

# 向日葵幼胚培养技术及其在育种中的应用

孙 敏 梁秀丽 李慧英 王铁瑞

(吉林省向日葵研究所,白城 137000)

**提 要** 向日葵生产中面临着严重的病虫害问题,选育抗病品种是向日葵育种工作的主要目标之一。某些向日葵野生种中含有对向日葵栽培种主要病虫害的抗性基因,目前,通过种间杂交等手段可以将向日葵野生种中的抗性基因导入栽培种中,获得抗病材料,选育出抗病新品种。但种间杂交属于远缘杂交,不易获得成功,因此将幼胚培养技术同常规育种程序相结合,借助幼胚培养技术可以克服远缘杂交中胚败育,缩短育种周期,迅速选育出抗病向日葵新品种。本文将从种间杂交设计、培养基准备、幼胚离体培养的无菌操作、幼苗移栽及后期温室管理几个方面对幼胚培养技术在向日葵育种工作中的应用作简要介绍。

**关键词** 向日葵;幼胚培养;抗病育种

向日葵是一种新兴的油料作物,进行大面积栽培的历史较短,但发展速度很快,现在已经成为世界第二大油料作物。向日葵油是一种优质食用油,其中不饱和脂肪酸含量较高,具有保健、抗衰老作用,因此深受消费者欢迎,从而促进了向日葵生产的迅速发展。

向日葵育种工作的主要目标是选育高产、含油量高、抗病性强的新品种。近年来向日葵科研和生产面临着严重的病虫害问题,由于育种工作中缺乏抗病材料,生产中缺少抗病品种,经常发生向日葵菌核病、黑斑病、褐斑病、霜霉病,黄萎病等病害,导致向日葵大幅度减产,使向日葵生产出现滑坡局面。选育抗病品种是目前育种工作中亟待解决的关键问题。

向日葵野生种是向日葵栽培种遗传变异的宝贵资源<sup>[1]</sup>,某些向日葵野生种中含有对向日葵栽培种主要病虫害的抗性基因。例如:在 *H. resinosus*, *H. tuberosus* 和 *H. nuttallii* 等野生种中含有抗菌核病基因;在 *H. argophyllus* 和 *H. petiolaris* 等野生种中含有抗霜霉病基因;在 *H. annuus* 和 *H. petiolaris* 等野生种中含有抗黄萎病基因。通过种间杂交等手段可以将向日葵野生种所携带的抗病基因导入到栽培种,获得抗病材料,选育出抗病品种。但种间杂交属于远缘杂交,不易获得成功,主要有如下几方面原因:(1)某些向日葵野生种属于四倍体或者六倍体,而向日葵栽培种是二倍体,它们的染色体数目存在差异,在同源染色体配对过程中经常出现部分染色体丢失,杂交很难完成;(2)在自然环境条件下,向日葵栽培种和野生种之间花期不遇;(3)有时花粉萌发和花粉管生长受到抑制,无法完成受精作用;(4)有时虽然完成了受精作用,但幼胚在发育过程中由于胚乳退化而导致胚败育。针对上述导致种间杂交不易成功的原因,可采取相应的技术措施:(1)将向日葵野生种和栽培种实行分期播种,调节花期,保证父、母本花期相遇;(2)应用胚拯救技术防止胚败育,保证获得一定数量的种间杂交种子。

鉴于上述原因,我们认为有必要将生物技术(幼胚培养)同常规育种程序相结合,克服远

缘杂交胚败育现象,缩短育种周期,早日选育出抗病向日葵新品种。因此,在欧共体援助的“吉林省玉米向日葵开发项目”执行期间,曾两次邀请德国植物生理学家 Dr. Kräuter 来吉林省向日葵研究所进行技术援助,培训有关科研人员,取得了圆满的结果。经过中欧双方科技人员合作,共配制 6 个种间杂交组合,利用幼胚培养技术获得大量幼苗,最后有 45 棵植株开花结实,这 45 份种间杂交后代材料已经纳入向日葵抗病育种程序。下面就从种间杂交设计、培养基准备、幼胚离体培养的无菌操作、幼苗移栽及后期温室管理几个方面对幼胚培养技术在向日葵育种工作中的应用作简要介绍。

## 1 种间杂交设计

以携带抗病基因的向日葵野生种作父本,提前种植在温室内,这些野生种包括: *H. annuus* (含抗黄萎病基因)、*H. petiolaris* (含抗霜霉病基因)、*H. argophyllus* (含抗霜霉病基因)、*H. tuberosus* (含抗菌核病基因)、*H. debilis* (含抗白粉病基因)和 *H. niveus* (含有高油基因);以稳定的向日葵栽培种胞质雄性不育系作母本,分期播种于试验田,保证与不同开花期的野生种花期相遇。在父、母本开花前选株、套袋,开花后选花期相遇较好的进行杂交。用毛刷采集向日葵野生种的花粉,给栽培种不育系授粉,挂好标签,记录杂交组合名称及授粉日期。一般每个杂交组合应多做几头,确保获得种间杂交后代,供以后取胚进行离体培养。

## 2 培养基准备

关于筛选适宜向日葵幼胚生长发育的培养基,许多研究工作者曾进行了大量探索<sup>[2,3]</sup>。一般来说,培养基中除含有向日葵幼胚生长发育过程中必需的矿质元素外(包括大量元素和微量元素),还应当包含糖类、维生素、植物激素和琼脂等,满足向日葵幼胚生长及分化的需要。在实际工作中所采用的培养基配方如表 1 所示。

表 1 向日葵幼胚培养基组成成份

萌 发 培 养 基(B <sub>5</sub> -AA)		分 化 培 养 基(MS-1)	
试剂名称	用量(mg/L)	试剂名称	用量(mg/L)
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	150.000	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	165.000
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	150.000	KNO <sub>3</sub>	190.000
KNO <sub>3</sub>	2500.000	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440.000
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	134.000	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370.000
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	250.000	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170.000
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.250	MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	16.900
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.900	ZnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	8.600
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	8.500	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.200
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	4.300	KI	0.830
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.100	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.0125	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.250
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.125	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.900
KI	0.410	Na <sub>2</sub> -EDTA	37.250
肌醇	100.000	盐酸硫胺素	0.400
盐酸硫胺素	10.000	肌醇	100.000
烟酸	1.000	蔗糖	10000.000
盐酸吡哆辛	1.000	琼脂	9000.000
蔗糖	90000.000	pH	5.4~5.6
琼脂	7000.000		
pH	5.6		

将这些试剂分成几组,先配成不同浓度母液,贮存在低温环境中。进行培养基配制时,取不同的母液按照需要量混合,再加入蔗糖、琼脂和蒸馏水,加热,搅拌均匀,最后调至所要求的 pH 值,装入培养皿或培养瓶中灭菌备用。

### 3 幼胚离体培养无菌操作

在杂交授粉后 6~8 d 向日葵幼胚发育到心胚期,是最适宜的取胚时期。将取回的葵盘先用清水冲洗,然后将结实的子粒取下来,用 30% 次氯酸钠水溶液浸泡 10 min(加入几滴表面活性剂效果更好)。以后要求在无菌条件下操作。将子粒从次氯酸钠溶液中捞出后,再用蒸馏水洗 3 次,放在培养皿内,在超净工作台内剥取幼胚。借助立体显微镜观察,用镊子将心形幼胚取出来放入盛有萌发培养基的培养皿内,每个培养皿可放入 5~6 个幼胚(如果取出的向日葵幼胚长度超过 2 mm,可直接放入盛有分化培养基的培养瓶内)。盖好后放入植物光照培养箱进行培养,在培养皿盖上写明接胚的名称及日期。向日葵幼胚培养的适宜培养条件是:温度为 25℃,光照强度为 3 000 lx 以上,光照时间保证每天 16 h。向日葵幼胚在萌发培养基上萌发后,生长较迅速,胚根伸长,子叶变绿。在幼胚萌发后 3 d 左右,长度达到 5 mm 时,应当将其转移到分化培养基中,以利其分化发育。该转移过程要求在无菌条件下操作,避免杂菌污染。在培养瓶上标明转移幼胚的名称及日期,放回植物光照培养箱继续培养。

### 4 幼苗移栽及后期温室管理

在分化培养基中培养 5~7 d 后,幼苗达到 2 cm 以上,根系比较发达,子叶变大,这时可以将其移植到盛装营养花土的塑料杯内。用镊子将幼苗从培养瓶中取出来,将沾在幼苗根上的培养基洗净,细心栽植到花土中,然后将塑料杯摆放在盛有少量水的容器内。由于塑料杯底部有孔,可以使杯内土壤保持湿润。开始移栽时要用塑料布覆盖来保持一定温度,减少幼苗叶片水分蒸发,以后适当通风炼苗。当小苗长到 10 cm 左右,具有 5~6 片叶,根系比较发达时,将其移栽到装有普通土壤的大花盆。按时浇水,定期施肥或浇肥料水;利用灯光保证每天光照时间达到 16 h,光照强度为 6 000 lx;在冬季要求温室有供热设施,保证满足植株生长发育所要求的温度。将幼苗从培养基往营养花土中移植时,要同时播种一批可育的向日葵栽培种,在温室和幼胚培养获得的幼苗一起生长。如果种间杂交后代雄性可育,将其套袋自交;如果种间杂交后代雄性不育,可用栽培种进行回交,保证获得一定数量种间杂交后代种子。

在欧共体援助的“吉林省玉米向日葵开发项目”执行期间,经过中欧双方有关专家共同努力,共配制 6 个种间杂交组合,获得 45 份种间杂交后代材料。这些材料已经在田间进行了抗病性鉴定和选择,并作为向日葵群体改良的重要种质资源纳入向日葵抗病育种程序。

### 参 考 文 献

- 1 孙 敏等,向日葵野生种在育种中的应用. 吉林农业科学, 1990, (3)
- 2 Dodds J. H. and Roberts L. W., Experiments in plant tissue culture. Cambridge University press, 1982
- 3 Kräuter R. and Friedt W., Efficient interspecific hybridization in the genus *Helianthus* via "embryo rescue" and characterization of the hybrids. Theor. Appl. Genet. 82: 521 ~ 525

## The Application of Embryo Rescue in Sunflower Breeding

SUN Min, LIANG Xiuli, LI Huiying and WANG Tierui

(Jilin Provincial Research Institute of Sunflower, Baicheng 137000)

**Abstract** Sunflower production is facing serious pest and disease problems in Jilin province. It is one of sunflower breeding objects to develop oilseed hybrids resistant to diseases. *Helianthus* genus is a source of genetic variability for cultivated sunflower. Resistant genes from wild sunflower species could be introduced into cultivars by interspecific hybridization in order to get resistant breeding material. Interspecific hybridization is difficult to realize because of different chromosome numbers or other reasons. It is necessary to combine biological technique (embryo rescue) with conventional breeding program. The embryo rescue method can prevent embryo from aborting, obtain seeds from interspecific hybridization, accelerate the breeding cycle, so that we can develop sunflower hybrids which resistant to diseases. In this thesis we introduce the embryo rescue technique and its application in sunflower breeding program. The contents include: (1) Planning of interspecific hybridization; (2) Preparation of culture medium; (3) Isolation of young embryos; (4) The small plants transfer and adaptation of greenhouse conditions.

**Key words** Sunflower, Embryo rescue, Resistant breeding

---

### 《上海农业专家名人录》

这是上海第一部大型农业专家人才信息库,共收入上海市农科院、上海农学院、上海市农业局、上海市农场局、市郊各区县及中科院设在上海的各研究所从事农业研究的 2300 多位高级农业专家、教授。除详细介绍了这些农业专家、教授的工作单位、通讯地址外,重点介绍他们从事的研究项目,所获得的科研成果,出版的专业著作与发表的学术论文,以及他们能进行科技咨询的农业科学技术与科技成果扶贫项目等方面内容。该书大 32 开本,50 多万字,精装每本 25 元(加 15% 挂号邮寄费)。

书款请邮寄至:上海市北翟路 2901 号,《上海农业专家名人录》编辑部 胡德仁 赵定国先生收。邮政编码:201106。