

影响小麦 (*Triticum aestivum* L.) 花粉植株 诱导频率之几个因子

西北农学院农作物单倍体研究和利用课题组

花粉植株诱导成功, 揭示了被子植物的生殖细胞和体细胞一样, 具有发育成完整个体的潜力。同时, 对于研究植物的细胞分化、胚胎发生和器官形成提供了新的有效的方法, 特别是花粉植株具有体细胞染色体数的一半, 因此在育种工作中有其特殊的价值。

很早以前, 人们就已经注意到利用单倍体进行育种的特点。Chase (1952) 曾利用玉米籽粒紫色糊粉层与紫芽鞘的显性指示性状标志法, 获取孤雌生殖所产生的单倍体并运用于育种工作。但由于如何简便而大量地获得单倍体的方法没有很好解决, 致使利用单倍体育种法一直处于设想阶段。利用花粉培育单倍体植株成功, 使人们多年来设想进行单倍体育种的愿望终于成为现实。然而, 目前培育花粉植株的方法还是比较复杂, 诱导频率也低, 对一些主要作物的花培规律摸得还不清楚, 甚至诱导花粉植株还没有成功。就小麦讲, 如何大幅度地提高花培诱导频率, 简化培养技术, 完善利用这一方法于育种实践的工艺过程, 乃利用花药培养法进行小麦单倍体育种工作首先必须解决的问题。本文拟就我们1976—1977年小麦花药培养试验的结果, 对影响小麦花粉植株诱导频率的一些因子进行初步探讨。

一、材料与方法

供试材料系取自普通小麦 (*Tr. aestivum*) 的杂种一代和二代, 其中一代29个组合, 二代17个组合, 共计46个组合 (详见表2)。所有材料皆由我院农学系小麦育种组提供。

接种材料用醋酸洋红压片镜检, 一般采用含单核中晚期小孢子的花药接种。接种前1—2天采穗, 插于盛普通自来水的玻璃杯中, 置入冰箱, 冰箱温度保持于3—5℃之间。接种材料用70%酒精擦拭叶鞘, 然后从中剥取麦穗, 在无菌条件下用镊子取出花药直接播种于培养瓶中。

基本培养基采用Murashige和Skoog (1962) 培养基 (MS), N6培养基以及马铃薯简化培养基三种。基本培养基中, 因试验处理不同, 去除或添加一定量的无机、有机成分以及生长素类物质。培养瓶在盛培养基前, 预先于150℃恒温干燥箱中干热灭菌2小时, 盛装培养基后, 在0.8公斤/平方厘米压力下灭菌20分钟。

接种后培养瓶置于17—26℃条件下进行培养, 加或不加光照, 待形成的愈伤组织长

至2毫米大小时,将愈伤组织转至分化培养基中;在 $27^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 恒温条件下培养,加萤光灯光照,每日10小时,分化出的幼苗,待苗高5—8厘米,根系形成之后,即直接移栽于土壤中。

二、结果与讨论

(一) 遗传型差异对于诱导花药愈伤组织和分化成苗频率之影响

1. 遗传型对产生小麦花药愈伤组织的影响

目前,小麦花药愈伤组织的诱导频率一般都不高,但是在不同材料之间,由于遗传型的差异,愈伤组织的诱导频率悬殊极大。一般稳定品种较杂种诱导率为低,而杂种又以杂种二代较杂种一代为低。不同品种以及组合之间差异亦甚大。从表1资料清楚看到,稳定品种矮丰3号与偃大24诱导频率都甚低,杂种(矮丰3号 $\times$ 偃大24) F_1 诱导率皆较其亲本为高。杂种 F_2 与其亲本相若。杂种一代总的讲诱导率高于二代。然而不论 F_1 、 F_2 ,其中各个组合愈伤组织诱率之高低极其悬殊(见表2),例如矮丰4号 $\times$ 高秆大穗、丰产3号 $\times$ NFPF1.3、丰产3号 $\times$ 中高秆36、丰产3号 $\times$ St $\frac{2764}{400}$ $\times$ 525等组合的诱导率则比较高,大部分组合的诱导率则比较低,有些组合甚至还没有诱导出愈伤组织来。不同材料诱导频率间的差异,究其原因可能与不同品种与材料对培养条件的反应不同有关,这种反应在杂种材料上不仅因参与品种的遗传型,而且似与参与品种双方遗传型的配合情况有关。

在本实验中以丰产3号品种参与的第V组的各组合诱导频率较其它组为高。然而,即使在这一组中,由于另一亲本所用的品种不同,诱导率亦具有明显的差异。如丰产3号 $\times$ Chapingo74这一组合的诱导率较该组其余组合显著为低。

表1 杂种 F_1 、 F_2 及稳定品种花药愈伤组织的诱导率

1976—1977

品种及组合名称	稳 定 品 种			杂种一代(F_1)			杂种二代(F_2)		
	接种花药数	愈伤组织数	%	接种花药数	愈伤组织数	%	接种花药数	愈伤组织数	%
矮丰3号	440	1	0.2						
偃大24	440	2	0.4						
矮丰3号 $\times$ 偃大24				939	12	1.2	1069	3	0.3
小偃4号 $\times$ 它诺瑞				620	0	0	867	5	0.6
小偃4号 $\times$ 偃大24				49	3	6.3	786	0	0
总 计	880	3	0.3	1608	15	0.9	2722	8	0.3

2. 遗传型差异对小麦花药愈伤组织再分化的影响

不同材料的遗传型差异对于花药愈伤组织的再分化亦具极大影响。从表 3 所列举的资料可见, 有些组合的愈伤组织分化成苗率很高, 有些组合则比较低。有趣的是, 一些组合诱导愈伤组织频率高, 愈伤组织分化成苗率亦高。表 2 F₁ 第Ⅵ组的诱导率, 总的讲都比其它组为高。但需要指出的是, 愈伤组织诱导的难易与再分化率的高低并无绝对相关, 某些愈伤组织诱导率高的组合, 再分化的频率并不一定高。例如矮丰 4 号 × 高秆大穗, 这一组合在本实验中愈伤组织诱导频率最高 (8.68%), 但其再分化频率并不高 (28.6%), 特别是绿苗诱导频率还很低 (13.3%)。相反, 有些组合如丰产 3 号 × Chapingo74 愈伤组织诱导频率仅 0.9%, 但其再分化频率却高达 52.4%, 绿苗分化频率亦高达 42.9%。

表 2 遗传型差异对小麦花药愈伤组织诱导频率的影响

1977. 10

组合类别	杂 种 一 代			
	组 合 名 称	接 种 花药数	产生愈 伤组织 数	%
I	视察15×71(20)8—3—10	1201	32	2.7
	视察15×矮丰3号	1788	34	1.9
	视察15×69(9)6	1022	23	2.3
	视察15×69(3)2	479	1	0.2
	视察15×71(19)6	2430	59	2.4
	视察15×703	1506	17	1.1
	视察15×中高秆36	1411	5	0.4
	视察15×丰产3号	883	0	0
	视察15×肖村大粒	710	32	4.5
II	71(25)27×镇圃9号	828	2	0.2
	71(25)27×视察15s	691	6	0.9

II	矮丰3号×NFPF1.3	779	9	1.2
	矮丰3号×肖村大粒	2054	12	0.6
	矮丰3号×Lacaiacos	2390	7	0.3
	矮丰3号×Narro74	656	1	0.2
	矮丰3号×Roguc73	1242	4	0.3
	矮丰3号×沙达特	630	4	0.6
IV	矮丰4号×高杆大穗	1210	105	8.7
V	丰产3号×NFPF1.3	568	25	4.4
	丰产3号×中高杆36	197	7	3.6
	丰产3号×卡平戈74	3008	27	0.9
	丰产3号×Mochis73	1056	14	1.3
	丰产3号×st 2764/400×525	1414	58	4.1
VI	69(9)6×佚名	261	4	1.5
	69(9)6×Narro74	2452	6	0.2
VII	S t 2764/400×525×视察15	763	2	0.3
	S t 2764/400×525×69(9)6	1120	1	0.1
VIII	劳夫林10×69(9)6)	1051	2	0.2
IX	郑六矮×71(20)8—3—10	3109	40	1.2
X	矮脖子×71(20)8—3—10	48	0	0

组合类别	杂 种 二 代			
	组 合 名 称	接 种 花药数	产生愈 伤组织 数	%
I	矮丰3号×它诺瑞	3331	21	0.6
	矮丰3号×波它姆	6155	55	0.9
	矮丰3号×偃大24	1069	3	0.3
	矮丰3号×西阿诺	369	0	0
	矮丰3号×叶考拉	1257	10	0.8
	矮丰3号×71(25)27	7233	45	0.6
II	矮丰4号×它诺瑞	1934	20	1.0
	矮丰4号×波它姆	766	4	0.5
	矮丰4号×偃大24	204	2	1.0
	矮丰4号×71(25)27	1393	4	0.3
III	小偃4号×它诺瑞	867	5	0.6
	小偃4号×波它姆	947	16	1.7
	小偃4号×偃大24	786	0	0
	小偃4号×71(25)27	532	1	0.2
IV	69(3)2×它诺瑞	135	0	0
	69(3)2×波它姆	519	0	0
V	偃大24×71(25)27	751	16	2.1
VI	75(B)	1595	0	0
	75(A)	754	5	0.7
VII	703×波它姆	1066	8	0.8

表 3

遗传型差异对小麦花药愈伤组织再分化的影响

组 合 名 称	杂 种 一 代								
	供试 愈伤 组织 数	绿 芽		白 芽		根		合 计	
		块数	%	块数	%	块数	%	块数	%
视察15×71(20)8-3-10	23	3	13.0	1	4.3	2	8.7	6	26.1
视察15×矮丰3号	27	8	29.6	6	22.2	0	0	14	51.5
视察15×69(9)6	19	2	10.5	2	10.5	3	16.0	7	36.8
视察15×69(3)2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
视察15×71(19)6	50	7	14.0	7	14.0	2	4.0	16	32.0
视察15×703	16	1	6.3	4	25.0	0	0	5	31.3
视察15×中高杆36	3	0	0	0	0	0	0	0	0
71(25)27×镇圃8号	2	1	50.0	0	0	0	0	1	50.0
矮丰3号×NFPF1.3	7	1	14.3	1	14.3	0	0	2	28.6
矮丰3号×肖村大粒	10	2	20.0	0	0	0	0	2	20.0
矮丰3号×Lacatecos	6	1	16.7	0	0	0	0	1	16.7
矮丰3号×Narro74	1	0	0	0	0	0	0	0	0
矮丰3号×Rogue73	2	0	0	0	0	0	0	0	0
矮丰3号×佚名	4	0	0	1	25.0	1	25.0	2	50.0
丰产3号×NFPF1.3	25	11	44	1	4.0	1	4.0	13	52.0
丰产3号×中高杆36	5	0	0	0	0	1	20.0	1	20.0
丰产3号×Chapingo74	21	9	42.9	2	9.5	0	0	11	52.4
丰产3号×Mochis73	12	5	41.7	1	8.3	0	0	6	50.0
丰产3号×St ₄₀₀ ²⁷⁶⁴ ×525	49	4	8.2	6	12.2	3	6.1	13	26.5
69(9)6×NFPF1.3	2	0	0	0	0	0	0	0	0
69"(9)6×Narro74(♀)	6	2	33.3	0	0	1	16.6	3	50.0
矮丰4号×高杆大穗(♀)	98	13	13.3	10	10.2	5	5.1	28	28.6
郑六矮×71(20)8-3-10	33	7	21.2	4	12.1	2	6.0	13	39.4
视察15×71(25)27(♀)	6	0	0	0	0	0	0	0	0
视察15×肖村大粒	32	15	46.9	6	18.8	5	15.6	26	81.3
矮丰4号×墨巴66	2	0	0	0	0	0	0	0	0
69(9)6×st ₄₀₀ ²⁷⁶⁴ ×525(♀)	1	0	0	0	0	0	0	0	0

组 合 名 称	杂 种 二 代								
	供试 愈伤 组织 数	绿 芽		白 芽		根		合 计	
		块数	%	块数	%	块数	%	块数	%
矮丰3号×它诺瑞	18	0	0	1	5.6	1	5.6	2	11.2
矮丰3号×波它姆	37	9	24.3	11	29.7	1	11.1	21	56.8
矮丰3号×偃大24	5	3	60.0	0	0	0	0	3	60.0
矮丰3号×叶考拉	7	1	14.3	1	14.3	0	0	2	28.6
矮丰3号×71(25)27	32	2	6.3	4	12.5	2	6.3	8	25.0
矮丰4号×它诺瑞	17	8	47.1	2	11.8	2	11.8	12	70.6
矮丰4号×波它姆	4	0	0	1	25.0	0	0	1	25.0
矮丰4号×偃大24	2	0	0	0	0	0	0	0	0
矮丰4号×71(25)27	1	0	0	0	0	0	0	0	0
小偃4号×它诺瑞	2	0	0	0	0	0	0	0	0
小偃4号×波它姆	15	3	20.0	3	20.0	0	0	6	40.0
703×波它姆	6	0	0	1	16.7	1	16.7	2	33.4
偃大24×71(25)27	12	0	0	0	0	1	8.3	1	8.3

3. 遗传型差异对小麦愈伤组织分化绿芽与白芽频率的影响

一些植物种由花药培养产生的植株存在白化体现象, 小麦、水稻等禾谷类植物花培植株的白化体比率普遍都很高, 个别植物种甚至全部是白化体(Kimata和Kamato, 1972), 小麦一般在50%上下, 这是诱导花粉植株进行单倍体育种工作中存在的一个亟待解决的问题。关于形成白化苗的原因, 说法甚多。Devreux(1970)以生殖细胞不含质体的假设为前提, 认为白化体乃由生殖细胞分化所致。但是据电镜观察(Clapham, 1973; 孙敬三等, 1973), 白化体中含有前质体或近乎正常的叶绿体。Sunderland(1974)根据花粉粒的所谓“二形性”, 提出白化苗乃非正常花粉粒发育的结果, 以解释白化苗产生的原因, 但可惜尚无直接的证明。

由于培养条件不同白化体出现比率不同, 以及其它一些原因, 很多人都倾向于从生理方面阐释这一问题。Clapham(1973), W.Sharp(1971)曾指出糖的浓度, 特别是分化培养基中, 高浓度的糖分对分化绿苗不利。浙江农业大学张玉麟等发现蔗糖附加可溶性淀粉和适当提高蔗糖浓度都有利于水稻分化绿苗。此外, 分化培养基中激素的种类和配比以及矿质营养各成分的用量及其搭配也影响白苗的发生(广东植物所遗传室, 1975; 魏亚球, 1978)。但是, 培养基成分和白苗的发生尚未得到明显的规律性的变化。而且, 不同作者以及在不同材料上甚至还得到相反的结果(兰大生物系细胞研究室, 1975; 王敬驹等1977)。

近几年对白化苗亚显微结构的研究取得可喜进展(Clapham, 1973; 孙敬三等, 1974,

梁志成等,1978),发现造成白化的原因乃由于白化苗质体缺乏核糖体,缺乏二磷酸核酮糖羧化酶而不能进行正常光合作用。说明白化苗的遗传信息在复制与翻译系统异常,从而使细胞缺乏合成RNA与蛋白质的机能。所以,形成白化苗的原因主要是遗传因素。

在我们1976年小麦花粉植株的诱导试验中,白芽的分化比率高达67.3%,绿芽分化比率仅32.7%;1977年试验中,白芽分化比率较1976年有所降低(40.1%),绿芽比率有所提高,达59.9%。据两年我们对白化体的观察,白化体出现的情形极为多样,有白化苗、黄化苗、浅绿苗、白绿苗嵌合体、缟叶苗、白绿斑点嵌合苗、白绿条纹嵌合苗等。白化苗分化初期一般苗势并不比绿苗差,其中一些植株在苗生长的同时,愈伤组织亦不断生长增大,这在绿苗生长中是比较少见的。黄化苗与浅绿苗亦有类似情形。缟叶苗出现情形十分奇特。一种缟叶是在纯白苗生长过程中逐渐有一片或两片叶子的中部的一段尖端呈浅绿或接近正常的绿色。一种情况是初分化叶片上有一段或者一半呈现绿色,而其余部分呈现白色。斑点嵌合与条纹嵌合体在愈伤组织生长过程中即已出现,而且我们在斑点嵌合愈伤组织上发现,从绿色部分分化的苗,有的为完全正常绿色,有的小叶仍具白绿嵌合斑点。我们试图对条纹嵌合的愈伤组织进行培养,但尚未获结果。从白化体出现的这些现象看,白化体形成的原因要远为复杂得多。

从我们试验的初步结果看,影响白绿苗分化的因子中,遗传型差异具有十分重要的影响。表4列举了试验结果的一部分资料。

表4 遗传型差异对小麦花药愈伤组织分化绿白苗比率的影响

供 试 组 合	组 合 代 号	再分 化愈 伤组 织数	分 化 情 况					
			绿 芽		白 芽		根	
			块数	%	块数	%	块数	%
视察15×71(19)6	76(5)	16	7	43.7	7	43.7	2	12.5
丰产3号×NFP1.3	76(17)	12	11	91.6	1	8.3	0	0
丰产3号×Chapingo74	76(19)	11	9	81.8	2	18.1	0	0
丰产3号×(St ²⁷⁶⁴ ₄₀₀ ×525)	76(22)	13	4	30.7	6	46.1	3	23.1
矮丰4号×高秆大穗	76(25)	29	13	44.8	10	34.5	6	20.7
郑六矮×71(20)8-3-10	76(26)	13	7	53.8	4	30.8	2	15.4
视察15×肖村大粒(♀)	76(30)	26	15	57.7	6	23.1	5	19.2
矮丰3号×波它姆	75(2)	18	8	44.4	9	50.0	1	5.5
矮丰3号×71(25)27	75(6)	6	2	33.3	3	50.0	1	16.4

从表4资料可以看出不同材料分化的差异甚大。其中,丰产3号×NFP1.3绿苗分化比率高达91.6%,白苗分化比率仅8.3%。丰产3号×Chapingo74,视察15×肖村大粒绿苗分化比率也比较高,白苗分化率比较低。而一些组合材料如丰产3号×(St²⁷⁶⁴₄₀₀×525),矮丰3号×波它姆、矮丰3号×71(25)27等则恰恰相反,绿苗分化率低于白苗分化

率。从中还看到一种现象, 似乎绿苗分化率低白苗分化率高的组合材料, 一般根的分化频率也相应地比较高。

(二) 培养基对花药愈伤组织和花粉植株诱导频率之影响

1. 培养基对诱导花药产生愈伤组织的影响

(1) 不同蔗糖浓度的影响: 蔗糖在花药培养中具有很重要的作用, 它不仅提供培养基的碳源, 而且对调节培养基的渗透压具重大作用。有些工作者证明蔗糖在烟草、曼陀罗花药培养工作中是培养基的关键成份 (Nitsch, 1971; Sunderland, 1974)。在大麦、油菜、水稻、小麦等作物上进行的试验 (Clapham, 1973; 北京遗传研究所, 1973; 北京植物所、黑龙江农业实验所 1977; 浙江农业大学 1977) 皆说明一定浓度蔗糖对于诱导花药愈伤组织具有明显作用。表 5 列举了四个杂交组合在同一培养基而蔗糖浓度不同情况下, 愈伤组织的诱导频率。

表 5 不同蔗糖浓度对诱导小麦花药愈伤组织的影响

材 料	项 目	糖 浓 度				
		对 照 (培养基 不加糖)	3 %	6 %	10%	12%
矮丰 4 号 × 它诺瑞	接种花药数	216	232	226	217	150
	愈伤组织数	1	0	1	5	7
	%	0.4	0	0.4	2.3	4.6
矮丰 3 号 × 71(25)27	接种花药数	761	595	834	610	624
	愈伤组织数	1	3	5	6	1
	%	0.1	0.5	0.6	1.0	0.2
小偃 4 号 × 偃大 24	接种花药数	186	173	155	133	139
	愈伤组织数	0	0	0	0	0
	%	0	0	0	0	0
视察 15 × 69(9)6	接种花药数	—	—	18	35	43
	愈伤组织数			0	0	4
	%			0	0	1.0
总 计	接种花药数	1163	1000	1233	995	956
	愈伤组织数	2	3	6	11	12
	%	0.2	0.3	0.5	1.1	1.2

注 基本培养基 MS + 洋菜 0.8% + 24D2mg/L + K2mg/L。蔗糖按处理浓度分别添加

从表5看出,除小偃4号×偃大24这一组合在所有五种处理中都没有诱导出愈伤组织外,其它三个组合呈现了比较一致的倾向。培养基中不加蔗糖也能诱导出愈伤组织来,但频率很低。随着培养基中糖浓度的增加,愈伤组织诱导率有逐渐增加的趋势。但从总的情况看,糖浓度10%和12%两个处理间差异不大。Clapham根据在大麦上所作的实验结果,提出高浓度蔗糖(12%),虽然能提高大麦愈伤组织诱导频率,但不利于绿苗分化。我们将不同蔗糖浓度培养基产生的愈伤组织进行再分化试验,结果如下:

表6 不同蔗糖浓度培养基产生的愈伤组织与再分化的关系

组 合 名 称	蔗 糖 浓 度	转 移 愈 伤 组 织 数	再 分 化 情 况					
			绿 芽		白 芽		合 计	
			块数	%	块数	%	块数	%
矮丰3号×71(25)27	3%	3	1	33.3	1	33.3	2	66.6
	6%	3	0	0	0	0	0	0
	10%	4	0	0	0	0	0	0
	12%	1	0	0	0	0	0	0
矮丰4号×它诺瑞	3%	—						
	6%	1	1		0	0	1	
	10%	4	2	50.0	1	25.0	3	75.0
	12%	7	3	42.8	0	0	3	42.8

从表6资料来看,小麦愈伤组织再分化与糖浓度的关系,在我们所试验的糖浓度范围内,没有出现Clapham在大麦试验上所出现的结果。在糖浓度10%与12%的培养基上诱导的愈伤组织,对分化和再分化的影响与低浓度蔗糖培养基产生愈伤组织再分化的情况并无明显的规律性差异。

(2) 铁盐浓度的影响:铁在植物的正常生长和发育过程中具有很重要的作用,是不可或缺的物质。在离体花药培养中一如植物的正常生长和发育,铁也是不可少的。在烟草花药培养基中如果缺铁,花粉产生胚的频率很低,而且胚的发育不能超过球形期。另外,铁的浓度过低对胚的继续生长及子叶变绿都有所抑制(Nitsch J. P and C. Nitsch. 1970; C. Nitsch. 1974; Sunderland. 1971)反之铁的浓度过高也降低大麦愈伤组织的发生频率(Clapham 1973)。图1表明了八个F₁和三个F₂杂交组合在不同铁盐浓度培养基上的试验结果。

在不含铁盐培养基上有一些组合也产生了愈伤组织,但诱导频率极低。培养基中Fe-EDTA为2毫升/升时,愈伤组织诱导频率即显著提高,这说明铁盐在诱导产生愈

伤组织中的重要作用。在本实验中铁盐浓度从 2 毫升—10毫升之间，对诱导产生愈伤组织而言，差异不十分显著。

(3) 水解乳蛋白的影响：据报导，在小麦及水稻花药培养的培养基中增添水解乳蛋白，能以提高花药愈伤组织诱导频率并有利于愈伤组织的进一步分化。(中国科学院遗传所1977，浙江农业大学1977，王敬驹等1974)。但据我们在杂种一代四个组合材料上所进行的试验结果却没有得到正效用，恰恰相反，在不含水解乳蛋白的培养基上诱导愈

表 7

水解乳蛋白对小麦花药愈伤组织诱导频率的影响

1977

组合代号	处 理	对 照 (不加水解蛋白)			加 300 mg /L			加 500 mg /L		
		接种花 药数	愈伤 组织 块数	%	接种花 药数	愈伤 组织 块数	%	接种花 药数	愈伤 组织 块数	%
76 (49)		386	1	0.24	301	0	0	295	0	0
76 (27)		442	4	1.0	104	0	0	145	2	1.3
76 (22)		295	15	5.0	285	12	4.2	201	5	2.5
76 (35)		165	2	1.2	280	0	0	318	0	0
总 计		1388	22	1.6	970	12	1.2	959	7	0.7

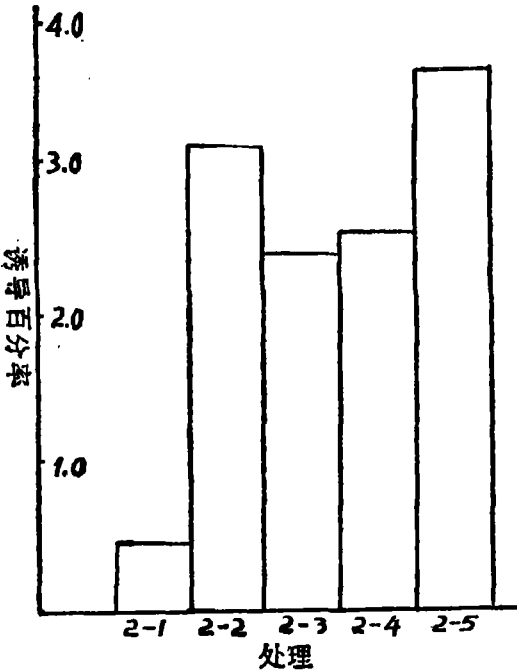


图 1 铁对小麦花药愈伤组织诱导频率的影响

2—1 (不加铁盐)，2—2 (2 ml/L)，2—3 (5 ml/L)
2—4 (8 ml/L)，2—5 (10 ml/L)

伤组织, 似乎效果还反而要好些。这是否与我们进行试验用的材料的遗传型影响以及组合类别较少有关, 需进一步进行试验。

2. 不同材料对培养基的专属性问题

不同材料在一种培养基上反应不同, 同一材料在不同培养基上反应也迥然相异, 在甲培养基上反应良好, 而在乙培养基上却反应迟钝, 甚或无反应。例如, 小偃4号 $\times$ 彼它姆在0—13号培养基上愈伤组织诱导频率高达14%, 而在0—1、0—2等培养上连一块愈伤组织也没有产生。但是, 另一组合视察15 $\times$ 71(19)6在0—14号培养基上没有反应, 而在0—2号培养基上却产生4%的愈伤组织。这种情况说明, 不同材料对培养基的反应敏感性不同, 有些材料反应敏感, 有些材料则不十分敏感。也就是说对培养基的专属性要求不严。虽然它们在不同培养基上反应不同, 在适宜的培养基上, 诱导频率高些, 在不适宜的培养基上诱导频率低些, 与反应敏感的材料不同, 大都能诱导愈伤组织, 而且某些组合材料, 例如76(25)在所有供试培养基上, 不仅都诱导出了愈伤组织, 而且诱导率普遍较高, 在各种培养基上的诱导频率也比较相近。对诱导培养基专属性要求不严的材料, 显然是比较容易诱导的, 而对专属性要求高的材料则比较难以诱导, 而且培养时应采用几种不同的培养基进行培养。

表8

不同材料对培养基的反应

处 理 组 合 项 目		0—1	0—2	0—4	0—13	0—14	愈组数 花药数	总 计 %
视察15 $\times$ 71(20)8-3-10	E	170	178	104	201	195	27/848	3.10
	G	9	2	7	3	6		
	%	5.3	1.0	6.7	1.5	3.0		
视察15 $\times$ 矮丰3号	E	149	153	196	171	182	25/851	2.93
	C	4	4	6	6	5		
	%	2.7	2.6	3.2	3.5	2.7		
视察15 $\times$ 中高杆	E	226	315	316	43	47	4/947	0.42
	C	1	2	1	0	0		
	%	0.4	0.6	0.2	0	0		
矮丰3号 $\times$ Lacatecos	E	106	389	226	103	313	5/1137	0.44
	C	0	1	0	0	4		
	%	0	0.2	0	0	1.2		
69(9)6 $\times$ Narro74	E	379	444	340	23	26	1/1212	0.08
	C	1	0	0	0	0		
	%	0.3	0	0	0	0		

矮丰4号	E	149	60	415	135	208	78/967	8.06
×	C	6	3	47	9	13		
高秆大穗	%	4.7	5.0	10.1	6.6	6.2		
郑六矮	E	411	473	303	222	308	23/1717	1.34
×	C	3	3	7	8	2		
71(20)8-3-10	%	0.7	0.6	2.3	3.6	0.6		
矮丰3号	E	204	240	113	38	291	4/986	0.40
×	C	0	0	0	1	3		
它诺瑞	%	0	0	0	2.6	1.3		
矮丰4号	E	57	94	—	190	198	4/539	9.73
×	C	0	1		1	2		
它诺瑞	%	0	1.0		0.5	1.0		
小偃4号	E	43	57	—	43	336	15/479	3.13
×	C	0	0		6	9		
波它姆	%	0	0		14.0	2.7		
视察15	E	132	49	424	83	110	11/798	1.5
×	C	0	2	9	0	0		
71(19)6	%	0	4.0	3.7	0	0		

- 注 0—1 MS + Su10% + ag0.8% + Fe5ml + CA300mg/L + 2.4D2mg/L + K1mg/L
 0—2 MS + Su10% + ag0.8% + Fe5ml + CA300mg/L + 2.4D2mg/L + K2mg/L
 0—4 N6 + Su10% + ag0.8% + Fe5ml + 2.4D2mg/L
 0—13 N6 + Su10% + ag0.8% + Fe5ml + CA300mg/L + 2.4D2mg/L + K1mg/L
 0—14 N6 + Su10% + ag0.8% + Fe6ml + CA300mg/L + 2.4D2mg/L + K2mg/L

注 E 接种花药数

C 愈伤组织块数

3. 培养基对花药愈伤组织分化的影响

(1) 蔗糖浓度对愈伤组织分化的效用: 在1976年以及1977年进行的试验中, 都曾发现愈伤组织不经转移, 即在原去分化培养基上成苗的现象。这说明, 在高浓度蔗糖的情况下, 愈伤组织是可以分化的。但分化幼芽之后, 由于培养基渗透压过高, 产生的根却不下扎, 多浮于培养基表面, 根毛特别发达。然而, 糖浓度对再分化率有否影响, 影响多大, 尚不清楚。今年我们用几种不同浓度的蔗糖培养基进行试验, 结果见表9。

表9 分化培养基蔗糖浓度对愈伤组织分化的效果

蔗糖浓度	转移愈 伤组织 数	愈 伤 组 织 的 分 化					
		绿 芽		白 芽		合 计	
		块数	%	块数	%	块数	%
2 %	17	4	23.5	3	17.6	7	41.1
3 %	9	3	33.3	1	11.1	4	44.4
6 %	10	3	30.0	2	20.0	5	50.0
9 %	8	1	12.5	1	12.5	2	25.0

注 基本培养基为MS + 琼脂0.8% + NAA1mg/L + K1mg/L + CA300gm/L

供试材料计四个组合：视察15×矮丰3号，视察15×71(19)6，

矮丰4号×高秆大穗，视察15×肖村大粒

从表9资料可以看出：就愈伤组织分化而言，含高浓度蔗糖的培养基上愈伤组织亦可分化，但分化频率甚低；而以3—6%蔗糖浓度的分化培养基为好。

(2) 激素试验：关于再分化培养基中动力精、生长素相对浓度与愈伤组织分化问题，说法甚不一致。中田与田中认为 IAA 与动力精共同作用有利于烟草胚状体形成，Nitsch 却认为 IAA 与动力精对烟草胚状体形成有害。新关(1968)的工作表明，适当比例动力精与 IAA 配合可以促进水稻愈伤组织分化。中国科学院遗传所三室二组对梗稻的研究却没有发现补加动力精与 IAA 有明显的关系。表10列举了我们以六个小麦杂交组合进行的实验结果。

表10 动力精与 IAA 对愈伤组织分化的效果

处 理	供试 愈伤 组织 数	分 化 情 况							
		绿 芽		白 芽		根		合 计	
		块数	%	块数	%	块数	%	块数	%
MS + Ag0.8% + Su3%	11	4	36.3	2	18.1	0	0	6	54.5
MS + Ag0.8% + Su3% + IAA0.5mg/L	8	1	12.5	0	0	3	37.5	4	50.0

MS + Ag0.8% + Su3% + IAA0.5mg/L + K ₂ mg/L	22	5	22.7	0	0	2	9.0	7	31.8
---	----	---	------	---	---	---	-----	---	------

• 供试材料：视察15×69(9)6；视察15×71(19)6；

矮丰3号×Chapingo74；矮丰4号×高秆大穗；

郑六矮×71(20)8—8—10；视察15×肖村大粒

表中资料说明，不补加动力精与异生长素，小麦花药愈伤组织亦可分化，且分化率不比加有动力精与IAA者为低。可见小麦花药愈伤组织再分化时，外源激素并非必不可少的条件。低浓度的IAA对愈伤组织分化成苗并无提高效果，但对促进根分化却明显有利，动力精与IAA的共同作用下，对愈伤组织分化成苗似亦无促进效果。

(3) 甘酪素对再分化的效率：再分化培养基中加进甘酪素对小麦花药愈伤组织的再分化几无效果，但对绿苗分化稍为有利(图2)。

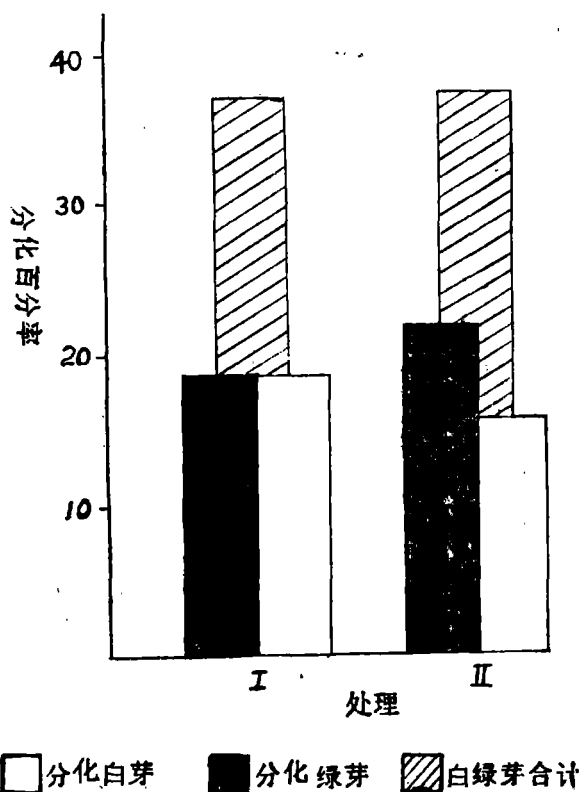


图2 甘酪素对小麦愈伤组织分化的效果

注：基本培养基为MS + 琼脂0.8% + 蔗糖2% + NAA1毫克/升 + K₁毫克/升
处理I为对照不加甘酪素；处理II加甘酪素300毫克/升

3. 愈伤组织的分植转移及分化

分植愈伤组织有两个目的,一是对一些转移后长期不予分化而已老化的愈伤组织进行分植并转移于新鲜培养基上,视其能否恢复再分化能力。表12资料列举了部分体积增大且已老化愈伤组织分植转移培养的情况。

分植转移的18个材料的258块愈伤组织分化绿苗者14块、白苗者8块、根13块,总分化率13.5%。结果说明,对已老化的愈伤组织进行分植转移培养,还可以恢复分化能力,但与正常愈伤组织的分化频率相比,显然分化频率为低。促使再分化用了四种培养基,然而究竟用何种培养基为好,尚没有得到明显的结果。分化频率低的原因可能与老化愈伤组织不易分化有关。另外,1977年在分植愈伤组织时适逢7—8月高温,室温一般在31—39℃,虽然我们将培养瓶置于盛自来水的瓷盘中降温,但温度仍在30℃以上,盛夏高温显然对分化产生了抑制作用。

表11

愈伤组织的分植转移及分化

培养基代号	F ₁ 分 化 情 况									F ₂ 分 化 情 况										
	分植		绿芽		白芽		根		合 计		分植		绿芽		白芽		根		合 计	
	愈组数	块数	%	块数	%	块数	%	块数	%	愈组数	块数	%	块数	%	块数	%	块数	%	块数	%
R—1	33	1	3.0	0	0	2	6.1	3	9.1	8	11	2.5	0	0	2	25.0	3	37.5		
R—2	46	3	6.5	1	2.2	2	4.4	6	13.1	9	0	0	0	0	1	11.1	1	11.1		
R—3	57	3	5.3	1	1.8	3	5.3	7	12.3	12	1	8.3	0	0	1	8.3	2	16.7		
R—4	82	5	6.1	6	7.3	0	0	11	13.4	11	0	0	0	0	2	18.2	2	18.2		
总 计	218	12	5.5	8	3.7	7	3.2	27	12.4	40	2	5.0	0	0	6	15.0	8	20.0		

注: R—1 MS + Ag0.8% + Su2% + IAA2mg/L + K4mg/L

R—2 MS + Ag0.8% + Su2% + IAA2mg/L + K2mg/L

R—3 MS + Ag0.8% + Su2% + IAA0.5mg/L + K2mg/L

R—4 MS + Ag0.8% + Su2% + NAA1mg/L + K1mg/L + CA300mg/L

结 语

1. 小麦不同材料遗传型差异对于诱导花药愈伤组织和再分化成苗率具有很大影响。不同遗传型材料愈伤组织诱导率的差异,可能与不同品种与材料对培养条件的要求与反应不同有关。这种反应在杂种材料上不仅因参与品种的遗传型,而且似与参与品种双方的遗传型的配合状况有关。愈伤组织诱导频率高的组合,在某些材料上再分化成苗率亦高。然而,愈伤组织诱导的难易与再分化率的高低并无绝对相关。

2. 小麦白化体出现的情形极为多样, 形成白化体的原因亦极复杂。从我们试验的初步结果看, 影响白绿苗分化的因子中, 遗传型差异具有十分重要的影响。

3. 培养基中一定浓度的蔗糖对小麦花药愈伤组织及花粉植株的诱导具有很重要的作用。培养基中不加蔗糖也能诱导出愈伤组织, 但频率很低。随着培养基中蔗糖浓度的增加, 愈伤组织诱导率有逐渐增加趋向, 蔗糖浓度达到10%—12%, 两者之间无明显差异。不同蔗糖浓度培养基所产生的愈伤组织在分化绿白苗上没有出现 Clapham 在大麦试验上所发现的结果。

4. 在不含铁盐的培养基上也产生了愈伤组织但诱导率极低。微量铁盐即显著提高愈伤组织诱导频率, 在本试验铁盐浓度范围内不同的各处理之间, 没有明显的差异。

5. 不同材料在同一培养基上反应不同, 同一材料在不同培养基上反应也不同。这种情况说明不同材料对培养基的反应敏感性不同。反应敏感的材料对培养基专属性要求甚严, 反应不甚敏感的材料对培养基专属性要求不严, 也易于诱导。

6. 愈伤组织在原分化培养基上也能分化, 但不利于根的生长, 分化率也低。而以含3—6%蔗糖的培养基为好。

7. 动力精与生长素类物质对小麦花药愈伤组织分化并非必不可少, 不附加这类物质, 小麦愈组亦能分化且不比加有该类物质者为低。低浓度 IAA 对愈伤组织分化成苗并无促进作用, 但对促进生根却明显有利。

8. 老化愈伤组织经分植转移培养, 能以恢复再分化能力, 但较正常愈伤组织分化频率为低。

参 考 文 献

1. 广东省植物研究所遗传研究室, 1977, 基本培养基及附加成分在诱导籼稻花药产生愈伤组织及根芽分化中的作用《单倍体育种资料集》第三集50—64。

2. 朱至清、王敬驹、孙敬三、钱南芬、尹光初、徐振, 1973, 小麦 (*Triticum vulgare*) 花粉植株的诱导及其形态发生过程的研究。《植物学报》15, 1—11。

3. 兰州大学生物系细胞研究室、甘肃农业大学基础课教研组协作小组, 1975, 小麦花粉植株诱导条件的研究《遗传学报》, 2 (4), 302—310。

4. 潘景丽等, 1975, 影响小麦 (*Tr. vulgare*) 花粉植株诱导频率的几种因素, 《植物学报》17 (2), 161—166。

5. 北京植物所、黑龙江农科院作物所、松花江地区农科所水稻站单倍体育种协作组, 1977, 用单倍体育种法育成水稻新品种“单丰一号”的研究报告, 《单倍体育种资料集》第三集, 6—20。

6. 中国科学院遗传研究所三室一组, 1977, 小麦花粉植株的诱导因素和遗传学表现的研究, 《单倍体育种资料》第三集, 65—81。

7. 孙敬三等, 1974, 水稻白化苗质体的亚显微结构, 《中国科学》(6), 627—634。

8. 欧阳俊闻、胡含、庄家骏、曾君祉, 1973, 小麦花粉植株的诱导及其后代观察, 《中国科学》, (1), 72—82。
9. 王敬驹、孙敬三、朱至清, 1974, 水稻花粉植株的诱导条件及影响诱导频率的某些因素《植物学报》(1) 43—53。
10. 王敬驹、朱至清、孙敬三, 1977, 《植物学报》(19) 190—199。
11. 王敬驹、孙敬三, 1978: 花粉白苗研究, 《花药培养学术讨论会文集》1977, 141—150。
12. 梁志成、邹韵霞、陈婉萌, 1978, 水稻花粉愈伤组织和白化苗的亚显微结构研究, 《花药培养学术讨论会文集》1977, 155—159。
13. 张玉麟、王镇圭、过全生、梁竹青、覃莲祥、陈秀云, 1978, 碳源对水稻花粉愈伤组织绿苗分化率的影响, 《花粉培养学术讨论会论文集》1977, 274—275。
14. 魏亚球, 1978, 水稻花粉白苗与绿苗矿质成分的比较, 《花药培养学术讨论会论文集》1977, 235—236。
15. 新关宏夫, 1969, 《遗传》23(1):56—62
16. 细田友雄, 1973, 《育种学杂志》23: 213—215
17. Clapham, D. 1973, Haploid *Hordeum* plants from anther *in vitro*, *Z. Pflanzenzuchtg*, 69: 142—155。
18. Devreux, M. 1970, New possibilities for the *in vitro* cultivation of plant cells. *sci. Tech. Rev. Euro Comm*, 69: 105—110
19. Kimata, M. and S. Sakamoto, 1972, Production of haploid albino plants of *Aegilops* by anther Culture. *J. Genet*, 47: 61—63。
20. Niizeki, H. and K. Oono, 1968, Induction of haploid rice Plant from anther culture. *proc. Jap. Acad. Sci*, 44: 554—557。
21. Nakata, K. and M. Tanaka, 1968, Differentiation of embryoids from developing germ cells in anther Culture of tobacco. *JaP. J. Genet*, 43: 65—71。
22. Sunderland, N. 1973, pollen and Anther Culture, 《Plant Tissue and Cell Culture》205—240。
23. Reinert, J. and Y. P. S. Bajaj, 1977, Haploid production and Its Significance, 《Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and organ culture》251—264。