

CNIC-01379
CSNAS-0129

中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE
AND TECHNOLOGY REPORT

γ 射线、秋水仙碱在水稻花药组培中
对愈伤组织形成和绿苗再生的刺激效应

STIMULATION EFFECTS OF γ -IRRADIATION
COMBINED WITH COLCHICINE ON CALLUS
FORMATION AND GREEN PLANT REGENERATION IN
RICE ANTHHER CULTURE

(In Chinese)



中国核情报中心
原子能出版社

China Nuclear Information Centre
Atomic Energy Press

图书在版编目 (CIP) 数据

中国核科技报告 CNIC-01379 CSNAS-0129: γ 射线、秋水仙碱在水稻花药组培中对愈伤组织形成和绿苗再生的刺激效应/金卫等著. —北京: 原子能出版社, 1999. 9

ISBN 7-5022-2040-2

I. 中… II. 金… III. 核技术-中国-研究报告 IV. TL-2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 45844 号

原子能出版社出版发行

责任编辑: 孙凤春

社址: 北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码: 100037

中国核科技报告编辑部排版

核科学技术情报研究所印刷

开本 787×1029 1/16 · 印张 1/2 · 字数 11.5 千字

1999 年 9 月北京第一版 · 1999 年 9 月北京第一次印刷

定价: 5.00 元



金卫：浙江省农业科学院原子能利用研究所副研究员。1981年毕业于浙江农业大学农学系农学专业，从事水稻辐射遗传育种研究。

JIN Wei: Associate professor. Graduated from Agronomy Department of Zhejiang Agricultural University in 1981, majoring in Agronomy. Since 1982, he has been engaged in researching radioactive breeding and radioactive genetics in rice.

CNIC-01379
CSNAS-0129

γ 射线、秋水仙碱在水稻花药组培中 对愈伤组织形成和绿苗再生的刺激效应*

金 卫 陈秋方 王彩莲 吕忆梅

(浙江省农业科学院原子能利用研究所, 杭州, 310021)

摘 要

在水稻花药的组织培养中, 对不同类型和品种, 其愈伤组织的形成、绿苗的分化和再生能力有很大差异。用 γ 射线和秋水仙碱处理经 30 d 左右诱导培养的水稻花药, 可以有效地促进愈伤组织的形成及绿苗的分化和再生。其中, γ 射线 10 Gy 剂量处理对愈伤组织形成效果最好, 20 Gy 剂量处理对绿苗的分化和再生效果最佳, 在分化培养基中加入 30 mg/L 秋水仙碱可明显促进绿苗的分化和再生。 γ 射线和秋水仙碱复合处理比各自单独处理效果更好。

* IAEA 和浙江省人事厅专家处资助项目。

Stimulation Effects of γ -Irradiation Combined with Colchicine on Callus Formation and Green Plant Regeneration in Rice Anther Culture*

(*In Chinese*)

JIN Wei CHEN Qiufang WANG Cailian LU Yimei
(Institute for Application of Atomic Energy, Zhejiang Academy of
Agricultural Sciences, Hangzhou, 310021)

ABSTRACT

The ability of callus formation and green plant regeneration was very different for various rice types and varieties in rice anther culture. It was quite effective that rice anthers were irradiated with 10~40 Gy of γ -rays after 30 d incubation on induction medium and calli were treated on differentiation medium contained 10~75 mg/L of colchicine for increase of callus formation and green plant regeneration. Among these treatments, 10 Gy of γ -rays was the best for callus formation, and 20 Gy of γ -rays or 30 mg/L of colchicine was the most favourable for green plant regeneration. The stimulation effect of 20 Gy of γ -irradiation combined with 30 mg/L of colchicine on green plant regeneration was much better than that of their separate use in rice anther culture.

* The project was supported by IAEA and Expert Division of Personnel Department of Zhejiang Province.

前 言

在植物细胞工程研究中,花药组培的研究一直是一个重要内容^[1~12]。由于花药(粉)是单倍体,对于二倍体的水稻来说,是研究其基因遗传、变异和表现的好材料;同时又由于没有显性基因的作用,使处理当代(H_1)的隐性基因能够得以表现,一旦出现优良单株,经人工加倍又能很快稳定,增加了选择机会,缩小了选种群体,缩短了育种时间,从而提高了育种效率^[1, 2, 8]。但由于品种间遗传背景的不同和水稻花培技术的不够完善和成熟,使通常情况下的花培绿苗再生能力较低,很难满足水稻育种对花培植株的数量要求。因此,提高绿苗再生能力就成为水稻花培技术能否在水稻育种中广泛应用的关键。据报道, γ 射线处理经诱导培养后的水稻花药可促进水稻愈伤组织的形成和绿苗的再生^[7~9],但秋水仙碱处理愈伤组织可促进分化和提高绿苗再生能力的报道甚少。我们曾用 γ 射线20 Gy剂量处理诱导培养达30 d的粳型水稻品种台北309的花药,使其绿苗再生能力比对照提高了300多倍,每100个愈伤组织再生出的绿苗株达491.8株^[7]。

本研究设计了多组试验,旨在以往研究的基础上改进水稻花药培养技术,提高花药培养中愈伤组织形成及绿苗分化和再生的能力,使之能达到水稻育种的要求,并进一步检验 γ 射线辐照和秋水仙碱处理对促进绿苗再生的有效性,为进一步完善水稻花药组培技术提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 供试品种

粳稻:王穗波、早粳26、浙粳26、早粳12、早粳19、辽粳10、越光、早粳28、早粳15;

籼稻:中试2号、舟优6号、中优早2号、嘉兴13、浙9248、杭93-1、舟903、G93-368、嘉兴35。

1.2 培养基

1.2.1 诱导培养基

$N_6+2.4-D$ 2 mg/L,蔗糖60 g/L,琼脂粉7 g/L, pH5.8。分别装入2.0×15.0 cm试管中,每管15 ml,灭菌后待用。

1.2.2 分化培养基

MS+BAP 2.3 mg/L, NAA 0.5 mg/L,肌醇100 mg/L,水解酪蛋白100 mg/L, V_{B1} 200 mg/L,蔗糖30 g/L,琼脂粉9 g/L, pH5.8,灭菌后待用。此外,根据试验要求,在上述有关分化培养基中另外再分别加入秋水仙碱0, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200 mg/L。分别装入2.5×20.0 cm试管中,每管20 ml,灭菌后待用。

1.3 试验方法

1.3.1 预处理

将花粉粒处于单核靠边期的稻穗连同叶鞘剪下(晴天露水干后取样,雨天预先将盆钵移至玻璃房内),去除叶片,用塑料薄膜包裹后置于8~10℃中冷处理5 d,然后去除叶鞘,分别用70%酒精和0.5%次氯酸钠溶液作表面消毒30 s和10 min后,用无菌水漂洗3次待用。

1.3.2 诱导培养

取稻穗中部颖花,剪去茎部,将花药敲入盛有诱导培养基的试管中,每次处理10管,每管约50个花药。接种后在25~28℃下进行暗培养。

1.3.3 辐照处理

诱导培养至30 d时,分别取一个粳稻和一个籼稻的品种花药,用0, 10, 20, 30, 40 Gy剂量 γ 射线进行辐照处理,另取粳、籼稻各三个品种的花药分别用20 Gy γ 射线进行辐照处理。

1.3.4 分化培养

当愈伤组织直径达1~2 mm时,将其转移到分化培养基上,每管接种2块,每隔10 d转移一次,先后共三次。同时将早粳26和舟优6号的未经 γ 射线处理的愈伤组织转移到含有不同浓度秋水仙碱的分化培养基上,将其经 γ 射线处理的愈伤组织转移到不含秋水仙碱的分化培养基上,将其经20 Gy剂量处理的愈伤组织转移到含有30 mg/L秋水仙碱的分化培养基上,每管接种2块,每隔10 d转移一次,先后共两次。

上述分化培养均在25~28℃的昼光夜暗条件下进行。40 d后观察和统计各处理分化出绿苗的愈伤组织块数和转移的愈伤组织总数,并逐步将绿苗分离并转移至MS基本培养基上继续培养,最后统计对照和各处理再生的绿苗数。

2 结果与分析

2.1 不同品种基因型对愈伤组织形成和绿苗分化与再生的影响

在供试的9个粳稻品种中,有8个品种的花药形成愈伤组织,其中仅有3个品种分化和再生出了绿苗。形成愈伤组织和分化、再生绿苗的能力以王穗波品种最强,早粳15最差,该品种甚至没有形成愈伤组织。而在供试的9个籼稻品种中,只有3个品种形成了愈伤组织,其中仅有中试2号一个品种分化、再生出3株绿苗。

总体上看,粳稻的愈伤组织形成能力和绿苗分化、再生能力明显强于籼稻,就分化绿苗愈伤组织个数,再生绿苗数等指标看,供试的9个粳稻要比9个籼稻平均高10倍以上。而在粳稻或籼稻中,品种之间的愈伤组织形成和绿苗分化、再生能力又存在显著差异,如表1所示。

表 1 不同类型水稻品种花药形成愈伤组织和分化、再生绿苗的能力

品种名称	接种花药数		转移愈伤组织数		分化绿苗愈伤组织数		再生绿苗数	
	个		个	% ^①	个	% ^②	株	% ^③
王穗波 (粳)	500		152	30.4	5	3.3	24	15.8
早粳 26 (粳)	500		148	29.6	2	1.4	7	4.7
浙粳 26 (粳)	500		139	27.8	2	1.4	5	3.6
早粳 12 (粳)	500		131	26.2	0	0.0	0	0.0
早粳 19 (粳)	500		126	25.2	0	0.0	0	0.0
辽粳 10 (粳)	500		102	20.4	0	0.0	0	0.0
越光 (粳)	500		89	17.8	0	0.0	0	0.0
早粳 28 (粳)	500		45	9.0	0	0.0	0	0.0
早粳 15 (粳)	500		0	0.0	0	0.0	0	0.0
合计	4500		932.00		9.00		36.00	
平均	500		103.56	20.71	1.00	0.97	4.00	3.86
中试 2 号 (籼)	500		127	25.4	1	0.8	3	2.3
舟优 6 号 (籼)	500		116	23.2	0	0.0	0	0.0
中优早 2 号 (籼)	500		39	7.8	0	0.0	0	0.0
嘉兴 13 (籼)	500		0	0.0	0	0.0	0	0.0
浙 9248 (籼)	500		0	0.0	0	0.0	0	0.0
杭 93-1 (籼)	500		0	0.0	0	0.0	0	0.0
舟 903 (籼)	500		0	0.0	0	0.0	0	0.0
G93-368 (籼)	500		0	0.0	0	0.0	0	0.0
嘉兴 35 (籼)	500		0	0.0	0	0.0	0	0.0
合计	4500		282.00		1.00		3.00	
平均	500		31.33	6.27	0.10	0.35	0.30	1.00

注: ① 为转移愈伤组织占接种花药数的百分比;

② 为分化绿苗愈伤组织和再生绿苗分别占转移愈伤组织的百分比。

2.2 γ 射线辐照剂量对愈伤组织形成和绿苗再生的影响

以王穗波 (粳型) 和中试 2 号 (籼型) 两品种为例, 将其花药诱导培养 30 d 后进行辐照处理, γ 射线辐照剂量在 10~40 Gy 之间, 愈伤组织形成和绿苗分化及再生的能力均比对照有明显提高, 其中促进愈伤组织形成以 10 Gy 剂量为佳, 高于 10 Gy 剂量的处理对愈伤组织造成损伤, 使转移愈伤组织数随剂量的提高而下降。促进绿苗分化和再生以 20 Gy 剂量处理为佳, 高于 20 Gy 剂量的处理对绿苗的分化和再生造成损伤, 使再生绿苗数随剂量的提高而下降。 γ 射线处理, 对粳稻 (王穗波) 花药在愈伤组织形成、绿苗分化和再生等方面的促进作用要显著优于籼稻 (中试 2 号), 如表 2 所示。

表 2 γ 射线辐照剂量对水稻花药形成愈伤组织和分化、再生绿苗的影响

品种 名称	辐照剂量 Gy	接种花药数 个	转移愈伤组织数		分化绿苗愈伤组织数		再生绿苗数	
			个	% ^①	个	% ^②	株	% ^③
干穗波 (ck) (粳)	0	500	152	30.40 (—)	5	3.29 (—)	24	15.79 (—)
	10	500	214	42.80 (+40.79) ^④	9	4.21 (+80.00)	98	45.79 (+308.33) ^⑤
	20	500	198	39.60 (+30.26) ^⑤	29	14.65 (+480.00) ^⑥	997	503.54 (+4054.17) ^⑥
	30	500	173	34.60 (+13.82)	11	6.36 (+120.00)	141	81.50 (+487.50) ^⑥
	40	500	161	32.20 (+5.92)	7	4.34 (+40.00)	55	34.16 (+129.17) ^⑥
	合计	2500	898		61		1315	
	平均	500	179.60	35.92	12.20	6.79	263.00	146.44
	中试 2 号 (ck) (籼)	0	500	127	25.40 (—)	1	0.80 (—)	3
10	500	176	35.20 (+38.58) ^④	3	1.70 (+200.00)	15	8.52 (+400.00) ^⑤	
20	500	161	32.20 (+26.77) ^⑤	5	3.11 (+400.00)	52	32.30 (+1633.33) ^⑥	
30	500	148	29.60 (+16.54)	3	2.03 (+200.00)	13	8.78 (+333.33) ^⑥	
40	500	133	26.60 (+4.72)	2	1.50 (+100.00)	5	3.76 (+66.67)	
合计	2500	745		14		88		
平均	500	149.00	29.80	2.80	1.88	17.60	11.81	

注：① 为转移愈伤组织占接种花药的百分数；

② 为分化绿苗愈伤组织和再生绿苗分别占转移愈伤组织的百分数；

③ 为在 5%水平上与对照有显著差异；

④ 为在 1%水平上与对照有显著差异；

⑤ 括号内的数字为比对照增加的百分数。

2.3 γ 射线辐照对水稻不同类型和品种形成愈伤组织和分化、再生绿苗的影响

将来自 3 个粳稻和 3 个籼稻品种的花药诱导培养 30 d 后用 20 Gy γ 射线进行辐照处理，结果表明，经处理后所形成的愈伤组织，分化和再生的绿苗株数，均比各自的对照有明显增加，尤其是分化和再生的绿苗数有了大幅度的提高。其中直径在 1 mm 以上的愈伤组织增加了 0.12~0.19 倍，分化出绿苗的愈伤组织数增加了 2.3~4.2 倍，再生绿苗数增加了 12~37 倍。虽然在 γ 射线处理情况下，籼稻花药分化和再生绿苗的能力依然不及粳稻，但也有了十分明显的提高，经 20 Gy γ 射线处理后，甚至原来难以分化出绿苗的两个籼稻品种也再生出了绿苗，如表 3 所示。

表3 γ 射线辐照剂量对不同类型水稻品种花药愈伤组织形成和绿苗分化、再生的影响

品种名称	辐照剂量	接种花药数 个	转移愈伤组织数		分化绿苗愈伤组织数		再生绿苗数	
	Gy		个	% ^①	个	% ^②	株	% ^③
王穗波 (ck) (粳)	0	500	161	32.20 (—)	6	3.73 (—)	28	17.39 (—)
	20	500	191	38.20 (+18.63) ^④	31	16.23 (+416.67) ^⑤	1056	552.88 (+3671.43) ^⑤
早粳26 (ck) (粳)	0	500	143	28.60 (—)	3	2.10 (—)	9	6.29 (—)
	20	500	160	32.00 (+11.89)	11	6.88 (+266.67) ^⑤	127	79.38 (+1311.11) ^⑤
浙粳26 (ck) (粳)	0	500	129	25.80 (—)	2	1.55 (—)	5	3.88 (—)
	20	500	145	29.00 (+12.40)	7	4.83 (+250.00) ^⑤	81	55.86 (+1520.00) ^⑤
	合计	3000	929		60		1306	
	平均	500	154.83	30.97	10.00	6.46	217.67	140.59
中试2号 (ck) (籼)	0	500	120	24.00 (—)	1	0.83 (—)	4	3.33 (—)
	20	500	135	27.00 (+12.50)	5	3.70 (+400.00) ^⑤	52	38.52 (+1200.00) ^⑤
舟优6号 (ck) (籼)	0	500	111	22.20 (—)	0	0.00	0	0.00
	20	500	125	25.00 (+12.62)	3	2.40	19	15.20
中优早2号 (ck) (籼)	0	500	45	9.00 (—)	0	0.00	0	0.00
	20	500	52	10.40 (15.56)	2	3.85	7	13.46
	合计	3000	588		11		82	
	平均	500	98.00	19.60	1.83	1.87	13.67	13.95

注：① 为转移愈伤组织占接种花药数的百分比；

② 为分化绿苗愈伤组织和再生绿苗分别占转移愈伤组织的百分比；

③ 为在5%水平上与对照有显著差异；

④ 为在1%水平上与对照有显著差异；

⑤ 括号内的数字为比对照增加的百分数。

2.4 分化培养基中不同浓度秋水仙碱对愈伤组织形成和绿苗分化再生的影响

以早粳26(粳型)和舟优6号(籼型)两品种为例,分化培养基中秋水仙碱浓度在10~75 mg/L范围内,对愈伤组织形成和绿苗的分化和再生均有明显的促进作用。绿

苗分化以 30~50 mg/L 浓度的秋水仙碱处理较好, 而绿苗再生则以 30 mg/L 浓度的秋水仙碱处理最佳。对粳稻的处理效果总的要好于对籼稻的处理效果。秋水仙碱浓度超过 75 mg/L 时, 对接种的愈伤组织和分化再生的绿苗均有明显的伤害作用, 浓度超过 100 mg/L 时, 绿苗分化和再生明显减少, 部分愈伤组织和再生绿苗逐渐变褐枯死, 浓度超过 200 mg/L 时, 大部分愈伤组织变成黑褐色, 完全不能分化出绿苗, 如表 4 所示。

表 4 不同秋水仙碱浓度对水稻花药分化和再生绿苗的影响

品种名称	秋水仙碱浓度	转移愈伤组织数		分化绿苗愈伤组织数		再生绿苗数	
	mg/L	个	个	% ^①	株	% ^①	
早粳 26 (ck) (粳)	0	150	2	1.33(—)	11	7.33(—)	
	10	142	3	2.11(+50)	39	27.46(+254.55) ^②	
	20	162	5	3.09(+150)	78	48.15(+609.09) ^②	
	30	150	6	4.00(+200)	82	54.67(+645.45) ^②	
	40	124	5	4.03(+150)	54	43.55(+390.91) ^②	
	50	166	7	4.22(+250)	68	40.96(+518.18) ^④	
	75	114	3	2.63(+50)	21	18.42(+90.91)	
	100	158	2	1.27(0.00)	5	3.16(-54.55)	
	200	148	0	0.00(-100)	0	0.00(-100)	
合计		1314	33		358		
平均		146	3.67	2.31	39.78	27.25	
舟优 6 号(ck) (籼)	0	132	1	0.75(—)	7	5.30(—)	
	10	140	2	1.43(+100)	18	12.86(+157.14) ^②	
	30	142	4	2.82(+300)	45	31.69(+542.86) ^②	
	50	140	4	2.86(+300)	38	27.14(+442.86) ^②	
	75	132	2	1.52(+100)	12	9.09(+71.43)	
	100	130	1	0.77(0.00)	2	1.54(-71.43)	
	合计		816	14		122	
平均		136	2.33	17.13	20.33	14.95	

注: ① 为分化绿苗愈伤组织和再生绿苗分别占转移愈伤组织的百分数;

② 为在 5%水平上与对照有显著差异;

③ 为在 1%水平上与对照有显著差异;

④ 括号内的数字为比对照增减的百分数。

2.5 γ 射线和秋水仙碱复合处理对愈伤组织形成和绿苗分化再生的影响

经 20 Gy 剂量 γ 射线辐照和 30 mg/L 秋水仙碱复合处理, 早粳 26 和舟优 6 号的花药愈伤组织绿苗分化和再生能力, 要明显高于对照和 γ 射线、秋水仙碱各自单独的处理。早粳 26 和舟优 6 号两个品种经复合处理后, 分化出绿苗的愈伤组织个数占接种愈

伤组织总数的 7.50% 和 5.15%，分别比仅仅用 γ 射线辐照的高 33.33% 和 40.00%，比单独用秋水仙碱处理的高 100.00% 和 75.00%，比对照高 500.00% 和 600.00%；每百个愈伤组织再生绿苗平均分别为 97.50 株和 58.09 株，分别比仅仅用 γ 射线辐照增加了 35.51% 和 17.93%，比仅用秋水仙碱处理增加 78.34% 和 83.31%，比对照增加 1230.1% 和 996.04%，如表 5 所示。

表 5 γ 射线和秋水仙碱复合处理对水稻花药分化和再生绿苗的影响

品种名称	复合处理		转移愈伤组织数	分化绿苗愈伤组织数		再生绿苗数	
	γ 射线	秋水仙碱		个	% ^①	株	% ^②
	Gy	mg/L	个	% ^①	株	% ^②	
早粳 26(ck)	0	0	150	2	1.33(—)	11	7.33(—)
(粳)	0	30	150	6	4.00(+200)	82	54.67(+645.45) ^③
	20	0	164	9	5.49(+350) ^③	118	71.95(+972.73) ^③
	20	30	160	12	7.50(+500) ^④	156	97.50(+1318.18) ^④
合计			624	29		367	
平均			156	7.25	4.65	91.75	58.81
舟优 6 号(ck)	0	0	132	1	0.76(—)	7	5.30(—)
(籼)	0	30	142	4	2.82(+300)	45	31.69(+542.86) ^④
	20	0	136	5	3.68(+400) ^④	67	49.26(+857.14) ^④
	20	30	136	7	5.15(+600) ^④	79	58.09(+1028.57) ^④
合计			546	17		198	
平均			136.50	4.25	3.11	49.50	36.26

注：① 为分化绿苗愈伤组织和再生绿苗分别占转移愈伤组织的百分数；

② 为在 5% 水平上与对照有显著差异；

③ 为在 1% 水平上与对照有显著差异；

④ 括号内的数字为比对照增减的百分数。

3 讨 论

许多报道认为^[1~3, 7~9]，粳稻和籼稻由于属于不同的生态类型，其遗传背景有很大差异，采用通常的培养基和方法培养花药，其愈伤组织形成和绿苗的分化和再生能力有很大差异，即粳型水稻强于籼型水稻。本试验所采用的粳稻和籼稻，在经 γ 射线和秋水仙碱处理后也仍然具有这一特性。而品种之间由于其基因型的不同，其愈伤组织形成和绿苗分化再生能力更是千差万别。多数粳稻品种能形成愈伤组织，但不易产生绿苗，而多数籼稻品种的愈伤组织形成和绿苗再生都较困难。根据“细胞的全能性”理论，每一个有活力的植物细胞都具有再现其完整植株的潜在能力。对于那些目前花药培养尚很困难的植物或作物，只是由于人们目前还缺乏对它们的足够认识，还没有找到一种能使

它的花药形成愈伤组织和再生绿苗的方法和途径,并不是它本身缺乏出愈和再生能力。一旦找到了这种方法和途径,就会改变这种植物或作物的花药不易出愈和再生的状况。本研究中利用 γ 射线处理不能再生绿苗的花药后,使之再生出了绿苗就是一例。因此,不断地研究、摸索和掌握不同植物或作物品种在花药培养中的适宜条件,找到能有效地促进其愈伤组织形成和绿苗再生的方法和途径,对于发挥和挖掘花培技术在作物改良中的作用和潜力是有十分重要的意义的。

在本研究中, γ 射线处理剂量在10~40 Gy范围内,均对水稻花药的愈伤组织形成、绿苗分化和再生有明显的刺激促进作用。10 Gy处理剂量对形成花药愈伤组织效果最好,20 Gy处理剂量对分化和再生绿苗效果最好,如王穗波(粳型)品种的花药经20 Gy γ 射线处理,再生绿苗株由28株猛增到1056株,增加了36.7倍,中试2号的再生绿苗株则由4株增加到52株,增加了12倍。当 γ 射线辐照剂量继续提高后,虽然对形成愈伤组织和再生绿苗仍有促进作用,但 γ 射线的损伤效应也开始逐步增加。秋水仙碱处理效应也具有同样趋势,分化培养基中秋水仙碱浓度在10~75 mg/L范围内,对水稻花药分化和再生绿苗有明显的刺激促进作用,其中30 mg/L秋水仙碱处理对分化绿苗愈伤组织效果较佳,30 mg/L秋水仙碱处理对绿苗再生效果最好。当秋水仙碱浓度达到75 mg/L时,开始出现明显的毒害作用,到100 mg/L浓度时,绿苗的分化和再生明显减少,部分愈伤组织和已分化再生的绿苗又开始变褐枯死,秋水仙碱浓度进一步提高,则大部分愈伤组织变成黑褐色,完全不能分化、再生出绿苗。由于适宜的 γ 射线剂量和秋水仙碱浓度对水稻花药的绿苗分化和再生均具有明显的促进作用,因此我们进一步设计了一组复合处理试验,取 γ 射线和秋水仙碱的最优处理剂量组合成一复合处理,从试验效果看,尽管没有达到 γ 射线和秋水仙碱两者单独处理的效果之和,但也达到了两者单独处理效果之和的70%~80%,如早粳26,30 mg/L秋水仙碱单独处理的再生绿苗数为82株,20 Gy γ 射线单独处理的再生绿苗数为118株,20 Gy γ 射线和30 mg/L秋水仙碱复合处理的再生绿苗数为156株,占两者单独处理之和的78%。可见,复合处理更能提高水稻花药的绿苗再生能力。

至于 γ 射线和秋水仙碱刺激促进水稻花药(花粉)提高愈伤组织形成、绿苗再生和分化能力的机理,目前还不十分清楚。据推测,可能与适宜剂量的 γ 射线辐照能促进细胞亚显微结构的形成和适宜浓度的秋水仙碱能促进单倍体加倍、完善细胞结构、改善细胞生理条件等因素有关^[10]。

参 考 文 献

- 1 颜吕敬. 植物组织培养手册. 上海:上海科学技术出版社,1990. 88~214
- 2 郑企成. 离体诱变育种技术的发展和应. 诱发突变与作物改良. 北京:原子能出版社,1995. 385~392
- 3 王彩莲等. 水稻花药愈伤组织的 γ -辐射效应. 核农学通报,1990,11(5):210~213
- 4 高明刚等. 小麦体细胞组织离体诱变效应研究. 作物学报,1994,20(1):18~24
- 5 沈秋泉等. 大麦体细胞组织离体诱变技术研究. 诱发突变与作物改良. 北京:原子能出版社,1995. 401~407

- 6 虞秋成等. 小麦不同发育时期花粉的辐射效应研究. 诱发突变与作物改良. 北京:原子能出版社
- 7 陈秋方等. 水稻花药培养辐照处理诱发突变育种研究. 浙江农业学报, 1996, 8(4):202~207
- 8 吕忆梅等. γ -射线辐照对水稻花药培养愈伤组织形成和绿苗再生的影响. 浙江农业学报, 1997, 9(3):123~126
- 9 Chen QF, et al. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 1997, 11(1):59~64
- 10 Zapata FJ, et al. Tissue culture in rice improvement. *Rice Tissue Culture Manual*. International Rice Institute, 1960. 4~43
- 11 Zapata FJ, et al. Anther culture of Basmati 370 at IRRI——gamma ray-induced green plant regeneration. *International Rice Research Newsletter*, 1986. 4~22
- 12 Aiemanno L, et al. Increased doubled haploid plant regeneration from rice (*Oryza sativa* L.) anther cultured on colchicine-supplemented media. *Plant Cell Reports*, 1994, 13:432~436

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT

This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN 7-5022-2040-2



9 787502 220402 >