

活体照射对水稻愈伤组织诱导的影响

李希臣 雷勃钧 尹光初 卢翠华 周思君 钱 华

(黑龙江省农科院生物技术研究中心)

刘多颖 颜 华

(黑龙江省农业现代化研究所)

摘要 以几种日本优质稻为材料,研究了 γ -射线在不同生理时期(抽穗期、孕穗期)照射,对水稻成熟胚的愈伤组织的诱导率、增殖和耐碱筛选过程中的相对生长量的影响。结果表明:抽穗期照射处理的材料愈伤组织诱导率明显高于孕穗期处理的材料;抽穗期处理的材料在各培养过程中的相对生长量也高于其它试材。说明 γ -射线在不同生理时期的诱变效应是不同的。

早在六十年代末,Nishi 等就曾报道,在水稻体细胞无性系后代中发现许多变异类型。高等植物细胞全能性的证实和组织培养技术的发展,显示出组织培养技术可以从细胞水平上筛选突变体的可能性^[1,2]。以后许多人又证实了体细胞无性系变异可供作物改良利用。为进一步提高变异频率和扩大变异范围,研究者们又将人工诱变技术和组织培养结合起来,并在烟草、马铃薯和小麦上已取得了一定成绩。水稻不同状态的培养细胞进行照射处理也获可喜结果^[3]。我们利用⁶⁰Co γ -射线对处于抽穗期和孕穗期的水稻进行活体照射,并与耐盐碱筛选相结合。本文着重报道不同生理时期⁶⁰Co γ -射线的诱变作用对水稻愈伤组织诱导的影响。

材料和方法

1. 供试材料:越光 M₂, 笹锦 M₂(分别于

抽穗期和孕穗期进行⁶⁰Co γ -射线照射,剂量 γ 0.2万)。

2. 培养基:基本培养基均为 MS^[4]。

(1)诱导和增殖培养基(C):①MS加2,4-D2毫克/升(C₁),②MS加IBA0.006毫克/升,6-BA0.4毫克/升,2,4-D2毫克/升(C₂)。

(2)选择培养基(S):MS加2,4-D2毫克/升,不同浓度NaCl(0,1.0,1.5,2.0% w/v)。

(3)再生培养基(R):MS加酵母提取物3g/L,水解乳蛋白3克/升,激动素 5×10^{-6} M,萘乙酸 2×10^{-6} M。

蔗糖3%,琼脂7.5克/升,pH5.8,热压(1.1公斤/平方厘米)灭菌20分钟。

3. 方法:(1)种子去皮,75%酒精浸泡40~60秒,再用0.1%升汞溶液浸泡20分钟,然后用无菌水冲洗3~5次。

(2)接种于C培养基上,每瓶3粒,26±2℃暗培养,4周后调查愈伤组织诱导率,转

入新鲜 C 培养基,继代一次,3 周后调查愈伤组织的相对生长量。

(3) 然后转入 S 培养基, $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 暗培养, 4 周后调查愈伤组织相对生长量, 再继代, 同时一部分转入 R 培养基, $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 光培养。

结果与讨论

1. 活体照射对愈伤组织诱导率的影响

我们使用两种培养基 (C_1, C_2) 诱导愈伤组织, 接种后 5 天左右出现愈伤组织, 4 周后调查愈伤组织诱导率 (见表 1)。

表 1 活体照射对愈伤组织诱导率的影响

愈伤组织诱导率	试材	越光 M_2		笹锦 M_2		ck
		孕穗期	抽穗期	孕穗期	抽穗期	
	C_1	76.5	80.6	62.5	90.0	78.7
	C_2	78.0	87.7	70.0	89.2	77.9

注: 接种后 4 周调查, 产生愈伤组织种子数/接种种子数 $\times 100$

从表 1 可以看出, 不同品种不同时期照射处理的材料愈伤组织诱导率均不同。抽穗期照射处理的材料, 成熟胚的愈伤组织诱导率高于孕穗期处理及未经处理的 CK 的成熟胚的愈伤组织的诱导率。在笹锦 M_2 中表现的差异更为明显。愈伤组织的颜色、质地也有明显差异。抽穗期处理的材料愈伤组织呈乳白色, 质地致密; 而孕穗期处理的材料愈伤组织乳白色中略含褐色, 质地较疏松; CK 居中。

两种培养基 C_1, C_2 对愈伤组织诱导率在相同品种内差异不甚明显。

2. 活体照射对愈伤组织相对生长量的影响

不同品种, 不同时期照射处理的材料在继代培养和耐盐碱筛选中的愈伤组织相对生长量也有一定的差异 (见表 2、3)。

从表 2 和表 3 可以看出: 不同时期的照射效应的差异在愈伤组织的相对生长量上表现得比较明显。抽穗期处理的材料相对生长

表 2 愈伤组织继代培养中的相对生长量

相对生长量 _a	试材	越光 M_2		笹锦 M_2		CK
		孕穗期	抽穗期	孕穗期	抽穗期	
	C_1	2.2	2.5	1.3	3.5	1.8
	C_2	2.6	2.8	1.6	3.7	2.3

表 3 由 C_1 诱导的愈伤组织在选择培养中的相对生长量

相对生长量 _a	试材	越光 M_2		笹锦 M_2		CK
		孕穗期	抽穗期	孕穗期	抽穗期	
	0	4.1	4.7	3.8	4.6	3.5
NaCl 浓度 (%w/v)	1.0	3.4	4.5	3.3	3.9	2.7
	1.5	2.8	3.3	2.6	3.2	2.8
	2.0	1.6	2.4	1.8	2.5	1.3

注: 1. 表 2 为第二代继代培养结束 (7 周) 后调查;

2. 表 3 为耐盐碱筛选第一代结束后调查;

3. a 相对生长量以愈伤组织直径 (毫米) 表示 $1 \leq 2$ (直径), $2 \leq 4, 3 \leq 6, 4 \leq 7, 5 \leq 8$ 。

量高于其它试材, 孕穗期处理及未经处理的材料在继代及筛选中变褐老化的多于抽穗期处理的材料, 说明抽穗期处理的材料生活力较强。

从以上结果可以看出, 无论是相同品种或不同品种, 其照射效应是不同的。

抽穗期和孕穗期的照射诱变效应的不同是由于它们所处的生理时期不同所致。

孕穗期是处于花粉母细胞形成的配子体时期^[3]。尚未成熟的花粉粒受到 γ -射线的照射, 遗传物质发生很大变异, 形成的种子碱基配对紊乱程度高, 成熟胚的愈伤组织诱导率低, 褐化致死率高, 生长缓慢。抽穗期时, 花粉粒已经成熟, 且许多已完成受精形成了幼胚^[5]。此时用相同剂量 γ -射线处理, 遗传物质变异程度小, 种子碱基配对时的紊乱度也较小, 所以成熟胚愈伤组织的诱导率较高, 相对生长也较快。

CK 未经照射处理, 形成的种子正常, 所以愈伤组织的诱导率高于孕穗期处理的材

料;而又低于抽穗期处理的材料的愈伤组织诱导率和相对生长量。说明适时的活体照射可以提高愈伤组织的诱导率。

植株再生及再生植株的变异表现将在以后的研究中继续报道。

以上的研究结果表明:活体照射可以产生变异,而且不同时期的活体照射的诱变效应不同,我们在未来的研究中确定哪个时期的活体照射更有益于我们筛选体细胞无性系变异的有益性状。

参 考 文 献

- [1] 李洪建等:水稻耐盐变异体筛选的研究,沈阳农业大学学报,1990,21(1)
- [2] 罗士韦:植物细胞和组织培养的应用与展望,植物生理学通讯,1983,(2)
- [3] 蔡成华等:水稻离体诱变技术的初步研究,浙江农业大学学报,1989,15(1)
- [4] K. Suenaga,用种子愈伤组织筛选耐盐的水稻,水稻,1983,(6)
- [5] 张矢等:寒地稻作,黑龙江科学技术出版社,1990

水稻品种资源对恶苗病抗性鉴定研究

郑锦雯 吕 彬 吴润植

(黑龙江省农科院水稻研究所)

摘要 1991~1992年用本省主要稻区采集分离的菌株,对部分稻种资源及F₂代组合进行了抗恶苗病特性鉴定,并对不同品种的徒长型恶苗病苗进行恢复力测定。鉴定结果表明,品种(系)间抗性差异明显;杂交后代抗、感比与亲本有关;徒长型恶苗病苗恢复度与其抗性有关。经鉴定筛选出抗病材料7份。

近年本省水稻恶苗病发生日趋严重,一般减产10~20%,种植易感病品种发病严重的可减产50%以上。目前国内外对恶苗病的防治研究,以筛选新药剂及改进种子消毒方法为主,对水稻品种抗性方面的研究,至今尚未见到专题报道。实践表明,水稻品种间发病有明显的差异,说明水稻恶苗病发生与品种关系密切,故研究水稻品种的抗病性对选育和利用抗病品种防治恶苗病有重要意义。为此,作者于1991~1992年在探讨抗性鉴定方法的同时进行了此项研究。

材料与方 法

一、品种抗病性鉴定

1. 混合菌株接种鉴定

鉴定材料 本省主栽品种及省外引入品

种95份,有望新品系109份,共计204份。

菌源 在汤原、铁力、绥化、阿城、尚志、海林、宁安、穆棱、勃利和桦川等10个县(市)采集分离的混合菌株。

鉴定方法 苗期鉴定:在水稻芽期浸菌接种3小时,菌液浓度每视野(100倍)有孢子2000个左右(下同)。盘育苗每品种播200粒,在水稻3~4叶期调查发病株率,重复鉴定两次。成株期鉴定:苗期拔除病株的稻苗移于本田,每品种(系)移栽100株,在水稻抽穗期调查发病株率。

抗性分级标准 0级(HR):无病;1级(R):苗期发病率5%以下和成株期发病率10%以下;3级(MR):苗期发病率5.1~10%和成株期发病率10.1~20%;5级(MS):苗期发病率10.1~20%和成株期发病率20.1~30%;7级(S):苗期发病率20.1~30%和