

小麦花药培养中的密度效应研究

王付欣, 陈耀锋, 王惠萍, 任慧丽, 韩德俊, 李春莲

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 采用不同培养容器和接种密度进行小麦花药培养, 研究了小麦花药培养中的密度效应。结果表明, 小麦花药培养中的愈伤组织诱导效率与培养容器大小无关, 与花药接种密度显著相关; 当花药密度达到一定范围之后, 能够显著提高小麦花药培养中愈伤组织的诱导频率。在密度为 4.8 和 6.4 枚/mL 时, 小麦花药组织反应率、愈伤组织诱导率和 ACRC 值均比在 0.8~3.2 枚/mL 下显著提高。

[关键词] 花药培养; 密度效应; 愈伤组织; 诱导频率; 小麦

[中图分类号] S5035.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)01-0041-03

花药培养作为诱导作物单倍体的一种主要手段, 自 1964 年印度学者 Guha 和 Maheshwari 建立以来, 一直受到遗传育种界的关注, 随着广泛的研究及技术改进, 一些主要作物如小麦、大麦、水稻、烟草等材料的花培效率已达到了应用水平^[1], 但受基因型的影响, 一些材料的花药培养效率仍然很低。因此, 寻求作物花药培养的最佳外界条件, 进一步提高作物花培效率, 是目前乃至今后作物花药培养的一个主要研究内容。花药培养的密度效应在烟草、水稻、大麦花药培养中已有一些研究^[2,3]; 陈耀锋等^[4]对小麦花药培养中接种密度效应问题进行了初步研究; Dunwell^[5]研究了培养皿内气体体积不同所造成的影响, 从而引起人们注意在花药培养中培养器皿的类型、大小、培养基的体积。小麦是主要的粮食作物, 通过花药培养进行小麦单倍体育种已成为一种新的辅助育种手段, 但目前还未见到花药密度与培养容器对小麦花培效率影响的系统报道。本研究采用两种基因型的小麦材料, 研究了同一培养条件下, 培养容器和接种密度对小麦花药愈伤组织诱导效率的影响, 旨在进一步改善小麦花药培养条件, 提高小麦花药培养效率。

1 材料与方法

材料 供试材料为西北农林科技大学细胞工程室大田种植的普通小麦杂种 1 代苏麦 3 号 × C86-113 和复交 1 代[苏麦 3 号 × 丰-2] × 抗盐 0₃。

方法 小麦花药培养的诱导培养基为 W₁₄ +

2, 4-D 2 mg/L + KT 0.5 mg/L + Su 9% + Ma 1% + Ag 0.7%。试验在 50 mL (25 mL 培养基) 和 100 mL (50 mL 培养基) 三角瓶中进行, 设置 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.8, 6.4 枚/mL 6 种花药接种密度, 以比较 2 种基因型材料在 2 种培养容器和 6 种花药密度下花药愈伤组织的诱导效率。所有处理均在接种后置散光下培养, 出愈伤组织后, 统计分析不同处理小麦花药组织反应率(产生愈伤组织的花药数/接种花药数 × 100%), 愈伤组织诱导率(产生愈伤组织数/接种花药数 × 100%) 及 ACRC 值(每瓶平均诱导愈伤组织数/每瓶平均反应花药数)。

2 结果与分析

2.1 接种密度对花药愈伤组织诱导效率的影响

在含 25 mL 培养基的 50 mL 的三角瓶中, 研究了两种基因型材料在 4 种密度条件下的小麦花药愈伤组织诱导率。结果(图 1)表明, 虽然两个 F₁ 代材料在诱导小麦花药反应率、愈伤诱导率方面不同, 但它们有一个共同的趋势, 即在平均 1.6 和 3.2 枚/mL 下, 小麦花药培养效率和 ACRC 值差异不明显; 在平均密度为 4.8 和 6.4 枚/mL 下的花培效率也相近, 而后两种密度比前两种密度的花药培养愈伤组织诱导效率有显著地提高。表明花药密度对小麦花药愈伤组织的诱导效率有显著地影响, 并有一定的阈值, 超过这个阈值, 将能显著地提高小麦花药愈伤组织的诱导效率。

[收稿日期] 2000-06-21

[基金项目] 陕西省科委攻关项目(2000 K07-G1-01)和杨凌农业生物技术中心资助项目(99-8)

[作者简介] 王付欣(1974—), 女, 在职硕士研究生, 现在河南省农业科学院经济作物研究所工作, 450000。

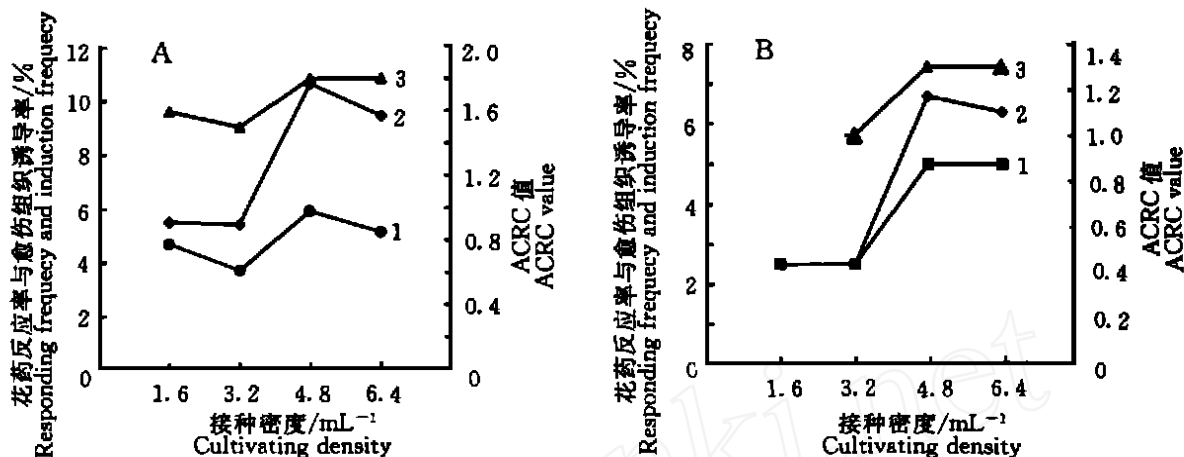


图 1 接种密度对小麦花药培养效率及 ACRC 值的影响

A. (苏麦 3 号 × 丰 α2) × 抗盐 O3; B. 苏麦 3 号 × C₈₆₋₁₁₃; 1. 花药反应率; 2. 愈伤组织诱导率; 3. ACRC 值

Fig 1 Effect of culturing densities on ACRC and wheat anther culture frequency

A. (SumaiNo. 3 × Feng α2) × Kangyan O3; B. SumaiNo. 3 × C₈₆₋₁₁₃; 1. Responding frequency of wheat anthers

2. Induction frequency of wheat anther callus; 3. Value of ACRC

2.2 不同培养容器对小麦花药培养的效应

将小麦杂种苏麦 3 号 × C₈₆₋₁₁₃F₁ 代花药按不同密度接种在含 25 mL 培养基的 50 mL 体积的三角瓶和含 50 mL 培养基的 100 mL 体积的三角瓶中, 研究了培养容器及花药密度双重效应。结果表明(表

1), 0.8~3.2 枚/mL 的小麦花药组织反应率和愈伤组织诱导率相近, 4.8~6.4 枚/mL 的小麦花药组织反应率和愈伤组织诱导率相近。但两组之间的花药反应率和愈伤组织诱导率差异显著。

表 1 不同培养容器和接种密度对小麦花药培养愈伤组织诱导效率的影响

Table 1 Effect of containers and densities on the induction frequency of callus of wheat anther culture

组合 Crosses	容器 Container	接种密度 Cultivating density		接种总花药数 No. of anthers plated	花药反应率/% Responding anther	愈伤组织诱导率/% Induction frequency of pollen callus
		枚/mL No. per mL	枚/瓶 No. per bottle			
苏麦 3 号 × C ₈₆₋₁₁₃ SumaiNo. 3 × C ₈₆₋₁₁₃	25 mL 培养基 Medium	1.6	40	40	2.5	2.5
		3.2	80	80	2.5	2.5
	50 mL 体 积 Container	4.8	120	120	5.0	6.7
		6.4	160	160	5.0	7.3
	50 mL 培养基 Medium	0.8	40	200	2.0	2.0
		1.6	80	400	1.8	2.0
		2.4	120	600	1.5	1.8
		3.2	160	480	1.7	2.1
	100 mL 体 积 Container	4.8	240	960	4.9	7.1
		6.4	320	1 280	4.7	6.8

表 2 不同密度下的花药愈伤组织诱导率 SSR 测验结果

Table 2 The result of SSR experiment of the induction frequency and responding anthers of callus of culture at diverse densities

接种密度/ (枚 · mL ⁻¹) Cultivating density	(平均) 愈伤诱 导率/% (A verage) induction frequency of pollen callus	差异显著性 Level of difference		接种密度/ (枚 · mL ⁻¹) Cultivating density	(平均) 花药反应率/% (A verage) responding anthers	差异显著性 Level of difference	
		0.05	0.01			0.05	0.01
4.8	6.90	a	A	4.8	4.95	a	A
6.4	6.55	a	A	6.4	4.85	a	A
3.2	2.30	b	B	1.6	2.15	b	B
1.6	2.25	b	B	3.2	2.10	b	B

对苏麦 3 号 × C₈₆₋₁₁₃ 在两种容器 4 种密度下的 花药愈伤组织诱导率和花药反应率分别做两向分组

资料的单一观察值方差分析, F 测验结果表明, 对于花药愈伤组织诱导率容器间差异不显著, 不同密度处理差异极显著 ($F > F_{0.01}$)。对于花药反应率容器间差异在 0.05 水平上显著 ($F > F_{0.05}$), 不同密度处理差异极显著 ($F > F_{0.01}$)。对不同密度处理下的花药愈伤组织诱导率和花药反应率的平均值做 SSR 比较(表 2), 在 4.8, 6.4 枚/mL 接种密度下, 花药愈伤组织诱导率无显著差异, 3.2, 1.6 枚/mL 接种密度下, 花药愈伤组织诱导率无显著差异, 但两组之间存在着极显著的差异。

3 讨 论

花药培养中的接种密度在过去很少受到人们注意, 忽视花药培养密度的原因在很大程度上与花药培养技术本身的发展有关。花药培养技术大部分来自于茄科植物的研究, 其中对培养反应最好的一些植物的花药均比较大; Fouletier 和 Michelböh 最早在水稻和 *Prunus* spp 的花药培养中观察到密度效应, 许智宏和 N. Sunderland^[2] 采用液体小体积培养法对大麦花药培养的密度效应进行了系统研究, 表明在大麦花药漂浮培养中, 为获得大量的花粉愈伤组织, 用已经低温处理的单核中期花药, 接种密度至少需要 60 枚/mL。小麦与大麦的花药都较小, 因而研究小麦花药培养的密度效应, 就显得十分重要。本试验采用两种基因型的小麦材料, 分别进行了接种密

度效应研究, 虽由于基因型的不同造成两者的培养效率有差异, 但接种密度试验有一致的结果, 表明在 1.6, 3.2, 4.8, 6.4 枚/mL 4 种接种密度下, 用较高的接种密度能够显著的提高小麦花粉愈伤组织诱导率和花药反应率。作者认为, 在高密度条件下, 培养花药本身足以使所用的培养基条件化, 即在短时间内释放出足够量的条件因子, 促进花粉细胞的发育并形成花粉愈伤组织。

以前很少有人注意到花药培养中培养器皿的类型、大小或培养基的体积与诱导率的关系, Dunwell^[5] 首先注意到培养器皿内气体体积不同所造成的影响, 他在琼脂培养基上培养烟草花药, 发现器皿大小、培养基的体积和花药的数目之间存在着一种明显的相互关系。本试验用两种类型的器皿研究了同一小麦品种的接种密度效应, 结果表明, 小麦花药培养愈伤组织诱导效率在接种密度相同的情况下与容器大小没有显著相关性, 小麦花药反应率在容器间差异无显著相关性, 而花药密度是影响小麦花药愈伤组织诱导效率和花药反应率的主要因素, 这和 Dunwell^[5] 在烟草上的结论不同。作者认为, 这是由于花药体积较小且较难培养的小麦花药与花药体积较大易培养的烟草花药相比, 高密度小麦花药组织在培养过程中引起的培养基的条件化比容器间效应更为重要。

[参考文献]

- [1] 福建省农业科学院单倍体育种组 关于花药诱导的聚集效应问题[A] 花药培养学术讨论会文集[C] 北京: 科学出版社, 1977, 273- 274
- [2] 许智宏, Sunderland N. 大麦花药培养中的密度效应[J] 中国科学(B 辑), 1982, (9): 807- 814
- [3] Saran L. Roberts-Oehlschager, James M. R. Barley anther culture Pretreatment on mannitol stimulates production of microspore derived embryos [J] Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1990, (20): 235- 240
- [4] 陈耀锋, 朱庆麟 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] Dunwell J M. Anthers culture in *Nicotiana*: the role of culture vessel atmosphere in pollen embryo induction and growth[J]. EXP Bot, 1979, (30): 419- 428

Study on the effect of density of wheat anther culture

WANG Fu-xin, CHEN Yao-feng, WANG Hui-ping, REN Hui-li, HAN De-jun, LI Chun-lan

(College of Agronomy, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The effect of density of wheat anther culture was studied with diverse containers and cultivating densities. The result showed that the induction frequency of pollen callus was irrelevant to the volume of culture containers, and highly related to the density of pollens. The frequency of pollen callus induction could be obviously improved in the condition of anther density over certain extent. Responding anthers, induction frequency of pollen callus and data of ACRC of 4.8 and 6.4 anther density per mL were higher than that of 0.8- 3.2 anther density per mL.

Key words: anther culture; the effect of density induction; pollen callus; induction frequency; wheat