





IN VITRO CELL AND  
TISSUE CULTURE TECHNOLOGY IN PLANT



植物组织与细胞离体

培养技术



主 编 连 勇

副主编 陈国忠 沈 文 徐 涵

# 植物组织与细胞离体培养技术

**In Vitro Cell And Tissue Culture Technology In Plant**

主 编 连 勇

副主编 陈国忠 沈 文

徐 涵

中国科学技术出版社

· 北 京 ·

## 图书在版编目 (CIP) 数据

植物组织与细胞离体培养技术/连勇等主编. —北京: 中国科学技术出版社, 2011. 10

ISBN 978 - 7 - 5046 - 5945 - 3

I. ①植… II. ①连… III. ①植物—细胞培养: 组织培养—文集  
IV. ①Q943.1 - 53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 213067 号

出版人 苏 青  
责任编辑 金 陵  
责任印制 李春利  
封面设计 华严时空文化 (北京) 有限公司

---

出 版 中国科学技术出版社  
发 行 科学普及出版社发行部  
地 址 北京市海淀区中关村南大街 16 号  
邮 编 100081  
发行电话 010 - 62173865  
传 真 010 - 62179148  
投稿电话 010 - 62176522  
网 址 <http://www.cspbooks.com.cn>

---

开 本 787 毫米 × 1092 毫米  
字 数 400 千字  
印 张 21.5  
印 数 1—500 册  
版 次 2011 年 10 月第 1 版  
印 次 2011 年 10 月第 1 次印刷  
印 刷 北京正道印刷厂

---

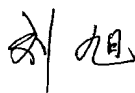
书 号 ISBN 978 - 7 - 5046 - 5945 - 3/Q · 161  
定 价 70.00 元

# 序

以组织培养技术为基础的植物快繁技术，是较为成熟、应用广泛、成效极大的一项现代生物技术，在解决人类的粮食、环保和发展等问题中，发挥着日益重要的作用。我国从20世纪50年代末开始研究推广植物组培快繁技术，70年代末开始先后研究推广用茎尖组织培养方法获得脱毒马铃薯、蔬菜、花卉、果树试管苗。成功地获得了脱毒复壮的马铃薯种薯，开始了无毒种薯的生产和推广；果树上采用茎尖嫁接脱毒技术对柑橘、苹果等优良品种进行脱毒处理获得无病毒良种材料，并已批量生产无病毒苗木和接穗应用于水果主产区建立新果园和老果园高接换种；蔬菜花卉上采用茎尖组织培养的方法获得脱毒种苗，掌握了大蒜、生姜、兰花、火鹤、花叶芋、香石竹等数百种蔬菜花卉种苗（球）的组培快繁技术；近年来随着科学技术的飞速发展，植物组织和细胞培养技术应用的范围越来越广，已应用于植物新品种选育、种植创新及种苗生产各个领域。

植物组织和细胞培养技术是植物脱毒、快繁及工厂化种苗生产，单倍体诱导、体细胞杂交及突变体筛选等细胞工程改良植物性状，以及基因工程创造新种质等现代生物技术的基础。为了总结和交流近年来我国在植物组织培养、细胞培养及其在植物性状改良和工厂化种苗生产上应用技术成就，中国农业生物技术学会植物组培快繁脱毒技术分会先后在江西、福建、辽宁及宁夏举办了四届“全国植物组培，脱毒快繁及工厂化种苗生产技术学术研讨会”。由上海市金山区现代农业园区管理委员会承办，上海稼丰园艺用品有限公司协办的第五届学术研讨会，将于2011年11月在上海召开。现将本次会议收集的论文编辑成《植物组织与细胞离体培养技术》一书，由中国科学技术出版社出版，以供同行参考。该书基本反映了我国植物细胞和组织培养研究最新进展及应用成果，我相信它能为相关的科研、教学和生产工作者提供有益的参考。

中国农业生物技术学会理事长  
中国工程院院士



2011年10月

## 《植物组织与细胞离体培养技术》编委会

主 编 连 勇

副主编 陈国忠 沈 文 徐 涵

编委会 (按姓氏拼音字母排列)

曹 峰	曹君迈	陈国忠	陈丽萍	葛 红
郭玉琼	侯喜林	黄先群	赖钟雄	李岳忠
连 勇	林思祖	刘 凡	刘录祥	柳 俊
卢翠华	彭 励	任克彪	申书兴	沈 文
沈火林	盛邱根	孙国庆	汪国平	吴 震
徐 涵	杨立平	杨柏云	杨淑燕	余汎洲

## 第一部分 植物细胞和组织培养总论与综述

- 玉米花药培养研究进展 ..... 朱艳芳 薛建平 蔡士兵 盛 玮 ( 3 )
- 观赏植物组织培养的研究进展及应用 ..... 刘 娟 葛 红 ( 10 )
- 半夏组织培养的研究进展 ..... 卢河东 张爱民 薛建平 ( 21 )
- 菠菜离体培养研究进展 ... 李 梅 张 斌 闻凤英 刘晓晖等 ( 26 )
- 地黄组织培养研究进展 ..... 薛 涛 卢河东 薛建平 ( 32 )
- 火龙果组织培养研究进展 ..... 常 莉 崔婷婷 薛建平 ( 37 )
- 微环境对组培苗生长的影响  
..... 罗雪梅 金晓玲 王 征 刘雪梅 ( 42 )
- 药用菊花组织培养研究进展 ..... 郭朝阳 盛 玮 薛建平 ( 48 )
- 诱变技术在药用植物育种中的应用与展望  
..... 张爱民 薛建平 崔婷婷 朱艳芳 ( 53 )
- 植物组织褐变及相关机理的研究进展 ..... 赵 滢 葛 红 ( 59 )
- 正确看待蝴蝶兰病毒 ..... 苏俊明 张友强 胡金全 ( 65 )

## 第二部分 草本植物细胞和组织培养

- 加工型辣椒花药培养技术研究  
..... 静 一 罗安才 黄仁中 雷开荣等 ( 81 )
- 萝卜花药培养小孢子胚诱导和植株再生  
..... 蒋武生 张晓伟 原玉香 姚秋菊等 ( 93 )
- 马铃薯花药培养影响因素的研究  
..... 卢翠华 张丽莉 石 瑛 陈伊里 ( 99 )
- 提高辣椒游离小孢子胚状体诱导率的研究  
..... 银 婷 王彦华 罗双霞 陈雪平等 ( 106 )
- ‘天使’矮牵牛的花药培养 ..... 陈春玲 王 熙 刘 佳 赵世伟 ( 114 )
- 不同添加物对转基因文心兰原球茎增殖和分化的影响  
..... 林鹤延 赖钟雄 ( 121 )
- 多效唑对马铃薯试管苗生长与保存的影响  
..... 司怀军 张 宁 文义凯 马骥毓等 ( 128 )

# 目 录

附加碳源和不同有机添加物对万带兰组织培养快繁的影响 .....	何碧珠 何官榕 钟凤林 (133)
福建戴云山野生金线莲组织培养技术初步研究 .....	张梓浩 赖钟雄 (142)
福州野生蕉茎尖培养初报 .....	匡云波 赖钟雄 (147)
光质、光强对马铃薯脱毒基础苗生长的影响 .....	曹君迈 史 润 (155)
六棱景天和紫帝景天的组织培养及脱毒快繁 .....	王 熙 刘 佳 陈春玲 (163)
罗勒离体培养初步研究 .....	姚凤琴 赖钟雄 (168)
马齿苋的组织培养技术研究 .....	岳二魁 张爱民 薛建平 朱艳芳 (174)
日本薯蓣珠牙的离体诱导 .....	杨 薇 杨柏云 蔡奇英 罗丽萍等 (178)
石斛兰 11 份遗传资源组培苗的 RAPD 分析 .....	吴高杰 叶 炜 赖钟雄 (185)
万寿菊试管开花初步研究 .....	曾水玉 赖钟雄 (194)
文心兰原球茎继代培养及无性系变异植株的初步鉴定 .....	叶 炜 刘 敏 吴高杰 林玉玲等 (201)
香蕉泥对铁皮石斛兰原球茎增殖与分化成苗的影响 .....	刘炜嫫 赖钟雄 (208)
整体透明技术的改进及亚麻多胚的观察 .....	康庆华 徐 涵 关凤芝 吴广文等 (218)
<b>第三部分 木本植物细胞和组织培养</b>	
低温胁迫下荔枝古树花药胚性愈伤组织 SOD 活性的变化 .....	许珊珊 赖钟雄 (225)
北美冬青的组培快繁技术研究 .....	王慧瑜 张晓申 史喜兵 李晓青等 (233)
不同培养容器等因素对杉木组培苗生根的影响 .....	马志慧 丁国昌 林思祖 (238)

# 目 录

- 赤霉素浸种与低温层积对金叶大叶黄杨种子发芽的影响  
..... 金晓玲 薛会雯 刘海洋 罗雪梅 (245)
- 金叶大叶黄杨组织培养研究  
..... 薛会雯 金晓玲 刘海洋 罗雪梅 (250)
- 蓝莓的嫩茎段离体培养技术研究  
..... 汤桂钧 李世忠 蒋建平 胡海峰等 (257)
- 毛杜鹃组织培养初步研究  
..... 陈春福 赖钟雄 (263)
- 美蕉的组织培养研究  
..... 冯 新 赖钟雄 (269)
- 樱花“关山”组培快繁技术研究  
..... 李艳敏 孟月娥 赵秀山 王慧娟等 (275)
- 月季‘卡罗拉’组织培养与快速繁殖  
..... 刘 娟 葛 红 贾瑞冬 包满珠 (279)
- 3个橄榄品种幼胚培养比较研究  
..... 荣 霞 赖钟雄 (286)
- 荔枝转基因抗性胚性愈伤组织(TREC)蛋白质组分变化分析  
..... 赖呈纯 赖钟雄 (296)
- Mirabolano 29C 离体快繁技术体系研究  
..... 李洪雯 刘建军 陈克玲 何 建等 (304)
- 望天树组培外植体消毒与褐化抑制  
..... 戴 勤 杨 梅 韦凤娟 黄晓露等 (311)
- 消毒方法对福建金银花外植体的影响  
..... 蔡爱萍 刘生财 赖钟雄 (320)
- 间歇浸没式生物反应器中香蕉(Musa cavendish var. Williams B6,  
AAA)组培苗移栽时期的表现  
..... 廖 芬 杨 柳 粟 靖 李杨瑞等 (325)

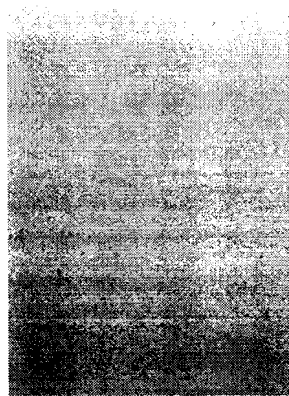


# 第一 部分

植物细胞和组织培养

---

总论与综述





# 玉米花药培养研究进展

朱艳芳<sup>1</sup> 薛建平<sup>1\*</sup> 蔡士兵<sup>2</sup> 盛 玮<sup>1</sup>

(1. 淮北师范大学生命科学学院, 资源植物生物学安徽省重点实验室, 安徽淮北, 235000;

2. 淮北市濉溪县农业科学研究所, 濉溪, 235100)

**摘 要:** 利用玉米花药培养获得单倍体植株, 一经染色体加倍就能形成一个稳定标准的自交系, 可以缩短育种年限, 加快育种速度, 提高育种效率, 是一种重要的育种途径。本文主要综述了影响玉米花药单倍体诱导的因素, 并提出玉米单倍体育种的研究方向。

**关键词:** 玉米, 花药, 单倍体, 育种

## Research Progress on Anther Culture of Maize

Zhu Yan-fang<sup>1</sup>, Xue Jian-ping<sup>1\*</sup>, Cai Shi-bing<sup>2</sup>, Sheng Wei<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Huaibei Normal University, Anhui Key Laboratory of Plant Resources and Biology, Huaibei, 235000; 2. Suixi Institute of Agricultural Science in Anhui, Suixi, 235100, China)

**Abstract:** In the breeding of maize, haploid plants could be induced from anther culture. Doubled haploid plants can be obtained by doubling the chromosomes in the haploid plants. The doubled haploid plants were pure lines in heredity and very useful in breeding. The breeding way can shorten the breeding time and accelerate the breeding. This paper summarizes the impact factors in anther culture of maize, and presents a prospect.

**Key words:** Maize; anther; haploid plant; breeding

玉米是一种广泛种植的粮食作物, 也是我国饲料和工业的重要原料之一。玉米产业的发展对我国国民经济和农业生产具有重要的战略意义。传统的育种方法多是利用两个自交系产生的  $F_1$  代的杂种优势来提高玉米的产量和抗病性, 要获得一个高配合力的纯合自交系, 需要连续多年的人工自交和选择, 耗费大量的人力物力和时间。随着生物技术的发展, 单倍体诱导成为植物育种的重要途径之一, 植物细胞的全能性是单倍体育种的理论基础。

---

**作者简介:** 朱艳芳, 女, (1980—), 讲师, 主要从事植物生物技术研究, E-mail: yfangok@163.com

**通讯作者:** 薛建平 (1966—), 男, 博士, 教授, E-mail: xuejp2000@yahoo.com.cn

**基金项目:** 安徽高校省级自然科学研究重点项目 (编号: KJ2008A012)



玉米花药单倍体诱导, 是利用花药在合适的培养条件下诱导出单倍体植株, 后进行染色体加倍, 自交结实, 杂交组合形成稳定的具有优良性状的新品系的育种方法。通过花药培养获得的单倍体, 一经染色体加倍就能形成一个稳定标准的自交系, 和传统的育种方法相比, 大大缩短了育种周期, 节省了大量的人力物力(吴甲林等), 是现代作物育种中快速高效的育种途径之一。目前, 国内外对玉米花药的单倍体育种进行了大量的研究, 玉米花药单倍体诱导是该育种技术的瓶颈, 影响因素众多。本文主要综述了影响玉米花药单倍体诱导的因素。

## 1 玉米花药单倍体育种的程序

采集玉米孕穗期的雄穗, 以小孢子处于单核中后期的玉米雄穗为材料, 湿纱布包裹放入 4~8℃ 冰箱, 低温预处理一段时间后, 在无菌状态下将花药接种入合适的诱导培养基内, 一定温度下黑暗或散光培养。待长出愈伤或胚状体后, 在分化培养基上诱导出苗, 对根尖细胞染色体计数, 确定其倍性。用化学方法使染色体加倍, 获得的植株即为双单倍体植株(DH 植株), 经自交产生的种子就是双单倍体种子, 可进一步用于育种研究。

## 2 影响玉米花药单倍体诱导的因素

### 2.1 供试材料的前处理

国内外研究表明对供试材料进行一定的前处理能提高玉米花药的诱导率。Butter 等研究在接种前冷藏、糖液浸泡等前处理, 在一定程度上提高了玉米花药培养的诱导率(1991)。杜文平等(2006)研究了接种前冷藏、田间早期对雄穗注射 1~10mg·L<sup>-1</sup>的 2, 4-D 及接种前用一定浓度的 2, 4-D 浸泡雄穗对出愈率的影响, 发现接种前用 4℃ 冷处理对提高玉米花药诱导率有明显作用, 田间对雄穗喷施一定浓度的 2, 4-D 能有效提高玉米花药的出愈率, 接种前用 2, 4-D 浸泡雄穗, 随着 2, 4-D 浓度的增加或时间的延长, 其出愈率都在增加。原玉香等(2001)研究认为花药接种前对雄穗进行 5℃ 低温预处理(15~21) d 诱导效果较好。Genovesi A D 等(1982)研究认为预冷处理时间和程度均影响花药的诱导率, 其研究结果显示 4℃、7d 加 8℃、7d 及 8℃、14d 的前处理效果远好于 4℃、14d, 8℃、7d, 4℃、7d 的处理。宋建成等(1997)采用 7℃、14d 的前处理。以后大多学者 Coumans(1989), Beth(1996)等多采用 8℃、14d 的前处理。

### 2.2 供试材料的基因型

关于玉米花药单倍体诱导的研究均发现基因型是影响玉米花药培养效果的最重要因素之一。杜文平等研究 36 个基因型中有 7 个能诱导出愈伤组织, 仅有 2 个能分化出绿苗。原玉香等接种的 28 个基因型中, 有 23 个能诱导出胚, 少数诱导率较高, 而有些基因型诱导率为 0。Miao 等(1978)研究了 159 个基因型, 其中只有 9 个能诱导出愈伤组织或胚。

毋秋华等(1980)研究56个基因型,有41个基因型能诱导出。Petolino J F等(1996)接种25份材料,有12份诱导出,1985年接种27份材料,有17份诱导出。郭仲琛等(1978)试验的121个材料中,仅有30个产生了愈伤组织。所以,基因型是限制玉米花药单倍体育种的关键因素之一,要想获得单倍体玉米材料需要选择合适的基因型。

## 2.3 供试材料的生理状态

玉米供试植株的生理状态对玉米花药愈伤组织的诱导也有很大的影响(杨宪民等,1979),如同一种材料在不同地区其诱导率明显不同,温室材料不如大田材料诱导频率高。李宝森等在春季接种双跃三号,诱导率为6%,而在夏季接种诱导率为0.63%。曹孜义等发现,晴天早晨或傍晚取材接种的诱导率高,而雨后则是中午取材的诱导率高。可见接种材料的生理状态是玉米花药诱导的不可忽视的环节。通过加强对接种材料的栽培管理,促进植株健壮生长,提高花粉细胞的生活力,改善植株的生理状态,来提高花药的诱导率。

## 2.4 花粉的发育时期

花粉的发育时期也是影响单倍体诱导率的重要因素之一。中科院遗传所的郑万珍等研究发现(1978),在他们选用的8种玉米材料中,单核中期,即核居中央、有萌发孔、液泡尚未出现的花粉,胚状体诱导频率最高,而四分体期和单核靠边期的花粉,诱导率极低甚至为0。郭仲琛等(1978)研究了四分体时期、单核中期、单核靠边期及二核期四个时期花粉的单倍体诱导率,发现单核中期的诱导率在四个时期中最高。所以,选取合适发育时期的花粉是提高单倍体诱导率的重要因素之一。

## 2.5 诱导培养基成分的影响

### 2.5.1 基本培养基的种类

基本培养基能满足和保证培养物的生存与最低的生理活动需要。在玉米花药培养的研究中,报道最多的基本培养基有N6、正14、玉培等,目前还没有一种玉米花药培养基是普遍适用的。花药培养对营养的要求不但因基因型的不同而不同,而且还可能因花药年龄以及供体植株的生长条件的不同而不同(王建哥,1996)。朱艳芳等(2009)以超级黑糯玉米7个品系为试验材料,研究发现N6和正14基本培养较适合该类玉米的花药单倍体诱导。而杜文平等研究的玉米花药较适合诱导培养基为“玉培”。傅作申等(1998)以其选育的自交系为材料,从MS、N6、B5和正14四种基本培养基中筛选出正14培养基是诱导率最高的培养基。王子霞等(2001)研究了N6、南开、正14、82-1及玉培五种基本培养基对玉米花药诱导率的影响,发现玉培是五种基本培养基中诱导率最高的。基本培养基的种类因接种材料的不同而不同,所以在进行玉米花药培养时,还应进行基本培养基的选择。

### 2.5.2 碳源及浓度

碳源不仅是培养物能量物质的来源,同时对保持培养基的渗透压也有重要的作用。其



种类和浓度对玉米花药单倍体诱导有着很大的影响。朱海山等比较了蔗糖、麦芽糖、D-葡萄糖、D-果糖、D-半乳糖、D-棉子糖、D-海藻糖、纤维二糖等 8 种碳源对玉米花药诱导的影响,发现棉子糖和蔗糖效果相近,可以互相代替,诱导效果显著高于其他几种碳源(朱海山等,1996)。陈曼琳等(1979)研究了培养基中不同浓度的蔗糖对花药诱导率的影响,发现 15% 的蔗糖浓度对各发育时期花粉的启动都能产生较好的效果,尤其在花粉发育时期不能完全准确掌握的情况下,15% 的蔗糖对提高花药的诱导率是一个有利的条件。王子霞等比较 9%、12%、15% 三个浓度蔗糖对玉米花药诱导率的影响,结果表明 12% 和 15% 的蔗糖诱导效果明显优于 9%,且 12% 和 15% 的蔗糖其愈伤诱导效果差异不明显。因此,在玉米花药单倍体诱导培养基中蔗糖浓度过低不利于花药诱导。

### 2.5.3 植物生长物质的配比

培养基的各种成分中,植物生长物质是调节植物细胞生长发育的重要物质。陈曼琳等研究认为,玉米对 2,4-D 的反应不如其他作物敏感,单独使用 2,4-D 时,各浓度梯度对花药诱导率不明显,单独使用 KT 时,浓度为  $1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的诱导率比其他浓度的诱导率高,而在无激素的培养基上也有一定的诱导率,所以,认为玉米花药所具有的内源激素就可以保证花药的启动和再分化,外源激素并不一定是必需的。然而更多的人认为,在诱导愈伤或分化培养基中添加不同配比的植物生长物质对愈伤的诱导和胚状体的分化有明显的影响。很多研究表明,生长素和细胞分裂素的合适配比,能促进小孢子沿孢子体途径发育。1991 年, Hongchang 等(1991)比较了 9 种不同的激素组合对玉米花药单倍体的诱导率,发现玉培 +  $2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D +  $1.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  KT 的诱导率最高。宋建成等(1998)研究发现,  $2 \sim 4\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D 有利于胚状体的诱导,  $0.1 \sim 0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 TIBA 能显著提高胚状体的分化率。朱艳芳等通过正交试验认为除了玉米材料的基因型和基本培养基种类外,激素配比也是影响玉米花药单倍体诱导的重要因素。

### 2.5.4 琼脂

琼脂在培养基中主要起到固化培养基的作用。毋秋华等研究发现,在 9% 蔗糖浓度和单核中期的玉米花粉发育时期,液体培养比琼脂固体培养可以提高诱导率一倍以上。Pescitelli 等研究发现最高的胚状体发生频率出现在液体培养基中(1988)。李春红等在比较正 14 和 N6 两种培养基的固体型和液体型的诱导效果时,发现液体培养基的诱导效果更好(1993)。朱艳芳等在优化超级黑糯玉米花药诱导培养基的研究中,发现液体培养基更适合于该类花药单倍体诱导。其原因有可能是,花药单倍体诱导所需时间较长,固体培养基水分蒸发,容易干裂,不利于玉米花药的继续诱导,也有可能是琼脂中含有的杂质影响了花药的诱导,具体什么原因还有待于进一步研究。

### 2.5.5 活性炭

活性炭(AC)具有较强的吸附特性,在植物组织培养中常用来吸附培养基中的有害物质,特别是蔗糖在高温灭菌过程中降解产生的 5-羟甲糠醛,花药组织产生的乙烯、酚类、醌类等物质以及琼脂中的杂质。朱海山等(1996)首次将 AC 加入玉米花药培养的诱导培养基中,发现  $5\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 AC 能明显地提高玉米花药胚状体分化和绿色小植株的产生

率。原玉香等研究也认为 AC 对玉米花粉胚的诱导具有明显的促进作用。陈曼琳等研究认为, 培养基中加入 0.5% AC, 对提高愈伤组织和胚状体诱导率的效果十分明显, 加有 0.5% AC 的诱导率为 3.93%, 而对照只有 1.68%, 是对照的两倍多, 有的可提高诱导率达 8~9 倍。

## 2.6 培养温度

培养温度是植物离体组织或器官培养成功与否的重要影响因素, 温度对玉米花药培养的影响也很大。接种后玉米花药的高温处理对花药的诱导效果有很大影响, 有报道认为 32℃ 处理 10d 后转入 25℃ 的诱导效果好, 也有的认为先 30℃ 处理 14d 再转入 27℃ 效果好, 更多地采用 28℃ 处理 1~3 周后转入光下培养, 黑龙江省牡丹江地区农业科学研究所比较了 22℃~25℃ 和 27℃~30℃ 两个玉米花药的培养温度, 发现 22℃~25℃ 条件下, 花药没有诱导出愈伤组织, 而 27℃~30℃ 条件下可诱导出愈伤组织和分化出绿苗。1985 年我国中科院遗传所与匈牙利科学院农业研究所合作, 在匈牙利做了不同温度对玉米供体材料(代号为 5406)花药诱导的试验, 发现 29℃ 下花药愈伤组织的诱导率最高, 且仅从 29℃ 下诱导出的愈伤中获得了一些绿色小植株(贾旭等, 1987)。

## 2.7 其他影响因素

培养基的灭菌方法对玉米花药单倍体诱导的效果也有影响, 尤其是以蔗糖为碳源的培养基。朱海山等发现把蔗糖和其他成分分开灭菌, 比所有成分一起高温高压灭菌的玉米花药诱导率显著提高, 原因可能与蔗糖和培养基中的其他成分在高温高压条件下形成有害物质有关。

培养基中添加一定浓度的有机附加物能提高玉米花药的诱导率, 尤其是水解酪蛋白(CH)对胚状体的形成有显著的促进作用, 有助于玉米花药单倍体的诱导。郭仲琛等研究发现诱导培养基中添加 CH 比不加 CH 的花药单倍体诱导率要高, 并进一步研究了最佳 CH 的浓度, 发现添加  $500\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的诱导率要比 (0、1000、2000)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的诱导率都高。另外, 在培养基中加入一定浓度的脯氨酸、椰子乳、豌豆冷浸液等成分也能提高玉米花药的诱导率。

培养基中添加一定浓度的重金属盐, 对提高玉米花药的单倍体诱导率也有一定的作用。姜丽君等(1998)将玉米花药接种入添加不同浓度的  $\text{NiCl}_2$ 、 $\text{CdCl}_2$ 、 $\text{ZnCl}_2$  的诱导培养基中 1~14d, 然后转移到正常诱导培养基中, 发现三种重金属盐均能明显影响其诱导率, 其中以  $0.5\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NiCl}_2$  处理 1d 的效果最好, 但是对无花药培养能力的基因型仍然不能诱导出愈伤或胚状体。

## 3 玉米花药培养存在问题及展望

目前, 利用玉米花药培养获得单倍体植株的研究已经取得了一些可喜成绩, 但是在育种中还未能广泛应用, 主要原因是玉米花药培养力低, 受基因型影响严重。所以, 要充分利用分子生物学手段对玉米花药培养进行基础性研究, 从根本上削弱或消除基因型对玉米



花药诱导率的影响。

玉米花药培养获得单倍体植株的发育调控机理还不明确,即小孢子改变原来的配子体发育途径,沿孢子体途径发育的诱导机制、启动机理、调控机理及其与内部生理生化变化(如花药在单倍体诱导过程中内源激素的变化,某些活性物质如酶的变化,等等)的关系等都不明确,还需要进行深入研究。同时,玉米花药诱导过程中褐化现象严重,愈伤组织分化率低,有些产生白化苗和畸形苗,单倍体植株移栽成活率低、染色体加倍的有效方法少,这些都将是今后提高玉米花药单倍体诱导的研究方向。

在提高花粉植株诱导率的基础上,将花药培养技术与细胞离体筛选、诱变、转基因技术相结合,短期内培育出高品质的玉米新品系。总之,玉米花药单倍体诱导技术是迄今为止产生纯和体的最有效手段之一,加强花药培养体系中关键技术和遗传机理的研究,将花药培养与基因工程相结合,解决花药诱导对基因型的依赖,提高花药诱导率,将为玉米花药单倍体育种开创一个崭新的局面。

## 参 考 文 献

- [1]陈曼琳,杭玲,吴茂刚,陈先玲,缪树华,郭仲琛,桂耀林,孙安慈,顾淑荣,陆文樑(1979). 玉米花粉植株的诱导及其后代的观察. 中国科学,(2):204-212.
- [2]杜文平,徐利远,余桂荣,王一,钟昌松(2006). 玉米花药培养影响因素研究. 玉米科学,14(6):104-107.
- [3]傅作申,隋云凌,徐振彪,毋秋华(1998). 玉米93供113-1花药愈伤组织的诱导及植株再生. 吉林农业科学,(2):46-47.
- [4]郭仲琛,孙安慈,王玉英,桂耀林,顾淑荣,树华(1978). 玉米花粉植株的诱导和雄核发育的研究. 植物学报,20(3):204-211.
- [5]黑龙江省牡丹江地区农业科学研究所(1978). 玉米花药培养出玉米植株. 甘肃农业科学,(1):15.
- [6]贾旭,欧阳俊闻,比·巴拉巴斯,拉·夏格(1987). 温度对玉米花药培养的影响. 中国农业科学,20:95-96.
- [7]姜丽君,宋建成,王启柏,王守义(1998). 重金属盐处理对提高玉米花药培养效率的作用. 西北植物学报,18:81-86.
- [8]李春红,孟祥启,蒋有绎(1993). 玉米花药培养及再生植株倍性鉴定. 华北农学报,8(2):64-68.
- [9]李文泽,胡含(1995). 预处理在禾谷类花药-花粉培养中的应用. 遗传,17(增刊):9-12.
- [10]宋建成,姜丽君,王启柏,王守义,郭风法(1997). 玉米花药培养能力的遗传分析. 玉米科学,5(2):14-16.
- [11]宋建成,姜丽君,王启柏,王守义,郭风法(1998). 诱导培养基及其主要成分对玉米花药培养的影响. 西北植物学报,18:16-22.
- [12]王建革(1996). 单倍体技术在玉米育种中的应用. 国外农学-杂粮作物,(4):7-8.
- [13]王子霞,杨克锐,海热古力,顾爱星(2001). 玉米花药培养的初步研究. 新疆农业科学,38(6):346-347.
- [14]吴甲林,钟秋兰,农方红,陈曼玲,张惠英,郑比兰. 花药培养育成玉米纯系及其杂交组合的试种. 中国科学(B辑),(2):154-160.
- [15]毋秋华,陈泽光,杨振棠(1980). 玉米花药漂浮培养. 遗传,2(5):37-38.
- [16]毋秋华,杨振棠,陈泽光(1980). 玉米花药培养单倍体育种的研究. 吉林农业科学,(4)6-14.
- [17]杨宪民,徐庆玉(1979). 我国玉米花药培养的进展. 广西农业科学,(12):36-42.





- [18]原玉香,耿建峰,张晓伟,蒋武生,韩永平,高睦枪(2001). 影响玉米花药培养效率的因素研究. 华北农学报,16(3):12-16.
- [19]郑万珍,郭丽娟,关月兰,黄娇香,安锡培,谷明光(1978). 从玉米花药培养中诱导胚状体的发生. 遗传学报,5(4):274-280.
- [20]朱海山(1996). 灭菌方法、碳源物质及浓度对玉米花药培养的影响. 云南农业大学学报,11(1):14-18.
- [21]朱海山(1996). 活性炭对玉米花药培养的影响(简报). 植物生理学通讯,32(1):16-18.
- [22]朱艳芳,薛建平,蔡士兵,王海生(2009). 超级黑糯玉米花药单倍体诱导培养基的筛选. 玉米科学,17(5):65-67.
- [23]Beth Martin,Jack M,Widholm(1996). Ploidy of small individual embryo-like structure from maize anther cultures treated with chromosome doubling agents and calli-derived from them. Plant Cell Reports,15:781-785.
- [24]Butter B,Mid J E,Tamp P(1991). Effect of L-proline and post-plating temperature treatment on maize (*Zea mays* L.) anther culture. Plant Cell Rep,10:25-328.
- [25]Coumans M P,Sohota S,Swanson E B(1989). Plant development from isolated microspores of *Zea mays* L. Plant Cell Reports,7:618-621.
- [26]Genovesi A D,Collins G B(1982). In vitro production of haploid plants of corn via anther culture. Crop Science,22:1137-1144.
- [27]Hongchang M,Liang GH,Wassom C E(1991). Effects of growth regulators and genotypes on callus and embryoid induction from maize anther culture. Plant Breed,106:47-52.
- [28]Miao S H,Kuo C S,Kwei Y L(1978). Induction of pollen plants of maize and observations on their progeny [A]. In: Proc. Symp. Plant Tissue Culture. Peking: Science Press.
- [29]Petolino J F,Jones A M(1996). Anther culture of elite genotypes of maize. Crop Science,26:1072-1074.
- [30]Pescitelli S M,Petolino J F(1988). Microspore development in cultured maize anthers. Plant Cell Reports,7:441-444.