

可能是植物对盐胁迫的一种应激反应。叶绿素破坏程度小且叶绿素 a/b 高的材料耐盐性可能高<sup>[6]</sup>。渗透调节是植物适应盐害的主要生理调节方式之一。可溶性糖和蛋白是重要的渗透调节物质。高盐胁迫下,可溶性糖和蛋白含量的增加可在一定程度上缓解植物盐害<sup>[11]</sup>。所以它们含量的变化可以在一定程度上反映植物的耐盐能力。

本研究通过盐胁迫下玉米自交系发芽试验,从 200 份玉米自交系中初步筛选获得一份相对耐盐自交系 NY71。以  $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$  对玉米自交系 NY71 幼苗进行胁迫处理,耐盐玉米自交系齐 319 和盐敏感自交系郑 58 为对照。分别测量幼苗的含水量、干重、盐害指数、叶绿素含量及可溶性糖和蛋白的含量。结果表明,盐胁迫下玉米幼苗含水量和干重都明显降低,但自交系 NY71 与耐盐玉米自交系齐 319 的含水量与干重相近,却明显高于盐敏感自交系郑 58;自交系 NY71 盐害指数与齐 319 相似,明显低于郑 58;自交系 NY71 叶绿素含量和叶绿素 a/b 高于郑 58,且与齐 319 相近;自交系 NY71 可溶性糖和蛋白的含量与齐 319 相似,高于郑 58。这些现象与前人的研究结果相似,充分说明自交系 NY71 耐盐能力相对较强,与耐盐自交系齐 319 耐盐能力相近,同时明显高于盐敏感自交系郑 58,为耐盐自交系。所以,本研究通过综合分析在盐胁迫下玉米幼苗表型的变化和生理生化指标的变化来共同确定自交系耐盐能力是一种行之有效的方法。这种方法为耐盐玉米自交系的筛选提供了理论支持

与技术保障,同时也为耐盐玉米品种的选育提供了重要保障。

### 参考文献:

- [1] 罗斌.我国的盐碱化土地与治理技术[J].林业科技通讯,1994(3):8-10.
- [2] 龚明,李英,曹宗巽.植物体内的钙信使系统[J].植物学通报,1998,7(3):19-29.
- [3] Gao Y, Liu Y, Wu M, et al. Ability to remove  $\text{Na}^+$  and retain  $\text{K}^+$  correlates with salt tolerance in two maize inbred lines seedlings[J]. Front Plant Sci, 2016, 16(7):1716.
- [4] 王丽燕,赵可夫.玉米幼苗对盐胁迫的生理响应[J].作物学报,2005,31(2):264-266.
- [5] 许兴,李树华,惠红霞,等.胁迫对小麦幼苗生长、叶绿素含量及  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  吸收的影响[J].西北植物学报,2002,22(2):278-284.
- [6] 曹让,梁宗锁,武永军.分根交替渗透胁迫下玉米幼苗叶片中游离氨基酸的变化[J].干旱地区农业研究,2004,22(1):49-54.
- [7] 於丙军,罗庆云,刘友良.盐胁迫对盐生野大豆生长和离子分布的影响[J].作物学报,2001,27(6):776-780.
- [8] 张宪政.作物生理研究法[M].北京:农业出版社,1992.
- [9] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2003.
- [10] Pandolfi C, Azzarello E, Mancuso S, et al. Acclimation improves salt stress tolerance in Zea mays plants[J]. J Plant Physiol, 2016, 201(20):1-8.
- [11] Chyzhykova O A, Palladina T O. The role of amino acids and sugars in supporting of osmotic homeostasis in maize seedlings under salinization conditions and treatment with synthetic growth regulators[J]. Ukr Biokhim Zh, 2006, 78(1):124-129.

## Salt Tolerance Identification of Maize Inbred Lines

LI Liang, GAO Ming-bo, YU Qing-tao

(Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150029)

**Abstract:** In order to select salt tolerance maize inbred lines for the salt tolerance maize variety breeding, 200 maize inbred lines germination rate was detected under salt stress. A maize inbred lines NY71 germination rate was the highest. NY71 was identified as a salt tolerance maize line by the determination of maize seeding dry weight, water content, salt stress index, chlorophyll content and osmotic adjustment substance content.

**Keywords:** maize; salt tolerance; salt stress index

# 纳米处理对小麦幼胚组织培养效果及其 S<sub>1</sub>变异的影响

孙 岩<sup>1</sup>,张宏纪<sup>1</sup>,刘东军<sup>1</sup>,刘文林<sup>1</sup>,王广金<sup>2</sup>,杨淑萍<sup>1</sup>,林婷婷<sup>1</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 大豆研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**为了探明纳米处理对小麦幼胚组织培养效果及后代体细胞无性系变异的影响,2013-2015 年以纯系龙 0632 和九三 6529 为试材,用 FLM 强功能陶瓷纳米器处理过的水配制培养基进行组织培养,并以正常组织培养作对照,研究了纳米处理对幼胚组培诱导频率和分化频率及其 S<sub>1</sub> 主要农艺性状的变化。结果表明:经纳米处理的 2 份试材的平均分化率为 9.3%,未经处理的为 5.4%。纳米处理 S<sub>1</sub> 株高的平均变异率为 4.7%,穗长平均变异率为 2.1%,入选株率为 7.1%;未经处理的分别为 0.4%,1.0%和 2.7%。可见纳米处理可以提高小麦幼胚组织培养效果和后代的变异频率,有助于小麦体细胞无性系变异育种。

**关键词:**小麦;纳米处理;组织培养;体细胞变异

**中图分类号:**S512.035 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)02-0018-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.02.0018

小麦是我国主要的粮食作物之一。黑龙江省是我国重要的春小麦产区,小麦生产对满足人们的膳食需求,保证国家粮食安全,调整种植业结构和建立科学的轮作体系都具有重要意义。20 多年来,通过广大育种工作者的不懈努力,已选育推广了一批产量较高、品质较好的小麦新品种,为黑龙江省农业生产做出了贡献。但因小麦优异资源匮乏,育种方法相对滞后,尚未选育出产量高、品质佳、抗逆性强的突破性品种。由于大面积种植的小麦在产量、品质和抗逆性等方面尚不能满足生产需要,种麦效益日益下降,面积不断下滑。玉米种植区不断北移,挤占了小麦传统的种植区域,使科学的轮作体系遭到破坏,对种植业结构调整和农业生产的可持续性发展带来不利影响。因此,尽快选育推广产量突出、品质优异和抗逆性更强的小麦品种是育种工作者的重要任务。

利用小麦和水稻等谷类作物的幼胚等外植体进行组织培养,具有取材方便、操作简单和诱导频

率高等特点,被广泛用于体细胞无性系变异育种<sup>[1-6]</sup>。已建立了较完备的组织培养、离体诱变和突变体筛选的体细胞变异育种体系,并选育推广了一批小麦新品种<sup>[7-8]</sup>。

纳米科学技术(Nano-ST)是 20 世纪 80 年代末诞生并正在兴起的新技术。利用该技术通过直接操作原子、分子来创制新材料和获得新性能。纳米技术在农业各领域(如种植业、养殖业、环境保护和农副产品加工等)都得到广泛应用,已取得重要的研究成果,并显示出了十分广阔的发展前景<sup>[9-12]</sup>。大量研究表明,用纳米器件处理,增强了水的活性,可活化细胞与组织,能促进种子萌发,加快植株生长发育,提高作物产量,改善产品品质<sup>[13-17]</sup>。纳米技术与生物技术结合在体细胞无性系变异育种上的研究尚鲜见报道。本研究的目的是在小麦组织培养上利用纳米处理产生的独特生物学效应,提高组织培养效果和体细胞无性系变异频率,为小麦种质创新和新品种选育开创新途径。为此,从 2013-2015 年进行了相关研究,现将初步结果予以报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为小麦高代纯系龙 0632 和九

收稿日期:2017-01-14

基金项目:哈尔滨市科技局科技创新人才研究专项资金资助项目(2016RAQXJ212);国家重点研发计划资助项目(2016YFD0102101)

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。

三 6529。

1.2 方法

1.2.1 纳米处理 利用 FLM 强功能陶瓷纳米器处理纯蒸馏水 3 h,之后用此纯蒸馏水配制培养基。用未经纳米器处理的纯蒸馏水配制培养基作为对照。

1.2.2 幼胚接种 在小麦开花 14 d 后,取其麦穗,剥取幼胚,在无菌条件下用 70% 酒精浸泡 30 s,无菌水冲洗 2 次,0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 7~8 min,无菌水漂洗 3 次后接种。每个三角瓶接置 10 枚幼胚,诱导培养基为 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,pH5.8,分化培养基为 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,pH5.8。

1.2.3 愈伤组织的诱导与分化培养 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,统计诱导频率。继代培养一次后,将胚性愈伤组织转接到分化培养基上进行分化培养。培养室温度(23±1)℃,光照强度 2 000 lx,每日光照培养 12 h。调查分化情况,统计分化频率。

1.2.4 再生苗培养 将分化出的绿苗移栽在钵钵中,置于温室继续培养,常规管理,直至成熟。

成熟后按株收获脱粒。

1.2.5 S<sub>1</sub>群体构建与农艺性状调查 将温室收获的种子按株行点播,并点播未经组培的纯系材料为对照。株距 5 cm,小行距 15 cm,大行距 40 cm。正常管理,并进行生育情况调查。成熟后调查每株的株高和穗长,将 S<sub>1</sub> 植株的株高和穗长与对照株高和穗长的平均值之差≥或≤3 倍离均差(s)的植株定为变异株。按育种目标进行选择株。另外,从处理和对照中随机取 20 株考种,考查农艺性状。

2 结果与分析

2.1 纳米处理的组培效果

从 2013-2014 年组培结果看出(见表 1),试材龙 0632 和九三 6529 纳米处理组培和相应组培对照的诱导频率在 98.3%~100.0%,基因型和纳米处理与否在诱导频率上无差异。在分化频率上,2013 年龙 0632 纳米处理的为 7.0%,未经处理的对照为 8.5%,差异不明显;2014 年纳米处理的为 1.4%,未经处理的对照为 1.9%,差异也不明显。2013 年九三 6529 纳米处理的分化频率为 7.7%,未经处理的对照为 2.5%,差异达显著水平;2014 年纳米处理的为 21.2%,未经处理的对照为 8.5%,差异达极显著水平。纳米处理可以提高幼胚组培的分化频率。

表 1 纳米处理对幼胚组培的影响

Table 1 Effect of nano treatment on young embryo tissue culture								
年份 Year	材料 Materials	处理 Treatments	接种幼胚数/枚 number of young embryo	出愈数/枚 Callus	诱导频率/% Fre. of induction	胚性愈伤数/枚 Number of embryo ogenic callus	再生苗数/枚 Regenerated seedling	分化频率/% Fre. of regeneration
2013	龙 0632	纳米	500	499	99.8 a	428	30	7.0 a
		组培	500	500	100.0 a	485	41	8.5 a
	九三 6529	纳米	500	500	100.0 a	351	27	7.7 a
		组培	500	496	99.2 a	365	9	2.5 b
2014	龙 0632	纳米	300	296	98.7 a	286	4	1.4 a
		组培	300	295	98.3 a	269	5	1.9 a
	九三 6529	纳米	300	297	99.0 a	288	61	21.2 aA
		组培	300	298	99.3 a	236	20	8.5 bB

2.2 纳米处理对幼胚组培 S<sub>1</sub> 农艺性状的影响

从 2015 年 S<sub>1</sub> 植株的考种结果看出(见表 2),龙 0632 纳米处理的株高与未经处理组培的株高相近,但分别较对照高 2.8 和 2.5 cm;主穗粒数

分别多 8.2 和 5.7 粒,主穗粒重分别重 0.4 和 0.2 g,单株粒重分别重 0.4 和 3.4 g。总体来看龙 0632 纳米处理组培的主穗粒数和单株粒重增加较多。从主要农艺性状的变异系数来看,龙

0632 纳米处理组培和未经处理组培主要农艺性状的变异系数大都高于对照。九三 6529 纳米处理组培的株高和未经处理组培的株高分别较对照矮 7.5 和 1.0 cm,穗长分别短 1.0 和 1.5 cm,主穗有效小穗数分别少 0.7 和 2.0 个,主穗粒数分别少 4.4 和 8.8 粒,主穗粒重分别少 0.3 和 0.5 g,单株粒重分别少 3.6 和 2.8 g。总体来看,九三 6529 纳米处理组培的株高最矮,纳米处理组培和

未经处理组培的主要农艺性状都不及对照。从主要农艺性状的变异系数来看,九三 6529 纳米处理组培和未经处理组培主要农艺性状的变异系数大都高于对照。两份试材纳米处理组培和未处理组培主要农艺性状的变异系数与其相应对照相比有较大差异,表明纳米处理组培和未处理组培 S<sub>1</sub> 的主要农艺性状都有一定变化。

表 2 纳米处理对组培 S<sub>1</sub> 主要农艺性状的影响

Table 2 Effect of nano treatment on important agricultural character for S<sub>1</sub> generation

材料 Materials	处理 Treatments	株高/cm Hight of plant		穗长/cm Length of spike		主穗有效 小穗数/个 Number of fertile spike		主穗粒数/个 N umber of kernel/spike		主穗粒重/g Weight of kernel per spike		单株粒重/g Weight of kernel per spike	
		均值 Mean	变异系 数/% C. V.	均值 Mean	变异系 数/% C. V.	均值 Mean	变异系 数/% C. V.	均值 Mean	变异系 数/% C. V.	均值 Mean	变异系 数/% C. V.	均值 Mean	变异系 数/% C. V.
龙 0632 Long0632	纳米	89.1±4.01	4.50	12.5±0.85	6.80	17.7±1.25	7.06	52.6±3.44	6.54	2.3±0.17	7.39	11.5±2.92	25.39
	组培	88.8±3.22	3.63	12.3±0.95	7.72	17.9±2.18	12.18	50.1±7.31	14.59	2.1±0.33	15.71	14.5±4.74	32.69
	对照	86.3±2.98	3.45	11.3±0.48	4.25	17.8±1.32	7.42	44.4±3.01	6.78	1.9±0.20	10.53	11.1±2.10	18.92
九三 6529 93-6529	纳米	82.6±3.20	3.87	12.1±0.57	4.71	19.6±1.58	8.06	47.9±6.87	14.34	1.9±0.27	14.21	9.6±1.55	16.15
	组培	89.1±3.35	3.76	11.6±0.97	8.36	18.3±2.00	10.93	43.5±5.17	11.89	1.7±0.26	15.29	10.4±3.82	36.73
	对照	90.1±2.42	2.69	13.1±1.10	8.40	20.3±1.09	5.37	52.3±5.98	11.43	2.2±0.21	9.55	13.2±3.29	24.92

2.3 纳米处理对幼胚组培 S<sub>1</sub> 变异的影响

从 2015 年龙 0632 和九三 6529 纳米处理和未处理组培 S<sub>1</sub> 株高和穗长的变异情况看出(见表 3),纳米处理组培和未处理组培的高株变异率均为 0。龙 0632 纳米处理组培 S<sub>1</sub> 矮秆变异率为 1.3%,穗长变异率为 2.8%,入选株率为 4.1%;未处理组培 S<sub>1</sub> 矮秆变异率为 0.8%,穗长变异率

为 2.0%,入选率为 2.8%。九三 6529 纳米处理组培 S<sub>1</sub> 矮秆变异率为 8.1%,穗长变异率为 1.3%,入选率为 10.0%;未处理组培 S<sub>1</sub> 未发现株高和穗长变异,入选率为 2.6%。由此可以看出,纳米处理组培 S<sub>1</sub> 的株高和穗长变异率与入选率均高于未处理组培。

表 3 纳米处理对幼胚组培 S<sub>1</sub> 变异的影响

Table 3 Effect of nano treatment on mutation for S<sub>1</sub> generation

材料 Materials	处理 Treatments	总株数 Number of plant	株高变异 Mutation of plant hight			穗长变异 Mutation of spike			入选株 Select plant	
			高株(高株 率/%) Hight plant (Rate)	矮株(矮 株率/%) Short plant (Rate)	合计 (比例) Total (Rate)	长穗(长 穗率/%) Long spike (Rate)	矮穗(矮 穗率/%) Short spike (Rate)	合计(比例) Total (Rate)	入选株 Select plant	入选率/% Rate of select
龙 0632 Long0632	纳米	317	0	4(1.3)	4(1.3)	9(2.8)	0	9(2.8)	13	4.1
	组培	400	0	3(0.8)	3(0.8)	6(1.5)	2(0.5)	8(2.0)	11	2.8
九三 6529 93-6529	纳米	160	0	13(8.1)	13(8.1)	0	2(1.3)	2(1.3)	16	10.0
	组培	39	0	0	0	0	0	0	1	2.6