

籼稻扬稻 6 号和粳稻苏沪香粳花药培养力的比较

李霞, 赵贇涛, 阎丽娜, 周月兰

(江苏省农业科学院粮食作物研究所, 江苏 南京 210014)

[摘要] 为建立适合江苏水稻主栽品种花药培养的技术体系, 本研究以籼稻扬稻 6 号和粳稻苏沪香粳为研究材料, 分别从取样温度、低温预处理天数以及培养基中的蔗糖、琼脂和激素等研究不同水稻亚种花培的植株再生技术体系。结果表明: 在气温 26℃ ~ 31℃ 之间, 扬稻 6 号在 4℃ 低温预处理 9 d 接种到以 M8 为基本培养基, 附加 2 4-D 1 mg/L, NAA 3 mg/L, KT 1 mg/L, 脯氨酸 100 mg/L, 水解酪蛋白 300 mg/L, 60 g/L 蔗糖和琼脂 8 g/L 的花药愈伤诱导培养基中, 可以获得高达 8.5% 的出愈率。而苏沪香粳在气温 27℃ ~ 30℃ 之间, 4℃ 低温预处理 12 d 接种到以 M8 为基本培养基, 附加 2 4-D 1 mg/L, NAA 3 mg/L, KT 1 mg/L, 脯氨酸 100 mg/L, 水解酪蛋白 300 mg/L, 60 g/L 蔗糖和琼脂 6 g/L 的花药愈伤诱导培养基中, 可以获得高达 15.05% 的出愈率。扬稻 6 号和苏沪香粳花药愈伤组织转接分化培养基分别获得 2.7% 和 5.7% 的绿苗率。

[关键词] 籼稻, 粳稻, 花药培养, 组织培养力

[中图分类号] S511 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2008)04-0108-06

Comparison in Tissue Culture Power Between Anther in *Indica* Rice Yangdao 6 and *Japonica* Rice Suhuxiangjing

Li Xia, Zhao Yuntao, Yan Lina, Zhou Yuelan

(Institute of Foods Crop, Jiangsu Academy of Agriculture Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract The culture ability of callus from anther of two rice varieties *Indica* Rice Yangdao 6 and *Japonica* Rice Suhuxiangjing are studied as materials. The results show that when using M8 as basic induction medium adding 60 g/L sucrose, 6 g/L agar, 1 mg/L 2 4-D, 3 mg/L NAA, 1 mg/L KT, 100 mg/L proline and 300 mg/L hydrolyzed casein protein, inductivity of callus in Yangdao 6 is high as 8.5 percents after chilling treatment for 9d during 26℃ - 31℃ air temperature for sampling. While that in Suhuxiangjing is high as 15.05 percents when using M8 as basic medium adding 60 g/L sucrose, 8 g/L agar, 1 mg/L 2 4-D, 3 mg/L NAA, 1 mg/L KT, 100 mg/L proline and 300 mg/L hydrolyzed casein protein after chilling treatment for 12 d during 27℃ - 30℃ air temperature for sampling. And that when using MS as differentiation basic medium adding 0.2 mg/L 2 4-D, 2 mg/L 6-BA, 2 mg/L KT, the frequency of regeneration of callus from anther in Yangdao 6 and Suhuxiangjing are 2.7 percents and 5.7 percents, respectively. The stable and effective regeneration from anther in Yangdao 6 and Suhuxiangjing are established.

Key words *indica* and *japonica* rice; anther culture; tissue culture power

花培育种是单倍体育种的一种方式。由于单倍体育种具有加快选择效率、缩短育种周期、快速创新种质材料以及配合其它生物技术的应用, 快速获得具有目标性状纯系等诸多优势, 使这一技术在水稻育种领域有很大的技术需求。但是目前水稻花药培养效率并不高, 特别随着生物技术的快速发展, 又对水稻花培途径育种的应用技术提出了更高要求。而现阶段水稻花药培养在应用中所获得的大量数据表明, 水稻花培绿苗生产率能达到 3% ~ 5%, 实际能够得到种子的绿苗率只有 0.5% 左右, 而且多局限于粳型水稻材料。

收稿日期: 2007-12-26

基金项目: 国家自然科学基金(31871459)、江苏省农业科学院基金(6510707, 6110704)、江苏省教育厅 2007 年留学基金、江苏省人事厅 2006 年留学择优项目(3910606)、江苏省农业科技创新基金(CK[07]603)、江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室开放课题(HZH L0802)资助项目。

通讯联系人: 李霞, 博士, 副研究员, 研究方向: 水稻生物技术, E-mail: jppk@jas.ac.cn

因此,花药培养基因型的狭窄和花培绿苗的低效率仍是限制其广泛应用的主要因素之一^[1]。

在水稻的花药培养中,花药培养力受多基因控制,与粳稻相比,籼稻的平均出愈率平均培养力只有 0.5%左右,一般不超过 5%,有些材料甚至不能诱导出愈伤组织或者难以得到花粉植株。目前通过花培选育的籼稻品种不多,至 20 世纪末通过花药培养选育的品种仅 5 个,主要局限在江西省,而且推广面积也不大^[2]。作为水稻的主产省份江苏,以水稻主栽品种为受体的花培材料尚不多,迫切需要加强相关研究,以拓宽适合水稻花培基因型的范围。

中籼品种扬稻 6号不仅是在长江流域和黄淮地区主栽的高产水稻两优培九的父本,而且还是扬两优 6号、丰两优 1号、粤优 938 红莲优 6号和扬稻 8号等新组合、新品种的亲本资源。而苏沪香粳也是江苏省新育成的优质高产晚粳品系,这些品种在生产上都有重要的应用价值^[3]。本文以扬稻 6号和苏沪香粳花药为试验材料,从取样温度、低温预处理天数以及基本培养基的类型、外源激素、渗透压等因素的调节上比较上述供试水稻花粉诱导的愈伤组织的培养力,试图进一步优化上述水稻品种花药愈伤组织诱导及植株再生能力,建立适合江苏高产品种的高效稳定水稻花药培养再生体系,为今后水稻的遗传转化工作打下基础。有关研究也将对其它主栽水稻品种或亲本的分子育种及品种改良研究具有借鉴意义。

1 材料和方法

1.1 材料

水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种扬稻 6号系江苏里下河地区农业科学研究所用扬稻 4号与 3021 杂交 F1 种子经 ⁶⁰Co- γ 辐照诱变育成的优质中籼新品种;苏沪香粳是江苏省农科院粮食作物研究所培育的优质粳稻品种。

1.2 水稻的种植

水稻盆栽于 2005~2007 年在江苏省农业科学院网室内种植,每年 5 月上旬播种,每盆栽 5 穴,每穴 1 苗,水肥按常规管理。

1.3 培养基组分

1.3.1 供试水稻材料花药愈伤组织诱导的培养基

基本培养基分别为 M&N6、MS 设置附加琼脂条 6 8 10 12 g/L 确定适宜的琼脂浓度;设置附加 30 g/L、40 g/L、50 g/L、60 g/L 和 70 g/L 的蔗糖浓度,确定适宜的蔗糖浓度;设置附加 0.5 mg/L、1 mg/L、1.5 mg/L 和 2 mg/L 的 2,4-D、1 mg/L、2 mg/L 和 3 mg/L 萘乙酸 (NAA) 和 1.0 mg/L 的 KT 等外源激素,接种 30 d 记录花药的出愈率,确定花药愈伤组织诱导中适宜的外源激素的浓度。

1.3.2 供试水稻材料花培愈伤组织分化成绿苗的培养基

以 MS 大量元素、微量元素及有机成分,蔗糖浓度为 30 g/L,琼脂条 6 g/L,附加不同浓度的 6-BA、KT 或 NAA 等激素成分。

1.4 花药接种、出愈率和绿苗率的记录

1.4.1 材料低温预处理

在每年 8 月中下旬,于水稻孕穗期,每天上午 8:00 分别取 10 个水稻的穗子(取剑叶抽出 0.5~1 cm 稻穗),用 75% 的乙醇表面消毒,然后塑料薄膜包住整个稻穗,扎紧塑料袋口,保持稻穗湿润,最后放到冰箱中,在 4℃ 下进行不同天数的低温预处理。

1.4.2 花药接种、出愈率和绿苗率的记录

取出经低温预处理的稻穗,用 75% 酒精的表面消毒,除去稻穗外鞘放入灭菌的三角瓶内。先用 75% 的酒精消毒 1 min 再用 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 20 min 后再用无菌水漂洗 3 遍,将消毒的水稻稻穗,放在培养皿中,将花药接入不同培养基中,每瓶约 100 粒,以上操作均在超净工作台上无菌条件下进行。接种好的花药的培养基放入培养室内暗培养,26±2℃ 黑暗条件下培养 32 d 计算花药的出愈率。然后将花药诱导的愈伤组织转至 26±2℃ 光照条件下培养,光强为 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,每日光照 16 h,培养 30 d 诱导不定芽,将产生绿芽的组织转至以 1/2MS 为基本培养基的壮苗培养基中,26±2℃ 光照条件下培养,使其生根长成完整植株,计算植株再生率,植株再生率 = 生成幼苗或植株的愈伤组织数 / 接种的出现绿色芽点的愈伤组织数 × 100%。

2 结果与分析

2.1 供试粳、籼亚种水稻花药愈伤组织诱导时间的比较

本文研究发现供试粳籼亚种的花药出愈的时间不同(见图 1), 相对而言, 与粳型亚种相比, 籼型亚种苏沪香粳的出愈率要远远高于扬稻 6 号, 但出愈最高峰的时间却比扬稻 6 号的迟. 虽然 32 d 之后两品种花药的出愈率较高, 但是其愈伤组织变得疏松和水样化, 均为非胚性愈伤组织, 愈伤组织的质量下降, 不利于继续诱导成苗. 因此, 本文记录的水稻花药的出愈率均以 32 d 为准.

2.2 不同培养基对供试水稻花粉出愈率的影响

本研究采用了通用培养基 M8、N6 和 MS, 比较不同培养基对其花粉出愈的影响, 见表 1, 相对而言, M8 基本培养基诱导水稻花药的诱导率最高, 而且粳籼亚种表现没有明显的差异, M8 可作为水稻花药培养的基本培养基.

2.3 单一碳源和复合碳源对供试水稻花粉出愈率的影响

培养基中的碳源主要是为培养物提供能量并维持渗透压, 其浓度与种类的变化可以引起花培效率的变化. 一般蔗糖为水稻花培培养基的常规碳源, 除蔗糖外, 其它糖类也可用作碳源, 特别对于规模化的水稻花培育种, 降低培养基成本也是需要考虑的问题, 因此本文以不同浓度的单一碳源蔗糖加入培养基中, 并以复合碳源白沙糖作为对比, 研究不同糖浓度对花药出愈率的影响(见表 2), 水稻粳籼亚种对糖的反应基本一致, 都是在 60 g/L 时诱导率最高, 愈伤组织的质量也为最好. 用复合糖白沙糖代替蔗糖加入 60 g/L, 也可以达到蔗糖类似的结果, 因此, 在今后水稻花培规模化育种中可以用白沙糖作为替代碳源.

2.4 不同琼脂浓度对供试水稻材料花药愈伤组织诱导的影响

琼脂作为培养基的固化剂起固定支撑培养物的作用, 而琼脂浓度则影响着培养基和培养物的水分状况. 已有研究表明, 提高琼脂浓度可以提高水稻花培的绿苗分化率^[4]. 但从本文的研究表明(见表 3), 不同基因型水稻对琼脂浓度的要求各不相同. 苏沪香粳花药愈伤组织诱导的培养基加入 6 g/L 琼脂, 其出愈率最高; 而扬稻 6 号则以加入 8 g/L 琼脂为最适宜, 并不是简单的正效应.

2.5 不同激素对供试水稻材料花粉愈伤诱导的影响

外源激素的作用可促进愈伤组织的发生和分化, 因此激素是花培培养基中提高愈伤组织出愈率和调节愈伤组织生长状态的重要成分. 通常在愈伤组织培养中脱分化主要使用 2,4-D, 已有研究表明粳稻比籼稻要求高的激素水平. 但是从表 4 可以看出, 加入 1 mg/L 2,4-D 的浓度对这两种水稻花药即可获得相

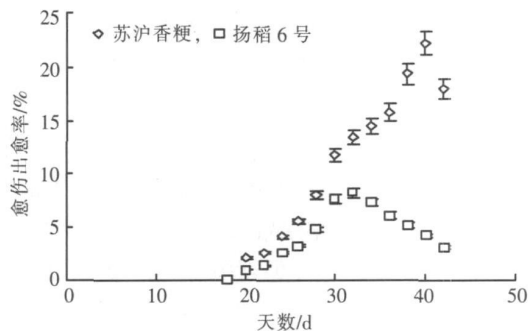


图 1 不同接种天数扬稻 6 号和苏沪香粳花药出愈率的比较
Fig.1 Comparison in the inductivity of callus from anther in *Indica* rice Yangdao 6 and *Japonica* rice Suhuxiangjing at different days for vaccination

表 1 不同培养基对供试水稻材料花粉出愈率的影响

Table 1 Effects of the inductivity of callus of anther in rice in different mediums

品种	培养基	接种花药数目	花药愈伤出愈率 %
扬稻 6 号 (I)	M8	102 ± 3	6.7 ± 0.13
	N6	103 ± 2	4.1 ± 0.20
	MS	101 ± 4	4.6 ± 0.10
苏沪香粳 (J)	M8	103 ± 2	10.9 ± 0.23
	N6	102 ± 3	8.2 ± 0.25
	MS	105 ± 3	8.6 ± 0.21

诱导愈伤的培养基均附加 60 g/L 蔗糖, 1 mg/L 2,4-D, 100 mg/L 脯氨酸, 8 g/L 琼脂和 300 mg/L 水解酪蛋白, 水稻花药愈伤组织的出愈率是从将花药放入培养基之后计算的. *Indica* *Japonica*

表 2 不同浓度的碳源对供试水稻花药的出愈率的影响

Table 2 Effects of different sucrose concentration on inductivity of rice callus of anther in rice

品种	碳源	浓度 / (g/L)	接种花药数目	花药愈伤出愈率 %
扬稻 6 号 (I)	sucrose	30	105 ± 3	1.7 ± 0.13
	sucrose	40	107 ± 2	4.1 ± 0.20
	sucrose	50	109 ± 4	5.6 ± 0.10
	sucrose	60	111 ± 5	7.6 ± 0.21
	sucrose	70	109 ± 5	4.1 ± 0.10
苏沪香粳 (J)	White sugar	60	104 ± 3	7.9 ± 0.14
	sucrose	30	103 ± 2	3.1 ± 0.23
	sucrose	40	102 ± 3	5.2 ± 0.25
	sucrose	50	109 ± 5	8.3 ± 0.12
	sucrose	60	106 ± 4	12.2 ± 0.22
	sucrose	70	102 ± 3	7.5 ± 0.32
	White sugar	60	105 ± 3	12.6 ± 0.21

诱导愈伤的培养基以 M8 为基本培养基, 均附加 60 g/L 蔗糖, 1 mg/L 2,4-D, 100 mg/L 脯氨酸, 8 g/L 琼脂和 300 mg/L 水解酪蛋白, 水稻花药愈伤组织的出愈率是从将花药放入培养基之后计算的. *Indica* *Japonica*

对高的出愈率. 单独施加 2 4- D 只是对不同亚种水稻材料花药愈伤组织的质量影响较大, 如粳型苏沪香粳花粉对高浓度的 2 4- D 反应敏感, 在 2 mg/L 的 2 4- D 浓度下, 不仅其花药诱导率高, 而且愈伤组织增殖得快, 但是愈伤组织呈水样状, 而且组织比较疏松, 并不利于分化成再生植株, 而籼型水稻扬稻 6号对高浓度激素的反应较迟钝, 其愈伤仍增殖较慢, 但是其愈伤组织比较致密, 干燥, 愈伤组织的质量比较好. 本文在 1 mg/L 的 2 4- D 中, 施加不同浓度的萘乙酸, 结果见表 5 随着 NAA 浓度的增加 (1~ 3 mg/L), 2种供试材料花药的出愈率均显著提高, 但是当 NAA 浓度增加到 4 mg/L 时, 出愈率反而下降了, 说明 NAA 的浓度有一个阈值. 在 1 mg/L 2 4- D 和 3 mg/L NAA 的复合激素浓度下, 继续添加 1 mg/L 的 KT, 发现可极大地诱导两品种花药出愈率的提高, 可见, 水稻花药诱导愈伤是一个复杂的过程, 使用合理的激素组分及不同的激素配比是影响花培效率的重要因素.

表 4 不同 2 4- D 浓度对供试水稻材料花药愈伤组织诱导的影响

Table 4 Effects of different 2, 4- D concentration on inductivity of rice callus of anther in rice

品种	2 4- D 浓度 / (mg/L)	接种花药数目	花药愈伤出愈率 %
扬稻 6号 (I)	0	105±3	1.7±0.13
	1	107±2	3.5±0.20
	2	109±4	2.1±0.10
	3	106±3	1.7±0.20
苏沪香粳 (J)	0	103±2	3.1±0.23
	1	102±3	10.9±0.25
	2	107±5	6.2±0.22
	3	109±3	4.6±0.13

诱导愈伤的培养基以 M8 为基本培养基, 均附加 60 g/L 蔗糖, 100 mg/L 脯氨酸, 8 g/L 琼脂和 300 mg/L 水解酪蛋白, 水培养基之后计算的. *Indica japonica*

2.6 不同低温预处理花粉对供试水稻材料花粉出愈率的影响

研究认为, 低温处理作用机制是延缓花粉的退化、维持花粉发育的生理环境、提高内源生长素水平并降低乙烯水平、启动雄核发育等^[5]. 在单核靠边期进行低温预处理是有效提高花培效率的手段. 适宜的低温预处理可使杂交稻愈伤组织发生率(出愈率)提高几倍至几十倍. 但是不同籼粳亚种冷处理的最适时间和最适温度则并不相同, 从表 6 看出, 扬稻 6号低温处理 9 d 出愈率最高 (8.5%); 苏沪香粳低温处理 12 d 出愈率最高 (15.05%), 可见, 粳型水稻低温预处理天数比籼型的多 2~ 3 d 推测这可能与粳稻比较适应低温环境有关.

表 3 不同琼脂浓度对供试水稻材料花药愈伤组织诱导的影响

Table 3 Effects of different agar concentration on inductivity of rice callus of anther in rice

品种	琼脂浓度 / (g/L)	接种花药数目	花药愈伤出愈率 %
扬稻 6号 (I)	6	105±3	2.7±0.13
	8	107±2	5.1±0.20
	10	109±4	3.6±0.10
	12	111±5	1.6±0.21
苏沪香粳 (J)	6	103±2	11.1±0.23
	8	102±3	9.2±0.25
	10	109±6	7.3±0.12
	12	107±5	3.2±0.22

诱导愈伤的培养基以 M8 为基本培养基, 均附加 60 g/L 蔗糖, 1 mg/L 2 4- D, 100 mg/L 脯氨酸和 300 mg/L 水解酪蛋白, 水稻花药愈伤组织的出愈率是从将花药放入培养基之后计算的.

Indica japonica

两品种花药出愈率的提高, 可见, 水稻花药诱导愈伤是一个复杂的过程, 使用合理的激素组分及不同的激素配比是影响花培效率的重要因素.

表 5 不同萘乙酸浓度对供试水稻材料花药愈伤组织诱导的影响

Table 5 Effects of different NAA concentration on inductivity of rice callus of anther in rice

品种	NAA 浓度 / (mg/L)	KT 浓度 / (mg/L)	接种花药数目	花药愈伤出愈率 %
扬稻 6号 (I)	1	0	105±3	2.9±0.13
	2	0	107±2	4.1±0.20
	3	0	109±4	7.6±0.10
	4	0	109±5	5.9±0.31
苏沪香粳 (J)	3	1	109±4	8.9±0.31
	1	0	103±2	10.1±0.23
	2	0	102±3	11.2±0.25
	3	0	107±5	13.2±0.22
	4	0	106±3	12.6±0.43
	3	1	103±3	16.6±0.51

诱导愈伤的培养基以 M8 为基本培养基, 均附加 60 g/L 蔗糖, 1 mg/L 2 4- D, 3 mg/L NAA, 1 mg/L KT, 100 mg/L 脯氨酸, 8 g/L 琼脂和 300 mg/L 水解酪蛋白, 水培养基之后计算的.

Indica japonica

表 6 低温处理不同天数对供试水稻材料花药愈伤组织诱导的影响

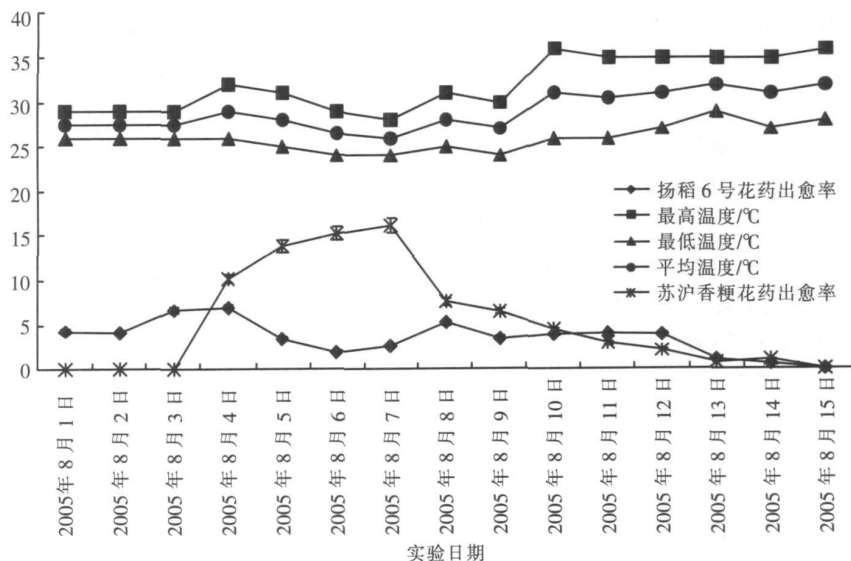
Table 6 Effects of different days after chilling treatment of 4°C on inductivity of rice callus of anther in rice

品种	低温处理天数 (4°C)	接种花药数目	花药愈伤出愈率 %
苏沪香粳 (J)	8	106±6	2.12±0.2
	9	108±3	3.00±0.13
	10	109±4	8.44±0.31
	11	102±3	12.36±0.35
	12	106±4	15.05±0.52
扬稻 6号 (I)	8	101±3	6.11±0.24
	9	103±6	8.50±0.21
	10	109±4	4.00±0.31
	11	106±3	6.50±0.16
	12	102±5	5.12±0.26

诱导愈伤的培养基以 M8 为基本培养基, 均附加 60 g/L 蔗糖, 1 mg/L 2 4- D, 3 mg/L NAA, 1 mg/L KT, 100 mg/L 脯氨酸, 8 g/L 琼脂和 300 mg/L 水解酪蛋白, 水稻花药愈伤组织是以把花药接种到培养基之后计算的. *Indica japonica*

2.7 取样的气候状况对供试水稻材料花粉愈伤

本文还发现在相同培养基组分和低温预处理天数下,同一种水稻品种其花药愈伤组织的诱导率也有不同,为此本文进一步考察了取样时南京天气状况对花药愈伤诱导率的影响(图 2),发现取样的平均温度对其诱导率影响很大,呈极显著相关($r < 0.01$).而且对于不同的水稻亚种则影响不同,对粳型亚种,花药取样的平均气温在 26~31℃之间,花粉都有响应,可以诱导出愈伤组织,但是最低温度低于 25℃时,花药诱导率为 0 而籼型亚种的温度范围相对狭窄,其花药取样的平均温度在 27~30℃之间花药愈伤有不同程度的诱导,而且最高气温高于 35℃时,其花药诱导率也为 0,可见,低温较多地影响了粳型水稻的花粉活力,而高温更多地影响了籼型花粉活力.水稻花药取样的天气状况也是花药培养应该注意的问题之一.



诱导愈伤的培养基以 M8 为基本培养基, 均附加 60 g/L 蔗糖, 1 mg/L 2,4-D, 3 mg/L NAA, 1 mg/L KT, 100 mg/L 脯氨酸, 8 g/L 琼脂和 300 mg/L 水解酪蛋白, 水稻花药愈伤组织是以把花药接种到培养基之后计算的. I: 粳稻, J: 籼稻.

图 2 取样的气候状况对供试水稻材料花粉愈伤组织诱导的影响

Fig.2 Effects of air conditongs for sampling on inductivity of rice callus of anther in rice

2.8 不同供试水稻品种花药愈伤组织的再生

在诱导出质量较好的水稻花药愈伤组织后,其愈伤组织的分化与材料诱导的愈伤组织一样只要转接到分化培养基即可.本文采用已研制的成熟胚愈伤分化的培养基配方^[6],分化出绿苗,粳稻扬稻 6 号和籼稻苏沪香粳的绿苗分化率分别达到 2.7% 和 5.7% (见表 7).

表 7 不同水稻品种花药诱导愈伤组织的再生

Table 7 The clus from anther regeneration of different rice varieties

品种	接种愈伤组织数目	花药愈伤出愈率 %
扬稻 6 号 (I)	106 ± 3	2.7 ± 0.2
苏沪香粳 (J)	102 ± 5	5.7 ± 0.3

3 讨论

花药培养又称单倍体育种,是指以花药为外植体,诱导雄核单性发育,产生植株,将经染色体复制后的花粉植株用于作物育种的过程,它不仅是选择优良材料的重要手段^[7],而且也是保存基因资源和研究基因功能的重要方法^[8].花粉诱导愈伤组织后用于转化形成再生植株后加倍,这样通过单倍体加倍避免了嵌合体的问题,缩短了育种年限,也是培育新品种和遗传育种基础研究的优良材料.但是前人的研究多侧重于外源激素的调节上的探索^[9],而且目前生产上的主栽品种的研究并不多,所得到的花药培养的研究结果在生产上应用还有一段距离^[1].本研究则选取江苏生产上广泛应用的两个典型的粳型和籼型亚种水稻品种,分别从取样温度、低温预处理温度以及培养基中的蔗糖、琼脂和激素等花药培养的内外因子上系统研究了两种水稻品种的花培的再生技术体系,获得了如下花药培养的条件和培养基的配方:在气温 26~31℃之间,扬稻 6 号在 4℃低温预处理 9 d 接种到以 M8 为基本培养基,附加 2,4-D 1mg/L, NAA 3mg/L, KT 1mg/L, 脯氨酸 100 mg/L, 水解酪蛋白 300 mg/L 和琼脂浓度 8 g/L 的花药愈伤诱导培养基中,可以

获得高达 8.5% 的出愈率,愈伤组织转接分化培养基可获得 2.7% 的绿苗率.而苏沪香粳在气温 27~30℃ 之间,4℃低温预处理 12 d 接种到以 M8为基本培养基,附加 2,4-D 1mg/L, NAA 3mg/L, KT 1mg/L, 脯氨酸 100mg/L, 水解酪蛋白 300mg/L和琼脂浓度 6g/L的花药愈伤诱导培养基中,可以获得高达 15.05% 的出愈率,愈伤组织转接分化培养基也可获得 5.7% 的绿苗率.

供体植株的遗传背景的差异对花药培养成败关系甚大^[10], 本文研究通过不同外源激素的调节虽然可以使不同的水稻亚种的花粉达到脱分化的状态,但是粳型亚种的花药培养力还是显著地高于籼型的.适当的理化刺激作用,能有效改善花粉的生理状态,促进花药培养力的提高^[11],如低温预处理可提高水稻花药愈伤的诱导率.水稻花药培养要获得较高的绿苗率,不仅需要选择高诱导率的基因型,而且要注重基因型对培养条件和激素等的不同响应模式,还应兼顾外界环境因子对花药活力的影响,当其调节到一致的脱分化和再分化的条件时,花药培养力就能显著提高.有关研究为生产上的水稻主栽品种通过花培和基因工程选育优良品种提供了有益借鉴.

[参考文献]

- [1] 陈红,秦瑞珍.水稻花药培养过程中各种影响因子的研究进展 [J], 中国农业科技导报, 2007, 9(3): 52-56
- [2] 李大林.提高水稻花药培养效率分析 [J], 中国农学通报, 2004, 20: 128-131.
- [3] 谭长乐,张洪熙,戴正元,等.优质籼稻扬稻 6号库、源、流特性研究 [J], 中国农业科学, 2003 36(1): 26-30
- [4] 罗天宽,张小玲,刘庆,等.琼脂浓度对水稻花药绿苗率的影响 [J], 温州农业科技, 2003, 3: 47-48
- [5] 肖国樱.水稻花药培养研究 [J], 杂交水稻, 1992, 2: 44-46
- [6] 李霞,陈婷,周月兰.籼粳稻成熟胚愈伤组织培养力的比较 [J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2005, 28(4): 103-108
- [7] Guileton i E. Genetic selection in anther culture of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics 1991, 81 (3): 406-412
- [8] K kuchi K, Temuchi K, W ada M, H irano H Y. The plant M IFE m P ing is mobilized in anther culture [J]. Nature, 2003, 421 (6919): 167-170
- [9] Torrizo L B, Zapata F J. Anther culture in rice. IV. The effect of abscisic acid on plant regeneration [J]. Plant Cell Reports 1986 5(2): 136-139.
- [10] 陈英,田文忠,郑世文,等.影响籼稻花药培养诱导率的因素及基因型的作用研究 [C] // 胡含,王恒立.植物细胞工程与育种.北京:北京工业大学出版社, 1999: 12-18
- [11] 赵成章,戚秀芳,于飞,等.供体植株的生育状况对籼稻花药培养的影响 [J]. 中国农业科学, 1988, 21(2): 35-38

[责任编辑:孙德泉]