

# 诱变在作物抗病育种上的应用\*

孙光祖

(黑龙江省农科院)

长期以来,为了满足人类对粮食的日益增加的需要,育种工作者始终把高产做为育种的主要目标,并为此做了不懈的努力,获得了巨大成就。由于对种质资源的反复利用,使作物的种质资源日益贫乏,遗传背景趋于单一,产量的保障基础愈加脆弱。在作物产量的保障基础中最主要的是它的抗病性。人们已清楚地意识到,一旦病原物的种群发生变异,作物原有的抗性就会丧失,产量和品质将会受到巨大损失,因此,抗病育种愈来愈受到了人们的重视。常规育种只能利用自然界存在的抗病基因,诱变育种可以诱发新的抗病基因,诱发突变在作物育种上具有独特的作用,并得到广泛应用,取得了令人瞩目的成就。

## 1 农作物诱发抗病突变育种的主要成就

### 1.1 选出了一大批抗病高产新品种,促进了作物生产,取得了巨大的效益

诱变育种从投入商业应用以来,诱发突变育种始终占有重要地位。1942年 R. Freisleben 等用 X 射线照射大麦品种 Haisa, 获得了世界上首例抗白粉病的突变体。本世纪六十年代末美国利用辐射诱变的方法获得了薄荷抗凋萎病的突变品种 ("marrag mitcham"), 成功地解决了因原品种丧失抗性而造成的薄荷油产量下降、品质变劣的关键问题。三十多年来,全世界许多国家在诱发作物抗病育种上做了大量工作,成绩斐然,经济效益、社会效益和生态效益显著。据不完全统计,我国到 1993 年直接利用诱变育成新推广的 118 个农作物品种中,抗一种病害的有 46 个,占 40%; 抗两种以上病害的 9 个,占 19.6%。在所有的抗病品种中,抗真菌病害的 40 个,占 87.0%; 抗细菌病害的两个,占 4.3%; 抗病毒病的 4 个,占 8.7%。高产抗病的棉花鲁棉 1 号,自推广以来累积种植面积 670 万公顷,水稻“原丰早”累积种植面积 625 万公顷以上。青海省农科院育成的抗条锈小麦新品种辐射阿勃 1 号已成为青海省的主栽品种。抗锈的太辐 10 号、太辐 24、鄂麦 6 号、原农 51、原农 57 和新曙光 1 号等都曾在生产上起过重要作用。近几年推广的高抗白粉、中抗条锈的西辐 7 号和川辐 2 号,比对照品种显著增产,种植面积正在迅速扩大。1989 年被湖北省品种审定委员会审定推广的抗白叶枯病的粳型糯稻新品种一鄂荆 6 号,推广面积已超过 15 万公顷。国外辐射育成的品种 1 336 个,抗病品种占 1/4 左右。抗锈品种“新西伯利亚 67”种植面积 360 万公顷,芬兰的抗锈品种 Teaya 占该国春麦播种面积的 65%。抗白粉病和纹枯病的大麦品种索非亚 3 号、4 号曾占保加利亚秋播大麦面积的 90%。

### 1.2 选出了一批抗病突变体,丰富了种质资源

抗病突变体是诱变选育中最重要的突变体之一。它包括了主要农作物抗真菌病害、细菌病害、病毒和类病毒等各种突变体。如水稻抗稻瘟病、白叶病、稻胡麻斑病等的突变体;小麦抗三锈、白粉、根腐和耐赤霉病的突变体;大麦抗白粉、病毒病和纹枯病的突变体;玉米抗大小斑病和青枯病的突变体;高粱抗丝黑穗病、谷子抗白发病的突变体;大豆抗灰斑病和病毒病的突变

\* 收稿日期 1994-12-15

体;菜豆抗黄斑病毒病的突变体;马铃薯抗黑斑病的突变体;白菜抗霜霉病的突变体;油菜抗花叶病的突变体。有些突变体已被做亲本利用,并选出高产抗病质佳的新品种。

## 2 诱发突变用于抗病育种上的几个技术问题

### 2.1 供试材料

用于诱发抗病突变的供试材料,一般采用产量高、品质好的感病纯品种(系),有的也用杂交(或远杂)的当代和低代材料。研究表明,不同的试材诱发抗病突变体的频率不同。据 S. N. Chakrabarti(1986)报道,水稻 Jaya 诱发抗水稻白叶枯病菌株 X<sub>0</sub>41 的突变频率 0.05%,而 Pn-sa2-21 则为 0.25%。山口勋夫(1985 年)报道,EI 处理的大麦品种 Azuma Golden 抗白粉病的诱变频率为  $0.17 \times 10^{-5}$ ,Fuji Nijou 为  $13.8 \times 10^{-5}$ ;Nijou1 号为  $11.4 \times 10^{-5}$ 。由于原始亲本不同,抗病突变体频率不同。因此在诱发抗病突变时,要选择适当的试材。究竟采用什么样的诱变试材为好,应该根据育种目标、试材特性和研究条件等而定。

### 2.2 诱变处理

诱变处理主要有三种:1. 辐射诱变,常用  $\gamma$  射线、X 射线和中子等处理干种子,也有的在  $\gamma$  温室或钴<sup>60</sup>中进行植株慢照射。2. 化学诱变剂处理种子,常用的 DES、ZMS、EI、N<sub>2</sub>N<sub>3</sub> 等;最近用抗癌剂、平阳霉素、新生霉素等处理也产生了很好的效果;3. 辐射与化学诱变剂结合。研究表明,不同的诱变因素或其不同的组合有不同的诱发抗病突变频率。H·Nakai 等研究表明,水稻品种 Harebare 的种子经硼酸浸泡、干燥后用热中子照射,M<sub>3</sub> 代获得的抗白叶枯病的突变频率为 0.82%;用蒸馏水浸泡干燥后用同样剂量的热中子照射,M<sub>3</sub> 代获得的抗白叶枯病的突变频率为 0.49%; $\gamma$  射线照射,M<sub>3</sub> 代获得的抗白叶枯病的突变频率为 0.16%。说明热中子处理硼富集的种子抗白叶枯病的突变频率最高。

不同诱变因素在诱发抗病突变上频率不同,但除化学诱变剂具有某些特异性外,电离辐射所诱发的突变都是随机的。我们认为,扩大变异谱提高突变频率的诱变处理方法,都可以提高抗病突变频率。

### 2.3 筛选后代的群体

后代群体的大小直接影响诱发抗病育种的效率。群体的大小或群体容量,第一,取决于诱发抗病突变的频率。不同作者在诱发抗病突变中获得了不同的抗病频率。R. Treisleben(1942)用 X 射线诱发大麦抗白粉病的突变频率为  $0.8 \times 10^{-4}$ 。山口勋夫用  $\gamma$  射线和 EI(乙烯亚胺)诱发大麦抗白粉病的突变频率是  $1.3 \times 10^{-3}$ 。柳学余等用 X 射线和 EMS 诱发大麦抗白粉病的突变频率是  $7.5 \times 10^{-5}$ 。冯延卿用热中子诱发大麦抗条锈病的突变频率是  $4.6 \times 10^{-4}$ 。综合大量的研究结果,诱发抗病突变的频率大概在  $10^{-3} \sim 10^{-5}$  之间,尽管对诱变育种来说是低了一些,但比自然突变频率要高 100~1 000 倍。第二,群体的大小取决于所要获得抗病突变株数。第三,群体大小还与试验条件、筛选技术和选择水平等因素有关,这些因素可以用保证系数 K 来表示。这样所筛选的群体大小就可以用一个公式表示:

$$V = \frac{N}{a} \cdot k$$
 式中 V 代表群体大小;N 代表抗病突变体数;a 代表抗病突变频率;k 代表保证系数,一般 10 左右为宜。

### 2.4 筛选方法

筛选方法直接关系到抗病突变体的筛选效果。主要筛选方法有三种。第一,在作物特定生育期间用含一定孢子量的病原菌孢子悬浮液给植株接种,发病盛期进行调查,根据一定标准选拔抗病单株。接种的病原菌必须是当地的优势种群,同时要保温,使其充分发病。第二,将诱变

后代种在发病区,让其自然发病,根据发病情况,按一定标准选拔抗病单株。第三,用病原菌产生的毒素对后代植株进行接种筛选。S. P. Borah 等(1986)用水稻胡麻斑病菌中提取的毒素喷洒  $M_1$  代和亲本种子,萌发后选择抗病秧苗和亲本秧苗插于本田。 $M_2$  代种子也做同样处理。在  $M_3$  代中选出了抗水稻胡麻斑病的突变体 BSDR-M。用这种方法筛选抗病突变体须具备这样的条件,即病原菌必须生产毒素而且毒素是致病的主要因素。这三种方法各有特点,都可以在筛选抗病突变体上应用。但相比之下,第一种方法准确性强,可靠性好,限制因素少,在抗病性的筛选和鉴定中应用较广。

抗病突变体的筛选可在  $M_1 \sim M_3$  代进行,但必须以  $M_2$  代为主。 $M_1$  代只调查记载,不做选择。 $M_3$  代可以株(穗)行选择为主,并要严格筛选标准。

## 2.5 抗病突变体抗病性的遗传分析

抗病突变体的遗传分析,对抗病突变体的应用具有重要意义。不少作者应用各种遗传分析手段和方法对一些重要的抗病突变体进行了遗传性质分析、弄清了抗病基因数目和显隐性关系、所在染色体的位点、毒性基因与抗病基因的关系以及抗病基因的传递特点等。R. Freisleben 等(1942)用 X 射线照射大麦品种 Haisa,从中选出了抗白粉病的突变体,遗传分析表明,其抗性由一个隐性基因控制,该基因位于第四染色体的长臂末端。后来这个突变基因和其等位基因被大量诱发,被命名为  $ml-0$  位点。进一步研究指出,位于  $ml-0$  位点上的不同抗病基因,在细微结构上存在差异。山口勋夫等(1985),获得的三个大麦抗白粉病的突变体 ML-7N、ML-10N 和 ML-12N,其抗性是由不同的隐性基因控制的,并不与  $ML-0$  基因等位第饲保雄(1980)用 X 射线照射六棱大麦竹林茨城 1 号,获得了高抗大麦花叶病毒(BYMV)的突变体 Ea52,遗传分析表明,其抗性是由附录性基因  $Ym_3$  控制的。H. Nakai 等(1985)诱变获得的水稻抗白叶枯的突变体,其抗性是由多基因突变或微效主基因突变决定的。

近年来在分子生物学技术基础上发展起来 RFLP 检测技术,对突变体的抗病基因可以进行准确标记,并可构建相应的基因图谱。运用这一技术已确定了番花叶病毒、镰刀菌、线菌斑病和结球线虫的抗性基因。另外,玉米矮花叶病毒抗性基因、莴苣霜霉病抗性基因也都建立起了 RFLP 标记。

## 3 诱发抗病突变与其它育种方法相结合

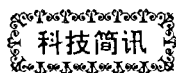
### 3.1 诱发抗病突变与远缘杂交结合

辐射与远缘杂交相结合,不仅能打破遗传障碍,克服杂交的不亲和性,提高杂交结实率和后代育性,而且能促进抗病基因转移。辐射诱发染色体易位是促进抗病基因转移的最重要的方法。早在五十年代中期 Sears 就利用 X 射线照射远缘杂交后代,获得了具有小伞山羊草抗叶锈基因的普通小麦。E. L. Smith(1981)用射线照射获得了易位"Teewon Sib",经与 Triumph 64 及 Seurdy 杂交育成了具有抗锈基因 Lr24 的小麦品种 Payne。黑龙江省农业科学院的孙光祖等(1990),用  $\gamma$  射线照射小黑麦与小麦杂交的后代种子,选出了抗叶锈和秆锈的三个易位系龙辐麦 4 号、龙辐 10946 和龙辐 10877,并确定了它们的染色体的易位形式。

### 3.2 诱发抗病突变与离体培养、细胞筛选结合

植物不同外植体的离体培养可以产生丰富的体细胞无性系变异,诱变因素处理外植体或培养物可以提高变异率、扩大变异谱,从中也获得了大量抗病突变。变异细胞在病原菌毒素等压力下进行抗性筛选,可获得抗病突变体。Carlson(1973)用 0.25%EMS 处理单倍体烟草细胞,然后培养在含有烟草野火病菌毒素类似物的培养基上筛选抗病细胞系,获得了三个抗病突变体。D. J. Heinz(1973)用 500~2 000 rad 的<sup>60</sup>Co $\gamma$  射线照射甘蔗培养细胞,获得了抗芽斑病

毒的突变体。Behnke(1977)用 1000 rad<sup>60</sup> Co $\gamma$  射线处理离体培养的马铃薯细胞,在含有马铃薯晚疫病病菌毒素的培养基中进行筛选,获得了抗马铃薯晚疫病的突变体。其它作者用类似的方法,选筛选出了油菜抗黑腥病的突变体,甘蔗抗眼斑病的突变体、玉米抗小斑病的突变体等。我国在这方面的研究起步较晚,但进展较快。郭丽娟等(1990)用 1500rad 的  $\gamma$  射线照射小麦花药愈伤组织,然后转移到含赤霉菌粗毒素的选择培养基上,获得了 4 个抗赤毒病的突变体。孙立华等(1990)用水稻白叶枯病菌作为筛选压力,通过离体筛选获得了 5 个抗白叶枯病的变异体。孙光祖等(1992)研究了辐射对小麦不同外植体离体培养的影响和根腐病毒毒素的筛选效果,获得了两个抗根腐病的突变体。随着组织培养、离体诱变和细胞筛选技术的不断完善,离体诱变与细胞筛选相结合的方法将会在植物抗病育种中得到更广泛的应用。



## 寒地油菜喷施烯效唑试验\*

烯效唑是一种高效、低残留的植物生长延缓剂,具有抑制植物顶端生长优势,促进侧芽滋生,提高抗逆能力的效应,在现有的一类具有三唑环结构的化合物中,它对植物的生长调节活性表现突出,在土壤中的残留量低,成为当前作物化控研究的热点。在关内一些省份早已研究,但在我省起步较晚,只是在水稻上有过研究,现介绍一下其在油菜苗上的使用效果。

1993~1994 年,我们分别在省农垦科学院、北安农管局科研所、尖山农场、八五三农场、二龙山农场进行了甘蓝型春油菜苗期喷施不同浓度烯效唑的田间小区对比联网试验,浓度分别是①30ppm;②40ppm,于油菜 3~4 叶期全面喷施,每亩用药液 25 升,以喷等量清水为对照。结果表明 30~40ppm 烯效唑叶喷有明显调控和增产效果。喷药后油菜叶色加深,生长速率减缓。农垦科学院在喷后 10 天调查,处理的幼苗高度仅为 C 对照的 60%(处理①)和 75.5%(处理②),叶绿素明显增加,总量分别比对照提高 28.1%和 24.8%,喷药后 20 天的苗高比对照低 5 厘米和 5.6 厘米,主根长增加 2.1%和 3.5%。喷施烯效唑对油菜地上部分表现出明显控长效应,因而培育了壮苗。同时看出,喷施浓度大的控长效应也相应增强。

两年七个试验点次中,喷施烯效唑后产量高于对照的有六个点次,其中四个点次产量差异达显著以上的水准。平均亩产量清水对照是 139.4 千克,30ppm 烯效唑叶喷为 162.8 千克,七点次中产量居第一位的有四点次,40ppm 叶喷的亩产 155.6 千克,有三个点次位居第一。两种浓度喷施处理的都表现增产,30ppm 稍优于 40ppm 效果。

据考种结果分析,增产的主要因素:喷施烯效唑后油菜的有效分枝数和单株角果数增加了。与对照相比,喷施 30ppm 后单株增加 0.7 个分枝、5.2 个角果,喷施 40ppm 的增加了 0.4 个分枝、1.8 个角果,角粒数略有增加,而其千粒重与对照基本一致,分别是:3.01 克、3.06 克、2.96 克(对照)。生育期间的物候期调查表明:试验浓度的烯效唑叶喷(3~4 叶期)对各生育期无影响。成熟时测定,喷药处理的株高普遍降低 2 厘米左右。

烯效唑的商品剂型是含量 5%的可湿性粉剂。30ppm 浓度的亩用量(商品量)为 15 克。

(余世铭 朱广石 张新玉 林秀华 卞青英 李徙远 杨荣彬)

\* 收稿日期 1995-01-17