

新疆小麦幼穗组织培养效应研究*

李艳红 祝长青 覃建兵

摘 要 高频植株再生体系的建立,是作物遗传改良的前提和基础。本试验以新疆主栽的 35 个小麦品系为试验材料,进行了组织培养效应研究。结果表明,不同基因型幼穗愈伤组织诱导率、生根率不存在显著的基因型效应,绿苗率存在显著的基因型效应,愈伤组织的平均诱导率、生根率和绿苗率分别为 100%、99.90% 和 34.83%,绿苗率最高可达 57.55%,冬小麦与春小麦品系分化率差异不显著,初步确定新春 20 和新春 15 可作为新疆小麦遗传改良的理想材料。

关键词 新疆小麦;幼穗;组织培养;植株再生

小麦是世界上种植面积最大的粮食作物。利用基因工程提高产量、改良品质一直是小麦等粮食作物改良的核心,植物组织培养技术再生出可育植株是植物基因工程成功的重要基础和保证^[1-3]。研究小麦组织培养条件和植株再生频率的影响因素是小麦生物技术育种中一个亟待解决的课题^[4,5]。目前研究报道的小麦外植体有幼胚、幼穗、幼叶、顶端分生组织、成熟胚等,公认最好的外植体为幼胚,其愈伤组织诱导和植株再生能力最强^[4,6];也有研究表明用适期的幼穗作外植体诱导出的愈伤组织的再生能力一般比常用的幼胚更理想,不仅植株再生频率高,且在长期继代培养过程中能保持较高的再生能力^[7]。以幼穗作为外植体,另有取材方便,操作简便等优点。

小麦是新疆的主要粮食作物,目前由主栽品种制成的面包品质普遍较差。本试验对新疆主栽的 35 个小麦品系进行了组织培养,建立了新疆小麦植株再生体系,为快速培育优良新疆小麦新种质奠定基础。

作者简介:李艳红,硕士研究生,主要从事植物分子生物学方面的研究,新疆师范大学生命科学与化学学院,830054,新疆乌鲁木齐

祝长青,覃建兵(通讯作者),通讯地址同第 1 作者

*基金项目:新疆维吾尔自治区教育厅项目(XJNU2007S27);科技厅科技支撑项目;新疆师范大学 2007 年研究生创新基金(200718)

收稿日期:2008-02-27;修回日期:2008-04-09

1 材料与方法

1.1 试验材料与方法

选用新疆主栽的 35 个小麦品系,春小麦和冬小麦均由新疆农业科学院提供。

选取 0.5~2cm 的幼穗消毒后,切成 0.2cm 左右的小穗段,接种于诱导培养基 L7-V(含 2,4-D 1mg/L)^[8];分化阶段采用 R 培养基(含 KT 3mg/L 和 2,4-D 0.01mg/L)。分化培养基配方参照参考文献[4]。外植体诱导阶段温度为 25(±1)℃,暗培养;分化阶段温度为 25(±1)℃,12h 光/12h 暗,光照强度 2 000lx。

1.2 测定项目与方法

外植体接种到诱导培养基 30d 后,统计诱导率;分化培养 30d 后统计再生分化率。计算公式如下:

愈伤组织诱导率 = 诱导出愈伤组织块数/接种的外植体数 × 100%

生根率 = 生根愈伤组织块数/接种的外植体数 × 100%

绿苗率 = 具分化再生苗能力的愈伤组织块数/接种的外植体数 × 100%

数据处理采用 SPSS 统计软件,显著分析采用 Duncan's 新复极差检验法。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

外植体接种 5d 后,部分开始出现膨大变形、黄绿色逐渐变为苍白色;接种 15d 后所有基因型均诱导出愈伤组织,颜色大多呈浅黄色、有光泽,生长旺盛(见图 1);30d 后统计分析,不同基因型间的愈伤组织诱导率不存在基因型效应,外植体愈伤组织诱导率均为 100%,愈伤组织的平均直径为 0.4cm(见图 2)。

2.2 愈伤组织的分化

愈伤组织在分化培养基上分化培养 1d 后即可观察到绿点的出现,5d 后可明显观察到绿点,10d

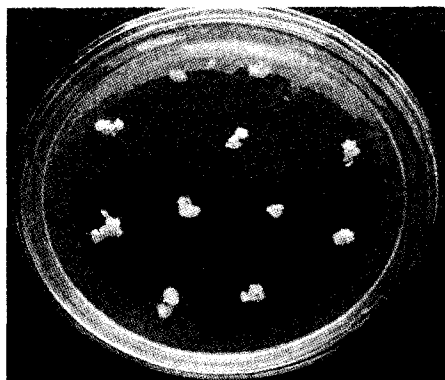


图1 诱导培养基上培养 15d

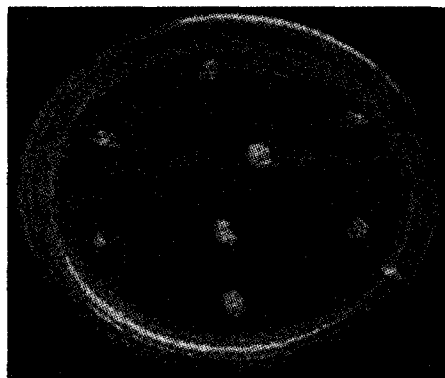


图2 诱导培养基上培养 30d

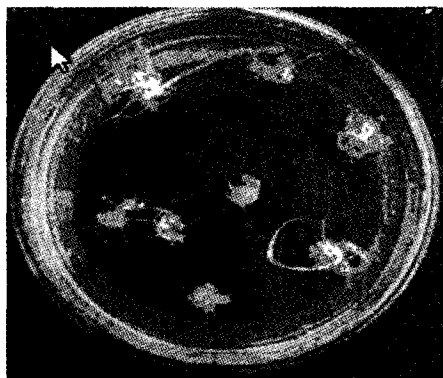


图3 分化培养基上分化 10d

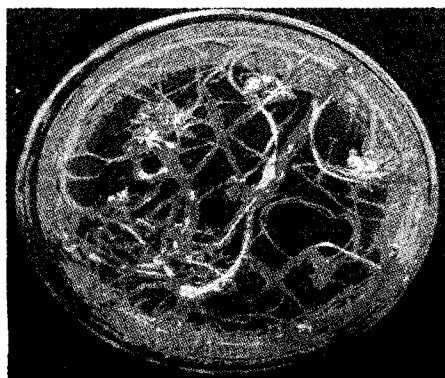


图4 分化培养基上分化 30d

后可观察到叶和根的分化(见图3),30d后可明显观察到绿苗(见图4)。由表1可见,35个愈伤组织的平均生根率和绿苗率分别为99.92%和34.83%,绿苗率最高为57.55%;相同培养条件下,对照材料(Bobwhite)的生根率和绿苗率分别达100%和86.25%。与对照相比,选取的新疆主栽35个小麦品系的植株再生能力相对较弱。不同基因型间比较,生根率无显著的基因型效应,而绿苗率存在显著的基因型效应。

表1 不同基因型小麦幼穗愈伤组织的诱导与分化结果

品种	接种数 (块)	诱导率 (%)	生根率 (%)	绿苗率 (%)
Bobwhite(CK)	50	100	100	86.25 ± 3.75
新冬17	120	100	100	42.35 ± 0.54cd
新冬22	104	100	100	24.99 ± 0.65j
新冬23	108	100	100	36.23 ± 10.17efgh
新冬24	114	100	100	37.21 ± 9.89defg
新冬28	100	100	100	38.75 ± 9.43de
石冬7	120	100	100	31.35 ± 2.98hi
石冬8	112	100	100	35.03 ± 3.84efgh
石冬9	100	100	100	32.18 ± 2.41ghi
小偃22	84	100	98.4 ± 1.6	29.12 ± 2.05ij
小偃54	72	100	100	13.55 ± 2.50k
西农88	80	100	100	16.50 ± 1.64k
小黑麦	100	100	100	24.28 ± 0.88j
新春6	92	100	100	31.20 ± 3.04hi
新春8	80	100	100	37.85 ± 2.86defg
新春9	84	100	100	33.55 ± 0.1efghi
新春10	112	100	100	30.78 ± 0.66hi
新春11	104	100	100	36.30 ± 1.01efgh
新春12	80	100	100	25.28 ± 0.87j
新春13	82	100	100	37.32 ± 1.72defg
新春14	106	100	100	32.75 ± 2.99fghi
新春15	110	100	100	54.50 ± 0.58a
新春16	108	100	100	46.73 ± 1.04bc
新春17	106	100	100	48.53 ± 3.97b
新春18	90	100	100	24.18 ± 2.11j
新春19	100	100	100	35.35 ± 4.15efgh
新春20	120	100	100	57.55 ± 1.76a
新春21	81	100	98.9 ± 1.1	37.55 ± 1.22defg
新春24	108	100	100	17.33 ± 0.84k
新春25	86	100	100	38.33 ± 0.71def
Y20	104	100	100	45.13 ± 0.63bc
宁春6	120	100	100	42.10 ± 1.13cd
吐春9	142	100	100	44.00 ± 0.91bc
巴春6	142	100	100	32.78 ± 0.49fghi
昌春6	168	100	100	33.55 ± 0.33efghi
龙麦26	84	100	100	35.05 ± 0.49efgh

注:接种数为每个处理内6个重复的总块数;同列数字后不同小写字母表示在0.05水平上差异显著

2.3 冬小麦与春小麦的分化比较

通过冬小麦与春小麦的分化比较,统计分析表明,二者的生根率、绿苗率无显著差异(见表2),说明在相同的培养条件下冬小麦与春小麦品系幼穗的分化率差异不显著。

表2 冬小麦与春小麦诱导、分化比较

品种	接种数(块)	诱导率(%)	生根率(%)	绿苗率(%)
春小麦	2410	100	99.90 ± 0.10	36.75 ± 9.53
冬小麦	1214	100	99.80 ± 0.20	30.66 ± 9.09

3 讨论

新疆小麦组织培养再生方面的研究较少,目前主要集中在蛋白质组成分析及品质生态方面^[8],优质小麦新品种的培育速度较慢。本试验在相同的培养条件下对新疆主栽的35个小麦品种幼穗进行组织培养效应研究,寻找再生能力强的品种,为遗传转化提供有效的受体材料。通过不同基因型幼穗培养效果的比较,发现不同品种幼穗愈伤组织的诱导及分化不存在显著的基因型效应,分化阶段的绿苗率存在显著的基因型效应,这与覃建兵等^[4]的结果一致。愈伤组织诱导率、生根率、绿苗率平均达100%、99.90%、34.83%,其中新春15、新春20绿苗率相对较高,分别达54.50%、57.55%,并初步确定为新疆小麦遗传改良的理想受体材料,但与对照材料Bobwhite(同样

条件下培养平均绿苗率达86.25%)相比绿苗率仍较低。

通过对冬小麦与春小麦培养效果的比较,发现分化率差异不显著,但本研究中采用的冬小麦与春小麦品种种植季节不同,可能在一定程度上影响幼穗生理时期,是否对组织培养基因型效应有一定的影响有待进一步研究。

参考文献

- 1 Vasil V, Castillo A M, Fromm M E, et al. Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus. *Bio/Technology*, 1992, (10): 667 ~ 674
- 2 He GY, Lazzeri P A. Improvement of somatic embryogenesis and plant regeneration from durum wheat scutellum and inflorescence cultures. *Euphytica*, 2001, 199: 369 ~ 376
- 3 安海龙, 卫志明, 黄健秋. 小麦幼胚培养高效成株系统的建立. *植物生理学报*, 2000, 26(6): 532 ~ 538
- 4 覃建兵, 何光源. 不同小麦基因型及不同外植体离体培养研究初探. *华中农业大学学报*, 2001, 20(6): 522 ~ 527
- 5 何勇刚, 林刚, 刘曼西等. 小麦不同生理状态的幼穗和幼胚盾片与诱导分化能力关系的研究. *武汉植物学研究*, 2001, 19(5): 363 ~ 368
- 6 He GY, Rooke L, Cannell, et al. Current status of transformation in bread and durum wheats and modifications of gluten quality. *Acta Agronomica Hungarica*, 1998, 46(4): 449 ~ 462
- 7 郑企成, 朱门兰, 陈文华. 八倍体小黑麦单倍性胚性细胞无性系的建立. *植物学报*, 1987, 9(4): 367 ~ 372
- 8 陈荣毅, 王荣栋, 孔军等. 新疆小麦品质生态研究(上). *新疆农业科学*, 2005, 42(6): 369 ~ 376

Study on Inflorescence Tissue Culture of Various Wheat Cultivars in Xinjiang

Li Yanhong, Zhu Changqing, Qin Jianbing

(College of Life Science and Chemistry, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, Xinjiang, China)

Abstract Selection of genotypes is important for establishing efficient plant regeneration systems. In this study, 35 wheat cultivars in Xinjiang were used as experimental materials to analyze effects of inflorescence tissue culture. The results showed that no remarkable effect of genotypes were observed on callus induction and rooting, but the remarkable effect on green plant regeneration was obtained. The total average frequency of callus induction, rooting and green plant regeneration were 100%, 99.90% and 34.83%, respectively. The highest frequency of the green plant regeneration reached 57.55%. There was no significant difference in plant regeneration between spring and winter wheat cultivars. Xinchun 20 and Xinchun 15 were suggested to be used as efficient target materials for future studies and breeding.

Key words *Triticum aestivum* L.; Inflorescence; Tissue culture; Plant regeneration