

提高小麦幼胚离体培养效率的研究

唐凤兰 王广金 李忠杰 张月学 闫文义

(黑龙江省农科院作物育种所)

摘要 研究了不同激素配比和磁场处理对小麦幼胚离体培养效果的影响。研究表明 0.1 毫克/升的 4pu-30 和 2 毫克/升的 2,4-滴加入继代培养基后,能显著促进愈伤组织生长,提高幼苗分化率。弱磁场短时间处理,也能获得良好的离体培养效果。

关键词 幼胚 激素 磁场

中图分类号 S330

利用小麦幼胚作外植体进行离体培养具有取材方便,操作简单,诱导分化率较高等特点^[1],被广泛用于体细胞无性系变异及育种研究。但不同基因型离体培养效率不同^[2]。且随继代次数的增加分化频率明显降低,这在实际育种中的应用受到一定的限制。因此,提高幼胚愈伤组织的分化频率是体细胞无性系变异育种的重要环节。我们以进一步提高分化频率为目的,在培养过程中采用了一些物理处理并应用了新合成的激素,现将结果报告如下。

1 试验材料和方法

1.1 试材 克 858、龙辐 10877、龙辐麦 3 号和新克早 9 号。

1.2 培养基 诱导培养基为 MS+2,4-滴 2 毫克/升继代培养基为 MS 加不同浓度的 4pu-30 或 KT;分化培养基有两种:一种是 MS;另一种是 MS+去掉 2,4-滴不同浓度的 4pu-30 或 KT(表 1)。上述培养基中都分别加有蔗糖 30 克/升、琼脂 8 克/升、pH 为 5.8。

表 1 4pu-30 和 KT 与 2,4-滴配比

激 素	生 长 素	2,4-滴	
		1mg/l	2mg/l
4pu-30	0	①	⑥
	0.05mg/l	②	⑦
	0.1mg/l	③	⑧
KT	0	①	⑥
	0.5mg/l	④	⑨
	1.0mg/l	⑤	⑩

1.3 幼胚培养 取开花 15 天左右的幼胚,0.4% 升汞溶液中浸泡 15 分钟,无菌水冲洗 3 次,每个三角瓶接 10 枚幼胚,接种后置于 26±1℃ 的黑暗条件下培养 30 天,再继代暗培养 30 天。然后转入分化培养基上进行分化培养,室温 26±1℃,光强度 1 500LX,每天光照 13 小时。统计诱导率和分化率。

1.4 磁场处理 将诱导培养基中的愈伤组织置于磁场强度为 200 高斯、300 高斯、600 高斯恒磁场中处理 3 天、5 天和 10 天,连续培养 30

天后。将愈伤组织转入继代培养基,并称重,计算增重量,在分化培养中用磁场做同样处理。

2 结果与分析

2.1 4pu-30 和 KT 对小麦幼胚愈伤组织的影响 不同浓度的 4pu-30 或 KT 分别加在继代培养基和分化培养基后,降低了愈伤组织的分化率,大部分愈伤组织变褐萎缩。说明在培养

注:本文承蒙孙光祖研究员审阅,特此致谢。

基中加入 4pu-30 或 KT 的分化效果不如只加 2,4-一滴的处理,另外,KT 降低愈伤组织分化的作用要比 4pu-30 大(表 2)。把不同浓度的 4pu-30 或 KT 只在继代培养基时,对再生菌分化有不同影响,在不同激素的十种配比中龙辐 10877 有三种配比的分化率超过只加 2,4-一滴的处理,克 858 有两种配比的分化率超过只加 2,4-一滴的处理。4pu-30 与 KT 相比,更能促进幼苗的分化,试验看出,4pu-30 0.1 毫克/升+2,4-一滴 2 毫克/升在龙辐 10877 的分化率为 37.5%,在克 858 上的分化率为 58.0%,而只加 2,4-一滴 2 毫克/升的则分别为 15.0% 和 28.0%。KT 0.5 毫克/升+2,4-一滴 1 毫克/升在龙辐 10877 上的分化率为 14.3%,在克 858 上的分化率为 43.3%,而只加 2,4-一滴 1.0 毫克/升的则分别为 12.5% 和 36.0%(表 2)。另外,在继代培养基中加入 4pu-30 后,愈伤组织呈乳白色,较致密,有瘤状突起,转分化后很快出现绿芽点,分化速度较快,分化苗整齐。可见,将一定浓度的 4pu-30 加在继代培养中能明显改善幼胚愈伤组织的质量,提高了分化频率。

表 2 不同浓度的激素加在不同培养基后对小麦幼胚分化的影响

材	调 查 项 目 处 理	接种数		出愈伤组织数		出愈率 (%)		转分化时愈伤组织数		分化苗数		分化率 (%)	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
龙 辐 10877	①	50	40	50	40	100	100	40	40	5	5	12.5	12.5
	②	60	40	60	40	100	100	60	40	7	6	11.7	15.0
	③	60	50	60	50	100	100	50	50	4	5	8.0	10.0
	④	60	40	60	40	100	100	50	35	0	5	0	14.3
	⑤	58	40	56	40	96.6	100	40	40	0	0	0	0
	⑥	60	40	60	40	100	100	60	40	2	6	3.3	15.0
	⑦	60	40	60	40	100	100	50	30	1	1	2.0	3.3
	⑧	60	40	60	40	100	100	30	40	1	15	3.3	37.5
	⑨	60	30	60	30	100	100	4.0	25	0	1	0	4.0
	⑩	60	30	5.8	30	96.7	100	48	30	0	3	0	10.0
龙 85-858	①	60	50	60	50	100	100	60	50	21	18	35.0	36.0
	②	60	40	59	40	98.3	100	49	40	5	9	10.2	20.0
	③	60	50	57	50	95.0	100	57	45	4	8	7.0	17.8
	④	60	60	59	60	98.3	100	59	60	3	26	5.1	43.3
	⑤	60	40	60	40	100	100	60	40	0	8	0	20.0
	⑥	60	40	60	40	100	100	60	35	17	10	28.3	28.6
	⑦	60	40	60	40	100	100	60	40	0	1	0	2.5
	⑧	60	50	60	50	100	100	60	50	1	29	1.7	58.0
	⑨	60	60	59	60	98.3	100	49	55	1	3	2.0	5.5
	⑩	60	50	60	50	100	100	50	50	0	2	0	4.0

注:A 为继代和分化培养基;B 为继代培养基。

2.2 磁场处理对小麦幼胚愈伤组织的影响 由表 3 看出,磁场强度低,处理时间短时,能促进愈伤组织的生长,改善愈伤组织质量,提高分化频率,如龙辐 3 号的幼胚愈伤组织在强度 200 高斯的磁场内处理 3 天时,愈伤组织增重 102.8 毫克,分化率为 140.0%,处理 5 天时,愈伤组

织增重 99.6 毫克, 分化率为 125.0%, 而对照为 89.8 毫克和 83.8%。高强度长时间的磁场处理, 抑制了愈伤组织的生长, 降低了分化频率, 如龙辐麦 3 号在 600 高斯的磁场内处理 10 天时, 愈伤组织增重 88.1 毫克, 分化率为 37.5%。磁场处理的这些作用在新克早 9 号也有同样反映, 只是在程度上有所不同, 表现出了基因型的差异。短时间的弱磁场处理, 可能改善了细胞的新陈代谢状况, 加快了愈伤组织的生长, 并且因在恒磁场中使细胞产生极性, 促进了幼苗分化。

表 3 磁场对小麦幼胚愈伤组织的影响

材 料	调 查 项 目 处 理	接种数	出愈伤 组织数	出愈率 (%)	愈伤组织 增重(mg)	分化时愈伤 组织数	分化苗数	分化率 (%)
龙 辐 3 号	CK	80	80	100	89.8	80	67	83.8
	200h. 3 天	60	60	100	102.8	60	84	140.0
	200h. 5 天	80	73	91.2	99.6	60	75	125.0
	300h. 3 天	80	79	98.8	104.4	69	47	68.1
	300h. 5 天	80	80	100	96.5	80	77	96.3
	300h. 10 天	80	68	85.0	88.2	68	32	47.1
	600h. 5 天	80	67	83.8	86.7	67	24	35.8
	600h. 10 天	80	57	70.0	88.1	56	21	37.5
新 克 早 9 号	CK	70	70	100	57.0	70	10	14.3
	200h. 3 天	70	67	95.7	58.6	45	10	22.2
	200h. 5 天	70	70	100	61.0	70	8	11.4
	300h. 3 天	80	75	93.8	61.4	65	9	13.9
	300h. 5 天	80	75	93.8	52.0	75	11	14.7
	300h. 10 天	80	76	95.0	55.3	76	0	0
	600h. 5 天	70	69	98.6	46.4	69	0	0
	600h. 10 天	70	64	96.7	49.8	64	0	0

注:(表中 h. 代表磁场强度高斯)

2.3 继代对小麦幼胚培养的影响 小麦幼胚在采样适宜条件下出愈率基本都能达 100%, 但分化率却与基因型有关, 且继代培养后分化率明显降低(表 4), 龙辐 3 号的分化率为 151.3%。而克早 9 的分化率为 23.8%, 经继代培养后龙辐麦 3 号分化率 83.8% 与不继代相比下降不到一半, 而 10877 在继代培养后分化率降至 3.3% 比对照下降 9 倍, 龙辐麦 3 号, 即使经过继代培养, 分化率与其它基因型相比也是很高的, 说明它也是比较耐培养的材料。

表 4 继代对小麦幼胚分化的影响

材 料	培养方法	分化率(%)	材 料	培养方法	分化率(%)
克 85-858	不经继代分化	96.0	龙辐 3 号	不经继代分化	151.3
	继代分化	28.3		继代分化	83.8
龙辐 10877	不经继代分化	29.2	新克早 9 号	不经继代分化	23.8
	继代分化	3.3		继代分化	14.3

3 小结

3.1 不同浓度的 4pu-30 或 KT 分别加在继代培养基和分化培养基时,降低了幼苗分化率。但只加在继代培养基时,能促进愈伤组织生长,改善愈伤组织质量,提高了幼苗分化率。4pu-30 的效果明显好于 KT。试验看出,0.1 毫克/升的 4pu-30 和 2 毫克/升的 2,4-D 滴加在继代培养基后,效果最好。

3.2 短时间的弱磁场处理,能促进愈伤组织分化,提高幼苗分化率。试验看出,在 200 高斯的磁场内处理 3~5 天效果最好。

3.3 不同基因型的幼胚离体培养效果不同,但对激素或磁场处理有类似反应,只在程度上有一定差异。适当浓度 4pu-30 和弱磁场短时间处理,对离体培养效果较差的基因型更具有实用价值。

3.4 不同基因型分化率不同,但经继代培养后分化率明显降低,不同基因型降低的程度不同,通过几年的试验筛选出比较耐培养的材料龙辐麦 3 号。

参 考 文 献

- 1 Shimada, T. et al; Japan J. Genet. 54,1979, 379~385. Genet
- 2 梁竹青、高明耐. 不同小麦基因型对体细胞组织培养的反应. 中国农业科学,1986(2):42~48

Study on Increasing in Vitro Culture Efficiency of Wheat Immature Embryo

Tang Fenglan et al.

(Institute of Crops Breeding, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences)

Abstract The present paper studied the effect of different growth hormones proportion and magnetic field treatment on immature embryo culture. The result showed that adding 0.1mg/l 4pu-30 and 2mg/l 2,4-D in subculture medium can improve the growth of callus remarkably, and increase frequency of regenerated seedlings. Good effect of in vitro culture can be obtained by weak magnetic field and short time treatment.

Key words Immature embryo, Magnetic field, Growth hormone