspores incubated in culture medium for 3 days. Bar=100 μ m. (C) Embryo morphology with heart and globular shapes after 2 weeks in culture. Bar=250 μ m. (D) Typical cotyledonary embryo morphology 3-4 weeks in culture. Bar=5mm. (E) Comparison of embryo development by bud sizes in culture. (E-1:3.1-3.3mm, E-2:3.4-3.7mm E-3:2.7-3.0mm, E-4:2.3-2.6mm).