

有机添加物对矮败小麦 F₁ 可育株花药培养及花培苗越夏的影响

史 勇¹,白延红²,陈耀峰¹,李春莲¹,
崔志刚¹,安 娜¹,李晓飞¹

(1 西北农林科技大学 农学院,陕西 杨凌 712100;2 杨凌职业技术学院 生物工程系,陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】探讨有机添加物对矮败小麦 F₁ 可育株花药培养特性的影响,研究其花粉植株越夏方法。**[方法]**应用单因子试验,分析水解酪蛋白、谷氨酰胺和生物素 3 种有机添加物对矮败小麦 F₁ 可育株可育株花药培养特性的影响,比较不同基因型矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织诱导率、绿苗分化率,研究多效唑对矮败小麦 F₁ 可育株花粉植株越夏的影响。**[结果]**在一定质量浓度范围内,水解酪蛋白、谷氨酰胺和生物素对矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织的诱导都有一定正向促进作用,在其最适质量浓度(水解酪蛋白 500 mg/L、谷氨酰胺 5.0 mg/L 和生物素 2.0 mg/L)时,矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织的诱导率分别较对照提高了 47.07%,22.48% 和 55.27%;基因型对矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织诱导和绿苗再分化有重要影响,矮败小麦与小偃 22、101、西农 213 3 个小麦品种(系)杂交 F₁ 可育株花药愈伤组织诱导率分别为 5.49%,4.73% 和 5.85%,三者之间差异均达极显著水平。矮败×小偃 22 愈伤组织的绿苗分化率明显高于矮败小麦与 101、西农 213 杂交 F₁ 代 2 个供试材料,达到了 13.70%。在添加多效唑和连续继代培养条件下,成功地进行了矮败小麦 F₁ 花粉植株越夏,证明在越夏培养过程中,4.0 mg/L 多效唑表现出的延缓生长作用较 3.0 mg/L 更好,并未见有毒害作用。**[结论]**添加 500 mg/L 水解酪蛋白、5.0 mg/L 谷氨酰胺和 2.0 mg/L 生物素,能使矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织的诱导率较对照有明显提高;添加多效唑和连续继代培养可使矮败小麦 F₁ 花粉植株成功越夏,获得生长健壮、移栽成活率高的花培苗。

[关键词] 矮败小麦;花药培养;有机添加物;多效唑

[中图分类号] S512.1⁺9;Q813.1⁺2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)05-0073-07

The effect of the organic additives on the characteristics of F₁ fertile anther materials of dwarf-male-sterile wheat and on summering of cultured wheat anther plantlets

SHI Yong¹, BAI Yan-hong², CHEN Yao-feng¹, LI Chun-lian¹,
CUI Zhi-gang¹, AN Na¹, LI Xiao-fei¹

(1 College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Department of Biotechnology, Yangling Vocational and Technical College, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】This experiment discussed the effect of the organic additives on the F₁ fertile anther materials of dwarf-male-sterile wheat and studied the summering of cultured wheat anther plantlets.
[Method] Single-factor test was used to analyze the effect of hydrolysis casein, L-glutamine, and biotin on the culture characteristics of dwarf-male-sterile F₁ fertile plant anthers, the three different genotype materials' callus induction rates and green plant regeneration rates were respectively compared, and the effect of

* [收稿日期] 2009-11-26

[基金项目] 陕西省 13115 科技重大专项(2008ZDKG-07)

[作者简介] 史 勇(1983—),男,山东临沂人,在读硕士,主要从事小麦生物技术育种研究。E-mail: shiyong0539@163.com

[通信作者] 陈耀峰(1956—),男,陕西岐山人,教授,博士生导师,主要从事小麦生物技术育种研究。E-mail: chenyzf3828@126.com

PP_{333} on dwarf-male-sterile F_1 fertile plants over-summering was analyzed. 【Result】 In certain concentrations, hydrolyzed casein, L-glutamine, and biotin on culturing the dwarf-male-sterile wheat F_1 anthers all had certain positive effects on promoting F_1 anther callus. In their optimum concentrations (respectively: 500, 5.0, 2.0 mg/L), compared with the control, the induction rate of the anther callus was increased respectively by 47.07%, 22.48% and 55.27%; Different materials' genotypes had different effects on the callus induction and green plantlet differentiation of the dwarf-male-sterile wheat F_1 anthers, dwarf-male-sterile hybrid with Xiaoyan 22, 101, Xinong 213 respectively, and the anther callus rate of their F_1 generations was 5.49%, 4.73% and 5.85% respectively, the difference among which was extremely significant. The green plantlet differentiation of callus of dwarf-male-sterile \times Xiaoyan 22 reached 13.70%, which was significantly higher than that of dwarf-male-sterile \times 101 and dwarf-male-sterile \times Xinong 213. The cultured green wheat anther plantlets passed the summer safely on the condition of continuous subculture and certain concentration of PP_{333} was put into the media. The 4.0 mg/L concentration of PP_{333} showed better delay growing role than 3.0 mg/L, and 4.0 mg/L concentration of PP_{333} did not harm the plantlets. 【Conclusion】 After adding hydrolyzed casein, L-glutamine and biotin whose mass concentrations were 500, 5.0, 2.0 mg/L respectively, the anther callus induction rates of dwarf male-sterile F_1 fertile plants were increased significantly compared with the control. The cultured green wheat anther plantlets grew well and the transplanted survival rate was high and passed the summer safely when continuous subculture and certain concentration of PP_{333} was used.

Key words: dwarf-male-sterile wheat; culture of wheat anther; organic additive; PP_{333}

利用小麦花药培养技术进行单倍体育种是普通小麦育种的重要技术之一,但迄今小麦花药培养愈伤组织诱导和绿苗分化的频率受基因型影响很大,一些基因型的小麦材料诱导频率低已成为影响这一育种技术发展的限制因子。多年来,许多研究者在培养基的改进,有机添加物和激素的调整,碳、氮源以及花药接种的时期和状态等方面进行了大量研究^[1-6],这些研究尽管显著提高了花药培养效率,但在消除基因型差异上收效甚微。矮败小麦是中国农业科学院创制的重要的小麦育种材料,已在我国多家育种单位应用,因此探讨影响其杂种后代花药培养的因素,提高其杂种后代花药培养效率,在以矮败小麦为轮回亲本的小麦育种上有重要的理论和实践意义。为此,本研究以3种不同基因型的矮败小麦 F_1 可育株花药组织为材料,研究了水解酪蛋白、谷氨酰胺和生物素3种有机添加物对矮败小麦 F_1 可育株花药培养特性的影响,并比较了不同基因型间的培养效率,探讨了矮败小麦 F_1 可育株的花药培养特性及提高其花培效率的途径,以期为矮败小麦单倍体育种,以及其可育株花粉的越夏提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为矮败小麦(由中国农业科学院作物

研究所刘宏伟副教授提供)分别与小偃22(由西北农林科技大学农学院陈新宏教授提供)、101、西农213(101和西农213为本课题组培育的小麦优良新品系)3个小麦品种(系)杂交 F_1 代的花药组织。

1.2 培养基

愈伤组织诱导的基本培养基:W14+2,4-D 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+蔗糖9%,pH 5.8。诱导培养基:在基本培养基中分别添加0(对照),250,500,750 mg/L水解酪蛋白(购于北京奥博星生物技术有限责任公司);0(对照),2.5,5.0,7.5 mg/L谷氨酰胺(购于宁波科瑞生物工程有限公司);0(对照),1.0,2.0,3.0 mg/L生物素(维生素H(Biotin),又名辅酶R,瑞士进口),pH均为5.8。分化培养基:MS+NAA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+蔗糖3%,pH为5.8。生根培养基:1/2 MS+NAA 0.5 mg/L+蔗糖3%,pH 5.8,在此培养基中分别添加3.0和4.0 mg/L多效唑(PP_{333} ,日本进口,纯度>98%)。

1.3 方法

于4月中旬取大田种植、经镜检小孢子发育时期为单核靠边期的小麦幼穗,置冰箱内4℃低温处理2~3 d,接种前去掉包叶并用体积分数为75%的酒精擦拭消毒,于无菌条件下剥取小穗花药接种于

诱导培养基上。花药诱导脱分化培养为暗培养,培养温度为25~28℃,40~50 d后统计花药出愈率,研究不同有机添加物及其质量浓度对小麦花药愈伤组织诱导的影响,并将花药愈伤组织转至分化培养基,于(25±1)℃、3 000 lx(12 h/d)光照条件下诱导愈伤组织分化。当分化的绿芽长至2~3 cm时,转至生根培养基,于(25±1)℃、3 000 lx(12 h/d)光照条件下,每20~30 d继代1次越夏,越夏后的小麦花培绿苗在9月上旬进行驯化移栽,并于10月上旬定植于大田。

$$\text{诱导率} = (\text{愈伤组织数}/\text{接种花药数}) \times 100\%;$$

$$\text{分化率} = (\text{分化绿苗数}/\text{转分化愈伤组织数}) \times 100\%;$$

$$\text{白苗率} = (\text{分化白苗数}/\text{转分化愈伤组织数}) \times 100\%;$$

$$\text{成活率} = (\text{成活苗数}/\text{移栽苗数}) \times 100\%。$$

表1 水解酪蛋白对矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导的影响

Table 1 The effect of hydrolysis casein on the characteristics of F₁ fertile anther materials of dwarf-male-sterile wheat

水解酪蛋白质量浓度/(mg·L ⁻¹)	供试材料	接种花药数 No. of inoculated anther	愈伤组织数 No. of callus	诱导率/% Callus induction rate	出愈率较对照高/% Higher rate than the control callus
0	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 921	128	4.38	—
	矮败×101 DMW×101	2 638	98	3.71	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 843	133	4.68	
	总计 Total	8 402	359	4.27 cC	
250	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	3 114	160	5.14	17.56
	矮败×101 DMW×101	3 107	131	4.22	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 916	168	5.76	
	总计 Total	9 137	459	5.02 bB	
500	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	3 725	242	6.50	47.07
	矮败×101 DMW×101	3 947	214	5.42	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	3 884	270	6.95	
	总计 Total	11 556	726	6.28 aA	
750	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	3 162	163	5.15	19.44
	矮败×101 DMW×101	2 659	127	4.78	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	3 087	164	5.31	
	总计 Total	8 908	454	5.10 bB	

注:DMW代表矮败。同列不同大小写字母表示用Duncan's新复极差法测验在P=0.01和P=0.05水平上有显著差异。下表同。

Note:DMW represents dwarf male-sterile wheat. Different big and small letters indicate significant differences, determined by Duncan's multiple range at P=0.01 and P=0.05. The same as the following tables.

2.1.2 谷氨酰胺对矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导的影响 由表2可见,谷氨酰胺能明显促进矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导,诱导培养基中添加2.5,5.0和7.5 mg/L谷氨酰胺,矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率分别为4.70%,5.23%和4.56%,差异达显著水平(P<0.05),且添加5.0 mg/L谷氨酰胺的诱导培养基,矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率最高,较对照提高了22.48%,差异达极显著水平(P<0.01)。随着添加

2 结果与分析

2.1 有机添加物对矮败小麦F₁可育株花药培养的影响

2.1.1 水解酪蛋白对矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导的影响 表1表明,添加250,500,750 mg/L水解酪蛋白的诱导培养基,矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率明显高于对照,且随着水解酪蛋白质量浓度的增加,矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率呈先升高后降低的变化趋势。其中添加500 mg/L水解酪蛋白的诱导培养基,矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率最高,达到了6.28%,较对照提高了47.07%,差异极显著(P<0.01);添加250和750 mg/L水解酪蛋白的诱导培养基分别较对照提高了17.56%和19.44%,差异均达极显著水平(P<0.01)。

谷氨酰胺质量浓度的升高,促进效果也有一个随质量浓度升高后又下降的过程。

2.1.3 生物素对矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导的影响 由表3可以看出,添加不同质量浓度生物素的诱导培养基,矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率明显高于对照,添加2.0,3.0 mg/L生物素的诱导培养基,矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率都较高,达到了6.63%和6.59%,较对照分别提高了55.27%和54.33%,差异达极显著水平

($P<0.01$);添加1.0 mg/L生物素的诱导培养基出愈率相对较低,较对照提高22.95%,差异也达到了

极显著水平($P<0.01$)。

表2 谷氨酰胺对矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导的影响

Table 2 The effect of L-glutamine on the characteristics of F₁ fertile anther materials of dwarf-male-sterile wheat

谷氨酰胺质量浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of L-glutamine	供试材料 Material	接种花药数 No. of inoculated anther	愈伤组织数 No. of callus	诱导率/% Callus induction rate	出愈率较对照高/% Higher rate than the control callus
0	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 921	128	4.38	
	矮败×101 DMW×101	2 638	98	3.71	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 843	133	4.68	
	总计 Total	8 402	359	4.27 cB	—
2.5	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 684	128	4.77	
	矮败×101 DMW×101	2 311	99	4.28	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 505	126	5.03	
	总计 Total	7 500	353	4.70 bB	10.07
5.0	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 637	138	5.23	
	矮败×101 DMW×101	2 983	136	4.56	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 923	173	5.92	
	总计 Total	8 543	447	5.23 aA	22.48
7.5	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 943	137	4.66	
	矮败×101 DMW×101	3 152	122	3.87	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	3 142	162	5.16	
	总计 Total	9 237	421	4.56 bB	6.79

表3 生物素对矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导的影响

Table 3 The effect of biotin on the characteristics of F₁ fertile anther materials of dwarf-male-sterile wheat

生物素质量浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of biotin	供试材料 Material	接种花药数 No. of inoculated anther	愈伤组织数 No. of callus	诱导率/% Callus induction rate	出愈率较对照高/% Higher rate than the control callus
0	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 921	128	4.38	
	矮败×101 DMW×101	2 638	98	3.71	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 843	133	4.68	
	总计 Total	8 402	359	4.27 cC	—
1.0	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 536	136	5.36	
	矮败×101 DMW×101	2 173	108	4.97	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 629	141	5.36	
	总计 Total	7 338	385	5.25 bB	22.95
2.0	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 428	167	6.88	
	矮败×101 DMW×101	2 761	162	5.87	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 421	175	7.23	
	总计 Total	7 601	504	6.63 aA	55.27
3.0	矮败×小偃22 DMW×Xiaoyan 22	2 576	177	6.87	
	矮败×101 DMW×101	2 183	123	5.63	
	矮败×西农213 DMW×Xinong 213	2 265	163	7.20	
	总计 Total	7 024	463	6.59 aA	54.33

2.2 不同基因型矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织的分化及再分化

由表4结果可知,不同基因型矮败小麦F₁可育株花药愈伤组织诱导率和绿苗分化率差异明显。矮败小麦与小偃22、101、西农2133个小麦品种(系)杂交F₁代花药愈伤组织诱导率分别为5.49%,4.73%和5.85%,其中矮败×西农213的诱导率最高,较矮败×101提高1.12%,且三者之间差异均达

极显著水平。

矮败×小偃22愈伤组织的绿苗分化率明显高于其他2个供试材料,达到了13.70%,但其白苗率达到了3.96%,在3个材料中也为最高。矮败×101和矮败×西农213愈伤组织的绿苗分化率分别为6.68%和8.69%,且其白苗率也相对较低。说明不同供试材料的基因型对花药培养愈伤组织脱分化和再分化都有很大影响。

表 4 不同基因型矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织的分化率及白苗率
Table 4 The callus induction and green plantlet differentiation of different materials

供试材料 Material	处理 Treatment	接种花药数 No. of inoculated anthers	愈伤组织数 No. of callus	诱导率/% Callus rate	转分化愈伤组织数 No. of transferred callus	分化绿苗数 No. of green plant	分化率/% Plant differentiation rate	分化白苗数 No. of albino plant	白苗率/% Albino plant rate
矮败×小偃 22 DMW×Xiaoyan 22	对照 Control	2 921	128	4.38					
	水解酪蛋白 Hydrolisis casein	10 001	565	5.65					
	谷氨酰胺 L-glutamine	8 264	403	4.88					
	生物素 Biotin	7 540	480	6.37					
	总计 Total	28 726	1 576	5.49 bB	657	90	13.70	26	3.96
矮败×101 DMW×101	对照 Control	2 638	98	3.71					
	水解酪蛋白 Hydrolisis casein	9 713	472	4.86					
	谷氨酰胺 L-glutamine	8 446	357	4.23					
	生物素 Biotin	7 117	393	5.52					
	总计 Total	27 914	1 320	4.73 cC	539	36	6.68	13	2.41
矮败×西农 213 DMW×Xinong 213	对照 Control	2 843	133	4.68					
	水解酪蛋白 Hydrolisis casein	9 887	602	6.09					
	谷氨酰胺 L-glutamine	8 570	461	5.38					
	生物素 Biotin	7 315	479	6.55					
	总计 Total	28 615	1 675	5.85 aA	426	37	8.69	6	1.41

注:接种花药数为不同供试材料分别在每种有机添加物中不同处理质量浓度下接种花药数的总和。

Note: The number of inoculated anthers is the sum of different materials' anthers which were tested by different concentrations of organic additives respectively.

2.3 多效唑对矮败小麦 F₁ 可育株花粉植株幼苗越夏的影响

在添加多效唑和连续继代培养条件(每 20~30 d 继代 1 次)下,成功地进行了矮败小麦 F₁ 可育株花粉植株越夏,越夏后的小麦花粉植株叶片变宽,叶色浓绿,株高降低,植株簇状,根粗短且多绒状根毛,

移栽成活率高,而未加多效唑的花粉植株,生长细长、瘦弱,只能转接 1 代,最终干枯死亡,基本不能越夏(图 1)。由表 5 可见,经不同质量浓度多效唑处理和连续继代培养,越夏矮败小麦 F₁ 可育株花粉植株的移栽成活率都在 88% 以上,且 4.0 mg/L 多效唑处理的矮败×101 移栽成活率达到了 100.00%。

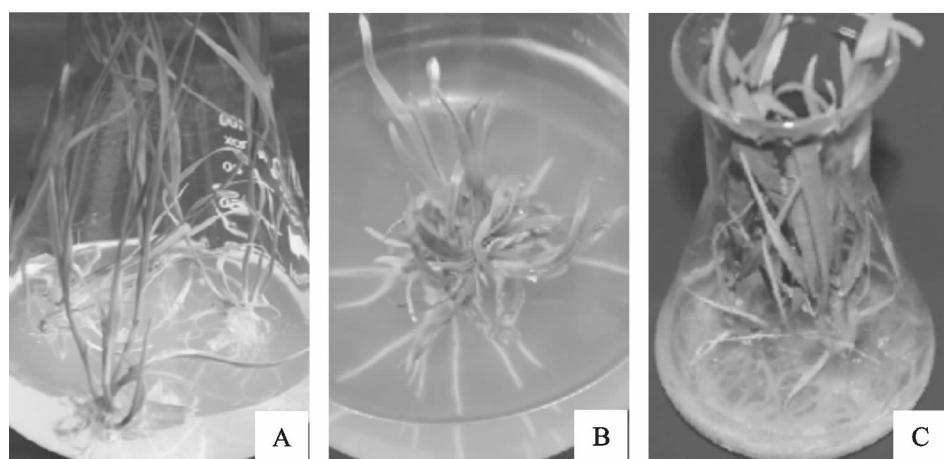


图 1 添加多效唑对矮败小麦 F₁ 可育株花粉植株的影响

A. 分化后未用多效唑处理; B. 分化后用多效唑处理 30 d; C. 用多效唑处理并连续继代培养

Fig. 1 The effect of PP₃₃₃ on pollen regenerated plants of dwarf-male-sterile wheat

A. Pollen regenerated plants without being treated by PP₃₃₃; B. Pollen regenerated plants been treated by PP₃₃₃ for 30 days;

C. Pollen regenerated plants after treated by certain concentration of PP₃₃₃ and continuous subculture

表 5 多效唑质量浓度对矮败小麦 F₁ 可育株花粉植株幼苗越夏的影响Table 5 The effect of different concentration of PP₃₃₃ in the summering of wheat haploid

多效唑质量浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration of PP ₃₃₃	供试材料 Material	处理苗数 No. of treated plant	移栽苗数 No. of transferred plant	成活苗数 No. of survival plant	成活率/% Survival rate
3.0	矮败×小偃 22 DMW×Xiaoyan 22	45	43	39	90.70
	矮败×101 DMW×101	18	18	16	88.89
	矮败×西农 213 DMW×Xinong 213	19	18	16	88.89
4.0	矮败×小偃 22 DMW×Xiaoyan 22	45	45	43	95.56
	矮败×101 DMW×101	18	18	18	100.00
	矮败×西农 213 DMW×Xinong 213	18	16	15	93.75

3 结论与讨论

小麦花药培养的出愈率和绿苗分化率的高低与品种基因型、外植体生理状态、培养基成分及培养条件有关^[6-7]。本研究结果表明,水解酪蛋白和谷氨酰胺对矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织的诱导都有较强的促进作用,且前者促进作用的效果较后者好,在其最适质量浓度下前者较对照提高了 47.07%,而后者仅提高了 22.48%,说明水解酪蛋白较谷氨酰胺更能满足组织对氮源的吸收和利用。在质量浓度较高时,水解酪蛋白和谷氨酰胺对矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织诱导的促进作用都有一个阈值,超过该阈值,其效果会降低,说明过多的氮素会影响培养材料对其他元素的吸收和利用,使培养材料代谢失调,影响其分化效率。

生物素是维生素 B 复合体之一,其作用主要是促进由生物素酶引起的固碳作用及羧基转移反应,以及植物体内碳元素的吸收与利用。在诱导培养基中添加 2.0,3.0 mg/L 生物素,可使矮败小麦 F₁ 可育株花药愈伤组织诱导率较对照提高 55.27% 和 54.33%。

基因型对小麦花药培养的影响早已引起人们的关注。姜秀芳等^[8]发现,不同小麦基因型材料花药愈伤组织诱导率在 0~24.3%。刘建平等^[9]发现,不同小麦基因型材料花药绿苗诱导率最高为 25.34%,最低为 0。本研究结果表明,在 3 个矮败小麦 F₁ 可育株间花药愈伤组织诱导率差异均达到极显著水平,三者的分化率也有明显差异,这与其他基因型研究结果是一致的,说明基因型在组织分化和绿苗再分化过程中都是主导因素之一。本研究还发现,不同基因型材料的出愈率和分化率之间并无必然联系,即出愈率高,分化率不一定高,所以在实际选材中应该二者兼顾,选择二者综合效果较好的材料。

再生单倍体植株在长时间的越夏培养过程中,

往往表现生长弱,根系不发达,移栽成活率低等特点,一些极不容易获得的少量单倍体植株常因苗弱而在移栽后死亡。多效唑(PP₃₃₃)是一种植物生长延缓剂,壮苗培养基中添加适宜质量浓度的多效唑可以壮根、壮苗,保证试管花粉苗安全越夏^[10-15]。本研究在多效唑质量浓度为 3.0,4.0 mg/L 并连续继代的条件下,成功进行了矮败小麦 F₁ 花粉植株越夏,但也观察到在温度较高(25±1)℃ 的培养条件下,添加 3.0 mg/L 多效唑的花粉植株表现出生长较快,后期生长过盛的现象。而 4.0 mg/L 的多效唑表现出更好的延缓生长的作用,且未出现药害现象,这与前人所得出的 4.0 mg/L 多效唑对花培幼苗毒害较强的结果不一致,这可能是由于不同供试材料对多效唑的耐受性不同,且较高的培养温度可使供试材料对多效唑的耐受性降低。

[参考文献]

- 陈保锋. 不同培养基对小麦花药愈伤组织诱导和分化的影响 [J]. 技术研发, 2008(3): 46-47.
Chen B F. Effect of different media on the frequency of induction and differentiation of pollen callus in wheat [J]. Technology and Market, 2008(3): 46-47. (in Chinese)
- 陈耀峰, 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影响 [J]. 作物学报, 1993, 19(2): 145-148.
Chen Y F, Zhu Q L. Effect of the ratio of sucrose to maltose on the frequency of induction and differentiation of pollen callus in wheat [J]. Acta Agronomica Sinica, 1993, 19(2): 145-148. (in Chinese)
- 杨随庄. PHA 对小麦花粉愈伤组织诱导频率的影响 [J]. 甘肃农业科技, 2001(10): 13-14.
Yang S Z. Effect of PHA on the frequency of induction of pollen callus in wheat [J]. Gansu Agr Sci Techn., 2001(10): 13-14. (in Chinese)
- 兰素缺, 李光威, 权书月, 等. 碳源组份及浓度对小麦花药培养和游离小孢子培养的影响 [J]. 华北农学报, 2002, 17(增刊): 93-97.
Lan S Q, Li G W, Quan S Y, et al. Effect of carbohydrate composition and concentration on anther culture and isolated mi-

- crospores culture in wheat [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2002, 17(Supplement): 93-97. (in Chinese)
- [5] 王 培,陈玉蓉,何 萍,等.亮氨酸对小麦花粉愈伤组织诱导和绿苗分化的影响 [J].河北农业科学,1993(4):1-2.
Wang P, Chen Y R, He P, et al. Effect of leucine on the frequency of induction and differentiation of pollen callus in wheat [J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 1993(4): 1-2. (in Chinese)
- [6] 张晓丽,魏俊杰.影响小麦花药培养的因素 [J].农业科技通报,2007(4):138-139.
Zhang X L, Wei J J. Study on factors affecting the induction of anther callus in wheat [J]. *Acta Agr Sci Techn*, 2007(4): 138-139. (in Chinese)
- [7] 隋新霞,樊庆琦,李根英.小麦花药培养研究进展 [J].麦类作物学报,2005,25(4):127-131.
Sui X X, Fan Q Q, Li G Y. Review on wheat anther culture [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2005, 25(4): 127-131. (in Chinese)
- [8] 姜秀芳,郑继周.小麦花培材料的筛选和利用 [J].农业生物技术科学,2005,21(2):62-64.
Jiang X F, Zheng J Z. Useage and selection of wheat anther culture response materoal [J]. *Chinese Agricuoture Science Bulletin*, 2005, 21(2): 62-64. (in Chinese)
- [9] 刘建平,刘学馨,魏秀玲.冬小麦用亲本以及配组一代花药培养力的研究 [J].华北农学报,1997,12(4):17-22.
Liu J P, Liu X Q, Wei X L. Research on anther culture ability of conventional parents and their progenies for winter wheat [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 1997, 12(4): 17-22. (in Chinese)
- [10] 梁 辉,贾双娥,欧阳俊闻.多效唑在小麦花药培养中应用的研究 [J].作物学报,1997,23(2):220-225.
- Liang H, Jia S E, Ouyang J W. Studies on the application of multi-effect-triazole in anther culture of wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1997, 23(2): 220-225. (in Chinese)
- [11] 赵成章,郑康乐,戚秀芳.多效唑对水稻未成熟胚愈伤组织诱导、分化和壮苗培养的影响 [J].植物学报,1990,32(5):407-409.
Zhao C Z, Zheng K L, Qi X F. Effect of MET on immature embryo callus induction, differentiation and hardening of pan-tlets [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1990, 32(5): 407-409. (in Chinese)
- [12] 李明军. PP₃₃₃对玉米试管苗生长的调控(简报) [J].植物生理学通讯,1997,33(4):269-271.
Li M J. Regulation of growth of maize plantlet in vitro by paclbutrazol (PP₃₃₃) [J]. *Plant Physiology Communications*, 1997, 33(4): 269-271. (in Chinese)
- [13] 徐穗君,王山芸,楼奎福,等.多效唑在小麦组织培养中的应用研究 [J].作物学报,1994,20(5):637-639.
Xu S J, Wang S H, Lou K F, et al. Studies on the application of paclbutrazol in wheat tissue culture [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1994, 20(5): 637-639. (in Chinese)
- [14] 阮 龙,王 钰,严 平,等.多效唑在马铃薯试管苗上的应用研究 [J].杂粮作物,2005,25(1):32-34.
Ruan L, Wang Y, Yan P, et al. Study on application of paclbutrazol in potato tissue culture [J]. *Rain Fed Crops*, 2005, 25(1): 32-34. (in Chinese)
- [15] 蒋泽平,朱鹿鸣.BA,IA 和 PP₃₃₃对山杨叶柄分化芽的增殖与生长的影响 [J].林业科技通讯,1999(3):35-37.
Jiang Z P, Zhu L M. Study on the effects of BA, IA and PP₃₃₃ on propagation and growth of leaf-stalk of *Populus davidina* in vitro [J]. *Forest Science and Technology*, 1999(3): 35-37. (in Chinese)

(上接第 72 页)

- [13] Liu Y, Xiong Z Y, He Y G, et al. Genetic diversity of HMW glutenin subunit in Chinese common wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces from Hubei province [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2007, 54: 865-874.
- [14] Nakamura H. Allelic variation at high-molecular-weight glutenin subunit loci, *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1*, in Japanese and Chinese hexaploid wheats [J]. *Euphytica*, 2000, 112: 187-193.
- [15] Lindahl L, Svensson G, Gianibelli C, et al. Mixing properties of some Swedish wheat varieties with different subunits at the *Glu-A1* locus [C]//Gluten 96. Proc. 6th Intern. Sydeny, Australia, Gluten Workshop; 1996: 51.
- [16] Tohver M. High molecular weight (HMW) glutenin subunit composition of some Nordic and Middle European wheats [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2007, 54: 67-81.
- [17] Sontag T, Salovaara H, Payne P I. The high-molecular-weight glutenin subunit composition of wheat varieties bred in Finland [J]. *J Agric Sci*, 1986, 58: 151-156.
- [18] Sultana T, Ghaffor A, Ashraf M. Genetic variability in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) of Pakistan based on polymorphism for high molecular weight glutenin subunits [J]. *Genet Resour Crop Evol*, 2007, 54: 1159-1165.
- [19] Bahraei S, Saidi A, Alizadeh D. High molecular weight glutenin subunits of current bread wheats grown in Iran [J]. *Euphytica*, 2004, 173: 173-179.