

文章编号:1000-8551(2008)03-248-05

用 ^{60}Co γ 射线诱导水稻抗瘟突变体的筛选臧威^{1,3} 张淑园¹ 张国民² 李柱刚² 孙剑秋¹ 张兰兰¹ 严善春³(1. 齐齐哈尔大学生命科学与工程学院,黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省农业科学院,黑龙江 哈尔滨 150086;
3. 东北林业大学林学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:以水稻为材料,通过 ^{60}Co γ 射线辐射诱变,结合组织培养技术,采用以黑龙江省优势稻瘟病菌谱系产生的混合粗毒素提取液作为选择压力,进行继代培养和分化培养筛选抗瘟水稻突变体。研究表明,水稻成熟胚经过 ^{60}Co γ 射线辐照后,获得的愈伤组织诱导率很低而且褐化率很高,但是通过苗瘟抗性鉴定发现,再生植株中对稻瘟病表现抗性的植株比例较大,说明辐射诱发突变与生物技术相结合的抗病育种途径具有较大的应用潜力和较好的发展前景。

关键词:稻瘟病;粗毒素;组织培养;辐射诱变育种;抗瘟突变体

SCREENING OF RESISTANT MUTANT INDUCED BY γ -RAYS IRRADIATION TO RICE BLASTZANG Wei^{1,3} ZHANG Shu-yuan¹ ZHANG Guo-min² LI Zhu-gang² SUN Jian-qiu¹
ZHANG Lan-lan¹ YAN Shan-chun³(1. College of Life Science and Engineering, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006; 2. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150040;
3. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: Rice seeds were irradiated with ^{60}Co γ -rays to induce mutants, which resistant to rice blast were screened in subculture medium and differentiation medium under mix toxin from dominant strains of *Pyricularia grisea* in Heilongjiang. The results indicated that the inductivity of callus of mature rice embryo by irradiation was very low and the browning rate of callus was very high. However, the resistance rate of resistant regenerating plants was obviously higher, which indicated the resistant breeding by irradiation and biotechnology had a great potential and a better prospect.

Key words: rice blast; phytotoxin; tissue culture; mutation breeding by irradiation; resistant mutant

稻瘟病(rice blast)是水稻最具毁灭性的病害之一^[1],其发生可导致水稻的产量和品质严重下降,给水稻生产带来极大的损失。为了防止稻瘟病的发生,各种杀菌剂被广泛使用,但长期大量使用杀菌剂,可能会加重病原菌的抗药性,给人类健康和农田环境带来不利影响^[2,3]。采取有效措施控制稻瘟病对水稻生产的危害,已经引起国内外学者的高度重视。人们在研究水稻、病原菌的分子生物学基础^[2,4]以及水稻与病原菌之间关系^[5]的同时,在水稻诱导抗病性^[6]和通过遗传工程^[3]选育抗瘟性水稻品种方面已经开展了一些重要

的工作。

在作物抗病育种的实践中,传统的育种手段和鉴定方法容易受到人为因素的影响和气候条件的限制,周期长,工作量大^[7]。随着组织培养技术的成熟和完善,利用病原菌产生的粗毒素作为选择压力,离体筛选抗病突变体已成为抗病育种的有效途径,在茄子抗黄萎病^[8]、苏丹草抗叶斑病^[9]、小麦抗赤霉病^[10]的突变育种研究中已有成功报道,抗性育种技术具有较大的发展潜力和良好的发展前景。

本研究以黑龙江省主要水稻种植区发生的穗颈瘟

收稿日期:2007-08-11 接受日期:2007-10-10

基金项目:农业部引进国际先进农业科学技术计划("948"计划)(2006-G61)

作者简介:臧威(1975-),女,黑龙江依安人,博士,讲师,主要从事植物病理学方面的科研与教学工作。

通讯作者:李柱刚(1972-),男,黑龙江庆安人,博士,研究员,主要从事生物技术方面的科研工作。E-mail: lizhugang@163.com

标样上分离到的单孢菌株所产生的混合粗毒素作为选择压力,结合组织培养及⁶⁰Co γ射线辐照进行了水稻抗性细胞突变体的筛选,并在苗期对其进行了抗性检测,以期水稻抗瘟育种提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 稻瘟病菌灰色梨孢 (*Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.), 2006年6-8月分离自黑龙江省稻瘟病发病区的穗颈瘟标本。根据SSR遗传分析结果,选用分离自7个地区优势稻瘟病菌谱系中的18株具代表性菌株,作为水稻抗瘟突变选育过程中使用的研究菌株^[11]。

1.1.2 水稻品种 由于龙粳14号、东农418号、松粳9号和垦稻12号对稻瘟病菌粗毒素的胚芽生长抑制作用表现出较强的抗性^[12],所以选用这4个水稻品种作为试验材料。所用水稻由黑龙江省农业科学院栽培研究所提供。

1.1.3 培养基 马铃薯蔗糖(PDA)培养基:马铃薯200g/L、蔗糖20g/L、琼脂15g/L, pH自然。马铃薯洗净去皮,切块后煮沸30min,纱布过滤后得到滤液,之后加入糖和琼脂定容至1000ml。

MS基本培养基由4种母液按不同浓度稀释后混合而成。母液I: NH₄NO₃ 33g/L、KNO₃ 38g/L、CaCl₂·2H₂O 8.8g/L、MgSO₄·7H₂O 7.4g/L、KH₂PO₄ 3.4g/L;母液II: KI 166mg/L、H₃BO₃ 1.24g/L、MnSO₄·4H₂O 4.46g/L、ZnSO₄·7H₂O 1.72g/L、Na₂MoO₄·2H₂O 50mg/L、CuSO₄·5H₂O 5mg/L、CoCl₂·6H₂O 5mg/L;母液III: FeSO₄·7H₂O 5.56g/L、Na₂-EDTA·2H₂O 7.46g/L;母液IV: IV A(肌醇)20g/L、IV B(烟酸)0.1g/L、维生素B₆(盐酸吡哆醇)0.1g/L、维生素B₁(盐酸硫胺素)0.1g/L、甘氨酸0.4g/L。各种母液成分的用量,除了I为20倍浓缩液外,其余均为200倍浓缩液。

愈伤组织的诱导培养基、继代培养基和分化培养基均需在MS基本培养基的基础上,加入一定比例的药品进行配制。

诱导培养基药品组成为2,4-D 2.5mg/L、脯氨酸0.3g/L、L-谷氨酰胺0.25g/L、酸水解酪蛋白0.3g/L、蔗糖3.0g/L、琼脂粉7.0g/L, pH 5.8。

继代培养基:2,4-D 2.0mg/L、脯氨酸0.3g/L、酸水解酪蛋白0.3g/L、蔗糖3.0g/L、琼脂粉7.0g/L, pH 5.8。

分化培养基:激动素(KT) 4mg/L、NAA 0.5mg/L、蔗

糖15.0g/L、麦芽糖15.0g/L、琼脂粉7.0g/L, pH 5.8。

植株再生培养基:1/2 MS培养基、蔗糖30g/L、琼脂粉7.0g/L, pH 5.8。

1.2 方法

1.2.1 稻瘟病菌粗毒素提取液的制备及其生物毒性的测定 将供试的18株稻瘟病菌接种于PDA培养基中扩大培养,选取生长旺盛的菌丝团接种于装有150ml改良PDA液体培养基(在PDA液体培养基中另加0.2%酵母)的250ml三角瓶中,在25℃条件下150r/min恒温振荡培养3-4d,待三角瓶中长满球状菌丝,用两层无菌纱布滤出菌丝体和渣滓,滤液经3000r/min离心15min后得到上清液,121℃高压灭菌20min,即得粗毒素原液^[13]。每个菌株的粗毒素原液等体积混合作为稻瘟病菌混合粗毒素提取原液备用。

稻瘟病菌粗毒素生物毒性的测定采用胚芽抑制法进行。取催芽刚露白的饱满水稻种子30粒,置于培养皿中的两层纱布上(纱布预先用不同浓度的粗毒素提取液充分润湿),包成萌发包。将混合粗毒素原液分别与水按照不同的比例制成不同浓度的混合粗毒素液,然后吸取不同浓度的混合粗毒素液洒于萌发包上,设有0(对照)和10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%和100%共10个处理,每处理3次重复^[14]。置于28℃恒温箱内催芽2d后,逐粒测量种子胚芽长度,取平均值。以胚芽生长抑制率表示粗毒素的生物毒性。

抑制率(%) = (1 - 粗毒素处理胚芽平均长度/对照胚芽平均长度) × 100%

1.2.2 ⁶⁰Co γ射线诱变处理水稻胚后愈伤组织的继代筛选和分化筛选 在黑龙江省农业科学院原子能研究所分别用0、150、200、300和400Gy的⁶⁰Co γ射线照射成熟水稻种子的种胚部分,每处理30粒种子,试验设3次重复,然后选择生长旺盛的愈伤组织,以稻瘟病菌粗毒素作为选择压力进行继代与分化筛选。

1.2.2.1 水稻愈伤组织的诱导 将经过不同剂量⁶⁰Co γ射线辐照的水稻成熟胚,用75%的乙醇溶液浸泡2-3min,无菌水冲洗后用0.1%的升汞(HgCl₂)溶液消毒15min,无菌水再冲洗4-5次,然后在愈伤组织诱导培养基上,28℃条件下暗培养,诱导种子胚的愈伤组织形成,以未经⁶⁰Co γ射线辐照的水稻成熟胚作对照。

1.2.2.2 水稻愈伤组织的继代筛选 将诱导培养基上生长旺盛的白色愈伤组织,转入含有粗毒素提取液的愈伤组织继代培养基上进行多次继代扩繁。由于培养基中选择压力的存在,可以筛选得到对稻瘟病菌粗毒素表现出更强抗性的愈伤组织无性系。

1.2.2.3 水稻愈伤组织的分化筛选 选择继代筛选得到的抗瘟性强的愈伤组织转入到愈伤组织分化培养基中 28℃光照培养,统计分化成苗率^[15]。

1.2.3 植株再生与苗瘟抗性鉴定 将分化的愈伤组织转移到植株再生培养基上,诱导植株再生。再生植株在装有土壤和草木灰的培养钵中长到三叶一心期时,采用混合孢子悬浮液(2×10^5 个孢子/ml)进行喷雾接菌,保湿 7-10d 后调查植株发病情况。按照 IRRI 的评价标准^[16],分为 6 个等级,0~3 级视为抗病,4~5 级视为感病(图 1)。整个试验过程以未经辐照的水稻品种为对照,根据苗瘟抗性结果初步鉴定抗性变异体。

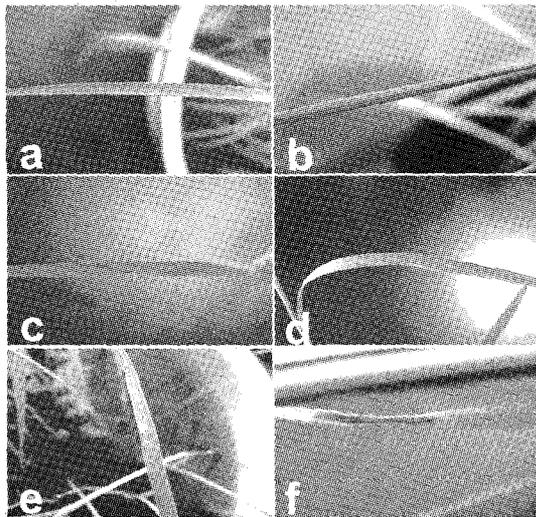


图 1 黑龙江省水稻稻瘟病发病等级

Fig.1 Degree of rice blast in Heilongjiang

a:0级;b:一级;c:二级;d:三级;e:四级;f:五级

a, b, c, d, e and f mean the grade 0, 1, 2, 3, 4

and 5 of rice blast, respectively

1.3 数据处理

愈伤组织诱导率、褐化率和分化率的方差分析采用 SPSS 软件进行。

2 结果和分析

2.1 稻瘟病菌粗毒素提取液生物毒性测定

稻瘟病菌粗毒素提取液对水稻品种的生物毒性测定结果见表 1。从表 1 可以看出,稻瘟病菌的粗毒素明显影响 4 个水稻品种的胚芽生长。不同浓度粗毒素处理对种子的胚芽的伸长和生长具有不同程度的抑制作用,且毒害作用随粗毒素浓度的增加而增强,表现为粗毒素的浓度越大,胚芽生长受到的抑制程度越高。结果表明,毒素浓度为 50% 时,松粳 9 的胚芽生长抑

制率为 51.07%;毒素浓度为 60% 时,龙粳 14、东农 418、松粳 9、垦稻 12 的胚芽生长抑制率分别为 50.27%、52.28%、54.78%、57.15%;毒素浓度为 70% 时,龙粳 14 和东农 418 的胚芽生长抑制率分别为 56.72% 和 58.46%。因此选择 50%~70% 浓度的粗毒素,胚芽生长抑制率一般可以达到 50% 以上,这个压力在水稻品种筛选突变体时可以获得较高的筛选效率,因此本研究选用 60% 粗毒素浓度作为选择压力。

表 1 不同浓度稻瘟病菌粗毒素对 4 个水稻品种的胚芽生长抑制率

Table 1 Inhibiting rate of crude toxin of *Pyricularia grisea* on bud growth of four rice varieties (%)

毒素浓度 toxin concentration	龙粳 14 Longjing 14	东农 418 Dongnong 418	松粳 9 Songjing 9	垦稻 12 Kendao 12
10	7.71	4.99	9.15	17.18
20	17.59	18.19	18.63	28.89
30	25.23	26.90	29.70	33.93
40	35.56	36.64	41.06	38.39
50	40.29	43.86	51.07	48.86
60	50.27	52.28	54.78	57.15
70	56.72	58.46	61.21	61.21
80	61.13	66.14	66.66	65.27
90	63.95	70.57	75.66	71.27
100	68.94	75.65	82.54	75.02
平均 average	42.74	45.37	49.05	49.72

2.2 ⁶⁰Co γ 射线诱变处理对水稻愈伤组织诱导的影响

水稻成熟胚在愈伤组织诱导培养基上暗培养 7d 后,开始形成愈伤组织。4 个水稻品种愈伤组织的形态特征基本一致,浅黄或乳白色,色泽较亮,质地较硬,生长速度较快。由表 2 可见,未经辐照的各水稻品种愈伤组织诱导率不同,其中龙粳 14 号的诱导率相对较高。辐照后,各品种成熟胚愈伤组织诱导率明显降低 ($P < 0.05$),400Gy 的剂量对水稻成熟胚损伤过大,未能诱导出愈伤组织。各水稻品种未经辐照与经过不同剂量的 ⁶⁰Co γ 射线辐照的愈伤组织诱导率差异均达极显著 ($P < 0.01$)。

2.3 ⁶⁰Co γ 射线辐照诱变处理对水稻愈伤组织继代筛选的影响

在水稻愈伤组织继代筛选的过程中,由于继代培养基中 60% 粗毒素的存在及其他因素的影响,有些愈伤组织会出现褐化现象,一般认为这是由于愈伤组织细胞分泌的酚类物质被氧化成有色有害物质所致^[17]。褐化可以引起愈伤组织细胞活力降低、增殖缓慢甚至死亡。⁶⁰Co γ 射线辐照对水稻愈伤组织的褐化率影响显著,由表 3 可见,随着诱变剂量的增加水稻愈伤组织的褐化率随之增加,且不同剂量辐照之间对褐化率的

影响差异极显著($P < 0.01$)。

表2 4个水稻品种经⁶⁰Co γ射线辐照后愈伤组织诱导率

Table 2 Callus inducing rate from four rice varieties by ⁶⁰Co γ-rays irradiation

剂量 dose (Gy)	龙粳 14 Longjing 14(%)	东农 418 Dongnong 418(%)	松粳 9 Songjing 9(%)	垦稻 12 Kendao 12(%)
0	98.72aA	97.61aA	89.72aA	93.85aA
150	14.10bB	9.83bB	7.9bB	12.11bB
200	7.32cC	3.17cC	2.47cC	5.32cC
300	3.83dD	1.08dCD	0cC	2.37cdCD
400	0eE	0dD	0cC	0dD

注:表中小写字母表示在 $P < 0.05$ 下的差异显著;大写字母表示在 $P < 0.01$ 下的差异极显著。下表同。

Note: The small letters indicated Longitudinal values were significantly different at $P < 0.05$; The capital letters indicated Longitudinal values were significantly different at $P < 0.01$. The same as following Tables.

表3 ⁶⁰Co γ射线辐照对水稻愈伤组织褐化率的影响

Table 3 Effects of γ-rays irradiation on brown rate of rice callus (%)

剂量 dose(Gy)	龙粳 14 Longjing 14	东农 418 Dongnong 418	松粳 9 Songjing 9	垦稻 12 Kendao 12
0	18.42dD	35.53dD	34.62dD	23.64dD
150	27.27cC	86.84bB	46.12cC	41.18cC
200	63.25bB	79.41cC	72.97bB	74.19bB
300	86.73aA	94.36aA	100aA	96.73aA

2.4 ⁶⁰Co γ射线辐照诱变处理对水稻愈伤组织分化筛选的影响

经过⁶⁰Co γ射线辐照的水稻成熟胚,用含60%粗毒素提取液的继代培养基筛选后,将获得的抗瘟性较强的愈伤组织无性系转接到含有60%粗毒素提取液的分化培养基上分化成苗,结果见表4。

表4 ⁶⁰Co γ射线辐照对水稻愈伤组织分化率的影响

Table 4 Effects of γ-rays irradiation on differentiation rate of rice callus (%)

剂量 dose(Gy)	龙粳 14 Longjing 14	东农 418 Dongnong 418	松粳 9 Songjing 9	垦稻 12 Kendao 12
0	32.20bB	18.62aA	7.57cC	12.15aA
150	16.35cC	10.00bB	19.69bB	11.34aA
200	0dD	0cC	75.00aA	1.56bB
300	66.67aA	0cC	0dD	0bB

从表4可以看出,经过不同剂量⁶⁰Co γ射线辐照后,不同品种水稻成熟胚的愈伤组织分化规律不同,垦稻12的分化率随剂量增加而降低,而且150和200Gy剂量间愈伤组织的分化率差异极显著($P < 0.01$);松粳9的分化率在剂量为0~200Gy时,随剂量增加而增加,且在不同的剂量下,差异极显著($P < 0.01$),而在

300Gy剂量下没有分化苗;龙粳14在150Gy剂量辐照时的分化率为16.35%,300Gy剂量时的分化率为66.67%,而其对照的分化率为32.20%,诱导得到的愈伤组织分化率呈不规则变化,与辐照剂量非线性相关,不同剂量之间愈伤组织的分化率差异均极显著;东农418的愈伤组织经150Gy的剂量辐照后分化率为10%,与对照差异极显著,而在200和300Gy的剂量下未见分化苗形成。

2.5 抗瘟突变体的初步筛选和鉴定

愈伤组织分化得到的分化苗长到三叶一心期后,再生苗数量及抗瘟能力见表5。经对再生苗进行抗瘟性检测后发现,诱变后龙粳14愈伤组织再生植株抗病率达83.33%~84.62%,东农418为50.00%,松粳9为33.33%~58.33%,垦稻12为63.46%~66.67%,与各自对照相比,其抗病植株比率都明显增加。龙粳14对稻瘟病菌粗毒素具有较强抗性(表1),经过⁶⁰Co γ射线诱变和粗毒素筛选后得到的植株中抗瘟比例最高(表5),在水稻抗瘟育种中表现出良好的发展潜力。

表5 抗瘟突变体的筛选和鉴定

Table 5 Screening and identification of resistant mutants

水稻品种 rice varieties	辐照 剂量 (Gy)	再生苗数 No. of regenerated seedling	稻瘟病菌抗性反应 resistant reaction		抗病株 比例 percent of resistant plant(%)
			抗病株数 No. of resistant plant	感病株数 No. of susceptible plant	
龙粳 14	0	45	18	27	40.00
Longjing 14	150	39	33	6	84.62
	200	—	—	—	—
	300	18	15	3	83.33
东农 418	0	15	3	12	20.00
Dongnong 418	150	6	3	3	50.00
	200	—	—	—	—
	300	—	—	—	—
松粳 9	0	36	9	27	25.00
Songjing 9	150	36	21	15	58.33
	200	12	6	12	33.33
	300	—	—	—	—
垦稻 12	0	12	3	9	25.00
Kendao 12	150	33	21	12	63.64
	200	9	6	3	66.67
	300	—	—	—	—

注:“—”为相关剂量下的愈伤组织没有分化苗形成。

Note: “—” indicated that the callus in relative doses didn't form regenerated seedlings.

3 结论和讨论

目前,以病原真菌毒素作为选择压力,通过组织培

养或细胞培养离体选育抗病突变体的技术,已经在茄子、苏丹草、小麦、烟草等多种农作物的育种中广泛应用^[8,9,18,19]。在国际上,从上世纪70年代初期就开始利用稻瘟病菌粗毒素作为选择压力尝试筛选水稻抗瘟性突变体,我国学者80年代中期开始相关的研究。许文耀和王金陵^[20]发现粗毒素对水稻毒性的强弱同产毒菌株对水稻致病力的高低具有显著的一致性,表现出一种平衡关系。于翠梅等^[7]、陈启锋等^[21]、赵海岩等^[22]、沈圣泉等^[23]对以稻瘟病菌粗毒素作为选择压力筛选抗稻瘟病突变体的研究进行了报道,发现毒素对水稻成熟胚愈伤组织的诱导与分化有明显的抑制作用,抑制程度随毒素浓度提高和处理时间延长而加强,最终获得了水稻突变品系。人们普遍认为,植物组织培养或细胞培养的过程中会出现广泛的变异,其变异频率远高于自发突变,确定合适的选择压力,通过体细胞离体筛选技术能够达到改良品种的目的^[24-26],本研究结合⁶⁰Co γ 射线辐照技术研究抗瘟突变体的诱导,在方法上有新意。

稻瘟病菌粗毒素是灰色梨孢生长过程中产生的具有生物毒性的代谢产物,Kozaka等^[27]从稻瘟病菌的培养物中分离检测到 Picolinic acid、Piricularin、Pyriculid、Tenuazonic acid、Glycopeptide 等对水稻具有明显毒性的多种物质。这些物质能够破坏水稻叶片的表皮组织,引起维管束系统的细胞坏死,影响水稻的呼吸,导致其生长发育受到影响^[22]。利用粗毒素作为选择压力,可以杀死或淘汰敏感细胞,在选育抗瘟突变体时确定合适的毒素浓度,能够将抗性比较强的愈伤组织筛选出来。在筛选突变体的过程中,如果选用的粗毒素浓度较高,选择的压力强度过大,那么愈伤组织的继代和分化过程要受到较大影响,形成的分化苗数量较少。但是粗毒素的浓度过低,不易获得抗瘟突变体。本研究选用60%粗毒素浓度作为选择压力,得到了较好的试验结果。⁶⁰Co γ 射线辐照对水稻愈伤组织的形成影响较大,其诱导率随着剂量的增加而呈规律性降低,剂量达到400Gy时水稻的愈伤组织不能形成。辐照对水稻愈伤组织在继代筛选过程中褐化率的影响也呈规律性变化,随剂量的增加而增加,当剂量达到300Gy时,4个品种的褐化程度均很高,松粳9的褐化率为100%。研究发现,愈伤组织分化率与⁶⁰Co γ 射线辐照的剂量虽然呈不规则变化,但辐照对分化过程存在一定程度的影响,在300Gy的诱变剂量下,东农418、松粳9和垦稻12的愈伤组织均没有分化苗形成。本试验经过毒素筛选得到的再生植株中虽然对稻瘟病菌表现出抗性的植株比例较高,但并不是所有的再生苗都对稻瘟病菌具有抗性,其原因是在毒素的选

择压力下,容易产生某些生理适应性变异体,一旦选择压力消失,这些变异体又恢复到原来对毒素敏感状态^[28],因而在文中苗瘟抗性鉴定的基础上,须对抗性植株进行田间抗病性鉴定之后,才能筛选到真正具有高抗病性的突变体。

本研究利用稻瘟病菌粗毒素结合⁶⁰Co γ 射线辐照诱变虽然筛选到抗瘟水稻突变体,但需进一步完善稻瘟病菌毒素的提取技术,探讨致病物质的成分和致病机理,研究灰色梨孢的不同生理小种致病力不同的原因,建立水稻离体胚长期保持再生活性的培养系统等,相关研究工作的进行,必将促进水稻抗病育种工作的进一步发展。

参考文献:

- [1] Qi S H. Rice Disease. 2nd edn. Kew UK: Commonwealth Mycological Institute, 1985: 109 ~ 201, 380
- [2] Ashizawa T, Sasahara M, et al. Lesion-base analysis of leaf blast suppression in mixture of rice cultivar and a resistant near-isogenic line. J Gen Plant Pathol, 2007, 73: 15 ~ 21
- [3] Coca M, Gómez J, et al. Enhanced resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* conferred by expression of a *cecropin A* gene in transgenic rice. Planta, 2006, 223: 392 ~ 406
- [4] Li G H, Zhou Z Z, et al. Characterization of T-DNA insertion patterns in the genome of rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. Curr Genet, 2007, 51: 233 ~ 243
- [5] Arase S. Studies on fungal pathogenicity and host resistance in rice blast disease using a lesion mimic mutant of rice. J Gen Plant Pathol, 2005, 71: 448 ~ 450
- [6] Someya N, Nakajima M, et al. Induced resistance to rice blast by antagonistic bacterium, *Serratia marcescens* strain B2. J Gen Plant Pathol, 2002, 68: 177 ~ 182
- [7] 于翠梅,张月杰,曹萍,刘世强.水稻抗稻瘟病突变体筛选初报.沈阳农业大学学报,2000,31(2):153 ~ 157
- [8] 赵明敏,刘正坪,霍秀文.利用病原真菌毒素离体筛选茄子抗黄萎病突变体的研究.华北农学报,2006,21(1):92 ~ 95
- [9] 钟小仙,余建明,顾洪如,张建丽.利用粗毒素离体筛选苏丹草抗叶斑病体细胞突变体.江苏农业科学,2006,6,293 ~ 296
- [10] 孙光祖,王广金.小麦抗赤霉病突变体的选育及其变异研究.核农学报,1995,9(1):1 ~ 6
- [11] 臧威.黑龙江省稻瘟病菌种群的遗传分析及抗瘟水稻突变体的筛选.东北林业大学博士学位论文,2007
- [12] 臧威,张淑园,李柱刚,张兰兰,孙剑秋,严善春.水稻品种对稻瘟病菌粗毒素的抗性.东北林业大学学报,2007,35(7):61 ~ 63
- [13] 高立宏,李公美,王丕武.稻瘟病菌的液体培养及滤液毒性测定.长春师范学院学报,2004,23(2):71 ~ 75.
- [14] 刘文萍,刘丽艳,吕晓波,南相日.稻瘟病菌粗毒素的制备及其致病力的测定.黑龙江农业科学,1997,(6),15 ~ 17
- [15] 石太渊,陈伟.水稻成熟胚培养及其影响因素的研究.辽宁农业科学,1995,4:17 ~ 20

异在后继世代消失,表明相当部分的变异是生理性而非遗传性的。因此,要取得较好的诱变效果,宜采用多种剂量诱变并在后代对目标性状进行连续的严格选择,对于变异株需经过至少3代的选择,考察其遗传稳定性^[17,18]。本试验仅从V₁筛选出部分变异体,有些性状也许并不稳定,下一步还应继续进行V₂和V₃群体的筛选。此外,还可以考虑重复辐照,提高诱变效果。除了本研究中筛选的表型变异外,辐照还可能对扶芳藤抗旱、抗寒、生育期以及其他性状产生影响^[19,20],这些方面尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 许伟,李春涛,丁增成,徐宏青,唐菲.园林彩叶地被植物品种与辐射诱变育种.安徽农业科学,2002,30(03):435~436
- [2] 游建华,李松,何为中,何为中,莫磊兴,曾慧,刘红坚.⁶⁰Co γ辐射诱变成甘蔗新品种桂糖22号.核农学报,2006,20(2):95~98
- [3] 郭泰,刘忠堂,胡喜平,王志新,吴秀红,郑伟,陈德祥,王雷.辐射诱变培育高油大豆新品种及其应用.核农学报,2005,19(3):163~167
- [4] 黄荣华,张书标,章清杞,杨仁崔.辐射诱变选育特优63糯的研究.核农学报,2005,19(1):1~5
- [5] 潘青华,宋婉,鲁韧强,宋婉,鲁韧强,续九如.扶芳藤种质资源及变异研究.北京林业大学学报,2004,(2):58~62
- [6] 周立人,范军,程备久.不同能量的氮离子注入棉花种子的诱变效应研究.安徽农业大学学报,1998,25(4):371~374
- [7] 沙守峰,伊凯,刘志,王冬梅,杨锋,闫忠业,张玉岚.苹果杂种树叶片在预选中的应用研究.北方果树,2004,3:4~5
- [8] 范海阔,李晓兵,汤浩茹,等.“神州四号”航天搭载水稻变异性状的田间调查.分子植物育种,2005,3(3):357~362
- [9] 华劲松,夏明忠,戴红燕.⁶⁰Co γ射线辐照剂量对蚕豆诱变效应的研究.四川农业大学学报,2005,23(4):407~410
- [10] 陈学珍.小豆辐射诱变效应的研究.北京农学院学报,1994,(2):8~14
- [11] 金文林,陈学珍,喻少帆.⁶⁰Co γ射线不同剂量处理小豆种子的细胞学研究.北京农学院报,1995,(6):18
- [12] 李耀华,胡志辉.芥菜辐射诱变育种研究 I 干种子辐射的适宜剂量及性状变异.种子,1999,3:21~22
- [13] 秦华.γ射线辐射水仙花鳞茎对植株生长与开花的影响.核农学报,2005,19(5):360~362
- [14] 易霁琴,蒋丽娟.绿玉树诱变材料的抗寒性比较.中国麻业,2005,27(6):294~299
- [15] 张盛林,李川,刘佩瑛,高启国.⁶⁰Co γ射线辐照对花魔芋性状影响初探.中国农学通报,2004,20(5):183~185
- [16] 喻少帆,陈学珍,金文林,等.⁶⁰Co γ射线对小豆种子辐射处理效应的研究.核农学报,2000,14(3):134~140
- [17] 马建中,鱼红斌,伊虎英,等.关于牧草辐射育种几个问题的探讨.核农学报,2000,14(3):167~173
- [18] 王彩萍,许琦,徐杰,刘春雷,黄峰,尤明山,李保云,刘广田.⁶⁰Co γ辐射处理“农大179”M₂代性状变异类型分析.核农学报,2006,20(5):361~364
- [19] 吴兰荣,陈静,石运庆,苗华荣,齐卫,陈效东,胡文广.⁶⁰Co γ射线诱变与杂交相结合选育花生新品种——花育22号.核农学报,2006,20(4):309~311
- [20] 周柱华,单成钢,朱斗北,许方佐,祝清俊,邢燕菊,齐延芳,徐立华.玉米自交系辐照效应的研究.核农学报,2001,15(4):213~218
- [16] 雷财林,凌忠专,王久林,万建民.水稻抗病育种研究进展.生物学通报,2004,39(11):4~7
- [17] 高国训.植物组织培养中的褐变问题.植物生理学通讯,1999,35(6):501~506
- [18] 柴玉玺.麦类作物赤霉病抗性离体筛选的原理与方法.麦类作物学报,2001,21(1):76~80
- [19] 王荔,杨艳琼.运用致病毒素筛选抗烟草黑胥病细胞突变体 II:抗毒素愈伤组织的再生植株及其后代的抗病性鉴定.云南农业大学学报,1999,14(3):273~278
- [20] 许文耀,王金陵.稻瘟病菌粗毒素对水稻品种的毒性与产毒菌株致病力间的关系.福建农业大学学报,1994,23(2):165~168
- [21] 陈启锋,陈璋,王金陵.运用致病毒素筛选抗稻瘟病细胞突变体.遗传学报,1993,20(4):340~347
- [22] 赵海岩,郑文静,王德兴,杨立国,刘庆福,崔海东.水稻抗稻瘟病变异体离体筛选及在育种中应用.辽宁农业科学,2001,3:21~25
- [23] 沈圣泉,包劲松,吴殿星,崔海瑞,夏英武,舒庆尧.γ射线诱发水稻长粒型突变体的应用研究.核农学报,2004,18(5):340~343
- [24] 赵蕾,梁存元.利用致病毒素筛选植物抗病突变体的研究进展.生物技术,2001,11(3):41~43
- [25] 郝中娜,张红志,陶荣祥.水稻类病斑突变体的初步研究.核农学报,2007,20(4):328~332
- [26] 李波.植物组织培养基本技术.哈尔滨:哈尔滨地图出版社,2002,1~301
- [27] Kozaka T, Tsuchizawa M, et al. Phytoxin glycopeptide inducing white head of rice plant produced by *Pyricularia oryzae*. J Phtopath Soc Japan, 1985, 5(2): 199~204
- [28] 李社容,张敬,李安生,孙光祖,王广金.小麦抗赤霉菌毒素细胞变异体的筛选及再生植株生化特性分析.农业生物技术学报,1997,5(3):216~220

(上接第 252 页)