

# 不同激素对比对旱稻愈伤组织诱导率的影响

郭晓丽, 白丽荣, 时丽冉

(衡水学院 生命科学系, 河北 衡水 053000)

**摘要:** 以 2 个不同旱稻品种为材料, 利用不同的培养基和激素相结合, 对影响旱稻成熟种子愈伤组织诱导率的因素进行了研究。结果表明, NB 培养基可提高旱稻愈伤组织出愈率, 且 2, 4-D 与 6-BA 不同质量浓度对比对愈伤组织的培养效果不同。2, 4-D 为 4.0 mg/L, 6-BA 为 1.0 mg/L 时品种旱 1 愈伤组织的诱导率最高 (76.8%), 2, 4-D 为 1.0 mg/L, 6-BA 为 1.5 mg/L 时诱导率最低 (30.4%); 2, 4-D 为 2.0 mg/L, 6-BA 为 1.0 mg/L 时品种夏旱 51 愈伤组织的诱导率最高 (78.3%), 当 2, 4-D 为 4.0 mg/L, 6-BA 为 1.0 mg/L 时诱导率最低 (10.9%)。

**关键词:** 旱稻; 愈伤组织; 诱导率; 激素

**中图分类号:** S511      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2011)08-0081-03

## Effects of Different Hormone Ratios on Callus Induction Rate of Upland Rice

GUO Xiao-li, BAI Li-rong, SHI Li-ran

(Department of Life Science, Hengshui University, Hengshui 053000, China)

**Abstract:** The influences of different media and hormones on callus induction rate of two upland rice varieties were studied. The results showed that the medium NB could improve the callus induction rate of upland rice, and different ratios of 2, 4-D to 6-BA had different culture effects on callus. For the variety Han 1, the callus induction rate was the highest (76.8%) on the medium NB plus 4.0 mg/L 2, 4-D and 1.0 mg/L 6-BA, and the lowest (30.4%) on the medium NB plus 1.0 mg/L 2, 4-D and 1.5 mg/L 6-BA. For Xiahuan 51, the callus induction rate was the highest (78.3%) on the medium NB plus 2.0 mg/L 2, 4-D and 1.0 mg/L 6-BA, and the lowest (10.9%) on the medium NB plus 4.0 mg/L 2, 4-D and 1.0 mg/L 6-BA.

**Key words:** Upland rice; Callus; Induction rate; Hormone

旱稻作为栽培稻的一种生态类型, 具有耐旱性强, 需水量少的特点, 是旱作农业的最佳旱粮作物之一。因此, 发展旱稻生产对于进一步开发利用生物资源, 解决干旱地区缺粮问题具有极为深远的意义<sup>[1]</sup>。

干旱缺水是 21 世纪面临的重大问题。目前, 许多国家把耐旱型稻作研究纳入重要议程, 国际水稻所已将陆稻开发列入本世纪初的重点研究领域。面对我国人口不断增长, 人均耕地面积不断减少, 旱情频繁, 用水日趋紧张的状况, 如何开发新的耕地, 发

展节水型旱作农业, 增加粮食产出渠道, 增强稻作抗旱能力, 是我国 21 世纪急迫而艰巨的任务<sup>[2]</sup>。本研究以旱稻品种旱 1 和夏旱 51 成熟种子为材料, 研究了不同培养基及不同外源激素对比对旱稻愈伤组织的影响, 以期获得最佳状态的愈伤组织, 提高旱稻成熟种子的出愈率。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

旱稻品种旱 1 和夏旱 51 均由河北省农科院旱

收稿日期: 2011-03-10

基金项目: 河北省自然科学基金(C2010001995)

作者简介: 郭晓丽(1977-), 女, 河北邯郸人, 讲师, 博士, 主要从事植物分子遗传学和基因工程研究。

E-mail: gxllgf@163.com

作所提供。

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织诱导培养基配制 诱导培养基以 NB(N6 大量元素、B5 微量元素、B5 有机元素及无机成分) 和 MS 为基本培养基, 附加一定种类和质

量浓度的激素(表 1) 以及适量的脯氨酸、水解酪蛋白、谷氨酰氨和蔗糖。基本培养基采用 MS 和 NB, 愈伤组织培养基激素配比设 7 个组合: MSD2B1、NBD2B1、NBD2B1. 5、NBD1B1、NBD1B1. 5、NBD4B1. 5、NBD4B1, pH 值调至 5.8。

表 1 不同激素配比的培养基

| 激素     | 激素组合   |        |           |        |           |        |           |
|--------|--------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|
|        | MSD2B1 | NBD1B1 | NBD1B1. 5 | NBD2B1 | NBD2B1. 5 | NBD4B1 | NBD4B1. 5 |
| 2, 4-D | 2. 0   | 1. 0   | 1. 0      | 2. 0   | 2. 0      | 4. 0   | 4. 0      |
| 6-BA   | 1. 0   | 1. 0   | 1. 5      | 1. 0   | 1. 5      | 1. 0   | 1. 5      |

注: MSD2B1 表示 MS 培养基中 2, 4-D 的质量浓度为 2. 0mg/ L, 6-BA 的质量浓度为 1. 0mg/ L, 其余类推。下表同

1.2.2 种子消毒 用体积分数 75% 的乙醇灭菌 1~3 min(猛摇), 再用质量分数 2. 5% 的次氯酸钠分别处理 2 次, 每次 15 min (每次在无菌工作台中间隔 5 min 猛摇 1 次)。然后用无菌水冲洗 3~4 次再浸泡 40 min 后用无菌水洗 10 遍, 后于无菌滤纸上晾干。

1.2.3 培养方法 将灭菌的种子置于不同激素配比的愈伤组织诱导培养基上, 用封口膜将培养皿封口, 置于恒温培养箱中 26~28℃暗培养。

1.2.4 结果观测与统计方法 接种后每隔 3~5 d 观察 1 次, 25~30 d 后统计出愈率, 计算公式如下:  
出愈率= 产生愈伤组织的种子数/ 接种的种子数×100%。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度激素对旱稻愈伤组织诱导率的影响

将成熟种子接种到诱导培养基上培养, 2 周后可观察到由盾片处长出的 2~3 mm 大小的初始愈

伤组织, 呈淡黄色、质地坚硬、紧凑。25~30 d 后进行出愈率的统计。由表 2、表 3 可见, 2, 4-D 与 6-BA 配合使用对种胚的愈伤诱导效果不同。从愈伤诱导率上看, 基础培养基同为 NB 培养基时, 对于旱 1 来说, 2, 4-D 为 4. 0mg/ L, 6-BA 为 1. 0mg/ L 时出愈率最高, 可达到 76. 8%; 当 2, 4-D 为 1. 0mg/ L, 6-BA 为 1. 5 mg/ L 时出愈率最低, 仅为 30. 4%, 出愈率两者相差 46. 4 个百分点。对夏旱 51 来说, 当 2, 4-D 为 2. 0mg/ L, 6-BA 为 1. 0mg/ L 时出愈率最高, 可达到 78. 3%; 当 2, 4-D 为 4. 0mg/ L, 6-BA 为 1. 0mg/ L 时出愈率最低, 仅为 10. 9%, 两者出愈率相差 67. 4 个百分点。同时还发现, 对旱 1 而言, 随着激素质量浓度的升高, 愈伤组织出愈率呈现较大的上升趋势, 其中 NBD4B1 培养基的愈伤组织出愈率和 NBD1B1 中相比高出了 1 倍, 说明旱 1 对高质量浓度的 2, 4-D 有较好的适应能力。而夏旱 51 则对高质量浓度的 2, 4-D 适应性较差, 随着质量浓度的升高出愈率降低了近 60 个百分点。

表 2 旱 1 成熟种子的愈伤组织诱导情况

| 项目     | MSD2B1 | NBD1B1 | NBD1B1. 5 | NBD2B1 | NBD2B1. 5 | NBD4B1 | NBD4B1. 5 |
|--------|--------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|
| 种子数/ 个 | 69     | 69     | 69        | 69     | 69        | 69     | 69        |
| 出愈数/ 个 | 41     | 25     | 21        | 44     | 29        | 53     | 36        |
| 出愈率/ % | 59. 4  | 36. 2  | 30. 4     | 63. 8  | 42        | 76. 8  | 52. 2     |

表 3 夏旱 51 成熟种子的愈伤组织诱导情况

| 项目     | MSD2B1 | NBD1B1 | NBD1B1. 5 | NBD2B1 | NBD2B1. 5 | NBD4B1 | NBD4B1. 5 |
|--------|--------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|
| 种子数/ 个 | 46     | 46     | 69        | 46     | 46        | 46     | 46        |
| 出愈数/ 个 | 31     | 17     | 18        | 36     | 22        | 5      | 7         |
| 出愈率/ % | 67. 4  | 37     | 26. 1     | 78. 3  | 47. 8     | 10. 9  | 15. 2     |

2.2 培养基成分对旱稻愈伤组织诱导率的影响

不同基因型旱稻品种在 MS 和 NB 培养基上愈伤组织诱导存在一定差异, 由表 2 和表 3 可以看出, 在同等激素水平上, 旱 1 和夏旱 51 在 MS 上的愈伤组织诱导率分别为 59. 4% 和 67. 4%, 比其在 NB 培养基上分

别低 4. 4、10. 9 个百分点。并且这 2 个品种中以夏旱 51 的适应性最好, 在这 2 种培养基上愈伤组织诱导率均在 60% 以上。由此可见, 在 2, 4-D 和 6-BA 质量浓度分别为 2. 0mg/ L 和 1. 0mg/ L 时, NB 培养基中旱稻的愈伤组织出愈率略高于 MS 培养基中的出愈率。

### 3 讨论

对于旱稻而言, 很多组织或器官均可作为外植体成功地诱导愈伤组织并再生植株, 但成熟种子是诱导愈伤组织的常用材料。成熟种子的来源广, 取材不受季节和地理环境限制; 而且接种操作方便, 出愈率较高, 分化再生所需要的周期较短<sup>[3]</sup>。为提高研究应用的普遍性, 在试验中选用了旱稻的成熟种子作为外植体来诱导愈伤组织, 这样更有利于试验的进行。

植物组织培养中, 影响愈伤组织的因素是多方面的, 而植物激素是愈伤组织诱导的关键性因素<sup>[4]</sup>。2, 4-D 与 6-BA 配合使用对提高旱稻成熟种子愈伤组织诱导率有显著作用, 因此, 在实际工作中, 选择合适的培养基和适当的激素配比, 是旱稻转基因育种过程中提高转化率的重要前提。从本研究结果可以看出, 在旱稻成熟种胚愈伤组织诱导中, 愈伤组织诱导率及愈伤组织的质量取决于品种基因型、诱导培养基及激素等多种因素相互影响、相互作用。首先, 选择适宜的培养基是提高愈伤组织诱导频率, 获得高质量愈伤组织的基础。在诱导培养基中添加一定质量浓度配比的 2, 4-D 和 6-BA 对提高稻类成熟胚的愈伤组织诱导率有一定的作用, 但这种作用又因品种的基因型和所选用的培养基不同而异<sup>[5]</sup>。旱

1 和夏旱 51 在激素同样配比的 NB 培养基上比在 MS 培养基上出愈率要高。夏旱 51 在 NBD4B1 上的出愈率最低, 而旱 1 则在 NBD4B1 上的出愈率最高, 达到 76.8%。较高质量浓度的 2, 4-D 提高旱稻成熟种胚愈伤组织诱导率的机制目前还不清楚, 一般认为, 可能是通过抑制胚芽生长, 减少胚芽与盾片愈伤组织的营养竞争, 而最终提高了愈伤组织的诱导率<sup>[6]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 薛全义. 略论我国旱稻的生产和发展[J]. 中国稻米, 2002, 8(4): 5-7
- [2] 李冠. 陆稻抗旱与某些生理化特征的关系[J]. 新疆大学学报, 1990, 7(1): 65-67
- [3] 潘向群, 梁海曼. PEG 浸种对成熟胚愈伤组织诱导的影响(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1990, 10(2): 148-151.
- [4] 向太和. 不同类型水稻成熟胚培养和悬浮细胞系建立的初步研究[J]. 农业生物技术学报, 1991, 4(2): 124-128
- [5] 石太渊. 水稻组织培养与突变体筛选[J]. 辽宁农业科学, 1996(1): 38-40.
- [6] Kenjiro O, Hiroyuki, Toshiaki K, *et al.* Drought-induced changes in rooting patterns and assimilate partitioning between root and shoot in upland rice[J]. Plant Science, 2003, 165: 395-402
- [9] Asif Ali Khan, Sajjad Ali Rao, Thomas McNeilly. Assessment of salinity tolerance based upon seedling root growth response functions in maize (*Zea mays* L.)[J]. Euphytica, 2003, 131: 81-89.
- [10] Radic V, Beatovic D. Salt tolerance of corn genotypes (*Zea mays* L.) during germination and later growth [J]. Journal of Agricultural Sciences, 2007, 52: 115-120.
- [11] 张云贵, 刘祥云, 李天俊. 生物化学实验指导[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2005, 31: 44-45.
- [12] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 106.
- [13] 李霄. 不同高粱品种抗旱耐盐生理生化响应研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2009.
- [14] 张敏. 不同小麦品种耐盐差异的生理生化机制研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2007.
- [15] 赵福康, 刘友良, 章文华. 大麦幼苗叶片脯氨酸代谢及其耐盐性的关系[J]. 南京农业大学学报, 2002, 25(2): 7-10.
- [16] 桂枝, 高建明, 袁庆华. 6 个紫花苜蓿品种的耐盐性研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(1): 133-137.
- [17] 张木清. 作物抗旱分子生理与遗传改良[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 272.
- [1] 张烈, 杜锦. 氯化钠胁迫对玉米幼苗代谢的影响[J]. 杂粮作物, 2009, 29(5): 328-331.
- [2] 马春平, 崔国文. 10 个紫花苜蓿品种耐盐性的比较研究[J]. 种子, 2006, 25(7): 53-56.
- [3] 张永峰, 殷波. 玉米耐盐性研究进展[J]. 玉米科学, 2008, 16(6): 83-85.
- [4] Gzik A. Accumulation of proline and pattern of amino acids in sugar beet plants in response to osmotic water and salt stress[J]. Environ Exp Bot, 1996, 36(1): 29-38.
- [5] Sachs M M, Ho T H D. Alteration of gene expression during environmental stress in plant[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1986, 37: 363-376.
- [6] 秦雪峰, 高扬帆, 吕文彦. NaCl 胁迫对玉米种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 种子, 2007, 26(5): 24-26.
- [7] 王玉凤. 玉米苗期对 NaCl 胁迫的相应与耐盐性调控机理的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2008.
- [8] 商学芳, 董树亭, 郑世英, 等. 玉米萌发过程中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  含量变化与耐盐性的关系[J]. 作物学报, 2008, 34(2): 333-336.

(上接第 74 页)

#### 参考文献: