

基因型及外源因子对小麦花药 培养一步成苗的影响^{*}

任慧莉, 李春莲, 秦震霓, 郭东伟, 高秀武, 陈耀锋

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 研究了不同基因型及几种外源因子在小麦花药培养一步成苗中的效应。结果表明, 花药培养一步成苗的愈伤组织诱导率、绿苗分化率、白苗分化率及绿苗产量存在基因型间的差异。高蔗糖浓度有利于获得高频率的花药愈伤组织, 但同时又提高了花药培养中白化苗频率。动力精(KT)对花药愈伤组织诱导率影响的差异不大, 但对绿苗分化率、绿苗产量及绿苗/白苗(G/W)均有显著影响。在试验浓度范围内, 随KT浓度的增大, 绿苗产量提高, 绿苗分化率明显增加, 而白苗分化率下降, 因而G/W值明显增大。说明KT主要是通过提高绿苗分化率和降低白苗分化率, 增大G/W而提高花培一步成苗效率的。在与KT的配合使用中, 2, 4-D比NAA更有利于提高小麦花药培养中的愈伤组织诱导率和苗分化频率。

[关键词] 花药培养; 一步成苗; 绿苗分化率; 白苗分化率; 绿苗产量

[中图分类号] S512.103.53

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)04-0013-04

自1971年中国科学院遗传所首次获得小麦单倍体花粉植株以来^[1], 应用花药培养技术进行小麦品种改良受到人们的普遍重视。在随后几年中, 我国利用花药培养育成了一大批优良新品种(系), 这对小麦生产起到了重要的推动作用。目前小麦花药培养技术一直应用两步成苗法, 这一技术操作程序比较复杂。为了进一步提高小麦花药培养效率和简化培养程序, 自20世纪80年代, 不少学者提出了高效省时的花药培养一步成苗技术, 并进行了一定的研究^[2, 3]。与花培两步成苗相比, 花培一步成苗培养程序简单, 培养周期短, 有较大的理论及应用价值。可以有效地提高花培育种的效率, 使其快速、有效的优越性充分发挥。但是, 目前这一技术的效率还不高。探索影响小麦花培一步成苗的因子, 提高一步成苗效率, 对小麦花培生物技术育种的研究有重要的理论和实践意义。本试验较系统地研究了几种外源因子和基因型对小麦花培一步成苗的影响, 旨在进一步提高小麦花培一步成苗效率, 寻找最适合的普通小麦花药培养一步成苗技术。

1 材料和方法

1.1 材 料

供试材料为西北农林科技大学细胞工程研究室

田间种植的杂交一代或复合杂交材料: 千斤早 × 888, 97(37) × 004, 西农 85 × 888, 97(32) × 888, 97(18) × 004, 97(19) × 97(73)。

诱导培养基和分化培养基均为W14, 培养基附加琼脂0.55%, pH 5.6~5.8。

1.2 试验方法

供试材料2000-10种入大田, 次年4月底检查花粉细胞发育时期, 取花粉小孢子处于单核中至晚期的麦穗。低温处理后用体积分数75%乙醇消毒, 于无菌条件下镊取花药接种于培养基中, 每瓶接种80枚^[4, 5]。接种花药置25~28℃下散光培养, 约25d后出现白色、淡绿色芽状突起, 30d左右开始出现可见愈伤组织或球型、心型花粉胚。将花粉胚或愈伤组织移至3000 lx光照强度下, 24h连续光照培养, 3~5d有小苗出现, 单株状, 呈白色、绿色, 并健壮生长。统计花药愈伤组织诱导率((产生愈伤组织数/接种花药数) × 100%)、绿苗分化率((产生绿苗数/产生愈伤组织数) × 100%)、白苗分化率((产生白苗数/产生愈伤组织数) × 100%)、绿苗产量((产生绿苗愈伤组织数/接种花药数) × 100%)和G/W比(绿苗/白苗)。

^{*} [收稿日期] 2002-03-15

[基金项目] 国家863小麦育种项目(2001AA241037)和陕西省攻关项目“小麦抗病新种质创制与生物技术育种研究”课题

[作者简介] 任慧莉(1964-), 女, 陕西澄城人, 实验师, 主要从事作物遗传育种研究。

2 结果与分析

2.1 基因型对小麦花培一步成苗的影响

研究 6 个不同基因型杂交组合 F₁ 花药培养一步成苗效率结果(表 1)表明,不同基因型组合的愈伤组织诱导率、绿苗分化率、白苗分化率及绿苗产量均有一定差异。其中千斤早×888 杂交组合的愈伤组织诱导率和绿苗产量均最高,分别为 3.1%和 0.8%;97(37)×004 杂交组合的花药愈伤组织诱导

率和绿苗产量比千斤早×888 稍低,但其白苗分化率远远低于千斤早×888,G/W 最高,为 4.0;西农 85×888 的绿苗分化率最高,为 31.8%,但其绿苗产量很低,仅为 0.3%;其他组合的愈伤组织诱导率、绿苗分化率及绿苗产量较低。说明基因型对小麦花药培养一步成苗效率有不同的影响,在选材上要注重选择高愈伤组织诱导率、高绿苗产量和高 G/W 配合适宜的基因型。

表 1 基因型对小麦花培一步成苗的影响

Table 1 Effect of genotype on forming seedling through one-step culture in anther culture of wheat

基因型 Genotype	接种花药数 No. of anthers planted	愈伤组织诱导率/% Induction frequency of pollen callus	白苗分化率/% Calli giving albino plantlets	绿苗分化率/% Calli giving green plantlets	绿苗产量/% Green plantlets yield	G/W
千斤早×888 Qian jin zao×888	480	3.1	26.7	26.7	0.8	1.0
97(37)×004	560	2.7	6.7	26.7	0.7	4.0
西农 85×888 Xinong 85×888	1 200	1.8	13.6	31.8	0.3	2.3
97(32)×888	560	1.6	44.4	0.0	0.0	0.0
97(18)×004	480	1.3	33.3	16.7	0.2	0.5
97(19)×97(73)	1 120	2.5	3.6	3.6	0.1	1.0

2.2 蔗糖对小麦花培一步成苗的影响

本试验以 W14+2,4-D 2.0 mg/L + KT 1.5 mg/L + 琼脂 0.55% 为基本诱导培养基,设置 60, 80, 100 g/L 的蔗糖质量浓度,研究了不同蔗糖浓度对小麦花培一步成苗的影响(表 2)。从表 2 可以看出,蔗糖浓度对小麦花药愈伤组织诱导率和苗分化

率有显著影响。在试验浓度范围内,随蔗糖浓度升高,花药愈伤组织诱导率和绿苗产量均明显增加;但随着蔗糖浓度的升高,G/W 变化不大,而白苗分化率逐渐增加。说明高蔗糖浓度有利于获得高频率的花药愈伤组织,但同时又提高了花药培养中白苗分化率。

表 2 蔗糖质量浓度对小麦花培一步成苗的影响

Table 2 Effect of sucrose concentration on forming seedling through one-step culture in anther of wheat

蔗糖质量浓度/ (g·L ⁻¹) Sucrose concentration	接种花药数 No. of anthers planted	愈伤组织诱导率/% Induction frequency of pollen callus	白苗分化率/% Calli giving albino plantlets	绿苗分化率/% Calli giving green plantlets	绿苗产量/% Green plantlets	G/W
60	720	2.6	21.1	21.1	0.6	1.0
80	630	4.4	25.0	25.0	1.1	1.0
100	900	5.3	27.0	25.0	1.3	0.9

2.3 动力精(KT)对小麦花培一步成苗的影响

以 W14+2,4-D 2.0 mg/L + 蔗糖 60 g/L + 琼脂 0.55% 为基本诱导培养基,设置 1.5, 2.5, 3.5 mg/L 动力精(KT)质量浓度,研究 KT 对小麦花培一步成苗效率的影响。结果(表 3)表明,KT 对花药愈伤组织诱导率的影响差异不大,但对绿苗分化率

绿苗产量及 G/W 均有显著影响。在供试浓度范围内,随 KT 浓度的增大,绿苗产量提高,绿苗分化率明显增加,而白苗分化率下降,因而 G/W 值明显增大。说明 KT 主要是通过提高绿苗分化率和降低白苗分化率,增大 G/W 而提高花培一步成苗效率的。

表 3 激动素(KT)对小麦花培一步成苗的影响

Table 3 Effect of KT on foming seedling through one-step culture in anther culture of wheat

KT 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) KT concen- tration	接种花药数/枚 No. of anther planted	愈伤组织 诱导率/% Induction frequency of pollen callus	白苗分化率/% Calli giving albino plantlets	绿苗分化率/% Calli giving green plantlets	绿苗产量/% Green plantlets	G/W
1.5	640	1.7	18.2	18.2	0.3	1.0
2.5	400	1.5	16.7	33.3	0.5	2.0
3.5	1 440	1.5	13.6	45.5	0.7	3.3

2.4 生长激素对小麦花培一步成苗的影响

以W 14+ KT 1.5 mg/L + 蔗糖 60 g/L + 琼脂 0.55% 为基本诱导培养基, 分别研究了 NAA 和 2, 4-D 两种生长素对小麦花药培养一步成苗的影响。结果(表 4)表明, NAA 和 2, 4-D 在诱导效果上有显著差异。当使用 0.5 mg/L 2, 4-D 时, 花药愈伤组

织诱导率、苗分化率(绿苗率+ 白苗率)均很高, 而使用 1.0 mg/L NAA 时, 花药愈伤组织诱导率、苗分化率则相对较低; 但两处理的绿苗产量、G/W 差别不明显或无差别, 表明 2, 4-D 比 NAA 更有利于提高小麦花药培养中的愈伤组织诱导率和苗分化率。

表 4 不同生长素对小麦花培一步成苗的影响

Table 4 Effect of different growth hormones on foming seedling through one- step culture in anther culture of wheat

生长素种类 及浓度/(mg · L ⁻¹) Concentration and type of growth hormones	接种花药数 No. of anther planted	愈伤组织 诱导率/% Induction frequency of pollen callus	白苗分化率/% Calli giving albino plantlets	绿苗分化率/% Calli giving green plantlets	绿苗产量/% Green plantlets	G/W
NAA 1.0	880	2.27	5.0	5.0	0.1	1.0
2, 4-D 0.5	2 250	4.22	22.1	22.1	0.9	1.0

3 结论与讨论

基因型是影响小麦花药培养效率的一个主要因子, 研究表明^[2, 3, 6], 花粉植株的诱导率与供试材料的基因型有很大关系。在相同培养条件下, 不同基因型的普通小麦在花培一步成苗中反应不同。本研究证实, 不同杂交组合的花药愈伤组织诱导率、花粉植株的诱导率及 G/W 比值均有较明显差异, 说明基因型对小麦花药培养一步成苗有不同的影响, 在选材上要注重选择高愈伤组织诱导率、高绿苗产量和高 G/W 配合适宜的基因型。

蔗糖一直被作为花药培养的标准碳源而被广泛应用^[7, 8]。在禾谷类作物的花药培养中, 要获得高频率的花药愈伤组织, 就需要高质量浓度的蔗糖^[9], 然而高浓度蔗糖的使用同时也提高了禾谷类作物花药培养中的白化苗频率^[10], 因而应适当降低蔗糖浓度。本试验通过研究不同蔗糖浓度对小麦花药培养一步成苗效应的影响, 证明了高蔗糖浓度有利于获得高频率的小麦花药愈伤组织, 但同时又提高了花药培养中白化苗频率。然而, 本试验所统计的愈伤组织不一定均为单倍体花粉愈伤组织, 其中可能还包

含有体细胞愈伤组织, 使统计结果偏高, 这一问题有待于进一步研究。

2, 4-D、NAA、KT 等激素及其不同的配比经常被用于禾谷类作物的花药培养中来增加花药愈伤组织诱导率和苗分化频率。颜昌敬等^[2]研究证实, 在小麦花药培养一步成苗中, 2, 4-D 和 KT 对小麦花药出愈和分化有明显影响。本试验证实, 在小麦花培一步成苗中, KT 对花药愈伤组织诱导率影响的差异不大, 但对绿苗分化率、绿苗产量及 G/W 均有显著影响。KT 主要是通过提高绿苗分化率和降低白苗率, 从而增大 G/W, 提高了花培一步成苗效率。在与 KT 配合使用中, 2, 4-D 比 NAA 更有利于提高小麦花药培养中的愈伤组织诱导率和苗分化频率。刘世强等^[3]研究表明, 在普通小麦花培一步成苗中, 应以 0.5 mg/L 2, 4-D 为基础, 若 2, 4-D 浓度超出 0.5 mg/L, 则对成苗有抑制作用。本试验仅研究了 0.5 mg/L 2, 4-D 与 KT 配合使用对普通小麦花培一步成苗的影响, 而未研究 2, 4-D 和 KT 不同浓度组合对小麦花培一步成苗的影响, 这还有待于进一步试验研究。

[参考文献]

- [1] 刘文轩. 我国小麦花药培养研究概况与展望[J]. 国外农学: 麦类作物, 1990, (5): 43- 45
- [2] 颜昌敬, 黄剑华. 小麦组织培养的一步成苗法[J]. 上海农业学报, 1986, 2(1): 19- 26
- [3] 刘世强, 侯秀英, 赵翠芳. 普通小麦组织培养一步成苗法研究[J]. 辽宁农业科学, 1990, (1): 53- 55
- [4] 陈耀锋, 朱庆麟, 韩志路, 等. 提高小麦花药培养效率的研究[J]. 西北农业学报, 1992, 1(4): 47- 50
- [5] 裴翠娟, 胡 含, 刘成华. 影响小麦花药诱导率因素的研究[J]. 河北农业大学学报, 1992, 15(3): 17- 20
- [6] 徐龙珠. 基因型对小麦花药培养的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 1992, (2): 100- 103, 128
- [7] 丁世萍, 严菊强, 季道藩, 等. 糖类在植物组织培养中的效应[J]. 植物学通报, 1998, 15(6): 42- 46
- [8] 陈耀锋, 朱庆麟. 蔗糖与麦芽糖的配比对小麦花粉愈伤组织诱导和分化频率的研究[J]. 作物学报, 1993, 19(2): 145- 148
- [9] Chich-ching Chu. Haploid in plant improvement[J]. Plant Improvement and Somatic Cell Genetics, 1982, 3: 129- 158
- [10] Clapham D. Haploid Hordeum plants from anther *in vitro*[J]. Z pflanzenzucht, 1973, 69: 142- 155

Effect of genotype and extrafactor on forming seedling through one-step culture in anther culture of wheat

REN Hui-li, Q N Zhen-ni, L I Chun-lian, GAO Xiu-wu, GUO Dong-wei, CHEN Yao-feng
(College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shanxi 712100, China)

Abstract: Effect of different genotype and extrafactor on forming seedling through one-step culture in anther culture of wheat is studied. The following results are acquired. Induction frequency of pollen callus, calli giving albino plantlets and calli giving green plantlets have difference between genotype in forming seedling through one-step culture. High concentration of sucrose (g/L) can raise the induction frequency of pollen callus. But at the same time, it also increase the calli giving albino plantlets. KT has not much effect on induction frequency of pollen callus. However it has remarkable effect on calli giving albino plantlets, calli giving green plantlets and G/W . Within experimental concentration, with the increase of KT concentration, the number of the green plantlets and calli giving green plantlets will increase while the number of calli giving albino plantlets will decrease. So the value of G/W has remarkably increased. It indicates that KT increases the efficiency of forming seedling through one-step culture by decreasing calli giving albino plantlets and increasing calli giving green plantlets. Combined with KT, 2, 4-D has higher induction frequency of pollen callus and ratio of plantlets differentiation than NAA in anther culture.

Key words: anther culture; forming seedling through one-step culture; frequency of calli giving albino plantlets; frequency of calli giving green plantlets; green plantlets yield