

冬小麦花药愈伤组织再分化的研究

王 培 陈玉蓉

(河北省农林科学院农作物研究所)

应用花药培养进行单倍体育种是有效的育种方法。近年来小麦花培技术有较大进展，特别是去分化培养和加倍技术有较大提高。但对花药愈伤组织的再分化报道较少。1977—1980年我们对影响花药愈伤组织的再分化因素做了一些试验研究，简报如下。

一、材料和方法：

供试材料是普通小麦杂种一代经花药培养产生的愈伤组织。一组10月上旬适期播种，4月下旬选穗接种。另一组2月中旬先将种子浸水催芽，萌动后顶凌播种，5月中旬选穗接种。选穗的标准为单核中晚期。从产生第一块愈伤组织（接种花药后第15—20天）起，每隔1—2天调查一次出愈日，日龄试验则逐日调查。出愈标准为用肉眼见到花药上长出0.2—0.3毫米左右的粒状物时，除日龄试验外，一般10天左右转移。

接种后的花药1979年放置在温度为26—31℃、1978年放置在20—25℃有散光或无光的培养室内培养。1980年设计了五种去分化培养温度试验：21±1℃、25±2℃、28±0.5℃、31±1℃、33±1℃。愈伤组织分化绿苗的温度为24—28℃。每日用日光灯照明8—12小时。用200×30毫米的试管，每管转1—3个花药愈伤组织，然后放置培养室培养。

二、试验结果：

（一）花药离体前的栽培环境对花药愈伤组织的诱异率和再分化频率有很大影响。从表1看出1978年适时秋播麦在C培养基上有856个花药产生愈伤组织，适时转移到MS

表1 不同栽培条件对绿苗分化率的影响 1978年

年 份	培养基	培养条件	接种花 药(个)	出愈花 药(个)	绿色幼苗		绿苗占 花药%
					丛	分化 %	
1977	N ₆	适时秋播	40745	504	87	17.3	0.21
		顶凌春播	7374	202	43	21.3	0.58
1978	C	适时秋播	37357	856	121	14.1	0.32
		顶凌春播	22745	946	206	21.8	1.06

分化培养基上诱导出121丛绿苗，绿苗占花药愈伤组织的14.1%，而顶凌麦产生的946个花药愈伤组织，分化出206丛绿苗，绿苗占药愈21.8%，顶凌麦比适时麦提高7.7%。绿苗占花药的百分率顶凌麦为1.06%，适时麦为0.32%。1977年适时麦和顶凌麦花药接种在N₆培养基上也得到类似结果。

在小麦花药培养中，常常只有一部分杂交组合材料能诱导产生愈伤组织或分化绿苗，这就是所谓组合率。如何提高单倍体绿色植株的组合诱导率，使所有杂交组合都获得大量绿苗，这是待解决的问题。表2是1977年和1978年在三种不同生育条件下的出愈

组合率和分化绿苗组合率的试验结果。试验结果说明：（1）顶凌麦、适时麦的绿苗组合率均高于温室麦。（2）1977年在N₆培养基上，顶凌麦分化绿苗的组合率比适时麦提高13.5%。1978年在C培养基上绿苗组合率顶凌麦比适时麦提高32.9%，其趋势一致。（3）1978年在C培养基上，顶凌麦花药愈伤组织分化绿苗组合率高达92.9%。

（二）通过1979年对5个组合的619块愈伤组织观察，接种后培养在26—31℃的温度条件下，第一块愈伤组织出现在接种后的第19

天，20天后逐渐增多，25天达到高峰，40天后显著减少。与1977年在20—25℃的去分化培养温度下相比，出现第一块愈伤组织和愈伤组织出现达到高峰及明显减少的时间均提前5—7天。相同杂交组合在相同的培养条件下，花药愈伤组织的出现也有迟有早。由于在培养过程中花药自身有“幼、青、老、衰”生理变化，因此不同时间产生的愈伤组织也有差异，这种差异对分化率有很大的影响。1979年在26—31℃的去分化培养条件下，不同时间产生的花药愈伤组织与分化率的关系见表3。

表2 不同栽培条件的材料对绿苗组合的诱导效果

年 份	栽培条件	接种组合 (个)	出愈组合 (个)	分化绿苗组合		
				数	%	对比
1977	适时秋播	53	45	22	41.5	100
	顶凌春播	20	17	11	55.0	133
1978	适时秋播	40	40	24	60.0	100
	顶凌春播	28	28	26	92.9	155
	温室秋播	24	21	11	45.8	76

注：再分化培养基1977是MS，1978是C.N₆。

表3

愈伤组织产生早晚对分化的影响

1979年

接种至出愈天数		16—20	21—25	26—30	31—35	36—40	41—45	46—50	51以上
出愈花药数(个)		41	85	233	130	70	22	16	22
分化绿苗	丛	12	26	60	25	5	3	2	2
	%	29.3	30.6	25.8	19.2	7.1	13.6	12.5	9.1
分化白苗	丛	11	12	45	22	16	3	2	1
	%	26.8	14.1	19.3	16.9	22.9	13.6	12.5	4.5
全 苗	丛	23	38	105	47	21	6	4	3
	%	56.1	44.7	45.1	36.2	30.6	27.3	25.0	13.6

注：第一培养基是C₁+KT0.5毫克/升+24-D2毫克/升+蔗糖9%

第二培养基是C₁+IAA0.5毫克/升+KT2毫克/升+蔗糖3%

表3资料表明从产生第一块愈伤组织算起，五天内产生的愈伤组织成苗率高达56.1%，接种后延续时间越晚产生的愈伤组织分化率越低。1978年去分化培养在

20—25℃条件下,不同时间获得的554块花药愈伤组织转移到同一分化培养基上,从产生第一块愈伤组织算起,1—10天,11—20天,21—30天,31—40天,41天以上的绿苗分化率,依次为27.7%、11.2%、9.2%、8.3%和8.7%。两年都是产生愈伤组织越早分化率越高。

(三)1975年对129个药愈和1979年对364个药愈的观察表明:日龄小于五天的愈伤组织,白苗分化率高于绿苗,且全苗率也不高;日龄5至10天的愈伤组织分化绿苗率较高,全苗率也较高。例如1979年的试验,10天日龄的愈伤组织共转移92个药愈,分化绿苗30丛,占药愈的32.6%,白苗20丛占药愈的21.7%,全苗率达54.3%;日龄10天以上的愈伤组织,日龄越长分化率越低;21至25天日龄的愈伤组织绿苗率仅为11.5%,日龄30天以上的共转移11块愈伤组织均没分化出绿苗(见表4)。可见愈伤组织适宜转移的日龄以5—15天较好。需要指出,在非日龄试验中,日龄达30天以上的,部分花药愈伤组织也可以分化绿苗,但频率很低。

表4 日龄对分化的影响 1979年

日 龄	转 移 愈 伤 组织数(块)	分化绿苗		分化白苗		全 苗	
		丛	%	丛	%	丛	%
1—5	58	7	12.1	10	17.2	17	29.3
6—10	155	39	25.2	33	21.3	72	46.5
11—15	97	16	16.5	18	18.6	34	35.1
16—20	17	2	11.8	5	29.4	7	41.2
21—25	26	3	11.5	2	7.6	5	19.2
30以上	11	0	0	0	0	0	0

注:第一培养基是C₁+KT0.5毫克/升+24-D2毫克/升+蔗糖9%,第二培养基是C₁+IAA0.5毫克/升+KT2毫克/升+蔗糖3%。

(四)温度是培养条件之一,不同温度诱导获得的花药愈伤组织对分化存在着显著的有规律的变化。温度越高白苗发生率越高,温度对绿苗率的影响则恰相反,在设计21±1℃至33±1℃五个温度,绿苗分化率随温度的升高有规律的降低(见图1)。以接种花药为单位的绿苗诱导频率则以28±0.5℃最高(见图2)。可见温度高出愈率虽高但绿苗率不高,绿苗总数就不会多;温度低愈伤组织绿苗分化率虽然高但其愈伤组织少绿苗

总数也不会多,在试验的温度范围内,冬小麦的去分化温度以28—30℃较为适宜。

(五)分化培养基中激动素和生长素的含量和比值影响着愈伤组织的再分化。生长素与细胞分裂素的比值高有利于长根,比值低有利于长芽。试验表明,先长芽的多数能形成植株,而先长根的就很难形成植株。据我们试验,动力精与吲哚乙酸的比例以4:1较好,每配制1升培养基以附加动力精2毫克、吲哚乙酸0.5毫克为宜,蔗糖含量以低于第一培养基较好。秋水仙素作为加倍因素在再分化培养基中尚未见到效果,但低浓度的秋水仙素在再分化培养基中有促根壮苗作用。N₆作为再分化培养基诱导出的绿苗,根系生长较好,但分化绿苗率明显低于Ms培养基。我们在1974—1977年基本采用Ms作再分化培养基,虽然分化绿苗率较高,但根系生长不好,约有1/3—1/2的绿苗不长根,苗弱,移栽时不易成活。1978—1979年研究了C₁培养基的再分化效果,结果表明,C₁培

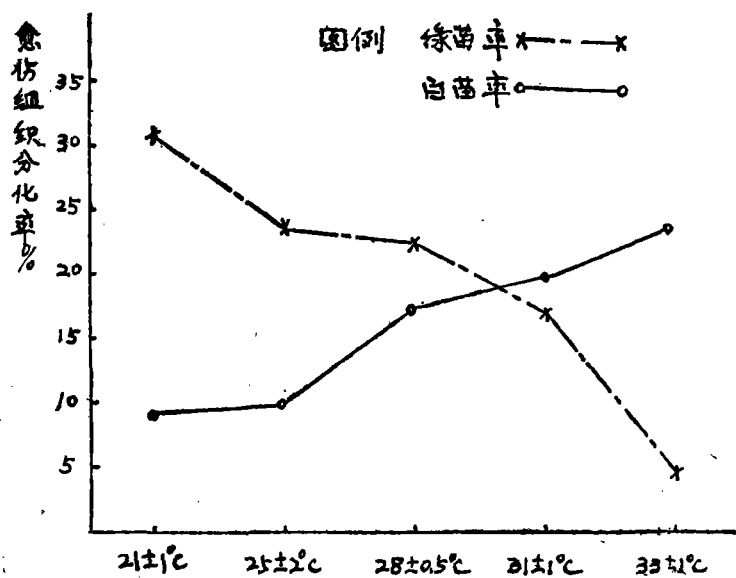


图 1 培养温度对花药愈伤组织分化率的影响

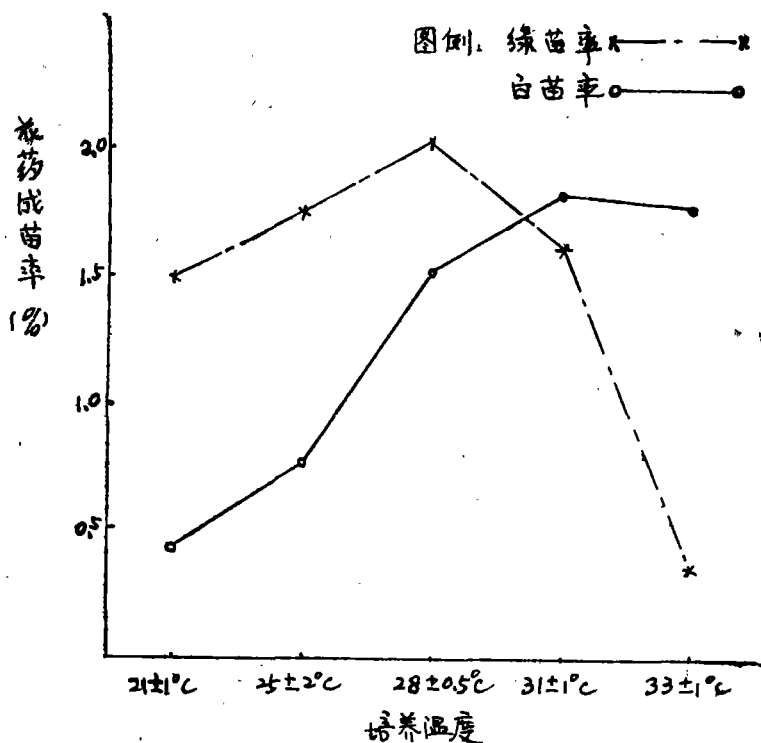


图 2 培养温度对药花成苗率的影响

培养基优于Ms培养基,见表5。

表5 第二培养基对分化绿苗的影响 1978年

第二培养基	转移药数(个)	分 化 绿 苗		分 化 白 苗		全 苗	
		丛	%	丛	%	丛	%
MS ^①	100	22	22.0	15	15.0	37	37.0
C ₁ ^②	88	23	26.1	11	12.5	34	38.6

注: ①MS+IAA0.5毫克/升+KT2毫克/升+LH300毫克/升+秋水仙素3毫克/升+蔗糖3%

②C₁IAA0.5毫克/升+KT2毫克/升+LH300毫克/升+秋水仙素3毫克/升+蔗糖3%

参 考 文 献

- 1、山东省昌潍地区农业科学研究所,小麦单倍体育种研究初报,《植物学杂志》1975, 2(4): 7—8。
- 2、天津市农业科学研究所水稻室、中国科学院遗传所三室二组,应用水稻花药培养水稻花育1号、2号,《遗传学报》1976, 3(1): 19—23。
- 3、尹光初等,用单倍体育种法育成水稻新品种的研究,《中国科学》1976(2) 191—199。
- 4、王敬驹等,花粉白苗研究,《花药培养学术讨论会文集》科学出版社1977, 141—150。
- 5、王培等,冬小麦的不同生育条件对其花粉植株诱导频率的影响,《遗传学报》1980, 7(1) 64—71。
- 6、白守信等,单倍体小麦染色体加倍,《遗传学报》1979, 6(2)230—232。
- 7、朱至清等,通过氮源比较试验建立一种较好的水稻花药培养基《中国科学》1975(5): 484—490。
- 8、欧阳俊闻等,培养小麦花药的马铃薯简化培养基研究,《花药培养学术讨论会文集》科学出版社,1977, 58—64。
- 9、陈玉蓉等,一个适于小麦花药培养的合成培养基,《遗传》1979(6): 31—33。
- 10、胡含等,小麦花粉植株的遗传学研究,《遗传学报》1979(3) 322—330

(上接第36页)

(五) 早熟性:早熟可以避免或减轻干热风 and 锈病的危害,早收早腾茬不影响夏播。因此,要求育成的品种抽穗早、灌浆快,六月上旬成熟。

(六) 株高适中:矮秆品种可防止倒伏,但也不是越矮越好。为了探索株高与千粒重的关系,我们对七年来种植的2584份材料进行了统计分析,结果是,株高在95厘米以内,随着株高增加,千粒重也不断提高;株高到95厘米左右时,株高再增加,千粒重则开始下降。冬小麦品种的适宜株高是85—95厘米。

(七) 抗锈病:锈病是小麦的重要病害,沧州地区目前种植的品种大多不抗锈病,今后育种要选育以抗条锈为主,兼抗叶锈和秆锈品种。