

籼粳稻成熟胚愈伤组织培养力的比较

李霞 陈婷 周月兰

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理研究所 210014 江苏 南京)

[摘要] 以中籼品种扬稻 6 号和粳稻 9908 为实验材料 , 研究不同品种成熟胚(种子) 愈伤组织的培养力. 结果表明 : 以 M8 为基本培养基 , 激素配比为 1 mg/L 2 μ -D、2 mg/L ABA、2 mg/L 6-BA 的培养基可以使扬稻 6 号的成愈率达到 90.5% ; 激素配比为 1 mg/L 2 μ -D 的培养基可以使 9908 的成愈率达到 88.2% ; 以 M₈ 为基本继代培养基 , 激素配比为 2 mg/L 2 μ -D、1 mg/L ABA 的培养基可以使扬稻 6 号和 9908 的愈伤组织的继代率分别为 71.6% 和 87.5% ; 以 MS 为基本培养基 , 激素配比为 0.2 mg/L 2 μ -D、2 mg/L 6-BA、2 mg/L KT 的培养基使扬稻 6 号和粳稻 9908 愈伤组织的植株再生分别达到 65.4% 和 62.7% , 建立了扬稻 6 号和 9908 稳定高效的组织培养再生体系.

[关键词] 籼粳水稻 , 成熟胚 , 组织培养力

[中图分类号] S511 , [文献标识码] A , [文章编号] 1001-4616(2005) 04-0103-06

The Comparison in Tissue Culture Ability from Mature Embryo in *Indica* and *Japonica* Rice Cultivars

Li Xia , Chen Ting , Zhou Yuelan

(Institute of Agrobiological Genetics and Physiology , Jiangsu Academy of Agricultural Sciences , 210014 , Nanjing , China)

Abstract The culture ability of callus from seeds of different rice varieties are studied with *indica* rice Yangdao 6 and *japonica* 9908 as materials. The results show that when using M8 as basic induction medium adding 1 mg/L 2 μ -D、2 mg/L ABA and 2 mg/L 6-BA , inductivity of callus in Yangdao 6 is high as 90.5 percents , while that in 9908 is high as 88.2 percents when using M8 as basic medium adding 1 mg/L 2 μ -D ; When using M₈ as basic subculture medium adding 2 mg/L 2 μ -D、1 mg/L ABA , the frequency of subculture ability in Yangdao 6 and 9908 are 71.6 percents and 87.5 percents , respectively ; and that when using MS as differentiation basic medium adding 0.2 mg/L 2 μ -D、2 mg/L 6-BA、2 mg/L KT , the frequency of regeneration in Yangdao 6 and 9908 are 65.4 percents and 62.7 percents , respectively. The stable and effective regenerated systems from seeds in Yangdao 6 and 9908 are established.

Key words *indica* and *japonica* rice , mature embryo , tissue culture ability

0 引言

水稻是世界一半以上人口的主食 , 在世界粮食生产和安全中起重要的作用. 籼稻和粳稻是亚洲栽培稻的两个亚种. 中籼品种扬稻 6 号(9311)不仅是在长江流域和黄淮地区杂交稻的先锋主栽组合两优培九的父本 , 而且也是扬两优 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^[1]. 而 9908 是江苏省新育成的优质高产晚粳品系 , 这些品种在生产上有重要的应用价值. 水稻基因转化正在品种改良和功能基因组研究等方面发挥着重要作用^[2]. 如通过转基因技术改良上述主栽水稻品种或亲本 , 将可能配组或育成新的高产、优质多抗的水稻新品种.

现在以粳稻品种为受体进行转基因研究的成功报道中多以花培的中花系列为主^[3-5] , 而作为占水稻 80% 的籼稻的离体培养的成功报道也不多^[6-8] , 特别以大面积生产的主栽水稻品种或亲本的遗传转化研

收稿日期 : 2005-02-21.

基金项目 : 江苏省农业科学院基金(6110419)、江苏省自然科学基金(BK2004429)、国际合作重点项目(2002AA217141)资助项目.

作者简介 : 李霞 , 女 , 1970— , 副研究员 , 博士 , 主要从事水稻植物生理研究. E-mail : jspxlx@jaas.ac.cn

万方数据

究就更少 ,而且也多以易诱导的幼穗和幼胚为外植体 ,究其主要原因是从成熟胚诱导的愈伤组织胚性较差 ,继代和分化较难 ,并且品种特异性大的问题 ,严重地影响了水稻转基因工作的开展^[9] .

我们以扬稻 6 号和 9908 为试验材料 ,从基本培养基的类型、外源激素、渗透压等因素的调节上比较上述供试水稻成熟胚愈伤组织的培养力 ,试图进一步优化上述水稻品种成熟胚愈伤组织诱导、愈伤组织的继代以及植株再生能力 ,建立高效稳定的水稻成熟胚组织培养再生体系 ,为水稻的遗传转化工作打下基础 .有关研究将对主栽水稻品种或亲本的分子育种及品种改良研究具有现实意义 .

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粳新品种 ,粳稻 9908 为江苏省武进稻麦良种场育成的优质高产晚粳品系 .

1.2 培养基

1.2.1 水稻愈伤组织诱导的培养基

基本培养基为 M8、N6、MS 的大量元素、微量元素及其有机成分 ,琼脂条 8 g/L ,设置附加 30 g/L、40 g/L、50 g/L 和 60 g/L 的蔗糖浓度 ,确定适宜的蔗糖浓度 ,设置附加 1 mg/L 和 2 mg/L 的 2 μ -D ;1 mg/L 和 2 mg/L 脱落酸(ABA ,Absciss acid) 0. 2 mg/L、1 mg/L 和 2 mg/L 6-苄基氨基嘌呤(6 - BA)和 0. 3 mg/L 的 KT 等外源激素 ,确定愈伤组织诱导中适宜的外源激素的浓度 .

1.2.2 水稻愈伤组织继代的培养基

M8 大量元素、微量元素及有机成分 ,蔗糖浓度为 50 g/L ,琼脂条 8 g/L ,设置附加不同浓度的 2 μ -D、ABA 6-BA 等激素成分 .

1.2.3 植株分化的培养基

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 7 g/L ,设置附加不同浓度的 2 μ -D 6-BA、KT 或 NAA 等激素成分 .

1.3 水稻成熟胚愈伤组织的诱导

将水稻成熟种子去壳 ,经 70% 乙醇处理 5 min 后用 0. 1% 氯化汞溶液浸泡 30 min ,再用无菌水漂洗 3 遍 ,放入 26℃ \pm 2℃ 培养过夜 ,次日再用 70% 乙醇处理 5 min ,之后用 0. 1% 氯化汞溶液浸泡 5 min ,再用无菌水漂洗 3 遍 .将消毒的稻种分别接种到不同的诱导培养基中 ,26℃ \pm 2℃ 黑暗条件下培养 30 d .计算愈伤组织诱导率 :

愈伤组织诱导率 = 产生的愈伤组织米粒数 / 接种的米粒数 \times 100%

1.4 水稻愈伤组织的继代培养

从上述种子胚盾片部分切下的愈伤组织 ,去掉芽等 ,接种到不同的继代培养基中 ,26℃ \pm 2℃ 暗培养 ,每 4 周继代 1 次 ,连续继代 3 次 ,观察各材料的愈伤组织继代能力 .

1.5 水稻愈伤组织的分化和植株再生

挑选生长良好、结构致密的愈伤组织 ,先转到分化培养基上 ,26℃ \pm 2℃ 黑暗条件下培养 2 周 .然后转至 26℃ \pm 2℃ 光照条件下培养 ,光强为 400 μ mol / m² \cdot s ,每日光照 16 h ,培养 30 ~ 50 d ,诱导不定芽 ,将产生绿芽的组织转至以 1/2 MS 为基本培养基的无激素的壮苗培养基中 ,26℃ \pm 2℃ 光照条件下培养 ,使其生根长成完整植株 .调查生成幼苗或植株的愈伤组织数 ,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 \times 100% .

表 1 不同培养基对水稻成熟胚出愈率的影响

| 培养基 | 品种 | 成熟胚数(种子数) | 出愈率 / % |
|-----|-------------|-------------|---------|
| M8 | 扬稻 6 号(1) | 102 | 85. 2 |
| | 9908(J) | 114 | 80. 2 |
| N6 | 扬稻 6 号(1) | 120 | 71. 3 |
| | 9908(J) | 105 | 55. 2 |
| MS | 扬稻 6 号(1) | 106 | 65. 2 |
| | 9908(J) | 121 | 40. 5 |

愈伤组织培养基中均附加 30 g/L 蔗糖、1 mg/L 2 μ -D 和 1 mg/L ABA ,I = 粳稻 ,J = 粳稻 .

2 实验结果

2.1 供试水稻品种成熟胚愈伤组织诱导的基本培养基

通常以 M8、N6 和 MS 为植物组织培养的基本培养

基. 从表 1 可见 ,以 M8 为基本培养基 ,水稻愈伤组织的诱导率最高. 为了便于比较 ,本研究以下的愈伤组织诱导研究均用 M8 为基本培养基. 现有的研究表明 籼稻比粳稻更难获得再生植株^[10 ,11]. 我们注意到 ,本研究中粳稻的诱导率比籼稻扬稻 6 号低 ,水稻组织培养的难易与品种的特异性还是关系很大的.

2.2 不同浓度的蔗糖浓度对水稻成愈率的影响

蔗糖是植物离体培养的最基本和最常用的碳源. 研究表明 :不同的外植体诱导愈伤组织添加的蔗糖浓度不同 ,如成熟胚为 30 g/L ,幼穗为 40 g/L ,花粉为 60 g/L 等^[10]. 实际上 ,糖类除作能源外 ,还可以作为渗透调节剂对愈伤组织的的质量起重要作用. 表 2 为不同浓度的蔗糖对成熟胚的成愈率和质量的影响的结果 ,结果表明 适当增加蔗糖浓度 ,可以提高成熟胚的出愈率 ,并且提高愈伤组织质量 ,但如果提高到 60 g/L 则明显降低了出愈率 ,影响了愈伤组织质量. 在本组织培养体系中成熟胚愈伤组织的诱导培养基中添加 50 g/L 的蔗糖为好.

表 2 不同浓度的蔗糖对扬稻 6 号成熟胚的出愈率的影响

| 蔗糖浓度/(g/L) | 接种的种子数 | 出愈率/% | 愈伤组织的形态 |
|--------------|--------|-------|---------------------|
| 30 | 54 | 75. 3 | 黄色 ,疏松颗粒 ,多水 ,生长快 |
| 40 | 49 | 81. 2 | 黄白色 ,颗粒状 ,致密成团 ,生长慢 |
| 50 | 58 | 86. 5 | 乳白色 ,致密 ,多角性 ,生长较快 |
| 60 | 46 | 60. 1 | 黄褐色 ,致密 ,干燥 ,生长很慢 |

培养基中附加 1 mg/L 2 μ -D 和 1 mg/L ABA

2.3 不同外源激素对供试水稻成愈率的影响

扬稻 6 号和 9908 在以 M8 为基本培养基 ,激素的种类与配比不同的培养基上愈伤组织的诱导情况 (见表 3). 其成熟胚诱导 1 周后 ,就能观察到愈伤组织从种胚的盾片处出现胚状突起 ,当在诱导培养基中再生长 2 周(接种 21 d 左右) ,产生嫩黄色、紧密和颗粒状愈伤组织 ,不同水稻品种的愈伤组织成愈率在不同培养基不同 ,诱导扬稻 6 号愈伤组织的最佳培养基为 M83 号培养基 ,成愈率可高达 90. 5% ,而且其愈伤组织比较致密、干燥 ,其外源激素的种类与配比为 1 mg/L 2 μ -D 2 mg/LABA 2 mg/L6-BA. 不少文献报道 ,水稻成熟胚的诱导培养基中附加 2 mg/L 2 μ -D 或者更高浓度^[7 8] ,而本研究增加 2 μ -D 的浓度(从 1 mg/L 到 2 mg/L)对籼稻成熟胚愈伤组织的成愈率反而下降. 与我们的结果不同 ,分析可能与我们使用较高浓度的蔗糖有关.

表 3 培养基激素种类与配比对不同水稻品种成熟胚愈伤组织诱导的影响

| 材料名称 | 培养基(M8) | 成熟胚数(种子数) | 愈伤组织诱导率/% | 愈伤组织的状态 |
|--------|--|-------------|-----------|------------|
| 扬稻 6 号 | 1 mg/L 2 μ -D | 504 | 80. 2 | 非胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 1 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA | 506 | 86. 1 | 胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 1 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA 2 mg/L 6-BA | 507 | 90. 5 | 胚性愈伤、繁殖较快 |
| | 1 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA 2 mg/L 6-BA 0. 3 mg/LKT | 509 | 86. 7 | 胚性愈伤、繁殖最快 |
| | 2 mg/L 2 μ -D 0. 2 mg/L 6-BA | 502 | 81. 2 | 非胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 2 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA | 512 | 61. 3 | 非胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 2 mg/L 6-BA | | | |
| | | | | |
| 9908 | 1 mg/L 2 μ -D | 503 | 88. 2 | 胚性愈伤、繁殖较快 |
| | 1 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA | 507 | 80. 2 | 胚性愈伤、繁殖较快 |
| | 1 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA 2 mg/L 6-BA | 505 | 80. 7 | 胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 1 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA 2 mg/L 6-BA 0. 3mg/LKT | 504 | 82. 1 | 胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 2 mg/L 2 μ -D 0. 2 mg/L 6-BA | 500 | 81. 3 | 非胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 2 mg/L 2 μ -D 2 mg/L ABA | 509 | 52. 1 | 胚性愈伤、繁殖较慢 |
| | 2 mg/L 6-BA | | | |
| | | | | |

以上以 M8 为基本培养基 ,添加 50 g/L 的蔗糖 ,

ABA 和 6-BA 对其愈伤组织诱导都有一定的促进作用 ,且两者联合使用对提高籼稻成熟胚愈伤组织诱导率作用更显著 ,再适当添加 KT 对其愈伤组织出愈率无明显提高 ,但其诱导出愈伤组织更干燥、更致密 ,有利于分化 ,这同前人的结果一致^[5]. 6-BA 对愈伤组织的出芽和增殖有重要作用 ,但我们研究表明 :添加 0. 2 mg/L 的 6-BA 对其出愈和愈伤组织的质量没有明显作用 ,但进一步提高 6-BA 到 2 mg/L ,则促进愈伤组织诱导和增殖.

而诱导 9908 愈伤组织的最佳培养基为 M8 号培养基 ,单独附加 1 mg/L 2 μ -D ,其成愈率高达 88. 2% ,

万方数据

但其愈伤组织形态与籼稻扬稻 6 号不同,组织比较疏松多水,再添加 6-BA、KT 对其出愈率影响不大,单独添加 ABA 对其愈伤组织的质量没有明显的促进作用,可见,粳稻成熟胚的诱导作用对外源激素没有籼稻的敏感。

在水稻等禾谷类作物组织培养中,ABA 对其诱导胚性愈伤组织、胚状体发生以及在继代培养中保持愈伤组织胚性作用早已得到肯定,特别对籼稻的作用更明显^[5,7]。本研究还发现,适当提高 ABA 浓度还可以使籼稻的出愈提早,提早 2 d 达到最大出愈率,但提高 2-*i*A-D 浓度则拮抗 ABA 的作用,而且降低其成愈率(图 1)。

2.4 不同水稻品种成熟胚愈伤组织继代活力的比较

在转基因过程中,一般要用选择剂筛选几轮才能得到转化子,因此,愈伤组织的继代能力是水稻离体培养再生体系必须考虑的重要方面。与来源于幼胚、幼穗的愈伤组织相比,成熟胚来源的愈伤组织继代更难^[6]。添加外源生长素是继代培养基中必不可少的成分。2-*i*A-D 是首选的激素种类,但是增加还是降低其浓度,不同的品种有不同的报道。而本研究表明,增加 2-*i*A-D 浓度有利于其继代,见表 4。如果继代时,只是更换新鲜的籼稻诱导培养基的成分,扬稻 6 号的继代率只有 36.1%,而且因附加诱导分化的 6-BA,不但继代率降低,而且愈伤组织会由浅黄色变成白色的致密形态,出现分化的迹象。2 周后会出现绿芽。去除 6-BA,则明显增加扬稻 6 号的继代率,如再增加 2-*i*A-D 浓度为 2 mg/L,可显著提高其继代率。在继代培养基中加入 1mg/L KT 虽减低了愈伤组织的继代率,但对胚性的保持有利,愈伤组织更致密、干燥。扬稻 6 号和 9908 的愈伤组织的继代能力对激素的敏感性表现类似,但相对而言,粳稻 9908 的继代能力比籼稻扬稻 6 号的高。

表 4 水稻愈伤组织的继代能力

| 品种 | 培养基 | 愈伤组织块数 | 愈伤组织的继代率/% |
|--------|---|--------|------------|
| 扬稻 6 号 | 1 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA 2 mg/L 6-BA | 203 | 36.1 |
| | 1 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA | 208 | 60.2 |
| | 2 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA | 206 | 71.6 |
| | 2 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA 1 mg/L KT | 209 | 40.6 |
| 9908 | 1 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA 2 mg/L 6-BA | 204 | 41.5 |
| | 1 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA | 207 | 76.5 |
| | 2 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA | 209 | 87.5 |
| | 2 mg/L 2- <i>i</i> A-D 1 mg/L ABA 1 mg/L KT | 208 | 50.2 |

以上以 M8 为基本培养基,添加 50 g/L 的蔗糖。

2.5 不同水稻品种愈伤组织的再生

水稻愈伤组织的再分化常用 MS 培养基,它较其他培养基如 N6、M8 或 B5 等较佳,一般采用 30 g/L 的蔗糖浓度,利于愈伤组织分化成芽或根^[12]。我们用扬稻 6 号和 9908 诱导的愈伤组织,在以 MS 为基本培养基,激素的种类与配比不同的培养基上生成再生植株的情况见表 5。其愈伤组织转移到以细胞分裂素(6-BA 和 KT)为主的再生培养基上,经过 3 至 4 周的培养,一些表面开始出现含有叶绿素的半球状多细胞的绿色区域,再通过 2 周的培养,一部分绿色区域开始形成幼苗。诱导扬稻 6 号生成再生植株的分化培养基为 MS1 号培养基,再生植株的频率达到 65.4%,其外源激素的种类与配比 0.2 mg/L 2-*i*A-D 2 mg/L 6-BA 2 mg/L KT,而且适当添加生长素类如 2-*i*A-D 对植株再生有利,诱导 9908 生成再生植株的最佳培养基为 MS2 号培养基,再生植株的频率达到 62.7%,激素的种类与配比为 0.5 mg/L 2-*i*A-D 2 mg/L KT,可见,两种水稻品种的分化培养基中都要加入少量的生长素类,但粳稻 9908 分化培养基中细胞分裂素和生长素的比率(4:1)比籼稻的(20:1)低。

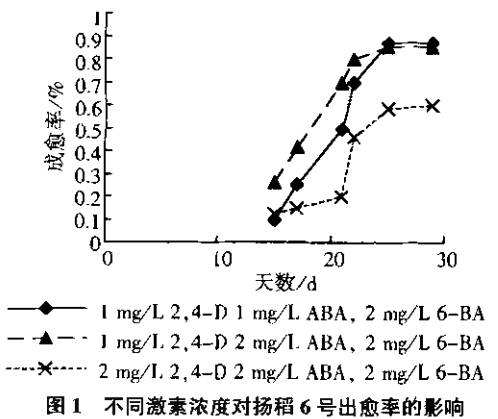


表 5 培养基激素种类与配比对不同水稻品种植株再生的影响

| 品种名称 | 培养基 | 愈伤组织数 | 再生植株的频率/% |
|--------|--|-------|-----------|
| 扬稻 6 号 | 0. 2 mg/L 2 β -D 2 mg/L 6-BA 2 mg/L KT | 50 | 65. 4 |
| | 0. 5 mg/L 2 β -D 2 mg/L KT | 50 | 50. 9 |
| | 5 mg/L 6-BA 1 mg/L NAA | 50 | 38. 9 |
| 9908 | 0. 2 mg/L 2 β -D 2 mg/L 6-BA 2 mg/L KT | 50 | 40. 1 |
| | 0. 5 mg/L 2 β -D 2 mg/L KT | 50 | 62. 7 |
| | 5 mg/L 6-BA 1 mg/L NAA | 50 | 41. 9 |

以上均以 MS 为基本培养基 ,附加蔗糖 30 g/L.

综合分析以上各种因子的实验结果 ,提出下列适宜的培养基配方见表 6.

表 6 扬稻 6 号和 9908 成熟胚组织培养再生体系的培养基

| 品种 | 诱导培养基 | 继代培养基 | 分化培养基 |
|--------|---|---|---|
| 扬稻 6 号 | M8 附加 50 g/L 蔗糖 1 mg/L 2 , 4-D 2 mg/L ABA 2 mg/L 6-A ; 0. 3 mg/L KT | M8 附加 50 g/L 蔗糖 2 mg/L 2 β -D ; 1 mg/L ABA | MS 附加 30 g/L 蔗糖 0. 2 mg/L 2 β -D ; 2 mg/L 6-BA 2 mg/L KT |
| 9908 | M8 附加 50 g/L 蔗糖 ; 1 mg/L 2 β -D | M8 附加 50 g/L 蔗糖 2 mg/L 2 β -D ; 1 mg/L ABA | MS 附加 30 g/L 蔗糖 ;0. 5 mg/L 2 β -D ; 2 mg/L KT |

3 讨论

在转基因技术的研究中 ,人们发现水稻器官组织培养的离体培养和植株再生困难重重.而水稻愈伤组织培养力的大小 ,是对水稻离体组织进行遗传操作的关键.目前用于转基因的外植体主要有胚性悬浮细胞系、成熟胚愈伤组织、幼胚及其愈伤组织、花药愈伤组织、分生组织盘、萌发的胚、叶基或根、茎尖分生组织等.其中成熟胚量大、取材方便、不受季节的限制 ,在转基因研究中有较为广阔的应用前景.水稻成熟胚愈伤组织的诱导和再生是组织培养中的两个关键问题 ,它们涉及到外植体的脱分化过程和愈伤组织的再分化过程^[13].影响水稻胚性愈伤组织形成和植株再生能力的因素包括基因型、外源激素、渗透压、外植体来源、固化剂、培养基其它成份以及温度、光周期和继代时间等多个方面 ,其中材料的基因型和外源激素的种类、浓度和配比是最主要的因素^[14].不同品种的基因型差异主要表现在它们对外源激素的敏感性的不同和作用效果的差异上.因植物体细胞转化为胚性细胞的一个重要前提是这些细胞必须脱离整体的约束而进行离体培养 ,并有相应的激素来诱导其细胞分化.由于离体细胞在开始往往缺乏合成生长素和细胞分裂素的能力 ,然而这些细胞的分化和分裂又必须依靠这两种激素的共同作用 ,因此在培养基中添加不同种类或不同浓度的外源激素是诱导胚胎形成必不可少的 ,而且对愈伤组织质量和再生频率影响极大^[15].目前水稻愈伤组织的诱导使用最多的生长素就是 2 β -D ,它是诱导胚性愈伤组织不可缺少的激素^[8].虽然籼稻扬稻 6 号和粳稻 9908 在只使用 1 mg/L 2 β -D 的培养基上都可诱导出愈伤组织 ,但不同的基因型 ,其愈伤组织的诱导情况不同.如籼稻扬稻 6 号其愈伤组织小 ,增殖慢 ,而且愈伤组织的质量状态不好 ,但粳稻 9908 则可以诱导较多的愈伤组织.如果诱导愈伤组织在施用用了 2 β -D 的基础上 ,另外添加了 ABA、6-BA、KT 等激素 ,特别对籼稻的成愈率和愈伤组织的质量和胚性作用很明显 ,并可获得了较高的诱导率 ,而对粳稻的愈伤组织的诱导作用不大 ,可见不同的基因型对激素的敏感性不同.

ABA 目前被认为是对诱导愈伤组织及愈伤组织胚性的保持有一定的作用 ,特别对籼稻的作用更明显^[7].本研究表明 :提高 ABA 的浓度还可提早籼稻扬稻 6 号的出愈的时间 ,而提高 2 β -D 的浓度则降低其出愈率 ,可见 ,在提高 2 β -D 浓度不适于提高籼稻的成熟胚愈伤组织的诱导率 ,而且高浓度的 2 β -D 浓度下形成的愈伤组织结构疏松 ,而且易长出须根 ,器官的分化能力较差 ,这与前人的结果一致^[16].

维持培养基中的渗透压对愈伤组织的质量有十分重要的作用.通常施用不同浓度的山梨醇或甘露醇等渗透调节物质来调控 ,但如其浓度使用不当很容易使组织褐化或死亡 ,影响了成熟胚的出愈率和继代能力.可以推测 ,这些物质的累积可能诱导了植物的逆境反应.本研究在诱导培养基中通过提高蔗糖的浓度 (50 g/L) ,使作为培养基的碳源蔗糖 ,同时调控了培养基的渗透压 ,并且提高了其成愈率 ,起到一举多得的作用.

本实验通过在基本培养基中高浓度的蔗糖 ,并辅助添加不同的激素种类和配比使扬稻 6 号和 9908 愈
万方数据

伤组织的诱导分别达到 90.5% 和 88.2% ;使扬稻 6 号和 9908 愈伤组织的继代率分别达到 71.6% 和 87.5% ,其植株再生分别达到 65.4% 和 62.7% ,建立了扬稻 6 号和粳稻 9908 稳定高效的再生体系 ,为遗传转化工作打下基础.

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] 傅亚萍,斯华敏,朱正歌,等. 农杆菌转化花粉愈伤组织获得纯合的转基因水稻植株[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2001, 27(4): 407—410.
- [3] 金维正,段瑞君,张帆,等. 利用 Ac/Dc 转座子系统在水稻中获得无选择标记转基因植株的方法[J]. 生物工程学报, 2003, 19(6): 668—673.
- [4] 林春晶,王景余,林秀峰,等. 基因枪法转化粳稻胚性愈伤组织获得转基因植株[J]. 吉林农业大学学报, 2003, 25(1): 8—12.
- [5] 黄健秋,卫志明,安海龙,等. 根癌土壤杆菌介导的水稻高效转化和转基因植株的高频再生[J]. 植物学报, 2000, 42(11): 1172—1178.
- [6] 马炳田,李平,周开达,等. 杂交籼稻亲本愈伤组织培养力的研究[J]. 四川农业大学学报, 2002, 20(3): 200—204.
- [7] 余建明,张保龙,倪万潮. 影响“扬稻 6 号”成熟胚愈伤组织再生植株的因子[J]. 江苏农业学报, 2002, 18(4): 199—202.
- [8] 田文忠. 提高籼稻愈伤组织再生频率的研究[J]. 遗传学报, 1994, 21(3): 215—221.
- [9] 王莉江,明小天,安成才,等. 籼稻明恢 63 成熟种子愈伤组织的诱导及转基因水稻的抗性检测[J]. 生物工程学报, 2002, 18(3): 123—126.
- [10] 李梅芳,周开达,主编. 籼稻花培育种[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2001.
- [11] 杜彬,张尧忠,贺庆瑞,等. 云南籼、粳稻组织培养力差异[J]. 西南农业学报, 1994, 7(1): 30—33.
- [12] 颜昌敬,编著. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.
- [13] 易自力,曹守云,王力,等. 提高农杆菌转化水稻频率的研究[J]. 遗传学报, 2001, 28(4): 352—358.
- [14] 易自力,严钦泉,邓启云,等. 几种水稻籼型恢复系和不育系离体培养和遗传转化的研究[J]. 湖南大学学报: 自然科学版, 2002, 29(1): 1—7.
- [15] 吴建国,陈双燕,石春海,等. 籼稻基因转化中的组织培养系统研究[J]. 中国农学通报, 2002, 18(1): 36—40.
- [16] 王子斌,潘学彪,唐克轩,等. 提高籼稻品种组织培养效果的研究[J]. 扬州大学学报: 自然科学版, 2001, 4(2): 37—41.

[责任编辑 孙德泉]