大麦（Hordum vulgare L.）未成熟胚乳离体培养再生植株研究初报*

朱庆麟 陈新民**

（西北农学院植物组织培养实验室）

摘 要

在附加激素的MS培养基上，从品种“马里”纯胚乳及带胚胚乳诱导出少量愈伤组织，并分化成苗。激素及胚乳发育程度对大麦胚乳愈伤组织的诱导作用明显，胚的存在与否似对大麦胚乳分化无多大影响。

被子植物的胚乳是双受精的产物，由之分化成植株，在理论上应为三倍体。三倍体本身或由其加倍而形成的六倍体植物，在遗传研究及育种实践上有一定意义[4]。故此，胚乳培养早已引起人们的广泛兴趣，不少人从事这方面的研究，然而迄今仅在少数一些植物材料上获得成功[2]。禾谷类作物的胚乳培养似乎更为困难，虽然早在三十年代初就有人以玉米作材料进行研究[5]，尔后不少研究工作者又相继以玉米、大麦、小麦等多种材料实验，虽有所进展，但都未能获得胚乳植株[6,8]。直至1975年，Nakano等培养水稻未成熟胚乳成功[7]，始证明禾谷类作物胚乳细胞亦具有重新分化和再生器官与植株的全能性。水稻胚乳培养的成功，促使一些研究者对禾谷类作物胚乳培养的研究，并且在大麦、小黑麦等作物上取得进展，[1,3]。1979—1983年我们也进行了大麦胚乳培养，获得胚乳植株，现仅就大麦未成熟胚乳培养再生植株的结果作一简介。

材料和方法

试验材料采用“马里”、“B180”、“红大头”、“朝阳19号”等四个品种自花授粉，以及“B180×B800”、“B800×朝阳19号”、“B180×红大头”三个杂交组合杂交当代的胚乳组织。

授粉后6天和10天后采穗，插入盛有自来水的玻璃杯中，置冰箱中8—12小时。然后，在无菌条件下，用70%酒精擦洗麦穗，剥取籽粒，以0.1%升汞液灭菌20分钟，用无菌水冲洗3—4次。无菌籽粒分带胚及纯胚乳两组处理：带胚组籽粒不除去幼胚，仅用解剖刀作创伤处理；不带胚纯胚乳组则在解剖镜下，用解剖刀切去种胚，挤压出纯净

*本文收到日期：1985年1月26日。

**本院79级学生。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

胚乳接种。

用于胚乳培养的基本培养基为MS。诱导胚乳愈伤组织的培养基分六种处理：（1）不附加任何激素或有机成份的MS基本培养基；（2）附加2,4—D 2毫克/升＋CH500毫克/升；（3）附加2,4—D 2毫克/升＋KT 2毫克/升＋CH500毫克/升；（4）附加2,4—D 4毫克/升＋KT 2毫克/升＋CH500毫克/升；（5）附加2,4—D 2毫克/升＋6BA 2毫克/升＋GA 4毫克/升＋CH500毫克/升；（6）附加2,4—D 2毫克/升＋6BA 4毫克/升＋GA 4毫克/升＋CH500毫克/升。所有处理蔗糖浓度为8％，pH5.6—5.8。诱导器官分化的培养基只一种：MS＋KT4毫克/升＋IAA 2毫克/升，蔗糖浓度3％，pH仍为5.6—5.8。

胚乳接种后，置25—28℃，每日8—10小时2000Lux光照条件下培养。

试验结果

接种后10天观察，发现授粉6天的培养物，除带胚组体积略有增大外，纯净胚乳几乎没有反应。以后虽经长期培养，但始终没有愈伤组织产生。而授粉10天的培养物，不论具胚与否，在一些处理中体积都有所增大。培养33天，品种“马里”在附加2,4—D 2毫克/升、6BA 2毫克/升以及GA 4毫克/升的（5号）处理上，从带胚组籽粒中部刀口处长出质地较疏松的愈伤组织（图1）。53天后，愈伤组织分化出绿色芽点。又经过7天，绿色芽点形成叶片卷曲的畸形苗（图2）。

培养45天后，品种“马里”又陆续从（5）、（6）、（4）、（3）等几个处理上产生7块愈伤组织，其中带胚组4块、纯胚乳组3块（见下表）。将这些愈伤组织转移于MS＋

品种“马里”在不同附加成份培养基上胚乳愈伤组织的分化*

处理序号	附加成份（mg/L）					愈伤组织分化 去胚与否（%）	
	2,4—D	GA	KT	6BA	CH	去	未
1	0	0	0	0	0	0	0
2	2	0	0	0	500	0	0
3	2	0	2	0	500	10	0
4	4	0	2	0	500	10	10
5	0	4	0	2	500	10	20
6	0	4	0	4	500		10

*基本培养基为MS，培养2月后统计资料。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

KT4毫克/升+IAA 2毫克/升的分化培养基上，20天后从带胚组和纯净胚乳组各分化出2个幼苗(图4—6)。带胚组由于胚的存在增加了分析问题的复杂性。因此，在整个工作过程中，我们十分注意愈伤组织发生的部位，以避免与幼胚愈伤组织混淆。有趣的是，在离体子房授粉受精条件下，由B810×刺芒杂交组合在附加GA1毫克/升和水解乳蛋白300毫克/升的MS培养基上，从离体受精形成籽粒的尾部长出愈伤组织（图7），经转移于诱导器官分化的培养基上培养，15天后再分化成苗（图8）。

在没有附加任何激素的MS培养基上，培养10天时，纯胚乳组没有反应，带胚组培养物体积略有增长，当培养到16天时，带胚组个别胚直接萌发，生长迅速，很快长成幼苗，但始终没有胚乳愈伤组织产生（图9）。

B810、红大头、朝阳19号自花授粉的胚乳及三个杂交组合（B810×B800、B810×朝阳19号、B810×红大头）杂交当代的胚乳，不论带胚组还是纯胚乳组都没有诱导出愈伤组织。

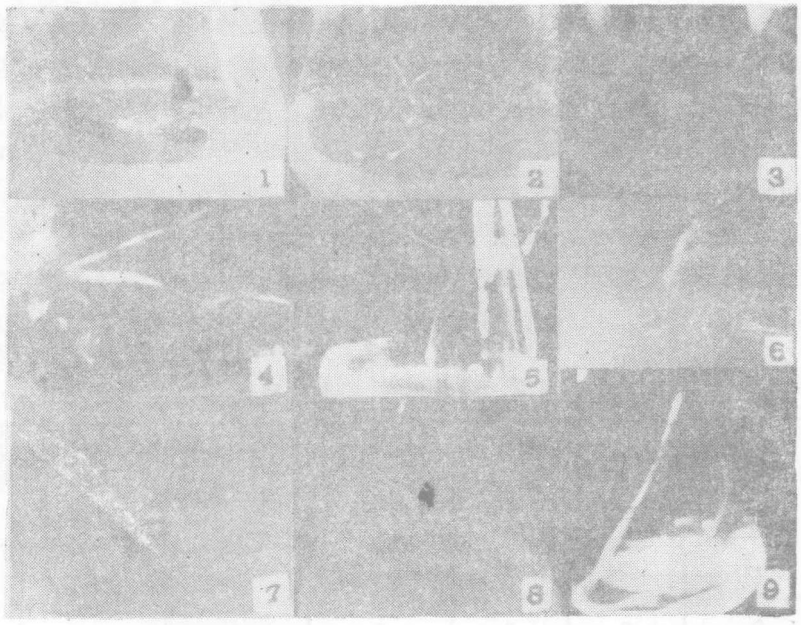

图 版 说 明

1.从带胚组未成熟籽粒中部刀口处长出质地疏松的愈伤组织；2.从带胚组愈伤组织分化的畸形胚乳苗；3.在附加GA4mg/L，BA 2 mg/L，CH500 mg/L的5号处理上从去胚组产生的胚乳愈伤组织；4-5，在MS+KT4mg/L+IAA2mg/L的分化培养基上，纯胚乳愈伤组织转移20天后分化的幼苗；6.带胚组愈伤组织转移20天后分化的幼苗；7.从离体子房受精形成籽粒尾部长出的胚乳伤愈组织；8.从离体受精籽粒形成愈伤组织分化的胚乳无根苗；9.幼胚萌发的植株。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

小　　结

在所试验的自花授粉和品种间杂交当代的七个材料中，仅品种“马里”在附加一定激素的MS培养基上获得少量愈伤组织并分化成苗。其余六个材料均无愈伤组织和器官分化。激素对诱导大麦愈伤组织的作用十分明显，在没有附加任何激素的MS培养基上，不论带胚组、纯胚乳组都始终没有产生愈伤组织，且带胚组培养物的种胚易于萌发。看来激素对大麦胚乳愈伤组织的诱导是不可少的，而且附加一定浓度的赤霉素有利于愈伤组织的产生。

有些研究者曾提出胚的存在对一些植物胚乳愈伤组织的诱导和器官分化的重要作用[9]。就本试验的资料看来，胚的存在与否似对大麦胚乳分化无多大影响。

胚乳发育程度对胚乳愈伤组织诱导作用明显，本实验中授粉6天的培养物在所有处理上均未见愈伤组织形成。

参 考 文 献

〔1〕王敬驹、陆文梁、匡柏健：“小黑麦杂种胚乳的离体培养研究”，《植物学报》，1982年24：420—425。

〔2〕母锡金：“被子植物胚乳培养进展”(1933—1981)，《植物学集刊》1933年No. 1：227—236。

〔3〕孙敬三、朱自清：“大麦胚乳植株的诱导及其倍性”，《植物学报》1981年23：262—265。

〔4〕Johri,B.M.,and Bhojwani, S.S：Triploid plants through endosperm culture.Applied and Fundamental Aspects of plant Cell, Tissue and Organ Culture. Springer-verlag Berlin Heidelberg,New York. 1977, 398—411.

〔5〕Lampe, L. and Mills, C.O. ：Growth and development of isolated endosperm ard emdryo of maize. Abstr. papers Bot, soc. Amer., Boston, 1933.

〔6〕Larue, C.D., Growth and regeneration of the endosperm of maize in culture, Amer.J. Bot., 1947,34：585—586.

〔7〕Nakano, H., Tashiro, T. and Maeda, E. Plant differentiation in callus tissue induced from immature endosperm of Oryza sativa L., Z. Pflanzenphysiol 1975, 76：444—449.

〔8〕Sehgal, C.B., ：Growth of barley and wheat endosperm in cultures. Curr. sci., 1974 43：38—40.

〔9〕Srivastava, P.S., Formation of triploid ‘plantlets’ in endosperm cultures of putranjiva roxburghii,Z.Pflanzenphysiol.1973,69：270-273.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

A Preliminary Study on Induction of Calli and Regeneration of plantlets From Immature Endosperm of Barley (Hordeum vulgare L.) in Vitro

Zhu Qinglin Chen Xinmin

(Agronomy Department, Northwestern College of Agriculture)

Abstract

This experiment was conducted to study the callum formation and the plant regeneration from the endosperm tissues of barely in vitro. As a result, the success was made in the callum formation and plant regeneration from the endosperms cultured in MS medium supplemented with certain allien hormones. Allien hormones and the developing degree of endosperm had a promoting effect upon the induction of endosperm calli. It seemed that the embroy had not a great effect upon the induction frequency of endosperm calli.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne