

提高大白菜花粉植株诱导频率的几点体会^{*}

黑龙江省农业科学院园艺研究所助理研究员 邓立平

我所大白菜花药培养研究工作是从1973年开始的。当年曾获得国内首批白菜花粉植株。1978~80年,进一步开展此项研究,逐步提高了花粉植株的诱导频率:1978年平均分化频率0.85%,最高分化频率为5.08%,得苗68株;1979年,平均分化频率2.87%,最高分化频率27.03%,得苗100余株,1980年平均分化频率12.18%,最高分化频率64.29%,得苗5000余株。为开展大白菜单倍体育种提供了试材。

几年的试验结果,我们体会到,提高花粉植株诱导频率受以下几种因子的影响:

一、试材的选择:

在我们所采用的44份品种(组合)中,由于结株形不同,品种与杂种不同,其诱导效果差异较大,几年来的试验,牛心型的较直筒型难出苗,而直筒花心型,直筒卵圆型皆介于两者之间;杂交种又较品种易出苗,我们所试用的试材中 $(4 \times 22) \times (8 \times 4) F_1$ 在MS培养基中,苗分化频率达到64.29%。

二、培养基的筛选:

1. 基本培养基的筛选:我们曾试用了MS、B₅、N₆、Nitch、麦基一号等五种培养基,以MS、B₅培养效果为最好。其他试材也没有出苗,我们认为,对大白菜花药培养来说,采用MS、B₅两组培养基较为适宜。1978年在MS培养基上接种6,344枚花药,分化频率为0.68%;在B₅培养基上接种2,865枚花药,分化频率为1.02%;1979年在MS培养基上接5,645枚花药,分化频率为2.17%;在B₅培养基上接4,885枚分化频率为3.56%;1980年在MS培养基上接6,245枚花药分化频率为10.67%;在B₅培养基上接7,313枚花药,分化频率达13.68%。从几年的数字看来,B₅培养基历年都比MS为佳。

2. 附加物的种类与浓度:

2, 4-D、动力精、蔗糖是白菜花药培养过程中,诱导培养基中不可缺少的重要组成部分。对我们所采用的试材来说,在MS、B₅两组基本培养基上,三种附加物的适宜浓度范围为:2, 4-D 1.5~2.5mg/l + 糖1.5%;动力精1~1.5mg/l、蔗糖3~4%。

3. 激素6BA在分化培养基中的重要作用:

试验了以B₅为诱导培养基,愈伤组织分别转移到:①B₅+蔗糖1.5%;②B₅+2AA 0.2mg/l + 6BA 2mg/l + 蔗糖1.5%;③B₅+6BA 2mg/l + 蔗糖1.5%等三种分化培养基上。明显看出,激素6BA对分化苗的重要作用。

在无激素培养基上①上,转入446块愈伤组织,只有7块分化出绿苗,其中6块幼苗长势很弱,且又愈伤组织化,退化率达85%,我们将这些重新愈伤组织化的绿苗,再接到③的培养基上,则又很快分化出绿苗而在附加6BA 2mg/l的③培养基上,转移906块愈伤组织。其中124块分化出绿苗;分化频率达13.69%,分化出的苗长势健壮没有重新愈伤组织化的现象。所以,我们认为,6BA是白菜花愈伤组织分化的重要物质。

^{*} 参加此项工作的还有:曾燎、滕玉双、王扬、郭亚华

三、供花药植株的生长状态及花粉发育时期

使花药植株生长健壮,是取得花培成功的先决条件。试验指出:在早期母根生长条件好,温度适宜的情况下,最好取始花期的花药进行接种,接种花药的小孢子为单核期~双核初期为宜,花器官的外部形态是:花萼紧包花冠,蕾长2mm左右;花瓣无色,花瓣长是花药长的 $1/2 \sim 2/3$ 。

四适宜的培養温度:

白菜花药离体培养,经历着与种子正长生长发育的不同过程,它起始于花粉发育的雄核分裂,从而形成愈伤组织或胚状体。这一诱导过程需要较高的温度,而当花粉启动后,细胞分裂到一定程度,开始分化成苗,这一阶段,便要求稍低一点的温度。

提高愈伤组织诱导温度,是提高分化频率的有效措施。以往,我们一直采用 $17 \sim 28$ 度的诱导温度,这个温度愈伤组织形成的较慢一般为 $25 \sim 30$ 天,且质量较差,生长缓慢,分化频率也低。1980年开始,提高了诱导温度($24 \sim 32^{\circ}\text{C}$)花药接种 $10 \sim 15$ 天便出现大量的乳白色愈伤组织。经转移后(温度降低至 24°C 左右),10天左右便出现花粉小植株,这种小苗完全是丛生的,每块愈伤组织如果及时转移继代培养,可以不断分化绿苗,甚至百株以上,从而,使1980年花药培养的诱导率从1979年的3%提高到1980年的12%以上。我们认为。提高前期培养温度对加快花粉启动提高分化频率有着重要作用。

严格控制以上四点,便可以获得较高频率的花粉植株,从而,为单倍体育种提供一定量的群体试材。为使花粉小苗正常成长,必须掌握以下两点:

(一)花粉植株在瓶内污染的抢救:

花粉植株丛状长出,不断分瓶培养是必要的,而单株花粉幼苗,生长至4~5片真叶时,也要及时转入生长培养基中。每一次转移过程都给污染造成机会。一旦培养瓶内出现杂菌,都会直接威胁幼苗的生长,直至死亡。为保存试材,必须排除污染,几年来,我们采用0.1%升汞水杀菌法,效果较好,作法是,将已污染的培养瓶放入无菌箱内,取出幼苗,弃去污染瓶,将带菌的小苗放入0.1%升汞水溶液中,浸5~8分钟,取出后用无菌水冲洗3次然后放置到新的培养基中。即可解除污染,保证了幼苗的正常生长。

(二)花粉植株的移栽与培养:

1. 诱导培养:小苗在分化培养基中长至4~5片真叶及茎后,即可切去茎基部的愈伤组织,插入生根培养基中,在 24°C 左右的培养室内,经过7~10天便长出数条健壮的白色根系。生根培养时,切忌室温不宜过高,高温不宜生根。采用适宜培养基,严格控制温度,使其形成壮根。

2. 移栽及成活技术:

当根系长4~5条以上,便可进行移栽,我们采用营养丰富、质地疏松的苗床土,过筛后装入花盆中,将欲栽的幼苗由瓶中取出,注意不要伤根,取出后先用温水洗去根部的培养基,直接栽到干土中,然后将栽上苗的花盆一起座在温水盆中,让水由下慢慢向上湿润,待土壤全部湿透后,将盆由水中取出,刚刚栽好的小苗,地上部需要用玻璃罩罩上,三天后,逐渐去掉玻璃罩,小苗即可成活。移栽时的温度很重要。天气太热不利于幼苗生根,成活率较低。