

小麦(*Triticum aestivum* L.)品种的组培特性和转基因受体选择

吉前华¹ 任正隆^{2,*}

(¹广东肇庆学院生物系, 广东肇庆 526061; ²四川农业大学植物遗传和育种省级重点实验室, 四川雅安 625014)

摘要 本研究分析了西南地区地方品种资源的几个组培特性的变异及优良转基因受体小麦品系选育的可能性。研究指出,小麦幼穗的脱分化能力和愈伤组织再分化能力具有基因型间的广泛变异,农家品种和育成品种中的变异趋势一致。在不同的品种中,半愈期和成愈率分别分布在6~28 d以上和15.85%~100%,半愈期呈现了连续分布,并在12 d和21 d处形成两个分布高峰。94.81%的品种(系)的愈伤组织能形成根,成根愈率存在基因型间的广泛变异,分布在0~74.29%之间。绝大多数品种(系)的成根愈率分布在10%左右,但个别品系如R1395的成根愈率达70%以上。仅有26.67%的供试品种(系)的愈伤组织能成芽,而且成芽愈率很低。但有的品种(系),如西藏地方品种多花白的成芽愈率达20%以上,是宝贵的基因资源。半愈期和成愈率显示了高度的相关性,相关系数为-0.7229^{**}。半愈期、成根愈率、成芽愈率之间没有检测到显著的相关性,指出它们可能受不同的遗传基础控制。使用组织培养中脱分化能力和再生能力均较好的资源多花白(西藏地方品种)和R1395(育成品种)为杂交亲本,发现其F₃株系中,半愈期、成愈率、成根愈率和成芽愈率等性状的变异趋势和地方品种及育成品种一致,但具有优良组织培养特性的株系的频率显著较高,组织培养特性和农艺性状存在一定的正相关。文中讨论了小麦转基因受体的选育策略问题。

关键词 组织培养;转基因植物;小麦育种;资源

中图分类号: S512

Tissue Culture Response and Selection of Transgenic Receptors in Wheat(*Triticum aestivum* L.) Cultivars

Ji Qiang-Hua¹, Ren Zheng-Long^{2,*}

(¹ Department of Biology, Zhaoqing College, Zhaoqing 526000, Guangdong, ² State Key Laboratory for Plant Genetics and Breeding, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China)

Abstract In the study on transferring alien genes into wheat using a transgenic system, the receptor plant is very important for its capability in callus induction and plant regeneration. The present study was conducted to find the good germplasm in wheat breeding for transgenic receptors which should exhibit excellence in tissue culture response and good agronomic characteristics. 75 local genotypes, 83 modern genotypes and 127 F₃ families of Duohuabai/R1395 in wheat were analyzed for the days of callusing at 50% (DCH), the rate of callusing in 4 weeks (RCW) in callus induction; and rate of calli of root formation (in %, RCRF) and the rate of calli of shoot formation (in %, RCSF) in differentiation culture. An extensive variation was found in DCH, RCW, RCRF, and RCSF among different wheat genotypes (Table 1). The same trend of variation of these characters was observed in all the genotypes (Fig. 1, 2, 3, 4). A high correlation between DCH and RCW was found with the correlation coefficients of -0.7229^{**}, indicating there was same genetic background for DCH and RCW (Table 2). No significant correlation was observed among DCH, RCRF, and RCSF, suggesting that DCH, RCRF and RCSF were controlled by different genetic foundation (Table 2). A moderate correlation was observed between DCH and RCW with some agronomic characteristics, indicating the possibility to develop wheat transgenic receptors with excellent agronomic characteristics (Table 2). Several excellent parents of wheat with high ability in tissue culture response, such as Duohuabai from Tibet, R1395 from advanced lines, were screened from genotypes. A higher frequency of lines with excellent ability in tissue culture response was observed in the F₃ family populations of the crosses between Duohuabai and R1395

基金项目:国家自然科学基金项目(30170579)和四川省生物技术项目资助。

作者简介:吉前华(1973-),女,农学博士,主要从事生物学的教学和研究工作。*通讯作者(Corresponding author):任正隆(1949-),博士,教授,主要从事分子生物学和作物育种的研究工作。E-mail: rzhlab@sicau.edu.cn

Received(收稿日期):2004-02-07, Accepted(接受日期):2004-05-30.

as well as other wheat parents with excellent agronomic traits (Fig. 1, 2, 3, 4). The method of wheat breeding for transgenic receptors was discussed.

Key words Tissue culture; Transgenic plants; Wheat breeding; Genetic resource

在作物基因工程的研究中,转基因研究的成功与否与受体材料的性质有极大的关系,用作转化受体的植物的基因型的作用非常显著^[1~3]。许多研究者认为,某些农作物在遗传转化中由于存在着基因型依赖,导致转化效率较低,是目前植物基因工程发展的主要限制因素之一^[1,4~8]。作物基因工程的目标仍然是培育新品种,因此必须遵循育种学的基本规律,就是需要在一定大小的群体中进行选择。实用的转基因受体系统,必须在一定的时间内创造足够大小的转基因植物群体,供实际育种选择^[9]。为了选育有应用价值的新品种,作为受体的植物还需要农艺性状好,育种价值高。因此,选育农艺性状好的、组织培养效率高的受体植物,或称为基因工程的前育种工作,对建立高效转基因系统有重要的意义^[9,10]。过去的许多研究已指出,小麦一些组织培养特性存在着基因型的差异,有的基因型的出愈速度和植株再生能力明显高于其他的基因型^[5,11~15]。本研究的目标,是对来源于我国西南地区的农家品种资源和近20年来育成的品种作进一步的筛选,提供有较高组织培养能力的基因资源;在此基础上,探讨可用于转基因系统的、组织培养和农艺性状均优良的受体小麦新品系的育种方法。

1 材料与方法

1.1 研究材料的选择

因本研究的目的之一是对小麦资源中的组织培养特性作出评价,并希望从大量的筛选中发现在转基因系统中能使用的优秀基因型,所以选取以下小麦品种(系)作研究材料:(1)地方品种75个,主要是在西南麦区和西藏自治区采集的农家品种和1970年以前的栽培品种。这些地方品种,特别是西藏自治区地方品种的组织培养能力的研究迄今还较少。西藏地方品种由中国农科院品种资源研究所黄亨履研究员提供。(2)1980-2000年的四川省小麦品种(系),包括已经审定或参加省级区域试验的品系。一旦能从中选择到在组织培养中表现优秀的品种,即可直接作为受体品种。(3)对较高组织培养能力亲本多花白(西藏地方品种)和R1395的杂交后代的F₅株系进行研究,探讨F₅株系群体中农艺性状

和组织培养特性间的关系,希望在农艺性状优良的高代品系中选择到在组织培养中表现高效的品系,直接用作转基因系统中的受体植物。表1列出了参试的地方品种的名称。

1.2 培养材料和方法

取小麦幼穗作为外植体,将幼穗切段接种到诱导培养基的表面。每处理接种7支试管,每试管接种3段,一个月后转移到继代培养基上继续培养。把愈伤组织转接在分化培养基上培养时,每个重复愈伤组织不少于20个。品种(系)筛选时,随机区组设计,3次重复。实验中的培养基、组织培养操作和数据统计处理方法采用文献[10](伍碧华,任正隆等,1996)介绍的方法。

接种后即开始每日观察记载愈伤组织发生的情况,4周后统计愈伤组织的发生数量,计算半愈期(一半接种穗段出现愈伤组织时的天数)和成愈率(愈伤组织数/接种穗段数)。经4周培养未达到半愈期的,在统计计算时按4周计算。愈伤组织转移到分化培养基30d后,统计分化出根、芽器官的愈伤组织数,分别计算成根和成芽愈伤组织率。

2 实验结果

在本研究中,半愈期反映了小麦幼穗的脱分化速度,成愈率反映了小麦幼穗最后能形成愈伤组织的能力。而在分化培养基上接种的愈伤组织形成根和形成芽的数量,即成根愈数和成芽愈数,反映了愈伤组织再分化能力的高低,关系到组织培养中成苗的多少,对转基因研究的效率有直接关系。

2.1 小麦幼穗愈伤组织诱导能力和再生能力在地方品种间的变异

75个地方品种中,小麦幼穗在组织培养中半愈期和成愈率存在着品种间的显著差异(表1,图1,图2),方差分析显示差异达极显著水平。这对于我们选育高成愈率亲本用于培育转基因受体品系非常有利。半愈期从最短的6.33d到大于培养期4周。说明小麦幼穗的脱分化速度在品种间存在着广泛变异。成愈率也显示了广泛的变异,不同品种在培养期内,成愈率从100%到15.84%,平均76.96%。成愈率的变异显示了与半愈期平行的趋势。一般说

来,半愈期越短,成愈率就越高。表明半愈期和成愈率可能是受同一遗传系统控制。

表1 小麦地方品种幼穗的愈伤组织诱导率和植株再生频率

Table 1 The frequencies of callus induction and plant regeneration in local wheat genotypes from South west China

品种名称 Genotype	诱导培养基 Induced culture		分化培养基 Differentiation culture		品种名称 Genotype	诱导培养基 Induced culture		分化培养基 Differentiation culture	
	半愈天数 DCH (d)	成愈率 RCW (%)	成根愈数 RCRF (%)	成芽愈数 RCSF (%)		半愈天数 DCH (d)	成愈率 RCW (%)	成根愈数 RCRF (%)	成芽愈数 RCSF (%)
1. 安岳排灯	6.33 ±1.15	100.00 ±0.00	4.63 ±0.33	0.00 ±0.00	40. 矮绒穗	14.00 ±1.15	87.33 ±5.48	9.39 ±7.15	1.45 ±2.51
2. 大粒早	6.67 ±1.53	100.00 ±0.00	8.59 ±7.99	0.00 ±0.00	41. 大头黄	14.00 ±1.73	50.77 ±5.48	3.92 ±3.39	0.00 ±0.00
3. 无须麦	7.00 ±1.73	100.00 ±0.00	3.92 ±6.79	0.00 ±0.00	42. 南充红壳	14.67 ±1.15	88.90 ±2.77	17.02 ±1.07	0.00 ±0.00
4. 开县白光头	7.33 ±2.08	100.00 ±0.00	13.45 ±1.46	0.00 ±0.00	43. 南充大白壳	15.00 ±0.00	84.10 ±12.0	13.51 ±7.15	0.00 ±0.00
5. 多花白	7.67 ±2.08	100.00 ±0.00	7.35 ±7.72	20.41 ±2.47	44. 蓬安三月黄	15.00 ±4.58	68.23 ±5.48	7.33 ±3.92	0.00 ±0.00
6. 西充冬麦	8.33 ±1.53	100.00 ±0.00	24.09 ±3.72	0.00 ±0.00	45. 和尚头	15.00 ±1.73	76.20 ±12.6	9.80 ±6.79	0.00 ±0.00
7. 兰花麦	8.67 ±2.08	100.00 ±0.00	9.39 ±9.11	3.03 ±5.25	46. 西红川	15.33 ±4.51	53.93 ±5.48	16.41 ±1.07	4.65 ±0.53
8. 垫江白麦	9.67 ±1.53	98.04 ±3.39	7.69 ±1.39	0.00 ±0.00	47. 青1028	15.33 ±0.58	79.37 ±5.48	22.89 ±6.86	6.81 ±4.28
9. 藏9054	9.67 ±1.15	100.00 ±0.00	23.04 ±1.97	1.75 ±3.04	48. 藏9546	16.00 ±1.73	73.80 ±2.77	9.59 ±3.75	5.37 ±0.89
10. 红密穗	10.00 ±1.73	98.41 ±2.75	8.15 ±7.14	0.00 ±0.00	49. 葫芦头	16.00 ±2.65	79.37 ±5.48	39.37 ±1.57	5.59 ±4.89
11. 望水白	10.00 ±1.73	100.00 ±0.00	4.74 ±4.28	0.00 ±0.00	50. 棒锤麦	16.00 ±1.73	87.30 ±7.23	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
12. 红壳麦	10.67 ±1.53	91.07 ±1.16	20.42 ±2.47	0.00 ±0.00	51. 大红芒	16.00 ±1.73	74.63 ±7.28	8.66 ±4.38	0.00 ±0.00
13. 三月黄	11.00 ±2.65	98.41 ±2.75	10.34 ±3.71	0.00 ±0.00	52. 金花麦	17.00 ±2.65	65.07 ±5.48	17.66 ±3.95	8.16 ±0.81
14. 和尚麦	11.67 ±1.15	96.83 ±5.50	30.74 ±7.06	13.92 ±2.51	53. 乌山矮桩桩	17.67 ±3.21	61.93 ±8.26	8.62 ±0.81	0.00 ±0.00
15. 白须麦	12.00 ±1.00	90.48 ±8.25	5.68 ±5.89	11.56 ±6.19	54. 眉县秀和尚	18.00 ±3.61	68.23 ±5.48	16.31 ±1.62	3.03 ±5.25
16. 罗汉麦	12.00 ±2.65	100.00 ±0.00	15.08 ±1.37	0.00 ±0.00	55. 黄壳光头麦	20.00 ±0.00	63.47 ±7.28	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
17. 贵州大头麦	12.00 ±2.65	92.06 ±7.27	10.98 ±2.16	0.00 ±0.00	56. 乌扬麦	20.00 ±0.00	61.90 ±12.6	10.25 ±4.44	0.00 ±0.00
18. 乐至白花麦	12.00 ±0.00	100.00 ±0.00	43.59 ±4.44	0.00 ±0.00	57. 长芒麦	21.33 ±5.67	74.60 ±15.3	15.56 ±6.57	0.00 ±0.00
19. 黑芒大粒	12.00 ±1.73	96.83 ±5.50	16.06 ±4.93	0.00 ±0.00	58. 女儿麦	21.33 ±1.15	50.80 ±9.90	5.13 ±4.44	0.00 ±0.00
20. 坨坨麦	12.00 ±2.65	100.00 ±0.00	15.07 ±3.01	17.01 ±1.07	59. 南充大脑壳	21.33 ±1.15	58.73 ±11.0	6.06 ±5.25	0.00 ±0.00
21. 高秆和尚麦	12.00 ±0.00	100.00 ±0.00	10.34 ±3.71	0.00 ±0.00	60. 老齐麦	21.33 ±1.15	60.30 ±9.90	3.70 ±6.41	0.00 ±0.00
22. 红须麦	12.00 ±1.73	87.33 ±5.48	9.80 ±6.79	0.00 ±0.00	61. 一层壳	21.67 ±0.58	57.13 ±9.55	12.53 ±2.46	0.00 ±0.00
23. 藏9053	12.00 ±1.73	92.07 ±2.71	43.14 ±8.98	8.78 ±2.94	62. 白花光头	21.67 ±0.58	55.57 ±9.94	8.16 ±0.81	0.00 ±0.00
24. 贵州大白麦	12.00 ±3.61	60.30 ±9.89	7.63 ±3.59	0.00 ±0.00	63. 察隅卓	22.00 ±0.00	52.40 ±12.6	6.73 ±5.92	0.00 ±0.00
25. 藏438	12.33 ±2.52	90.47 ±8.26	5.37 ±5.95	0.00 ±0.00	64. 大肚黄	22.67 ±1.15	61.90 ±12.6	12.53 ±2.46	0.00 ±0.00
26. 须须麦	12.33 ±3.21	77.77 ±7.28	10.74 ±1.77	0.00 ±0.00	65. 铁麦子	22.67 ±5.51	78.37 ±7.29	18.52 ±6.41	0.00 ±0.00
27. 红条麦	12.67 ±0.58	85.73 ±12.6	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	66. 万县红花麦	23.00 ±0.00	58.73 ±9.94	23.90 ±2.92	0.00 ±0.00
28. 猪尾巴	12.67 ±0.58	93.67 ±5.48	12.08 ±3.56	10.74 ±1.77	67. 中江罗汉	25.00 ±2.65	53.97 ±9.88	13.47 ±7.58	0.00 ±0.00
29. 南麦	13.00 ±2.65	65.07 ±9.94	7.84 ±6.79	0.00 ±0.00	68. 短曲红	26.67 ±1.53	55.53 ±16.7	7.41 ±12.8	3.70 ±6.41
30. 丰都排灯	13.00 ±1.73	84.13 ±9.88	35.81 ±5.95	0.00 ±0.00	69. 长毛密穗	27.00 ±1.73	61.90 ±12.6	10.44 ±11.1	0.00 ±0.00
31. 邻水三月黄	13.00 ±0.00	98.40 ±2.77	7.84 ±8.98	0.00 ±0.00	70. 中江勾头散	—	36.50 ±5.54	7.41 ±6.41	0.00 ±0.00
32. 爬地麦	13.00 ±2.65	96.80 ±2.77	13.10 ±2.33	5.80 ±5.02	71. 黑斑红	—	15.84 ±5.47	10.31 ±9.01	4.76 ±8.25
33. 棒头麦	13.00 ±0.00	90.47 ±8.26	11.76 ±15.56	0.00 ±0.00	72. 鱼尾麦	—	44.47 ±7.28	3.70 ±6.41	0.00 ±0.00
34. 藏9052	13.00 ±4.58	52.37 ±8.26	9.80 ±12.2	0.00 ±0.00	73. 红棒穗	—	41.26 ±9.94	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
35. 乐山本地黄	13.33 ±2.52	68.23 ±5.48	3.92 ±6.79	0.00 ±0.00	74. 灰毛红	—	43.65 ±7.02	5.56 ±9.62	0.00 ±0.00
36. 大黑麦	13.67 ±0.58	92.07 ±7.28	14.23 ±5.64	0.00 ±0.00	75. 毛穗白	—	36.50 ±9.90	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00
37. 白花麦	14.00 ±2.65	87.33 ±5.48	8.78 ±2.94	8.78 ±2.94	平均 Mean	15.76	76.96	11.82	2.04
38. 兜兜麦	14.00 ±3.61	71.47 ±8.26	1.96 ±3.39	0.00 ±0.00	变异系数 CV	0.3778	0.2656	0.7767	0.0839
39. 藏325	14.00 ±0.00	93.67 ±7.29	6.82 ±1.63	7.84 ±3.39	F值 F value	36.66 **	17.34 **	13.79 **	—

Notes: DCH = the days of callusing at 50%; RCW = Rate of calli in 4 weeks; RCRF = Rate of calli of root formation; RCSF = Rate of calli of shoot formation. ** Significant at 1% probability level.

小麦幼穗愈伤组织在分化培养基上,成芽和成根愈伤组织率表现了广泛的变异(表1,图3,图4)。但是,这些品种的愈伤组织形成根的能力远高于形成芽的能力,这里呈现复杂的关系,不像成愈率和半愈期的关系那样简单。本研究测定的地方品种中,94.67%的品种的愈伤组织能形成根,但成根愈率普遍较低。少数品种的愈伤组织形成根的能力特别强,如藏9053,高达43.14%。愈伤组织形成芽的能力普遍较低。在75个小麦品种中仅有25.33%的品种其愈伤组织分化出了芽,而且仅有6.67%的品种的成芽愈率在10%以上。可见,成芽愈率是提高组

织培养中成苗数量的关键。本研究中也成有芽愈率较高的小麦品种,如采集于西藏的多花白,达20.41%(表1),是宝贵的基因资源。

2.2 小麦幼穗愈伤组织诱导能力和再生能力在不同品种中的变异

测定了地方品种、育成品种小麦的愈伤组织诱导和再生能力,发现两类品种的变异趋势基本一致(图1,图2,图3,图4),因此不在此处列出育成品种的原始数据。在各品种中,半愈期均呈连续分布,并在接种后约两周形成第一个高峰,约3周形成次要分布高峰。两类品种的成愈率分布一致,都比较分

散。但地方品种中有 17.33%，育成品种中有 18.2%，成愈率达到 100%。这对我们选择愈伤组织诱导能力强的亲本非常有利。

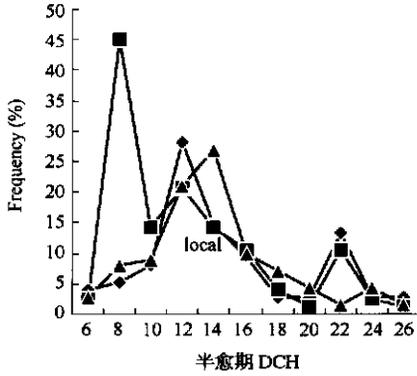


图1 不同小麦品种半愈期的分布
Fig. 1 Distribution of DCH in different genotypes

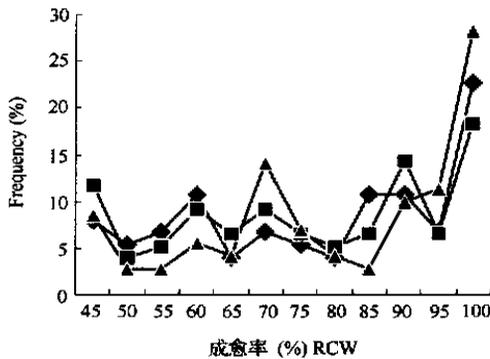


图2 不同小麦品种成愈率的分布
Fig. 2 Distribution of RCW in different genotypes

在两类品种中,成根愈数和成芽愈数的分布也较一致(图3,图4)。其成根愈数都在10%附近形成分布高峰。在育成品种(系)中,有93.18%的品种愈伤组织形成了根,有89.61%的品种成根愈数在20%以下;而地方品种有94.67%的品种愈伤组织形成了根,86.67%品种成根愈数20%以下,两类品种表现一致。值得一提的是,少数育成品系的成根愈率很高,如新品系R1395和绵阳9523分别达74.29%和48.39%。有25.33%的地方品种的愈伤组织形成了芽;在育成品种中有16.88%的品种愈伤组织形成了芽。两类品种的成芽愈数普遍较低,其变化趋势基本一致。其组织培养特性的一致,对我们筛选育种亲本有指导意义。

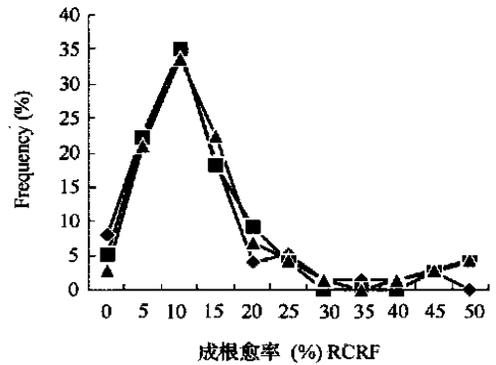


图3 不同小麦品种的成根愈率的分布
Fig. 3 Distribution of RCRF in different genotypes

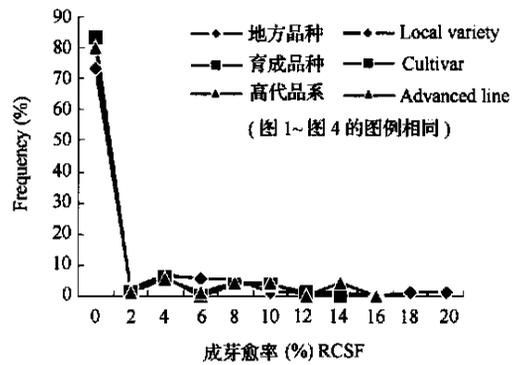


图4 不同小麦品种的成芽愈率的分布
Fig. 4 Distribution of RCSF in different genotypes

2.3 小麦幼穗愈伤组织诱导能力和再生能力在杂交后代不同品系间的变异

使用筛选到的高组织培养能力的小麦品种(系)与高产抗病亲本作了大量的杂交组合。但多数组合在 $F_2 \sim F_4$ 的选育中由于农艺性状的原因被淘汰,仅有少部分组合进入了 F_5 世代。在测定的多亲本杂交组合R1397/绵阳11//多花白/绵阳8443的127个 F_5 株系中,小麦幼穗愈伤组织诱导能力和再生能力特性的分布和地方品种及育成品种一致,但具有较高成根愈率和成芽愈率的株系的频率较高(图1,图2,图3,图4)。这一结果显示,由于在 $F_2 \sim F_4$ 群体中,小麦的组织培养特性没有进行选择,它们在 F_5 显示了和地方品种一样的随机分布。但是,由于组织培养特性较好的亲本的作用,在 F_5 株系群体中,具有优良组织培养特性的株系的频率较高,有利于优良转基因受体的选育。

测定表明, F_6 株系的组织培养能力与 F_5 株系有很高的相关性,半愈天数的相关系数为0.9347**。

成愈率为 0.9421^{**},成根愈率为 0.6745^{**},成芽愈率为 0.5994^{**}。这说明在 F₅ 进行小麦株系组织培养能力的选择将是有效的。

2.4 小麦组织培养特性之间的相关性和与农艺性状的相关性

表 2 显示, F₅ 株系中,半愈期和成愈率具一致的变异趋势,相关系数为 -0.7229^{**},达极显著水平。从表 1 的结果也可以看到,半愈期越短,成愈率就越高,其数据相当一致,很可能是因为它们有相同的遗传背景。而半愈期与成根成芽能力的相关性均

很低,表明小麦幼穗脱分化能力与再分化能力之间相关性很低,它们可能有不同的遗传学基础。成根愈伤组织率和成芽愈伤组织率相关系数也很低,多数材料的愈伤组织都能形成根,但仅有少数材料能形成芽。表明小麦成根或者成芽的能力也可能有不同的遗传基础。表 2 还指出,小麦组织培养能力的有关性状与穗粒重、穗粒数等之间有一定的正相关关系,说明选育优良的组织培养特性和农艺性状并不矛盾。

表 2 小麦幼穗组织培养特性和农艺性状之间的相关性

Table 2 Correlation between different characters in tissue culture response and some agronomic traits

	半愈期 DCH	成根愈率 RCRF	成芽愈率 RCSF	株高 Plant height	穗粒数 No. of seed per spike	穗粒重 Grain weight per spike	千粒重 1 000-grain weight
成愈率 RCW	-0.7229 ^{**}	-0.1253	0.0734	0.1746	0.2373 [*]	0.1982 [*]	-0.1374
千粒重 1000-grain weight	-0.1713	-0.0921	-0.1375	0.3902 ^{**}	-0.5631 ^{**}	0.1107	
穗粒重 Grain weight per spike	0.4129 ^{**}	0.1630	0.1259	0.4783 ^{**}	0.5467 ^{**}		
穗粒数 No. of seed per spike	0.0714	-0.0367	0.0954	0.2419 [*]			
株高 Plant height	0.1763	0.1107	0.0523				
成芽愈率 RCSF	0.0834	0.0621					
成根愈率 RCRF	-0.0968						

Notes: DCH = the days of callusing at 50%; RCW = Rate of calli in 4 weeks; RCRF = Rate of calli of root formation; RCSF = Rate of calli of shoot formation. * and **, Significant at 5% and 1% level, respectively.

3 讨论

许多研究者认为,幼穗是进行麦类植物组织培养的一个很好的外植体^[4,10,12,15]。伍碧华和任正隆(1996)详细地研究了 this 实验系统的培养基和培养条件,认为它有相当高的稳定性,适用于品种资源的筛选和遗传研究。因而本研究采用这个实验系统,研究小麦品种群体中有关组织培养特性的变异和转基因受体品系选育的育种学基础问题。

3.1 小麦组织培养特性在基因型间的变异

在小麦幼穗培养中,有关脱分化和再分化等组织培养能力问题,受到了国内外研究者的广泛注意。不少实验证明,不同的植物种、不同的基因型、甚至不同的组织或器官的分化状态细胞的稳定性,都可能存在着差异,从而影响实验结果^[6,11~19]。伍碧华和任正隆等(1996)认为,揭示组织培养能力在品种间的差异的关键是选择合适的培养基和外植体,使组织培养能力能充分展示。本研究的目的是,对小麦品种资源进行广泛的筛选,以期分析组织培养特性遗传变异的规律和选择基因工程受体植物育种的亲本。本研究发现,在稳定的培养条件和同一外植体的情况下,无论是在地方品种中,还是人工育成的新品种(系)中,标志组织培养能力的几个指标,半愈期、成愈率、成根愈率、成芽愈率,在品种(系)间

都存在着广泛的遗传变异。半愈期在品种间的分布形成两个明显的波峰。在本研究的组织培养条件下,主波峰在接种后 2 周以前,次波峰在 3 周左右。指出供试的小麦品种(系)可以分为两类,一个是短半愈期的,一个是长半愈期的。短半愈期的品种无论在地方品种还是育成品种(系)中的分布频率都很高,品种资源丰富。而成愈率的表现与半愈期有相关的趋势,半愈期短的,成愈率就高;半愈期长的,成愈率就低。这一结果指出,在选育高组织培养能力的转基因受体的育种工作中,针对脱分化能力的改良,亲本选择的范围很大。

但是,本研究发现,在再分化能力方面,成根愈率和成芽愈率表现了很大的差异。无论在哪类品种(系)中,90%以上的品种的愈伤组织都能形成根,而且,某些品种(系)如育成品系 R1395 的成根愈率可高达 70%以上。但是,仅少数品种能形成芽,而且成芽愈率都很低,仅 6.67% 的品种的成芽愈率在 10%以上。说明促进愈伤组织成根的基因普遍存在于本研究的小麦品种中,而促进愈伤组织成芽的基因频率却很低。尽管如此,还是发现了几个成芽愈伤组织率较高的品种资源,如采集于西藏自治区的地方品种多花白。本研究证明,利用这些品种资源作杂交亲本,在 F₅ 株系中,成根愈率和成芽愈率较高的株系出现的频率,明显高于地方品种和育成品

种。因此,应充分利用这些品种资源培育脱分化和再分化能力均强而农艺性状又好的小麦基因工程受体品系。另一方面,改进组织培养中的成芽培养条件,促进成芽愈伤组织率的提高,也是很有意义的。

本研究还发现一个有趣的现象,在地方品种、育成品种和 F_5 株系中,组织培养能力的几个指标的变异趋势相似。育成品种(系)对这些性状基本没有任何改良。事实上,这是容易理解的,因为在目前的小麦育种中,没有任何针对组织培养特性改良的工作,没有经过选择压力的组织培养特性基因在不同品种中作随机分布,是完全符合遗传学规律的。

3.2 小麦组织培养特性与农艺性状的相关性

本研究发现,半愈期和成愈率有高度的相关性,相关系数高达 -0.7229^{**} 。对大多数品种而言,半愈期越短,成愈率越高。很可能它们有相同的遗传基础,值得进一步深入研究。半愈期和成愈率高的品种资源非常丰富,在育种中的选择余地很大。同时,在本研究的实验材料中,半愈期和成愈率表现出与小麦的重要经济性状有一定的正相关,也对我们选育高产的转基因受体品系有利。但是,没有发现半愈期和成愈率与成根愈率和成芽愈率的相关性,因此我们需要对组织培养的品种资源作全面的评价。成根愈率和成芽愈率之间也没有发现显著的相关性,它们可能受不同的遗传基础控制,值得进一步研究。

3.3 小麦基因工程受体的育种问题

某些农作物在遗传转化中因其基因型依赖而转化效率仍然很低^[6~8,11,14,17,18]。解决这一问题有两种思路,一种是寻找特别高效的基因型,用作桥梁品种。先把外源基因导入该基因型,再用转基因植物作育种亲本;另一种是利用组织培养高效的遗传资源材料作亲本,选育农艺性状好、组织培养效率高的转基因受体品系。我们认为,后者在实际育种中更为有利。为增加染色体工程研究在小麦育种中的实用性,任正隆等(1997)特别强调,在培育染色体的异源易位系时,应尽量使用优良的小麦品系作受体材料^[9]。这是利用染色体易位系于实际育种的成功经验。为此,通过基因工程前育种工作,选育农艺性状好、组织培养能力强的小麦新品系作为转基因受体,建立一个高效、快速、实用的转基因系统,是小麦基因工程关键的基础工作。而对选育转基因受体的育种学基础研究,应当受到必要的重视。本研究证明,使用具有高效组织培养特性的小麦亲本资源与高产小麦品种杂交,从 F_5 代株系开始把农艺性状和组织培养特性结合起来加以选择,具有很好的效果,是培

育转基因受体品系的实用方法。

References

- [1] Jahne A, Becker D, Lőiz H. Genetic engineering of cereal crop plant (a review). *Euphytica*, 1995, **85**: 35 - 44
- [2] Lőiz H, Becher D, Lőitcke S. Molecular wheat breeding by direct gene transfer. *Euphytica*, 1998, **100**: 219 - 223
- [3] Massiah A, Lin R H, Brown S, Laurie S. Acceleration production and identification of fertile, homozygous transgenic wheat lines by anther culture. *Molecular Breeding*, 2001, **7**(2): 163 - 173
- [4] Ozias-Akins P, Vasil I K. Plant regeneration from immature embryos and inflorescences of *Triticum aestivum* (wheat): Evidence for somatic embryogenesis. *Protoplasma*, 1982, **110**: 95 - 105
- [5] Weeks J T, Anderson O D, Blechl A E. Rapid production of multiple independent lines of fertile transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol*, 1993, **102**: 1 077 - 1 084
- [6] Xia G M, Li Z Y, He Z X. Transgenic plant regeneration from wheat (*Triticum aestivum*) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Phytophysiological Sinica* (植物生理学报), 1999, **25**(1): 22 - 28
- [7] Xiao X-G (肖兴国), Zhang A-M (张爱民), Nie X-L (聂秀玲). Wheat genetic transformation: Advances and prospects. *Journal of Agricultural Biotechnology* (农业生物技术学报), 2000, **8**(2): 111 - 116
- [8] Ye X-G (叶兴国), Xu H-J (徐惠君), Du L-P (杜丽璞), Xin Z-Y (辛志勇). Study on the factors influencing the efficiency of wheat transformation. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2001, **34**(2): 128 - 132
- [9] Ren Z L, Zhang H Q. Induction of small-segment-translocation between wheat and rye chromosomes. *Science in China (Series C)*, 1997, **40**(3): 323 - 331
- [10] Wu B-H (伍碧华), Ren Z L (任正隆). Effects of 2,4-D, KT and 6BA on callus induction and growth of immature inflorescence in wheat. *Journal of Sichuan Agricultural University* (四川农业大学学报), 1996, **33**: 55 - 61
- [11] Agarwal D K, Tiwari S. Effect of genotypes and nutrient media on immature embryo culture of wheat. *India J Genet*, 1995, **55**: 50 - 57
- [12] Eapen S, Rao P S. Plant regeneration from immature inflorescence callus culture of wheat, rye and triticale. *Euphytica*, 1985, **34**: 153 - 159
- [13] Felfodi K, Purnhauser L. Induction of regenerating callus cultures from immature embryos of 44 wheat and 3 triticale cultivars. *Cereal Res Commun*, 1992, **20**: 273 - 277
- [14] Kaleikau E K, Sears R G, Gill B S. Control of tissue culture response in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 1989, **78**: 783 - 787
- [15] Maddock S E, Lancaster V A, Risott R, Franklin J. Plant regeneration from cultured immature embryos and inflorescences of 25 cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Exp Bot*, 1983, **34**: 915 - 926
- [16] Nabors M W, Heyser J W, Dykes T A, Demott K J. Long duration, high-frequency plant regeneration from cereal tissue culture. *Planta*, 1983, **157**: 385 - 391
- [17] Sears R G, Dekard E L. Tissue culture variability in wheat: callus induction and plant regeneration. *Crop Sci*, 1982, **22**: 546 - 550
- [18] Xu Q-F (徐琼芳), Li L-C (李连城), Chen X (陈孝), Ma Y-Z (马有志), Ye X-G (叶兴国), Zhang Z-Y (张增艳), Xu H-J (徐惠君), Xin Z-Y (辛志勇). Study on the obtaining of transgenic wheat with GNA alien gene by biolistic particle. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2001, **34**(1): 5 - 8
- [19] Ye X-G (叶兴国), Xu H-J (徐惠君), Xu Q-F (徐琼芳), Du L-P (杜丽璞), Li Z-W (李志武). Genetic analysis and combining ability evaluation of the anther culture response in common wheat. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1997, **30**(6): 49 - 54