

# 小麦族的种及其种、属间杂种 幼穗的离体培养

赵绪兰 李毅 陈集贤

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

## 摘 要

1986—1989年期间,对小麦族的种及其种、属间杂种共19个不同类型的材料进行了幼穗培养和植株再生的研究。愈伤组织诱导率高的培养基为MS+2,4-D2毫克/升+CH300毫克/升+蔗糖6%,平均诱导率为100%,且不同材料间无显著差异。植株再生率高的分化培养基为1/2MS+KT3毫克/升+IBA0.1毫克/升+CH300毫克/升+蔗糖3%,平均再生率为89.67%。

**关键词:** 小麦族; 幼穗; 愈伤组织诱导; 植株再生

以幼穗作为外植体培养成苗,在品种改良中的用途日趋广泛,获得再生能力很强并长期保持全能性的组织培养物,建立无性变异系,远缘杂种的无性繁殖等。通过杂种胚离体培养获得远缘杂种幼苗,杂种苗的幼穗离体培养获得杂种植株,是我们远缘杂交育种技术路线中的一环。

我们于1986—1989年间共用19个不同类型材料的幼穗242个接种,愈伤组织的诱导率平均为100%,获苗217株,植株诱导率平均为89.67%。

## 一、材料与方 法

**供试材料:** 1986年为(向阳4号×高原506)F<sub>1</sub>,〔栽培二粒小麦(*Triticum dicoccum*)×大赖草(*Leymus giganteus* Vahi.)F<sub>1</sub>〕,〔野生二粒小麦(*T. dicoccoides*)×47-2〕F<sub>2</sub>,(野生二粒小麦×79宁-63)F<sub>2</sub>,〔(84-83-(21-23)-1×Fertilo)×大赖草〕F<sub>0</sub>,(高原602×大赖草)F<sub>0</sub>,(86-363×大赖草)F<sub>0</sub>。1987年为(高原602×大赖草)F<sub>1</sub>,〔(86-262-8×187)F<sub>1</sub>×高原602〕F<sub>0</sub>,(栽培二粒小麦×大赖草)F<sub>1</sub>,(86-262-2×3987-88(3))F<sub>1</sub>,(85-7-1×高原602)F<sub>1</sub>。1988年冬用温室种植的高原602和高原602的变异株(V<sub>3</sub>)。1989年为高原338,中国春,野生二粒小麦和节节麦(*Aegilops tauschii* Cossn.)

**方法:** 在幼穗分化的第6期即护颖分化期接种(舒理慧,1982),持续至第8期即雌雄蕊分化期,其长度约为0.4—0.6厘米。在田间整好穗,剥去旗叶鞘及内包叶,用

70%酒精擦2遍,用无菌纱布包放在洁净工作台中,再用70%酒精擦1遍,最后将幼穗切段(2—3毫米)接种于培养瓶中,置恒温(25±2℃)室(箱)中培养,暗培15—20天后加光,每日2只40瓦日光灯补充光照8—10小时,湿度为60—80%。

基本培养基为MS和N<sub>6</sub>,补加不同浓度的添加物配制成各种诱导培养基和分化培养基,供筛选。

## 二、结 果

1986—1989年接种的19个材料的幼穗,全部都产生了愈伤组织,242个幼穗共产生愈伤组织511块,愈伤组织占接种幼穗数的211.16%。愈伤组织经分化处理,分化诱导形成完整植株217株,占接种幼穗数的89.67%,占愈伤组织数的42.47%(表1)。

表 1 幼穗外植体的诱导率

Table 1 Frequency of callus induction from young inflorescences

项 目 Item	1986年 (Year)	1987年 (Year)	1988年 (Year)	1989年 (Year)	总计(平均) Tatol (Average)
接种幼穗材料数 No. of materials inoculated	7	5	2	5	19
产生愈伤组织的材料数 No. of materials of callus induced	7	5	2	5	19
愈伤组织占接种材料数的% Percentage of materials of callus induced(%)	100	100	100	100	100
接种幼穗数 No. of young inflorescences inoculated	88	34	8	112	242
产生愈伤组织数 No. of callus induced	90	76	17	328	511
愈伤组织占接种幼穗% Percentage of inflorescences inoculated of callus induced(%)	102.27	223.53	212.50	292.86	211.16
苗数 No. of plantlets	23	22	13	159	217
苗数占接种幼穗的% Percentage of inflorescences inoculated of plantlets(%)	26.14	64.71	162.50	141.96	89.67
苗数占愈伤组织数% Percentage of callus induced of plantlets(%)	25.56	28.95	76.47	48.48	42.47

### (一) 诱导培养

将护颖分化期的幼穗接种于诱导培养基上暗培。诱导培养基为基本培养基MS和N<sub>6</sub>,添加不同浓度的2,4-D和CH、蔗糖。两种基本培养基MS和N<sub>6</sub>,都有诱导效果。经4年筛选,以MS+2,4-D2毫克/升+CH 300毫克/升+蔗糖6%最好,该处理共接幼穗196个,获愈伤组织388块,占接种幼穗的197.96%,近2倍。其次为N<sub>6</sub>+2,4-D2毫克/升+CH300毫克/升+蔗糖6%。其它MS和N<sub>6</sub>配以不同浓度2,4-D和CH 300的处理效果均不稳定。接种10天后幼穗体积逐日增大,在切口处和幼嫩小花表面膨大处长出小突起,

即愈伤组织，幼穗由绿色逐渐变为淡绿色、淡黄色最后呈无色。暗培15—20天后加光，愈伤组织继续增大。接种后30—40天愈伤组织上形成绿点、绿块，将增大并带绿点的愈伤组织转入到分化培养基上，分化成苗。其余部分转入继代培养基中继续增生愈伤组织，每隔20—30天转换新鲜的继代培养基（MS+2，4-D 2毫克/升+CH 500毫克/升+蔗糖6%），继代培养3—5次，再生能力仍然旺盛，一般半年后逐渐减弱，有的在1—2年之后，愈伤组织颜色才变为黄褐色或黑色，死亡。

幼穗作为外植体诱导愈伤组织，其诱导率在基因型之间的差异不明显，4年19个材料，包括不同倍性的小麦种、节节麦和普通小麦的种、属间杂种的幼穗均产生了愈伤组织。1989年接种的不同种、属的幼穗，无论是以接种幼穗数为基数，还是以幼穗切块数为基数，均获得了高的诱导率（表2）。

表2 不同材料的幼穗诱导率  
Table 2 Frequency of callus induction from young inflorescences in various materials

材 料 Materials	接种幼穗数 No. of inflorescences inoculated	切块数 No. of sections	产生愈伤组织的幼穗数 No. of inflorescences of callus induced		产生愈伤组织的切块数 No. of section of callus induced	
			数 No.	%	数 No.	%
			高原338 Plateau 338	20	55	20
中国春 Chinese Spring	24	70	24	100	70	100
野生二粒 <i>T. dicoccoides</i>	11	30	11	100	30	100
栽培二粒 <i>T. dicoccum</i>	44	120	44	100	120	100
节节麦 <i>L. tauschii</i>	13	55	13	100	53	96.36

## （二）分化培养

分化力强而快的愈伤组织在诱导培养基上即可分化成株，但大部分则需要转换到分化培养基1/2MS+KT 3毫克/升+IBA 0.1毫克/升+CH 300毫克/升+蔗糖3%中才能分化小芽、根，长成完整植株。若分化芽困难可再转入1/2MS+KT 5毫克/升+IBA 0.2毫克/升+CH 300毫克/升+蔗糖3%。一般转入分化培养基后20—25天即可分化成苗，但有个别愈伤组织仅具芽无根，此苗移出后水培（水培液为1%的NAA和5—10ppm的胡敏酸液加水100毫升）7—15天可生根。也有的有根无芽，这种愈伤组织略有增生，但根分化增殖很快、很多，甚至布满培养瓶底部。这类愈伤组织转移的早期在培养基中加0.1%的动力精（KT）会促进芽的生长，但大多数分化不成完整苗，最后变黄、老化，停止生长。

由幼穗诱导分化形成的苗，大部分为芽丛，芽丛进一步生长形成苗丛，苗丛一般为2—3株，多的可达7—8株。苗丛盆栽一段时间后，分株移栽于土壤中，在分蘖前浇灌

10—20ppm (淡茶色) 的胡敏酸液, 促进分蘖大量发生。为了扩大群体, 还将有的单株的分蘖分割移栽成苗。不同材料的愈伤组织的分化成苗率, 不尽一致, 按种、属归类, 计算平均值(表3), 以栽培二粒小麦的愈伤组织诱导率最高, 愈伤组织分化率也最高, 其次为节节麦, 再次为普通小麦间杂种。分化率在材料间有差异, 但规律性不强。

表 3 不同材料的分化率

Table 3 Effects of various materials on differentiation

材料 Material	材料数 No. of materials	接种幼穗数 No. of inflorescences inoculated	愈伤组织 No. of callus		苗数 No. of plantlets	
			数 No.	%	占接种幼穗 Percentage of inflorescences inoculated %	占愈伤组织 Percentage of callus inoculated %
普通小麦 <i>T. aestivum</i>	4	56	142	253.57	85.71	33.80
野生二粒 <i>T. dicoccoides</i>	1	11	30	272.73	36.36	13.33
栽培二粒 <i>T. dicoccum</i>	1	44	120	272.73	211.36	77.50
节节麦 <i>Ae. tauschii</i>	1	13	53	407.69	184.62	43.64
普通小麦×大赖草 <i>T. a. × L. g.</i>	4	41	42	102.44	9.76	9.52
栽培二粒×大赖草 <i>T. d. × L. g.</i>	2	20	35	175.00	30.00	17.14
普通小麦×普通小麦 <i>T. a. × T. a.</i>	2	19	39	206.26	68.43	33.33
野生二粒×普通小麦 <i>T. d. × T. a.</i>	2	37	42	113.51	37.84	33.33

### 三、讨 论

幼穗作为外植体离体培养成苗, 在品种改良上有多种用途, 对于扩大繁殖难得的少量远缘杂种, 以提高远缘杂交的成功率, 尤为重要。此项研究, 通过不断改良培养方法, 再生率逐年提高, 到1989年平均每接种1个幼穗可得苗1.42个, 最高每一幼穗可得苗11个。通过继代培养不断增殖愈伤组织, 不断得苗, 多数组合的愈伤组织可保存1年左右, 长者达2年之久。

本研究和其它作者用小麦的不同种、种间、属间杂种和三属杂种幼穗培养的结果类似, 多数材料的愈伤组织诱导率接近或达到100% (舒理慧, 1982; 郑企成等, 1985; 张炎等, 1985; 孙敬三等, 1986; 程增书等, 1990)。本研究的19个材料4年平均成苗率为89.67%, 1988年最高为162.5%, 但所用材料均为普通小麦。1989年用普通小麦、野生二粒小麦、栽培二粒小麦和节节麦的幼穗培养的成苗率平均为141.96%。据舒理慧(1982)用普通小麦最适取样期幼穗培养的分化率为90.2%; 张炎等(1985)的山羊

草、小麦和黑麦的三属杂种幼穗愈伤组织植株再生率为25%；郑企成等(1985)的小黑麦花粉植株幼穗植株再生率为95.2%，实生苗的幼穗为91.7%；程增书等(1990)的小麦与黑麦、小黑麦、山羊草、小偃麦杂种的幼穗分化成苗率为0—90.62%等看出，虽然各人所用培养基各不相同，材料间的分化率也不尽相同，但与我们的结果类似。

### 参 考 文 献

- 孙敬三、朱至清, 1986, 八倍体小黑麦的幼穗培养, 植物学报, 28(1): 33—37.  
张炎、张翠兰、吴郁文, 1985, 离体培养幼穗获得不育的小麦属间杂种无性系, 科学通报, (12): 1345—1347.  
郑企成、朱耀兰、陈文华, 1985, 小黑麦花粉植株幼穗培养及植株再生, 科学通报, (24): 1907—1909.  
舒理慧, 1982, 小麦不同发育时期的幼穗对离体培养的反应, 科学通报, (14): 882—884.  
程增书、崔海瑞、方仁, 1990, 小麦与黑麦、小黑麦、山羊草、小偃麦杂种幼穗的离体培养——杂种幼穗愈伤组织的诱导、继代和植株再生, 植物细胞工程与育种, 北京工业大学出版社, 328—331.

## IN VITRO CULTURE OF YOUNG INFLORESCENCES OF SPECIES AND INTERSPECIFIC AND INTERGENERIC HYBRIDS IN TRITICEAE

Zhao Xulan, Li Yi and Chen Jixian  
(Northwest Plateau Institute of Biology,  
The Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001)

Young inflorescences of 19 materials of species and interspecific and intergeneric hybrids in Triticeae were cultured in vitro during 1986—1989. They were cultured on MS medium + 2,4-D 2mg/L + CH 300mg/L + sucrose 6%. The results showed that a high capacity of callus formation (100%) and the capacity were not significantly different among the materials. Their calli were transferred to 1/2 MS medium + KT 3mg/L + IBA 0.1mg/L + CH 300mg/L + sucrose 3% for plant regeneration. The average of regeneration frequency was 89.7% and the highest was 211.36%.

**Key words:** Triticeae; Young inflorescences; Callus initiation; Plant regeneration