

# 航天处理对小麦组织培养效果的研究

孙 岩<sup>1</sup>,张宏纪<sup>1</sup>,王广金<sup>2</sup>,刘东军<sup>1</sup>,郭怡璠<sup>1</sup>,刘文林<sup>1</sup>,赵远玲<sup>2</sup>

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

**摘要:**为了促进春小麦航天诱变育种和体细胞无性系变异育种,以航天搭载的小麦纯系种子 00-0387、01-0089、02-0174 及其相应对照的幼穗、幼胚为外植体进行组织培养,调查了诱变频率、分化频率和  $S_1$  的农艺性状。结果表明:航天处理及其相应对照的幼穗、幼胚诱导率均在 98% 以上,差异不显著。航天处理 3 份幼穗、幼胚的平均分化率均低于相应对照,而且品种间存在基因型差异。组织培养和航天加组织培养对  $S_1$  农艺性状有不同程度的影响,航天加组培尤为明显。

**关键词:**小麦;航天处理;组织培养;诱导频率;分化频率;农艺性状

**中图分类号:**S512.11

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2014)11-0001-03

小麦是主要的粮食作物之一,播种面积和总产量居谷物作物之首。黑龙江省是我国重要的春麦产区,小麦生产在满足人们的膳食需求、优化种植业结构、建立科学的轮作体系和保证国家粮食安全等方面都具有重要作用。选育高产、优质、抗病和适应性强的新品种始终是育种工作者追求的目标。长期以来,由于优异种质资源匮乏和育种方法相对滞后,使小麦育种进展缓慢,迄今未能选出突破性的品种。大量研究表明,小麦的各种外植体通过组织培养可以产生大量的体细胞无性系变异<sup>[1-3]</sup>。种子等通过返回式卫星等搭载,利用太空特殊环境的作用,可以产生大量变异,经过精心选育可获得新种质和新品种<sup>[4-6]</sup>。物理诱变与组织培养结合,可以提高体细胞无性系变异的频率,扩大变异的范围,创造更多的选择机会,为种质创新和新品种选育创造丰富材料<sup>[7-8]</sup>。该试验于 2010 年在黑龙江省农业科学院作物育种试验室以经航天搭载的纯系种子 00-0387、01-0089、02-0174 及其相应对照的幼穗、幼胚为外植体进行组织培养,研究了航天组培、对照组培对于诱导频率和分化率的影响以及  $S_1$  农艺性状的差异,以期为春小麦航天诱变育种和体细胞无性系变异育种提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为 2006 年经返回式卫星搭载的小

麦纯系种子 3 份,即 00-0387、01-0089、02-0174 以及相应的对照种子。

### 1.2 方法

1.2.1 幼穗接种 在小麦穗分化的二棱期,幼穗长至 5 mm 左右后,剪取含有幼穗的茎节,在无菌条件下置入 70% 酒精中浸泡 30 s,无菌水漂洗 2 次,0.1%  $HgCl_2$  消毒 10 min,无菌水漂洗 3 次后接种,每个三角瓶接种 6 枚外植体,培养基为 MS。

1.2.2 幼胚接种 在小麦开花 14 d 后,取其麦穗,剥取麦粒,在无菌条件下置于 70% 酒精中浸泡 30 s,无菌水漂洗 2 次,0.1%  $HgCl_2$  消毒 7~8 min,无菌水漂洗 3 次后接种,每个三角瓶接种 10 枚外植体,培养基为 MS。

1.2.3 诱导及分化培养基组成 诱导培养基:MS+2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D+30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖+8 g·L<sup>-1</sup> 琼脂,pH 5.8;分化培养基:MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> KT+30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖+8 g·L<sup>-1</sup> 琼脂,pH 5.8。

1.2.4 愈伤组织的诱导与分化 接种后的三角瓶置于培养室内暗培养,室温 23±1℃。暗培养 10 d 左右,调查出愈情况,计算诱导率。再经过 1 次继代培养后,将胚性愈伤组织转接到分化培养基上,置于培养室内分化,室温 23±1℃。每天光照 12 h,光照强度 2 000 lx。调查分化情况,计算分化率。

1.2.5  $S_1$  种植 将获得的  $S_0$  种子以株为单位播于田间,单粒点播,行距 20 cm,株距 5 cm,正常管理,调查生育状况,收获后考种。

## 2 结果与分析

### 2.1 组织培养效果

由表 1 和表 2 看出,3 份航天处理及其相应对照接种幼穗的诱导率为 99.0%~100.0%,幼

收稿日期:2014-07-14

基金项目:国家 863 计划资助项目(2012AA101202-1);黑龙江省自然科学基金重点资助项目(ZJN0704);哈尔滨市科技局科技创新人才研究专项资金资助项目(2014RFQYJ034)

第一作者简介:孙岩(1972-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,副研究员,从事小麦生物技术育种研究。E-mail: sun-yan720722@sohu.com。

胚的诱导率为 98.0%~100.0%，航天处理与其相应对照间差异不大。3 份航天处理接种幼穗的分化率为 5.0%~41.5%，平均为 24.5%，相应对照的分化率为 0.6%~78.8%，平均为 33.1%。3 份航天处理接种幼胚的分化率为 7.2%~28.1%，平均为 16.6%，相应对照的分化率为 24.1%~

38.4%，平均为 29.9%。由此可见，航天处理的试材，外植体无论是幼穗还是幼胚，平均分化率均低于相应对照，表明航天处理具有降低分化率的作用。同时可以看出，不同试材的分化率存在差异，其中 01-0089 的平均分化率最高为 36.1%，其次是 00-0387 为 21.0%，最低的是 02-0174。

表 1 小麦幼穗诱导率和分化率分析

Table 1 Induce frequency and differentiation frequency of wheat young ear

试材 Materials	接种数/枚 Number of inoculation	出愈数/枚 Number of callus induction	诱导率/% Induce frequency	愈伤数/枚 Number of embryonic callus	苗数/株 Plantlets	分化率/% Differentiation frequency
00-0387(CK)	400	400	100.0	140	28	20.0
00-0387 航天 00-0387 Space	400	397	99.3	89	24	27.0
02-0174(CK)	400	399	99.8	163	1	0.6
02-0174 航天 02-0174 Space	400	396	99.0	218	11	5.0
01-0089(CK)	400	400	100.0	184	145	78.8
01-0089 航天 01-0089 Space	400	400	100.0	123	51	41.5

表 2 小麦幼胚诱导率和分化率分析

Table 2 Induce frequency and differentiation frequency of wheat young embryo

试材 Materials	接种数/枚 Number of inoculation	出愈数/枚 Number of callus induction	诱导率/% Induce frequency	愈伤数/枚 Number of embryonic callus	苗数/株 Plantlets	分化率/% Differentiation frequency
00-0387(CK)	500	490	98.0	377	103	27.3
00-0387 航天 00-0387 Space	500	492	98.4	417	60	14.4
02-0174(CK)	500	500	100.0	323	78	24.1
02-0174 航天 02-0174 Space	500	500	100.0	406	114	28.1
01-0089(CK)	500	491	98.2	294	113	38.4
01-0089 航天 01-0089 Space	500	497	99.4	319	23	7.2

## 2.2 离体培养 S<sub>1</sub> 主要农艺性状

由表 3 看出，除 01-0089 外，其余 2 份试材的株高都是组培和航天加组培的低于相应对照，其差异达到显著或极显著水平。3 份试材的分蘖数和单株粒重无论是组培还是航天加组培的都与对

照差异不明显。但 00-0387 组培的穗长和 02-0174 航天加组培的主穗粒数都较对照有显著差异，00-0387 组培和航天加组培的主穗粒数与对照相比分别达到极显著和显著水平。

表 3 组织培养 S<sub>1</sub> 主要农艺性状的差异性比较Table 3 Comparison on main agriculture characters of S<sub>1</sub> generation

试材 Materials	处理 Treatments	株高/cm Plant height	穗长/cm Spike length	分蘖数 Tillering number	主穗小穗数 Spikelet number per main ear	主穗粒数 Grain number permain ear	单株粒重/g Grain weight per plant
01-0089	CK	97.07 aA	12.12 aA	5.46 aA	18.79 aA	38.90 aA	6.64 aA
	CK+组培 CK+tissue culture	99.01 aA	11.52 aA	5.57 aA	19.11 aA	40.07 aA	7.73 aA
	航天+组培 Space+ tissue culture	97.37 aA	12.13 aA	5.29 aA	19.35 aA	41.33 aA	8.26 aA
02-0174	CK	89.86 aA	12.36 aA	5.51 aA	19.67 aA	45.50 aA	8.46 aA
	CK+组培 CK+tissue culture	85.79 bA	12.75 aA	6.16 aA	20.00 aA	45.26 aA	8.93 aA
	航天+组培 Space+ tissue culture	87.33 bA	12.36 aA	5.89 aA	19.10 abA	41.64 bA	8.46 aA
00-0387	CK	106.76 aA	11.24 aA	5.81 aA	20.00 aA	37.35 aA	7.56 aA
	CK+组培 CK+tissue culture	105.80 bA	12.09 bA	5.41 aA	20.59 aA	43.71 bB	8.78 aA
	航天+组培 Space+ tissue culture	100.20 bB	11.73 aA	6.42 aA	19.57 aA	36.72 bA	9.03 aA

注：不同大小写字母表示差异分别在 0.01 和 0.05 水平显著。

Note: Different capital letters and lowercases mean significant difference at 0.01 and 0.05 level respectively.

### 3 结论与讨论

3 份航天处理接种幼穗和幼胚的平均分化率均低于相应对照,这与空间特殊环境(微重力、宇宙射线、高真空和交变磁场等)对材料造成的物理损伤有关。李玉全<sup>[9]</sup>研究表明,航天搭载的小麦种子出苗率和存苗率降低,出现白化苗。一般认为,辐射损伤越大时,产生可遗传的变异也越多。航天处理引起的分化率降低, $S_1$ 代农艺性状有不同程度的变化,可能预示着后代会产生更多的体细胞无性系变异。

外植体的选择对小麦组织培养效果有一定影响。该试验结果表明,3 份试材幼穗的平均分化率高于幼胚 5.4%。从取材数量和高效的角度看,以小麦幼胚为外植体进行组织培养为宜。

前人研究认为<sup>[10]</sup>,在组织培养效果上存在着明显的基因型效应。该试验 3 份材料中,分化率最高的可达 36.1%,最低为 7.2%。可见,选取适宜的试材是体细胞无性系变异育种的关键。

由航天处理与组织培养相结合获得的  $S_1$  代农艺性状的变异情况看出,航天处理与组织培养结合在  $S_1$  变异上表现出一定的累加效应。由此可见,组织培养和航天加组织培养都会对  $S_1$  代的农艺性状有不同程度的影响,其中组培加航天处理的影响更为明显。由于这些变异大多属于数量性状上的多基因或基因微突变,在后代中有可能得到叠积。这与程西永等<sup>[5]</sup>、李慧敏等<sup>[11]</sup>和王美芳等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。

$S_1$  材料已纳入育种程序,深入地进行农艺性状考察,按育种目标选择,并借助蛋白质和 DNA 分子水平上的检测,两种技术相结合对小麦变异的作用及其育种效果的研究正在进行中。

#### 参考文献:

- [1] 韦彦余,赵民安,王晓军. 植物体细胞无性系变异在植物性状改良中的应用[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(6): 763-771.
- [2] 孙振元,韩蕾,李银凤. 植物体细胞无性系变异的研究与应用[J]. 核农学报, 2005, 19(6): 479-484.
- [3] 陈军营,何盛莲,陈新建,等. 体细胞无性系变异在小麦育种中的应用[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(2): 112-115.
- [4] 白斌. 我国小麦航天诱变育种研究进展与思考[J]. 甘肃农业科技, 2007(4): 22-24.
- [5] 程西永,许海霞,董中东,等. 小麦航天诱变育种效果研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(7): 598-601.
- [6] 刘录祥,郭会君,赵林妹,等. 我国作物航天育种 20 年的基本成就与展望[J]. 核农学报, 2007, 21(6): 589-592.
- [7] 吴伟刚,刘桂茹,杨学举. 诱变与组织培养相结合在植物育种中的应用[J]. 中国农学通报, 2005, 21(11): 197-201.
- [8] 刘进平,郑成木. 诱变结合植物组织培养在植物育种中的应用[J]. 上海农业学报, 2004, 20(1): 19-22.
- [9] 李玉全. 航天搭载小麦诱变  $SP_1$  代性状的研究[J]. 中国农学通报, 2008, 24(10): 256-259.
- [10] 孙岩. 提高小麦幼胚组织培养效果的初步研究[J]. 黑龙江农业科学, 2004(1): 25-27.
- [11] 李慧敏,赵凤梧,杨建忠,等. 冬小麦轮选 987 航天辐射二代农艺性状变异观察及分析[J]. 华北农学报, 2009, 24(S): 68-71.
- [12] 王美芳,杨会民,杨攀,等. 冬小麦品种航天诱变后代性状分析[J]. 核农学报, 2011, 25(5): 833-838.

## Study on the Effect of Space Treatment on Wheat Tissue Culture

SUN Yan<sup>1</sup>, ZHANG Hong-ji<sup>1</sup>, WANG Guang-jin<sup>2</sup>, LIU Dong-jun<sup>1</sup>, GUO Yi-fan<sup>1</sup>, LIU Wen-lin<sup>1</sup>, ZHAO Yuan-ling<sup>2</sup>

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

**Abstract:** In order to promote the spaceflight mutation breeding and somaclonal variation breeding of spring wheat, taking seed, young ear and young embryo of wheat pure lines 00-0387, 01-0089 and 02-0174 as explants experienced by space treatment. Induce frequency, differentiation frequency and agriculture characters of  $S_1$  generation of space treatment and tissue culture were investigated. The results showed that the mean induce frequency of space treatment and relevant CK exceeded 98%, and there were no difference between them. The mean differentiation frequency of young ear and young embryo through space treatment was lower, and there were different gene type of material between them. Space treatment and space treatment + tissue culture had different effect on agriculture characters of  $S_1$  generation. The effect of space treatment + tissue culture was more protruding.

**Key words:** wheat; space treatment; tissue culture; induce frequency; differentiation frequency; agriculture characters

(该文作者还有杨淑萍,单位同第一作者,王永斌,单位同第三作者)