

水稻体细胞愈伤组织抗寒性鉴定方法初探

金 润 洲

(吉林省农科院水稻所)

摘 要

选用抗寒性强弱不同的粳稻品种30份,进行胚及幼穗(0.5—1.0cm)体细胞组织培养。结果表明:来自不同品种的体细胞愈伤组织的净生长量,不仅在不同品种之间有明显差异,而且在继代培养中具有相对的稳定性;在15℃低温下继代培养的成熟胚愈伤组织净生长量与品种孕穗期的抗寒性无关,幼穗体细胞愈伤组织的净生长量与品种的抗寒性呈显著的正相关;将愈伤组织在15℃下培养25天,可作为愈伤组织抗寒性的鉴定方法,其净生长量可作为抗寒性鉴定的指标。

在植物组织培养过程中,体细胞的遗传变异是普遍存在的现象^{〔1〕}。对这些变异的选择,可以通过两种途径进行:一是在再生植株的群体中进行选择,二是通过某种物理、化学的选择因素对培养物施加一定的选择压,使其中只有所需要的遗传变异体存活、繁殖并再生成植株。近年来,水稻体细胞组织培养和遗传变异方面的研究进展较快,已成功地获得了抗稻瘟病变异体(郑祖玲,1986)、抗白叶枯病变异体(孙立华等,1986)^{〔2〕}、高氨基酸变异体(李朝灿,1986)^{〔3〕}、抗盐碱的变异体(大野,1985)^{〔4〕}。但迄今尚未见抗寒性方面体细胞无性系变异的研究报道。为探明水稻不同器官体细胞无性系抗寒性变异的诱导技术及遗传变异性,我们对水稻不同品种的种胚(成熟胚)、幼穗进行体细胞培养,研究来自不同外植体的愈伤组织的生长量、分化能力及其与品种抗寒性的关系。

材料与方 法

本试验根据云南省农科院和日本热带研究中心合作研究的试验结果^{〔5〕}及日本东北农试场、宫城县古川农试场研究结果^{〔6〕},选用抗寒性强弱不同的粳稻品种30份。种胚取自1986年收获的种子,将糙米粒用0.1%升汞消毒10分钟,用无菌水冲洗2次后接种。幼穗取自大田生长的植株。于孕穗始期(颖花分化期)拔取整株,剪去叶片及根系后用75%酒精进行表面消毒,在无菌条件下逐层剥去叶鞘,将0.5—1.0cm的幼穗直接剪入装有培养基的小三角瓶(50mL)内培养。诱导培养基为N6+2.4-D2mg/L+蔗糖50g/L+琼脂8g/L;分化培养基为N6+KT1mg/L+IAA0.2mg/L+蔗糖30g/L+琼脂8g/L,PH=5.8。在26℃±1℃,自然散射光下诱导及分化培养。

品种孕穗期抗寒性,采用15℃、深水(30cm)处理5天的短期冷水流灌法和在田间串灌冷水25天的中期冷水流灌法,以可育指数表示孕穗期的抗寒性。可育指数=

$$\sin^{-1} \sqrt{\text{可育率}(\%)}$$

结果与分析

一、不同品种间的差异

抗寒性不同的各品种的种胚和幼穗,都能形成愈伤组织,而且诱导频率较高(>90%)。

但来自不同品种的愈伤组织在相同的培养条件(26℃)下,生长量和分化能力均有明显差异(表1)。培养30天的愈伤组织鲜重因品种而异,最差的品种平均在每粒上只诱导出25mg愈伤组织,而最高的品种可诱导出91mg。不同品种的体细胞愈伤组织的分化能力也有很大差异。在表1中分化率最高的超系881号绿苗分化率比青系96号高13.1倍。在分化培养中很少见到白化苗。

表1

不同品种成熟胚愈伤组织生长量与绿苗分化率

代 号	品 种 名	结实指数	愈伤组织鲜重 (mg/粒)	愈伤组织直径 (mm)	大块愈伤组织 百分比(%)	绿苗分化率 (%)
1	H2	88	63.9	9.7	27	23.1
2	Y3-33	83	68.5	7.7	27	15.4
3	H84-155	79	62.5	8.9	23	19.7
4	中部45号	74	44.8	9.4	27	12.5
5	藤系127号	74	35.8	7.1	23	12.0
6	藤系138号	71	91.0	8.3	27	19.3
7	多收系1号	71	54.3	8.7	29	21.7
8	羽系117号	67	55.5	6.9	33	19.1
9	青系96号	67	65.5	9.5	23	3.3
10	藤系129号	66	49.0	8.0	13	25.9
11	35-278	66	52.0	7.2	33	12.3
12	秋 光	62	52.3	6.6	27	8.2
13	H34-270	61	53.5	5.6	3	12.1
14	超系881号	61	43.5	5.8	39	43.1
15	吉梗44号	53	53.5	9.3	7	13.3
16	吉梗63号	53	24.9	3.2	39	21.6
17	H34-144	50	73.5	6.3	23	25.9
18	H34-540	50	63.5	8.3	17	24.3
19	中部32号	33	73.0	9.3	8	13.8

二、愈伤组织生长量的遗传稳定性

选用生长快慢不同的2品种秋光(生长慢)和吉梗44号(生长快)的愈伤组织,在常温(26℃)下培养4代(每代30天)。结果如表2,抗寒性强的品种吉梗44号体细胞愈伤组织的大块率(直径10mm以上的大块在供试总块数中所占的百分比)在各世代中都明显高于秋光。说明愈伤组织的生长量是比较稳定的品种特性。

愈伤组织生长量的稳定性

表2

(1987年)

继代次数		1	2	3	4	合计与平均
供试块数	秋 光	180	115	99	133	527
	吉梗44号	159	139	127	140	556
大块(%)	秋 光	19.4	51.6	32.7	25.9	32.4
	吉梗44号	44.0	61.9	74.9	33.3	54.8

在试验过程中发现来自同一品种的愈伤组织,在继代培养中经常出现生长特快的愈伤组织块。为此,在来自同一品种种胚的愈伤组织中,选用生长特快的大块(直径10mm以上)和小块(4mm以内),分别起名为大块系和小块系。将两种愈伤组织块,用接种针碰散成小块后选直径1.5mm(目测)的块转移到继代培养基上,在26℃下继代培养,每隔5天调查

在各系中的大块率及27天后的愈伤鲜重。结果在各系中仍然出现生长快慢不同的大块和小块。但在每一次调查中，大块系中的大块率明显高于小块系（表3）。

从27天后的愈伤组织鲜重来看，大块系比小块系高24%，说明大块系比小块系生长快。这种大块系是在培养中产生的变异体呢，还是同一品种不同体细胞个体之间的遗传差异？有待于进一步研究。但有一点，不管形成机制如何，愈伤组织的生长量是相对稳定的遗传性状。

表 3		大块系与小块系中的大块率						(单位: %)	
品 种 名	系 统 名	培养天数					27天后的鲜重		
		7 天	12天	17天	22天	27天	mg/10块	%	
秋 光	小 块 系	31.6	42.1	43.2	57.9	57.9	350	100.0	
	大 块 系	35.0	70.0	75.1	90.0	90.0	433	123.7	
	差 数	3.4	27.9	31.8	32.1	32.1	83	23.7	
吉梗44号	小 块 系	23.1	38.5	46.2	53.9	69.2	356	100.0	
	大 块 系	55.0	80.0	85.0	85.0	15.0	450	126.4	
	差 数	31.6	41.5	38.8	31.1	15.8	94	26.4	
各调查日的大块直径 (mm)		< 3	< 5	< 7	< 10	< 10			

三、与品种抗寒性的关系

在15℃下，种胚的愈伤组织净生长量、分化率与品种抗寒性的相关系数均较低（分别为： $r = 0.005$ 和 $r = 0.087$ ），而幼穗愈伤组织的净生长量、分化率与品种的抗寒性有显著的正相关（分别为： $r = 0.757^{**}$ 和 $r = 0.603^{*}$ ）。这一结果启示我们，在水稻孕穗期才能表

不同品种愈伤组织净生长量与品种抗寒性

品 种 名	可育指数	愈伤组织净生长量 (mm/块)			
		15天	20天	25天	30天
丽江新团黑谷	80	12	17	18	25
H 2	77	5	8	11	12
中 母 42 号	75	12	14	17	24
中 母 35 号	74	6	10	14	15
松 前	69	7	10	13	16
中 部 49 号	65	7	9	13	18
籼 锦	65	5	8	12	14
秋 光	63	6	8	12	15
吉 梗 44 号	61	3	5	6	9
下 北	59	4	6	13	13
合 江 19 号	39	4	5	6	10
与可育指数的相关系数		*	**	**	*
		0.620	0.744	0.757	0.631

现出品种的抗寒性，在组织培养过程中，采用适宜的选择压（15℃低温），就有可能利用愈伤组织净生长量等间接的形态指标，加以选择或鉴定。

四、愈伤组织抗寒性的鉴定方法

将来自抗寒性不同的品种幼穗愈伤组织，在15℃下继代培养15天以后，不同品种愈伤组织之间净生长量有很大差异，并与品种的抗寒性（可育指数）有显著的正相关（见表4）。

从表4看出，在15℃下培养15天以后的愈伤组织净生长量与品种抗寒性的相关系数都达到显著水平。其中第20天、25天的相关系数达到极显著水平。因此，可以把在15℃下培养25天的幼穗愈伤组织生长量作为鉴定愈伤组织抗寒性的形态指标，也可以作为愈伤组织抗寒性的鉴定方法。

低温冷害是我国主要气象灾害之一，也是全球性的自然灾害。冷害不仅在北方寒冷地区发生，在温热地带也有发生，而且对作物产量的影响甚大。我国东北地区，自建国以来发生过8次低温冷害。其中4次粮食减产都在50亿公斤左右。几乎每3—5年出现一次在国外，1971年日本北海道因冷害水稻收成指数为平年的66%；1976年日本北部因冷害，使农作物损失达4093亿日元^[7]。为此，国内外都高度重视农作物的低温冷害，并建立专门机构，相继开展了对冷害的试验研究，逐步明确了水稻冷害发生规律、生理生化机制、选育抗寒品种等防御措施。并建立了形态、生理上的有关鉴定指标与方法。

目前我国以水稻种子在10℃下第20天的发芽势做为芽期抗寒性的鉴别指标，而日本则用15℃下第10天的发芽系数作为鉴定指标；在水稻减数分裂期（孕穗期），在15℃下处理5天后的不育指数作为水稻孕穗期的抗寒性指标。在生理方面，建立了水稻组织K⁺外渗鉴定法。本文根据水稻幼穗体细胞的愈伤组织净生长量与品种抗寒性之间所存在的高度相关性，首次提出在细胞团水平上以15℃下培养25天的愈伤组织抗寒性的鉴定方法。这为进一步开展体细胞抗寒性的遗传研究及体细胞抗寒突变体的诱发选择，提供初步的技术方法。又为水稻孕穗期抗寒性鉴定方法的改进，从组织培养角度，提出一条新途径。如果这项研究结果，在今后的试验研究中得到进一步的验证，那么今后的水稻抗寒性鉴定就不再需要价格昂贵的人工气候室（箱）和规模庞大的田间鉴定设施，在实验室内利用一些简便的方法就能完成水稻不同品种的抗寒性鉴定。并有可能在较短时期内获得体细胞无性系的抗寒突变体，为水稻抗寒育种，提供新的基因源。

参 考 文 献

- 〔1〕陆维忠等：小麦体细胞无性系的遗传与变异，〈作物遗传研究通讯〉，1987，（1）：18—20。
- 〔2〕孙立华等：用组织培养方法筛选水稻抗白叶枯病突变体，〈遗传学报〉，1986，13（3）：188—193。
- 〔3〕李朝灿：水稻高赖氨酸突变体离体筛选的初步研究，〈福建省农业科学院学报〉，1986，1（1）。
- 〔4〕大野青春：水稻耐盐愈伤组织的选择及其原生质体的培养，〈国外遗传育种〉，1935，（6）：25—30。
- 〔5〕云南省农业科学院：中日合作研究试验总结（1983—1984年）。
- 〔6〕松永和久等：东北地方にすける年代別水稻奨励品種の穂ばうみ期耐冷性，〈东北农业研究〉，1985，（37）：9—10。
- 〔7〕潘铁夫等：东北地区防御低温冷害综合技术研究报告，〈中国农学会农业气象研究会东北分会成立大会暨首届学术会议论文汇编〉，1987，（4）：1—31。

（下转第76页）

EXILORATION OF THE FRACTIONAL METHOD OF SOIL ORGANIC PHOSPHORUS

Ren Yi

(*Preparatory school of student studying in Japan, Northeast Normal University*)

ABSTRACT

The principle of Bowman-Cole method for fractionation of soil organic Phosphorus and main points in analysis were discussed and exploded in this paper. According the result of studying from 36 soil samples, the method is reliable and feasible. The data obtained from it can be used as parameters in studying the mineralization of organic matter and the dynamics of available phosphorus.

(上接第23页)

DETERMINATION OF COLD RESISTANCE OF SOMATIC CELL CALLUS IN RICE

Jin Runzhou

(*Rice Research Institute, Jilin Academy of
Agricultural Sciences*)

ABSTRACT

The callus cultures of somatic cell tissues from mature embryos and juvenile spikes (0.5~1.0 cm) of 30 rice varieties with different cold resistance were examined. The results showed that different genotypical callus had obvious difference in callus growth rate and plantlet regenerative rate. And the differences relatively stabilized in continuous culturing. The plantlet regenerative rates of calli from mature embryo were lower and not correlated with cold resistance of those varieties at 15°C. But plantlet regenerative rates of calli from juvenile spikes were higher and the positive correlation between callus growth rate and cold resistance of those rice varieties were significant. Thus, the callus growth rates of callus cultures developed at 15°C for 25 days present as a morphological index to determine cold resistance of rice varieties and this might be suggested as a way for determining cold resistance of rice varieties.
