

Kao's 有机化合物与 T 维生素 对小麦幼胚胚性愈伤组织发生的影响*

朱晋云 杨丽萍 许玉娟 杨三维 王随保

(山西省农业科学院小麦研究所 临汾 041000)

摘 要 试验研究 MS 基本培养基中加入 Kao's 有机化合物与 T 维生素对小麦幼胚胚性愈伤组织发生的影响结果表明,加入 Kao's 有机化合物与 T 维生素的 MC 和 MD 诱导培养基可显著提高胚性愈伤组织诱导率,且 ME 与 MF 分化培养基明显增加绿原基分化率和出苗率。

关键词 小麦幼胚 胚性愈伤组织 Kao's 有机化合物 T 维生素

Effects of Kao's organic compound and T vitamins on the generation of embryogenic callus of wheat immature embryo.

ZHU Jin-Yun, YANG Li-Ping, XU Yu-Juan, YANG San-Wei, WANG Sui-Bao (Institute of Wheat Research, Shanxi Academy of Agricultural Sciences Linfen 041000, China), *CJEA* 2005, 13(4): 44~47

Abstract The effects of Kao's organic compound and T vitamins supplemented in the MS basic medium on the generation of embryogenic callus of wheat immature embryo were studied. The results show that there are higher frequency of embryogenic callus induction on MC and MD media of supplementing Kao's organic compound and T vitamins, there are higher frequencies of green primordium differentiation and plant regeneration on ME and MF media of supplementing Kao's organic compound and T vitamins also.

Key words Wheat immature embryo, Embryogenic callus, Kao's organic compound, T vitamins

(Received Sept. 3, 2004; revised Oct. 17, 2004)

小麦组织培养技术是解决生产中栽培基因型小麦品种转化难和转化频率较低的基本关键技术^[1-4],而建立良好的小麦再生系统是提高基因转化频率的先决条件,关系到基因转化的成败^[5]。目前小麦再生系统的研究主要侧重于筛选受体基因型、植物激素配比和接种方式等方面^[6,8],而对组织培养中有机化合物和维生素对小麦幼胚胚性愈伤组织诱导的影响研究尚少见报道。本研究通过在培养基中加入 Kao's 氨基酸、Kao's 有机酸、Kao's 糖和醇、Kao's 维生素和 T 维生素诱导胚性愈伤组织的发生率,为提高再生植株分化率,建立高频小麦组织培养再生系统寻求有效途径。

1 试验材料与与方法

试验选用上年筛选出的幼胚组织培养反应较好的“晋麦 47 号”、“晋麦 31 号”、“晋麦 45 号”、“晋麦 48 号”、“石 4185”、“鲁麦 14”、“晋阳 345”、“晋阳 214”、“临抗 1 号”和“临汾 116”等 10 个生产上主要小麦栽培品种和高代品系为材料,愈伤组织诱导培养基中 MS 培养基为 MS+2 A-D 2mg/L+蔗糖 30g/L,MC 培养基为 MS 大量元素、微量元素和肌醇+Kao's 氨基酸+Kao's 有机酸+Kao's 糖和醇+Kao's 维生素+T 维生素+2 A-D 2mg/L+蔗糖 30g/L,MD 培养基为 MS 大量元素、微量元素和肌醇+Kao's 维生素+T 维生素+水解乳蛋白 300mg/L+2 A-D 2mg/L+蔗糖 30g/L。分化培养基中 ME 培养基为 MC+NAA 0.5mg/L+KT 0.5mg/L+蔗糖 20g/L, MF 培养基为 MD+NAA 0.5mg/L+KT 0.5mg/L+蔗糖 20g/L, MH 培养基为 MS+NAA 0.5mg/L+KT 0.5mg/L+蔗糖 20g/L。Kao's 氨基酸包括脯氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺, Kao's 有机酸包括焦硼丙酮酸、苹果酸、柠檬酸和延胡索酸, Kao's 糖和醇包括果糖、核糖、木糖、甘露糖、鼠李糖、纤维二糖、山梨糖醇和甘露醇, Kao's 维生素包括泛酸钙、氯化胆碱、抗坏血酸、生物素、叶酸、维生素 B₂、对氨基苯甲酸、维生素 B₁₂ 和维生素 D₃, T 维生素包括烟酸、维生素 B₆ 和维生素 B₁。MS 培养基采用常规方法灭菌, MC、MD、ME 和 MF 培养基以 2 倍强度过滤灭菌,之后与常规方法灭菌的 2 倍强度琼脂等量混合。授粉后

* 山西省回国留学人员基金重点项目(97-1-非 11)与山西省农业科学院高新技术项目(02YGX06)资助

10~14d取小麦幼穗中部大小一致的未成熟籽粒,将幼胚接种在愈伤组织诱导培养基表面,25℃下暗培养,20d后转入相同培养基进行继代培养,愈伤组织分化前统计出愈率、胚性愈伤组织诱导率和愈伤组织生长量。继代1次后转入分化培养基,于25~28℃、光强2000Lx和12h/d条件下分化培养,分化30d后统计分化率,分化60d后统计出苗率。

2 结果与分析

2.1 Kao's有机化合物与T维生素对小麦幼胚胚性愈伤组织诱导的影响

培养基中添加的有机化合物和维生素种类是影响胚性愈伤组织诱导的重要因素之一。由表1可知小麦幼胚胚性愈伤组织出愈率与培养基中的有机化合物和维生素种类关系较小,但胚性愈伤组织诱导率受培养基中有机化合物和维生素种类影响较大。观察发现MC和MD培养基中生成的愈伤组织质量较好,颜色淡黄,细胞结构紧密,不透明,表面光滑,有大小不一的节状突起,多为胚性愈伤组织。而MS培养基中生成的愈伤组织质量较差,多数愈伤组织为灰白色,细胞结构松散,略带透明,表面粗糙。胚性愈伤组织诱导率MC培养基比MD培养基平均高10%,表明除Kao's维生素和T维生素有促进胚性愈伤组织发生外,Kao's有机酸和Kao's糖和醇也能明显提高胚性愈伤组织的诱导率。胚性愈伤组织诱导率MC培养基比MS培养基平均高41%,MD培养基比MS培养基平均高31%。

表1 Kao's有机化合物与T维生素对小麦幼胚胚性愈伤组织诱导的影响

Tab. 1 Effects of Kao's organic compound and T vitamins on the induction of embryogenic callus of wheat immature embryo

材料 Cultivars	MS培养基 MS medium		MC培养基 MC medium		MD培养基 MD medium	
	出愈率/% Frequency of callus induction	愈伤组织诱导率/% Frequency of embryogenic callus induction	出愈率/% Frequency of callus induction	愈伤组织诱导率/% Frequency of embryogenic callus induction	出愈率/% Frequency of callus induction	愈伤组织诱导率/% Frequency of embryogenic callus induction
晋麦47号	93.0	45.0	95.5	86.0	92.0	77.5
晋麦31号	97.5	36.5	96.0	79.0	98.0	70.0
晋麦45号	95.0	38.0	98.5	72.5	96.0	69.0
晋麦48号	91.0	29.0	93.0	83.0	93.5	75.0
石4185	98.0	52.0	100.0	93.5	97.0	81.0
鲁麦14	96.6	49.0	97.0	90.0	94.5	73.5
晋阳345	96.0	51.0	95.0	96.0	98.0	86.0
晋阳214	90.5	32.5	94.5	68.5	90.5	63.0
临抗1号	92.0	46.0	90.0	82.0	95.0	73.0
临汾116	89.0	53.0	93.0	91.5	92.0	73.5
平均	93.8	43.2	95.2	84.2	94.6	74.2

2.2 Kao's有机化合物与T维生素对小麦幼胚胚性愈伤组织生长量及出苗的影响

小麦幼胚离体培养30d后,MS、MC和MD3种培养基内各品种(系)均随机抽取10块愈伤组织称其鲜、干物质量。由表2可知培养基中Kao's有机化合物和T维生素有明显加速小麦愈伤组织生长的作用,MC和MD培养基内小麦愈伤组织出愈速度和愈伤组织增殖速度均快于MS培养基。除MD培养基内“临抗1号”和“临汾116”愈伤组织鲜物质量高于MC培养基外,各培养基内愈伤组织鲜物质量依次为MC>MD>MS。平均每块愈伤组织鲜物质量MC培养基比MS培养基增加58.5mg,提高57%,MD培养基比MS培养基增加41.2mg,提高40%。除MS培养基内“晋阳345”愈伤组织干物质量高于MC培养基,MD培养基内“晋麦48”、“鲁麦14”和“晋阳345”愈伤组织干物质量高于MC培养基外,各培养基愈伤组织干物质量依次为MC>MD>MS。平均每块愈伤组织干物质量MC培养基比MS培养基增加7.6mg,提高39%,MD培养基比MS培养基增加6mg,提高31%。

小麦幼胚诱导的愈伤组织经0~2次继代培养(20d继代1次),愈伤组织能形成较多的胚性细胞团,若继代次数较多,原形成的胚性细胞团则将逐渐丧失胚性能力。继代1次后MS培养基内各品种(系)随机抽取50块(“晋麦48号”为47块)愈伤组织转入MH分化培养基,MC培养基随机抽取50块愈伤组织转入ME分化培养基,MD培养基随机抽取50块(“临抗1号”为42块)愈伤组织转入MF分化培养基并进行分化和

出苗。表 3 表明培养基内 Kao's 有机化合物和 T 维生素可提高胚性愈伤组织诱导率,且能提高绿原基分化率和出苗率,表明胚性愈伤组织发生和绿原基分化除受植物激素影响外,也受培养基内营养成分影响,特别是培养基中有机成分种类和数量的影响。3 种分化培养基内绿原基分化率和出苗率与 3 种诱导培养基内胚性愈伤组织诱导率表现出高度一致,平均绿原基分化率和出苗率 ME 培养基比 MH 培养基分别高 40% 和 62%,MF 培养基比 MH 培养基分别高 28.9% 和 46%。

表 2 Kao's 有机化合物与 T 维生素对小麦幼胚胚性愈伤组织生长量的影响

Tab. 2 Effects of Kao's organic compound and T vitamins on the growth of embryogenic callus of wheat immature embryo

材 料 Cultivars	MS 培养基 MS medium		MC 培养基 MC medium		MD 培养基 MD medium	
	愈伤组织鲜物 质量/mg·块 ⁻¹	愈伤组织干物 质量/mg·块 ⁻¹	愈伤组织鲜物 质量/mg·块 ⁻¹	愈伤组织干物 质量/mg·块 ⁻¹	愈伤组织鲜物 质量/mg·块 ⁻¹	愈伤组织干物 质量/mg·块 ⁻¹
	Callus fresh weight	Callus dry weight	Callus fresh weight	Callus dry weight	Callus fresh weight	Callus dry weight
晋麦 47 号	109.8	21.2	203.7	38.3	179.7	31.2
晋麦 31 号	116.2	25.3	189.3	32.2	168.3	27.3
晋麦 45 号	98.9	18.9	176.3	29.5	128.9	23.9
晋麦 48 号	79.3	16.8	108.6	20.4	107.3	22.1
石 4185	126.1	23.3	213.2	39.6	189.1	34.8
鲁 麦 14	110.9	17.9	170.2	24.3	165.3	27.6
晋 阳 345	132.7	22.9	175.1	22.3	146.9	25.4
晋 阳 214	79.4	11.3	169.5	21.7	108.4	16.1
临 抗 1 号	87.6	15.7	100.3	19.2	132.5	24.2
临 汾 116	90.5	16.1	110.1	23.2	117.1	22.8
平 均	103.1	19.5	161.6	27.1	144.3	25.5

表 3 Kao's 有机化合物与 T 维生素对小麦幼胚胚性愈伤组织分化及出苗的影响

Tab. 3 Effects of Kao's organic compound and T vitamins on the differentiation and plant regeneration of embryogenic callus of wheat immature embryo

材 料 Cultivars	MH 培养基 MH medium		ME 培养基 ME medium		MF 培养基 MF medium	
	绿原基分化率/%	出苗率/%	绿原基分化率/%	出苗率/%	绿原基分化率/%	出苗率/%
	Frequency of green primordium differentiation	Frequency of plant regeneration	Frequency of green primordium differentiation	Frequency of plant regeneration	Frequency of green primordium differentiation	Frequency of plant regeneration
晋麦 47 号	54.8	27.1	97.5	93.2	87.5	78.3
晋麦 31 号	57.1	32.3	93.1	92.8	81.2	78.2
晋麦 45 号	51.4	21.5	87.5	86.3	76.3	69.3
晋麦 48 号	48.9	24.8	90.7	90.7	84.0	71.4
石 4185	65.8	46.7	100.0	100.0	93.2	86.7
鲁 麦 14	60.1	38.1	98.3	96.3	91.5	78.9
晋 阳 345	53.2	29.3	96.9	92.1	86.9	82.1
晋 阳 214	46.1	18.7	82.7	78.5	67.2	59.8
临 抗 1 号	38.3	17.5	87.3	85.9	73.8	63.2
临 汾 116	47.1	21.5	89.1	82.1	71.2	70.1
平 均	52.3	27.8	92.3	89.8	81.2	73.8

3 小结与讨论

基本培养基中加入 Kao's 有机化合物和 T 维生素后愈伤组织更易吸收利用这些营养成分,维持细胞生长和发育。Kao's 氨基酸除供给愈伤组织 N 素营养外,还参与细胞蛋白质的合成,具有抑制早熟萌发和促进未成熟胚发育的作用,能促进胚的分化和增加胚的大小。Kao's 有机酸和 Kao's 糖和醇是 C 素的来源和能量物质,包括愈伤组织细胞更易利用的多种糖类型,同时对保持培养基的渗透压有重要作用。Kao's 维生素和 T 维生素在愈伤组织生长中起重要作用,它们以辅酶的形式参与酶系活动及细胞蛋白质、脂肪、糖代谢等重

要生命活动,对愈伤组织代谢过程和胚发育有一定作用^[7]。

参 考 文 献

- 1 余桂荣,尹 钧等.小麦幼胚培养基型筛选.麦类作物学报,2003,23(2):14~18
- 2 刘少翔,王 卉等.小麦幼胚的脱分化状态及再生性能研究.华北农学报,2003,18(1):64~66
- 3 王睿辉,陈耀锋等.胚龄和基因型对小麦幼胚体细胞胚性无性系的诱导.西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(4):17~19
- 4 伍碧华,郑有良等.四川小麦幼胚脱分化特性研究.麦类作物学报,2001,21(2):25~30
- 5 王关林,方宏筠.植物基因工程原理与技术.北京:科学出版社,1998.185~193
- 6 林 毅,高俊山等.不同培养基对小麦幼胚再生力的影响.安徽农业大学学报,2003,30(1):6~9
- 7 李浚明.植物组织培养教程.北京:中国农业大学出版社,2002.163~169
- 8 Redwey F. A., Vasil V., Lu D., *et al.* Identification of callus types for long-term maintenance and regeneration from commercial cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L). Theoret Appl Genet, 1990, 79: 609~617

欢迎订阅 2006 年《中国南方果树》

《中国南方果树》是由中国农业科学院柑桔研究所主办的科技期刊,主要报道柑橘类果树,荔枝、龙眼、香蕉等常绿果树,梨、桃、苹果等落叶果树的栽培管理、病虫害防治及适宜发展的品种等。本刊为双月刊,每期定价 4.00 元,全年 24.00 元,邮发代号:78-13,全国各地邮局均可订阅,漏订者可直接汇款至本刊补订,地址(400712)重庆市北碚区歇马镇中国农业科学院柑桔研究所《中国南方果树》编辑部。

欢迎订阅 2006 年《柑桔与亚热带果树信息》

《柑桔与亚热带果树信息》是由中国农业科学院柑桔研究所主办的科技期刊,设有专家论坛、区域果业、市场分析、果乡短波、产销快讯、优新品种、实用技术、病虫害防治等栏目。本刊为月刊,每期定价 3.00 元,全年 36.00 元。邮发代号:78-10,全国各地邮局均可订阅。漏订者可直接汇款至本刊补订,地址(400712)重庆市北碚区歇马镇中国农业科学院柑桔研究所《柑桔与亚热带果树信息》编辑部。