

青稞的组织培养与植株再生

张金辉^{1,2} 唐亚伟³ 陈荣军¹ 余懋群^{1,*}

¹中国科学院成都生物研究所, 成都610041; ²中国科学院研究生院, 北京100039; ³西藏自治区农牧科学院青稞研究与发展中心, 拉萨850032

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Hordeum vulgare*

ZHANG Jin-Hui^{1,2}, TANG Ya-Wei³, CHEN Rong-Jun¹, YU Mao-Qun^{1,*}

¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041; ²Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039; ³Research and Development Center of *Hordeum vulgare*, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lasa 850032

1 植物名称 青稞(*Hordeum vulgare*), 又称裸大麦, 有些地方称为元麦、米麦。6个青稞品种均由西藏农牧科学院青稞研究与发展中心提供。

2 材料类别 无菌成熟胚。

3 培养条件 诱导愈伤组织培养基: (1)MS+2, 4-D 2.0 mg·L⁻¹(单位下同); (2)MS+2, 4-D 3.0; (3)NB+L-Pro 690.0+CH 200.0+2, 4-D 2.0。增殖培养基: (4)MS+2, 4-D 2.0; (5)NB+L-Pro 690.0+CH 200.0+2, 4-D 2.0+AgNO₃ 5.0。诱导分化培养基: (6)MS+6-BA 0.5; (7)MS+6-BA 1.0; (8)MS+CH 500.0+CM 20.0 mL·L⁻¹+Asn 80.0。生根壮苗培养基: (9)1/2MS。以上培养基添加3%蔗糖、0.6%琼脂, pH 5.8。培养温度(25±2)°C, 诱导和增殖为暗培养, 分化和生根培养光照度2500~3000 lx, 光照12~16 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌胚的获得 取成熟种子, 在超净工作台上, 先用75%乙醇浸泡5 min, 转入0.1%升汞溶液浸泡25 min, 无菌水冲洗5~6次后, 在无菌水中浸泡12~16 h。接种前再用0.1%升汞溶液消毒5 min, 无菌水冲洗4~5次。

4.2 愈伤组织的诱导 剥取种子成熟胚接种于培养基(1)~(3)上, 盾片向上。暗培养10 d后大多数胚长出白色较疏松的愈伤组织, 有的同时也长出芽。培养基(1)~(3)的愈伤组织诱导率(出芽率)分别为: 品比14, 95%(20%)、82.5%(7.5%)、90%(32.5%); 北青3号, 98.3%(35%)、90%(20%)、100%(35%); 藏青25, 100%(30%)、97.5%(25%)、90%(47.5%); 藏青320, 100%(57.5%)、100%(30%)、100%(42.5%); 冬青1号, 97.5%(17.5%)、100%(10%)、100%(30%); 冬青8号, 92.5%(15%)、100%(10%)、100%(27.5%)。可见, 培养基(2)更适合诱导青稞愈伤组织。

4.3 愈伤组织的继代增殖培养 20 d后, 将诱导得到的白色愈伤组织转移到培养基(4)和(5)上, 约

15 d后, 愈伤体积变大且较以前致密。培养基(5)上的愈伤组织稍有变黄, 培养基(4)上的愈伤组织为白色, 后者更适合继代培养青稞愈伤组织。

4.4 不定芽的诱导 将经过一次继代增殖的愈伤组织转移至培养基(6)~(8)上, 30 d后, 愈伤组织表面出现绿色突起, 再培养一段时间, 有更多的愈伤组织表面出现绿色芽点, 进一步分化成芽。50 d后进行统计, 在培养基(6)~(8)上各品种的分化率分别为: 品比14, 30%、0、60%; 北青3号, 20%、0、40%; 藏青25, 0、0、0; 藏青320, 0、0、25%; 冬青1号, 0、10%、60%; 冬青8号, 0、0、0。青稞分化速度比较慢, 且分化时间不一致, 不同品种分化率有很大差别。总体来看, 各个品种在培养基(8)上的分化率最高。

4.5 生根壮苗培养 待分化苗高达2~3 cm时, 切除苗基部的不定根后, 转移至培养基(9)中, 每个芽都能长成绿苗。20 d后开始有根产生, 生根率为100%。50 d后, 根长约2 cm, 苗高5 cm左右, 打开瓶口炼苗4~5 d, 室温放置, 然后移栽于灭菌培养土中, 苗栽后浇透水, 环境温度21~23°C, 并保持较高的空气湿度。移栽成活率100%。

5 意义与进展 青稞是大麦的一种特殊类型, 是青藏高原最重要的粮食作物(藏族人民的主食)和优质饲草, 有着不可替代的属性。青稞含有具有重要保健功能和开发价值的β-葡聚糖。目前, 青稞大多用传统方式育种, 本文探索了青稞组织培养的基本条件, 可供采用生物技术培育青稞新品种和细胞工程研究参考。有关青稞的组织培养和快速繁殖尚未见报道。

收稿 2004-05-17 修定 2004-09-08

资助 国家“863”项目(2003AA207100)、中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KSCX2-SW-304)和四川省育种攻关项目。

*通讯作者(E-mail: yumq@cib.ac.cn, Tel: 028-85229053)。