

小麦成熟胚培养条件的优化及高效基因型筛选

张月琴,陈耀锋,王 丽,杨德勇,王晶晶

(西北农林科技大学农学院,陕西 杨凌 712100)

摘 要: 为了提高小麦成熟胚的分化率、研究小麦成熟胚的组培特性及筛选出高效再生的小麦品种,选取了 36 个小麦品种为供试材料,研究了不同愈伤诱导时间对成熟胚组培特性的影响、在分化培养基中添加不同浓度 KT 对成熟胚分化的影响,以及愈伤组织进行不同时间干燥处理后对愈伤分化的影响;并对 30 个参试品种中具有高效再生率的基因型进行了筛选。结果表明,出愈率随诱导时间呈正向变化,但分化率则表现先增加后降低的变化趋势,且在 12 d 左右可以达到较为理想的分化效果;当 KT 浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时分化效果最好;转入分化培养基之前对愈伤进行 8~12 h 干燥处理可显著提高分化率;在供试的 30 个地方品种中,有 15 个小麦品种的分化率达到 30% 以上,其中泰山 1389、淮麦 20 及泛麦 5 号的分化率依次达到 41.5%、41.2% 及 39.6%。因此,在小麦成熟胚培养过程中愈伤诱导 12 d,转接至分化培养基前干燥处理 8~12 h 及分化培养基中添加 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT 可以达到较为理想的愈伤分化数。本研究从不同地方品种中筛选出的一些高效再生的小麦品种可以作为遗传转化的受体材料。

关键词: 小麦;成熟胚;组织培养;优化;筛选

中图分类号: S331 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2014)05-0100-06

The optimization of culture condition to mature embryo and screening of high callus induction efficiency genotypes in wheat

ZHANG Yue-qin, CHEN Yao-feng, WANG Li, YANG De-yong, WANG Jing-jing

(College of Agriculture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to improve differentiation efficiency of wheat mature embryo, study the tissue culture characteristics of wheat mature embryo and screen for high efficiency genotype wheat varieties, 36 wheat varieties were used as experimental materials to study the effect of different induction times, KT at different concentrations and different time length of drying treatment to the differentiation efficiency of mature embryo. 30 wheat varieties were screened for high efficiency genotype varieties with high regeneration rate. The results showed that, callus formation frequency were as positively affected by induction time, while the differentiation rate first increased then decreased as the number of induction days increased, when callus induction was about 12 days and the concentration of KT was $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the differentiation rate was best. 8~12 hours drying treatment can significantly improve differentiation rate before calli was transferred to the differentiation medium. Of all the 30 wheat materials, the differentiation rate of 15 cultivars reached 30% or more, of which Taishan 1389, Huaimai 20 and Fanmai 5th were 41.5%, 41.2% and 39.6%, respectively. Thus, calluses induced 12 days, drying treatment to 8~12 h and $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT to induct was the best in the process culture of calluses from wheat mature embryo. Some wheat varieties of high regeneration rate were screened from different places, which can be used as the receptor materials of genetic transformation.

Keywords: wheat; mature embryo; tissue culture; optimization; screening

小麦是世界上重要的粮食作物之一^[1],高产、高抗、优质一直是育种学家培育新品种的目标。随着转基因技术的快速发展,基因工程育种与传统育种相比具有周期短、能够定向育种等突出优点,而且一

收稿日期:2013-10-20
基金项目:国家转基因生物新品种培育项目(2011ZX08002—003);陕西省科技统筹创新工程计划项目(2011KTZB02—01—01);陕西省科技攻关项目(2011K02—01)
作者简介:张月琴(1989—),女,在读硕士,研究方向为农业生物技术。E-mail:15029942745@163.com。
通信作者:陈耀锋(1956—),男,陕西岐山人,教授,博士生导师,主要从事小麦生物技术育种研究。E-mail:chenyf3828@126.com。

些生物技术也可辅助传统育种,但仍需较长的育种周期,因此基因工程育种的重要性日益凸显。筛选出适宜的转化受体及基因型,对于提高转化率具有重要的理论和现实意义^[2]。小麦因其具有复杂的基因组结构,遗传转化远滞后于水稻和玉米,虽然近些年基因工程技术发展迅速,但小麦的转化效率却不容乐观^[3],转化效率主要取决于转化条件、受体材料和高效植株再生体系的确立^[4],高效植株再生体系的建立及良好的转化受体是实现小麦遗传转化的前提。随着植物组织培养技术的发展,学者已从小麦幼穗、花药、幼胚、成熟胚等^[5-9]获得了再生植株,并对这些外植体的组织培养特性进行了研究,由于小麦的幼穗、幼胚、花药生长具有季节性,所以取材受到很大限制,且很难做到所选择的外植体生理状态一致,不能确定供试材料处于同一生长阶段。与之相比,成熟胚具有能打破季节和取材时间限制等优点,在基因工程育种中越来越受到研究者的青睐。

有关小麦成熟胚离体培养的研究较多,影响因素也很多,深入研究小麦愈伤组织的诱导、分化特性及规律,在小麦成熟胚组织培养上具有重要的理论和实践意义;激动素(Kinetin,简称KT)是细胞分裂素类生长调节剂,能够促进细胞的分裂及调节细胞分化^[10];田文忠等研究认为干燥处理除了可以使愈伤组织的含水量降低外,还造成了细胞的饥饿,引起细胞生理生化的变化^[11];Zeevaart^[12]报道在较高的渗透压下植株表现较高的脱落酸(ABA)生物合成活性,而ABA可以促进小麦胚胎的建成。小麦的组织培养特性具有很强的基因依赖性,高效再生的小麦基因型是进行小麦遗传转化的首要前提。因此,本研究主要从不同愈伤诱导天数、不同KT浓度、不同时间干燥处理及高效基因型方面探究出较好的成熟胚培养条件及高效再生受体基因型。

1 材料与方法

1.1 试验材料

6个用于技术优化的供试材料为西农183-1、西农183-2、西农1013选、西农1019、千斤早、小偃22及高效再生受体基因型筛选的30个品种(系)均由西北农林科技大学农学院细胞工程课题组提供。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 选取当年收获籽粒饱满的小麦种子先用无菌水清洗2遍,再用质量分数为70%的酒精消毒5 min,然后用质量分数为0.1%的升汞消毒15 min,之后用无菌水清洗4遍,加入无菌水浸

泡种子,置于室温中浸泡18 h。

1.2.2 接种方式与培养 浸泡后的种子用质量分数为0.1%的升汞消毒10 min,无菌水冲洗4次。洗后的小麦籽粒取其部分放入含有滤纸的培养皿中,此培养皿在用之前经高压灭菌(121℃)30 min,用解剖刀和小镊子将成熟胚取出,接种于愈伤诱导培养基(MS+水解酪蛋白500 mg·L⁻¹+L-天门冬酰胺250 mg·L⁻¹+L-谷氨酰胺200 mg·L⁻¹+2,4-D 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖30 g·L⁻¹+琼脂6.5 g·L⁻¹,pH 5.8)上,每个处理接种20瓶,每瓶接种25枚成熟胚,重复3次,25℃暗培养。愈伤诱导14 d后,统计愈伤诱导率(诱导率/%=产生的愈伤组织块数/接入的成熟胚数×100%),然后将愈伤及剔除萌芽后的愈伤转接至分化培养基(MS+KT 0.5 mg·L⁻¹+蔗糖30 g·L⁻¹+琼脂6.5 g·L⁻¹,pH 5.8),每瓶转接8枚愈伤组织,每个处理接30瓶,设置3次重复,于25℃、37.5 μmol·m⁻²·s⁻¹光照下培养30 d后统计愈伤分化率(分化率/%=分化成苗的愈伤组织块数/接种的愈伤组织块数×100%)。

诱导天数对小麦成熟胚愈伤组织分化的研究中,诱导天数设置为6、9、12、15、18、21 d和24 d,其余的愈伤诱导天数均为14 d,愈伤诱导相应天数后统计愈伤诱导率,同上统计方法,之后转接入上述分化培养基中待统计分化率;不同KT浓度对愈伤分化的影响中,KT的浓度设置为0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mg·L⁻¹及3.0 mg·L⁻¹,诱导及分化培养按上述即可;在干燥处理时,将诱导的愈伤组织取出放入灭菌后的培养皿中,剔除萌芽后置于培养皿中进行干燥处理,其中以未进行干燥处理的愈伤组织直接转入到分化培养基上作为空白对照,其余按照设置的干燥处理时间(4、8、12、24 h及48 h)在铺有5层滤纸的培养皿封好口后进行干燥处理,将不同时间干燥处理过的愈伤组织转接入分化培养基中,培养条件和数据统计同上。

1.2.3 数据分析 应用SPSS Statistics 17.0软件对数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 小麦成熟胚组织培养条件的优化

2.1.1 不同愈伤诱导时间对小麦成熟胚培养特性的影响 在3次重复实验中均以西农183-1、西农183-2、西农1013选、西农1019、小偃22及千斤早为试验材料,探究不同愈伤诱导时间对小麦成熟胚离体培养特性的影响。结果表明,不同愈伤诱导天

数间小麦成熟胚出愈率差异显著(表 1),且随着诱导时间的增加,出愈率呈现升高趋势。当愈伤诱导时间达到 12 d 时,6 种供试小麦成熟胚的出愈率已基本达到 97% 以上,其中西农 1019、小偃 22 及千斤早,出愈率均达到 100%,且随着诱导时间的增加,出愈率的增加并不显著。因此小麦成熟胚的愈伤诱导时间为 12 ~ 15 d 即可达到相对较高的愈伤诱导率。

不同愈伤诱导时间对小麦成熟胚愈伤分化的影响研究结果(表 1)表明,不同愈伤诱导天数间小麦成熟胚分化率呈显著差异,且不同基因型间愈伤分化率差异显著。6 种供试材料成熟胚愈伤分化率随愈伤诱导时间的增加均呈现先升高后降低的变化趋势,西农 183-1、小偃 22 及千斤早在愈伤诱导 12 d

时分化率达到最高,依次为 48.1%、53.7% 及 52.2%,愈伤诱导时间为 9 d 时,西农 183-2 成熟胚愈伤组织的分化率达到最高,为 44.9%,西农 1013 选和西农 1019 在愈伤诱导天数为 15 d 时分化率达到最大,分别为 40.4% 和 52.8%,小麦成熟胚愈伤诱导 6 d 时,愈伤块较小、生长发育不完全;诱导 12 d 左右分化率相对较高,此时的愈伤组织多表现为黄豆粒大小、愈伤组织表面凹凸不平且干燥致密,胚性愈伤比例较高;随着愈伤诱导时间的增加,可以明显观察到愈伤块逐渐成水浸状,可能是由胚性愈伤往非胚性愈伤生长,胚性愈伤的比例越来越低。总之,小麦成熟胚培养过程中,愈伤诱导 12 d 左右可以获得较为理想的愈伤分化率。

表 1 不同愈伤诱导时间对小麦成熟胚培养特性的影响

Table 1 Effect of different time of callus induction on characteristic of wheat mature embryo tissue culture

项目 Item	愈伤诱导天数 Callus induction time/d	西农 183-1 Xinong183-1	西农 183-2 Xinong183-2	西农 1013 选 Xinong1013xuan	西农 1019 Xinong1019	小偃 22 Xiaoyan22	千斤早 Qianjinzhao
愈伤诱导率 Callus induction frequency/%	6	90.2±2.3c	92.0±1.3d	95.1±1.7c	92.6±1.3d	91.2±3.5d	92.2±2.7c
	9	96.9±2.0b	95.7±2.7c	98.3±1.1b	93.4±2.4c	97±0.9c	97.9±1.3b
	12	96.9±1.2b	97.8±0.8b	98.8±0.3ab	97.1±0.5b	100±0a	100±0a
	15	97.5±0.9b	98.8±1.2ab	98.8±0.2ab	100±0a	100±0a	100±0a
	18	99.1±0.3a	98.9±0.9ab	99.0±0.6ab	100±0a	98.2±0.8b	100±0a
	21	99.2±0.7a	98.9±0.7ab	99.1±0.4a	100±0a	100±0a	100±0a
	24	99.3±0.2a	99.2±0.5a	99.2±0.5a	100±0a	100±0a	100±0a
分化率 Differentiation frequency/%	6	32.9±4.3c	17.0±4.1d	23.4±1.1e	14.8±3.8f	22.8±1.3e	26.3±2.1d
	9	37.9±2.1b	44.9±2.3a	31±2.0c	47.8±4.6b	31.6±2.2c	54.9±2.4a
	12	48.1±1.7a	36.9±3.2b	38.6±1.7b	43.0±2.2c	53.7±1.5a	52.2±3.3b
	15	29.2±2.5d	35.9±1.5b	40.4±1.5a	52.8±1.3a	43.9±1.9b	29.6±1.5c
	18	20.0±1.3e	32.7±0.2c	25.3±2.1d	39.7±2.7d	24.2±2.7d	29.4±2.9c
	21	15.6±2.3f	11.1±1.7e	23.5±2.3e	24.2±3.5e	18.5±1.7f	26.7±3.7d
	24	4.4±1.6g	6.6±2.5f	6.4±3.3f	14.5±4.4f	13.6±2.8g	17.1±1.6e

注:表中不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平存在显著差异。下同。
Note: Different small letter in the same column indicate that difference of differentiation frequency among treatments is significant at 0.05 level. The same as below.

2.1.2 不同 KT 浓度对小麦成熟胚愈伤组织再分化特性的影响 3 次重复实验均以小偃 22、西农 1019 和千斤早为试验材料,研究了不同 KT 浓度对小麦成熟胚分化特性的影响,结果表明,不同 KT 浓度下 3 种供试材料的成熟胚愈伤组织分化率均表现显著差异(表 2)。随着分化培养基中的 KT 浓度的增加,3 种供试材料基本上呈现先升高后降低的变化趋势,小偃 22、西农 1019 及千斤早均在 KT 浓度为 0.5 mg·L⁻¹ 时分化率达到最大,依次为 40.8%、26.8%

和 42.4%,相比于 0.1 mg·L⁻¹ KT 时分别高出 21.9%、11.7% 及 26.6%;之后,愈伤组织的分化率随 KT 浓度的增加越来越低。在小麦成熟胚愈伤分化中,0.5 mg·L⁻¹ 的 KT 能有效的促进愈伤组织的分化与再生。
2.1.3 干燥处理及处理时间对小麦成熟胚愈伤组织再分化特性的影响 3 次重复实验均以小偃 22、西农 1013 选及千斤早为材料研究了干燥处理及处理时间对小麦成熟胚愈伤组织再分化特性的影响,

结果表明,干燥处理可显著促进小麦成熟胚愈伤组织的分化(见表 3),3 种供试材料的成熟胚愈伤组织,经 4~8 h 干燥处理,其再分化率显著高于对照,随着干燥处理时间的增加,3 种供试材料愈伤组织的分化率均呈现先升高后降低的变化趋势。小偃 22 愈伤干燥处理 12 h 后,愈伤组织的分化率达到峰值为 41.2%,高于空白对照 11.4%;西农 1013 选愈伤组织干燥处理 8 h 后分化率达到最高为 33.7%,高于空白对照 16.4%。随着干燥处理时间的延长,可以观察到愈伤组织的水分越来越少,但干燥处理时间过长,会使愈伤组织失水过多,胚性愈伤的活性降低。因此,在小麦成熟胚组织培养过程中,转入分化培养基前对愈伤组织进行一定时间的干燥处理,可以有效促进小麦成熟胚愈伤组织的再分化。

表 2 不同 KT 浓度下小麦成熟胚愈伤组织分化率

Table 2 Effect of different concentration of KT to differentiation of wheat mature embryo tissue culture

浓度 Concentration /(mg·L ⁻¹)	分化率 Differentiation frequency/%		
	小偃 22 Xiaoyan22	西农 1019 Xinong1019	千斤早 Qianjinzhao
0.1	18.9±1.5e	15.1±2.3d	15.8±3.5f
0.2	19.4±1.2e	19.1±2.5b	34.7±2.8b
0.5	40.8±2.7a	26.8±2.9a	42.4±1.4a
1.0	29.7±1.4b	19.7±1.8b	32.3±2.9c
1.5	26.7±2.8c	20.0±0.9b	31.9±2.2c
2.0	26.9±2.9c	16.3±4.1c	25.7±1.9d
3.0	23.0±3.4d	13.1±1.6e	23.3±1.6e

表 3 干燥处理及处理时间对小麦成熟胚愈伤组织再分化的影响

Table 3 Effect of different dry treatment to differentiation of calluses from wheat mature embryo

干燥处理时间 Dry treatment time/h	分化率 Differentiation frequency/%		
	小偃 22 Xiaoyan22	西农 1013 选 Xinong1013xuan	千斤早 Qianjinzhao
0	29.8±1.8c	17.3±2.2e	18.8±2.7b
4	31.6±1.1b	22.6±0.7d	30.2±1.3a
8	32.2±0.9b	33.7±2.9a	30.3±1.8a
12	41.2±2.4a	29.2±1.8c	30.5±2.6a
24	24.5±1.3d	29.6±0.2b	19.2±3.6b
48	10.7±2.5e	15.1±3.4f	9.3±1.4c

2.2 小麦成熟胚高效离体培养基基因型的筛选

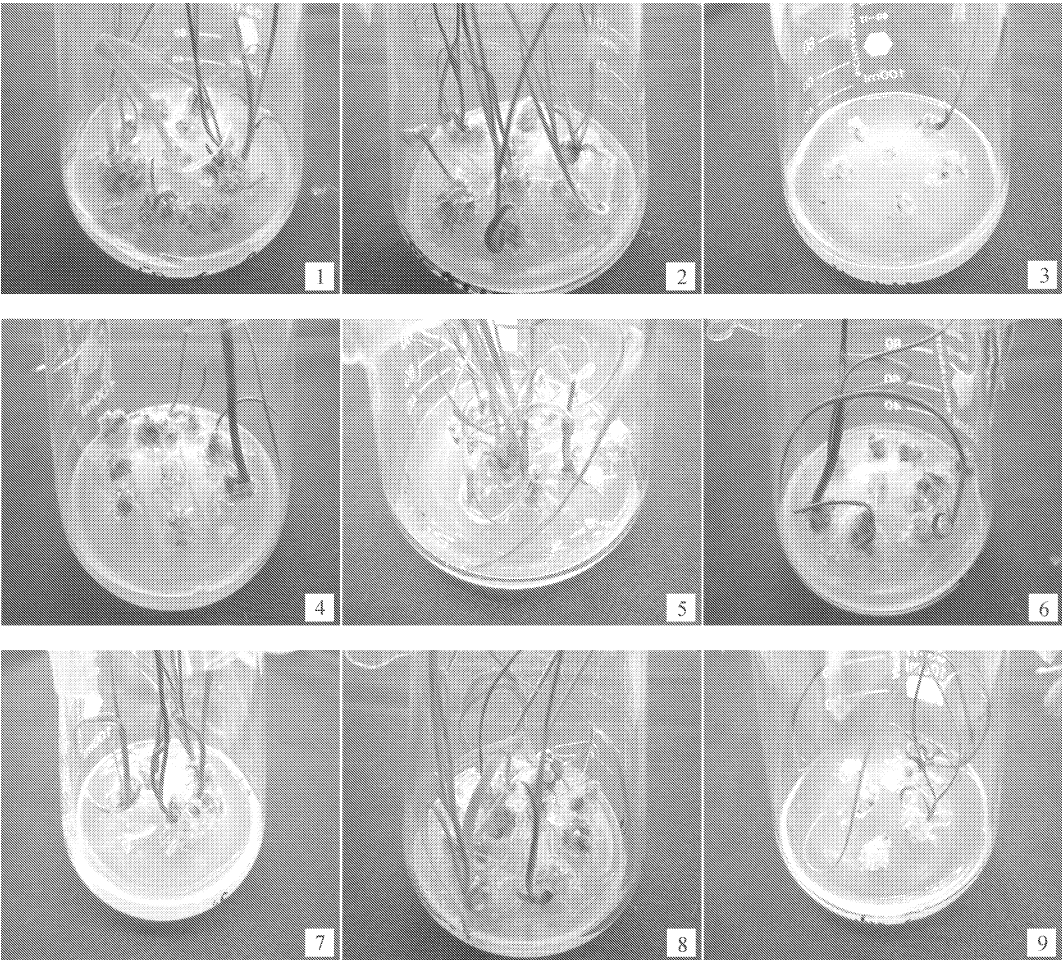
本实验以 30 个不同地方品种在西北农林科技大学农学院试验田中种植后,取当年收获品种(系)

的小麦种子为材料,进行了小麦成熟胚高效离体培养基基因型的筛选研究。结果显示,不同品种间愈伤诱导率差异不大(见表 4),成熟胚的愈伤诱导率基本上均在 95% 以上,部分品种愈伤诱导率达到了 100%,但 30 个供试材料的愈伤组织分化率有显著性差异,其中泰山 1389 和淮麦 20 分化率最高,分别达到 41.5% 及 41.2%,愈伤分化率较好的的基因型如:泛麦 5 号(39.6%)、新乡 3306(38.9%)、皖宿 9908(38.7%)、淮核 0308(38.3%)、晋麦 47(38.5%)、秦农 29(38.1%)及周麦 17(37.9%)等,而大多数材料成熟胚的分化率表现较差。

表 4 不同地方品种小麦成熟胚愈伤组织分化率

Table 4 Effect of different local variety to differentiation of calluses from wheat mature embryo

试验材料 Experimental materials	出愈率 Callus induction frequency/%	分化率 Differentiation frequency/%
山农 99098 Shannong99098	100±0a	19.1±1.5i
淮 894 Huai894	99.5±1.3ab	12.4±2.3l
许农 5 号 Xunong5hao	100±0a	26.3±2.5g
陕皇 81 Shanken81	99.6±0.7ab	29.0±3.7f
晋麦 47 Jinmai47	98.8±1.1c	38.5±1.4bc
苏麦 3 号 Sumai3hao	98.0±0.9d	25.0±2.2g
蒿城 941 Gaocheng941	100±0a	34.2±4.7d
濮麦 9 号 Pumai9hao	98.9±1.0bc	26.2±1.8g
郑麦 366 Zhengmai366	99.2±0.7bc	31.1±2.4e
豫 949 Yu949	100±0a	11.4±3.3lj
阜阳 536 Fuyang536	98.5±1.1cd	27.5±1.9fg
豫麦 4098 Yumai4098	98.3±0.3cd	25.8±2.1g
周麦 17 Zhoumai17	98.7±0.6c	37.9±1.8bc
辉县红 Huixianhong	98.9±0.2bc	16.4±3.0j
淮核 0308 Huaihe0308	99.0±0.3bc	38.3±1.5bc
新乡 3306 Xinxiang3306	98.4±1.1cd	38.9±2.6bc
原扬麦 5 号 Yuanyangmai5hao	99.4±0.2b	33.3±3.7d
淮麦 0454 Huaimai0454	98.9±0.5bc	19.2±2.8i
兰考 10 号 Lankao10hao	99.5±0.1ab	32.8±1.6e
泰山 1389 Taishan1389	99.1±0.4bc	41.5±1.7a
秦农 29 Qinnong29	99.7±0.2b	38.1±3.2c
徐州 856 Xuzhou856	100±0a	21.2±1.5h
淮麦 20 Huaimai20	100±0a	41.2±2.4a
河农 827 Henong827	94.8±1.2e	20.9±1.5h
泛麦 5 号 Fanmai5hao	99.1±0.3bc	39.6±2.6b
豫麦 34 Yumai34	99.1±0.2bc	30.1±3.8ef
绵阳 9-325 Mianyang9-325	98.7±1.1c	9.0±1.7m
皖宿 9908 Wansu9908	100±0a	38.7±3.2bc
安 0143 An0143	100±0a	14.6±2.3k
秦农 142 Qinnong142	100±0a	30.9±1.7e



1~3: 愈伤诱导天数为6、12 d和24 d处理后的‘西农 183-1’; 4~6: KT浓度为0.1、0.5 mg·L⁻¹和3.0 mg·L⁻¹处理后的‘千斤早’; 7~9: 干燥处理时间为4、12 h和48 h处理后的‘小偃 22’。

1~3: ‘xinong183-1’ treated by time of callus induction for 6, 12 d and 24 d; 4~6: ‘Qianjinzhao’ treated by concentration of KT for 0.1、0.5 mg·L⁻¹ and 3.0 mg·L⁻¹; 7~9: ‘Xiaoyan22’ treated by time of different dry for 4, 12 h and 48 h.

图 1 不同愈伤诱导天数、不同 KT 浓度及不同干燥处理时间处理后小麦成熟胚愈伤组织分化情况

Fig.1 Differentiation from wheat mature embryo after different time of callus induction, concentration of KT and different dry treatment

3 结论与讨论

预处理^[13]、培养基^[14-15]是小麦成熟胚组织培养特性研究的重要方面,愈伤诱导时间对其培养特性的研究尚未见报道,本研究发现随着愈伤诱导时间的增加,愈伤组织分化率呈现先升高后降低的变化趋势,适当的愈伤诱导时间可以有效获得较高再生率的植株,研究结果显示,愈伤诱导时间 12 d 最好。

细胞分裂素 KT 增强去甲基化^[16],在促进细胞分裂的同时,主要是促进有关分化基因的表达,使细胞朝着分化为器官的方向发育^[17]。本研究探究了不同 KT 浓度对小麦成熟胚愈伤组织再分化的影响,结果表明,KT 浓度在 0.1~0.5 mg·L⁻¹之间,小麦成熟胚的分化率随 KT 浓度的增加而升高,当 KT

浓度为 0.5 mg·L⁻¹时,愈伤组织的分化率最高,随后浓度越高,则分化率越低,这与王鹏等^[18]研究结果相同,而与唐宗祥^[18]研究结果不同,后者研究表明 KT 浓度达到 5 mg·L⁻¹时,分化率最高,选取研究材料可能是导致结果差异的主要原因,培养条件也会影响愈伤组织的分化。

Hammatt 等^[19]曾于 1987 年将干燥处理用于大豆的组培,1992 年 Masayoshi 等^[20]干燥处理水稻,其提高了体细胞胚的发育,干燥处理也用于籼稻^[11]、小麦^[12,21]等,干燥处理可能改变了细胞的生理生化以及某些生理活性物质的变化,从而促进植株的再生。研究证实,小麦成熟胚愈伤组织在 8~12 h 干燥处理可达到较好的愈伤分化率,而随着干燥处理时间的延长,愈伤组织会因失水过多而使活性降低,从而抑制了愈伤组织的分化,在小麦成熟胚培养过

程中,愈伤诱导 12 d,转接至分化培养基前干燥处理 8~12 h 及分化培养基中添加 0.5 mg·L⁻¹ KT 可以得到较为理想的愈伤分化数。

研究表明,不同基因型小麦成熟胚愈伤诱导率差异不大,出愈率均可达 96% 以上,但基因型对小麦成熟胚愈伤组织的分化有很大影响,小麦成熟胚愈伤组织的分化率具有较强的基因依赖性,这与李新玲等^[22-26] 研究结果一致,而梁静静等^[27] 报道:小麦不同基因型间的愈伤诱导率及愈伤质量均存在显著差异,因此,筛选小麦成熟胚高效再生基因型植株具有重要的实践意义;深入研究小麦成熟胚组织培养过程的机理,可为促进其成熟胚分化奠定理论基础,也可促进小麦遗传转化的进步;本研究对 30 个不同地方品种的成熟胚进行组织培养,发现了一些分化率较高的品种如:泰山 1389、淮麦 20、泛麦 5 号等,可以作为该地区小麦遗传转化的优良受体材料。

参 考 文 献:

[1] 奚亚军,路 明.小麦转基因技术的研究现状及在育种上的应用[J].中国农学通报,2002,18(2):55-57.

[2] 左静静,刘少翔,闫 贵,等.小麦幼胚组织培养研究进展[J].中国农学通报,2010,26(19):81-87.

[3] He G Y, Rooke L, Cannell, et al. Current status of transformation in bread and durum wheats and modifications of gluten quality[J]. Acta Agronomica Hungarica, 1998, 46(4): 449-462.

[4] 祝长青,李艳红,赵红艳.不同基因型小麦成熟胚盾片组织培养效果研究[J].新疆师范大学学报(自然科学版),2007,26(2): 70-73.

[5] 权军利,刘正全,陈耀锋,等.蔗糖与激素对小麦幼穗体细胞无性系形成及生长特性的影响研究[J].西北植物学报,1999,19(6):87-91.

[6] 王付欣,陈耀锋,王慧萍,等.小麦花药培养中的密度效应研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2001,29(2):41-43.

[7] Kamil Haliloglu P, Stephen Baenziger. Screening wheat genotypes for high callus induction and regeneration capability from immature embryo cultures[J]. J. Plant Biochemistry & Biotechnology, 2005, 14: 155-160.

[8] Mukesh Dahiya, Uppal S. Plant regeneration from immature embryos and somaclonal variation in wheat[J]. Indian Journal of Plant Physiology, 1995, 38(1): 10-14.

[9] Mikhail Filippov, Dmitry Miroshnichenko, Darya Vernikovskaya, et al. The effect of auxins time exposure to auxin and genotypes on somatic embryogenesis from mature embryos of wheat[J]. Plant cell Tissue

and Organ Culture, 2006, 84: 213-222.

[10] 陈耀锋.植物组织与细胞培养[M].北京:中国农业出版社, 2007:39-40.

[11] 田文忠, Iann Rance, Elumalai Sivamani, 等.提高籼稻愈伤组织再生频率的研究[J].遗传学报,1994,21(3):215-221.

[12] Zeevaart J A D. Changes in the levels of abscisic acid and its metabolites in excised leaf blades of *Xanthium strumarium* during and after water stress[J]. Plant Physiol, 1980, 66: 672-678.

[13] Hou Bingkai, Yu Huimin, Teng Shiyun. Effects of low temperature on induction and differentiation of wheat calluses[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1997, 49: 35-38.

[14] Sanjay Singh Parmar, Manish Sainger, Darshna Chaudhary, et al. Plant regeneration from mature embryo of commercial Indian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars[J]. Physiol Mol Bio Plants, 2012, 18(2): 177-183.

[15] Danial Kahrizi, Kianoosh Cheghamirza, Leila Akbari, et al. Effects of magnetic field on cell dedifferentiation and callus induction derived from embryo culture in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes [J]. Mol Biol Rep, 2013, 40: 1651-1654.

[16] Arnold B Schmit. Rapid changes in amplification and methylation pattern of genomic DNA in cultured carrot root explants (*Daucus carota* L.) [J]. Theor Appl Genet, 1993, 85: 793-800.

[17] 唐宗祥,张怀琼,张怀淦,等.2,4-D、KT 对小麦成熟胚愈伤组织形成、分化的影响[J].四川农业大学学报,2004,22(3): 203-205.

[18] 王 鹏,李先芳,韦小敏,等.Kt 对怪柳继代培养的影响[J].安徽农业科学,2007,35(10):2994-2995.

[19] Hammatt N, David M R. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured zygotic embryos of soybean (*Glycine max* L.) [J]. Plant Physiol, 1987, 128: 219-226.

[20] Masayoshi T, Hirosawa T. Simple dehydration treatment promotes plantlet regeneration of rice (*Oryza sativa*) callus [J]. Plant Cell Rep, 1992, 11: 550-553.

[21] 于晓红,朱 楨,付志明,等.提高小麦愈伤组织分化频率的因素[J].植物生理学报,1999,25(4):388-394.

[22] 李新玲,曲 敏,闫玉清,等.影响小麦成熟胚培养及植株再生因素的研究[J].植物研究,2005,25(1):49-52.

[23] 毕瑞明,王洪刚.小麦成熟胚的组织培养[J].中国农学通报, 2007,23(2):53-57.

[24] 覃建兵,何光源.不同小麦基因型及其不同外植体离体培养研究初探[J].华中农业大学学报,2001,20(6):522-527.

[25] 任江萍,尹 钧,师学珍,等.小麦转基因再生植株培养体系的优化[J].华北农学报,2003,18(1):22-25.

[26] 余桂荣,尹 钧,郭天财,等.小麦幼胚培养基基因型的筛选[J].麦类作物学报,2003,23(2):14-18.

[27] 梁静静,吕德彬,陈军营,等.不同基因型对小麦成熟胚愈伤组织诱导及植株再生的影响[J].河南农业大学学报,2003,37(2):107-110.