

# 粳稻花药培养几种培养基试验报告

姜成模 崔明子 李哲洙

(吉林省延边农业科学研究所)

## 摘 要

我们在1990~1991年作了两年的诱导培养基和分化培养基的对比试验。结果表明,  $N_0$  基本培养基附加NAA的  $N_0-1$  诱导培养基和附加NAA和2,4-D的  $N_0-2$  诱导培养基的愈伤组织诱导率分别为30.3%和25.3%,它比附加2,4-D的常用的  $N_0$  诱导培养基(愈伤组织诱导率为20.5%)高出47.8%和23.4%。NAA和2,4-D混用的  $N_0-2$  去分化培养基所诱导出的愈伤组织的器官分化率为最高,其绿苗分化率为57.4%,它比常用的  $N_0$  培养基(绿苗分化率为44.8%)高出28.0%。器官分化率最低的是单用NAA的  $N_0-1$  培养基,其绿苗分化率为36.4%,比  $N_0$  培养基低18.7%。附加NAA的  $N_0-1$  和  $N_0-2$  培养基的出愈速度和器官分化速度明显快于附加2,4-D的  $N_0$  培养基。  $N_0-1$  培养基和  $N_0-2$  培养基花药接种后18天就能看到愈伤组织,出愈速度要比  $N_0$  培养基提早3~5天。在  $N_0$  培养基上形成的愈伤组织转移后10天只有部分绿苗出现,但  $N_0-1$  和  $N_0-2$  培养基上形成的愈伤组织转移后10天,可分化出1/3的绿苗,甚至转移后3天可以看到不少绿点分化。分化培养基来看,MS培养基的植物体分化效率明显高于  $N_0$  培养基,其绿苗率提高到2.5倍。

**关键词** 诱导培养基 分化培养基 愈伤组织 器官分化率 绿苗分化率

水稻花药培养,利用  $F_1$  代个体的花粉,能直接获得稳定的系统,缩短育种年限,一定程度上保持杂种优势,早期世代选择效率高,与常规育种相比,有不少优点。我国应用花培育种技术,已选育出一批优良品种在大规模生产上应用<sup>[1,2,3,8,9,10]</sup>。但至今花药形成的愈伤组织及分化绿苗频率低,提供选育植株的群体太少,难以发挥其优点。虽然通过花药最适培养时期,分化率高的遗传资料探索,低温预处理试验和培养基改良等研究,花粉植株的诱导效率有了很大的提高,可是其效率仍然满足不了育种的要求。为此,我们以进一步提高诱导频率为目的,作了一些培养基试验。现将其结果简单报告如下。

## 材料与方 法

### 一、供试材料

1990年参加分化培养基试验的材料有5个不同杂交组合的  $F_1$  代和1个  $F_2$  代系统;1991年参加去分化培养基试验的材料有4个不同杂交组合的  $F_1$  代。每处理接种12个三角瓶,每瓶接种50枚左右花药。

### 二、试验设计

诱导培养基试验采用  $N_0$  培养基、 $N_0-1$  培养基和  $N_0-2$  培养基三种。  $N_0$  培养基为  $N_0$  基本培养基+2,4-D 2mg/L+蔗糖5%+琼脂1%;  $N_0-1$  培养基为  $N_0$  基本培养基+NAA 2mg/L+蔗糖5%+琼脂0.8%;  $N_0-2$  培养基为  $N_0$  基本培养基+NAA 1mg/L+2,4-D 0.2mg/L+YE1g/L+蔗糖5%+琼脂0.8%。分化培养基均采用MS培养基,pH值均为5.8。

分化培养基试验采用  $N_6$  培养基和 MS 培养基两种。 $N_6$  培养基为  $N_6$  基本培养基 + IAA 0.2mg/L + KT 1mg/L + 蔗糖 5% + 琼脂 1%；MS 培养基为 MS 基本培养基 + IAA 1mg/L + KT 2mg/L + 蔗糖 5% + 琼脂 1%。培养基的 pH 值调整至 5.8。诱导培养基均为  $N_6$  培养基。

### 三、材料处理和接种

在田间选择剑叶与第 2 叶的叶耳间距为 5~7cm 的稻株（花粉发育时期为单核靠后期），用塑料袋包好，放入 6~8℃ 的冰箱里低温预处理 8~12 天。接种时剥开叶鞘，将幼穗用 0.1% 的升汞溶液中灭菌 10 分钟，用无菌滤纸吸干后，在超净台上无菌条件下进行接种，花药接种方法采用“剪颖倒药法”。

### 四、培养条件

花药接种后将三角瓶放在培养室进行暗培养，培养温度为 26~28℃。愈伤组织长到 2~3mm 左右时转移到试管分化培养基上。在 2000lx 光照下诱导器官分化，每天用日光灯补充光照 9~10 小时，培养温度为 26~28℃。

### 五、试验统计方法

愈伤组织诱导率 = 产生愈组织的花药数 / 接种花药数 × 100%；绿苗分化率 = 分化绿苗的愈伤组织块数 / 转移愈伤组织块数 × 100%；白苗分化率 = 分化白苗的愈伤组织块数 / 转移愈伤组织块数 × 100%；植物体总分化率 = 分化绿苗愈伤组织块数 + 分化白苗愈伤组织块数 / 转移愈伤组织块数 × 100%。

## 结果与分析

### 一、诱导培养基试验

黑龙江省农科院水稻所的许世寰认为生长素对早粳日本型水稻的花粉愈伤组织诱导频率的效应一般 NAA 高于 2,4-D。但 NAA 对再分化的作用不如 2,4-D 好<sup>[10]</sup>。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<sup>[4]</sup>。这同我们的试验结果基本相似。从表 1 可以看出，去分化培养基的附加物不仅对水稻花粉形成愈伤组织有直接影响，而且对由此产生的愈伤组织器官分化效率上也表现出很大的差异。愈伤组织诱导频率来看，附加生产素 NAA 的  $N_6-1$  培养基最高，平均诱导率为 30.3%。最高达 40.8%，附加 2,4-D 的  $N_6$  培养基为最低，平均诱导率为 20.5%，前者比后者高出 47.8%。NAA 和 2,4-D 混用的  $N_6-2$  培养基的愈伤组织诱导频率介于两者之间。其平均诱导率为 25.3%。但器官分化频率来看，NAA 和 2,4-D 混用的  $N_6-2$  培养基所形成的愈伤组织分化率较高，其绿苗平均分化率 57.4%，最高达 73.8%，白苗平均分化率 35.8%，植物体平均总分化率为 93.2%，最高达 97.6%。其次是常用的  $N_6$  培养基，它所形成的愈伤组织绿苗平均分化率为 44.8%。白苗平均分化率为 38.6%，植物体平均总分化率为 83.3%。器官分化能力最低的是附加 NAA 的  $N_6-1$  培养基所形成的愈伤组织，其绿苗平均分化率为 36.4%，白苗平均分化率为 24.8%，植物体平均总分化率为 61.2%。总之， $N_6$  基本培养基附加 NAA 1mg/L，2,4-D 0.2mg/L 和 YE 1g/L 的  $N_6-2$  去分化培养基的花培效率明显高于常用的  $N_6$  去分化培养基。其愈伤组织诱导频率比  $N_6$  培养基高 22%，绿苗分化率高 28%，是较理想的粳稻去分化培养基。附加 NAA 的  $N_6-1$  去分化

培养基虽然愈伤组织诱导率很高,但植物体分化能力上不如前两种培养基好。

表1 诱导培养基对愈伤组织形成及植物体再分化的影响 (1991)

接种材料	杂交组合 (F <sub>1</sub> )	培养基	花药接种数	出愈数	出愈率	愈组接种数	绿苗数	绿苗率	白苗数	白苗率	总分化率
855	珍富 12/ 普粘 6 号	N <sub>6</sub>	910	250	27.5	86	29	33.7	45	52.3	86.0
		N <sub>6</sub> -1	1034	422	40.8	15	41	26.8	50	32.7	59.5
		N <sub>6</sub> -2	876	275	31.4	11	47	42.0	62	55.4	97.3
826	珍富 11/ 万宝 21	N <sub>6</sub>	899	134	14.9	24	11	45.8	5	20.8	66.7
		N <sub>6</sub> -1	910	210	23.1	44	14	31.8	5	11.4	43.2
		N <sub>6</sub> -2	930	200	21.5	42	19	45.2	11	26.2	71.4
867	珍富 11/ 延 8742	N <sub>6</sub>	1162	242	20.8	64	34	53.1	18	28.1	81.3
		N <sub>6</sub> -1	1089	270	24.8	105	45	42.9	14	13.3	56.2
		N <sub>6</sub> -2	1106	262	23.7	84	62	73.8	20	23.8	97.6
873	1071/ 实验 20	N <sub>6</sub>	1075	205	19.1	35	20	55.6	13	36.1	91.7
		N <sub>6</sub> -1	1040	330	31.7	105	48	45.7	32	30.5	76.2
		N <sub>6</sub> -2	902	229	25.4	86	58	67.4	23	26.7	94.2
平均		N <sub>6</sub>	4046	831	20.5	210	94	44.8	81	38.6	83.3
		N <sub>6</sub> -1	4073	1232	30.3	407	148	36.4	101	24.8	61.2
		N <sub>6</sub> -2	3816	966	25.3	324	186	57.4	116	35.8	93.2

上述三种培养基不仅在愈伤组织诱导效率和植物体再分化能力上有很大的影响,而且在愈伤组织形成速度和器官分化速度上也能看出明显的差异。从表 2 可以看出,附加生长素 NAA 的去分化培养基 N<sub>6</sub>-1 和 N<sub>6</sub>-2 的愈伤组织诱导速度比附加 2,4-D 的 N<sub>6</sub> 快,花药接种后 18 天就能看到不少愈伤组织的形成,一般比 N<sub>6</sub> 培养基提早 3~5 天。

表 2 不同培养基愈伤组织诱导及绿苗分化速度 (1991)

接种材料	杂交组合 (F <sub>1</sub> )	培养基	愈伤组织诱导率(%)				绿苗分化率(%)	
			接后 18 天	接后 23 天	接后 28 天	接后 50 天	接后 10 天	接后 40 天
855	珍富 12/ 普粘 6	N <sub>6</sub>	0	9.2	17.6	27.5	3.6	33.7
		N <sub>6</sub> -1	4.1	23.4	29.6	40.8	16.0	26.8
		N <sub>6</sub> -2	2.7	15.5	21.2	31.4	9.8	42.0
862	珍富 11/ 万宝 21	N <sub>6</sub>	0	1.3	6.0	14.9	0	45.8
		N <sub>6</sub> -1	0	2.9	10.8	23.1	9.1	31.8
		N <sub>6</sub> -2	0	4.5	9.2	21.5	23.8	45.2
867	珍富 11/ 延 8742	N <sub>6</sub>	0	3.6	6.5	20.8	3.1	53.1
		N <sub>6</sub> -1	0	8.3	16.7	24.8	16.0	42.9
		N <sub>6</sub> -2	0	7.2	14.6	23.7	17.8	73.8
873	1071/ 实验 20	N <sub>6</sub>	0.4	2.8	9.3	19.7	0	55.6
		N <sub>6</sub> -1	8.1	8.1	18.3	31.7	11.5	45.7
		N <sub>6</sub> -2	10.6	10.6	19.5	25.4	10.0	67.4

其绿苗分化速度上差异更大,愈伤组织转移后 10 天调查结果来看,N<sub>6</sub> 培养基上形成的愈伤组织接种后 10 天尽有少部分分化出绿苗,但 N<sub>6</sub>-1 和 N<sub>6</sub>-2 去分化培养基上形成的愈伤组织接种后 10 天可产生  $\frac{1}{3}$  左右的绿苗,甚至接种后 3 天可以看到不少绿点的分化。这说明附加 NAA 的培养基形成愈伤组织和器官分化速度明显早于附加 2,4-D 的培养基。

## 二、分化培养基试验

梗稻花药培养的分化培养基试验结果表明(表 3)。N<sub>6</sub> 培养基和 MS 培养基对植物体分化效率上有显著差异,除了 1593 组合外所有材料均表现出 MS 培养基的绿苗分化率、白苗

分化率及其植物体总分化率均比  $N_6$  培养基有了明显的提高。其平均分化率分别提高到 2.5 倍, 2.3 倍和 2.5 倍。

表 3 分化培养基对比试验结果 (1990)

接种材料	杂交组合	培养基	绿苗分化率	白苗分化率	总分化率
1591	1134/藤系 138 $F_1$	$N_6$	11.9	5.0	16.9
		MS	20.5	8.0	28.5
1592	1134/吉 87-12 $F_1$	$N_6$	9.3	6.0	15.3
		MS	17.5	17.5	35.0
1593	727/青系 96 $F_1$	$N_6$	10.1	8.9	17.0
		MS	10.4	13.0	23.4
1595	1373/藤系 138 $F_1$	$N_6$	4.0	8.0	12.0
		MS	20.7	24.1	44.8
1599	通 8311/1263 $F_1$	$N_6$	9.7	5.4	15.1
		MS	22.9	13.5	36.4
777	81012-2/山西 810410 $F_2$	$N_6$	1.8	5.4	7.2
		MS	25.9	11.1	37.0
平 均		$N_6$	7.8	6.5	13.9
		MS	19.7	14.5	34.2

这一结果充分说明 MS 分化培养基的器官分化效率显著优于  $N_6$  分化培养基, 是当前梗稻花培最理想的分化培养基。这一结果与吉林市农科所陈择光的观点是一致的<sup>[5]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1]尹光初等:用单倍体育种法育成水稻新品种的研究,《中国科学》,1976(2):191~199。
- [2]天津市农科所等:利用花粉培养育成花育 1,2 号,《遗传学报》,1976,3(1):19~24。
- [3]沈锦骅等:组织培养和水稻改良的研究进展(综述),《水稻》,1982(3):24~30。
- [4]许世寰:梗稻花粉植株诱导的研究,《黑龙江农业科学》,1985(1):11~19。
- [5]陈择光等:提高梗稻花粉植株诱导率的研究,《吉林农业科学》,1984(3):57~64。
- [6]曾海富:影响梗稻花药培养及其器官分化试验报告,《安徽农业科学》,1984(2):26~33。
- [7]李哲洙:水稻花粉育种研究初报,《吉林农业科学》,1981(2):6~13。
- [8]李哲洙:花药培养在水稻品种提纯选优上的应用,《吉林农业科学》,1983(4):21~22。
- [9]李哲洙等:水稻新品种“延梗 17 号”的育成,《延边农业科技》,1990,4~9。
- [10]许世寰:中国北方におけるイネ花药培养育種の現状,《农业および园艺》,1988(3):365~373。