

脯氨酸与丙氨酸对光温敏核不育水稻花药愈伤组织诱导的影响

陆燕鹏 万邦惠

(华南农业大学农学系, 广州 510642)

摘要 对处于不同育性时期的光温敏核不育水稻进行脯氨酸(Pro)、丙氨酸(Ala)处理的结果表明: 光温敏核不育水稻的花药培养不会因为不育基因的表达而导致失败, 花培的出愈率在可育期显著高于不育期; 在不育期附加 500 mg/L 的 Pro 对花培具有最大的促进作用, 而 Ala 处理效应不显著, 并且对 Pro 的促进作用无负效应。

关键词 光温敏核不育水稻; 花药培养; 脯氨酸; 丙氨酸

中图分类号 S 511.103.53

光温敏核不育水稻的发现(石明松, 1985)使通过二系法利用杂种优势的可能成为现实(孙宗修等, 1994), 而如何快速选育具有不同育性转换特点的不育系是发展二系杂交稻的一大关键。虽然许多育种者欲通过将花培技术与常规方法相结合的途径来选育不育系, 但由于籼稻花培力低这一难题尚未很好解决, 限制了花培技术的广泛使用, 因此, 设法提高籼稻花培力是一个急待解决的问题。

在光温敏核不育水稻中, 据肖翊华等(1987)研究指出, 与花药败育有密切关系的氨基酸为 Pro, 其次是 Ala。有许多研究指出, 对培养基进行 Pro(朱根发等, 1995; Ozawa 等, 1989)、Ala(周朴华等, 1981)处理对提高水稻的花培力有明显作用。那么, 对光温敏核不育水稻不同育性时期的不育系, 进行这两种氨基酸处理对提高花培力是否有一定作用? 这两种氨基酸的含量变化与育性转换以及水稻花培力这三者之间有何联系? 本文将就这些问题作一初步探讨, 以期在花培技术应用于二系法杂交稻育种提供参考。

1 材料与方法

以安农一1S、培矮 64S 为材料, 早季表现不育的材料均割禾头再生以得到可育材料。分别在稳定不育期及可育期取材接种, 育性鉴定均依据花粉镜检结果。所有试验材料均取自本校农学系试验分场。

试验于 1994、1995 年在农学系试验田及实验室进行。在田间选取花粉粒发育处于单核靠边期的幼穗, 经表面消毒后, 用湿毛巾包裹, 放入 6℃冰箱中预处理 3~6 d, 按常规方法接种, 每瓶接种 30~50 枚花药。

诱导培养基采用 M₈(梅传生等, 1988)、通用培养基(A), 根据陈英等(1990)的新配方自行设计的 T 培养基及 N₆ 等 4 种基本培养附加 2 mg/L 2, 4-D, 1 mg/L Kt, 1 mg/L NAA 以及 500 mg/L 水解乳蛋白, 蔗糖的质量分数为 6%。按常规方法培养。

统计方法为: 出愈率(%)=(产生愈伤组织块数/接种花药数)×100%
试验采用双因素完全随机设计, 所有数据经反正弦转换后进行二向分组资料的方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度脯氨酸对花培出愈率的影响

对处于不同育性时期的材料进行花药培养时作附加不同浓度的脯氨酸处理, 结果见表 1。由表 1 可知, 光温敏核不育系在不同育性时期接种都能诱导出愈伤组织, 不会因为不育基因的表达而导致失败, 其中可育期出愈率显著高于不育期。在不同的 Pro 浓度下, 光温敏核不育水稻在不同育性时期的花培出愈率是不同的。在不育时期, 对培养基进行 Pro 处理效应显著, 其中以 500 mg/L 效果最好, 随着 Pro 浓度的升高, 特别是当附加 1 000 mg/L Pro 时, 出愈率受到显著抑制, 但在可育时期, 无论附加多少 Pro 浓度(0~1 000 mg/L), 对材料的出愈率均无显著影响。反映出附加 Pro 处理在一定浓度范围内仅对处于不育时期的材料有利于提高出愈率, 但过高浓度反而有所抑制的倾向。

表 1 不同浓度的脯氨酸对处于不同育性时期的材料花培出愈率的影响¹⁾

育性分类 (I)	不同脯氨酸浓度(mg/L)下的出愈率(B) ²⁾				
	B ₁ (0)	B ₂ (250)	B ₃ (500)	B ₄ (750)	B ₅ (1 000)
I ₁ (不育)	12.43 ^b	13.22 ^{ab}	13.73 ^a	10.55 ^c	9.22 ^c
I ₂ (可育)	14.06 ^a	13.68 ^a	13.97 ^a	13.64 ^a	13.59 ^a

1) 表中数据右上角具有相同字母的平均数间差异不显著, 邓肯氏检验, P=0.05
2) 表中数据均为出愈率原始百分数的反正弦值, 是 3 次重复的平均, 每次重复采用所有 4 种培养基

2.2 不同浓度丙氨酸对花培出愈率的影响

对处于不同育性时期的材料进行花药培养时作附加不同浓度的丙氨酸处理, 结果见表 2。对表 2 数据进行 F 测验的结果表明, 在不同的 Ala 浓度下, 不同育性时期的材料, 其出愈率存在极显著差异($F_I=32.09>F_{0.01}=11.26$), 而不育时期的材料, 不同的 Ala 浓度间的出愈率差异是不显著的($F_B=1.46<F_{0.05}=4.07$)。这一结果表明, 不同育性时期各材料的出愈率存在极显著差异, 可育期显著大于不育期, 但对处于不育时期的材料无论附加多少 Ala(0~8 mg/L), 其促进或抑制作用均不明显, 即反映出附加不同浓度的 Ala 并不能实现提高不育期出愈率的目的。这与某些试验结果(周朴华等, 1981)不一致, 可能与材料或培养基有关。

表 2 不同浓度的丙氨酸对不同育性时期材料花培出愈率的影响

育性分类 (I)	不同丙氨酸浓度(mg/L)下的出愈率(B) ¹⁾			
	B ₁ (0)	B ₂ (2)	B ₃ (4)	B ₄ (8)
I ₁ (不育)	12.32	12.11	12.25	12.45
I ₂ (可育)	13.75	12.92	13.45	13.05

1) 表中数据均为出愈率平均值原始百分数的反正弦值, 是 3 次重复的平均, 每次重复采用所有 4 种培养基

2.3 丙氨酸不同浓度结合脯氨酸对花培出愈率的影响

由于 M₈ 培养基对粳型不育水稻花培效果较好(梅传生等, 1988), 故选择 M₈ 为诱导培养基对处于不育时期的材料进行 Ala 结合 Pro 试验, 结果见表 3。对表 3 数据进行 F 测验, $F_c=54.13>F_{0.01}=34.12$, $F_B<1$ 。即在不同浓度的 Ala 时, 不同浓度的 Pro 间的出愈率达极显著水平, 而在不同的 Pro 浓度下, 不同浓度的 Ala 间的出愈率差异不显著。这表明在不同的 Ala 浓度时, 附加 Pro (500 mg/L) 对出愈率具极显著的促进作用, 虽然 Ala 的处理效应不显著, 但不同浓度的 Ala (0~8 mg/L) 也并未对 Pro 的这种促进作用产生负效应。

表 3 不同浓度的丙氨酸结合脯氨酸对花培出愈率的影响

脯氨酸(C)/mg·L ⁻¹	不同丙氨酸浓度(mg/L)下的出愈率(B) ¹⁾			
	B ₁ (0)	B ₂ (2)	B ₃ (4)	B ₄ (8)
C ₁ (500)	17.26	16.32	16.95	16.74
C ₂ (0)	13.31	14.30	13.81	13.94

1) 表中数据均为出愈率平均值原始百分数的反正弦值, 是 3 次重复的平均, 每次重复均采用 M₈ 培养基

3 讨论

据本试验结果可以得出, Pro 含量低是光温敏核不育系花培力低的重要原因之一。在光温敏核不育水稻中, 败育花药内游离 Pro 缺乏, 而可育花药则有大量积累(肖翊华等, 1987)。Pro 处理试验结果表明, 对不育花药附加适量的 Pro 有利于提高出愈率, 而对可育材料则无明显效果。看来, Pro 含量的变化, 一方面可能影响了不育材料花药愈伤组织的诱导频率, 另一方面, 又与育性的转换表现为平行关系。因此, 在大田调节育性转换的一些措施, 如光温条件的改变等, 可作为提高材料花培力的途径。本试验结果表明, 在培养基中适当补充 Pro 有提高出愈率的明显效果, 但附加 Pro 要适量, Pro 对出愈率的提高仅表现在外植体含量较低的情况下, 对于 Pro 含量正常的可育株及不育株附加过量的 Pro 不能得到好的效果。此外, 外源 Pro 及内源 Pro 对植株生理代谢的调节可能是通过两条不同的途径来进行的。

Ala 含量对愈伤组织的诱导无明显影响。不育株与可育株比较, Ala 也是一种差异较大的氨基酸, 其变化规律恰好与 Pro 相反(肖翊华等, 1987), 但所作的 Ala 试验并未得到与 Pro 试验相对的结果。本试验结果表明, 对光温敏核不育系不育期和可育期材料的附加 Ala 处理, 均没有对花药愈伤组织的诱导产生明显影响, 它对 Pro 的作用也未产生干扰。虽然前人的研究都说明了成熟花药游离 Pro、Ala 含量的高低与花粉育性之间存在着密切关系(朱广廉等, 1984; 肖翊华等, 1987), 但究竟是氨基酸含量的变化引起花粉败育, 还是花粉败育引起花药氨基酸含量的变化, 至今尚无定论。本试验虽然也不能圆满解决这一问题, 但从中似乎可以得出, Pro 与 Ala 的含量变化在育性转换过程中所扮演的角色是不同的, 即: 假如 Pro 是引起育性转换的原因之一, 则 Ala 含量变化应是育性转换所引起的结果之一。

在本试验中, 由于采用了 4 种不同的培养基, 在分析两种氨基酸对光温敏核不育水稻花药愈伤组织诱导的影响时, 将不同培养基间的效应差异归入了试验误差范畴, 不能确定不同培养基对花药培养的作用, 因此, 在以后的试验中, 有必要对不同培养基的效应作进一步研究。

参 考 文 献

- 石明松. 1985. 对光照长度敏感的隐性雄性核不育水稻的发现与初步研究. 中国农业科学, (2): 44~48
- 孙宗修, 程式华. 1994. 杂交水稻育种从三系, 二系到一系. 北京: 中国农业科技出版社, 140~196
- 朱广廉, 邓兴旺, 左卫能, 等. 1984. 太谷核不育小麦内游离脯氨酸含量的变化及其与育性的关系. 植物学报, 26(6): 616~622
- 肖翊华, 陈平, 刘文芳. 1987. 光敏感核不育水稻花药败育过程中游离氨基酸的比较分析. 武汉大学学报, (HPGMR 专刊): 7~16
- 周朴华, 范鸿芝, 胡继金. 1981. DL-丙氨酸提高籼稻花药愈伤组织诱导效应. 见: 沈锦骅, 章振华, 史锁达编. 水稻花药育种研究. 北京: 农业出版社, 81~87
- 陈 英, 田文忠, 郑世文. 1990. 籼稻花药培养基的筛选(初报). 见: 胡 含, 王恒立主编. 植物细胞工程与育种. 北京: 北京工业大学出版社, 25~30
- 梅传生, 张金渝, 吴光南, 等. 1988. 籼稻花药绿苗率的提高. 江苏农业学报, 4(2): 45~48
- Ozawa K, Komamine A. 1989. Establishment of a system of high frequency embryogenesis from long-term cell suspension culture of rice(*oryza sativa* L.). Ther Appl Genet, 77: 205~211

EFFECTS OF PROLINE AND ALAINE ON INDUCTION OF CALLUS FROM ANTHER OF PHOTO—THERMO SENSITIVE GENIC MALE STERILE RICE

Lu Yanpeng Wan Banghui

(Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Photo—thermo sensitive genic male sterile rice (PTGMR) in fertile and sterile period were used to study the influence of proline and alaine. The sterility did not cause the failure of the anther culture of PTGMR and the anther culture ability of PTGMR in the sterile period was significantly lower than in the fertile period. In the sterile period, proline (500 mg/L) could extremely promote frequency of induction of callus, but the effect of alaine treatment was not significant.

Key words photo—thermo sensitive genic male—sterile rice; anther culture; proline; alaine