

浅析高油玉米抗性育种中的 细胞突变体筛选技术

王桂范

都本俊 鲁振强 马秀君

(长春示范奶牛场, 长春 130101) (中农业科技开发公司) (长春市农科院)

摘要 经过对7个高油玉米自交系的4年实验观察, 筛选出了春123、春246等一批出愈率在90%以上的高油玉米基因型。接种的外植体为幼胚, 诱导培养基为D、Ag、L₁、L₂, 并经继代培养、状态调节和分化培养, 结果表明: 不同基因型分化能力区别明显; 长期继代, 筛选有用突变体的机率增加; 经过致病毒素接种、筛选, 有望得到理想的抗性胚性细胞团。

关键词 高油玉米 细胞突变体 无性系变异 诱发突变 愈伤组织

按照细胞全能性学说, 植物的每个体细胞都具有相同的遗传信息, 由它们分化成的再生植株, 在遗传上也应当是完全相同的。此种理论在实践中也得到了充分的验证, 即借助于组织培养技术进行的种苗繁殖, 已在很多作物上得到了整齐一致的理想种苗, 如马铃薯的脱毒技术、百合及郁金香花卉的种苗快繁等。但近年来, 日渐增多的资料表明, 通过愈伤组织再生的植株中, 常常出现基因型的变异, 并且许多变异体在作物的品种改良上颇有价值。因此, 无性系变异已被确认为是一种新的遗传变异来源, 可作为植物改良的有效手段, 在生物技术中, 已成为非常活跃的研究领域之一。

80年代以来, 很多科学工作者从小麦、水稻、甘蔗及普通玉米等很多作物中, 均观察到了体细胞的变异现象, 并筛选出了不少有实用价值的突变体。据统计, 目前已经获得各种类型的抗性突变体几百个, 它们分属于15个科的44个种, 但是在高油玉米的此项研究方面, 尚缺乏足够的资料。自1991年起, 我们便开始高油玉米的组织、原生质体培养及突变体筛选的研究工作。试图通过实验, 摸索一下高油玉米的变异情况, 进而为高

油玉米育种丰富基因和提供依据。目前, 我们的实验还没有最终结果, 但从现有材料的观察和理论分析, 出现有价值的变异体是可能的。

1 已筛选出一批出愈率较高、分化能力较强的高油玉米基因型

我们的实验取材于长春市农业科学院的一批高油玉米自交系, 经过几年的实验观察, 发现高油玉米的出愈率及愈伤组织生长状态受基因型影响比较显著。经过筛选, 选出了春123、春246、春220、春555、春油2号等一批出愈率均在90%以上的高油玉米基因型。接种的外植体为幼胚, 取人工套袋授粉9~14 d, 幼胚发育到1.5~2.5 mm大小的果穗时, 用1%的升汞表面消毒, 在无菌条件下剥取幼胚, 接种在D、Ag、L₁、L₂ (均为MS、N₆的改良培养基) 上, 诱导愈伤组织, 两周后将愈伤组织转移到同样的新鲜培养基中, 进行继代培养, 每3~4周继代一次, 并不断进行状态调节。同时根据状态调节情况进行分化培养。实验的中间结果表明: 随着继代时间的延长, 分代能力下降, 不同基因型区别明显,

部分材料出现水渍化或褐化现象,但仍有大部分材料具有分化能力(附表)。

附表 高油玉米幼胚培养时间与愈伤组织生长状态变化

	春 123	春 246	春 220	春 88	春 555	春油 1号	春油 2号
1个月	好	好	好	好	好	好	好
3个月	好	好	好	有褐化迹象	好	有水渍化迹象	好
5个月	好	好	好	有褐化迹象	好	有水渍化迹象	好
9个月	好	好	好	70%褐化	出现褐化迹象	部分水渍化	好
13个月	好	好	小部分褐化	全部褐化	大部分褐化	全部水渍化	好
15个月	有分化能力	有分化能力	大部分能分化		小部分能分化		有分化能力

2 长期继代培养,增加了筛选有用突变体的机率

多数学者认为,在作物的幼胚培养中,长时间继代基本丧失分化能力。但我们培养的高油玉米材料,在继代1年以上仍有部分基因型材料具有分化能力。随着继代时间的延长,增加变异频率,在燕麦和小麦的突变体筛选技术研究上已有此种结论。因此,在高油玉米的幼胚培养中,部分材料继代培养时间超过1年仍有分化能力,使筛选有用突变体的机率大大增加是可能的。在实验过程中,我们经过适宜浓度的致病毒素的接种、筛选,已有望得到理想的抗性胚性细胞团。

3 突变体筛选技术,为获得理想目标性状提供了有利条件

在高油玉米的抗性育种中,目前已有的种质资源,因配合力不高、抗病性差等原因,而限制了在生产上的直接利用,通过常规育种,很难打破一些优良基因同致病等不良基因的连锁关系,从而限制了一些抗病等理想性状的获得。而将细胞突变体筛选技术,用于高油玉米育种,在保持原来优良性状(高油)的基础上,为获得其它目标性状,提供了有利条件。

3.1 选择途径多

组织培养是变异的一个重要原因,这是多数学者所认定的。而随着组织培养技术的进步,为高油玉米的细胞突变体筛选技术研

究,提供了很多途径。一是利用幼胚、幼穗培养物建立起的能长期保持再生能力的培养材料,容易筛选出有实用价值的突变体。二是在原生质体培养和融合产物中,可获得突变体。三是在单倍体培养系统,由于不存在隐性基因被显性基因掩盖的现象,将其用于突变体筛选,可提高选择效率。

3.2 无性系变异与诱发突变相结合,可丰富变异来源

高油玉米的体细胞无性系变异,能否作为一种有效的育种手段,在抗性育种上应用,在一定程度上取决于变异频率的高低。为丰富变异来源,可将无性系变异与诱发突变相结合。我们在高油玉米的原生质体培养过程中,也进行了射线处理,有望得到更丰富的突变体,扩大变异谱。

但必须注意的是,无性系变异更适合品种改良,因为它常出现一个或少数基因的突变,即“微突变”,只改变个别特性,而材料自身的基本性状得到保持。诱发突变,多数为隐性基因突变。据报道,在小麦的诱发突变研究中,显性变异频率仅为隐性变异的1%,而无性系变异除了隐性变异外,显性变异频率也相当高。因此,在高油玉米的诱变研究中,应当针对个别不良性状的控制基因有选择地进行。

3.3 操作易行

利用细胞突变体筛选技术,(下转第29页)

(上接第25页)改良高油玉米的某些性状,比转基因工程要容易进行得多。一是不需要目的基因的克隆。二是不需要更尖端的仪器和设备(如基因枪、PCR 扩增仪、电击仪等),而具备植物组织培养的一般条件和设备便可进行。

总之,笔者认为,细胞突变体筛选技术,作为一种手段,用于高油玉米的抗性育种中,在理论和应用两个方面都具有广阔的前景。而且我国科研工作者在小麦、水稻及普通玉米等很多作物的突变体筛选技术研究方面,

都做了很多的研究和探讨,已有良好的基础。可以预料,在今后的数年中,细胞突变体筛选技术在高油玉米的不良性状改良上,必将会取得更丰富的成果。

参 考 文 献

- 1 孙敬三、朱至清. 体细胞无性系变异与突变体筛选. 植物细胞工程与育种,北京工业大学出版社
- 2 朱至清. 体细胞无性系变异与植物改良. 植物体细胞无性系变异与育种,江苏科学技术出版社