

大葱花药培养研究初报

王文洁, 张国进, 周联东, 刘喜存, 郭玉霞

(新乡市农业科学院, 河南 新乡 453000)

摘要:探索了大葱花药处于单核晚期的形态指标,并以B5为基本培养基,分别添加2,4-D (2.0~3.0 mg/L)、6-BA (0.5 mg/L)、谷胱甘肽 (800 mg/L)等,对大葱花药进行了离体培养。结果表明:32℃热击处理有利于大葱花药诱导愈伤组织;培养集中添加6%浓度的蔗糖,有助于大葱愈伤组织的培养;大葱愈伤组织诱导率较低,且不易分化。

关键词:大葱;花药培养;愈伤组织

中图分类号:S 633.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)03-0113-02

大葱(*Allium fistulosum* L.)属葱科葱属植物,具有营养和保健作用。据报道葱含有微量元素硒,可降低胃液内的亚硝酸盐含量,对预防胃癌及其它多种癌症有一定作用,它还具有降血脂、降血压、降血糖的作用。大葱生育周期长,在自然条件下2 a才能完成一个生育周期,培育1个大葱杂交品种,需要10 a以上的时间。

迄今为止,已有一些作物如马铃薯^[1]、辣椒^[2]、萝卜^[3]等通过花药成功培养出单倍体。但还没有发现关于大葱花药培养的报道。在大葱单倍体培养方面,只有韩清霞等^[4]以隆尧大葱幼小花蕾的子房为外植体,获得了未受粉子房培养发育成的单倍体植株。而单倍体育种在较短时间内便可以选育出适宜作为强优势亲本的纯系,同时由于不存在基因间的显隐性作用,一些由隐性基因决定的性状便可以得到充分利用,这样大大缩短了育种年限。因此进行大葱单倍体培养技术的研究,对于选育具有突出优点的亲本品系、加速育种过程具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以新葱二号的适龄期花药为材料。

1.2 试验方法

1.2.1 花药时期的观察和确定 从田间采取供试大葱花蕾,用1%醋酸洋红染色、压片,在显微镜下观察花粉的发育时期,选取处于单核晚期的花药。经过观察发现,花蕾未开放或刚刚开放,总花苞上部呈白色,花蕾中部的花药多处于单核晚期,此时雄蕊达花被的1/2~2/3处,花药为黄绿色。

1.2.2 接种前的低温预处理 从田间取回花蕾后,放入

4~8℃的低温下处理2~3 d,以改变花药的发育途径。

1.2.3 接种方法 用镊子将总花苞撕开,用剪刀剪去上部和下部的小花,留下中部的小花,然后在超净工作台上,对小花进行消毒。先用70%~75%的酒精消毒30~60 s,再用2%次氯酸钠消毒15~20 min,其间不断搅动,然后用无菌水冲洗3~5次,把灭好菌的材料放入带有湿润滤纸的无菌培养皿中。剥取黄绿色的花药,接种在附加不同浓度激素的培养基中诱导愈伤。注意避免花丝、花瓣碎片带入培养基。

1.2.4 培养基 该试验以B5为基本培养基,2,4-D浓度为2.0~3.0 mg/L,6-BA为0.5 mg/L,蔗糖浓度为3%~6%,琼脂为6 g/L,谷胱甘肽800 mg/L,pH 5.8~6.0,121℃,高压灭菌20 min。

1.2.5 培养条件 把刚接好的花药放入32℃培养箱中黑暗培养72 h。然后转至25℃恒温,黑暗条件下培养,一部分直接放入25℃恒温,黑暗条件下培养。

2 结果与分析

2.1 高温热击处理的作用

大葱花药接种后,一部分放置25℃、黑暗直接进行愈伤组织诱导,一部分放置在32℃条件下进行热击处理。经过32℃高温处理72 h后,观察可以发现,花药膨大,但在25℃培养3 d之后,看不到花药有什么变化。25℃培养10 d之后,可以看到经过热击处理的花药有愈伤组织长出,而没经过热击的花药没有愈伤组织长出,经过20~30 d的培养之后,仍然不见愈伤组织长出。可见高温热击处理对大葱花药愈伤组织的发育起着至关重要的作用。

2.2 愈伤组织诱导的观察

图1~3为大葱花药暗培养18 d的照片,大葱花药经过热击的诱导培养后,组织变得疏松膨大,在25℃黑暗培养2周左右,发现有愈伤组织从大葱花药侧棱长出

第一作者简介:王文洁(1973-),女,硕士,助研,现主要从事生物技术研究工作。Email:wangwenjie08@yahoo.cn。

收稿日期:2009-10-15

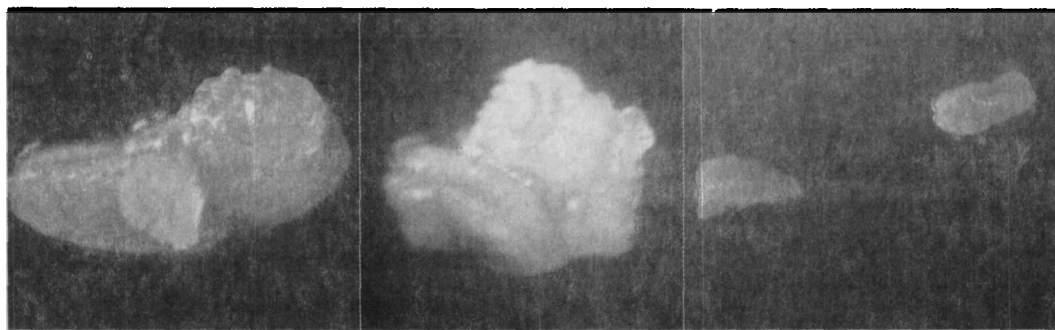


图1 花药愈伤组织

图2 花药愈伤组织

图3 花药组织疏松膨大

(见图1、图2),在体式显微镜观察发现,有的花药组织疏松膨大,有可见突起长出(图3)。

2.3 蔗糖浓度对花药培养的影响

在激素配比和附加物相同的情况下,在培养基中添加3%的蔗糖,形成的愈伤组织比较疏松,愈伤组织透明,含水量较大,而培养基中添加6%的蔗糖,长出的愈伤组织比较紧实,含水量较低,可以推断培养基中添加高浓度的蔗糖对大葱花药培养是很有利的。

3 结论与讨论

热击处理对许多作物的花药培养有明显作用。如庄军平等在辣椒花药培养中采用接种后经12~60 h, 32℃高温处理,有利于花药愈伤组织的形成^[5]。在大葱花药的培养中发现,大葱花药如果不经热击处理,所采用的配方均没有形成愈伤组织,而经32℃高温处理后的花药能够发育成愈伤组织,因此热击可能是大葱花药诱导的一个关键因素,可能是热击处理后,改变了其原来的发育途径,使其脱分化形成愈伤组织。

在花药培养中添加蔗糖的作用主要是作为渗透调节剂,同时也为后来发生的胚状体或愈伤组织的生长提供能量,蔗糖浓度的大小对花粉小孢子活力有很大的影

响。该研究结果表明,6%的蔗糖浓度有利于大葱愈伤组织的培养,遗憾的是没有进行很细致的研究。试验还发现大葱花药愈伤组织诱导率极低,有20%左右,主要原因可能是大葱花粉表面附着有厚薄不等的黏液层阻碍了离体花粉对养分的吸收和生长^[6],也可能与基因型、培养基有关。该试验只是对大葱花药进行了初步的探索,培养基配方、有机物的添加、蔗糖的浓度以及培养条件等还需要进一步的研究。

参考文献

- [1] 戴朝曦,于品华,王蒂,等.用花药培养法培育马铃薯双单倍体植株的研究 III 花药培养中出现的一些特殊现象及双单倍体植株的初步观察[J]. 马铃薯,1985(2):3-7.
- [2] 张子君,徐矿红.辣椒花药培养诱导胚状体成苗[J]. 辽宁农业科学,2000(4):43-45.
- [3] 梅耐勇,杨保国,姚芳,等.萝卜单倍体培养[J]. 植物生理学通讯,2002(2):37.
- [4] 韩清霞.大葱未授粉子房离体培养再生小植株[C]. 葱蒜类蔬菜学术讨论会论文,2002.
- [5] 庄军平,苏 菁.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.
- [6] 张启沛,魏佑营,栾兆水.大葱育种[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2008:69.

Primary Investigation in Anther Culture of Welsh Onion

WANG Wen-jie, ZHANG Guo-jin, ZHOU Lian-dong, LIU Xi-cun, GUO Yu-xia
(Xinxiang Institute of Agricutural Science, Xinxiang Henan 453000)

Abstract: The cytological observations of pollen in different developmental stages of welsh onion were undertook, B5+2, 4-D(2.0~3.0 mg/L)+6-BA(0.5 mg/L)+glutathione(800 mg/L) was used for callus formation. The results showed that pretreatment of anther after inoculation at 32℃ for 3 d and the medium with 6% sucrose were favorable for callus formation. The callus induction rate of anther was low, and its differentiation was not easy.

Key words: welsh onion; anther culture; calls