

玉米幼穗再生苗在试管分化裸露的雌雄幼穗

吴 家 道

(安徽省农业科学院,合肥)

玉米是重要的粮食作物,也是发展食品、畜牧业和工业的重要原料。杂交玉米增产潜力大,利用花药培养玉米纯合自交系已在我国首先取得成功,并开始应用于育种实践。玉米的组织培养,Green 等^[3,4]进行过幼胚、盾片培养获得再生植株。培养未成熟花序没有获得成功。本试验进行玉米幼穗组织培养,以探索其利用的可能性和应用价值。试验结果表明,玉米幼穗外植体可诱导出大量的绿苗,并且在试管中进行健壮培养,绿苗再分化出裸露的雌雄幼穗,为研究禾本科植物的发育生理和器官分化提供了有益的素材,对玉米育种工作也有一定意义。

一、材料和方法

材料用本院杂粮室配制的“肖纱 3-2 × 330”玉米杂交种。取田间生长植株的幼穗,长 10 毫米左右,以 10% 双氧水消毒 10—15 分钟,切成 2—3 毫米切段接种在固体培养基上,一般每管接种 2—3 块外植体。诱导培养分暗培养和光培养(自然光),培养温度为 30—32℃,分化培养每天光照 10 小时,强度为 2000 勒克斯,健壮培养温度为 25—27℃,每天光照也为 10 小时。

基本培养基均为 N₆,琼脂 0.6%, pH5.8。诱导愈伤组织每升附加 2,4-D 2 毫克、NAA 0.5 毫克或 2,4-D 2 毫克、BA 3 毫克、KT 2 毫克、NAA 0.5 毫克;分化培养每升附加 BA 2 毫克、NAA 0.5 毫克;健壮培养每升附加 NAA 0.5 毫克。采用 Giemsa 染色法^[2]检查根尖细胞染色体数。

二、结 果

1. 从幼穗外植体再生绿色小植株 幼穗外植体接种在诱导培养基上,十天后幼穗顶部、中部和基部切块的表面及切口处陆续产生大量愈伤组织(图 1)。单用生长素时外植体膨大为原体积的二倍,三周后有 10% 分化根。在加生长素和细胞分裂素的培养基上,外植体稍有膨大,未发现根的分化。暗培养比光培养的愈伤组织出现早、增殖快、体积大。单用生长素 N₆ 培养基接种外植体 46 块,全部产生愈伤组织,愈伤组织诱导率为 100%;用生长素和细胞分裂素的接种外植体 48 块,有 38 块产生愈伤组织,愈伤组织诱导率为 79.1%。

15 天后,当愈伤组织达到 2—3 毫米大小,即转移到分化培养基上,培养 5 天,愈伤组织增大,并开始出现绿芽点,很快形成绿芽丛(图 2),25 天后产生有根、茎、叶的完整小植株(图 3)。愈伤组织分化力较强,一般每块产生绿苗 4—11 株,最多的为 30 多株。未发现白化苗和白、绿嵌合体。单用生长素诱导产生的愈伤组织,转移 32 块进行分化培养,有 6 块分化绿苗,分化率 18.7%;用生长素和细胞分裂素产生的愈伤组织转移 27 块,有 21 块分化绿苗,分化率 77.7%。

2. 再生苗在试管中分化出裸露的雌雄穗 当再生苗长到 3—4 叶,即把丛苗分开并转移到健壮培养基上,几天后栽入土壤中生长正常。若把绿苗放在试管中继续培养,10 天后出现一种罕见的现象,绿苗基部叶腋间和生长点分别分化出裸露的雌穗和雄穗(图 4),并迅速伸长。20 天雌雄幼穗均进入小花分化初期^[1]。此时雌穗长 10 毫米,雌蕊原始体排列整齐共 6 行,每

本文 1982 年 3 月 19 日收到。

行有雌蕊原始体 13 个;雄穗长 12 毫米,主轴基部出现比较明显的雄穗分枝 2 个, 主轴上部形成小穗原始体,下部可以看到颖片的形成,此时苗高 5—10 厘米,叶 5—6 片,根系发达。

20 天后,把分化裸露雌雄穗的绿苗转换到新鲜健壮培养基上,其雄穗基部叶原始体开始伸长,并渐次包被雄穗(图 5),叶数 8 片(图 6),雌穗苞叶原始体也有所伸长,可见小苞叶数 6 片(图 7),这种植株检查根尖细胞染色体数为 20 条(图 8),与正常二倍数一致。



图 1-8

1. 幼穗形成的愈伤组织; 2. 愈伤组织分化的绿芽丛; 3. 再生完整的小植株; 4. 绿苗在健壮培养基上分化出裸露的雌雄穗; 5. 在新鲜培养基上雌雄穗苞叶伸长; 6. 雄穗基部叶片; 7. 雌穗可见小苞叶; 8. 根尖细胞染色体

三、讨 论

(1) 本试验采用玉米幼穗组织培养获得了大量的再生完整植株,这是玉米幼穗培养的首次报道。同时再生苗在试管中分化出裸露的雌雄穗,这又是禾谷类作物组织培养中不可多得的材料。基于玉米幼穗培养方法简单,再生成苗率高。我们可以利用这些材料在人工控制条件下,研究玉米的发育生理和器官分化。同时有可能建立无性繁殖系以保持玉米杂种优势。

(2) 众所周知,玉米在田间正常生长条件下,雌雄穗分化在苞叶内进行,苞叶伸长先于雌雄穗。而在试管中,幼穗分化和苞叶出生则与之相反,雌雄穗先行分化,并迅速伸长裸露,叶和苞叶原始体暂停发育,一旦把这种苗转移到新鲜培养基上,雌雄穗苞叶原始体又开始发育,并逐渐伸长。其根尖细胞染色体仍是正常二倍体数。看来,玉米雌雄穗裸露现象的出现,属于遗传型改变的可能性小,而培养基诱导的可能性大。培养基在代谢过程中,有可能产生一种次生产物(诸如类似玉米素的激素),改变了雌雄穗分化和苞叶伸长的常规顺序,促进了雌雄穗的先期启动,其机制需待进一步研究。

致谢: 安徽农学院李展同志协助做染色体制片,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 《玉米遗传育种学》编写组,玉米遗传育种学,1979, 20—25.
- [2] 陈瑞阳等,植物学报, 21 (1979), 3: 297—298.
- [3] Green, C. E., 第四届国际植物组织与细胞培养讨论会文集(中译本), 1978.
- [4] Green, C. E. et al., *Crop Sci.*, 15 (1975), 3: 417—421.
- [5] Yamada, Y., *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* (Eds. Reinert, J. & Bajaj, Y. P. S.), Springer Verlag, N. Y., 1977, 144—159.