

适合黄淮冬麦区小麦花药培养的新型癸培养基

海 燕 和现昌 王金兰 周 阳

(河南省农业科学院小麦研究所, 郑州 450002)

摘 要 根据黄淮冬麦区小麦生态类型及栽培品种的特点, 从降低 SO_4^{--} 、 NO_3^- 入手, 设计研制了癸培养基。采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验筛选出优良配方。经多年试验, 癸培养基的愈伤组织平均诱导率分别较 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6 培养基高 1.3、2.06、2.42 个百分点; 并对各种不同的基因型都有广泛的适应性, 且有促进愈伤组织形成早的显著特点。

关键词 小麦 花药培养 癸培养基 诱导率

小麦花药培养, 国内一些实验室的成功率已接近可用于育种的水平^[1]。由于黄淮冬麦区气候条件和小麦生态类型不同于其它冬麦区, 使用国内冬小麦花药培养主要采用的 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6 培养基, 花药愈伤组织诱导率一直偏低, 影响到这一技术在小麦育种上的应用。为此, 从 1990 年开始, 我们设计了癸培养基, 采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验, 进行筛选, 确定出优良配方, 并与 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6 培养基进行了对比试验。结果表明, 癸培养基在诱导小麦花药愈伤组织方面, 优于 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6 培养基, 比较适合黄淮冬麦区的小麦花药培养。

1 材料和方法

1.1 外植体

材料每年取自我室小麦育种试验地 F_1 花药。

1.2 癸培养基 SO_4^{--} 、 NO_3^- 因素水平表(见表 1)。

1.3 癸培养基与 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6 培养基对比试验。

两年共接种 8 个杂交组合, 每个组合接种 600~1000 枚花药。培养基消毒, 接种方法, 培养程序与培养条件均按常规进行。

2 结果与分析

2.1 癸培养基初步设计及正交试验结果

据报道, 花药供体植株的生长条件和基因型对花粉愈伤组织产量的影响, 都很有可能是通

过影响药壁组织的生理状态而实现的^[2]。郑州地区地处黄淮冬麦区,冬季气温较高,小麦是以二棱期越冬,品种以弱冬性为主。春季气温回升快,小麦幼穗发育时间短,因此,花药供体植株有可能因发育时间短、基因型有差异等,花药的药壁组织(尤其是绒毡层)的生理状况与其它冬麦区有差异,这也可能是导致花粉愈伤组织产量不高的原因之一。然而,对供体植株的生长条件和基因型的改变很难实现,只有通过选择具有广泛适应性的培养基来提高花粉愈伤组织产量。我们在广泛筛选适宜培养基和多年花培研究的基础上,从调整培养基的 SO_4^{--} 和 NO_3^- 入手,设计了癸培养基,在与 K_3 、 C_{17} 培养基的对比试验中,愈伤组织诱导率大幅度提高。 K_3 愈伤组织诱导率为 2.45%, C_{17} 为 4.36%,而癸培养基达到了 8.28%,同时各种基因型材料愈伤组织诱导率都比 K_3 、 C_{17} 高,愈伤组织形成的时间早^[4],有一定的利用价值。为此,进一步研究了癸培养基中 SO_4^{--} 和 NO_3^- 在各种成份中的最佳配比,对 NH_4NO_3 、 KNO_3 、 MgSO_4 、 MnSO_4 四种成份,通过四个水平的正交试验 $\text{L}_{16}(4^5)$ (表 2),筛选出两个愈伤组织诱导频率较高的组合癸 3、癸 5(表 3)。

表 1 癸培养基试验因子水平 (mg/L)

水平	因 子			
	NH_4NO_3	KNO_3	MgSO_4	MnSO_4
1	250	1000	120	10
2	200	1400	100	4
3	150	600	80	3
4	100	200	60	2

表 3 癸 3、癸 5 试验因子(mg/L)

培养基	NH_4NO_3	KNO_3	MgSO_4	MnSO_4
癸 3	250	600	80	3
癸 5	200	1000	100	3

2.2 癸培养基对花药愈伤组织诱导率影响

1992 年,用癸 3、癸 5 与 C_{17} 培养基做了比较试验,其愈伤组织诱导率比 C_{17} 培养基分别高 0.99 和 0.44 个百分点。

1993 年、1994 年用癸(癸 5)与 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6 培养基做了两年比较试验,结果见表 4、5。

从表 4 可以看出,五个杂交组合在 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6 、癸四种培养基上的平均诱导率依次为 3.29%、2.00%、1.52%、4.82%。癸培养基的愈伤组织诱导率平均分别较 C_{17} 、 W_{14} 、 N_6

表 2 癸培养基 $\text{L}_{16}(4^5)$ 正交试验结果(mg/L)

培养基	NH_4NO_3	KNO_3	MgSO_4	MnSO_4	出愈率
癸 1	250	1000	120	10	1.7
2	250	1400	100	4	0.9
3	250	600	80	3	2.8
4	250	200	60	2	1.2
5	200	1000	100	3	2.6
6	200	1400	120	2	0.9
7	200	600	60	2	1.6
8	200	200	80	4	1.2
9	150	1000	80	2	1.8
10	150	1400	60	3	1.4
11	150	600	120	2	1.4
12	150	200	100	10	1.6
13	100	1000	60	4	1.3
14	100	1400	80	10	1.5
15	100	600	100	2	1.7
16	100	200	120	3	1.9
T_1	6.6	7.4	5.9	6.4	—
T_2	6.3	4.7	6.8	4.8	—
T_3	6.2	7.5	7.3	8.7	—
T_4	6.4	5.9	5.5	5.6	—
X_1	1.65	1.85	1.48	1.60	—
X_2	1.58	1.17	1.70	1.20	—
X_3	1.55	1.88	1.83	2.18	—
X_4	1.60	1.48	1.38	1.40	—
R	0.1	0.71	0.45	0.98	—

表 4 1993 年花药愈伤组织诱导频率 (%)

组 合	诱 导 频 率			
	C ₁₇	W ₁₄	N ₆	癸
百农 3217/郑州 831	2.37	1.56	0.10	3.29
豫麦 13/郑州 831	0.28	0	0	1.85
豫麦 16/Alondra"s"	6.48	3.24	4.07	8.33
百农 3217//TJB529/18711	5.00	4.12	2.50	7.50
豫麦 2 号/P37	1.20	0.29	0.62	2.69
\bar{X}	3.29	2.00	1.52	4.82

表 5 1994 年花药愈伤组织诱导率 (%)

组 合	诱 导 频 率			
	C ₁₇	W ₁₄	N ₆	癸
893683-3-1/资 4	5.53	3.99	5.70	7.13
B524-526/黔冬 6 号	3.85	4.20	2.22	4.60
豫农 82056/山东 8657	0.46	0.40	0	0.79
\bar{X}	3.49	2.87	2.85	4.44

培养基提高 1.53、2.82、3.30 个百分点,对组合百农 3217//TJB529/18711,癸培养基诱导率比 C₁₇ 高 2.5 个百分点,是 N₆ 的 3 倍;对组合豫麦 16/Alondra"s",癸培养基的诱导率比 W₁₄ 高 5.09 个百分点,是它的 2.5 倍。

从表 5 可以看出,三个杂交组合在 C₁₇、W₁₄、N₆、癸四种培养基上的平均诱导率依次为 3.49%、2.87%、2.85%、4.44%。癸培养基平均诱导率仍然比 C₁₇、W₁₄、N₆ 培养基分别高出 0.90、1.31、1.53 个百分点。对组合 893683-3-1/资 4,癸培养基的诱导率比 W₁₄ 高出 3.14 个百分点,为其 1.78 倍,对组合 B524-526/黔冬 6 号,癸培养基比 N₆ 的诱导率高出 2.38 个百分点,为其 2 倍。

2.3 基因型的差异

从表 4、5 还可以看出,由于品种组合基因型的不同,各培养基对花药愈伤组织的诱导率间有很大的差异。这与以往他人的研究结果相一致^[3]。癸培养基对豫麦 16/Alondra"s"、百农 3217//TJB529/18711、893683-3-1/资 4 三个组合愈伤组织诱导率均超过了 7%,而对豫麦 13/郑州 831 和豫农 82056/山东 8657 等三个组合的诱导频率虽都较低,但其诱导效果仍比其它培养基显著,说明癸培养基对各种不同基因型材料都有较好的适应性。

2.4 REA 对花粉愈伤组织产量的影响

在国内,我们实验室最先将 REA(稀土)作为培养基附加剂应用于小麦花药培养。经过 5 年的经验,结果证明,REA 对花粉愈伤组织的生长和绿苗分化有显著的促进作用,可提早愈伤组织的产生^[5]。癸培养基中附加了 1.0mg/L 的 REA,对花粉愈伤组织产量的提高也起到了一定的作用。

3 讨论

多年来,许多实验室都对基本培养基进行了深入细致的研究,研制出 N₆、麦基 1 号、马铃薯 I、C₁₇、W₁₄ 等诸多适合小麦花药培养的培养基。许多学者认为,对愈伤组织诱导和生长有利的基本培养基并不一定保证愈伤组织具有较好的分化能力^[2]。还有报道,NO₃⁻ 浓度高将使愈伤组织诱导率下降,但太低的 K⁺ 水平将影响花粉愈伤组织分化绿苗的能力^[2]。癸培养基大幅度地降低了 NO₃⁻,也提高了愈伤组织诱导率,但相对的 K⁺ 浓度比其它培养基低,这是否会影响到花粉愈伤组织的分化能力,还有待于进一步研究。

培养基中的 SO₄²⁻ 水平的高低,对花粉愈伤组织的形成是否有影响,尚未看到报道。癸培养基与 C₁₇ 培养基相比,降低了 SO₄²⁻,究竟对愈伤组织形成及绿苗分化能力会产生什么影响,

也有待于更深入的研究。

对癸培养基经过五年的筛选、鉴定试验,对不同的杂交组合几乎都能表现出优越性。三年来,将其应用到花培育种中,每年可使花粉愈伤组织块数增加 2000~3000 块,且愈伤组织形成得早,对绿苗分化十分有利。现将全部成分公布如下:(单位:(mg/L))

NH_4NO_3 200, KNO_3 100, KH_2PO_4 500, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 100, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 150, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27.8, $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 37.3, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 3.0, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.0, H_3BO_3 1.5, KI 1.0, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.1, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1, 甘氨酸 2.0, 盐酸硫胺 1.0, 盐酸吡哆醇 0.5, 烟酸 0.5, 肌醇 100, D-生物素 2.0。附加蔗糖 90g/L, 2,4-D 2mg/L, KT 0.5mg/L, REA 1.0mg/L, 琼脂 5g/L, pH5.8。

参 考 文 献

- 1 胡含,王恒立主编.植物细胞工程与育种.北京:北京工业大学出版社,1990
- 2 颜昌敬主编.农作物组织培养.上海:上海科技出版社,1991,12~26,205~240
- 3 庄家骏,贾旭,陈国庆.诱导小麦花粉愈伤组织分化植株的研究.遗传学报,1984,11(5):374~381
- 4 王金兰,海燕,和现昌等.培养基对小麦花培诱导率的影响.河南农业科学,1991(1):9~10
- 5 和现昌,王金兰,海燕等.REA 对小麦花药培养的影响.华北农学报,1993,8(增刊):54~59

A New Medium Suited for Anther Culture of Wheat in Huang-Huai Winter Wheat Areas

Hai Yan He Xianchang Wang Jinlan Zhou Yang

(Wheat Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou)

Abstract *Kui* medium was developed, basically by reducing the concentration of SO_4^{2-} and NO_3^- , based on the biotypes and genotypes of wheat cultivars in Huang-Huai winter wheat areas. An appropriate composition of the medium was selected by orthogonal design $L_{16}(4^5)$. The frequencies of callus induction were increased by 1.3, 2.06 and 2.42 points in percentage on average respectively when *kui* medium was used, compared with C_{17} , W_{14} , and N_6 media. The results showed that *kui* medium promoted the initiation of callus formation significantly and suited for various genotypes.

Key words: Wheat; Anther culture; *Kui* medium; Callus induction