

提高冬小麦花粉试管苗 H_1 穗系产率的新方法

王 培 陈玉蓉

(河北省农林科学院粮油作物研究所, 石家庄 050031)

摘 要 将 2~3 片真叶的花培无根苗转入 MS+MET 3.0mg/L+NAA 0.5mg/L+KT0.5mg/L+蔗糖 8% 的壮苗培养基, 4 个月后和不加 MET 的相比植株变矮, 分蘖和根系增多, 每管苗平均栽 1.55 丛。秋季, 当大气温度(日均温)下降到 6℃ 时, 将试管苗栽于田间, 盖上塑料薄膜, 成活率达 98.2%。当早春气温(日均温)回升到 2~3℃ 时, 揭去塑料膜, 自然加倍的植株单株成穗 9.1 个, 结实 249.7 粒, 穗粒数 27.4 粒, 分别是温室自然加倍的 3.37、6.05 和 1.86 倍。田间自然加倍和人工加倍相结合每百株成穗 289 个, 比自然加倍成穗数高 12.9%, 比人工加倍成穗数高 91.8%。

关键词 冬小麦 花药培养 试管苗 结实穗数

冬小麦花培新品种的相继育成(京花 1 号、京花 3 号、花 28、花 555)^[1~4], 展示了花培在改良作物品种方面的广阔前景。细胞学和花粉植株的遗传研究业已证明, 用杂种花粉育种的植株, 加倍后为纯合二倍体, 其后代 90% 左右基本整齐一致^[5~7]。冬小麦花粉 H_1 穗系产率低(对于花培纯系, 本文以穗系为单位), 后代群体小, 严重影响了这一技术的应用。关于提高花粉植株试管苗穗系结实率的研究尚未见到专文报道。近年来我们研究了影响花粉植株试管苗穗系产率的因素, 找到了大幅度提高穗系产率的有效方法, 现报道如下。

1 材料和方法

试验材料 选用普通冬小麦 F_1 花粉诱导出的 H_1 无根试管苗和 C_{17} ^[8]、MS 培养基。

花粉植株的诱导 供接种的 F_0 小麦种子于 10 月初自然条件下适时播于本所试验地, 不控制生长, 4 月下旬选取单核中晚期的麦穗, 在无菌条件下将花药接种在培养基上。诱导愈伤组织的培养基为 C_{17} +2,4-D2.0mg/L+KT0.5mg/L+蔗糖 9%, pH5.8。在 28~30℃ 条件下暗培养。愈伤组织分化绿苗的培养基为 C_{17} +KT0.5mg/L+NAA0.5mg/L+LH500mg/L+蔗糖 3%, pH5.8。在 25~26℃ 条件下培养, 每天日光灯照明 10~12 小时。

壮苗 分化培养基诱导出的花粉再生植株。长出 2~3 片真叶时分别转入 (A)MS+MET3.0mg/L+NAA0.5mg/L+KT0.5mg/L+LH500mg/L+蔗糖 8%, pH5.8 和

(B) MS+NAA0.5mg/L+KT0.5mg/L+LH500mg/L+蔗糖 8%,pH5.8 二种壮苗培养基上,每管只转入一丛苗,在 22~25℃ 条件下培养,诱导出根系后及时将试管苗转入 3~8℃ 低温弱光条件下保存,秋季移栽时将绿苗从试管内取出,调查其株高、每管茎数和根条数。

土壤 栽苗的田间土壤为轻壤质石灰性褐土,有机质含量为 2.3~2.5%,全氮 0.113~0.131%,碱解氮 $68\sim 85\times 10^{-6}$,有效磷 (P_2O_5) $105\sim 110\times 10^{-6}$ 。花盆土为菜园土、腐熟马粪(全氮 1.763%、有效磷 (P_2O_5) 2966.3×10^{-6} 、碱解氮 1416.3×10^{-6})和细砂按 3:0.5:1 配比的混合物混匀,装盆后浇足水,待土壤水分适宜时中耕备用。温室为玻璃全日光,有暖气。

2 结果与分析

2.1 MET 对花粉试管苗成株率的影响

将 2~3cm 高的无根苗转入壮苗培养基(A)上培养 30 天,结果,每株根数比不加 MET 的增多 3.5 条,生根率提高 17.8%。说明 MET 能明显抑制花粉试管苗株高的生长,越夏的小麦花粉试管苗在不含 MET 的培养基上,一般株高可达 10~12cm,幼苗细弱移栽时基部干枯叶多,栽后茎秆软容易倒伏。在壮苗培养基中附加 MET3mg/L 时,一般株高只有 5~6cm,比不附加 MET 的矮一半左右, MET 显著抑制了花粉试管苗株高的生长。

用 NAA 或 IAA 壮苗的花粉试管苗,秋季移栽时一般一管苗只栽一丛。经 MET 和 NAA 共同壮苗的花粉植株试管苗其分蘖显著增多,从试管取出用清水冲洗时散成若干丛。1991 年移栽 242 管苗共栽苗 375 丛,平均每管苗分为 1.55 丛。有的试管苗达 30 多个蘖,这种多蘖苗移栽到一起不仅因拥挤生长发育不好,而且栽后有的蘖的根和土壤接触不好成活率低,因此分为 5~6 丛苗栽于田间,可大大提高试管苗的成活率,为每管花粉试管苗多成穗、多结实奠定了基础。

2.2 栽苗环境对试管苗成穗的影响

1989 年以来连续三年进行了花粉试管苗直接栽到田间的试验,其方法是前茬玉米收获后及时整地,施入充分腐熟的马粪和细砂,浇足底墒水,待土壤水分适宜时浅耕移栽。秋季,当气温(日均温)下降到 6℃ 时进行移栽,栽前将试管苗闭管在栽苗环境条件下练苗 5~7 天,然后栽入田间,栽后用竹竿搭成高 70~80cm、长 500~600cm、宽 300cm 的塑料薄膜棚,第二年气温上升到 2~3℃ 时,揭开塑料薄膜,调查结果表明,直接栽入田间的移栽成活率达 98.2%,比对照栽入花盆及时浇水并扣烧杯的成活率 59.4% 高 65.3%。经 χ^2 统计,栽于田间搭塑料棚的移栽成活率极显著的高于栽花盆扣烧杯的。

石家庄最冷的气温在 1 月上、中旬。据观察,整个冬季早 7 点和下午 2 点塑料棚内的平均气温基本在 0℃ 以上,如 1991 年 1 月,棚内 3℃ 以上的平均气温累积为 32.5℃ (图 1),因此生长在塑料棚内的植株是绿苗越冬,最冷的 1 月份仍不停止生长。(1991 年 1 月份气温比常年偏高),早春揭开塑料薄膜后,仍是适宜分蘖的气温,大大延长了分蘖期,因而栽到田间的花粉植株分蘖多、成穗多(表 1)。结果表明,田间自然加倍的花粉植株,每株平均结实穗 9.1 个,温室花盆自然加倍的植株每株结实穗仅 2.7 个,前者为后者的 3.37 倍。用秋水仙碱人工加倍的单倍体花粉植株,由于受秋水仙碱的毒害,单株结实穗都不多,但田间每

株平均仍有 1.9 个穗结实, 比温室单株成穗 1.8 个提高 5.6%。因此可以认为, 冬小麦花粉植株试管苗秋季气温下降至 6°C 时, 直接栽于田间并及时覆盖塑料薄膜的方法比较好。由于田间的土壤养分、水分等条件较适宜, 分蘖期长, H_1 穗系的生产率大幅度地提高。

2.3 不同加倍方法对花粉植株结实穗系的影响

自然加倍 花药愈伤组织在培养过程中部分愈伤组织发生自然加倍, 根据多年资料统计, 自然加倍率一般在 20~30% 之间。1991 年对田间 344 株花粉植株观察有 97 株结实 880 穗, 自然加倍率 28.2%, 折合每百株花粉植株自然加倍结实 256 穗 (表 2)。

人工加倍 对移栽于田间成活的 115 株 H_1 花粉植株不进行倍性鉴定, 全部进行人工加倍, 结果有 81 株结实 155 穗, 折合每百株有 135 穗结实。

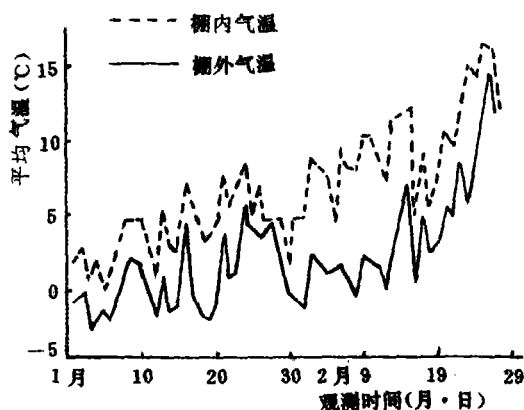


图 1 1992 年 1-2 月份棚内外平均气温图

表 1 栽培环境对 H_1 单株结实穗的影响

栽培环境	加倍方法	单株穗数 (个)	单株粒数 (个)	穗粒数 (个)
田间土壤	自然加倍	9.1	249.7	27.4
	人工加倍	1.9	21.9	11.7
温室花盆	自然加倍	2.7	41.3	14.9
	人工加倍	1.8	19.8	10.6

表 2 不同加倍方法对 H_1 百株结实穗数的影响

加倍方法	百 株 结 实 穗 数 (个)		
	自然加倍	人工加倍	合 计
自然加倍	256	-	256
人工加倍	-	135	135
自然+人工	230	59	289

自然加倍和人工加倍相结合 对栽于田间成活的 100 株 H_1 代花粉植株, 在分蘖盛期观察叶片保卫细胞长度在 65μ 以上^[9], 断定为二倍的有 28 株, 结果有 25 株结实 230 穗, 对保卫细胞长度在 64μ 以下断定为单倍体的植株进行人工加倍, 结果有 31 株结实 59 穗, 二者合计共收获 289 个穗, 比只依靠自然加倍 H_1 结实穗数高 12.9%, 比只进行人工加倍 H_1 结实穗数高 114.1%。采用自然加倍和人工加倍相结合的方法比仅靠自然加倍或仅依靠人工加倍二者平均提高结实率 47.8%, 经 χ^2 统计采用自然加倍和人工加倍相结合的方法, 其 H_1 的结实穗系极显著地高于另外二种方法, 因此可以认为, 采用自然加倍和人工加倍相结合的

方法是日前最可取的加倍方法。

3 讨论

上述结果表明, MET 壮苗的小麦花粉试管苗的株高下降, 根和蘖增多, 栽于田间的花粉 H_1 自然加倍和人工加倍相结合, 每百株花粉植株结实穗, 是温室自然加倍和人工加倍结实穗的 2.37 倍, 比田间自然加倍提高成穗率 23.1%, 比田间人工加倍提高成穗率 133.3%。其原因可能有如下几点:

1. MET 壮苗的花粉试管苗, 植株较矮, 茎秆变粗, 叶片变短变厚, 根多且短粗, 在其生长发育过程中, 由于物理作用使新生蘖离开愈伤组织, 因而分散性好, 成苗多。胡含^[6]观察到染色体单体平行分离图象, 这种分离现象是核内有丝分裂的结果, 它造成了细胞的染色体加倍, 其加倍率为 18.52%。而本试验结果自然加倍结实率为 28.20%。一般, 在小麦花粉植株中有 71.80~81.48% 的单倍体植株因不进行人工加倍未结实而被白白浪费掉。我们应用保卫细胞鉴定倍性^[9], 保证了自然加倍植株的正常结实, 又将单倍体植株进行人工加倍, 使部分穗子结实, 因此这种自然加倍和人工加倍相结合的方法比自然加倍结实率高。

2. 花粉植株不进行倍性鉴定, 全部用秋水仙碱加倍处理, 由于秋水仙碱对小麦花粉植株的毒害, 造成部分已自然加倍株的死亡, 即是没有死亡的植株, 生长势变弱, 分蘖减少, 成穗也少, 因此全部进行人工加倍结实穗数就少。

3. 日前用电没有保障, 温室的温度难于调控, 是温室花粉植株生长不好的基本原因。将花粉植株栽于田间, 简单易行, 营养适宜, 苗壮蘖多, 成穗率高, 因此认为将花粉试管苗直接栽于田间, 自然加倍和人工加倍相结合, 是提高花粉试管苗穗系产率的一项有效方法。但单倍体植株的加倍技术仍需继续研究。

参 考 文 献

- 1 胡道芬等. 植物细胞工程——冬小麦花培新品种京花1号的育成. 中国科学B辑, 1986(3):283~292
- 2 胡道芬等. 冬小麦花培新品种京花3号的育成. 见:植物细胞工程与育种. 北京工业大学出版社, 1990. 1~5
- 3 和现昌等. 细胞工程育成花28小麦性状分析及应用. 见:植物细胞工程与育种. 北京工业大学出版社, 1990, 120~124
- 4 王培等. 应用花药培养育成抗旱耐瘠的冬小麦新品系. 河北农学报, 1985(2):5~8
- 5 胡含等. 小麦花粉植株的遗传学研究. 遗传学报, 1979(6): 322~330
- 6 胡含等. 小麦花粉植株和愈伤组织细胞染色体的变异. 见:花药培养学术讨论会文集. 北京:科学出版社, 1977, 166~172
- 7 欧阳俊闻等. 小麦花粉植株的诱导及其后代的观察. 中国科学, 1973(1): 72~82
- 8 王培等. C_{17} 培养基在小麦花药培养中的应用研究. 植物学报, 1986, 28(1): 38~45
- 9 王培等. 小麦花粉植株中保卫细胞长度的分布. 华北农学报, 1989, 4(3): 6~10

A New Method for Increasing Spikes Seed-setting Rate of Tube Shoots of H_1 From Anther Culture in Winter Wheat

Wang Pei Chen Yurong

(Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agricultural

and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031)

Abstract The rootless plantlets of anther cultural wheat with 2–3 main leaves were transplanted on the MS medium of hardening plantlets containing Bio–MET 3mg / L, NAA 0.5 mg / L, KT 0.5 mg / L and 8% sucrose. After four months, the height of plants cultured in this medium was lower and number of their tillers and roots was more than that cultured in medium without Bio–MET. The shoots per tube were planted into 1.55 hills, on the average. When the temperature declined at about 6°C in autumn, the tube shoots were transplanted in the field covered by plastic film, then the survival rate was 90.2%. When the temperature rose to 2–3°C in early spring, the plastic film was removed, and the number of seed-setting spikes per plant which doubled naturally was 9.1, the number of seeds per plant was 249.7 and the number of seeds per spike was 27.4. They were 3.37, 6.05, 1.86 times as much as those of the plants which doubled naturally in the greenhouse, respectively. The number of seed-setting spikes per 100 plant combining doubling naturally with double manually was 289, increased 12.9% and 91.8%, compared with those doubling naturally and doubling manually, respectively.

Key words: Winter wheat; Anther culture; Tube shoot; Seed-setting spikes