

组培水稻种子发芽

Germination of Rice Seeds with Tissue Culture Method

李燕, 龙湍, 吴昌银*

作物遗传改良国家重点实验室, 华中农业大学, 武汉

*通讯作者邮箱: cywu@mail.hzau.edu.cn

引用格式: 李燕, 龙湍, 吴昌银. (2018). 组培水稻种子发芽. *Bio-101*: e1010183. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010183.

How to cite: Li, Y., Long, T. and Wu, C. Y. (2018). Germination of rice seeds with tissue culture method. *Bio-101*: e1010183. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010183. (in Chinese)

关键词: 水稻, 培养基, 发芽

材料与试剂

1. 5 ml 离心管
2. 各种型号吸头 (20 μ l, 200 μ l, 1 ml)
3. 培养皿
4. 滤纸
5. 水稻种子
6. 75%乙醇
7. HgCl₂
8. 蔗糖
9. 生根培养基 (见溶液配方)
10. MS_{max}(10x) (见溶液配方)
11. MS_{min} 母液(100x) (见溶液配方)
12. Fe²⁺-EDTA(100x) (见溶液配方)
13. 维生素(100x) (见溶液配方)

仪器设备

1. 移液器

2. 摇床
3. 超净工作台

实验步骤

1. 将种子去除颖壳，挑选质量好，无霉菌斑点的米粒。
2. 75%乙醇漂洗 1-2 min，漂洗过程中需要不断振荡。
3. 1.5‰ HgCl₂ 漂洗 18-25 min，大约每隔 3 min 上下翻转振荡一次。
4. 用灭过菌并放凉的 ddH₂O 漂洗 3~5 次，去除表面残留的 HgCl₂。
5. 将处理好的种子放入生根培养基上，于光培养室培养，约半个月后可长成完整植株，再移入田间。

溶液配方

1. 生根培养基

MS _{max} 母液(10x)	50 ml
MS _{min} 母液(100x)	5 ml
Fe ₂ -EDTA 母液 (100x)	10 ml
Vitamin 母液 (100x)	10 ml
蔗糖	20 g
Phytigel	3 g

加 H₂O 1,000 ml 并用 1 N KOH 调节 pH 到 5.8，煮开后分装到生根管中，封口膜封口灭菌。

2. MS_{max}(10x)

NH ₄ NO ₃	16.5 g
KNO ₃	19.0 g
KH ₂ PO ₄	1.7 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3.7 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	4.4 g 或 CaCl ₂ 3.32g

逐一溶解药品后，加 dH₂O 定容到 1,000 ml

3. MS_{min} 母液(100x)

KI	0.083 g
H ₃ BO ₃	0.62 g
MnSO ₄ ·4H ₂ O	2.23 g 或 MnSO ₄ ·H ₂ O 1.69 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.86 g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.025 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.0025 g
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.0025 g

注: Na₂MoO₄ 必须单独溶解后再与其它组分混合。

加 dH₂O 定容到 1,000 ml 室温保存

4. Fe²⁺-EDTA (100x)

取一个烧杯加 300 ml dH₂O 以及 FeSO₄·7H₂O 2.78 g

在另一个烧杯中也加 300ml dH₂O 加热到 70 °C 后加入 Na₂ EDTA·2H₂O 3.73 g

待到两种药品都溶解后混合, 70 °C 保温 2 h, 然后加 dH₂O 定容到 1 L, 4 °C 保存。

5. 维生素(100x)

Nicotinic acid	0.1 g
Pyridoxine HCl (VB6)	0.1 g
Thiamine HCl (VB1)	0.1 g
Glycine	0.2 g
Inositol	10 g

加 dH₂O 定容到 1,000 ml 4 °C 保存