

突形的率诱导新高量 (一)

春小麦花药培养的研究*

赵绪兰 段采华

(中国科学院西北高原生物研究所)

1970年以来,我国科学工作者成功地培养了10余种植物的花粉植株,目前已扩展到数十种植物。我国花药培养的一个重要特点是将这种技术迅速地应用于育种实践,另一个特点是筛选出有效、简便的培养基,使禾本科作物绿苗诱导率大大提高。

我们从1973年开始在青海高原地区进行春小麦花药培养的研究,工作中着重于提高诱导率、扩大培养基的诱导效应、花粉植株后代的遗传表现等方面研究。

一、材料与方 法

先后采用180个杂交组合的F₁、F₂及个别品种为接种材料。接种用材取单核中、晚期,长度为2.5—3.5毫米的花药。接种前幼穗经低温处理48小时,再用70%酒精表面消毒两次。在无菌条件下接种。基本培养基采用N₆、MS和马铃薯简化培养基。补加物有2,4-D,激动素(KT),吲哚乙酸(IAA),干酪素(CH),维生素C(V-C)和水解DNA等;蔗糖用量为9—15%;琼脂0.7—0.8%,pH值5.8—6.0;培养温度26—28℃,湿度70—85%,接种材料暗培20—25天,后每日辅助以8—10小时人工光照。分化培养基S-1(MS+IAA 0.5毫克/升+KT 0.5毫克/升+CH 300毫克/升),蔗糖降至3%;培养温度22—25℃,培养条件同上。壮苗培养基W-1(怀特+IAA 1毫克/升),蔗糖降至1.5%;培养条件同上。

花粉育株当代,个别能自然加倍结实,大部分靠秋水仙素加倍结实。加倍后所结籽粒下年按株系种植;部分植株从H₀开始,以每个有效分蘖为系统种植,详细观察花粉育株的株系内和株系间各主要性状的表现。并将较好的单系在不同地区进行产量比较。

二、主要结果

在提高春小麦花粉植株诱导率的研究中,我们将愈伤组织的平均诱导率从1973年的0.24%提高到1981年的3.84%,提高16倍,最高达17%;愈伤组织的平均分化率从20.3%提高到28.8%,最高可达100%。其结果与国内一些单位的结果相近(我们统计愈伤组织频率是以接种花药数为基数,他们以愈伤组织块数为基数)。诱导率的高低,在很

* 祝长顺、黄相国同志参加品系产量鉴定试验;景春同志参加1976—1979年部分工作,特此致谢。

大程度上取决于培养基的诱导效果及其影响因子。几年的实践证明,以天然提取物马铃薯液培养基较好。人工合成的 N_6 培养基次之。

(一) 提高诱导频率的研究

1. 不同培养基的诱导效应

(1) 去分化培养基:我们从 122 个培养基中筛选出诱导率比较高的有 5—9 个处理,其中以 G-16 为最好(表 1),其愈伤组织的诱导率最高,为 4.68%,诱导材料的范围较广(图 1)。如循化、西宁分别接种 20 和 16 个组合,出愈伤组织 15 和 8 个,平均为总组合数的 63.9%,为 6 个处理的第一位,但愈伤组织的质量较差,分化成绿苗数偏低,白苗率较高。

在去分化培养基中,马铃薯提取液用量不同,其诱导效应也各异。用量从 20—50%,诱导率以 20—30% 为好。

表 1 不同培养基对诱导愈伤组织的效应

Table 1 Effects of different media on induction of callus

处理号 Treatment No.	培养基 Medium	接种花 药数 No. of anthers inoculated	愈伤组 织数 No. of callus	愈伤组织数 接种花药数 Percentage of callus and anthers inocu- lated %
G-16	Fe* + 2.4-D2 + KT0.5 + V-C0.5 + 20% 马铃薯液 (Potato extract 20%)	6266	293	4.68
G-22	Mg**370 + KH_2PO_4 170 + Fe + 2.4-D2 + KT 0.3 + CH300 + 20% 马铃薯液 (Potato extract 20%)	1321	61	4.62
G-21	Mg370 + KH_2PO_4 170 + Fe + 2.4-D2 + KT0.3 + 20% 马铃薯液 (Potato extract 20%)	986	44	4.46
G-25	Fe + 2.4-D2 + 50% 马铃薯液 (Potato extract 50%)	575	23	4.00
G-10	Fe + 2.4-D2 + KT0.5 + 20% 马铃薯液 (Potato extract 20%)	5195	194	3.73
G-20	Fe + 2.4-D2 + KT0.3 + V-C0.5 + 20% 马铃薯液 (Potato extract 20%)	1908	49	2.57
G-26	Mg370 + KH_2PO_4 170 + Fe + 2.4-D2 + 50% 马铃薯液 (Potato extract 50%)	653	15	2.30
B-20	N_6 + 2.4-D2 + 水解 DNA60 (hydrolysate DNA 60)	4252	106	2.49
B-19	N_6 + IAA0.2 + KT1 + CH300	3248	66	2.03
B-18	N_6 + 2.4-D2 + KT0.5 + CH300	4812	87	1.81
B-17	MS + 2.4-D2 + KT0.5 + CH300	4574	58	1.27

* Fe 盐用量同 MS. ** $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

干酪素补加在基本培养基中,对提高愈伤组织诱导率和绿苗率均有良好作用。1973

年的试验中,未加干酪素的处理和加干酪素 300 毫克/升处理的愈伤组织诱导率分别为 1.12% 和 4.50%,提高 4 倍;1976 年分别为 4.97% 和 6.61%,提高约 2 倍,且能提高愈伤组织的质量,导致绿苗数的增加。如同 KT、2.4-D 等激素结合使用则效果更好。维生素 C 同 KT 和 CH 结合使用,对提高愈伤组织诱导率也有良好作用。补加一定量的水解 DNA,也能促进愈伤组织的诱导和绿苗的分化。

(2) 分化培养基:新鲜、幼嫩的愈伤组织分化率的高低除与愈伤组织的大小和转移时间的早迟有关外,还与分化培养基的成分有密切联系。在 13 个分化培养基中,以 S-1(MS+IAA 0.5 + CH 300 + KT 0.5) 的分化率为最高(图 2)。马铃薯培养基虽对小麦花粉愈伤组织的形成有良好的促进作用,但是它的绿苗分化率较低,白苗率较高。S-1 分化培养基则较好地解决了这一矛盾。

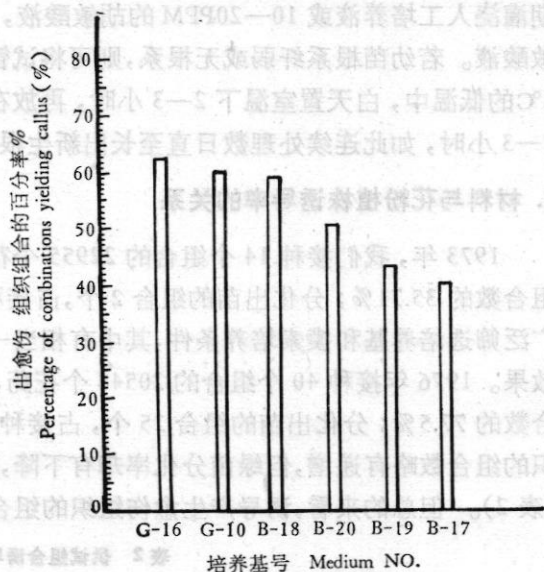


图 1 不同培养基诱导范围的效应

Fig. 1 Effects of different media on the range of combinations inoculated.

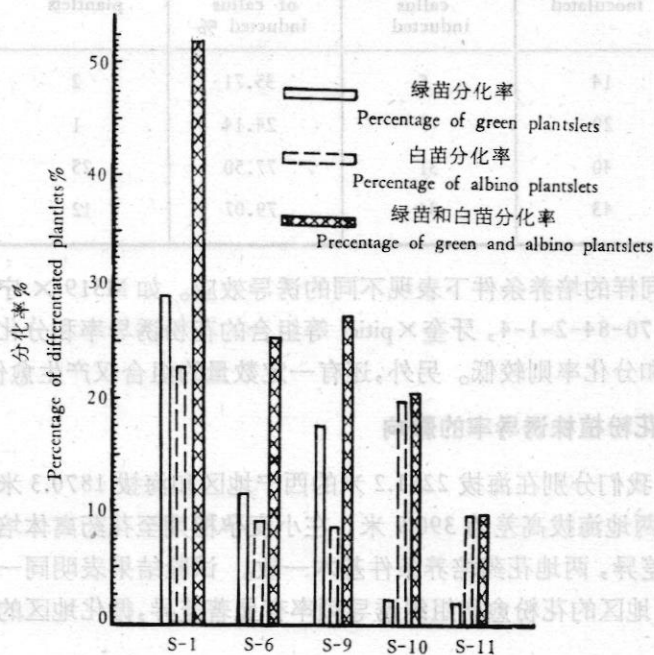


图 2 不同分化培养基的分化效应

Fig. 2 Effects of various differentiating media on differentiation of plants.

S-1 MS + IAA 0.5 + KT 0.5 + CH300 S-6 Fe + IAA 0.5 + NAA 0.5 + KT 1 + 20% potato extract
 S-9 N₆ + IAA 0.5 + KT 0.5 + CH300 S-10 N₆ + NAA 1 + V-C 0.5 + 20% potato extract
 S-11 N₆ + IAA 1 + V-C 0.5 + 20% potato extract

(3) 壮苗培养基及壮苗技术: 多年试验结果表明, 壮苗培养基以怀特培养基 + IAA 1 毫克/升的效果较好。试管培养的健壮幼苗可直接移入松软、肥沃的土壤中栽培, 初期浇灌人工培养液或 10—20PPM 的胡敏酸液, 以后可浇腐熟的麻渣肥水或较高浓度的胡敏酸液。若幼苗根系纤弱或无根系, 则可将试管幼苗进行变温处理, 即夜间置幼苗于 3—6°C 的低温中, 白天置室温下 2—3 小时, 再放在弱自然光下 2—3 小时, 继又置于室温下 2—3 小时, 如此连续处理数日直至长出新生根, 幼苗逐渐健壮时, 移入土壤中。

2. 材料与花粉植株诱导率的关系

1973 年, 我们接种 14 个组合的 22955 个花药, 诱导出愈伤组织的组合 5 个, 占接种组合数的 35.71%; 分化出苗的组合 2 个, 占接种组合数的 14.29%。1974—1975 年由于广泛筛选培养基和摸索培养条件, 其中有相当一部分试验未获结果, 因而影响了总的诱导效果。1976 年接种 40 个组合的 20548 个花药, 诱导出愈伤组织的组合 31 个, 占接种组合数的 77.5%; 分化出苗的组合 25 个, 占接种组合数的 62.50%。1977 年诱导出愈伤组织的组合数略有递增, 但绿苗分化率却有下降, 这与有些组合的愈伤组织分化能力低有关 (表 2)。但总的来看, 诱导产生愈伤组织的组合数有了明显增加, 绿苗率也有提高。

表 2 供试组合诱导频率的提高

Table 2 Increasing induction frequency of combinations

年 份 Year	接种组合数 No. of combinations inoculated	出愈伤组织组合数 No. of combinations of callus induced	出愈伤组织组合的百分率 Percentage of combinations of callus induced %	分化苗的组合数 No. of combinations of plantlets	出苗组合占接种组合的百分率 Percentage combinations of plantlets %
1973	14	5	35.71	2	14.29
1974—1975	29	7	24.14	1	3.45
1976	40	31	77.50	25	62.50
1977	43	34	79.07	12	27.91

不同材料在同样的培养条件下表现不同的诱导效应。如 M319 × 宁引, 甘麦 24 × 小偃 759-1, 牙奎 × 70-84-2-1-4, 牙奎 × pitic 等组合的花粉诱导率和分化率较高, 而有一些组合的诱导率和分化率则较低。另外, 还有一定数量的组合仅产生愈伤组织。

3. 地区性差异对花粉植株诱导率的影响

1976 年夏, 我们分别在海拔 2261.2 米的西宁地区和海拔 1870.3 米的循化地区进行异地诱导试验。两地海拔高差为 390.9 米, 在小麦孕穗期至花药离体培养一个月期间的气候条件有一定差异, 两地花药培养条件基本一致。试验结果表明同一试验处理和同一供试材料, 在不同地区的花粉愈伤组织诱导频率有显著差异, 循化地区的诱导频率显著高于西宁地区。

(二) 花粉植株后代的表现

无论杂种 F₁ 或 F₂ 诱导出的花粉育株当代的农艺性状表现多样性, 而各株系后代的株

间则表现相对整齐一致。(已有另文报道)。

以遗传力较高的株高和千粒重两性状为对象,其花粉育株的平均数占双亲均数的百分率在世代间并没有随着世代的提高而明显的下降(表3)。

表3 花粉株系的不同世代在株高和千粒重上的比较

Table 3 comparison of plant height and thousand grain weight among different generations of pollen-plant lines

组合 Combination	株系 Line No.	年份 Year	世代 Gene- ration	株 高 plant height			千 粒 重 1000 grain weight		
				株系平均 值 Mean of pollen- plant lines	双亲平均 值 Mean of mid- parents	株系/ 双亲 %	株系平均 值 Mean of pollen- plant lines	双亲平均 值 Mean of mid- parents	株系/ 双亲 %
(甘麦24×小偃759-1) _{F₂} (Ganmai 24× Xiaoyan759-1) _{F₂}	77-49	1978	H ₁	50.8	79.4	64.0	22.0	19.0	115.8
		1979	H ₂	52.6	68.5	76.8	22.6	21.4	105.6
		1980	H ₃	62.9	79.4	79.2	26.2	20.0	131.0
(M319×宁引) _{F₂} (M319×Ninyin) _{F₂}	77-47-1	1979	H ₁	73.3	66.7	109.9	46.4	46.1	100.7
		1980	H ₂	117.2	83.5	140.4	44.0	35.7	123.2
		1980	H ₃	102.4	83.5	122.6	52.1	35.7	145.9
	77-51	1978	H ₁	67.0	71.6	93.6	30.8	28.9	106.6
		1979	H ₂	76.0	70.2	108.3	48.3	42.2	114.5
		1980	H ₃	81.4	81.4	100.0	43.4	37.2	116.6
	77-53	1980	H ₂	92.9	81.4	114.1	31.1	37.2	83.6
		1980	H ₃	94.6	81.4	116.2	31.4	37.3	84.2
	(向阳4号×小偃759-1) _{F₂} (Hsiangyang 4× Xiaoyan759-1) _{F₂}	73-C ₄	1980	H ₃	79.9	87.6	91.2	28.2	34.6
1980			H ₄	98.5	87.6	112.4	41.5	34.6	119.9

1980年用(77-59-2)_{H₂}、(76-96)_{H₄}、(79-无名)_{H₂}、(77-51-2)_{H₂}、和(73-C₄)_{H₄} 5个系,在西宁市郊区张家湾大队进行产量比较,比对照阿勃增产的只有(77-59-2)_{H₂} 1个。1981年用(73-C₄)_{H₂}、(77-51-2)_{H₃}、(77-47-1)_{H₃}、(77-59-1)_{H₃}、(77-59-2)_{H₃}、(77-53-2)_{H₃}、(76-96)_{H₄} 和(79-无名)_{H₂} 8个株系在海西香日德农场进行产量比较,比对照增产的有前5个,其中增产10%以上的有前3个。

综上所述,可以初步看出,花粉育株的株系内相对稳定一致,而生活力并无衰退现象,也能出现比当地推广品种增产10%以上的株系。因此,以单倍体法作为育种手段,既能缩短育种年限,又能获得性状优良的类型。

三、结 论

本文对1973—1981年春小麦花药培养工作进行了总结,主要结果: 1. 提高了花粉植株诱导频率,愈伤组织的平均诱导率由1973年的0.24%提高到1981年的3.84%、提高16倍,最高可达17%;愈伤组织分化成绿苗的平均分化率由20.3%提高到28.8%、最高可达100%。 2. 摸索出了几种较好的培养基,其中以G-16(Fe + 2.4-D₂ + KT0.5 +

V-C0.5 + 20% 马铃薯提取液)为最好;分化培养基以 S-1 (MS + IAA0.5 + KT0.5 + CH 300) 为好。3. 观察到了花粉育株后代株系内的相对稳定及生活力不衰退的表现, 并出现比当地推广品种增产 10% 以上的品系。

参 考 文 献

- 中国科学院北京植物研究所、黑龙江省农科院编著, 1977, 植物单倍体育种。科学出版社, 131—133。
 中国科学院遗传研究所三室二组、黑龙江省合江地区水稻科学研究所单倍体育种组, 1977, 粳稻花药培养马铃薯简化培养基的研究。遗传学报, 4(4): 302—309。
 荣福雄、赵葆眉、李荣几、王光焕, 1977, 小麦花药培养中简化培养基的应用及花粉植株后代的遗传学研究。花药培养学术讨论会文集。科学出版社, 73—80。
 欧阳俊闻、庄家骏、贾旭、周淑敏、景健康, 1977, 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, 58—64。
 段采华、赵绪兰、景春, 1977, 地区性差异对小麦花药培养诱导频率的影响。花药培养学术讨论会文集, 科学出版社, 216—218。
 赵绪兰、段采华、陈集贤、杨曼影, 1981, 春小麦花粉育株后代数量性状的遗传与变异的初步研究。遗传学报, 8(4): 361—368。
 潘丽景、高公私, 1977, 小麦花粉胚的产生及不同激素水平等因子对诱导频率的影响。花药培养学术讨论会文集。科学出版社, 99—106。

ON THE ANTHR CULTURE OF SPRING WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM*)

Zhao Xulan Duan Caihua

(Northwest Plateau Institute of Biology, Academia Sinica)

The anther culture of spring wheat had been conducted in vitro during 1973—1981. The results obtained are as follows:

1. The frequency of induction of callus increased from 0.24% (in 1973) to 3.84% (in 1981), and the maximum was 17%. The frequency of induction of pollen plants increased from 20.3% (in 1973) to 28.8% (in 1981), and the maximum was 100%.

2. We have found several kinds of better media, of which G-16 (Fe+2.4-D 2+KT 0.5+V-C 0.5+Potato extract 20%) was the best medium for inducing callus, and S-1 (MS+IAA0.5+KT0.5+CH300) was the best differentiating medium.

3. The relative genetical uniformity in agricultural characters occurred among the offsprings of the same pollen plant line. There were greater diversities in agricultural characters in different pollen plant lines. There was no vigor reduction in progenies of regeneration. At the same time we found that the yield of several pollen plant lines was 10% higher than that of the local variety released. It can be believed that the anther culture of spring wheat is a hopeful and feasible breeding method.