

低温对诱导小麦未成熟胚愈伤组织出愈率的影响研究*

孙春歧 于淑池

齐志广**

(承德民族师范专科学校化学系 承德 067000)(河北师范大学生命科学学院 石家庄 050016)

摘要 试验研究低温处理对诱导小麦未成熟胚愈伤组织出愈率结果表明,6h短时间低温处理可显著提高其出愈率,比对照增加1.43倍。随处理时间的延长其出愈率逐渐降低,18h后其出愈率又渐增,低温处理30h时其出愈率显著高于对照,为对照的1.41倍。

关键词 低温 小麦 未成熟胚 愈伤组织 出愈率

Effect of low-temperature on the forming ratio of callus of wheat green embryo. SUN Chun-Qi, YU Shu-Chi (Department of Chemistry, Chengde Ethnologic Normal School, Chengde 067000), QI Zhi-Guang (College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016), *CJEA*, 2005, 13(1): 60~61

Abstract The results show that the pretreatment in low-temperature for 6h can increase the callus formation ratio apparently, being 1.43 times higher than that of the control; the callus forming ratio is decreased along with the prolongation of the low-temperature time, but the callus forming ratio increases after 18h low-temperature treatment. The pretreatment of low-temperature for 30h can also increase the callus forming ratio by 1.41 times.

Key words Low-temperature, Wheat, Green embryo, Callus, Forming ratio of callus

研究表明1~5℃低温预处理小麦幼穗可提高花粉愈伤组织产量。4℃低温冷冻石刁柏花蕾预处理4d、8d和12d其愈伤组织诱导率较室温对照分别提高2.4倍、1.9倍和1.5倍。另有研究报道预处理温度越低且处理时间越长,植物对培养反应的抑制作用越大^[1]。本试验研究了低温对诱导小麦未成熟胚愈伤组织出愈率的影响。

1 试验材料与方法

试验在河北师范大学生命科学学院组织培养室进行,供试小麦品系“96118-57”取自河北师范大学生命科学学院农场试验田。试验处理温度为4℃,共设0h、6h、12h、18h、24h和30h 6个试验处理时间,3次重复。在MS基本培养基中加入2.0mg/mL 2,4-D。配制大量元素(10×)、微量元素(100×)、铁盐(100×)和有机成分(100×)母液,分别加入大量元素100mL、微量元素10mL、铁盐10mL、有机成分10mL和激素,再加入30g/kg蔗糖和6g/kg琼脂,加热溶化并定容至1000mL,用1mol/L HCl或1mol/L NaOH调pH至5.8,分装于100mL三角瓶中,每瓶加入培养基25mL,将盛有培养基的三角瓶置于高压灭菌锅中高压灭菌,当压力达0.05MPa时打开放气阀以排除冷气,压力达0.105MPa时开始计时并保持20min。小麦授粉后10~15d长大至半仁,颖壳稍胀开,此时未成熟胚颜色发白。将小麦穗剪下并立即带入实验室中进行不同时间低温处理。剪去低温处理好的小麦穗芒,用70%酒精消毒。每穗剥取带颖壳的麦粒15~20粒,用纱布包裹并置于1g/L HgCl₂中消毒10min,用蘸有70%酒精的棉球消毒手及超净台,将镊子、解剖针和解剖刀等全部用具置于70%酒精中消毒并在酒精灯上烧烤,待冷却后使用。用无菌水冲洗已消毒麦粒3次并置于无菌滤纸上。剥取未成熟胚将其接种在培养基上,每瓶接种10个左右,将培养瓶置于25℃培养15d,调查其出愈率。

2 结果与分析

试验共制备“96118-57”小麦幼胚诱导愈伤组织培养基120瓶,每瓶接种8~10个幼胚,培养14d后,有15瓶培养基受到污染,其他未受污染低温诱导“96118-57”小麦未成熟幼胚愈伤组织出愈率结果见表1。经统计

* 河北师范大学自然科学基金项目(L200205)资助

** 通讯作者

收稿日期:2003-10-29 改回日期:2003-11-30

表 1 低温诱导对“96118-57”小麦幼胚愈伤组织出愈率的影响

Tab.1 Effects of low-temperature pretreatment on the forming ratio of callus of wheat “96118-57”

序号 NO.	出愈率/% Callus ratio						序号 NO.	出愈率/% Callus ratio					
	处理时间/h Treatment time							处理时间/h Treatment time					
	0	6	12	18	24	30		0	6	12	18	24	30
1	60.0	25.0	12.5	12.5	33.3	27.3	11	11.1	63.6	37.5	40.0	28.6	45.5
2	33.3	83.3	33.3	14.3	40.0	60.0	12	25.0	28.6	37.5	28.6	20.0	54.5
3	55.6	88.9	42.9	33.3	50.0	16.7	13	37.5	54.5	20.5	37.5	85.7	44.4
4	77.8	66.7	66.7	14.3	33.3	50.0	14	10.0	55.6	79.5	50.0	44.4	71.4
5	62.5	83.3	14.3	14.3	60.0	66.7	15	46.7	11.1	50.0	37.5	75.0	37.5
6	88.9	71.4	27.3	25.0	85.7	57.1	16	-	10.0	12.5	37.5	22.2	57.1
7	10.0	77.8	11.1	57.1	66.7	62.5	17	-	50.0	-	50.0	33.3	25.0
8	25.0	71.4	20.0	14.3	20.0	66.7	18	-	38.5	-	55.6	-	55.6
9	12.5	66.7	42.9	40.0	16.7	71.4	19	-	-	-	25.0	-	66.7
10	11.1	28.6	75.0	66.7	14.3	51.7	20	-	-	-	-	-	71.4

算 0h、6h、12h、18h、24h 和 30h 低温处理下“96118-57”小麦愈伤组织出愈率分别为 39.40%、62.94%、35.07%、30.03%、42.29% 和 52.96%。低温处理 6h 后诱导小麦未成熟胚愈伤组织出愈率明显增加,比对照处理出愈率增加 23.54%。对不同时间低温处理“96118-57”小麦未成熟胚愈伤组织出愈率进行方差分析结果见表 2, $F = 2.887 > F_{0.05} = 2.306$, 表明不同时间低温处理对“96118-57”小麦未成熟胚愈伤组织诱导出愈率具有显著差异。由方差分析可知不同时间低温处理间方差为 1361.0, 显著大于误差均方(471.4), 表明不同时间低温处理平均出愈率间的差异真实。对不同时间低温处理间小麦平均出愈率差异进行多重比较, 当处理时间分别为 6h、30h、24h、0h、12h 和 18h 时, 小麦平均出愈率分别为 54.17% (a)、53.23% (a)、42.90% (ab)、37.80% (b)、36.64% (b) 和 34.39% (b) ($SE = 5.195$, 凡含有相同字母处理间均无显著差异, 无相同字母处理间均表示 $P = 5\%$ 差异显著)。低温处理可提高小麦未成熟胚愈伤组织诱导出的出愈率, 短时间低温处理(6h)可显著提高其出愈率, 使出愈率增加 1.43 倍。但随低温处理时间的延长, 其小麦未成熟胚愈伤组织诱导出愈率明显下降, 12h 和 18h 低温处理小麦未成熟胚愈伤组织诱导出愈率分别为低温处理 6h 出愈率的 67.3% 和 63.5%, 达到或低于未处理小麦愈伤组织出愈率, 且低温处理 18h 小麦愈伤组织出愈率最低, 比对照降低 9.02%, 但未达显著差异水平, 表明该差异主要由试验误差所造成。随低温处理时间的再延长, 小麦愈伤组织出愈率又渐增, 当低温处理达 30h 时其出愈率又显著高于对照。故低温处理 6h 和低温处理 30h 小麦愈伤组织出愈率与对照具有显著差异, 其出愈率分别为对照的 1.43 倍和 1.41 倍, 而低温处理 12~24h 处理出愈率与对照间无显著差异。

表 2 不同时间低温处理小麦出愈率方差检验

Tab.2 Variance test of the forming ratio of callus of wheat under different low-temperature pretreatments

差异源 Difference	总体平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean of variance	测验值 F test value	概 率 P-value	显著标准 F crit
处理	6805.3	5	1361.0	2.887	0.018	2.306
误差	46672.0	99	471.4			
总计	53478.0	104				

3 小 结

低温处理对小麦未成熟胚愈伤组织出愈率影响为 6h 短时间低温处理可显著提高其出愈率, 比对照增加 1.43 倍。随处理时间的延长其出愈率逐渐降低, 18h 后其出愈率又渐增, 低温处理 30h 时其出愈率显著高于对照, 为对照的 1.41 倍。

参 考 文 献

1 潘瑞炽主编. 植物组织培养(第 2 版). 广州: 广东高等教育出版社, 2001. 60~110