

研究
简报

高粱培养细胞的激光诱变育种

高朝龙 徐琼芳 王高碧

(中国科学院成都生物研究所, 成都 610015)

曾荣华 段贵祥

(四川省泸县农业科学研究所)

Callus Mutation by Lasers for Sorghum Breeding

Gao Chao-long Xu Qiong-fang Wang Gao-bi

(Chengdu Institute of Biology Academia Sinica)

Zheng Rong-hua Duan Gui-xiang

(Luxiang Institute of Agricultural Sciences, Sichuan)

激光作为一种新的诱变因素应用于作物育种, 已有大量报道, 不少人用水稻、小麦、玉米、油菜等种子经激光诱变处理, 培育出了新品种。我们把生物技术与激光辐照相结合, 用高粱培养细胞为材料, 以期培育出抗病、高产的高粱新品种。经过五年四代(M_0-M_3)选择, 效果甚为理想。

1 材料和方法

亲本材料为四川高粱农家品种“宜宾矮砣砣”(编号四)和“歇马镇高粱”(编号六)。培养细胞的建立和分化成苗情况见前文(高朝龙等, 1987, 植物生理学通讯, 3, 40)。激光器及辐照方法见前文(高朝龙等, 1990, 应用激光, 6, 269—271)。诱变处理后的培养细胞经组织培养分化成苗后, 移植大田所得种子记为当代(M_0), 以后逐代观察选择, 分别记为 M_1 、 M_2 、 M_3 代。观察、选择、考种等方法均同常规育种。同工酶的分析按常规聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳法进行, 考马斯兰法测定蛋白。

2 结果

2.1 变异情况的观察 除用 N_2 分子激光处理的六号分蘖力明显增大、He-Ne 激光处理 30 分钟的材料结实率降低外, 其余性状在 M_0 代均无明显变化。大量变异表现在 M_1 代, 主要有:

2.1.1 株高 N_2 分子和 He-Ne 激光处理后, 株高发生明显变异。不同亲本, 表现不一。如同样 N_2 分子激光处理 10 分钟, 六号的株高趋于降低(比对照平均株高降低 30cm 以

本文于 1990 年 11 月 9 日收到, 1991 年 12 月 10 日审定。

上, 占调查数的5%); 四号则有增有降, 各占调查总株数的3.3%。同一亲本对不同诱变源的反应没有明显差异, 如六号对 N_2 分子和 He-Ne 激光的反应均表现为降低, 只是频率略有不同。

2.1.2 分蘖力的变化 在 M_0 代中, 经 N_2 分子激光处理 15 分钟的六号, 产生一植株分蘖数高达 22 条。经 M_1 代种植后, 仍表现出较高分蘖力, 平均每株有效蘖为 2.4 个(对照为 1.1 个)。 M_2 代以后继续降低, 到 M_3 代与对照持平。

2.1.3 抗病变异 在 M_1 代群体中, 经 N_2 分子激光处理的四号, 产生一株对高粱炭疽病 (*Colletotrichum graminicolum* (Cesati)) 具高抗性的植株。整个试验田全部植株均不同程度地染上此病, 唯有这一株没有一个病斑。经田间对感病率(感病叶片数与叶片总数之比)和感病强度(病斑面积与总叶面积之比)调查, 对照的感病率达 87.3%, 感病强度达 65.3%, 而该抗病植株(编号为 54-4)两个指标均为 0。

表 1 M_3 代小区试验结果
Table 1 Plot test for the M_3 generation

材 料 Materials		四						六	
Progenies		70-3	56-3	31-1	33-6	54-4	60-3	37-2	20-1
处 理 Treatment		CK	N15'	N10'	N10'	N10'	N10'	CK	N10'
株 高 Plant height	cm	264.3	230.3	226.2	227.9	212.7	206.0	257.3	218.7
	S	7.92	7.02	2.65	7.98	2.07	2.84	4.33	3.53
穗 长 (cm) Panicle length		37.3	30.7	32.7	31.3	32.7	30.5	29.0	33.0
千 粒 重 1000-grains weight	g	11.55	14.85	14.50	14.37	14.50	14.80	9.65	13.05
	S	0.38	0.60	0.44	0.47	0.46	0.27	0.40	1.03
穗 粒 重 Grains weight per panicle	g	32.4	35.5	45.8	40.8	45.6	41.4	28.7	37.5
	S	1.18	0.80	1.12	0.69	1.17	2.11	0.91	0.29
感 病 率 (%) Rate of disease infection		100	/	22.2	/	20.3	/	/	/
感 病 强 度 (%) Intensity of disease infection		66.7	/	0.7	/	3.8	/	/	/
小 区 面 积 (m ²) Area per plot		38.5	38.5	38.5	38.5	38.5	38.5	38.5	38.5
小 区 产 量 Yield/plot	kg	12.75	13.89	17.97	15.90	17.91	16.29	11.49	14.93
	S	0.84	1.25	1.35	0.95	1.37	1.05	0.72	0.91
增 产 Yield increase	kg	/	1.14	5.04	3.15	5.16	3.54	/	3.44
	96	/	8.3	33.3	24.7	40.5	21.5	/	29.2
	t=	/	1.39	4.82	4.02	7.09	3.82	/	3.67
	p<	/	0.40	0.025	0.05	0.01	0.05	/	0.05

2.1.4 其它性状的变异 在 M_1 代还表现出有穗型、粒型、粒色和生育期等多方面的变异。不同亲本, 不同诱变处理条件, 表现各不相同。如用 N_2 分子激光处理 10 分钟的四号材料, 有 5.0% 的穗型由中紧型变为中散型; 3.3% 的粒型由圆型变为心型; 1.7% 的粒色由黄变褐。六号的穗型变异为 3.3%; 粒色由黄变红, 也有 3.3%, 粒型没有产生变异。同是六号, 用 N_2 分子激光处理, 有 3.3% 的穗型变异, 而 He—Ne 激光仅有 1.7%。生育期的变异是 He—Ne 激光有缩短的趋势, N_2 分子激光有延长的趋势(六号亲本, 生育期的变异以延长或缩短以 7 天为度)。

2.2 选择结果 在得到的 64 个 M_1 代材料中经 M_2 代选择, 选出 6 个表现突出的变异体。大致分为矮化、抗病、多穗等类型。矮化变异体株高比对照矮 30cm 以上, 抗病变异体的感病率在 11% 以下, 感病强度不超过 4.5%(对照分别为 77.8% 和 64.4%), 多穗型一般有效穗为三个。几个类型的生产能力均在每公顷 4500 公斤以上(考种数), 对照为 3100 公斤。该 6 个变异体, 进行 M_3 代小区比较试验, 结果如表 1。可见, 除个别材料增产幅度不大外, 其余均比对照增产 20% 以上。尤以 54—4 和 31—1 表现最好, 株高比对照矮 40cm 左右, 感病强度在 3.8% 以下(对照为 66.7%), 产量比对照分别高 40% 和 33%, 经 t 检验结果, P 值分别小于 0.01 和 0.025, 达到差异极显著。是两个很好的变异材料。

2.3 几个性状的遗传观察 经逐代观察表明, 所得的变异体的抗病性(以 54—4 为例)和矮化性状(31—1)均稳定。54—4 的感病强度, 连续三代都在 3.8% 以下(对照在 60% 以上)。33—1 的株高连续三代都比对照降低 35cm 以上。但分蘖力强的性状则随世代的增加而降低。如 20—1, M_0 代分蘖数达 22 个, M_1 代平均 2.4 个(有效穗, 下同), M_2 代为 1.7 个, M_3 代则降为 1.1 个与对照持平, 表明这一性状不稳定。

2.4 同工酶分析结果 在对 54—4(M) 及其亲本 70—3(CK) 的芽、胚根、幼叶和成年植株的根、叶片作的酯酶、过氧化物酶和细胞色素氧化酶同工酶比较分析中发现: 胚根、芽和叶片的过氧化物同工酶差异显著, 胚根和叶片是 CK 比 M 多一条带 (R_f 分别为 0.80 和 0.46), 芽的 M 比 CK 多一条 R_f 为 0.60 的带。细胞色素氧化酶的差异是: 芽的 M 比 CK 多一条 R_f 为 0.55 的带, 胚根的 M 比 CK 多出 S_1 和 S_3 二带, R_f 分别为 0.18 和 0.30; CK 则比 M 多 f_1 和 f_2 带 R_f 为 0.74 和 0.78; 叶片的 CK 比 M 多 m_1 带, R_f 为 0.46。酯酶仅表现在叶片上的差异: CK 比 M 少一条 f_1 带 ($R_f=0.69$)。可见该变异体的变异是可靠的。

3 结 论

用激光照射高粱培养细胞能产生多种变异, 多数变异发生在 M_1 代, 且变异性状较稳定, M_0 代产生的变异不能稳定。因此 M_1 代是选择变异体的关键时代。在本实验中, N_2 分子激光的诱变效果优于 He—Ne 激光。经同工酶检测证明了所得变异体的真实性。本研究结果表明: 激光诱变与生物技术结合, 作为一条作物育种的新途径, 至少对某些性状的选育是可行的。