

提高水稻幼穗愈伤组织 再生植株能力的研究

陈 力 陈香兰 王春燕 吕晓波

(黑龙江省农科院寒地水稻研究中心)

摘要 诱导水稻幼穗愈伤组织的去分化培养基,在含有 2·4-D 情况下加入一定量的 KT,对再生植株有较好的作用。本试验得出:以去分化培养基中 2·4-D4 毫克/升+KT10 毫克/升的分化率比对照提高 2 倍。

低温处理不同品种的愈伤组织,经继代培养 30 天后于 5~6°C 条件下处理 10 天后转入分化培养基中。两个品种的分化率趋势一致,分别比对照提高 3~4 倍。

愈伤组织经继代培养 120 天后仍有再生植株能力。

自从 Stewara(1958)证明,从离体培养的细胞能使再生植株之后,引起了国内外科学工作者的关注,特别是由于离体培养中细胞可产生遗传性变异而应用于育种实践。因此,许多科学工作者对各种作物中的体细胞无性系变异做了深入的探讨和研究^[1,2,3,5]。使体细胞无性系变异做为作物改良基因型的新技术立足于世。但如何提高体细胞愈伤组织的分化能力,以便获得更多的再生植株扩大选择效率,供育种学家从大量的变异中,有目的选择是迫切需要解决的关键问题之一。

本文主要报道进一步提高再生植株能力的试验结果。

材料和方法

1. 材料:粳稻(*Oryza Sativa* Var japonica)品种牡丹江 17 号和秋光。

2. 处理方法:幼穗分化至第 4、5 期(长

0.5~1.0 厘米)连同叶鞘同时剪下,放入 95%酒精中消毒 1 分钟,用饱和的漂白粉上清液浸泡 15~20 分钟,再用 0.1%的升汞液灭菌 15 分钟,然后用无菌水冲洗 3~4 次。在无菌条件下剥去叶鞘,剪取 2~3 毫米的幼穗为外殖体进行接种。

3. 基本培养基:去分化固体培养基为 $N_6+2\cdot4-D2$ 毫克/升(继代培养基同)。

分化固体培养基为 $N_6+KT0.5$ 毫克/升+NAA0.4 毫克/升+IAA0.5 毫克/升。

4. 试验处理:① 2·4-D4 毫克/升+KT10 毫克/升;② 2·4-D4 毫克/升;③ 2·4-D8 毫克/升+KT8 毫克/升;④ 2·4-D8 毫克/升;⑤ 2·4-D10 毫克/升+KT5 毫克/升;⑥ 2·4-D10 毫克/升;⑦ 对照 2·4-D2 毫克/升;⑧ 将愈伤组织于 5~6°C 下,处理 10 天;⑨ 幼穗于 5~6°C 下,予处理 5 天;⑩ 愈伤组织继代 1 次后于 5~6°C 下,处理 10 天;⑪ 愈伤组织继代后 2 次后于 5~6°C 下,处理 10 天;⑫ 对照为愈伤组织继代 1 次,(未

经低温处理)。1~12 各处理品种为牡丹江 17 号。⑬愈伤组织继代 1 次后于 5~6℃ 下,处理 10 天;⑭愈伤组织继代 2 次后于 5~6℃ 下,处理 10 天;⑮对照为愈伤组织继代 1 次(未经低温处理);⑯愈伤组织继代培养 1~5 次(1 次继代培养时间为 30 天)。

5. 培养条件:暗培养温度为 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ 光照培养温度为 $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 每天光照 12 小时, 40W 日光灯距培养物 40 厘米。

试验结果

1. 2·4-D 与 KT 的不同浓度对比对再生植株的影响

如图 1 可知:在去分化培养基中单独使用生长素 2·4-D,对梗稻牡丹江 17 号幼穗离体培养的分化率,以 2·4-D4 毫克/升的含量为最高。而后随着 2·4-D 浓度的增加分化率呈递减。但从表 1 看出:在去分化培养

表 1 2·4-D 与 KT 不同浓度

对比对再生植株能力的影响

不同处理 毫克/升	接愈伤组 织数	绿苗数	分化率
2·4-D2	67	17	24.64
2·4-D4	42	12	28.50
2·4-D+KT10	24	11	45.80
2·4-D8	57	8	14.00
2·4-D+KT8	27	9	33.30
2·4-D10	72	5	6.90
2·4-D+KT5	27	0	0

基中以生长素加激动素配比使用较单纯用生长素对分化率有明显提高的作用。本试验的适宜浓度为 2·4-D4 毫克/升+KT10 毫克/升,分化率达到 45.8%,比对照 2·4-D26 毫克/升的分化率提高 85.87%。比单独用 2·4-D4 毫克/升分化率仍高 60.7%。另

一处理 2·4-D8 毫克/升+KT8 毫克/升的分化率为 33.3%,而单独用 2·4-D8 毫克/升的分化率仅为 14%,前者处理比后者高 137%。

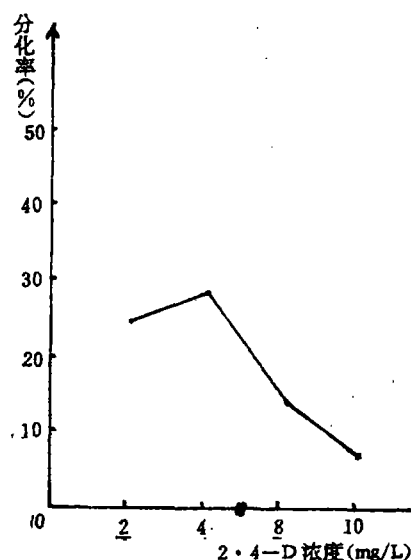


图 1 不同浓度 2·4-D 含量
对分化率的影响

2. 低温处理不同品种继代培养的愈伤组织对再生植株的作用

低温处理梗稻牡丹江 17 号幼穗诱导的愈伤组织试验如表 2,将诱导的愈伤组织经继代培养 1 次,放在低温 5~6℃ 条件下,处理 10 天,分化率达到 79.01%,对照的分化率仅为 24.64%,较对照提高 120.66%,同时也高于其它几个处理。从另一个梗稻秋光幼穗诱导的愈伤组织的分化率在该试验中也得到于上述试验相同的结果。秋光品种诱导的愈伤组织经继代培养 1 次,放在 5~6℃ 情况下,处理 10 天,其分化率为 113.33%,而对照仅为 29.41%,较对照提高 285.34%。从图上看:幼穗的愈伤组织的分化率随着继代培养次数的增加而降低,但继代培养 120 天仍有再生植株的能力。

表 2

低温处理不同品种愈伤组织对再生植株的影响

处 理	接愈伤组织数	再生植株数	绿苗数	白苗数	分化率%
牡 丹 江 17					
8)将 C 5~6°C 处理 10 天	57	10	10		17.54
9)幼穗 5~6°C 处理 5 天	57	17	17		29.82
10)C 继 1 次 5~6°C 处理 10 天	81	64	61	3	79.01
11)C 继 2 次 5~6°C 处理 10 天	72	18	18		25.00
12)CK C 继 1 次转化培养基	69	17	16	1	24.64
秋 光					
13)C 继 1 次 5~6°C 处理 10 天	45	51	47	4	113.33
14)C 继 2 次 5~6°C 处理 10 天	45	2	1	1	4.44
15)CK C 继 1 次转化培养基	51	15	10	5	29.41

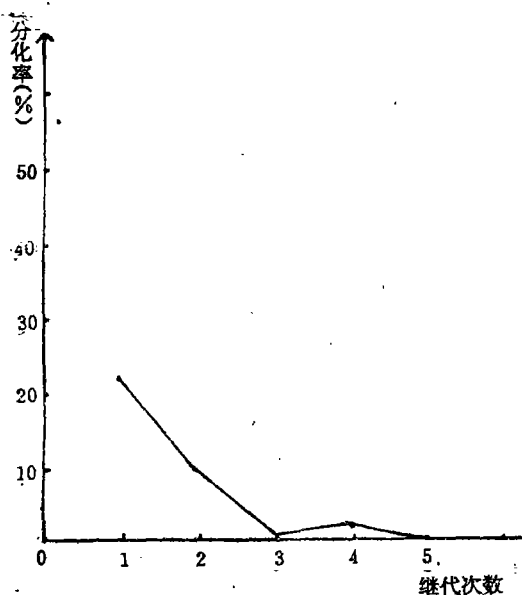


图 2 不同继代时间对分化率的影响

讨 论

本试验结果表明:在诱导幼穗愈伤组织的去分化培养基中,在含有 2·4-D 状况下,加入一定量的 KT 对幼穗的愈伤组织再生植株有明显提高作用。因而提高愈伤组织

的分化率不仅再分化培养基的成份需要进行深入的研究^[4,6]。本文还认为去分化培养基的成份对愈伤组织的再分化潜力影响很大。

低温处理愈伤幼穗诱导的愈伤组织,经继代培养 1 次对再分化有极为显著的提高作用。而愈伤组织经继代培养 2 次和幼穗的低温予处理以及未经继代培养的愈伤组织的低温处理的再生植株的能力都有明显的降低。因而除研究低温处理的时间和温度外也应进一步探讨低温对愈伤组织继代培养的时间对再生植株的影响。

参 考 文 献

- [1][会英]Za · pataFJ...paper presented at the IRRC 1987,921~25
- [2][会英]paper presented at the IRRC 1987,921
- [3]水稻幼胚愈伤组织植株再生能力变异性,日本作物学会记事,1986,55
- [4]赵成章等:提高水稻成熟种胚体细胞培养力的研究,中国水稻科学,1987,3,171~176
- [5]G. S. 库希博士:水稻育种学术讲座,中国水稻所,1984
- [6]王春燕等:低温处理对水稻幼穗愈伤组织再生植株的影响,植物生理学通讯,1989,5