

粳稻花粉植株诱导的研究

许世襄

(黑龙江省农业科学院合江水稻所)

近几年来,我国花药培养技术的不断创新,很多单位在实践中都积累了丰富的经验并取得了丰硕成果。关于水稻花粉植株的诱导条件及影响诱导频率的某些因素的研究和马铃薯简化培养基研制对提高粳稻花粉植株的诱导做出了贡献。为了总结经验,以利提高,本文就粳稻花粉愈伤组织及花粉植株诱导的条件等问题,提出几点看法。

一、愈伤组织的诱导

多年来实践证明,愈伤组织出现频率因

接种材料,花粉的发育时期以及适宜培养条件和培养方法的不同而有很大差异。

1. 材料的差异性

许多单位试验结果表明,不同接种材料的愈伤组织诱导频率差异是极其显著的(见表1)。

早粳花粉愈伤组织诱导频率的变幅是0~30%以上。我们认为这可能与接种材料遗传型不同,其花粉转向孢子体发育要求的适宜条件也不同所致。但究竟是什么原因目前还不明确,有待进一步研究探讨。

表1 不同杂交组合材料愈伤组织诱导能力

培养基1(毫克/升)	材 料	接 种 花 药 数	愈 伤 组 织 数	诱 导 频 率 (%)
2.4-D ₂	合交 7001-2-2 × 延粳 6 号	2190	234	10.7
	合交 7001-2-2 × 延粳 7 号	1895	305	16.1
2.4-D ₂ + YE1000	合交 6901-1 × 合交 6231	680	25	3.7
	合交 6231 × 北斗	380	23	6.1
	东农四号 × 北斗	500	41	8.2
	合交 6901-1 × 合交 6231	1460	31	2.1
	富光 × 北斗	1720	53	3.4
	合交 6231 × 北斗	1760	59	3.4
	农东四号 × 北斗	420	28	6.7

(1) 培养基均为密勒培养基。

(2) 材料均为杂种一代。

2. 花粉的发育时期与接种取材

准确地掌握花粉发育时期是提高愈伤组织诱导频率的关键环节,多年来试验结果表明,处于单核晚期即单核靠边期的花粉具有

最大的形成愈伤组织的能力(见表2)。单核初期和双核期花粉愈伤组织诱导频率显著降低。因此正确地判断花粉发育时期是提高愈伤组织诱导频率的重要前提。准确判断必须是对每个花药进行镜检,但在实践中是行不通的,所以必须采用外推法进行判断。我

表 2 花粉发育时期与愈伤组织形成关系

花粉发育时期	接种花药数	愈伤组织数	愈伤组织诱导率(%)
四分体期	360	0	0
单核初期	340	10	3.0
单核晚期	320	29	9.1
成熟花粉	200	1	0.5

培养基为密勒培养基, 2,4-D 3 毫克/升, 材料为农林 17×京引 114。

们从 1973~1974 年试验, 通过对不同发育阶段的花粉镜检, 初步摸索出从器官形态指标判断花粉发育时期的方法。它主要根据叶枕距离决定从田间采什么样的稻穗; 根据颖壳的颜色和大小以及雄蕊的伸长程度判断那些花药可以进行接种。其主要指标如下:

(1) 叶枕距离: 一般 5~7 厘米为宜, 但不同品种有差异。

(2) 颖壳的颜色和大小: 颖壳发白而幼嫩比正常颖壳小, 说明花粉发育时期处于单核期以前; 颖壳颜色发绿而硬并接近正常颖壳大小, 花粉发育时期处于单核期以后; 颖壳的颜色和大小及老嫩程度介于二者之间,

表 4 2,4-D 与 NAA 对水稻愈伤组织分化的影响

去分化培养基 1) (毫克/升)	愈伤组织分化 2)					总分化频率 (%)
	愈伤组织块数	绿 芽		白 芽		
		块 数	%	块 数	%	
2,4-D ₂	11	2	18.2	8	72.7	90.9
NAA ₁	15	2	13.3	7	46.7	60.0

1) 去分化培养基为密勒培养基。

2) 分化培养基为密勒培养基, 激动素 2 毫克/升, IAA 2 毫克/升。

由 2,4-D 诱导出的愈伤组织分化率为 90.9%, 其中绿苗率为 18.2%, 高于由 NAA 诱导出的愈伤组织分化率 30% 以上。关于 2,4-D 适宜浓度, 根据多数单位试验结果以 2PPm 为好。至于有些单位应用浓度较高, 可能是由于 2,4-D 纯度差质量低所造成的。

花粉发育处于单核期。

(3) 雄蕊伸长程度: 花丝加花药长度小于颖壳的二分之一而大于颖壳的三分之一时, 花粉发育处于单核期。

3. 生长素 2,4-D 和 NAA

大量试验证明: 生长素是水稻花药离体培养诱导花粉去分化形成愈伤组织主要因素之一。生长素对早粳花粉愈伤组织诱导频率的效应, 一般 NAA 高于 2,4-D (见表 3)。

表 3 2,4-D 和 NAA 对水稻愈伤组织诱导频率的影响

材 料	2,4-D 2 毫克/升		NAA 1 毫克/升	
	花药数	%	花药数	%
北斗×合江十七号	700	1.4	1240	2.3
合交 6901-1×益锦	1320	4.4	720	7.5
富光×东农 4 号	320	1.9	160	3.1
合交 6231×兴斗	2380	3.3	680	1.9
牡交 6816-11-7×北斗	480	0.2	100	2.0

培养基为密勒培养基。

这与北京遗传所试验结果是一致的。但多数单位试验又表明, NAA 对分化后的作用不如 2,4-D 好 (见表 4)。

试验结果表明, 2,4-D 的纯度和质量与愈伤组织诱导率关系很大 (见表 5)。

我们曾于 1974 年在去分化培养基中除加入 2,4-D、NAA 之外, 再加入激动素和 IAA。加入激动素的对诱导水稻愈伤组织的效果一般都高于未加的 (见表 6)。

表 5

不同纯度 2.4-D 对愈伤组织诱导频率的影响

2.4-D 种 类	花 药 数	愈 伤 组 织 块 数	愈 伤 组 织 诱 导 频 率 (%)
农用液体 2.4-D	580	1	0.17
农用片剂 2.4-D	293	1	0.34
精品粉剂 2.4-D	4565	193	4.23

表 6

激动素对水稻愈伤组织诱导频率的影响

材 料	培 养 基 1 (毫 克 / 升)	花 药 数	愈 伤 组 织 数	愈 伤 组 织 诱 导 率 (%)
合交 6901-1 × 甬 锦	2.4-D ₂	1260	60	4.8
	2.4-D ₂ + 激动素 1 + IAA 0.5	860	77	9.0
	NAA 1	700	55	7.9
	NAA 1 + 激动素 1 + IAA 0.5	1140	103	9.0
合 交 6231 × 北 斗	NAA 1	680	13	1.9
	NAA 1 + 激动素 1 + IAA 0.5	160	1	6.3
	2.4-D ₂	2360	89	3.8
	2.4-D ₂ + 激动素 1 + IAA 0.5	440	13	3.0

1 培养基为密勒培养基

4. 有机附加物

试验结果表明, 去分化培养基中加入酵

母提取液 (YE), 对愈伤组织诱导有较明显的作用 (见表 7)。

表 7

酵母提取液对愈伤组织诱导频率的影响

单位: 毫克/升

材 料	NAA 1		NAA 1 + YE 1000		2.4-D ₂		2.4-D ₂ + YE 1000	
	花 药 数	%	花 药 数	%	花 药 数	%	花 药 数	%
合交 6901-1 × 甬 锦	720	7.5	720	6.5	1260	4.8	880	17.6
合交 6231 × 北 斗	680	1.9	1760	3.4	2380	3.3	380	6.1
东农四号 × 北 斗	1340	1.6	420	6.7				

培养基为密勒培养基。

从表 7 中可以看出合交 6901-1 × 甬 锦在 2.4-D₂PPm 时再加入酵母提取液 1000 PPm, 愈伤组织诱导频率由单加 2.4-D 的 4.8% 提高到 17.6%。NAA 1PPm 再添加酵母提取液 1000PPm 也同样有较明显效果。多数单位试验结果认为酵母提取液适宜用量以 1000 PPm 较为合适。

5. 花药液体漂浮培养

水稻花药液体漂浮培养, 可使花粉粒自动散落在培养液中, 可以提高水稻愈伤组织

诱导频率。试验结果表明“液培”明显高于“固培”, 其中合江 20 号 × 红旗一号组合“液培”愈伤组织诱导频率为 29.5%, 而“固培”却只有 2.0%, 二者相差极为悬殊 (见表 8)。

两种培养方法诱导出的愈伤组织分化效果有些不同, 合交 7202 × 夕波组合材料“固培”绿苗分化频率为 11.1%, “液培”1.4%, “固培”高于“液培”, 总分化频率也是“固培”高于“液培” (见表 9)。

从两种方法分化出的绿苗强壮程度看,

表 8

水稻花药漂浮培养对愈伤组织诱导的影响

材 料	液 体 漂 浮 培 养			固 体 培 养		
	花 药 数	愈 伤 组 织 数	%	花 药 数	愈 伤 组 织 数	%
合交7115-1×合交7220-2-5-1	1949	518	26.6	406	3	0.7
合江20号×红旗一号	972	287	29.5	404	8	2.0
合交7202×夕波	1742	138	7.9	326	9	2.8

表 9

液体固体培养基形成的愈伤组织分化情况

材 料	液 体 漂 浮 培 养						固 体 培 养					
	愈 伤 组 织 块 数	绿 苗 数	%	白 苗 数	根 数	总 分 化 率	愈 伤 组 织 块 数	绿 苗 数	%	白 苗 数	根 数	总 分 化 率
合交7115-1×合交7220-2-2-1	374	1	0.3	7	1	2.4	3	0		0	0	
合江20号×红旗一号	89			2		2.2	8	2	25.0	1	0	37.5
合交7202×夕波	138	2	1.4	2		2.9	9	1	11.1	1	0	22.2

“液培”诱导出的绿苗生长速度缓慢,不健壮,甚至有的绿芽渐渐由绿变黄,逐渐死去。

6. 花药低温予处理

花药低温予处理是提高水稻愈伤组织诱导率的有效方法。试验结果表明6~8℃低温予处理能明显提高水稻花粉愈伤组织的诱导率和绿苗分化频率。其效果因试验材料、处理

时间不同而异,处理时间以12天为适宜。如合单26—085×银梗2号低温予处理12天的愈伤组织诱导频率为75.4%,绿苗分化频率为21.8%,较对照愈伤组织诱导频率10.4%,绿苗分化率为2.5%,分别提高6.2倍和7.7倍(见表10)。

表 10

低温予处理时间对愈伤组织诱导分化的影响

处理 (日)	组 合	接 种 花 药 数	转 移 块 数 (个)	诱 导 频 率 (%)	绿 苗 数 (个)	绿 苗 分 化 率 (%)
0 (OK)	合交7901×合江14号	1040	17	1.6	1	5.8
	合单76—085×银梗2号	1520	158	10.4	4	2.5
	合交7129—2—1—5×秋光	1760	240	13.6	6	2.5
1	合交7901×合江14号	1040	241	13.6	5	3.5
	合单76—085×银梗2号	720	37	5.1	2	5.4
	合交7129—2—1—5×秋光	1320	70	5.3	1	1.4
4	合交7901×合江14号	1120	82	7.3	8	9.8
	合单76—085×银梗2号	1120	158	14.1	4	2.5
	合交7129—2—1—5×秋光	1280	130	10.2	1	0.8
6	合交7901×合江14号	360	25	7.0	3	12
	合单76—085×银梗2号	1200	266	22.2	19	5.7
	合交7129—2—1—5×秋光	800	100	12.5	4	4.0
9	合交7901×合江14号	920	248	27.0	59	23.3
	合单76—085×银梗2号	1200	230	19.2	10	4.3
	合交7129—2—1—5×秋光	720	131	18.2	7	5.3

续表

12	合交 7901 × 合江 14 号	1000	345	34.5	71	20.6
	合单 76—085 × 银梗 2 号	960	724	75.4	158	21.8
	合交 7129—2—1—5 × 秋光	1000	196	19.6	8	4.1
18	合交 7901 × 合江 14 号	960	256	26.7	23	9.0
	合单 76—085 × 银梗 2 号	1080	376	34.8	12	3.2
	合交 7129—2—1—5 × 秋光	920	325	35.2	4	1.2
25	合交 7901 × 合江 14 号	1240	521	42.0	10	1.9
	合单 76—085 × 银梗 2 号	1680	471	28.0	2	0.4
	合交 7129—2—1—5 × 秋光	2200	650	29.5	2	0.3

二、花粉植株的诱导

愈伤组织分化与愈伤组织转移时期、大小、花药材料来源、愈伤组织本身质量、去分化培养基成份等均有密切关系。要想获得更多的花粉绿苗，首先要提高花粉愈伤组织诱导频率，其次要创造出适宜愈伤组织分化

的条件。

1. 愈伤组织的转移时期和大小

据我们观察，水稻花药接种后 19 天开始产生愈伤组织，大量出现是在培养后 30~35 天，并一直延续到 75 天。不同时期形成的愈伤组织分化能力是不同的（见表 11）。

表 11 经不同天数形成的愈伤组织分化能力

天 数	愈 伤 组 织 数	白 苗		根		绿 苗		总分化频 率 (%)
		块 数	%	块 数	%	块 数	%	
40~50	26	8	11.5	8	11.5	11	42.3	65.4
50~70	54	4	7.4	7	12.9	10	18.6	39.0
70~100	126	1	0.8	5	4.0	4	3.2	7.9
100~120	37	0	0	2	5.4	0	0	5.4
120~254	18	0	0	0	0	0	0	0

70 天以后为继代繁殖，供试材料农林 101 × 牡丹江一号。

早、晚形成的愈伤组织分化率都较差，在 30~60 天内形成的愈伤组织分化率较高。

从愈伤组织年龄看，我们这几年都以出现愈伤组织后 10 天左右转移分化效果较好，这与北京植物所报导是一致的。愈伤组织大小与分化关系也较为密切。愈伤组织过小分化频率低，其原因可能是因为体积过小接种时易受机械损伤所致，愈伤组织过大，分化频率也低。牡丹江所试验认为花药接种后 80~100 天转移，愈伤组织似黄豆粒大小，幼苗分化频率低，但形成绿苗全部是自然加倍植株，花药接种后 70~80 天转移，愈伤组织

小豆大小，此期转移的 672 株绿苗自然加倍占 99.1%，单倍体植株占 0.9%，花药接种 70 天内转移，愈伤组织小米粒大小，幼苗分化率高，但绿苗植株绝大部份为单倍体。根据兄弟单位经验加上我们多年试验认为，愈伤组织 2 毫米左右转移较为合适，太大愈伤组织特化细胞数量增加，而分生细胞相对减少，致使分化频率降低。

2. 愈伤组织的营养基础对分化的影响

几年来实践证明，去分化培养基成份对愈伤组织分化有明显的后作用（见表 12）。

从表 7、表 12 中看出，2.4 — D 加酵母提

表 12

不同去分化培养基形成的愈伤组织分化情况

去分化培养基(毫克/升)	愈伤组织块数	绿 芽		白 芽		总分化频率(%)
		丛 数	%	丛 数	%	
2.4-D ₂	11	2	18.2	8	72.7	90.9
2.4-D ₂ + YE1000	17	4	23.5	8	47.1	70.6
NAA1	15	2	13.3	7	46.7	60.0
NAA1 + YE1000	56	6	10.7	10	17.9	28.6
LH250 + YE1000	24	0	0	5	20.8	20.8

去分化培养基为密勒培养基。

取液不仅能提高花粉愈伤组织诱导频率，而且还能持续地影响愈伤组织分化作用。NAA加酵母提取液绿苗分化频率低于未加酵母提取液的分化频率。

3 激动素和 IAA 对分化的影响

激动素、IAA 是愈伤组织分化的重要因素之一。很多单位对激动素与 IAA 适宜比例做了大量工作。我们在 1973~1974 两年对二者比例问题也做些探讨(见表 13)。

由表 13 看出，IAA 与激动素比例以

表 13

激动素和 IAA 椰乳对愈伤组织分化的影响

单位: 毫克/升

材 料	去分化培养基中添加物				愈伤组织块数	根		芽		白 苗		绿 苗		总分化频率(%)
	IAA	激动素	YE	椰乳		块数	%	块数	%	块数	%	块数	%	
合交6901-1 × 蓝锦	2	2			37	—	—		7	18.9	8	8.1	27.0	
	2	2	500		46				12	26.1	8	6.5	32.6	
	0.5	2	500		25	—	—		3	12.0	8	12.0	24.0	
	0.5	1	500		21				6	28.6	1	4.8	33.3	

0.5:2绿苗分化频率最高。

盘锦农科所试验认为，在分化培养基中激动素与椰乳配合使用比单用激动素效果好。

三、马铃薯简化培养基

水稻花培育种是当前重要育种手段之一，并广泛地应用。为适应水稻单倍体育种工

作普遍开展的形势，我所与中国科学院遗传研究所协作(1975~1976年)，对常用合成培养基的成份配制程序进行研究。试验结果表明，马铃薯提取液完全可以取代合成培养基中的基本成份，马铃薯简化培养基完全可以代替密勒、MS、怀特三个培养基，而且效果很好(见表14、15)。

马铃薯培养基不仅成份简单，取材容

表 14

不同浓度马铃薯培养基的愈伤组织诱导频率

材 料	密勒培养基	10%马铃薯提取液	20%马铃薯提取液	30%马铃薯提取液	50%马铃薯提取液	70%马铃薯提取液	100%马铃薯提取液
合交7001-2-2× 延稔6号	5.3	2.2	7.4	9.3	8.2	—	—
合交7001-2-2× 吉71-2	7.6	3.2	4.9	3.8	8.6	—	—
53326×(朝日× 阿新)F ₁	16.3	—	20.8	26.0	19.5	16.6	10.4
金秋×73-113	12.7	—	12.1	12.7	11.6	10.8	11.3
74-320×喜峰	22.6	—	12.1	15.0	14.6	11.8	8.2

前两个材料的供试马铃薯是新收获未发芽的，而后三个是贮藏发芽的。

表 15

马铃薯简化培养基与合成培养基的绿苗总诱导率比较

材 料 3)	培 养 基	合成培养基 1) (%)	马铃薯简化培养基 2)	试 验 年 份
合交7001—2—2× 延梗 6号		0.8	4.8	75—佳
合交7001—2—2× 吉71—1		1.0	3.8	75—佳
合交752× 普选 10号		0	2.9	76—佳
合交 752× 合江 18号		0.5	3.7	76—佳
合交 752× 北斗		0.8	2.3	76—佳
75—3226× (朝日× 阿新) F ₁		6.2	8.9	76—海
金秋× 75—113		2.2	1.3	76—海
74—320× 喜峰		6.0	14.2	76—海

1) 去分化培养基为密勒培养基; 分化培养基为 MS。

2) 去分化培养基为 30% 马铃薯提取液; 分化培养基为 30% 贮藏未发芽马铃薯提取液。

3) 材料均为 F₁。

易, 而且配制方法简便, 是有利于群众掌握的一种新型培养基。国内外学者对这种培养基给予很高评价。

参 考 文 献

王敬驹、孙敬三、朱至清: 1974, 水稻花粉植株的诱导条件及影响诱导频率的某些因素。植物学报, 1974(1): 43~51。

中国科学院遗传研究所三室二组: 1976 水稻花粉植株遗传学研究。遗传学报, 1974(4): 278~285。

中国科学院遗传研究所、黑龙江省合江地区水稻研究所单倍体育种组: 1977 梗稻花药培养马铃薯简化培养基的研究。遗传学报, 1974(4): 302~309。

中国科学院遗传研究所 302 组、黑龙江省合江地区水稻研究所: 1976, 水稻培养基全过程简化基本成功。遗传与育种, 1976(5): 11~12。

大 力 发 展 水 陆 稻

陈 树 青

(省种子公司)

我省种植水陆稻早于水稻。据记载在松哈、肇源一带种植水陆稻已有百年以上的历史。水陆稻在生物学特性以及外部、内部形态构造方面都与水稻相似, 可以说它是耐旱性较强的水稻。水陆稻也有适于沼泽地生长的裂生通气组织, 由根部直通茎叶与气孔连接, 吸收空气中氧气以补充水中氧气的不足。水

陆稻与水稻相比, 它较抗旱, 不需建立水层就能正常生长发育。水陆稻米质与水稻近似, 尤为现在由农家旱稻与水稻杂交后代经选育而成的生产栽培品种, 米质和味道均好于籼稻, 与粳稻相近。

我省地形多样, 各地都有沼泽二洼地块。全省总耕地面积约 26.2% 属于二洼地类型,