

提高小麦花粉植株诱导频率的研究

胡 琳 许为钢 赵向科

(农学系)

摘 要 对影响小麦花粉植株诱导频率部分因素进行了研究, 获得以下结果: (1) 在现有的小麦花药愈伤组织诱导培养基中, W_{14} 和马铃薯-Ⅰ的效果最好; (2) 低温预处理的效果因杂交组合的不同而表现不同; (3) 短期高温预培养可明显提高愈伤组织的产量; (4) 绿苗分化率与愈伤组织年龄关系密切, 愈伤组织转移的最适年龄与愈伤组织诱导培养基的种类有关; (5) 大量元素减半的MS培养基绿苗分化率显著高于190-Ⅰ培养基。

关键词 小麦, 花粉植株, 愈伤组织, 诱导频率

自1970年通过花药培养成功地诱导出小麦花粉植株以来, 小麦花药培养技术的水平已有很大提高。由花药培养发展而来的小麦单倍体育种, 因其在育种工作中特有的优点现已受到育种界的高度重视, 并在育种实践中取得了一定进展。但其育种潜力的充分发挥仍受到许多因素的限制, 其中花粉植株诱导频率低则是最主要的原因。为了提高小麦花粉植株的诱导频率, 推进花培技术与育种过程的结合, 我们对几个与之有关的方面进行了研究, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

供试材料为我室常规品种选育所组配的杂种 F_1 、 F_2 。1988年20个组合, 1989年10个组合。

诱导小麦花粉愈伤组织的培养基为改良 N_6 ^[1]、 C_{17} ^[2]、马铃薯-Ⅰ^[3]、 W_{14} (欧阳俊闻, 未发表), 附加2,4-D 2 mg/L、KT 0.5 mg/L。花粉愈伤组织再分化培养基为MS (大量元素减半)、190-2^[4], 附加KT 1 mg/L、NAA 0.5 mg/L。蔗糖浓度3%。愈伤组织的诱导是在自然光下进行, 再分化时给予1000~1500 lx的人工光照, 光照时间12 h, 温度26°C。有关花药的取样和接种按常规方法进行。

2 结果与讨论

2.1 培养基对愈伤组织诱导与分化的影响

花粉植株诱导频率的高低, 在很大程度上取决于培养基中的各种组分对花粉的发育是否适宜, 同时不同种类的植物对培养基还存在着一个选择性作用。因此, 筛选适合小麦花药培养、能大幅度提高花粉愈伤组织诱导率和再分化率的培养基, 具有十分重要的意义。我们于1988、1989年对4种小麦花药培养基——改良 N_6 、 C_{17} 、马铃薯-Ⅰ、

文稿收到日期: 1990-01-08

W₁₄进行了比较试验, 试验结果列于表1。从表1中可见, 供试的4种培养基在诱导愈伤组织的效果上存在着明显的差异(方差分析达5%显著水平), 这种效果在愈伤组织诱导率和愈伤组织的分化率上有一致变化, 而后者又反映了愈伤组织的质量。W₁₄和马铃薯-Ⅱ两种培养基的愈伤组织诱导率和绿苗诱导率均比较高, 可在小麦花药培养中大量采用。比较改良N₆、C₁₇和W₁₄3种合成培养基中无机氮源的含量(W₁₄培养基NO₃⁻1227.7mg/L, NH₄⁺59.5mg/L)可以看出, 硝态氮和铵态氮的浓度及总氮量与其培养效果关系密切, 即在这3种合成培养基中随着硝态氮浓度的提高, 铵态氮浓度降低, NO₃⁻/NH₄⁺的比例和总氮量上升, 愈伤组织诱导率和分化率提高。简化培养基马铃薯-Ⅱ, 虽加入的无机氮总量不高, 但NO₃⁻/NH₄⁺的比例也具有较高水平。

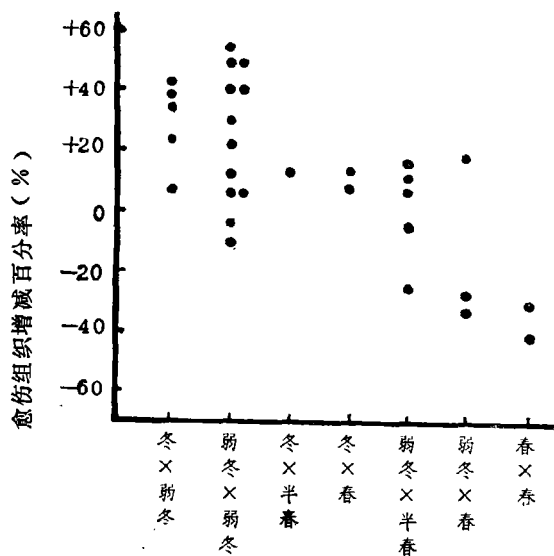
表1 培养基对愈伤组织诱导与分化的影响

年份	培养基	接种花药数	产生愈伤组织数(块)	愈伤组织诱导率(%)	转移愈伤组织数(块)	愈伤组织分化率(%)	绿苗诱导率(%)
1988	改良N ₆	6061	447	7.4	245	38.7	1.03
	C ₁₇	22076	3633	16.46	2543	42.1	3.81
	马铃薯-Ⅱ	14964	3205	21.41	2307	41.3	5.42
	W ₁₄	21998	5252	23.87	3939	45.9	5.93
1989	C ₁₇	33819	5819	17.21	4325	39.2	3.09
	马铃薯-Ⅱ	21157	5186	24.51	4009	44.5	6.11
	W ₁₄	56015	14431	25.78	11568	49.6	5.96

注: 同一年份中, 各供试培养基接种的基因型种类相同。

2.2 培养条件对愈伤组织诱导率的影响

2.2.1 低温预处理



不同类型杂交组合对低温预处理的反应

• 为一个杂交组合

对接种材料进行低温预处理是目前花药和花粉粒培养常采用的方法^[5,8], 我们就不同杂交组合对低温预处理的反应进行了试验。供试材料为30个杂交组合的F₁、F₂, 每个杂交组合田间所采集的穗子分两部分, 一部分穗子立即接种, 另一部分穗子置于4~6℃低温条件下保存2d后再接种, 30个组合共接花药133710枚。试验结果见左图。低温预处理的效应因杂交组合不同而表现出差异, 某些组合经低温预处理后愈伤组织诱导率提高, 而另一些组合经低温预处理后愈伤组织诱导率降低。在本试验中组合间的变幅为+57.0%至

-41.6%, 而且低温预处理的作用与亲本冬春性有一定关系。亲本组配冬性趋势较高, 则

低温预处理趋向于提高愈伤组织诱导率,亲本组配春性趋势较强,低温预处理的效果则趋向于降低愈伤组织诱导率。这一结果暗示小麦对低温预处理的反应存在着遗传上的差异。

2.2.2 花药短期高温预培养

温度是一个重要的培养条件,欧阳俊闻曾对小麦花药高温预培养的效应进行了研究,结果表明,高温预培养的效果因基因型而表现不同,存在着高温型(诱导率提高)、中间型和低温型(诱导率降低)之别^[7]。我们于1988、1989年在相同培养基和相同组合的条件下,对短期高温预培养的作用进行了研究,试验结果(表2)表明:32°C高温预培养2d后转28°C恒温培养的愈伤组织诱导率显著高于28°C连续恒温培养的愈伤组织诱导率(提高34.4%,变幅为5.4%~53.2%)。经短期高温预培养处理后所产生的愈伤组织的分化能力也高于连续恒温培养。在本试验中,短期高温预培养的绿苗诱导率比连续恒温培养的绿苗诱导率高出35.3%。这一试验结果说明对花药进行短期高温预培养是提高小麦花药培养效率的一个有效物理手段,应对其最适参数进行深入研究。但在本试验中,我们也发现短期高温预培养后,绿苗分化率提高的同时,愈伤组织白苗分化率也有较大幅度上升,其原因有待深入研究。

表2 两种处理对小麦花粉愈伤组织诱导与分化的影响

年份	处 理	接 种 花药数	产生愈伤 组织数 (块)	愈伤组织 诱导率 (%)	愈伤组织分化率 (%)		绿 苗 诱导率 (%)
					绿苗	白苗	
1988	2d 30°C → 28°C	1529	378	24.72	29.3	12.93	5.43
	28°C	1387	257	18.53	27.6	9.6	4.24
1989	2d 32°C → 28°C	1275	332	26.04	30.5	18.3	6.02
	28°C	1182	229	19.37	27.6	12.8	4.13

注:供试组合为5个。

2.3 愈伤组织年龄、培养基种类对愈伤组织分化能力的影响

表3为来源于W₁₄、马铃薯-Ⅱ培养基的不同年龄愈伤组织的分化能力。从表中可见,愈伤组织年龄对愈伤组织的分化有很大影响,愈伤组织的年龄过大,其分化能力下降,而且其下降速度与愈伤组织诱导培养基种类有关。W₁₄培养基上诱导产生的愈伤组织在培养55d后其分化频率仍保持在22%,而马铃薯-Ⅱ培养基上诱导产生的愈伤组织在培养55d后再分化能力几乎全部丧失。同时不同培养基上诱导产生的愈伤组织其分化频率高峰期出现的时期不同,W₁₄培养基上诱导产生的愈伤组织分化高峰值为花药培养后45d,而马铃薯-Ⅱ培养基上诱导产生的愈伤组织分化高峰值为花药培养后35d。这个结果表明:愈伤组织适时转入分化培养基中,可以获得花粉植株较高的产量,特别是对象马铃薯-Ⅱ这样分化时期短的培养基中诱导产生的愈伤组织更应及时转移。此外,分化培养基的营养成分也是影响愈伤组织绿苗分化率的一个重要方面。由表5还可看到,在相同愈龄条件下,大量元素减半的MS培养基对愈伤组织分化率的影响均高于190-2培养基。因此,我们认为MS培养基作为小麦花药培养的再分化培养基目前仍是最适宜

的。

表3 愈伤组织年龄、分化培养基对其分化能力的影响

愈伤组织诱导培养基	愈伤组织分化培养基	愈伤组织年龄					
		35d		45d		55d	
		转移愈伤组织数(块)	绿苗分化频率(%)	转移愈伤组织数(块)	绿苗分化频率(%)	转移愈伤组织数(块)	绿苗分化频率(%)
W ₁₄	MS	80	28.0	80	36.0	80	18.0
	190-2	80	22.0	80	28.0	80	10.0
马铃薯-I	MS	80	40.0	80	20.0	80	0
	190-2	80	32.0	80	12.0	80	0

注: 1. MS培养基大量元素减半,

2. 每处理转移愈伤组织20块/每组合。

3 结 语

影响小麦花粉植株产量的因素是多方面的, 十分错综复杂。本试验对部分影响因素的研究表明, 培养基、培养条件、供体材料特性和外植体发育状况之间存在着一定的内在联系, 因此针对不同的接种材料和试验目的采取相应的培养措施, 有利于获得较高的愈伤组织产量和绿苗产量。此外在小麦花培育种中, 尽管接种材料经常变更, 但对常用亲本培养特性进行一些研究, 无疑将是十分有益的。

本试验得到朱庆麟教授的指教, 谨此致谢。

参 考 文 献

- 1 王敬驹等. 遗传, 1981, 3(3), 28—29
- 2 王培等. 植物学报, 1986, 28(1), 38—45
- 3 欧阳俊闻等. 花药培养学术讨论会文集, 科学出版社, 1977, 58—60
- 4 庄家骏等. 遗传学报, 1984, 11(5), 374—381
- 5 陈英等. 遗传学报, 1981, 8(2), 158—163
- 6 方国伟等. 植物生理学报, 1985, 11(4), 366—380
- 7 欧阳俊闻等. 遗传, 1983, 5(5), 14—16

Studies on Improvement of Induction Frequency of Pollen Plantlets in Wheat

Hu Ling Xu Weigang Zhao Xiangke

(*Northwestern Agricultural University*)

Abstract The paper deals with the improvement of induction frequency of pollen plantlets in wheat with experimental results obtained as follows;

(1) W_1 , and potato-Ⅱ were the best to induce callus among current wheat anther media. (2) The effect of lower temperature pretreatment varied significantly with different cross combinations. (3) The yield of callus increased apparently by higher temperature preculture for a short time. (4) The differentiation frequency of green plant was closely related to the age of callus and its optimum age was different when varied callus induction media were used. (5) MS medium decreased half in the level of major elements was better than 190-2 medium for green plant differentiation.

Key words wheat, pollen plantlet, callus, induction frequency