

由向日葵幼花或胚珠培养出 单倍体小植株与胚状体

蔡得田 周 端

(武汉大学生物系)

未传粉子房与胚珠培养是一项新的研究课题。迄今仅有八种植物通过这一方法培育出单倍体小植株^[1]。两年来,我们由向日葵幼花与胚珠培养诱导出单倍体小植株与胚状体。

材 料 与 方 法

先后采用 10 个向日葵品种为材料进行实验。方法大致如下:采用开花前 1—6 天的管状花,用 0.1% 升汞消毒 12—15 分钟,无菌水洗 3—4 次。将整朵幼花、单独的子房、胚珠或花药分别接种在液体培养基上静置漂浮培养。每管接种幼花 5 朵或胚珠 10 枚。诱导培养基以 MS 或 N_6 为基本培养基,分别补加 2% 或 6% 蔗糖以及不同浓度或组合的生长素 (MCPA、NAA 或 IAA) 和(或)细胞分裂素 (KT、BA) 等。接种 45—55 天后,在无菌条件下将幼花或胚珠取出,将胚珠内的胚状体小心地挑出,转移到以 MS、 N_6 或 White 为基本培养基,附加 KT 与 IAA 或不加激素的固体培养基上,促使继续生长分化。生根之后,取下根尖,用 0.01% 秋水仙素 + 0.001 M 8-羟基喹啉混合液预处理 2.5—3 小时。卡诺液(3:1)固定 4 小时,70% 乙醇保存。用孚尔根染色法压片,检查根尖染色体。

实 验 结 果

两年来,进行了幼花、子房、胚珠与花药培养。幼花与胚珠培养诱导单倍体初获成功,子房与花药培养则告失败。以下简述前二者的实验结果。

幼花培养 幼花接种在 MS + MCPA 0.125—2mg/L + 蔗糖 6% 等较适宜的培养基上,花柱或多或少伸长,子房迅速膨大。3—4 周后,有的子房接近正常瘦果大小,呈现成熟果皮色泽与条纹。接种 45—55 天,少数膨大子房内可解剖出形状、大小不一的胚状体。九个品种中有六个品种的 49 朵幼花产生了胚状体。诱导频率变动在 0.5—16.0% 之间。胚状体转移至固体培养基上,长出 4 个小植株(图 1),另有 8 个胚状体生根。对其中 6 个植株与胚状体的根尖压片,鉴定它们是单倍体 ($2n - x = 17$)(图 2)。

胚珠培养 胚珠在 N_6 + 肌醇 100mg/L + MCPA 0.5—2mg/L + 蔗糖 2—6% 等较适宜的培养基上亦迅速膨大。开始保持乳白色,以后可能逐渐转黄或变褐色。45—55 天后,剖开珠被,部分胚珠内含发育程度不等的小胚状体(图 3)。八个品种有六个品种的 360 个胚珠内含胚状体,诱导频率为 3.3—44.8%。有 96 个胚状体长出了根,但未能成苗(图 4)。根尖压

本文 1982 年 12 月 6 日收到。



图 1—6

1—2 向日葵幼花培养:

1. 诱导产生的小苗;

2. 根尖压片示单倍数染色体 ($2n = x = 17$);

3—6 向日葵胚珠培养:

3. 剖开的胚珠, 内含胚状体;

4. 胚状体生根;

5. 根尖压片示单倍数染色体 ($2n = x = 17$);

6. 胚珠体细胞愈伤组织分化出小苗

片表明, 8 个胚状体是单倍体(图 5), 1 个是二倍体。

体细胞愈伤组织 一般而言, 体细胞愈伤组织产生往往不利于雌核发育进行。在向日葵幼花或胚珠培养试验中, 均曾观察到体细胞愈伤组织的形成。在含激动素的培养基上, 体细胞愈伤组织大量产生, 甚或遍布子房或胚珠表面。如培养基不含激动素, 体细胞愈伤组织明显减少或无。这类愈伤组织经转移分化, 亦能出苗(图 6)。根尖染色体检查为二倍体。这一工作作为向日葵体细胞培养分化成苗提供一个新的实验结果。

讨 论

我们曾经指出: 未传粉子房与胚珠培养的方法在某些情况下可能具有独特的价值。例如有些植物至今花药培养难以成功, 子房与胚珠培养可能提供一条产生单倍体的有效途径^[1]。关于向日葵花药或子房、胚珠培养均未见有成功的报道^[1,2]。本实验由向日葵幼花培养获得了单倍体小植株, 胚珠培养获得了单倍体胚状体。这一初步试验预示了通过雌核发育途径进行向日葵及其它类似情况下的植物单倍体育种的前景。

防止体细胞增生是诱导雌核发育中的一个重要问题^[1]。水稻未传粉子房培养试验中, 调节外源激素浓度有抑制体细胞愈伤组织的效果^[3]。向日葵幼花与胚珠培养亦存在这一问题。

初步试验表明,激动素往往促进体细胞愈伤组织的形成。除去激动素,体细胞增生明显降低而雌核发育相对地得到促进。因此,外源激素的种类是影响向日葵幼花与胚珠培养的一个重要因素。此外,我们参考水稻子房培养经验^[3,4],在向日葵工作中采用了液体漂浮培养技术,获得良好效果。再次表明液体培养是诱导雌核发育值得研究和利用的一种方法。

在某些实验组合中向日葵幼花与胚珠培养有相当高的诱导频率。但是成苗都很困难。幼花培养虽然产生了小植株,数量却有限,又不易长大。这和向日葵组织培养很少再生植株的现象有类似之处^[2,5]。因此,如何促进胚状体充分发育、正常分化与成苗仍是近期必须着重研究解决的问题。

致谢: 中国农科院油料研究所品种资源室热情提供试验材料,陈家治同志协助工作,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 周嫦、杨弘远,武汉大学学报(自然科学版), 1982, 3:61—72.
- [2] 杨乃博,植物生理学通讯, 1982,4:61—80.
- [3] Zhou Chang et al, in *Proceedings of the Workshop on Potentials of Plant Cell and Tissue Culture Techniques for Improvement of Cereal Plants*, Science Press, 1982.
- [4] 周嫦、杨弘远,遗传, 1981,5:10—12.
- [5] Rogers, M. A. et al, in *Vitro*. 9 (1974), 463—467.