遗传 HEREDITAS 1(6): 31—33 1979

一个适于小麦花药培养的合成培养基

陈玉蓉 王 培1)
（河北省农作物研究所）

在通过花药培养产生花粉植株、建立花粉单倍体育种法的研究中，如何不断改进培养基、提高花粉植株的诱导频率，是一个十分重要的问题。1977—1978 年我们对一个小麦花药合成培养基——麦基一号培养基[1]做了一些改进试验，获得显著效果。现将试验情况和结果简要介绍如下。

材料和方法

试验用材料为普通小麦(*Triticum aestivum*)杂种第一代，共 60 余个组合。材料在三种条件下栽培，即温室栽培、秋播大田栽培、顶凌春播栽培。接种时花药中的花粉处于单核中晚期。接种前幼穗在 0.1% 升汞液中消毒 10 分钟，然后用无菌水冲洗 4 次。在无菌条件下接种。

诱导花药产生花粉愈伤组织的温度为 20—25℃；诱导花粉愈伤组织分化苗的温度为 24—28℃。培养室每日用日光灯照明 10—12 小时。

试验中以原来的麦基一号培养基和 N_6 培养基[2]为对照。N_6 培养基附加 2，4-D 2 毫克/升、激动素 0.5 毫克/升。蔗糖 9%、琼脂 0.9%、pH5.8。

结 果

培养基的改进试验概括起来做了两方面的工作。

（一）硝态氮和铵态氮的调整试验

氮源是培养基的重要成份。氮源的种类和含量影响着离体植物细胞的生长和分化。一般说，铵态氮的含量过高对细胞有毒害作用。据中国科学院北京植物研究所报道[2]：在水稻等禾谷类作物的花药培养中，铵离子浓度以 7 毫克分子（相当于 3.5m*M* 硫酸铵）最适宜。我们参照这一经验，在麦基一号培养基的基础上，在保持总氮量 420 毫克/升 不变的条件下，以硫酸铵和硝酸钾为氮源（取消原来麦基一号中的硝酸铵），将铵离子浓度由原来的 10.3 毫克分子降低到 7 毫克分子，将硝酸根离子由原来的 19.7 毫克分子增加到 23 毫克分子，调整了麦基一号培养基中的硝态氮和铵态氮的比率。调整后的大量无机盐成分为 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 220 毫克/升、KNO_3 2321 毫克/升、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 185 毫克/升、KH_2PO_4 275 毫克/升、$(NH_4)_2SO_4$ 463 毫克/升。为了方便起见，我们把这一新培养基称为 C 培养基。

我们将 C 培养基与麦基一号培养基诱导花粉愈伤组织的效果进行了比较。结果列于表 1。

表 1 所列资料中，C 培养基与麦基一号培养基各接种二十个左右组合，五千个左右花药，

表 1 C、麦基一号培养基诱导愈伤组织的效果 (1977)

培养基	接种组合	花药接种（个）	出愈花药（个）	愈伤组织诱导率(%)
麦基一号	17	4652	38	0.82
C	21	5957	109	1.83

1) 先后参加试验工作的还有冉英、蔡文霞、武金铭、韩淑莲、张风云、封树平。

表 2　C 培养基与 N_6 培养基诱导愈伤组织效果的比较　(1978)

组合名称	C 培养基			N_6 培养基		
	接种花药（个）	出愈花药（个）	诱导率（%）	接种花药（个）	出愈花药（个）	诱导率（%）
(辉县红×小偃 4 号)×(向$_4$×格涅斯)	948	26	2.74	333	7	2.10
(小黑麦矮分枝×甘 71-1) F_5×(向$_4$×咸农 24216)	571	37	6.48	308	21	6.82
太山 5 号×(咸矮一号×格涅斯)	1082	40	3.40	660	8	1.21
(偃大 72-629×昌潍 18) F_1×太山 5 号	1078	27	2.50	938	20	2.13
太山 5 号×[(佛郎塔×矮丰一号)×向$_4$]	696	24	3.45	609	10	1.64
(12040×钱尼) F_1×偃大 72-629	1654	98	5.93	367	6	1.64
(小黑麦矮分枝×甘 71-1) F_5×太山 5 号	1068	79	7.40	1054	21	1.99
(小黑麦矮分枝×甘 71-1) F_5×(向$_4$×格涅斯)	453	16	3.53	640	29	4.53
(向$_4$×格涅斯)×(咸矮一号×格涅斯)	1123	49	4.36	656	14	2.15
(12040×昌潍 18) F_2	808	33	4.08	746	9	1.21
(小黑麦矮分枝×甘71-1)×(咸农24216×偃大72-629)	305	4	1.31	131	0	0
(阿夫×耐雪麦)×[(ST×石$_{34}$)×65(14)4-12-3-3]	1215	43	3.54	237	0	0
品 85×郑六矮	228	1	0.35	135	0	0

注：(1) 除 F_2 代组合已注明外，其他均为F_1代材料。
(2) 试验采用顶凌春播小麦上的花药。

表 3　C 和 N_6 培养基诱导愈伤组织和绿苗的效果　(1978)

接种次数	培养基	接种组合	接种花药（个）	出愈花药（个）	诱导率（%）	出愈组合		出绿苗组合	
						数	%	数	%
第一次	C	44	37357	856	2.48	42	95.5	27	61.4
	N_6	44	31923	421	1.32	41	93.2	24	54.5
第二次	C	23	17994	743	4.13	23	100	19	82.7
	N_6	23	10726	238	2.22	22	91.7	12	52.2

愈伤组织诱导率分别为 1.83% 和 0.82%。证明C培养基比麦基一号培养基诱导效果高一倍多。

为了进一步考验C培养基的效果，我们还把它和近年来广泛应用于各种禾谷类作物花药培养的 N_6 培养基做了比较。把 13 个杂交组合的花药按组合分别接种在这两种培养基上，观察在这两种培养基上的诱导效果。结果如表 2 所示，在 13 个组合当中，有 11 个组合（84.6%）表现C培养基的出愈率比 N_6 培养基高。提高的幅度从略有提高到提高 2.7 倍不等。有三个组合在 N_6 培养基上完全没有诱导出愈伤组织，而在C培养基上的诱导率为 0.35—3.54%。

我们还用C培养基和 N_6 培养基进行了另外两次试验。一次是在 1978 年 4 月下旬，从适期播种的材料上取花药接种。C 培养基和 N_6 培养基各接种44个组合，三万多个花药，愈伤组织总诱导率分别为 2.48% 和 1.32%（表 3)。另一次是 1978 年 5 月中旬，从早春顶凌播种的材料取花药接种。C 培养基共接种 23 个组合，约一万八千个花药。N_6 培养基上也接种 23 个组合，一万多个花药。结果C培养基 100% 的组合诱导出愈伤组织，总诱导率为 4.13%。N_6 培养基 91.7% 的组合诱导出愈伤组织，总诱导率为 2.22%（表 3)。再次证明C培养基比 N_6 培养基诱导愈伤组织的频率提高将近一倍。

C 培养基上诱导的愈伤组织的质量也较好。从表 3 可以看出：无论是用适时麦的花药接种，还是用顶凌麦的花药接种，C 培养基上产生的愈伤组织经转移到分化培养基后，其分化

表 4　C_1 和 C 培养基诱导效果试验　(1978)

组合名称 \ 培养基 / 调查项目	C 培养基			C_1 培养基		
	接种花药（个）	出愈花药（个）	诱导率（%）	接种花药（个）	出愈花药（个）	诱导率（%）
[(小黑麦矮分枝 × 71-1) F_5 × 75-3369] F_1	806	16	1.99	768	26	3.39
(12040 × 钱尼) F_1	744	5	0.67	694	7	1.01

注：试验采用温室小麦幼穗接种

绿苗的组合数均高于 N_6 培养基上产生的愈伤组织。

（二）取消微量元素中钼酸钠的试验

1977 年我们以 N_6 培养基的大量元素为基本成分，对微量元素部分的硫酸锌、硼酸和钼酸钠的含量做了调整试验。结果看到钼酸钠的含量越少，愈伤组织诱导率越高。不加钼酸钠的效果更好。

根据这一结果，1978 年我们把 C 培养基中的钼酸钠去掉，这个去掉了钼酸钠的 C 培养基，我们称之为 C_1 培养基。

用两个杂交组合的小麦花药，按组合分别接种在 C_1 培养基和原来的 C 培养基上，比较这两个培养基的诱导效果，结果列于表 4。从表 4 可以看出，C_1 培养基和 C 培养基的诱导率分别为 1.01%、3.39% 和 0.67%、1.99%。C_1 培养基的愈伤组织诱导率比 C 培养基几乎高一倍。

C_1 培养基不仅诱导愈伤组织的频率高，而且愈伤组织的质量也较好。1978 年我们曾把 N_6、C、C_1 三种培养基诱导出的愈伤组织都转移到同一种分化培养基上，其分化绿苗率依次为 18.8%、20%、27.3%，以在 C_1 培养基上产生的愈伤组织的绿苗分化率较高。

在试验中还看到，用 C_1 培养基做分化培养基时，愈伤组织分化绿苗较快，并且苗丛颜色深绿，特别是根系发育好。因此我们认为 C_1 培养基是一个适合诱导小麦花药产生花粉愈伤组织和诱导花粉愈伤组织分化绿苗的较好培养基。

整个 C_1 培养基的成分如下(毫克/升)：

$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 220、KNO_3 2321、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 185、$(NH_4)_2SO_4$ 463、KH_2PO_4 275、$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 22.3、$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 8.6、H_3BO_3 6.2、KI 0.83、$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.025、$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.025、$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 27.85、$Na_2 \cdot EDTA \cdot 2H_2O$ 37.25、盐酸硫胺素 0.4、肌醇 100、生物素 0.5、蔗糖 90000、琼脂 9000、pH 5.8。诱导花药产生花粉愈伤组织附加 2,4-D 3 毫克/升、激动素 0.3 毫克/升。诱导愈伤组织分化绿苗附加激动素 2 毫克/升、IAA 0.5 毫克/升、秋水仙素 3 毫克/升、蔗糖浓度降低到 3%、pH 5.8。

参 考 文 献

[1] 山东省昌潍地区农业科学研究所：1975。植物学杂志，2(4)：7—8。

[2] 朱至清、王敬驹、孙敬三、徐　振、朱之垠、尹光初、毕凤云：1975。中国科学，(5)：484—490。

简　讯

建立基因库挽救濒于绝种的高等植物

据有人统计每年约有 200 种高等植物绝种。在全部现有的高等植物中有 10—20% 处于绝种前的危险状态。

为了挽救许多高等植物面临绝种的命运，美国加里福尼亚大学生物系的研究人员提出建立有花植物基因库。他们已经建立了唐菖莆属基因库，有 180 余种，包括全部野生种。

基因库保藏经低温处理的种子和花粉。将采集的种子干燥，真空密封，放在温度低于 18℃ 的冷藏库中，这样可以保存数百年以上时间。一旦需要某种植物而自然界已绝种时，即可用种子繁殖。

（李显文）