

从小麦雄性不育系的未授粉子房 诱导单倍体植株^①

张素芳^② 张召铎 刘植义 沈银柱 司智海

(河北师范大学生物系, 石家庄 050016)

采用 N₆ 培养基为基本培养基, 附加不同水平的生长素, 培养普通小麦、小麦雄性不育系及其保持系共 10 个材料的未授粉子房, 所用的材料都能诱导出愈伤组织, 出愈率在 4.2—38.1%。经分化培养分别从 T 型不育系和太谷核不育材料获得了单倍体植株。供试材料的基因型、培养基中的生长素的种类及用量, 对诱导愈伤组织及分化绿苗有重要的作用。

关键词 小麦雄性不育系, 未授粉子房, 单倍体植株

Induction of Haploid Plants from Unpollinated Ovaries of Male Sterile Lines of Wheat *in vitro*

Zhang Sufang Zhang Zhaoduo Liu Zhiyi Shen Yinzhu Si Zhihai

(Department of Biology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016)

The unpollinated ovaries of male sterile lines and its maintainers of wheat, as well as common wheat, were cultured on N₆ medium *in vitro*, when the pollen of the same panicle were at uninucleate stage. Callus were obtained from all of the materials, haploid plantlets were regenerated from the unpollinated ovaries of *timopheevi* cytoplasm male sterile line (T75-3369A) and Taigu nucleus male sterile line (Tal × C₁⁶⁸⁴).

Key words Male sterile lines of wheat; Unpollinated ovaries; Haploid plants

利用未授粉的子房诱导单倍体植株, 是单倍体育种的又一条新途径, 在育种学、遗传学、胚胎学等基础科学的理论上也有重要的意义。国内外学者在这一领域内进行了长期的研究探索, 先后在水稻⁽¹⁾、小麦^(2,3)、玉米⁽⁴⁾、大麦^(5,7)、烟草⁽²⁾、马铃薯⁽⁶⁾等作物上进行了未授粉子房的离体培养, 并获得了单倍体植株。我们从 1987 年开始进行小麦“三系”的离体子房培养, 分别从太谷核不育系和 T 型细胞质雄性不育系的未授粉子房的培养中获得了单倍体植株, 目前, 国内尚未见到类似的报道。

材料和方法

(一)材料

供试材料为普通小麦 T 型不育系 T75-3369A 及其保持系 75-3369B; 太谷核不育系 Tal ×

①封树林同学参加部分工作。

②现在河北师大附中工作。

C_1^{684} 及其保持系 $C_1^{684}B$; 恢复系 7269-10; T 型杂种一代 T75-3369A × 7269-10 和 T75-3369A × 1386; 普通小麦武选 1 号、小偃 4 号、农林 26; 上述 10 个材料均为河北师大生物系农场种植的稳定材料。

(二)方法

1. 培养基 基本培养基为 N_6 。附加不同的成份(表 1)。培养基在 1.1 千克/厘米² 灭菌 20 分钟。

表 1 培养基的成份及其作用

基 本 培 养 基	培 养 基 编 号	附 加 成 份 (mg/L)					作 用
		2,4-D	IAA	激动素	蔗 糖	琼 脂	
N_6	A	1.5	-	-	80000	11000	诱导愈 伤组织
	B	2.0	-	-	80000	11000	
	C	2.5	-	-	80000	11000	
	I	-	5.0	2	30000	10000	分 化
	II	-	0.5	2	30000	10000	

2. 接种时期及消毒方法 剥取花粉细胞处于单核中期或单核后期小花内的子房进行接种。先用 0.1% 的升汞将麦穗消毒 10 分钟, 无菌水冲洗 3 次, 用无菌滤纸吸干, 剥取子房使子房基部向下接种在固体培养基上。

3. 培养方法 接种的子房在 25℃ 条件下进行暗培养, 待出愈后转入分化培养基, 每天用 45W 灯管补充光照 10—12 小时, 获得的再生植株炼苗移入小花盆中。

结 果 与 讨 论

(一)单倍体植株的诱导

接种 3 天后, 子房开始膨大, 柱头明显张开。10 天后开始出现愈伤组织。从子房基部长出的愈伤组织形状不规则, 表面较粗糙; 从子房侧面裂开长出的愈伤组织, 多为圆球状, 表面较光滑(图版 I, 4)。4 周后, 未长出愈伤组织的子房渐渐变成黄褐色。

将愈伤组织转入分化培养基继续培养, 10 天后, 部分愈伤组织先后长出绿斑、绿芽并分化出根(图版 I, 6)。大多数材料的愈伤组织未能分化。5 周后, 获得的绿色小植株经根尖染色体检查, 为单倍体植株(图版 I, 8)。

(二)影响诱导未授粉子房出愈的因素

1. 外源生长素的含量 同一材料在不同的诱导培养基上的表现不一致(表 2)。T75-3369A 的子房在诱导培养基 A、B、C 上愈伤组织的诱导频率分别为 4.2%, 4.2%, 22.2%; T75-3369A × 7269-10 的诱导频率分别为 5.9%、3.5%、5.1%; $C_1^{684}B$ 的诱导频率分别为 12.5%, 38.1%, 16.7%, 差异明显。以上结果说明, 外源生长素 2,4-D 浓度的大小对诱导愈伤组织有一定的影响, 但这种影响随不同的材料而异, 可能与其内源激素的含量相关。

2. 供试材料的基因型 在同一种培养基上, 不同材料子房出愈率不同。在培养基 A(2,4-D 1.5mg/L)上, $C_1^{684}B$ 出愈率为 12.5%, T75-3369A 仅为 4.2%, 农林 26 则高达 36.1%(表 2)。说明从未授粉子房诱导愈伤组织, 不同基因型的材料诱导物频率明显不同, 可见脱分化启动的难易直接受到基因型的影响。

表 2 不同培养基对诱导小麦未授粉子房愈伤组织的影响

材 料	培养基	接 种 子房数	愈伤组织	
			数	%
T75-3369A	A	24	1	4.2
	B	24	1	4.2
	C	18	4	22.2
T75-3369B	A	57	5	8.8
	B	59	8	13.6
	C	57	10	17.6
T75-3369A × 7269-10	A	68	4	5.9
	B	82	3	3.5
	C	59	3	5.1
T75-3369A × 1386	A	15	1	6.7
	B	27	2	7.4
	C	18	2	11.1
7269-10	A	48	2	4.2
	B	36	0	0
	C	24	0	0
Tal × C ₁ ⁶⁸⁴	A	26	3	11.5
	B	0	0	0
	C	0	0	0
C ₁ ⁶⁸⁴ B	A	24	3	12.5
	B	42	16	38.1
	C	12	2	16.7
农林 26	A	36	13	36.1
	B	104	17	16.3
	C	52	17	32.7
小偃 4 号	A	65	4	6.2
	B	76	12	15.8
	C	69	8	11.6
武选 1 号	A	30	4	13.3
	B	24	1	4.2
	C	30	0	0

(三)不同材料的分化情况

将愈伤组织转移到分化培养基上,培养 10 天后,部分材料长出了根和芽;5 周后, T75-3369A、Tal × C₁⁶⁸⁴ 的愈伤组织经芽长出了绿色小植株。T75-3369A 接种子房总数 66 个,在分化培养基 II 上分化出 1 棵小植株,占接种子房总数的 1.5%。太谷核不育系 Tal × C₁⁶⁸⁴ 接种子房总数为 26 个,在分化培养基 I 上长出 2 棵小植株,占接种子房总数的 7.7%。长成的植株均为绿色植株,无白化苗。其他材料除 T75-3369A × 7269-10 分化出芽外,均未能分化出根和芽(表 3)。

以上结果说明,未授粉子房在适宜的培养基上,经愈伤组织可分化出单倍体植株。以前报道的由小麦未授粉子房诱导单倍体植株,所用的都是小麦可育材料。本试验首次从不育材料诱导出单倍体植株,为小麦雄性不育材料的繁殖提供了一条有效快速的途径,在小麦杂种优势利用的研究上具有重要的意义。

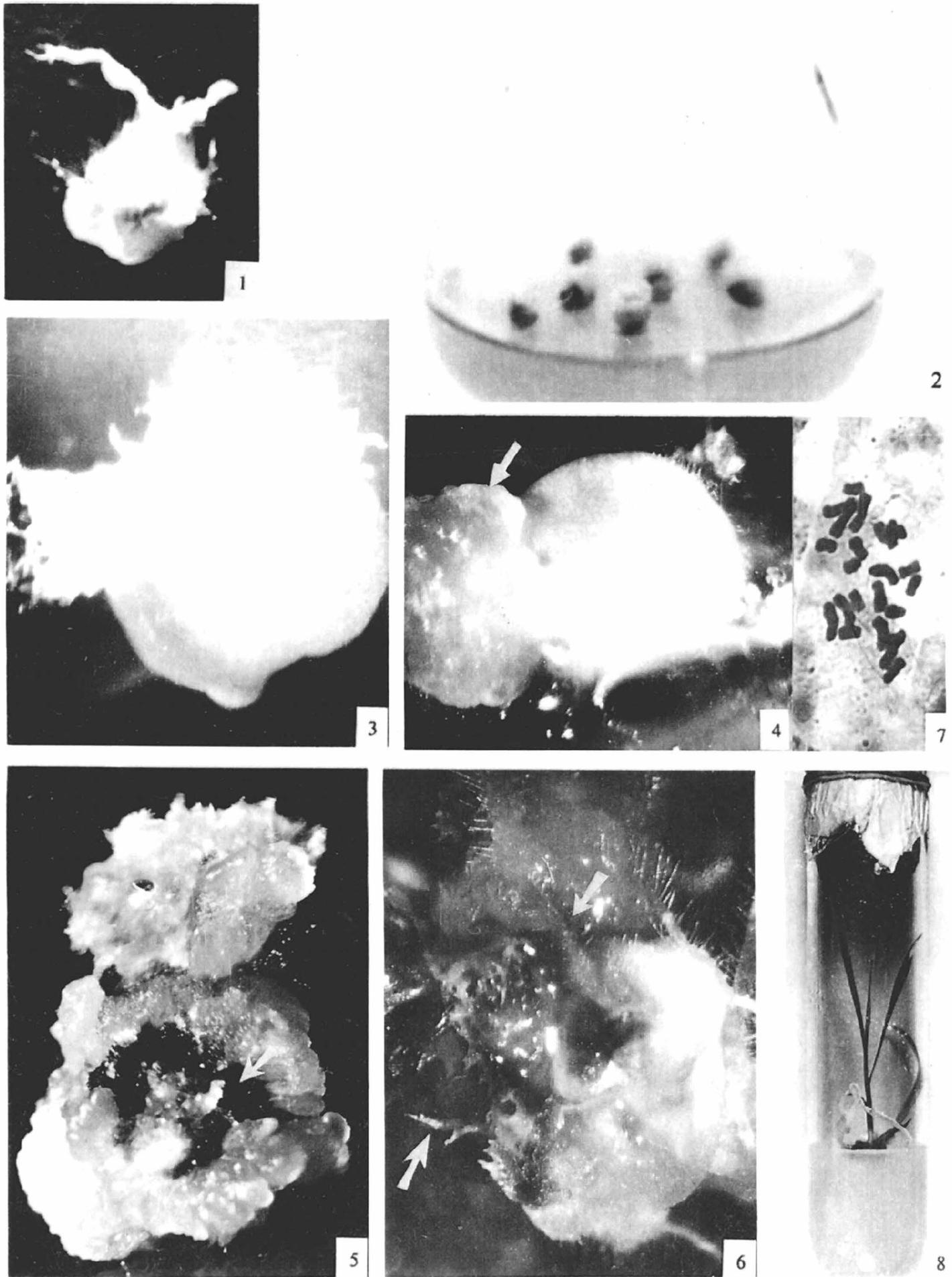
表3 小麦未授粉子房愈伤组织的分化情况

材 料	培养基	愈伤组 织块数	分化根		分化芽		小植株	
			数	%	数	%	数	%
T75-3369A	I	3	0	0	0	0	0	0
	II	3	1	33.3	1	33.3	1	33.3
T75-3369B	I	10	0	0	0	0	0	0
	II	13	0	0	0	0	0	0
T75-3369A × 7269-10	I	4	0	0	2	50	0	0
	II	3	0	0	0	0	0	0
T75-3369A × 1386	I	3	0	0	0	0	0	0
	II	4	0	0	0	0	0	0
7269-10	I	2	0	0	0	0	0	0
	II	4	0	0	0	0	0	0
Tal × C ₁ ⁶⁸⁴	I	3	2	66.7	3	100	2	66.7
	II	2	0	0	0	0	0	0
C ₁ ⁶⁸⁴ B	I	10	0	0	0	0	0	0
	II	11	0	0	0	0	0	0
农林 26	I	25	0	0	0	0	0	0
	II	23	0	0	0	0	0	0
小偃 4 号	I	12	0	0	0	0	0	0
	II	8	0	0	0	0	0	0
武选 1 号	I	2	0	0	0	0	0	0
	II	12	0	0	0	0	0	0

参 考 文 献

- (1) 周 婧, 杨弘远: 1980. 遗传学报, 7(3):287-288.
- (2) 祝仲纯, 吴海珊: 1979. 遗传学报, 6(2):181-183.
- (3) 祝仲纯, 吴海珊, 安庆坤 刘振岳: 1981. 遗传学报, 8(4):386-390.
- (4) 敖光明, 赵世绪, 李广华: 1982. 遗传学报, 9(4):281-283.
- (5) 王敬驹, 匡柏健: 1981. 植物学报, 23(4):329-330.
- (6) 陶自荣, 刘敏领, 祝仲纯: 1988. 遗传学报, 15(5):329-334.
- (7) San Noeum, L.H.: 1976. *Ann. Amelior Plants*, 26(4):751-754.

本文于1991年6月24日收到。



1. 接种时的幼嫩子房; 2. 接种在培养基上的子房; 3. 接种后膨大的子房; 4. 子房壁裂开长出的愈伤组织; 5. 愈伤组织及绿斑; 6. 愈伤组织分化出绿色幼苗和根; 7. 绿色小植株根尖细胞为单倍体($n=21$); 8. 单倍体绿色小植株。