

提高春小麦花粉植株壮苗及加倍率的研究

韩玉琴¹, 肖志敏², 赵海滨², 辛文利², 刘文萍¹, 南相日¹

(1. 黑龙江省农业科学院生物技术研究所, 黑龙江哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院作物育种研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 研究了春小麦花粉植株的壮苗及染色体加倍技术。结果表明: 延长低温处理时间可大幅度提高春小麦单倍体植株的自然加倍率; 用 1/2 MS 培养基取代 MS 培养基, 并控制每日光照 12 h, 弱苗控制在 5% 以下, 可将无根苗控制在 3% 以下。

关键词: 小麦; 花粉植株; 染色体; 自然加倍

中图分类号: S512 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)03-0016-02

Researches on Raising the Strengthening Seedling and Doubling Chromosome of Pollen Plant of Spring Wheat

HAN Yu-qin¹, XIAO Zhi-min², ZHAO Hai-bin², XIN Wen-li², LIU Wen-ping¹, NAN Xiang-ri¹

(1. Biotechnology Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Strengthening seedling and doubling chromosome of pollen plant of spring wheat have been studied in this paper. The result showed that: natural doubling rate of pollen plant of spring wheat could be increased quickly by prolong low temperature treatment; no root seedling could be controlled at 3% and weak seedling could be controlled at 5% with 1/2 MS substitute MS medium and day light 12 hours.

Key words: wheat; pollen plant; chromosome; natural double

利用花药培养技术进行新品种选育是一项有效的育种新途径。而花药育种成败的关键, 主要取决于该项技术的完善程度和接种材料的基因型是否符合育种目标。近年来广大科技工作者在改进花药培养技术方面进行了广泛的研究, 并取得了显著成绩。但迄今为止, 花药培养技术仍不十分完善, 诸如花粉植株诱导率和染色体加倍率偏低、花粉植株偏弱等在一定程度上影响了该项技术优势的发挥。

有关染色体加倍技术有较多的研究, 加倍效果最好的是在分蘖期用 0.04% 的秋水仙和 1.5% 二甲基亚砷水溶液浸根, 处理 8~12 h。单倍体育种每年要生产上千株甚至几千株绿苗, 应用药物处理加倍不仅浪费大量的人力物力, 同时还会对环境造成污染, 不很适用于育种应用。因此, 摸索出一条适用有效的自然加倍方法是很有必要的。

在花粉植株中有很大部分是弱苗和无根苗, 无根苗无法移栽成活, 而弱苗即使移栽成活加倍率也相当低, 不足 5%。对此, 我们就有关花粉植株的壮苗和染色体自然加倍等进行了一些探讨。

1 材料与方法

取大田种植的小麦杂种 F₁ 材料, 按常规的无菌操作方法接种单核靠边期的花药, 在 28 °C 下暗培养诱导愈伤组织。诱导培养基 W₉^[1] + 1.0 mg · L⁻¹ 2, 4-D + 1.0 mg · L⁻¹ NAA + 0.5 mg · L⁻¹ KT + 蔗糖 9%, pH 5.8。培养近一个月, 愈伤组织达 1.0 cm 时, 转入不同培养基和不同条件下诱导分化。花粉植株达 10 cm, 根、茎俱全时移入花盆种植, 通过低温处理促进染色体加倍。

2 结果与分析

2.1 不同培养基和光照长度对花粉植株生根效果的影响

通常, 愈伤组织分化采用基本培养基 MS + KT 1.0 mg · L⁻¹, 放入 23~25 °C 培养室中, 每日人工加光 12 h 诱导分化。然而, 在这种培养条件下获得的花粉绿苗

收稿日期: 2008-11-19

基金项目: 黑龙江省科技厅攻关课题(GB07B104)

第一作者简介: 韩玉琴(1956-), 女, 黑龙江省巴彦县人, 研究员, 从事生物技术研究。Tel: 0451-86676104; E-mail: h5625@163.com。

中有 15%左右是无根苗。由于这些苗移栽不能成活而白白浪费掉。春小麦愈伤组织分化是在每年的 7 月上旬至八月中旬,这个时期是哈尔滨地区日照最长的一段时间,每天日照长度达 16~17 h。分析认为光照时间过长可能是影响花粉苗生根的主要原因,此外,分化培养基中的无机盐浓度过高可能也是一个因素。对此,我们从降低分化培养基中的无机盐浓度和控制光照时间两个方面着手进行了探讨。处理为:培养基中无机盐浓度从 MS 降至 1/2MS;采取遮光处理,控制每天 12 h 光照,以不控制光照长度为对照。获得的绿苗统计生根情况(见表 1)。

表 1 不同处理花粉植株的生根效果比较

培养基	光照长度 /h	参试愈伤数	绿苗分化率/%	得苗数	无根苗	无根苗率/%
1/2MS	12	400	20.3	81	2	2.5
MS	12	400	21.0	84	3	3.6
1/2MS	不遮光	400	22.5	89	12	13.5
MS	不遮光	400	21.5	86	13	15.1

由表 1 结果看出,降低分化培养基中无机盐的浓度对愈伤组织分化和控制无根苗的发生频率无明显影响。控制光照长度的效果较明显,相同的 MS 培养基中,在不控制光照时,无根苗发生的频率为 15.1%,而控制每天 12 h 光照时,无根苗发生的频率只有 3.6%。在不控制光照长度时,1/2MS 培养基无根苗发生的频率为 13.5%,MS 培养基上无根苗的频率为 15.1%。可见光照长度是导致无根苗发生的主要原因。

2.2 不同培养基和光照长度对花粉植株弱苗发生频率的影响

获得的花粉植株中,有 15%左右是弱苗,所谓弱苗是指那些茎粗 1~2 mm、只有 1~2 个分蘖的小苗。这些苗移栽不易成活,即使成活加倍率也相当低,不足 5%,并且单株种子量也很少。对此我们从两个方面着手,改进培养基成分和控制光照长度。把无机盐浓度从 MS 降至 1/2MS,光照长度控制在 12 h(见表 2)。

表 2 不同培养基和光照长度对花粉植株弱苗发生频率的影响

培养基	光照长度/h	愈伤组织数	获得试管苗数	弱苗数	弱苗率/%
1/2MS	12	400	85	3	3.5
1/2MS	不遮光	400	83	12	14.5
MS	不遮光	400	80	14	17.5
MS	12	360	70	3	4.3

从表 2 结果可见,在不控制光照条件下,降低无机

盐浓度有降低弱苗发生的趋势,但效果不明显。在控制每天 12 h 光照时,采用 MS 分化培养基时弱苗发生率为 4.3%,采用 1/2MS 培养基时,弱苗发生率为 3.5%。可以看出,无机盐浓度不是影响弱苗发生的主要因素。在相同无机盐浓度时,控制每天 12 h 光照和不控制光照时间差异非常明显,如同是 1/2MS 培养基,不控制光照时弱苗率是 14.5%,而控制 12 h 光照时,弱苗率只有 3.5%。可以看出,光照时间过长是引起弱苗发生的主要因素。

2.3 低温处理时间对染色体自然加倍率的影响

在北方春麦区,利用秋冬交替季节昼夜温差大的条件进行花粉单倍体植株的自然加倍是一条有效的途径,不仅可以节省大量的人力物力,还可以减少药物对环境的污染。

怎样利用好这段时间,挖掘出这个自然条件对染色体自然加倍的潜力是我们所要探讨的。在十月下旬夜间用塑料布遮盖,使温度保持在 0℃以上,以不冻死为限,尽量延长室外放置时间。从 10 月 1 日算起,设 3 个处理时间,分别为 15、25 和 35 d。通过不同低温处理时间比较染色体的自然加倍效果(见表 3)。

表 3 低温处理时间对染色体自然加倍率的影响

进温室日期	处理时间 /d	供试株数 /株	结实株数 /株	平均粒数 /粒	加倍率 /%
10-15	15	500	83	16.1	16.6
10-25	25	296	80	25.1	27.0
11-04	35	119	54	39.5	45.2

表 3 结果表明,花粉单倍体植株的自然加倍率随着低温处理时间的增加而提高。如低温处理 15 d 的自然加倍率为 16.6%,而低温处理 35 d 的自然加倍率达 45.2%,而且加倍植株的单株结实粒数也明显增多。前者单株平均结实粒数为 16.1,后者达 39.5。试验结果可以肯定,以麦苗不冻死为限,低温处理时间越长自然加倍效果越好,加倍率越高。

3 结论

几年来的实验结果表明,培养健壮的、分蘖旺盛的单倍体花粉植株是提高结实率的关键。降低无机盐浓度对控制弱苗和无根苗无明显效果。控制光照长度能大幅度降低弱苗和无根苗的发生频率。1/2MS 培养基结合每天 12 h 光照可将无根苗控制在 3%以下,弱苗控制在 5%以下。保持温度在 0℃以上,以不冻死苗为限,延长室外放置时间,可明显提高单倍体植株的自然加倍率。