

# 提高粳稻花粉植株诱导率的研究

陈泽光 张增明 杨振棠 刘志东

(吉林市农业科学研究所)

## 提 要

本文从接种材料类型、花粉发育时期、低温预处理、去分化和分化培养基及其附加物质等五个方面做了一些系统试验,看出一些趋势,使粳稻花粉植株诱导率有了明显提高。

我们所用的各类型粳稻材料,都可以诱导出花粉植株。其中杂种材料诱导效果好于纯种。接种花药小孢子发育为单核中、晚期的诱导效果最好。整株进行7~8℃低温预处理2~32天都有提高诱导率的效果,最高诱导率可达284.0%,一般以处理8~16天为宜。去分化培养基以N6+2.4-D+蔗糖3%,分化培养基以MS+IAA0.2-0.5+BA2+CH800+蔗糖3%为好。

\* \* \*

我国水稻花培育种的研究和应用进展很快,已选育出一批优良品种(系)在大面积生产上应用〔1、2、3、4、14、15〕。当前,从育种的要求来看,花粉植株的诱导效率还不够理想。虽然国内外在这方面都做了不少工作,由于系统的基础工作不多,多数单位的诱导效果仍然满足不了育种的要求。为此,近几年来,我们针对当前存在的问题,做了一些试验工作,使愈伤组织的诱导率(平均100个花药诱导出的愈伤组织块数)提高到50~70%,最高可达284.0%\*,愈伤组织的绿苗分化率(平均100块愈伤组织分化出的绿苗丛数)提高到60%左右,高者达80%以上。现将结果报道如下。

## 材 料 与 方 法

四年来共接种各种类型材料80余份。接种花药小孢子发育时期为单核中、晚期,用I-KI或醋酸洋红镜检确定。

以N6、MS等为基本培养基,分别加入不同种类和用量的附加物质,加琼脂0.8%,pH值为5.6~6.0。在1 kg/cm<sup>2</sup>压力下灭菌20分钟。低温预处理是将接种稻株的地上部分取下,去掉老叶,装入塑料袋里,扎上袋口,放入7~8℃的冰箱里,按要求日期接种。接种时剥出幼穗,在饱和的漂白粉上清液或0.1%的升汞中灭菌10分钟,用无菌水冲洗3~5次,用无菌滤纸吸干,在无菌条件下接种,每瓶投花药50枚。去分化培养温度27~30℃,愈伤组织长到2~3 mm左右转移到分化培养基上,分化温度25~27℃,每天加光照10小时左右。

\*有的花药可以产生2块以上的愈伤组织。

# 试验结果与分析

## 一、接种材料

我们接种的各种类型的粳稻材料,都能诱导出愈伤组织,一般也都可以分化出绿苗。但不同类型材料的诱导效率存在着明显差异(表1)。尽管各年份的诱导率有所不同,但各

表1 不同类型材料的诱导效果

年份	项目	三系杂交种	恢复系早代材料	籼粳杂交材料	常规杂交种	育成品种	花培后代
1980	材料份数	3	1		4	1	
	愈伤组织诱导率(%)	27.9	46.4		17.1	13.4	
	绿苗诱导率(%)	7.9	17.8		7.8	3	
1982	材料份数	3	5	2	5	1	2
	愈伤组织诱导率(%)	116.0	61.6	68.5	49.6	46.8	43.8

类材料的总趋势是一致的,即愈伤组织诱导率和绿苗诱导率(平均100个花药诱导出的绿苗丛数),一般是杂交种高于纯合的品种,而杂合程度高、亲缘关系远的三系杂交种、恢复系早代材料等,又较常规杂交种高。我们的试验结果和其它单位〔5、6〕一样,说明水稻花药培养的愈伤组织和绿苗诱导率也表现出明显的杂种优势。玉米等作物的花药培养也有这种现象〔11、12〕。这对杂种材料的纯合选优,特别是三系杂交水稻的纯合选优和远缘杂种的纯合利用是十分有利的。

## 二、花粉发育时期

1983年我们用N6培养基,以两个不同类型的材料做小孢子不同发育时期诱导效果对比试验。结果表明(表2),小孢子发育处于单核早期到双核期的花药都能诱导出愈伤组

表2 小孢子不同发育时期的诱导效果

接种材料	最后两叶耳间距离(Cm)	小孢子发育时期	接后28天诱导率(%)	35天诱导率(%)	50天诱导率(%)
吉粳60 (品种)	-2	大部分为四分子体	0	0	0
	0	大部分为单核早期	2	15	23.3
	2.5	大部分单核中期,少部分单核早期	6.4	21.6	37.8
	5	少部分单核中期,大部分单核晚期	13.5	49.8	82.0
	8.5	大部分单核晚期,少部分双核期	3	23.8	56.8
	12	双核期	2	4	18.0
三8 (恢复系)	0	四分子体	0	0	0
	3	大部分单核早期	0	0.4	11.2
	6	大部分单核中期、少部分单核晚期	3.5	16.5	42.0
	9	大部分单核晚期	5.2	17.6	23.5
	12	部分单核晚期、部分双核期	4.0	9.1	21.8
	15	大部分双核期、部分为三核期	0	0	0

织,但其中以单核中、晚期的花药诱导率最高。因为同一幼穗的上、中、下部的花药,其

小孢子发育时期不同； 不同时期或季节及不同类型或品种， 同样大小的幼穗， 其发育程度不同。 因此， 在需要大量接种的花培育种过程中， 每一个穗都分部位镜检后再接种是不可能的。 因而我们对不同类型材料， 根据外部形态和小孢子发育的相关性来确定接种的适宜时期。 如地方良种吉粳60号取植株最后两叶耳间距离5cm的幼穗， 而大穗型的恢复系材料三8取间距6~9cm的幼穗接种均为适宜。

### 三、低温预处理

我们连续三年， 用N6培养基对经过7~8℃低温预处理不同天数的各类型材料进行诱导效果试验。 结果表明（表3）， 各类材料经不同天数的低温预处理都收到了提高诱导率的良好效果。 经2天处理的就可以看出提高愈伤组织诱导率的效果； 处理4~6天者有成倍提高； 处理8~26天， 可提高诱导率几倍， 最高诱导率达284.0%（图版6）， 处理32天仍有较高的诱导效果。 这和其它单位〔9、10、17〕试验结果的趋势是一致的， 我

表3 不同低温预处理的诱导效果

年 份	接 种 材 料	处 理 天 数	接 种 花 药 数	出 愈 数	诱 导 率 (%)		
1981	D71-1A×九 3-1  (三系杂交种)	0	120	11	9.2		
		2	420	159	37.9		
		4	360	147	40.8		
		6	240	56	23.3		
	常 15  (常规杂交种)	0	300	58	19.3		
		2	240	61	25.4		
		4	180	65	36.1		
		6	300	119	39.7		
	1982	三 3  (三系杂交种)	0	300	112	37.3	
			4	200	189	94.5	
8			200	310	155.0		
12			300	681	227.0		
16			150	316	210.7		
20			100	212	212.0		
三 4  (三系杂交种)		0	200	89	44.5		
		4	250	195	78.0		
		8	400	911	227.8		
		12	350	585	167.1		
		16	200	542	271.0		
		20	400	990	247.5		
		1983	三 8  (恢复系)	0	300	221	73.7
				5	400	415	103.8
10	450			515	114.4		
15	250			467	186.8		
26	450			1280	284.0		
32	350			500	142.9		

们的试验结果偏高一些，可能是整株预处理效果好于处理花药或幼穗。

鉴于接种稻株低温预处理简而易行并有显著提高诱导率的效果，建议在水稻花培育种中广泛应用。对其机理应进行深入研究。处理时间，我们认为以8~16天为宜。

#### 四、去分化培养基

基本培养基：三年8种基本培养基试验表明表(4)，都是以N6的诱导率为最高，MS

表4 不同基本培养基诱导效果对比

年 份	培养基代号	基本培养基	接 种 材 料	愈伤组织的诱导率 (%)	绿苗诱导率
1980	S801	N6	9份	40.1	15.7
	S803	Miller	"	15.0	6.2
	S804	MS	"	5.8	3.3
	S805	正9(11)	"	25.1	12.0
	S806	正14(13)	"	24.1	9.1
1982	S821	MC	74-134A×恢6	15.3	
	S822	N6		77.3	
1983	S831	N6	三3	90.6	
	S832	MS	"	37.5	
	S833	B5	"	59.1	
	S834	Miller	"	20.9	
	S835	改良怀特	"	3.7	
	S836	改良尼许	"	1.7	

效果较差，改良怀特和改良尼许表现最差，这可能是由于其含盐量过低所致。我们和其它单位的试验结果一致〔7、8〕，都证明N6是粳稻花培比较理想的去分化培养基。

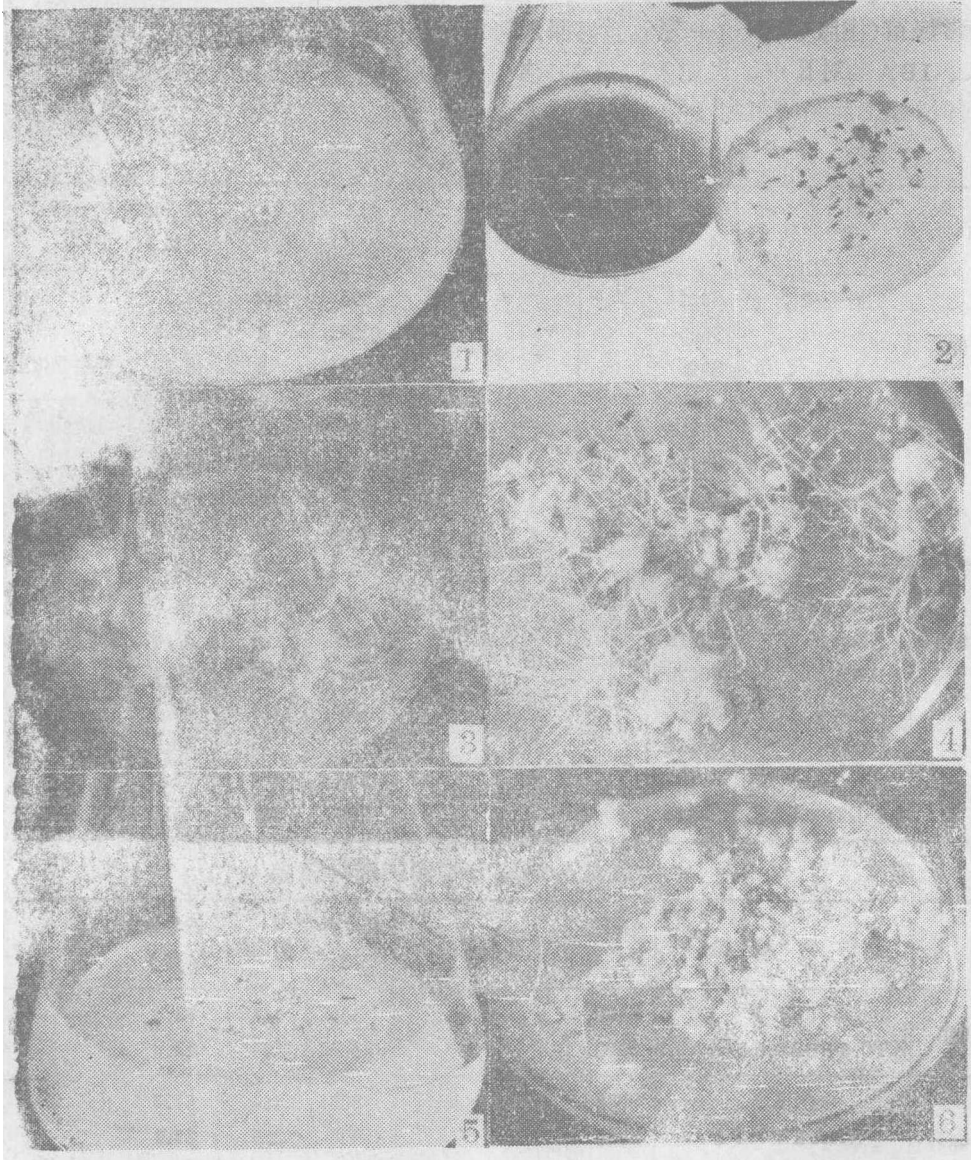
蔗糖浓度：在N6+2,4-D2mg/L(单位下同)的基础上，做不同蔗糖浓度的诱

表5 不同蔗糖浓度的诱导效果

蔗 糖 浓 度 (%)	培 养 基 代 号	接 种 材 料	诱 导 率 (%)	
			接后35天	接后8天
0	S837	复1	0	0
1	S838	"	6.3	105.5
3	S839	"	7.4	125.0
5	S8310	"	5.6	35.1
8	S8311	"	4.5	79.8
12	S8312	"	2	19.6

导效果试验。结果表明(表5)，不含蔗糖者不能产生愈伤组织，花药保持淡黄色(图版1)；蔗糖浓度在1~3%之间的各处理的愈伤组织诱导率都较好，其中以3%为最好。由此说明，过去许多单位需用的5%或6%，不一定是必要的，可减至3%。

附加成份：在N6+蔗糖5%的基础上，做不同种类和浓度附加成份对比试验。结果表明，(1)不加任何生长素者(S823、S8313)仍可产生愈伤组织，但诱导率极低，愈伤



### 图 版 说 明

- 1、花药在无蔗糖培养基上不出愈伤组织。
- 2、花药在加活性炭的培养基上不出愈伤组织，右为对照。
- 3、花药在只加NAA一种激素的培养基上出愈、长根并直接分化出正常花粉植株。
- 4、花药在只加IAA一种激素的培养基上，可出愈、长根并直接分化出少量花粉植株。
- 5、在不加激素的培养基上直接长出花粉植株。
- 6、花药经低温预处理后长出大量愈伤组织。

组织很小(表6, 图版5)。在1983年的试验中有一瓶从花药上形成胚状体并直接长出一株正常绿苗(图版5)。这一现象值得深入研究。在分别附加不同浓度的2.4-D、NAA、IAA、IBA的对比中, 以加入2.4-D者愈伤组织诱导率最高; 附加NAA和IBA的各处理在其诱导出的愈伤组织上大量生根, 有部分愈伤组织未经转移可直接分化出绿苗或白苗

表6 附加成分生长素的诱导效果

年份	附加成分	培养基代号	接种材料	接种花药数	出愈数	诱导率(%)	备注
1982	2.4-D 2	S822	74-134A×恢6	600	484	77.3	直接分化出绿苗
		S823	"	850	2	0.23	
	NAA 2	S825	"	700	2	0.29	
1983	2.4-D 1 2.4-D 2 2.4-D 4 2.4-D 6 2.4-D10 NAA 2 NAA 5 NAA 8 IAA 5 IBA 5 2.4-D2+NAA0.5	S8313	复2	400	6	1.5	直接出绿苗
		S8314	"	500	888	177.6	直接分化出苗和根
		S8315	"	500	992	186.4	
		S8316	"	500	412	82.4	
		S8317	"	350	444	126.9	
		S8318	"	450	380	84.4	
		S8319	"	500	108	21.6	
		S8320	"	450	142	28.4	
		S8321	"	450	174	38.7	
		S8322	"	50	25	50.0	
		S8323	"	500	101	20.2	
S8324	"	350	228	65.1			

表7 附加成分细胞分裂素的诱导效果

年份	附加成份	培养基代号	接种材料	接种花药数	出愈数	诱导率(%)	备注
1980	(CK)	S801	9份	800	342	42.8	
	KT0.5+BA0.5+IAA0.2	S802	9份	1150	148	12.9	
1982	(CK)	S822	74-134×恢6	600	464	77.3	
	NAA 2+KT 2	S826	"	900	208	23.1	
	KT 2	S827	"	650	8	1.2	
1983	BA0.5 BA 1 BA 2 KT0.5 NAA0.5+KT0.5 (CK)	S8325	复3	450	467	103.8	愈多较小易老化
		S8326	"	450	142	31.6	
		S8327	"	50	11	22.0	
		S8328	"	400	477	119.3	
		S8329	"	500	612	122.4	
		S8341	"	100	173	173.0	
	GA 3	S8330	"	350	699	199.7	
	(CK)	S8337	"	500	807	161.4	

(图版3、4)。(2)在N6+2.4-D2+蔗糖5%的基础上, 再加入KT或BA, 其诱导

率反而下降, 加入量大者其降低幅度更大(表7)。唯有加入赤霉素(GA<sub>3</sub>)者诱导率高于对照, 但愈伤组织小而易老化。因而我们认为水稻花培去分化培养基没有必要加入细胞分裂素。(3)在去分化培养基中加入CH(水解酪蛋白)、石油助长剂、活性炭等, 其诱导效果都不如对照(表8)。特别是加入0.5%活性炭者, 根本不出愈伤组织(图版2)。由此说明附加这些物质是没有必要的。

综上所述, 我们认为梗稻花培的去分化培养基以N6+2.4-D2+蔗糖3%为好, 再加入其它物质反而会降低其诱导效果。

表8 加入CH等几种物质的诱导效果

年份	附加物质	培养基代号	接种材料	接种花药数	出愈数	诱导率(%)
1982	(CK)	S822	74-134A×恢6	600	464	77.3
	CH500	S829	"	800	91	11.4
1983	CH1000	S831	复3	500	545	109.0
	活性炭0.5%	S832	"	500	0	0
	石油助长剂	S833	"	450	621	138.0
	(CK)	S834	"	500	807	161.4

表9 不同培养基及附加成分的分化效果

年份	培养基代号	基本培养基	附加成分及蔗糖浓度	绿苗分化率	白苗分化率
1980	80分1	N6	IAA0.5+KT1+Su3%	38.0	10.6
	80分2	N6	IAA0.5+BA1+Su3%	66.9	25.6
	80分3	MS	IAA0.5+KT2+Su3%	27.3	15.6
	80分4	MS	IAA0.5+BA2+Su3%	84.1	14.6
	80分5	Miller	IAA0.2+KT1+Su3%	21.6	10.3
	80分6	正9	IAA0.2+BA1+Su3%	33.7	18.3
1982	82分1	MS	IAA0.2+BA2+CH500+Su3%	80.5	89.6
	82分2	N6	" " "	61.8	70.5
	82分3	N6	IAA0.2+BA1+Su3%	47.4	44.7
	82分4	N6	IAA0.2+BA1+CH800+Su3%	119.2	46.2
	82分5	N6	IAA0.2+BA1+Su5%	72.2	50.0
	82分6	N6	Su3%	12.5	35.0
	82分7	N6		0	0
	82分8	N6	IAA0.2+KT1+Su3%	21.1	47.4
	82分9	N6	NAA0.2+BA1+Su3%	27.5	67.5
	82分10	N6	IBA0.2+BA1+Su3%	0	42.5
	82分11	N6	+BA1+Su3%	20.0	62.5
	82分12	N6	IAA1+Su3%	10.0	35.0
	82分13	N6	2.4-D0.001+BA1+Su3%	21.1	60.5

## 五、分化培养基

1980和1982两年的试验结果表明(表9), 梗稻花培的分化培养基以MS和N6效果为好, 而MS又好于N6。从不同附加成分和蔗糖的对比来看, 没有蔗糖也没有激素的处理(82分7), 没有分化能力; 只含蔗糖不含激素的处理(82分6), 可有分化能力, 但绿苗分化率很低(12.5%); 只含蔗糖和生长素而不含细胞分裂素的处理(82分12), 分化能力也很低(10.0%); 只含蔗糖和细胞分裂素而不含生长素的处理(82分11), 绿苗分化能力仍然不高(20%); 同时含有蔗糖、生长素和细胞分裂素的各处理, 其绿苗分化率都在20%以上, 而其浓度配比适宜者(80分4、82分1)高达80%以上。从不同种类激素的分化效果来看, 生长素以IAA的效果最好(82分5); 我们所用的细胞分裂素中以BA为好。1980年在N6和MS两种基本培养基上, 含BA的两个处理(80分2、80分4), 比对照含KT者绿苗分化率有成倍提高。1982年含BA的(82分3)比含KT者(82分8)也有提高绿苗分化的显著效果。试验结果还表明, 加入CH的处理(82分1、82分4)有良好的分化效果。

因而我们认为:  $MS+IAA0.2\sim0.5+BA2+CH800+蔗糖3\%+琼脂0.8\%$ , 是当前梗稻花培比较理想的分化培养基。同时也观察到愈伤组织及早转移可以提高绿苗分化率, 转移晚了分化力降低, 白苗增多。

## 参 考 文 献

- [1] 上海农科院作物所水稻组: 1976, 晚粳“新秀”是怎样育成的。植物学报 18(3): 245~249。
- [2] 尹光初等: 1976, 用单倍体育种法育成水稻新品种的研究。中国科学(2): 191~199。
- [3] 天津农科所等: 1976, 利用花粉培养育成花育1、2号。遗传学报 3(1): 19~24。
- [4] 陈洋: 1981, 全国水稻花培科研协作会议在扬州召开(会讯)。遗传 1981(3): 19。
- [5] 杨献民等: 1977, 杂交水稻花药培养利用的探讨。花药培养学术讨论会文集, 173~176, 科学出版社。
- [6] 寸镇洋等: 1979, 杂交水稻的花药培养研究。云南农业科技 1979(6): 14~17。
- [7] 梁海曼: 1977, 我国水稻花药培养基研究的进展和展望。花药培养学术讨论会文集, 50~57, 科学出版社。
- [8] 陈英等: 1977, 应用正交试验法筛选籼梗稻花药培养基。花药培养学术讨论会文集, 40~49, 科学出版社。
- [9] 赵成章: 1980, 低温处理对水稻花药愈伤组织诱导、分化的影响。植物生理学通讯, 1980(5): 37~40。
- [10] A. D. Genoresi等(美): 1980, 在水稻花药培养中低温预处理提高了愈伤组织和绿色植株的诱导率。国外遗传育种 1980, (2): 29~32。
- [11] 母秋华等: 1981, 提高玉米花粉植株诱导频率的研究。遗传, (4): 25~28。
- [12] 母秋华等: 1980, 玉米花药培养单倍体育种的研究。吉林农业科学, (4): 6~14。
- [13] 母秋华等: 1980, 介绍一种玉米花药培养基。遗传, (4): 28。
- [14] 孙宗修: 1982, 组织培养和水稻改良的研究进展(综述)。水稻, (3): 24~30。
- [15] 沈锦骅等: 1982, 花药培养在水稻品种改良上的应用。中国农业科学, (2): 15~19。
- [16] 新桥登(李梅芳译): 1983, 日本水稻花药培养现状。国外农业科技, (8): 5~7。
- [17] Chen Ying: 1981 The Advances of Studies on Anther Culture and pollen Culture of Rice in China Prepared for Workshop on cell and tissue culture techniques for improvement of cereal crops, Beijing, China, Oct.19~23