

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2008)02-0088-03

温度对马铃薯花药愈伤诱导率的影响

姜丽静, 卢翠华*, 石 瑛, 邱 宏, 刘 辉, 姜丽丽

(东北农业大学农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 采用讷 16、克新 16、克新 13 和西北果 4 个马铃薯品种或品系为试验材料, 研究不同温度处理对马铃薯花药愈伤组织形成的影响。研究表明, 接种前花蕾经 2~8 d、4°C 低温预处理有利于花药愈伤组织的形成, 其中以 2~4 d 处理的效果最好, 接种后经 24~48 h、32°C 热激处理有利于花药愈伤组织的形成。试验还对低温预处理和热激处理相配合的效果进行了比较, 发现两者配合处理的效果好于单独处理, 单独热激处理的效果好于单独低温预处理。

关键词: 马铃薯; 花药培养; 温度; 愈伤诱导率

花药培养已成为生物学科中研究的重要内容之一, 并且广泛应用于植物遗传育种^[1]。马铃薯花药培养研究始于上个世纪 80 年代, 早在 1973 年, Dunwell 就从马铃薯四倍体栽培种花药培养中获得了 1 株双单倍体。我国的几个育种单位在上世纪 80~90 年代对此研究较多, 甘肃农大戴朝曦^[2]以马铃薯四倍体普通栽培种为试材, 诱导出了双单倍体植株。朱明凯等^[3]培养马铃薯早熟四倍体栽培种花药, 也获得了双单倍体植株。国内外在水稻、小麦等禾本科作物上的研究表明, 在花药培养中愈伤组织的诱导率除受植物基因型、培养基、花药发育时期和植物激素配比等因素的影响外, 低温预处理和热激处理也是影响花药愈伤组织形成的主要因素^[4]。目前关于低温预处理和热激处理对马铃薯花药愈伤组织形成的影响报道的很少。本试验研究了不同低温预处理时间及不同热激时间对马铃薯花药愈伤组织形成的影响, 旨在提高马铃薯花药愈伤组织诱导率, 为马铃薯单倍体育种提供理论根据和基础材料。

收稿日期: 2007-11-10

基金项目: 黑龙江省科技攻关计划项目 (GB07B104)。

作者简介: 姜丽静 (1974-), 女, 硕士研究生, 从事马铃薯遗传育种研究。

* 通讯作者: E-mail: cuihualu2000@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为黑龙江省农业科学院克山马铃薯研究所和大兴安岭地区农业科学研究所提供的 4 个马铃薯四倍体栽培品种或品系: 讷 16、克新 13、克新 16、西北果。

1.2 试验方法

选取小孢子处于单核靠边期至双核早期的花蕾, 用自来水冲洗 10~20 min, 在超净工作台上, 70% 的酒精灭菌 30 s, 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 取出花药接种于诱导愈伤培养基上 (MS 基本培养基+0.5mg·L⁻¹ NAA+1mg·L⁻¹ 2,4-D+0.5mg·L⁻¹ KT)。用 100 ml 的三角瓶, 接种密度为 40 个花药/瓶, 每处理接 10 瓶。培养条件为温度 25°C, 诱导期为全黑暗培养。

1.2.1 低温预处理

以讷 16、克新 16 为试材, 将花蕾用湿纱布包好后置 4°C 冰箱中进行 2、4、6、8 d 的低温预处理。

1.2.2 热激处理

以讷 16、克新 16 为试材, 将接种的花药放在 32°C 的人工气候箱中进行 24、48、72 h 的热激处理。

1.2.3 低温预处理与热激处理配合使用

以克新 13 和西北果为试材, 设置 4 个处理:①未经低温处理的花蕾 (CK); ②将花蕾经 4℃低温预处理 4 d 后接种; ③接种后再经 32℃、48 h 热激处理; ④先经 4℃、4 d 低温预处理后接种,再经 32℃、48 h 短期热激处理。

1.2.4 愈伤组织诱导率统计

接种后 30 d 统计形成的愈伤组织数, 计算愈伤组织诱导率。愈伤组织诱导率 (%) = (形成愈伤组织的花药数/接种花药数) ×100%。

2 结果与分析

2.1 低温预处理对愈伤组织诱导率的影响

从表 1 可看出, 供试 2 个材料经 2~8 d 低温预处理后花药愈伤组织诱导率均明显高于对照, 其中 纳 16 预处理 4~6 d 效果较好, 诱导率达 11.66%~12.37%; 克新 16 预处理 2~4 d 效果较好, 诱导率为 12.70%~13.18%。

表 1 低温预处理对愈伤组织诱导率的的影响

品种	低温预处理 天数 d)	接种花药 个数(个)	愈伤组织 数 块)	愈伤组织 诱导率(%)
纳 16	0 CK)	371	18	4.85
	2	400	33	8.25
	4	372	46	12.37
	6	403	47	11.66
	8	370	25	6.76
	0 CK)	400	24	6.0
克新 16	2	370	47	12.70
	4	402	53	13.18
	6	383	41	10.70
	8	397	34	8.56

2.2 热激处理对愈伤组织诱导率的影响

从表 2 可看出, 接种后适当的热激处理有利于提高愈伤组织的诱导率。发现在 24~48 h 内随着热激处理时间的增加, 诱导率逐步增高, 但当处理时间为 72 h 诱导率反而低于对照。以 48 h 处理效果最好, 纳 16 和克新 16 诱导率分别达 14.93%和 13.47%。

2.3 低温预处理与热激处理相配合对愈伤组织诱导率的影响

从表 3 看出, 单独进行低温预处理或热激处理

均有利于愈伤组织的形成。将低温预处理和热激处理相配合后, 也有利于诱导率的提高。同时可以看出, 低温预处理或热激处理配合后克新 13 号诱导率(16.32%) 与西北果的诱导率(13.06%) 均高于单独热激处理和单独低温预处理的诱导率。

表 2 短期热激处理对愈伤组织诱导率的影响

品种	热激处理 时间 h)	接种花药 个数 个)	愈伤组织 数 块)	愈伤组织 诱导率 %)
纳 16	0 CK)	370	22	5.94
	24	340	30	8.82
	48	402	60	14.93
	72	402	15	3.73
	0 CK)	400	30	7.50
克新 16	24	368	36	9.78
	48	401	54	13.47
	72	371	20	5.39

表 3 低温预处理与热激处理相配合对愈伤组织诱导率的影响

品种	处理	接种花药 数 个)	愈伤组织 数 块)	愈伤组织 诱导率 %)
克新 13	1 CK)	340	21	6.18
	2	400	56	14.0
	3	402	60	14.93
	4	370	60	16.32
	1(CK)	371	28	7.55
西北果	2	371	44	11.86
	3	398	48	12.06
	4	398	52	13.06

注: ①未经低温处理的花蕾; ②将花蕾经 4 d、4℃低温预处理后接种; ③接种后经 32℃、48 h 的热激处理; ④先将花蕾进行 4℃、4 d 低温预处理再接种, 接种后经过 32℃、48 h 的短期热激处理。

3 讨 论

低温预处理有利于花药培养在禾本科作物中已有报道^[5]。其原因是低温预处理后显著延长了花药壁退化的时间, 在花药壁中积累了大量的淀粉, 为花粉的进一步生长发育提供了物质基础^[6]; 同时低温预处理也延长了花粉的退化时间, 促进了花粉的起动和去分化, 提高了花粉发育的百分率。本试验表明, 低温预处理方法有利于马铃薯花药愈伤组织的形成。

庄军平等^[7]研究认为, 单独热激处理的效果优

于单独低温预处理。热激处理有利于花药培养, 主要是由于热激能引起编码高分子量蛋白基因的转录。同时热激后出现在胚性小孢子中的一些 mRNA, 特别是编码高分子量蛋白质的 mRNA, 在培养前的新鲜花药中不存在或含量很低。也有人认为高温能减少小孢子之间的竞争, 促使小孢子发育同步化。一直处于高温处理下的愈伤组织较易失去形成绿苗的能力, 本试验得出高温处理在 32°C 下处理 2 d 时愈伤组织诱导率较高。

本研究结果表明, 马铃薯花药培养中单独进行低温预处理或热激处理, 可明显提高马铃薯花药愈伤组织诱导率, 且热激处理的效果好于低温预处理的效果, 这与庄军平等研究相符。本研究认为, 低温处理与热激配合使用 > 单独热激处理 > 单独低温预处理。

[参 考 文 献]

- [1] 金黎平, 杨宏福. 马铃薯双单倍体的产生及其在遗传育种中的应用[J]. 马铃薯杂志, 1996: 180-186.
- [2] 戴朝曦. 用花药培养法诱导马铃薯产生双单倍体植株的研究[J]. 科学通报, 1982, 27(24): 152-155.
- [3] 朱明凯, 程天庆, 高湘玲, 等. 早熟马铃薯四倍体栽培种花药诱导成株[J]. 园艺学报, 1985, 12(5): 177-181.
- [4] 胡含, 王恒立. 植物细胞工程育种[M]. 北京: 北京工业大学出版社, 1990.
- [5] 卢良恕. 中国大麦学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [6] 孙慧生. 马铃薯育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [7] 庄军平, 巩振辉, 苏菁, 等. 温度对辣椒花药愈伤组织形成的影响[J]. 西北农业学报, 2001, 10(2): 49-51.

Effects of Temperature Treatment on Callus Induction of Potato

Jiang Lijing, Lu Cuihua, Shi Ying, Di Hong, Liu Hui, Jiang Lili

(Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

Abstract: In this experiment, 4 potato varieties were used to study the effects of temperature treatments on callus induction of potato. Low temperature pretreatments at 4°C for 2~8 d on flower buds before inoculation were beneficial to callus induction, and the best treatment was 4°C for 2~4 d. Heat shocks at 32°C for 24~48 h after inoculation also contributed to callus induction, but the callus induction was inhibited when treated for 72 h. The result of comparing low temperature pretreatment before inoculation with heat shocks after inoculation indicated that the later was more efficient than the former. However, combination of low temperature pretreatment of flower buds at 4°C for 4 d with heat shock treatment of 32°C for 48 h after inoculation gave the best results.

Key Words: potato; anther culture; temperature; callus induction

欢迎订阅《中国马铃薯》杂志

《中国马铃薯》杂志是由中国作物学会马铃薯专业委员会和东北农业大学主办的国内唯一的马铃薯专业科技期刊。它以繁荣我国马铃薯事业为办刊宗旨, 设有学术园地、研究简报、经验交流、综述、病害防治、产业开发、新品种介绍等栏目。

本刊国内外公开发售, 双月刊, 大 16 开本, 每期定价 6.00 元, 全年 36.00 元, 哈尔滨市邮局发行, 全国各地邮局订阅, 邮发代号: 14-167。读者也可直接汇款至编辑部订阅。本刊承揽广告业务, 欢迎各界广为利用。

通讯地址: 东北农业大学《中国马铃薯》编辑部

邮 编: 150030

电 话: 0451- 55190003 55190739 (Fax)

中国马铃薯编辑部