

变温对橡胶树雄蕊培养植株再生能力的影响(简报)

王泽云 吴胡蝶 陈雄庭

(中国热带农业科学院热带作物生物技术国家重点实验室, 儋州 571737)

EFFECTS OF ALTERNATED TEMPERATURES ON PLANT REGENERATION FREQUENCIES IN STAMEN CULTURE OF RUBBER TREES

Wang Zeyun Wu Hudie Chen Xiongtin

(National Key Biotechnology Laboratory for Tropical Crops, Chinese Academy of
Tropical Agriculture Sciences, Danzhou 571737)

分类号 Q945.39

温度是极为重要的培养条件^[1-4]。培养物对温度的要求受到多种因素影响, 这些因素包括外植体的基因型^[5]、供体植株的环境条件^[6]以及外植体的培养时期^[7]。我们曾报道了分阶段进行恒温培养的试验结果^[8], 揭示了在橡胶雄蕊培养过程中对温度的要求因培养阶段不同而存在差异, 各阶段采用合适的温度培养, 可以使植株诱导率提高两倍左右, 取得非常好的培养效果。本文在此基础上进一步做了昼夜变温培养的试验, 旨在提高培养效率, 加速体胚植株商品化。

1 材料与方 法

材料 取自大规模推广的橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 品种海垦 2, 在春秋两个花季采取花粉发育阶段处于单核期和少数进入双核期的雄蕊接种培养。

方法 根据预备试验, 确定参试温度。变温试验分为二种温度昼夜轮换一次和昼夜轮换各二次(计四次), 各设四个处理。控温时间: 昼夜轮换一次的上限温度都在 10:00-22:00, 下限温度都在 22:00-次日 10:00。昼夜轮换各二次的上限温度都在 6:30-11:00 和 14:30-22:00, 下限温度都在 11:00-14:30 和 22:00-次日 6:30。在确定变温试验起止时间时, 考虑了变温需要、便于手控和应用。橡胶雄蕊培养包括诱导愈伤组织、胚状体和植株三个阶段, 试验在培养时间较长的诱导胚状体阶段进行, 采用 LH200-RD 人工气候器培养, 各试验重复三次或四次。

2 结果与讨论

2.1 两种温度昼夜轮换一次的培养效果

四个处理的试验结果列于表 1。作为对照温度 24℃ 是诱导胚状体阶段恒温培养的最佳温度。结果显示: (1) 变温处理的培养效果大于对照的恒温培养, 以序号 2 的 22℃ 和 26℃ 组合为

参加工作的还有郑文茹、谢玉萍。

1997-06-19 收稿; 1997-10-15 修回

最佳, 其植株诱导率比对照提高 33.9%, 说明合适的变温培养可以有效地提高培养效率。胚状体诱导率(胚状体数/雄蕊数)的增加值(13.0%)低于植株诱导率的增加值(33.9%), 这一结果表明, 合适的变温培养, 不仅提高了胚状体数量, 而且也提高了胚状体的萌发成苗率; (2) 比较序号 2 和序号 3, 其上限温度和下限温度的平均值都是 24 ℃, 只是由于上下限温度不同, 序号 2 为 26 ℃ 和 22 ℃, 序号 3 为 28 ℃ 和 20 ℃, 致使植株诱导率从序号 2 的 53.3% 下降到序号 3 的 43.9%, 说明变温培养的上下限温度不应相差太大, 以相差 4 ℃ 左右为宜; (3) 比较序号 2 和序号 4, 植株诱导率相差 12.6%。分析其原因, 一是上下限温差不同, 序号 2 的 4 ℃ 比序号 4 的 6 ℃ 少 2 ℃。二是两者上下限温度的平均值不同, 序号 2 为 24 ℃, 与恒温培养的最佳值相同, 序号 4 为 25 ℃, 高出恒温培养最佳值 1 ℃。由此可见, 变温培养的上下限温度的平均值不应偏离恒温培养的最佳值。

表 1 两种温度昼夜轮换一次的培养效果

Table 1 Effects of two different temperatures alternated once at day and at night on embryoid and plantlet induction rates in stamen culture of rubber trees

| 实验 Expt. | 温度(℃) Temp. | 温度调节 Temp. adjustment | 雄蕊数 No. of stamens | 胚状体数/ 雄蕊数 Embryoids/ stamens (%) | 为 ck% % as ck | 植株数/ 雄蕊数 Plantlets/ stamens (%) | 为 ck% % as ck |
|-------------|----------------|-----------------------------|--------------------------|---|------------------|--|------------------|
| 1 | 24 ± 0.3 (ck) | 恒定 Constant | 100-114 | 1072.3 | 100 | 39.8 | 100 |
| 2 | 22 ⇌ 26 ± 0.4 | 每天轮换一次 Alternated once | 98-114 | 1211.7 | 113.0 | 53.3 | 133.9 |
| 3 | 20 ⇌ 28 ± 0.4 | 每天轮换一次 Alternated once | 96-115 | 1121.5 | 104.6 | 43.9 | 110.3 |
| 4 | 22 ⇌ 28 ± 0.4 | 每天轮换一次 Alternated once | 96-113 | 1115.6 | 104.0 | 40.7 | 102.3 |

重复 4 次的平均数 Data are means of four replicates.

2.2 两种温度昼夜轮换各二次的培养效果

选用两组温度试验的结果如表 2 所示。从选试温度为 22 ℃ 和 26 ℃ 的第一组试验来看, 其培养效果每天变温四次的序号 2 略优于每天变温二次的序号 1, 前者的植株诱导率比后者高出 13.5%。温度为 22 ℃ 和 28 ℃ 的第二组试验结果与第一组相似。

变温培养的上限温度 26 ℃ 和 28 ℃, 以及下限温度 20 ℃ 和 22 ℃, 都不是恒温培养的最佳温度, 但是, 将两个恒温培养并不合适的温度进行变温培养, 其效果却可超过最佳温度 24 ℃ 的恒温培养, 产生这种效果的原因还不清楚。植物因生长季节和生活环境不同, 会引起激素的变化, 特别是在逆境条件下会产生某些激素明显变化, 以适应新环境。例如, 在日照明显缩短、昼夜温差增大的季节, 一般促进脱落酸的形成和积累^[7]。我们试验所用的胚性愈伤组织来自恒温培养, 而诱导胚状体则转入昼夜变温培养, 上下限温度的交替是个骤升或骤降过程(完成交替时间不足十分钟)。看来由于这种培养条件的改变, 引起培养物一些内源激素的变化, 从而促进了胚状体的产生、发育和萌发成苗, 提高了培养效率。现已证明在橡胶雄蕊培养中添加 0.5 mg L⁻¹ 脱落酸, 可以明显提高胚状体的数量、质量和植株诱导率^[8]

表2 两种温度昼夜轮换各二次的培养效果

Table 2 Effects of two different temperatures alternated twice at day and at night on embryoid and plantlet induction rates in stamen culture of rubber trees

| 实验 Expt. | 温度(°C) Temp. | 温度调节 Temp. adjustment | 雄蕊数 No. of stamens | 胚状体数/ 雄蕊数 Embryoids/ stamens (%) | 为ck% % as ck | 植株数/ 雄蕊数 Plantlets/ stamens (%) | 为ck% % as ck |
|-------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------------|---|-----------------|--|-----------------|
| 1 | 22 = 26 ± 0.4 (ck) | 每天轮换一次 Alternated once | 98-114 | 1026.0 | 100 | 39.4 | 100 |
| 2 | 22 = 26 ± 0.3 | 每天轮换二次 Alternated twice | 96-115 | 1139.6 | 111.0 | 44.7 | 113.5 |
| 3 | 20 = 28 ± 0.4 | 每天轮换一次 Alternated once | 96-113 | 997.4 | 100 | 30.9 | 100 |
| 4 | 22 = 28 ± 0.4 | 每天轮换二次 Alternated twice | 99-113 | 1069.1 | 107.2 | 37.1 | 120.1 |

重复三次的平均数 Data are means of three replicates.

由于在橡胶雄蕊培养的温度试验设计中注意了分阶段试验和多次变温培养等方法而取得了很好的结果。1996年度在多数试验分阶段采用合适温度培养的基础上,全年70个试验处理的平均植株诱导率提高到51.3%,其中数个处理超过100%,最高处理达到146.6%。这一实验为提高某些植物特别是离体培养难度大的植物的培养效率提供了可供探索的途径。

参考文献

- 1 胡含, 王恒立主编. 植物细胞工程和育种. 北京: 北京工业大学出版社, 1990, 388-393
- 2 于世选. 温度对春麦花粉植株诱导率的影响. 黑龙江省生物技术. 1991, 1(5):36
- 3 王泽云, 陈雄庭. 橡胶雄蕊培养及体细胞植株再生中的温度效应. 作物学报, 1995, 21(6):723-726
- 4 傅杰, 吴耀武, 陈激昂等. 小表远缘杂种幼胚胚状体的发生、发育及低温对愈伤组织分化能力的影响. 实验生物学报, 1996, 29(4):313-323
- 5 Ouyang J W, Zhou S M, Jia S E. The response of anther culture to culture temperature in *Triticum aestivum*. Theor Appl Genet, 1983, 66:101-109
- 6 Ouyang J W, He D G, Feng G H et al. The response of anther culture to culture temperature varies with growth conditions of anther-donor plants. Plant Science, 1987, 49:145-148
- 7 刘敬业. 植物激素和生长调节剂. 云南农业科技, 1988, (1):39-42
- 8 吴胡蝶, 王泽云, 陈雄庭. 6-BA、ABA对橡胶花药体细胞胚形成及植株再生的影响. 热带作物研究, 1994, (3):1-4