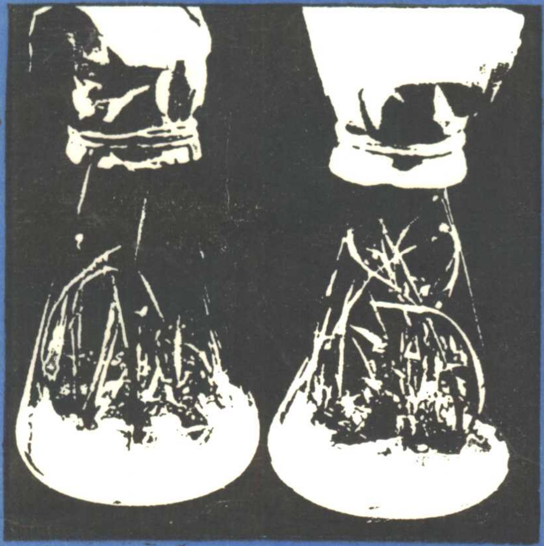
植物细胞工程应用基础研究新进展(1988)



中国科学院植物研究所
兰州大学生物系 主编

学术期刊出版社

植物细胞工程应用基础研究新进展(一九八八)

Q942/ZKZ

出版社

内 容 简 介

本书共收集1986～1987年我国“七五”期间细胞工程应用基础研究论文28篇、摘要30篇，反映了我国在植物体细胞无性系变异、植物体细胞胚胎发生和人工种子、组织培养技术以及有关方面所取得的主要成果。可供从事植物学研究，农、林科技工作者和有关大专院校师生参考。

植物细胞工程应用基础研究新进展

中国科学院植物研究所
兰州大学生物系 主编

学术期刊出版社出版
（北京海淀区学院南路86号）
北京昌平百善印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

开本：787×1092毫米 1/16 印张：13 字数：330千字
1989年2月第一版 1989年2月第一次印刷
印数：1—2 000册 定价：6.80元
ISBN 7—80045—183—6/S·29

《植物细胞工程应用基础研究新进展》

编 辑 委 员 会

郭 仲 琛

（以下按姓氏笔画）

王敬驹　李长复　陈维伦

郑国锠　桂耀林　欧阳俊闻

编　　辑：张秀荣　宋美英　崔郁英

封面设计：蒋代平

前　言

植物细胞工程应用基础研究，在国家科委生物中心和中国科学院生物局的领导和支持下，几年来在各方面均取得显著成绩，为了更全面地组织和推进这项研究的进展，对1986～1987年各项研究取得的进展作如下的归纳：

1．体细胞无性系变异

植物体细胞无性变异的研究，已在不少作物上选出许多抗性变异体及育成新品种或品系。目前，我国已在水稻、小麦、小黑麦、玉米、谷子、红豆草、人参等植物，以幼胚和幼穗为外植体，均诱导出胚性愈伤组织，通过愈伤组织或胚状体两条途径获得大量再生植株，初步建立起这些作物的体细胞无性系，为开展突变体筛选工作打下基础。在小黑麦无性系筛选工作中，已获大量再生植株。通过抗盐突变体的筛选，已选出三个具有高抗盐能力的无性系，结合利用切割再生方法，快速繁殖出大量幼苗，并使这些幼苗能安全过夏，解决过去试管苗越夏的困难。通过专家鉴定，此方法已确定为小黑麦试管苗安全过夏的可行方法。

通过单倍体烟草叶片，枸杞叶片，白兰瓜子叶，山黎豆胚轴及贝母鳞茎为外植体进行组织培养，研究了细胞分化和脱分化过程中细胞起动的机理，发现细胞组织培养中细胞启动后最初分裂方式中出现有大量无丝分裂，染色体出现大量变化。这项结果对研究染色体变异规律，组织培养中细胞突变机理提供了理论基础。

在生理生化方面，对胚性愈伤组织进行了研究。同功酶分析的结果表明：酯酶在植物生长发育中起着重要作用。如玉米胚性愈伤组织中含有大量酯酶，而老化的愈伤组织则看不到酯酶的存在，说明酯酶含量的多少直接影响到玉米胚性愈伤组织的生长和发育。这项研究成为胚性愈伤组织培养的鉴定基础。

2．体细胞胚胎发生及人工种子的研究

体细胞胚胎发生和人工种子的研究是近年来发展十分迅速的一个领域。我国已在胡萝卜、西洋参、玉米、水稻、芹菜、油菜、桉树、云杉等植物胚胎发生的研究中，对诱导体细胞胚胎发生的条件及影响胚胎发生的各种因素进行了比较研究并获得胚状体。为进一步研究人工种子累积了大量资料。其中芹菜、胡萝卜等人工种子的研究已获得大量的体细胞胚，通过机械过筛，同步培养，取得较高质量的胚状体。对胚状体用海藻酸钠，氯化钙等进行人工种皮的包埋，已制作成和种子结构相似的人工种子。在适宜的条件下能够萌发长成植株；不过目前发芽率比较低，现正进一步研究。

松科植物组织培养是比较困难的，目前采用幼胚为外植体进行培养，有些树种已诱导出愈伤组织，并通过胚状体的途径分化成植株，这为松柏类造林树种今后开展人工种子的研究打下了良好的基础。

3．培养技术的改进

在过去研究马铃薯培养基的基础上，对培养基中NO_3、NH_4和一些微量元素的浓度比较系统地进行调整和研究，研究出一个高效的小麦花药合成培养基，特别调整了钾和钼的比例，提高培养效率，使小麦愈伤组织诱导率高达50％左右，达到世界先进水平。

对培养基中的活性炭作用进行比较详细的研究。加入活性炭后，对激素的消长情况进行了分析比较，认为活性炭能够吸附一些加入的激素以及外植体所释放出来的一些有毒物质或

其他抑制物质，这对今后培养基中使用活性炭提供有益的参考。

为了研究成年树，幼年树外植体中内源激素和外源激素状况，采用IAA多克隆抗体和ELISA方法测定植物组织内源IAA水平，通过方法上的改进，找到了一种测定内源激素较好的方法。

4．杂种胚培养

对猕猴桃、大麦与小麦、小黑麦、人参等作物进行了幼胚培养，已获得杂种后代，并移栽成活和进行大田筛选。大量杂种植株染色体计数表明，多数细胞具正常二倍染色体，少数细胞为多倍体或非整倍体。从胚乳观察也发现，杂种胚不能正常发育大多由于胚乳的早期败育所致。

人参和西洋参杂种胚培养工作，进行了11种培养基的比较试验，获得一些绿苗，一般分化频率为3.27%，少数组合可高达20.83%。由于人参果实成熟时，种胚还未分化，因此改用胚珠培养，能诱导出愈伤组织，而且从种胚部位由胚直接长成幼苗，取得较好结果。

5．细胞学和遗传学分析

由“科58”×“农大139”组合的F_1代随机选择40个单株进行了花粉植株后代分析，从F_2一直到自交7代。1987年和亲本进行花药培养比较试验，结果F_1花药培养的绿苗产量高于其亲本，说明花培中具有杂种优势。

玉米胚性愈伤组织细胞学分析认为，愈伤组织内的细胞大体上可分为三种：薄壁细胞、胚性细胞和胚细胞。胚性细胞除正常有丝分裂外，还看到了无丝分裂，而这种分裂多数于退化细胞中，发育旺盛的组织则少见。对愈伤组织形成过程中染色体变化的研究表明：通过组织培养后的细胞染色体数目有很大变化。烟草细胞染色体变化于8～96之间，山黎豆为6～140之间。在枸杞和贝母研究中也得到相似的结果，它们除具有二倍体染色体数目外还有许多非整倍体存在。

激素对染色体的变化有很大影响，6-BA与NAA配合使用有利于保持染色体的稳定。而6-BA与2,4-D配合使用可显著提高染色体变化程度和范围。不同激素成分培养下细胞染色体的稳定性和分化能力之间存在着平衡关系。

综上所述，几年来植物细胞工程应用基础研究工作取得了一定成绩，同时也提出不少值得深入研究的问题，为了交流已取得的成果和经验，以推进此项研究的开展，我们将其中部分工作编印成册，供从事这方面工作同行借鉴与参考。由于编写时间仓促，书中的疏漏以至错误之处恐怕不少，热情欢迎读者批评指正。

郭仲琛

1988年7月15日

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

目 录

论 文

植物体细胞无性系变异

冬小麦幼穗外植体的植株再生和无性系变异
…………………………………………………… 朱至清 王玉秀 桑建利 方 仁 王 培（ 1 ）
建立具有高分化潜力的水稻胚性愈伤组织无性系与悬浮细胞系的研究
……………………………………………………………………… 吴克强 陈 英 李良材（ 6 ）
大麦和普通小麦杂种长期继代培养的无性系再生植株的减数分裂分析
……………………………………………………………………… 桑建利 朱至清 王玉秀（ 13 ）
甘蔗诱变细胞再生植株的变异及其在无性世代中的稳定性
…………………………………………………… 陆耀邦 韩光禧 韦鹏霄 王敬驹 陈 晖（ 18 ）
八倍体小黑麦单倍性胚性细胞无性系的建立……………… 郑企成 朱耀兰 陈文华（ 25 ）
红豆草耐盐愈伤组织变异系的选择………………………………… 谷祝平 郑国锠（ 30 ）
抗赖氨酸加苏氨酸玉米突变体的选择………………………………………… 缪树华（ 36 ）

植物体细胞胚胎发生及人工种子

青饲多秆多穗玉米体细胞胚性愈伤组织的诱导和植株再生的研究
……………………………………………………………………… 刘纪华 施介村 郭仲琛（ 43 ）
青扦体细胞胚胎发生及小苗形成的研究…………………………… 李映红 郭仲琛（ 49 ）
石刁柏幼嫩子房培养的器官发生和体细胞胚胎发生………………… 张世瑜 李红玉（ 54 ）
影响籼稻体细胞胚胎发生的几个因素……………………………… 凌定厚 吉田昌一（ 57 ）
甘蔗原生质体的体细胞胚胎发生……………………………… 颜秋生 张雪琴 谷明光（ 63 ）
刺五加体细胞胚胎发生的组织细胞学观察
……………………… 桂耀林 徐廷玉 顾淑荣 刘淑琼 郭仲琛 孙国栋 张 琪（ 68 ）
谷子幼穗培养体细胞胚的形成及其形态学观察………………………… 张树录 郑国锠（ 72 ）
直杆桉试管短枝人工包埋种皮的研究…………………………… 柯善强 桂耀林 郭仲琛（ 77 ）
芹菜人工种子研究……………………………………………………… 金冀毅 郭仲琛（ 84 ）

组织培养技术

试管植物的玻璃化现象………………………………………………… 卜学贤 陈维伦（ 90 ）
活性炭对培养基里植物生长调节物质的吸附作用…………………… 卜学贤 陈维伦（ 97 ）
谷子幼穗培养再生小植株及试管内抽穗结实的研究……… 王义琛 唐兰英 郑国锠（103）
甘蔗愈伤组织超低温保存中一些因素的研究……………… 简令成 孙德兰 孙龙华（108）
硬粒小麦-簇毛麦双单倍体愈伤组织染色体加倍技术的研究
…………………………… 韩 彬 陈 孝 徐惠君 张文祥 辛志勇 黄惠宇（116）
小麦花药培养对培养温度的反应随花药供体植株的生长条件而发生改变
…………………………………………………… 欧阳俊闻 何定纲 冯国宏 贾双娥（122）

氮源在小麦花药培养基中的作用规律…………………………………… 冯国宏 欧阳俊闻（126）

其 他

几种因素对向日葵离体孤雌生殖和体细胞增生的调节作用
……………………………………………………… 阎 华 董 健 周 嫦 杨弘远（133）
枸杞组织培养中形态发生与核酸蛋白质合成动态的研究
……………………………………………………………… 王仑山 王亚馥 杨汉民（140）
风信子花被外植体再生花被片、雄蕊和胚珠的控制
…………………………………………………… 陆文梁 郭仲琛 榎本克义 福永行雄（143）
人工分离花粉生殖细胞的细胞生物学研究…………………………………………… 周 嫦（152）
枸杞胚乳植株后代及其倍性的观察
………………………………………………… 顾淑荣 桂耀林 刘淑琼 徐廷玉 洪树荣（158）

摘 要

籼稻体细胞无性系表现式样的研究……………… 凌定厚 马镇荣 陈梅芳 陈琬瑛（162）
小黑麦单倍体愈伤组织（n＝28）耐碱和耐盐变异体的筛选与鉴定
……………………………………………………………… 张合成 曹 军 鲍文奎（162）
用水稻体细胞筛选抗白叶枯病变异体Ⅱ，再生植株后代的性状变异研究
……………………………………………………… 孙立华 吕学锋 汤邦根 奚元令（162）
八倍体小黑麦体细胞无性系性状变异……………………… 郑企成 朱耀兰 陈文华（163）
小麦幼穗培养的植株再生及变异………………………… 郑企成 朱耀兰 陈文华（163）
欧当归体细胞胚胎发生能力的保持和调节……………………………… 张世瑜 郑国锠（163）
石防风体细胞胚发生的研究……………………………………………… 夏光敏 陈惠民（163）
“定西24”小麦幼胚愈伤组织诱导和形态发生及体细胞胚发生
……………………………… 张世瑜 谷祝平 王义琛 王新宇 张树录 郑国锠（164）
植物激素和复合添加物质对红豆草体细胞胚发生的影响…………… 谷祝平 郑国锠（164）
红豆草组织培养中体细胞胚的形成及其胚胎学观察………………… 谷祝平 郑国锠（164）
天仙子花粉的胚胎发生与器官发生……………………………………………… 程井辰（165）
当归胚性愈伤组织的诱导及胚状体发生的组织细胞学研究………… 张世瑜 郑国锠（165）
伊贝母组织培养中体细胞胚的形成及细胞组织学观察
………………………………………… 王仑山 杨汉民 王亚馥 李 芳 贾廷跃（165）
几种小麦的幼胚培养和植株再生的研究
……………………………… 张世瑜 王义琛 张树录 王新宇 谷祝平 郑国锠（166）
基因型和胚龄对小麦未成熟胚离体培养反应的影响
…………………………………………………… 蔡体树 田慧琴 林书康 李浚民（166）
提高成年云南山楂树试管培养苗生根率的方法
…………………………………………………… 黄仕周 刘艾琴 胡 虹 段金玉（166）
脱落酸的酶标免疫测定………………………………………………… 季本仁 段金玉（167）
玉米素核苷的酶标免疫测定法…………………………… 徐如涓 季本仁 段金玉（167）
小麦试管苗越夏方法的改良……………………………………………………… 童庆娟（167）

毛地黄叶离体培养过程中光质与培养基对器官发生的交互作用
…………………………………………………… 倪德祥　曹勇伟　张丕方　王凯基（168）
人参杂种胚培养及其变异的初步研究
………… 杜令阁　侯艳华　李方元　杨振堂　胡桂珍　李安生　邵启全　付志明（168）
当归根脱分化中有丝分裂和无丝分裂的研究…………………………… 张世瑜　杨晓先（168）
烟草与枸杞叶片组织培养中的无丝分裂……………………… 杨汉民　高清祥　汪丽虹（169）
不同激素对伊贝母组织培养中染色体不稳定性的影响
…………………………………………………………………… 王仑山　王亚馥　杨汉民（169）
烟草组织培养中形态发生和糖代谢研究………… 王亚馥　王仑山　杨汉民　李茂国（169）
烟草组织培养中染色体不稳定性的研究………… 汪丽虹　高清祥　杨汉民　王亚馥（170）
伊贝母愈伤组织在继代培养过程中的染色体变异
……………………………………………… 王仑山　丁惠宾　王亚馥　杨汉民　贾廷跃（170）
白兰瓜组织培养过程中染色体不稳定性的研究
…………………… 王亚馥　高清祥　王仑山　刘彩云　杨汉民　吴大康　张　勤（170）
玉米胚性愈伤组织的酯酶研究
…………………… 王义琛　陆瑞林　王俊华　徐　臻　唐兰英　曹致义　郑国锠（171）
枸杞组织培养中过氧化物酶可溶性蛋白质的变化
……………………………………………… 王亚馥　王仑山　陆　卫　逯　斌　安黎哲（171）

RECENT ADVANCES ON STUDIES OF APPLIED AND FUNDAMENTAL ASPECTS OF PLANT CELL ENGINEERING

CONTENTS

Articles

Plant Somaclonal Variation

Plants Regeneration and Somaclonal Variation from Inflorescences of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.)
………… Zhu Zhiqing, Wang Yuxiu, Sang Jianli, Fang Ren and Wang Pei (1)

Establishment of Somaclones and Suspension Cell Lines with High Potential of Plant Regeneration in *Oryza sativa* L.
………………………………………… Wu Keqiang, Chen Ying and Li Liangcai (6)

Meiotic Analysis of Regenerated Plants from Long Term Subculture Somaclone of *Hordeum vulgare* X *Triticum aestivum* Hybrid
……………………………………… Sang Jianli, Zhu Zhiqing and Wang Yuxiu (13)

The Variation of Plant Derived from Mutagenized Cell of Sugarcane and Its Stability in Sexless Generation
…… Lu Yaobang, Han Guangxi, Wei Pengxiao, Wang Jingju and Chen Hui (18)

Established Haploid and Diploid Embryonic Somaclones of octoploid *Triticale*………………… Zheng Qicheng, Zhu Yaolan, and Chen Wenhua (25)

In Vitro Selection for Salt-Tolerant Callus of Sainfoin (*Onobrychis viciaefolia* Scop) ………………………… Gu Zhuping and Zheng Guochang (30)

Selection of Lysine Plus Threonine-Resistant Mutant of Maize
……………………………… Miao Shuhua, D. R. Duncan and J. M. Widholm (36)

Plant Somatic Embryogenesis and Artificial Seed

Studies on Induction of Somatic Embryogenic Calli and Plant Regeneration of Forage Maize………………… Liu Jihua, Shi Jiecun and Kuo Chungshen (43)

Studies on Somatic Embryogenesis and Plantlets Formation in *Picea wilsonii* Mast……………………………………… Li Yinghong and Kuo Chungshen (49)

The Organogenesis and Somatic Embryogenesis in *in vitro* Culture of Immature Ovary of *Asparagus officinalis* L. ………… Zhang Shiyu and Li Hongyu (54)

The Study of Some Factors Affecting Somatic Embryogenesis in IR Lines of Rice…………………………………………… Ling Dinghou and S. Yosida (57)

Somatic Embryogenesis from Sugarcane Protoplasts
……………………………… Yan Qiusheng, Zhang Xueqin and Gu Mingguang (63)

Histocytological Observations on Somatic Embryogenesis of Acanthopanas

senticosus································ Gui Yaolin, Xu Tingyu, Gu Shurong,
Liu Shuqiong, Sun Guodong and Zhang Qi (68)
Formation of Somatic Embryo from Cultured Young Inflorescences of *Setaria italica*and Its Morphological Observations······ Zhang Shulu and Zheng Guochang (72)
Studies on Artificial Seed Coat by Encapsulated *Eucalyptus maidein* Lateral Buds
································· Ke Shanqiang, Gui Yaolin and Kuo Chungshen (77)
Studies on Artificial Seeds of Celery················ Jin Jiyi and Kuo Chungchen (81)

Techniques of Plant Tissue Culture

Vitrification in Plant Tissue Culture·············· Bu Xuexian and Chen Weilun (90)
The Effect of Activated Charcoal on the adsorption of Plant Regulators in Culture Medium··Bu Xuexian and Chen Weilun (97)
Studies on Plantlet Regeneration from Culture Immature Inflorescences of *Setaria italica* L. and Its Earing in Tube···
································Wang Yishen, Tang Lanying and Zheng Guochang (103)
Studies on Factors in Cryopreservation of Sugarcane Calluses
···································· Jian Lingcheng, Sun Delan and Sun Longhua (103)
Studies on Chromosome Doubling of *Triticum durum–Haynaldia villosa* Amphinphloid Calli ········ Han Bin, Chen Xiao, Xu Huijun,
ZhangWenxiang, Xin Zhiyong and Huang Huiyu (116)
The Response of Anther Culture to Culture Temperature Varies with Growth Conditions of Anther–Donor Plants···
··········· Ouyang Janwen, He Dingguang, Feng Guohong and Jia Shuange (122)
Studies on Effects of Different Nitrogen Sources in Anther Culture Medium of Wheat·· Feng Guohong and Ouyang Junwen (126)

Other

Regulation of *in Vitro* Parthenogenesis and Somatic Proliferation in Sunflower by Several Factors······ Yan Hua.Dong Jian.Zhou Chang and Yang Hongyuan (133)
Study on Nucleic Acid and Protein Syntheses and Morphogenesis of *Lycium barbarum* L. in Tissue Culture······Wang Lunshan, Wang Yafu and Yang Hanmin (140)
Control for Regeneration of Tepals, Stamens and Ovules in Explants from Perianth of *Hyacinthus orientalis* L.
·················Lu Wenliang, Guo Zhongchen, K. Enomoto and Y. Fukunaga (143)
Cell–Biological Studies on Artificially Isolated Generative Cells from Angiosperm Pollen ·· Zhou Chang (152)
Observations on Progenies of Endosperm Plants and Their Ploidy in *Lycium*
······Gu Shurong, Gui Yaolin, Liu Shuqiong, Xu Tingyu and Hong Shurong (158)

Abstract

The Expressive Patterns of Somaclones from Somatic Cell Culture of Indica Rice
·············· Ling Dinghou, Ma Zhenrong, Chen Meifang and Chen Wanying (162)

Selection and Characterization of High pH Resistant or Salt Resistant Variants from Haploid *Triticale* Callus(n=28)……Zhang Chenghe, Cao Jun and Bao Wenkui (162)

Selection of Mutants of *Xanthomonas oryzae* by Tissue Culture in Rice II. Variance on Character of Regenarated Plant Progeny
……………Sun Lihua, Lu Xuefeng, Tang Banggen and Xi Yuanlin (162)

Somaclonal Morphological Variation in Octoploid *Triticale*
…………………………………… Zheng Qichen, Zhu Yaolan and Chen Wenhua (163)

Plant Regeneration from Growing Tips Cultures of Wheats and Its Variation
……………………………………Zhen Qichen, Zhu Yaolan and Chen Wenhua (163)

Retention and Regulation of Somatic Embryogene Potency of *Levisticum officinale* Koch *in Vitro*………………………… Zhang Shiyu and Chen Kuochen (163)

Somatic Embryogenesis of *Peucedanum terebinthaceum*
…………………………………………………… Xia Guangmin and Chen Huimin (163)

Studies on Callus Inductmon, Morphogenesis and Somatic Embryogenesis from Dingxi no. 24 Wheat Young Embryos Cultured *in Vitro*
……………… Zhang Shiyu, Gu Zhuping, Wang Yi-shen, Wang Xing-yu,
Zhang Shulu and Zheng Guochang (164)

The Effects of Hormones and Complex Additives on Somatic Embryogenesis of Sainfoin(*Onobrychis visiaefolia Scop*)…… Gu Zhuping and Cheng Kuocheng (164)

Somatic Embryogenesis from Tissue Culture of Sainfoin and Its Embryological Observations ……………………………… Gu Zhuping and Cheng Kuochang (164)

Embryogenesis and Organogenesis on Cultured Anthers of *Hyoscyamus niger*
…………………………………………………………………… Cheng Jinchen (165)

Induction of Embryogenic Callus and Histocytological Study on Embryoid Development of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels
…………………………………………… Zhang Shiyu and Cheng Kuochang (165)

Somatic Embryogenesis from Tissue Culture of *Fritillariae pallidiflorae* and Cytohistological Observation
……Wang Lunshan, Yang Hanmin Wang Yafu, Li Fang and Jia Ting-yao (165)

Studies on Young Embryo Culture and Plantlet Regeneration of several Wheat
……………………… Zhang Shiyu, Wang Yishen, Wang Xingyu,
Zhang Shulu, Gu Zhuping and Cheng Kuochang (166)

Effects of Genotype and Embryo Age on Immature Embryo Response *in Vitro* in Common Wheat
……………………… Cai Tishu, Tian Huiqin, Lin Shukang and Li Junming (166)

Ways of Enhancing the Rooting Rate of the *in Vitro* Culture Shoots from Adult *Crataegus scabrifolia* Trees
……………………… Huang Shizhou, Liu Aiqin Hu Hong and Duan Jinyu (166)

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

An Enzyme-Linked Immunsorbent Assay (Elisa) for Abscisic Acid
…………………………………………………… Ji Benren and Duan Jinyu (167)

Enzyme-Linked Immunoassay (Elisa) for Zeatinriboside
……………………………………………Xu Rujun, Ji Benren and Duan Jinyu (167)

The Improvement of the Method for *Triticle* Test-Tube Plantlet to spend the Summer……………………………………………………Tong Qingjuan (167)

The Coaction of Light Quality and Medium Composition in Organogenesis of Leaf Cultures of *Digitalis purpurea*
……………………Ni Dexiang, Cao Yongwei, Zhang Pifang and Wang Kaiji (168)

A Preliminary on the Culture of Hybrid Embryoes and Variability of Chinese Ginseng and American Ginseng
……………………………………Du Lingge, Hou Yanhua, Li Fangyuan,
Yang Zhentang Hu Guizhen Li Anshen, Shao Qiquan and Fu Zhiming (168)

Studies on the Mitosis and Amitosis during Dedifferentiation in Roots of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels………… Zhang Shiyu and Yang Xiaoxian (168)

Amitosis in the Leaves of *Nicotiana tabacum* L. and *Lycium barbarum* L. during Tissue Cultures
……………………………… Yang Hanmin, Gao Qingxiang and Wang Lihong (169)

Study on Chromosome Unstability in Tissue Culture of *Eritillariae pallidiflorae* under Different Homones
……………… Wang Lunshan, Wang Yafu, Yang Hanmin and Jia Tingyao (169)

Study on Carbohydrate Metabolism and Morphogenesis of *Nicotiana tabacum* in Tissue Culture
·……………… Wang Yafu, Wang Lunshan, Yang Hanmin and Li Maoguo (169)

Study of Chromosomal Unstability on Cultured Leaf Tissues of Tobacco
…………… Wang Lihong, Gao Gungxiang, Yang Hanmen and Wang Yafu (170)

Chromosomal Variation in Callus Subcultures of *Fritillariae Pallidiflorae*
……………………………………… Wang Lunshan, Ding Huibin,
Wang Yafu, Yang Hanmin and Jia Tingyao (170)

Study on Chromosome Unstability in Tissue Culture of *Cucumis melo* Vaz. *indorus* ……………… Wang Yafu, Gao Qingxiang, Wang Lunshan
Liu Caiyun, Yang Hanmin Wu Dakang and Zhang Qin (170)

Study on Esterase of Embryogenic Callus of Maize (*Zea mays* L.)
……………… Wang Yishen, Lu Ruiling Wang Junhua, Xu Zhen,
Tang Lanying, Cao ziyi and Cheng Kuochang (171)

The Changes of Peroxidases Soluble Proteins in the Process of Morphogenesis of *Lycium barbarum* L. by Tissue Culture
…………… Wang Yafu, Wang Lunshan, Lu Wei, Lu Bin and An Lizhe (171)

冬小麦幼穗外植体的植株再生和无性系变异*

朱至清　王玉秀　桑建利

（中国科学院植物研究所）

方　仁　　王　培

（河北省农科院粮油作物研究所）

自从Larkin和Scowcroft（1981）系统地评述了在组织培养物再生植株中广泛存在的无性系变异以来[5]，这一现象已引起研究者们日渐增加的兴趣。近年来的观察与实验已经证明这种变异是由多种原因引起的，包括单基因突变[6]、染色体数目和结构的改变[4]和转座子的激活[8]。在进行理论探讨的同时，国内外一些研究单位已经着手用这种方法改良植物品种。

从小麦的幼胚及花粉诱导的再生植株中发现有变异株和染色体异常[3,4]。从幼穗外植体诱导植株较从幼胚更为困难，在小麦上研究的较少。在冬小麦的无性系变异研究上，幼穗培养较幼胚培养更加实用，因为从幼穗起源的植株一般不经春化便可抽穗。此外，当用幼胚培养再生植株时，胚上的胚芽有时也萌发甚至增生，混杂于再生植株之中而难以区分。在幼穗培养的情况下，所有的植株肯定是由愈伤组织经器官发生而重新形成的。本研究报道由冬小麦幼穗外植体诱导植株再生的方法及由此产生的无性系变异。

材料和方法

用于幼穗培养的单倍体花粉植株由河北农科院粮油作物研究所及河南农科院和现昌同志提供。二倍体幼穗取自加拿大两个抗寒优质冬小麦“Norstar”和“Norwin”。部分工作是在加拿大曼尼托巴大学植物科学系进行的。材料种植于田间和栽培在人工生长箱中。

基本培养基为改良N_6培养基[2]（MN_6培养基，1988），蔗糖浓度为5％。添加不同浓度的2，4-D和激动素，并观察其对幼穗外植体再生植株的影响。在有些实验中，培养基中加入10mg/l硝酸银（$AgNO_3$），因为据Purnhauser[9]（1987）报道，$AgNO_3$具有促进小麦愈伤组织再生植株的作用。

供培养的幼穗长0.3～2.0cm。每个幼穗切成2～4段，种植在一个培养管中。

再生的单倍体植株用0.5％秋水仙素溶液处理24小时，处理期间温度为16～20℃，放在弱光照条件下。

＊　本工作获得国家七五攻关项目资助。

再生植株的当代（SC_1）按株收集种子，在第二代（SC_2）和第三代（SC_3）观察其遗传稳定性。

结　　果

（一）幼穗愈伤组织的诱导和植株再生

试验表明长0.3～2.0cm的幼穗外植体均可产生愈伤组织。无论采用何种培养基，只要添加0.5mg/l以上的2，4-D，愈伤组织的发生率均可达到100%。然而，植株再生能力却与许多因素有关。这些因素包括以下几个方面：

1．材料的基因型　对7株不同来源的单倍体花粉植株的幼穗进行了幼穗培养，发现其中只有2株的幼穗外植体可以产生能分化植株的愈伤组织，而且这两个愈伤组织系可以长期继代培养，通过体细胞胚胎发生途径不断分化单倍体植株[1]（图版Ⅰ 1～6），这种体细胞胚胎发生现象已由扫描电子显微镜的观察所证实（图版Ⅱ，7～10）。

2．基本培养基和2，4-D浓度的作用　以“Norstar”和“Norwin”为材料，比较系统地研究了培养基因素和植株再生的关系，结果列于表1。在加有激动素的情况下，在含1mg/l 2，4-D的培养基上较多的外植体不经转移培养，在培养后的40～50天便可从愈伤组织上分化出植株。在2mg/l 2，4-D的情况下，植株形成频率显著下降。值得指出的是，即使在2mg/ 2，4-D下诱导的愈伤组织再转移到含较低的2，4-D（试过的浓度为0.25 0.5及1.0mg/l）的培养基上，也不易再分化植株。这表明诱导愈伤组织启动时的2，4-D浓度显著地影响愈伤组织分化的能力。另一个明显的结果是，在同样的激素和蔗糖浓度下，改良N_6培养基(MN_6)的效果比MS培养基好得多。

表 1　基本培养基和2,4-D浓度对幼穗外植体分化植株的影响*

Table 1. Effects of basic media and 2, 4-D concentration on plant regeneration of inflorescences explants

品种 Variety	培养基 Media	2, 4-D (mg/l)	激动素 KT (mg/l)	外植体数 No. of explants	分化植株的外植体数 No. of explants % regenerated plants	%
Norstar	MN_6	1	1	40	10	25
		2	1	40	2	5
	MS	1	1	40	4	10
		2	1	40	0	0
Norwin	MN_6	1	1	40	20	50
		2	1	40	5	12.5
	MS	1	1	40	2	5
		2	1	40	1	2.5

* 培养基中蔗糖浓度为5%，接种用幼穗长0.8～1.2cm。

* Sucrose concentration in the media was 5%, the length of inflorescences cultured was 0.8～1.2cm.

3．$AgNO_3$的作用　Purnhauser等[9]报道作为乙烯形成的抑制剂可以促进小麦和烟草愈伤组织的植株再生。他们所用的材料来源于小麦幼胚。我们以幼穗外植体为材料进行了重复

试验，证明他们的观察是正确的。$AgNO_3$促进供试两个品种幼穗外植体分化植株。对于再生植株能力较差的品种“Norstar”，这种促进效果更为明显。在含$AgNO_3$的培养基上，除了提高外植体苗分化率外，平均每个外植体上分化的苗数也比对照高。

（二）单倍体幼穗的再生植株及其变异

由两株单倍体植株的幼穗得到胚性愈伤组织，分别编号为13-7和33。从13-7愈伤组织共得到138株移栽成活的植株，它们绝大多数是单倍体（图版Ⅱ，5、6），只有一株部分结实，共收种子42粒。所有再生植株在当代形态上变化不明显，但是在第二代(SC_2)表现出差异。42粒种子中有34粒萌发成株，株高有明显差异，变动于80～117cm之间。其中表型明显变异的植株包括：无芒具蜡质1株（供体植株是具芒无蜡质的），短芒具蜡质1株，短芒1株。到SC_3代，32个株系表现整齐稳定，1个株系未出苗。有一个株系不稳定，表现出严重分离，株高变化在65～121cm之间，成熟期变动于6月7日到6月17日之间，单株穗数变动于3～43之间。这种范围广泛的变异与分离，暗示着染色体结构上发生了明显改变。目前，这些材料在河北农科院粮油作物所继续进行观察与选育。

从33号愈伤组织系陆续分化出的植株全部是单倍体，其中第一批48株移栽到人工气候箱内，在植株高度上有明显差异（图版Ⅰ，1），同时观察到6株叶色较浅的植株。第二批移栽32株，成活后，于分蘖后期至茎延长期进行秋水仙素处理，共有21株加倍结实。播种了其中5株的种子，发现有一个株系的植株叶片扭曲，另一个株系植株较其它株系矮。此5个株系在SC_2代均表现整齐无分离。此项研究尚在继续中，将对更多的变异株进行观察。

（三）二倍体幼穗的再生植株及其表型变异

如前所述，采用改良的组织培养方法，可以从冬小麦的品种中以较高的频率从幼穗诱导植株。目前已经移栽了大约40株“Norwin”的再生植株，并已达到抽穗阶段。表型的变异主要有：1．植株高度有明显差异；2．抽穗期相差可以达一个月以上，有些植株种子已经成熟，而另一些植株仍停留在分蘖期（图版Ⅰ，2）；3．有两株植株出现雄蕊雌蕊化现象，即所有小花中的花药均转变为雌蕊，每朵花中有4个子房（图版Ⅰ，3）。这些表型变异是否可遗传到第2代，还有待于今后的研究。约100株“Norwin”再生植株尚处在苗期，还无法观察变异的情况。细胞遗传学观察结果将另行报道。

讨　论

运用在实验结果中报道的方法，可以使在原来MS培养基上很难诱导再生植株的“Norstar”小麦的幼穗以相当高的频率再生植株，另一个品种“Norwin”则诱导频率更高。最近，我们用同样的方法培养其它3个品种的冬小麦也得到了同样结果。可以说，本研究基本上解决了从冬小麦幼穗诱导植株和变异株的问题。

从单倍体幼穗诱导的变异株加倍结实后，其后代大部稳定下来不发生分离，这就有利于今后的品系选育。单倍体再生植株中的变异率从理论上讲高于二倍体，但由于我们目前积累的资料还不够，尚不能从实践上证明这一问题。个别来源于单倍体的自然加倍的变异株后代发生较强烈的分离，原因可能有两种：一是变异发生在愈伤组织细胞自然加倍之后，并且发生在姐妹染色体之一上，以后发生交换重组而分离。二是可能这种变异是由于非同源染色体之间的互换，因而不易稳定下来。总之，利用单倍体胚性愈伤组织诱导变异，加快变异株的

稳定，是无性系变异研究中--条理想而又可行的途径。

关于体细胞无性系变异机理的研究，近年来有显著进展。Larkin[6]从小麦品种"Yaqui 50E"的再生植株种子的麦醇溶蛋白的电泳谱上发现某些组分缺失或增加，这些变化在后代中还发生分离，因而证明这些无性系变异属于基因水平上的变异。据许多报道，染色体数目和结构的改变在再生植株中更为普遍，其中染色体的缺失、增多以及大片段的染色体结构改变往往引起植株畸形发育，而且后代极不稳定，这在育种上并无重要价值。但是，非同源染色体之间的小片段染色质的非同源易位可以引起基因重排，诱发出许多新的性状，而又不致引起发育异常，这种类型的染色体变异在育种上很有价值。我们在单倍体13-7愈伤组织自然加倍的后代中，所发现的较多的分离现象很可能是由于非同源易位引起的。对单倍体再生植株的减数分裂观察表明，在中期Ⅰ时常常出现5～6对非同源染色体联合或连接(图版Ⅰ，6)，这暗示着某些染色体之间可能已经发生过交换。除了基因变异和染色体变异外，Peschke等[8]在玉米再生植株中找到由转座子激活引起的无性系变异，从而揭示了另一个很有价值的变异来源。总之，无性系变异的研究可以为育种开辟一个新途径，特别是当我们想进一步改良某个优良品种尚又不希望用杂交的方法大范围内改变原品种的基本特性时，无性系变异的方法有着不可代替的优越性。我们可以用这种方法保持原品种的绝大部分特性，而仅仅改良其一、二个特性，例如，提早成熟期和降低植株高度等。

参 考 文 献

〔1〕 Chu, C.C., Y. X. Wang and J. L. Sang, 1987: Long term plant regeneration from callus cultures of haploid wheat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* **11**: 221～226.

〔2〕 Chu, C. C. and R. D. Hill, 1988: An improved anther culture method for obtaining higher frequency of pollen embtyoids in *Triticum aestivum* L. . *plant Science,* **54**(in press).

〔3〕 Hu Han T. Y. Hsi and S. E. Chia, 1978: Chromosome variation of somatic cells of pollen calli and plants in wheat (*Triticum aestivum* L.) . *Acta.Genet. Sin.,* **5**: 23～30.

〔4〕 Karp, A. and S. E. Maddock, 1984: Chromosome variation in wheat plants regenerated from cultured immature embryos. *Theor. App. Genet.* , **67**: 249～255.

〔5〕 Larkin, P. j. and W. R. Scowcroft, 1981: Somaclonal variation —— a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor. App. Genet.* , **60**: 197～214.

〔6〕 Larkin, P. J. , 1985: *In vitro* culture and cereal breeding. In Cereal Tissue and Cell Culture S. W. J. Bright and M. G. K. Jones Eds.), Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dorderecht/Boston/ Lancaster.

〔7〕 Maddock, S. E. , V. A. Lancaster, R. Risiott, and J. Franklin, 1983: Plant regeneration from culturee immature embryos and inflorescences of 25 cultivars of wheat(*Triticum aestivum.* L.). *J. Exp. Bot.* , **34**: 915～926.

〔8〕 Peschke, V. W. , R. L. Phillips and B. G. Gougenbach, 1987: Discovery of transposible element activity among progeny of tissue culture-derived maize plants. *Science,* **238**: 804～807.

〔9〕 Purnhauser, L. , P. Medhysy, M. Czako and P. J. Dix. , 1987: Stimulation of shoot regeration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. tissue culture using the ethylene inhibitor $AgNO_3$. *Plant Cell Rep.* , **6**: 1～4.

PLANT REGENERATION AND SOMACLONAL VARIATION FROM INFLORESCENCES OF WINTER WHEAT (TRITICUM AESTIVUM L.)

Zhu Zhiqing, Wang Yuxiu and Sang Jianli

(Institute of Botany, Academia Sinica)

Fang Ren Wang Pei

(Institute of Food and Oil Crop, Hebei Academy of Agricultural Sciences)

Abstract

The calli and the regenerated Plants were obtained by culturing young inflorescences tissue of some winter wheat varieties and pollen haploid plants on N6 or improved N6 media containing 2, 4-D 1mg/1, KT 1mg/1. The calli retained a high potentiality for plant regeneration after subculture for more than one year on the same media. The variation occurred in some of regenerated plants (SC) in the aspects of height; morphotype; leaf color; and fertility. A number of plant lines in the second generation (SC) were stable, the others showed The separation till the third generation. The reasons for producing somaclonal variation were discussed in this paper.

Explanation of plates

Plate I

Fig. 1. Variation of the height of regenerated plants No. 33 from haploid embryonic calli.

Fig. 2. Regenerated plants from young inflorescences of Norstar.

Fig. 3. Variats in the regenerated plants from young inflorescences of Norstar, with 4 ovarys, no slaminate flower.

Plate II

Fig. 1. Callus induced from young inflorescences of haploid pollen plants, on which white and dense embryoids were differentiated.

Fig. 2. A cluster of plants from embryoids Fig. 3. Ovary-like structure arosed from callus

Figs. 4, 5. Regenerated plants. Fig. 6. Meiosis M1 of haploid regenerated plants 2n=21, with 6 nonhomologous association. Fig. 7. Scutellum-like structure differentiated from haploid embryonic calli(S). Fig. 8. Globular embryoids(GE). Fig. 9. Mature embryoids. Fig. 10. Leaf shaped structure (L) produced on structure like scutellum(S)

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com