

# 不同培养基对水稻悬浮细胞生长速率的影响<sup>\*</sup>

贝丽霞

(黑龙江八一农垦大学植物科技学院)

**摘要** 本文指出不同培养基是影响水稻悬浮细胞生长速度的因素之一,研究了 5 种基本培养基对水稻悬浮细胞生长速度的影响,并筛选出 N<sub>6</sub> MS 为水稻悬浮细胞生长的最适基本培养基。

**关键词** 水稻 基本培养基 悬浮细胞 生长速度

**中图分类号** S511.1035.3

随着生物技术的迅速发展,植物原生质体培养可应用于外源基因转移、体细胞杂交、无性系变异及突变体筛选等研究,因而受到了人们越来越多的重视。而原生质体获得的主要途径是经过愈伤组织的悬浮振荡培养,游离出单细胞,再用酶法游离原生质体。在这一过程中,所获得的单细胞必须的是具有较强的生活力和分化能力的胚性细胞。悬浮细胞生长速度是测定细胞活力大小的重要指标,基本培养基又是影响悬浮细胞生长速率的因素之一,因此,研究不同培养基对水稻悬浮细胞生长的影响,快速建立悬浮细胞系,对生产实践具有十分重要的作用。

## 1 材料与方

1.1 试验材料 供试水稻品种为粳稻垦系 104,由友谊农场种子公司提供。

1.2 试验方法 愈伤组织的诱导和继代培养:用成熟的种子胚作为外植体诱导愈伤组织。取供试水稻品种 40 粒,人工去掉种皮,切胚。用无菌水浸泡 10 分钟,再用 70% 酒精表面消毒 30 秒,再转入 0.2% 升汞溶液中浸泡 5 分钟,最后用无菌水冲洗 3 次。消毒后的种胚按每瓶 4 粒接种于 N<sub>6</sub> 固体培养基表面 28℃ 下暗培养。30 天左右将新形成的愈伤组织从母体上切下,转入继代培养基继代培养。继代时间 20~30 天。诱导培养基和继代培养基均为 N<sub>6</sub>+ 2,4- D5mg/L+ 蔗糖 30g/L+ 琼脂粉 8g/L, pH5.8。建立悬浮细胞系:从继代培养的愈伤组织中,挑选生长旺盛、色泽淡黄又呈现颗粒状的若干瓶愈伤组织,合并和混合于无菌培养皿内,均匀地分成若干小堆,接种于盛有 50mL N<sub>6</sub> 培养液的培养瓶中置于摇床上进行悬浮培养。摇床振荡速度为 110r/min,温度 27±1℃,余下的愈伤组织小堆分别放在 60±1℃ 的恒温箱中烘干,用分析天平称重,其平均值为接种干重。培养液为:基本培养基+ 2,4- D5mg/L+ KT 1mg/L+ 蔗糖 30g/L, pH 为 5.8。悬浮细胞生长速度的测定:悬浮细胞培养物培养一段时间后收获 (500rpm 离心 10 分钟),60±1℃ 恒温箱中烘干,分析天平称重,各处理平均值为收获干重。

绝对生长速度  $R = (W_2 - W_1) / T / L$

相对生长速度  $R = T^{-1} \ln (W_2 / W_1)$

其中:  $W_2$ —收获干重,  $W_1$ —接种干重,  $T$ —培养时间

2 结果与讨论

本试验共比较了 N<sub>6</sub> L<sub>s</sub> M<sub>s</sub> B<sub>s</sub> White 五种基本培养基对水稻悬浮细胞生长速度的影响,各种基本培养基分别附加 2,4- D( 5mg /L), KT( 1mg /L),蔗糖 30g /L,振荡 10天后收获,经统计培养物干重增加,计算绝对生长速度和相对生长速度,结果列于下表

表 基本培养基对水稻细胞干重增加和生长速率的影响

基本培养基	接种干重 ( mg)	收获干重 ( mg)	干重增加 ( mg)	生长速度		显著性检验
				绝对生长速度	相对生长速度	
				( mgdrywt. /day /L)	( Day <sup>-1</sup> )	
N <sub>6</sub>	146. 56	246. 56	280. 00	560. 00	0. 107	a A
M <sub>s</sub>	138. 60	410. 47	271. 87	543. 74	0. 109	a A
B <sub>s</sub>	148. 88	370. 80	221. 92	443. 83	0. 091	b B
L <sub>s</sub>	153. 57	231. 53	77. 96	155. 91	0. 041	c C
White	144. 68	214. 80	70. 12	140. 31	0. 040	c C

注: t- 检验针对绝对生长速度进行。

t检验结果表明,水稻悬浮细胞在 N<sub>6</sub> M<sub>s</sub>两种基本培养基上均能以较快速率生长,绝对生长速率分别为 560. 006和 543. 74mg dry wt/day /L,二者差异不显著,在 B<sub>s</sub> 中生长较好,而在 L<sub>s</sub>和 white 中生长缓慢,干重增加和绝对生长速率都很低。N<sub>6</sub> M<sub>s</sub>是高盐培养基,各种无机盐含量都很高,适合水稻细胞生长,而 L<sub>s</sub>和 white 培养基是低盐培养基,各种无盐含量都很低,不适合水稻细胞生长

本试验以垦系 104为例筛选出适合水稻悬浮细胞大量生长的基本培养基为 N<sub>6</sub> M<sub>s</sub>培养基,其细胞干重和生长速率均高于其它三种培养基 ( B<sub>s</sub> L<sub>s</sub> White)。

由于不同基因型对培养基和所需培养条件有显著差异,因此,在实际操作中,对于不同品种还需进一步实验,以寻求最佳培养基和最佳处理条件。

参 考 文 献

1 向太和等.水稻、玉米胚性悬浮细胞系的有效建立.安徽农业科学,1996,24(1): 1~ 38  
2 田文忠.提高籼稻愈伤组织再生频率的研究.遗传学报,1994,21(3): 215~ 221  
3 吴家道等.水稻原生质体高效培养技术的研究.安徽农业科学,1994,22(4): 305~ 309  
4 路铁刚等.细胞悬浮培养.北京:科学出版社,1995,36~ 48

The Eeffets of Basic Media on the Rate of  
Suspension Cell Growth in Rice

Bei Lixia

( Heilongjiang August First Land Reclamation Vniversity Misan)

**Abstract** The paper pointed out that basic medium is one of the factors affecting the rate of suspension cell growth in rice and analyzed the effects of five kinds of media. The results Showed that N<sub>6</sub> and M<sub>s</sub> were the msto favorable basic media.

**Key words** Rice(*Oryza Sativa* L.), Basic medium, Suspension cell, Growth rate