

# 小麦幼胚再生植株保存技术的研究

姬玉梅, 王 岭

(鹤壁职业技术学院, 河南 鹤壁 458030)

**摘要:** 为研究小麦 幼胚 再生植株的保存技术, 提高其移栽 成活率, 以不同基因型品种小麦 幼胚 再生植株为材料, 用不同质量浓度多效唑进行处理。结果显示, 多效唑能明显改善小麦 再生植株的生理性状, 培养基中添加 1.5 mg/L 和 3 mg/L 多效唑的植株平均株高比 对照分别降低 32.7% 和 69.3%, 平均根数分别是对照的 4 和 3.53 倍, 且品种间差异不明显。用 3 mg/L 多效唑处理的 再生植株, 保存时间最多可延长 97 d, 移栽后成活率提高了 10.98 个百分点。

**关键词:** 小麦; 幼胚; 再生植株; 保存; 多效唑

**中图分类号:** S512.1      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2011)05-0052-03

## Studies on Preservation Technology of Plantlets Regenerated from Wheat Immature Embryos

Ji Yu-mei, WANG Ling

(Hebi Vocational and Technical College, Hebi 458030, China)

**Abstract:** Preservation way of plantlets regenerated from wheat immature embryos was studied to improve their survival rate. Regenerated plantlets with different genotypes as materials were treated by different concentrations of paclobutrazol. The results showed that paclobutrazol could obviously improve the physiological characters of plantlets. Medium containing 1.5 mg/L and 3mg/L paclobutrazol made plant average height 32.7% and 69.3% shorter, and average root number 4 and 3.53 times more than the control. No significant difference was observed among varieties. The retention time of regeneration plants treated by 3 mg/L paclobutrazol could extended up to 97 d, and the survival rate after transplanting increased 10.98 points.

**Key words:** Wheat; Immature embryo; Regeneration plantlets; Reservation; Paclobutrazol

小麦是世界上重要的粮食作物之一, 对其进行分子改良工作一直备受关注。目前, 已报道的小麦外植体源有花药、幼胚、幼穗、幼叶、子叶中层、成熟胚、顶端安全组织、种子等, 其中幼胚因其胚性愈伤组织诱导率和植株再生频率皆高, 成为首选的外植体源<sup>[1-2]</sup>。然而, 在我国北方麦区, 小麦的幼胚培养大都在 4—5 月份进行, 又因国内温室造价和运行成本过高, 所以幼胚再生植株必须在实验室内多次继代, 直至其正常生长季节才能移栽于大田。再生植株在长时间的越夏培养中, 往往表现生长弱、根系不发达、移栽后成活率不高等缺点。因而, 研究再生植株的保存技术具有重要意义。

多效唑(PP<sub>333</sub>)属于三唑类植物生长延缓剂, 能抑制多种植物纵向生长, 并促进植物横向生长<sup>[3-4]</sup>, 同时还能提高植物抗逆性<sup>[5]</sup>, 在生产上有广泛的应用。近年来, 多效唑在组织培养中的应用逐渐得到推广。雷伟侠等发现, 适宜的多效唑质量浓度能延长油菜小孢子试管苗保存时间<sup>[6]</sup>。李明军等发现, 多效唑能提高玉米愈伤组织的分化率和试管苗成活率<sup>[7]</sup>。本研究以不同基因型品种小麦幼胚再生植株为材料, 研究了多效唑对再生植株生理性状、保存时间和移栽成活率等的影响, 以期寻求行之有效的小麦幼胚再生植株的保存途径。

收稿日期: 2010-12-14

基金项目: 鹤壁职业技术学院农业科研发展基金项目(17200400003)

作者简介: 姬玉梅(1975-), 女, 河南辉县人, 讲师, 本科, 主要从事小麦遗传育种方面的研究。E-mail: hbjym6@163.com

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为郑农 16、矮抗 58、豫麦 34 号、郑麦 863 和豫麦 49 号等 5 个小麦品种的幼胚再生植株。供试药品为郑州信联生化科技有限公司生产的 15% 可湿性多效唑粉剂。

1.2 培养条件

基本培养基为固体 MS 培养基, 成分为 MS+2, 4-D (1. 0 mg/L) + KT (0. 5 mg/L) + 蔗糖 (30 g/L) + 琼脂 (5. 5 g/L), pH 值为 5. 8。培养条件为: 温度 (25 ± 1) °C, 湿度 80% ~ 90%, 光照强度 1 800 ~ 2 000 lx, 光照周期 11 h/d。

1.3 方法

1.3.1 不同质量浓度多效唑对幼胚再生植株生理性状的影响 试验于 2006 年进行, 把株高 1 cm 左右的再生植株转入含不同质量浓度多效唑的培养基上, 共设 5 种处理, 分别在固体基本培养基中添加 0 (CK)、1. 5、3、5、8 mg/L 多效唑, 每一处理选取供试材料各 20 株, 共 100 株幼胚再生植株, 培养 30 d 时各取 20 株 (每品种各处理取 4 株) 测量株高、根数, 并观察叶色和叶形。

1.3.2 不同质量浓度多效唑对幼胚再生植株继代间隔时间和次数的影响 在 2006 年试验确定多效唑适宜保存质量浓度 3 mg/L 基础上, 选取郑农 16 和矮抗 58 2 个省内主播品种的幼胚再生植株, 于 2007 年和 2008 年各设 4 种处理, 分别为 I: MS 固体培养基中不添加多效唑做对照; II: MS 固体培养基中添加多效唑 3 mg/L; III: MS 固体斜面培养基中添加多效唑 3 mg/L, 只在第 1 次继代时添加液体 MS 培养基; IV: MS 固体斜面培养基中添加多效唑 3 mg/L, 并在第 1 次继代时添加液体 MS 培养基, 以后每当液体层蒸发完时添加液体 MS 培养基, 不再继代。每种处理选取供试材料各 100 株。每个瓶中装 MS 固体培养基 100 mL, 液体培养基初次添加 25 mL, 以后添加 50 mL。继代标准为培养基即将干涸或者再生植株接近瓶口, 记录日期及期间天数, 每次继代都在 1 d 内完成。2007 年移栽到大田日期为 10 月 15 日, 2008 年移栽到大田日期为 10 月 13 日, 且都在 1 d 内完成移栽。

1.3.3 不同质量浓度多效唑对幼胚再生植株移栽成活率的影响 选取 1.3.2 中继代后的幼胚再生植株移栽于大田, 单层黑色遮阳网遮光 1 周, 20 d 后观察移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度多效唑对小麦幼胚再生植株生长发育的影响

将幼胚再生植株移入含不同质量浓度多效唑的培养基上后, 开始各处理间的绿苗生长差异不大, 1 周后抑制作用显现, 而且随着质量浓度增大抑制作用也越来越大 (表 1)。当多效唑质量浓度达到 8 mg/L 时, 植株几乎完全停止生长。从表 1 可以看出, 多效唑对幼胚再生植株生长发育的影响首先是抑制株高, 培养基中添加 1. 5 mg/L 和 3 mg/L 多效唑的植株株高比对照分别矮 32. 7% 和 69. 3%; 其次能促进根系的生长, 培养基中添加 1. 5 mg/L 和 3 mg/L 多效唑的植株根数分别是对照植株的 4 倍和 3. 53 倍, 并且根短而壮, 叶片浓绿、短而宽; 当多效唑质量浓度达到 8 mg/L 时, 再生植株的生长完全被抑制。综合各项结果, 当多效唑不同质量浓度为 1. 5 mg/L 和 3 mg/L 时, 再生植株各种性状表现较好, 但在 3 mg/L 质量浓度下, 再生植株表现出生长缓慢。认为这更有利于试管苗的保存, 减少继代次数。

表 1 多效唑对小麦幼胚再生植株生理性状的影响

多效唑质量 浓度/(mg/L)	平均株 高/cm	平均根 数/条	叶色	叶形
0	10. 1	1. 5	黄绿	细而长
1. 5	6. 8	6. 0	浓绿	短而宽
3	3. 1	5. 3	浓绿	短而宽
5	2. 0	1. 1	浓绿	短而宽
8	1. 1	0. 2	暗绿	停止生长

培养 30 d 时, 观察供试品种幼胚再生植株在不同质量浓度多效唑培养基上的生长反应, 结果显示, 多效唑对再生植株的抑制作用在不同基因型品种之间差异不大。在含 1. 5 mg/L 和 3 mg/L 多效唑的培养基中, 各供试品种再生植株的壮苗率都能达到 90% 左右。

2.2 多效唑对幼胚再生植株继代间隔时间和次数的影响

添加多效唑可以明显延长再生植株继代间隔时间, 从而减少继代次数 (表 2)。其中处理 IV 效果最好, 可保存 150 d, 较对照多 97 d; 处理 III 次之, 较对照多保存 57 d。处理 IV、III、II 分别比对照 I 少继代 2 次、1 次和 1 次。

2.3 多效唑对幼胚再生植株移栽成活率的影响

从表 3 可以看出, 经多效唑处理的幼胚再生植株平均成活率为 94. 4%, 较对照提高了 10. 98 个百

分点,且返青早,扎根快。主要原因是经处理后的再生植株变得矮壮,成苗素质明显提高。

表 2 多效唑对小麦幼胚再生植株继代间隔时间和次数的影响

处理	2007 年 继代时间/ (月-日)	2008 年 继代时间/ (月-日)	平均继代 间隔时间/ d	平均 继代 次数
I	05-28—07-19— 09-10	05-27—07-20— 09-10	53	3
II	05-28—08-20	05-27—08-22	86	2
III	05-28—09-12	05-27—09-18	110	2
IV	05-28	05-27	150	1

表 3 多效唑对小麦幼胚再生植株移栽成活率的影响

多效唑 质量浓度/ (mg/L)	品种	移栽苗数/ 株	成活数/ 株	成活率/ %	平均成活 率/%
0	郑农 16	97	82	84.54	83.42
0	矮早 58	96	79	82.29	
3	郑农 16	99	93	93.94	94.40
3	矮早 58	97	92	94.85	

3 结论与讨论

本研究结果表明,在培养基中添加适宜质量浓度的多效唑(1.5~3 mg/L),可以提高小麦幼胚再生植株的生理品质,使再生植株苗壮且缓慢生长,有效延长了再生植株在试验瓶中的保存时间。这与多效唑的药理机制有关。龚玉莲等<sup>[8]</sup>报道,多效唑能抑制赤霉素所控制的生理效应,其影响在于抑制赤霉素生物合成过程中由贝壳杉烯到贝壳杉烯酸三步氧化作用的氧化酶活性,从而抑制赤霉素的生物合成。周伟军等<sup>[9]</sup>发现,多效唑还对植物其他内源激素的含量以及一些生理过程有影响,外加多效唑使内源 IAA、GA<sub>3</sub> 含量下降,使得植株矮化;同时促使内源 ABA 含量增加,ABA 能增强植株抗逆性,使得移栽成活率提高;植株体内 ZR 类物质含量提高,使得叶色变深、寿命延长。

研究发现,多效唑对幼胚再生植株的抑制作用在不同基因型品种间差别不大,这为多效唑在组织培养中的广泛应用提供了依据。

本试验中用 3 mg/L 多效唑培养基培养幼胚再生植株,1 次继代就能保存到小麦大田播种季节,且成活率明显提高,大大减少了药品使用量,降低了劳动成本和劳动强度,对于改进幼胚组织育种技术提供了很好的借鉴。

参考文献:

[1] 栗现芳,马守才,张改生,等. 胚龄、NAA 浓度、基因型对杂交小麦及其亲本幼胚培养的影响[J]. 河南农业科学, 2007(6): 31-34.

[2] 郭祖宝,李学红,杜连彩. 影响小麦愈伤组织发生因素的研究[J]. 现代农业科技, 2007(19): 129-130.

[3] 刘宝仁,梅传生,张金渝,等. PP<sub>333</sub> 对多种作物延缓生长的效应[J]. 植物生理学通讯, 1986(4): 43-45.

[4] 吴光南. 多效唑的开发和前景[J]. 江苏农业科学, 1987(2): 1-2.

[5] 尚冰. 三唑类植物生长延缓剂应用研究新进展[J]. 阜阳师范学院学报:自然科学版, 2000, 17(1): 40-43.

[6] 雷伟侠,范志雄,杨光圣. 甘蓝型油菜小孢子培养试管苗的保存和壮苗技术[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(3): 81-83.

[7] 李明军,刘纪华,张嘉宝,等. 多效唑在玉米组培中的作用[J]. 作物学报, 1997, 23(2): 220-225.

[8] 龚玉莲,陈坚毅,曾碧健. 多效唑在植物组织培养中应用前景的探讨[J]. 广西教育学院学报, 2000, 20(3): 103-106.

[9] 周伟军,沈惠聪. 多效唑调控油菜生长的作用机理[J]. 浙江农业大学学报, 1993, 019(003): 316-320.

[10] 董春林,畅志坚,张晓军,等. 小麦早熟 DH 群体的构建及其性状表现[J]. 山西农业科学, 2010, 38(9): 14-16.