

玉米幼胚愈伤组织诱导及植株再生

傅作申* 徐振彪 母秋华

(中国人民解放军农牧大学植物细胞工程研究室, 长春 130062)

摘要 探讨了不同材料,不同培养基对玉米幼胚愈伤组织诱导的影响及愈伤组织继代和分化情况。指出愈伤组织诱导与基因型关系很大,外因中培养基是主要因素。

关键词 玉米 幼胚 愈伤组织 诱导 培养基

1 材料和方法

1.1 诱导材料

7个玉米自交系:93供18-1,93供113-1,92供7068-2,93供23-1,93供74-2,7024,91接28-2,分别代号j1,j2,j3,j4,j5,j6,j7(下同)。3个杂交材料:91接28-2×93供18-1,91接28-2×0017,91接28-2×0018,分别代号j7×j1,j7×17,j7×18(下同)。

1.2 培养基

诱导培养基:N6,MS,MB(MS大量,B5微量),8114^[1]。继代培养基:8114培养基,2,4-D 2~4 mg/L。分化培养基:8114培养基除去2,4-D,另加KT 0.5 mg/L,NAA 0.5 mg/L,BA 0.5 mg/L,蔗糖为20 g/L。

以上所有培养基在121℃下高压灭菌(18~20 min)。

1.3 材料处理

实验材料田间种植,分别取授粉11~14 d的幼雌穗,剥去苞叶,用75%酒精浸泡10 s(秒),然后用无菌水冲洗3遍,挑选穗子中部2 mm左右大小一致的幼胚,每培养皿30~40个,每三角瓶8~10个。

1.4 愈伤组织诱导继代及分化条件

诱导:遮光培养,温度25~28℃。继代:散射光,温度25~28℃。分化:每个培养格2个100 W日光灯管,每天光照14 h,温度25~28℃。

2 结果与分析

2.1 不同材料、不同培养基对愈伤组织诱导的影响

本实验中的所有材料在4种培养基中均能诱导出愈伤组织,诱导率都大于10%,说明玉米幼胚的诱导具有普遍性。自交材料中j6的诱导率最高,为64.28%,杂交材料j7×18,j7×j1,j7×17的诱导率分别为64.90%,63.75%,53.3%,诱导率都较高。差异显著性检验结果显示,自交材料中j6与其它材料间有显著差异,其它自交材料间未见显著差异。杂交材料中,j7×17与其它两种杂交材料有显著差异,其它两种材料间未见显著差异。杂交材料与除j6的自

* 傅作申现在在中国人民解放军大连医学高等专科学校生化教研室工作。

交材料皆有显著差异,j6 与 j7 × 17 有显著差异,与其它两种杂交材料无显著差异(表 1~3)。由此看来,材料的基因型对愈伤组织的诱导影响很大。

表 1 不同材料在不同培养基下的平均诱导率(%)

培养基	材 料									
	j1	j2	j3	j4	j5	j6	j7	j7 × j1	j7 × 17	j7 × 18
MS	14.7	18.4	18.8	16.1	15.8	51.5	18.8	57.1	47.0	60.0
N6	10.5	14.3	18.2	9.5	12.4	55.6	10.7	73.5	38.9	70.7
8114	17.2	17.4	22.5	18.1	18.4	100	26.3	65.0	65.8	74.2
MB	14.1	8.1	14.7	10.8	11.1	50.0	14.3	59.4	61.5	54.1

表 2 材料与培养基二因素方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F 值
区组	2	194.2	97.1	1.13
处理间	39	71 355.4	1 829.6	21.20
材 料	9	62 527.8	6 947.5	80.60
培养基	3	3 020.9	1 009.9	11.72
交互作用	27	5 797.3	214.7	2.49
误 差	78	6 720.4	86.2	
总变异	119	78 269.7		

表 3 材料对诱导率的影响

材 料	出愈率(%)	差异显著性	
		5%	1%
j7 × 18	64.90	a	A
j6	64.82	a	A
j7 × j1	63.75	a	A
j7 × 17	53.30	b	B
j3	18.55	c	C
j7	17.53	c	C
j2	14.55	c	C
j5	14.43	c	C
j1	14.12	c	C
j4	13.63	c	C

在培养基的影响中,8114 培养基的诱导率平均值最高,为 41.58%,8114 培养基与其它 3 种培养基间有显著差异,其它 3 种培养基间未见显著差异(表 4)。表明本实验中,8114 培养基更适合我们所用材料的愈伤组织诱导。

表 4 培养基对诱导率影响

培养基	出愈率%	差异显著性	
		5%	1%
8114	41.58	a	A
MS	31.87	b	B
N6	31.43	b	B
MB	29.80	b	B

表 5 幼胚愈伤组织的分化及植株再生

	材 料	愈伤块数	分化苗数	分化率%
可分化出苗的	j6	165	37	22.4
	j7 × j1	125	96	76.8
	j7 × 18	140	75	53.6
	j5	126	4	3.2
	j7	130	8	6.2
未分化出苗的	j1		只长根	
	j2		长根,细毛状	
	j3		长根,少量芽,褐化	
	j4		长大量根	
	j7 × 17		半褐化,少量根	

2.2 愈伤组织继代和分化情况

幼胚培养 4 周后开始继代,除掉根毛及芽,将诱导出的愈伤组织接种于 8114 继代培养基,j6 的愈伤组织黄色或黄白色,团块状,致密,有的松脆,出现黄色小颗粒状愈伤组织。选出此种愈伤组织单独培养,发现生长较慢,最终未能分化出苗。其它 9 种材料表现各异,多出现根毛,有的水浸状,有的很软。

所有材料在继代过程中都有分化现象出现,有的出现绿点,应视愈伤组织生长情况及时调整激素浓度及比例,如分化明显,根毛及芽较多应提高 2,4-D 浓度,降低 KT 或 BA 浓度,反之则相反。但 2,4-D 浓度不宜超过 4 mg/L,也不能在高浓度 2,4-D 条件下继代时间过长,过高 2,4-D 浓度愈伤组织变为水浸状,在高浓度 2,4-D 下培养时间太长易影响分化能力,而

且一旦受到此种影响,材料的分化能力就很难恢复。

以 8114 分化培养基对愈伤组织分化,发现 $j_6, j_7 \times j_1, j_7 \times 18, j_5, j_7$ 能够分化出苗,其中 $j_7 \times j_1$ 出苗率最高,为 76.8%, $j_7 \times 18$ 为 53.6%, j_6 为 22.4%, j_5, j_7 只有少量分化出苗,见表 5。

3 讨 论

本实验所用的 10 个材料均能诱导出愈伤组织,诱导率都大于 10%,表明玉米幼胚愈伤组织的诱导具有普遍性,此点同周洪生^[3]的实验结果相似。但各个材料间的诱导率差别较大,表明玉米幼胚愈伤组织诱导与基因型关系很大。

3 个杂交材料的诱导率普遍较高,而且虽然 j_7, j_1 的诱导率低,但 $j_7 \times j_1$ 的诱导率很高,一定程度地表明诱导能力与基因型的杂合程度有关。可由于我们所用的杂交材料少,且都以 j_7 为母本,材料单一,正反交对愈伤组织的影响也没有做实验,因此,这方面的情况应深入实验探讨,进一步弄清愈伤组织诱导能力与基因型的关系。

外因中,培养基是起作用的主要因素^[4],许多前人都证实,不同培养基诱导能力差异很大,我们实验所用培养基,8114 培养基的诱导率较其它培养基高。

参 考 文 献

- 1 母秋华. 介绍一种培养基. 遗传, 1980, (2): 28
- 2 周洪生. 甜玉米愈伤组织的诱导、继代、植株再生的研究. 作物学报, 1993, 19(1): 55-61
- 3 Maliga, p. et al.; Induced mutations in advancing in vitro culture technique In "Induced mutation - A tool on plant research" Proc. of symposium, held in Vienna 1981, P: 339-352

(责任编辑:王晓丽)