

辐照诱导水稻抗白叶枯病 突变的遗传研究*

蔡筒熙 周燕玲 王少毅 陈薇

(广东农科院 农业生物技术研究所)

卢永根 王润华 黎祖强 王国昌

(农学系)

提 要

研究了由 ^{60}Co - γ 辐照诱导的水稻抗白叶枯病突变体培育而成的辐竹₂及辐竹₂选两个品种的遗传方式,证明该两个品种的抗性遗传受多基因控制。根据超亲遗传现象,判明供试抗源的基因分布为非集中分布型。对辐照突变体筛选的有关问题及突变体的利用途径开展了讨论。并对这类多基因遗传的突变体在抗病育种中的利用价值作出较为肯定的评价。

关键词 水稻;辐照诱变;抗白叶枯病

引 言

由*Xanthomonas campestris* PV. *oryzae*引起的水稻白叶枯病,是世界性的水稻病害^[1]。

自50年代开始,各国学者从遗传的角度开展研究,特别注意寻找抗病性基因源。日本学者首先鉴定、命名了 X_{1-1} 、 X_{1-2} 及 X_{1-3} (X_{1-w})等3个抗性基因,稍后又发现 X_{1-4} 抗性基因^[2,10]。还发现 X_{1-1} 和 X_{1-3} 位点上存在复等位基因 X_{1-1}^a 和 X_{1-3}^a ^[21]。国际水稻研究所相继鉴定、命名了 X_{1-4} 、 X_{1-5} 、 X_{1-6} 、 X_{1-7} 、 X_{1-8} 、 X_{1-9} 、 X_{1-10} 及 X_{1-11} 等8个抗病性基因^[9,13,15,17,18,20,22],并确认 X_{1-4} 位点上有2个复等位基因 X_{1-4}^a 和 X_{1-4}^b ^[9]。在迄今已命名的抗性基因中,均属主效基因。其中有显性、不完全显性及隐性遗传,也有一个显性基因和一个隐性基因存在于同一

* 本文承蒙朝井小太郎研究员提供宝贵意见,特此致谢。

1989年9月16日收稿。

抗源中^[4,18]。另有报导,某些抗源在主效基因控制的基础上,可能还携带一组修饰基因^[19]。

具已知抗性基因的抗源曾广泛应用于育种实践,其中最有效者为携带 X_{1-4} 的抗源。但最近发现, X_{1-4} 在某些地域丧失抗性^[5]。自然界优势菌系的变迁,使由主基因控制的抗源罹病并非罕见。寻求多基因遗传的抗源日益受到重视。不少学者对多基因遗传抗源的特点及其利用价值开展了多方面的探讨,并给予很高的评价^[4,7,8]。

曾左癸、谢岳峰用抗病早籼BG₃₅₋₂与感病早籼广陆矮4组配,发现F₂群体抗性呈正态分布,表现出多基因遗传的特征^[4]。作者通过国际联机检索,在籼稻亚种中,至今未发现另外的多基因遗传的抗源。这至少表明,多基因遗传的抗源十分稀少。

本试验以籼稻为材料,以⁶⁰Co- γ 辐照杂种一代种子,企图获得抗白叶枯病的多基因遗传的突变体,并在探索这类突变体应用价值的同时,对其遗传方式进行多方面的分析,为人工创造新类型的抗源及利用这类型抗源为中间材料,选育多基因遗传的抗病品种提供理论依据。

材料与方 法

供试品种为辐竹₂号和辐竹₂选两个。该两品种的来源是以品种竹印₂号的辐照突变体为父本,IR₂₀为母本组配得杂种一代种子,再经⁶⁰Co- γ 射线3万伦辐照。以提高抗病性为主要选择目标之一,逐代选汰,到F₃M₃世代选育出辐竹₂号,再由辐竹₂号中系统选育出辐竹₂选。

其他亲本品种,包括具已知抗性基因的IR₂₀、IR₂₆、IR₁₅₄₅₋₃₃₀及D.V₈₅等4个。各供试亲本的情况见表1。

表1 供试材料一览

品种名称	类型	所带抗性基因	显隐性表现	抗性表现 (平均病斑长cm)	原产地
辐竹 ₂ 号	晚籼	—	—	4.90±0.643	广东
辐竹 ₂ 选	晚籼	—	—	3.00±0.684	广东
IR ₂₀	早籼	X_{1-4}	显性	1.22±0.837	IRRI
IR ₂₆	早籼	X_{1-4}	显性	1.40±0.946	IRRI
IR ₁₅₄₅₋₃₃₀	早籼	X_{-5}	隐性	1.00±0.522	IRRI
D.V ₈₅	早籼	X_{-5} X_{2-7}	隐性 显性	0.16±0.087	孟加拉

供试亲本材料于华南农业大学经1983年晚季、1984年晚季两次套袋自交提纯。1985年晚季在广东省农科院种植亲本并作杂交。组合类型有:

1. 辐竹₂号及辐竹₂选分别与已知抗性基因源组配,共四个组合。

辐竹₂选×IR₂₀ 辐竹₂选×IR₁₅₄₅₋₃₃₀

辐竹₂号×IR₂₀ 辐竹₂号×D.V₈₅

2. 辐竹₂号与辐竹₂选正反交。

杂种二代及亲本于1986年6月25日播种，8月6日移植。种植规格16.5 × (16.5 + 33) / 2 cm，单株植。栽培管理如常规。

鉴别菌株为华南农业大学植保系于广东珠江三角洲病区搜集、鉴定及保存的属Ⅳ群菌株R₂₋₁₃₉，该菌株被确认具稳定高致病力^[2]。

于水稻剑叶全出时，以当天新鲜制备的、浓度为3亿/ml菌液，按Kauffman氏剪叶法作人工接种，每单株接种5片叶。接种后3周调查各叶片的病斑长(cm)，以单株平均病斑长作为基本统计单位。

结果与分析

(一) 辐竹₂及辐竹₂选的抗病性及其抗病性基因的来源

1. 辐竹₂及辐竹₂选具抗病性基因的验证

为验证辐竹₂及辐竹₂选携带抗病性基因的真实性，以解释辐照效果的本质。用具已知抗病性基因的抗源IR₂₆、IR₁₅₄₅₋₃₃及D.V₈₅，分别与辐竹₂及辐竹₂选相组配，考察各组合杂种后代的抗性遗传表现。

由于用以相组配的上述3个抗源，均属主基因遗传，假定被测的辐竹₂及辐竹₂选不带任何抗病性基因，则杂种二代群体的抗病性表现必然呈非连续分布，并按一定的理论比率分离。但实际结果是，所有组合F₂群体均呈连续分布(图1~4)。这表明辐竹₂及辐竹₂选均携带一组微效抗病性基因。主基因与多基因的共同效应，致使F₂群体呈现连续变异的特征。

以单株平均病斑长来表示白叶枯病的抗性，当病斑长达4.50cm，按一般分级标准约相当于平均病级4级，可作为中抗与中感的分界^[2]。

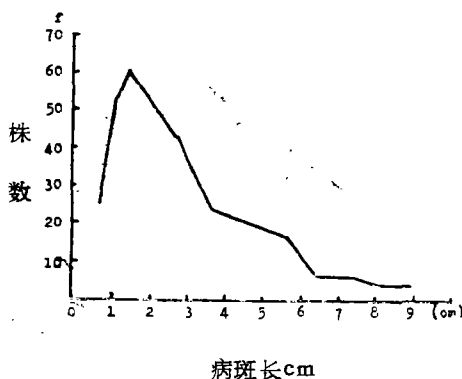


图1 辐竹₂ × IR₂₆ F₂ 的抗病性分布 (n = 313)

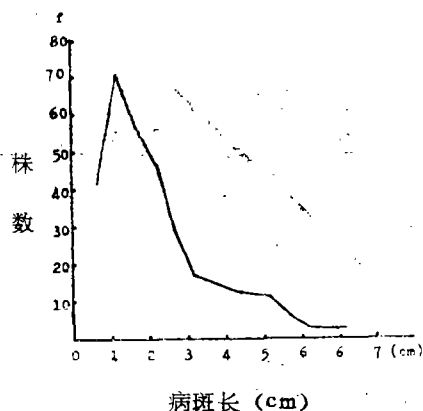
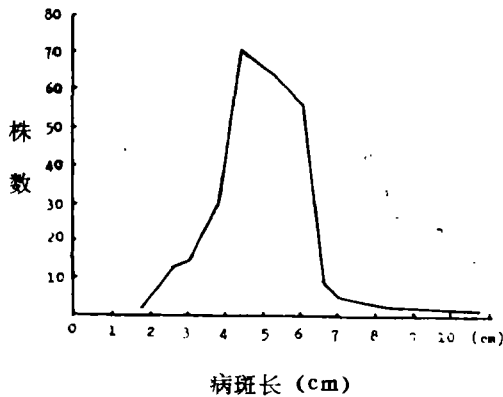
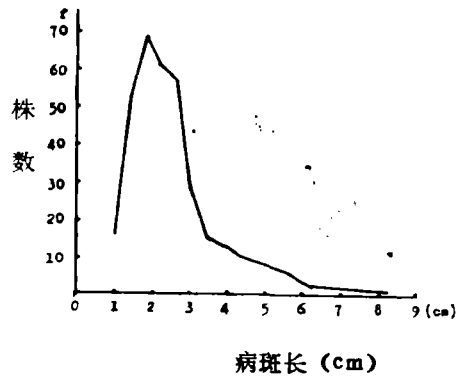


图2 辐竹₂选 × IR₂₆ F₂ 的抗病性分布 (n = 323)

图3 辐竹₂选×IR₁₅₄₅₋₃₃₉F₂的抗病性分布 (n=315)图4 辐竹₂×D. V₁₅₅F₂的抗病性分布 (n=366)

因此,以单株病斑长等于或大于4.50cm作为感病型,单株平均病斑长小于4.50cm作为抗病型标准,分别计数各组合F₂群体中抗病株和感病株数。并在假定辐竹₂及辐竹₂选不携带任何抗病性基因的前提下,按孟德尔比率作 χ^2 适合性测验。结果见表2。

表2 四个测交组合F₂抗、感病分离的 χ^2 测验

组合名称	n	F ₂ 抗、感病株数		理论比率	χ^2 值
		抗	感		
辐竹 ₂ 选×IR ₂₀	323	294	29	3 : 1	44.220**
辐竹 ₂ ×IR ₂₀	313	252	61	3 : 1	5.070*
辐竹 ₂ 选×IR ₁₅₄₅₋₃₃₉	315	151	164	1 : 3	66.400**
辐竹 ₂ ×D. V ₁₅₅	366	325	41	13 : 3	13.687**

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

χ^2 测验的结果表明,所有4个组合的抗、感病分离都不符合理论比率,显然是由于在F₂的实际测定值中,抗病个体数显著偏多所致。这应该可以作为辐竹₂及辐竹₂选携带抗病性基因的证据。

2. 辐竹₂及辐竹₂选抗病性基因的来源

辐竹₂及辐竹₂选含有IR₂₀的亲缘,而IR₂₀具显性高抗基因X₁₋₄。但辐竹₂及辐竹₂选的平均病斑长分别为4.90cm及3.00cm,属中感及中抗类型,难以说明该两个品种的抗病性源于IR₂₀。当以具X₁₋₄等位点的IR₂₀分别与辐竹₂及辐竹₂选组配时,F₂均产生抗病性分离(图1、2)。这当可以排除供试的两个品种携带X₁₋₄基因的可能性。辐竹₂及辐竹₂选的抗病性显然来源于 γ -射线辐照所诱发的基因突变,且突变发生于X₁₋₄以外的其他位点。

至于辐竹₂及辐竹₂选亲本之一的IR₂₀所携带的X₁₋₄的去向,有两种可能的解释,或者在继代选择中被丢失,或者在辐照处理时发生抗病性的反向突变。由于在继代群体

的抗病性鉴定中，未发现高抗个体，因此认为后一种可能性更为可信。

(二) 辐竹₂及辐竹₂选抗病性的遗传方式

辐竹₂选虽由辐竹₂系统选育而成，但从两者抗性水平的差异，可以认为两者的基因型不尽相同。

为判明辐竹₂及辐竹₂选的遗传方式，以两者作正反交组配。结果表明，正、反交的F₁及F₂没有显著差异，不论是正交或反交，F₂群体均近似正态分布。这表明抗病性遗传受核基因控制，与胞质无关。

1. F₂群体的抗病性表现

由于正、反交无实质差异，为扩大样本，将F₂群体全部合并，群体总个体数n = 1277。

计算得F₂群体平均病斑长为 $\bar{X} = 4.24\text{cm}$ ，比较接近双亲平均值(MP = 3.95cm)。

F₂群体表现出明显的抗性分离，在1277个个体中，从高抗到高感个体都有出现，这足以说明辐竹₂及辐竹₂选具不同的基因型。

当以病斑长作横座标，作出F₂群体分布(图5)。从图5可见，F₂群体分布很接近正态分布，表现出多基因遗传的基本特征。

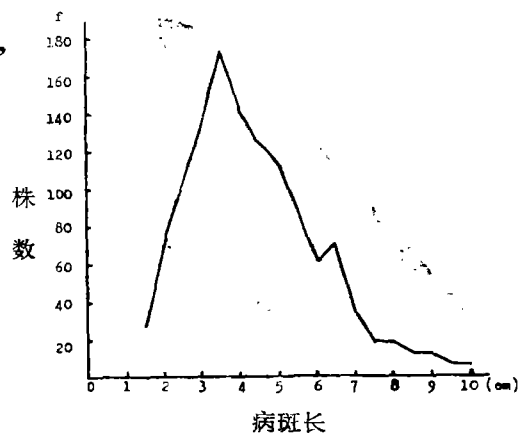


图5 辐竹₂ × 辐竹₂选F₂的抗病性分布 (n = 1277)

2. 超亲遗传

从辐竹₂ × 辐竹₂选F₂的分布图，已经可明显看出，群体中出现相当数量的超亲个体。

当以低值亲本(辐竹₂选)的 $\bar{X}_1 - 1.96S_1 = 3.00 - 1.96 \times 0.634 = 1.66$ (cm) 作为超低亲的上限；以高值亲本(辐竹₂)的 $\bar{X}_2 + 1.96S_2 = 4.90 + 1.96 \times 0.643 = 6.16$ (cm) 作为超高亲的下限，则正反交的超亲表现见表3。

表3 辐竹₂ × 辐竹₂选F₂的超亲表现

组合名称	n	超低亲(高抗)		超高亲(高感)	
		个体数	%	个体数	%
辐竹 ₂ × 辐竹 ₂ 选	625	79	12.64	105	16.80
辐竹 ₂ 选 × 辐竹 ₂	652	23	3.53	123	18.87
总和	1277	102	7.99	228	17.85

超低亲个体, 即病斑长 $\leq 1.66\text{cm}$ 的个体, 已完全达到高抗标准。在总数为1277的 F_2 群体中, 出现102个高抗个体, 占群体的7.99%, 这在抗病育种中, 其实际意义是不容忽视的。

超亲现象不仅为多基因遗传提供了进一步的证据, 更重要的是, 源于同一系统的辐竹₂及辐竹₁选, 不仅具有基因型的差异, 而且两者的基因分布均属非集中分布型。当以它们作为抗病育种的亲本材料, 通过基因的分离、重组, 可望使抗病性正效基因进一步集中而显著提高后代的抗病性。这一推论, 实际上已得到验证。近年来, 我省利用辐竹₂作为抗源, 先后选育成比辐竹₂抗病性更高的华竹矮、竹包、青竹矮、竹钢矮、青华矮及晚华矮等一系列品种, 在高产与抗病相结合的育种实践中, 取得了突破性的进展。

讨 论

(一) 关于诱导突变体的筛选

以物理或化学因素诱导突变并非难事, 而且, 以诱导点突变来改变一个品种的某一性状而不使其他性状受到显著影响被认为是可能的。以理、化因素诱导粳型水稻某些品种获得抗白叶枯病的多基因遗传的突变体曾有报导^[10, 11]。而由于种种原因, 均未能由此选育出可供利用的品种(系)。这除了多基因遗传所造成选择上的困难外, 基因效应的复杂性, 特别是抗原与病原间的互作因素, 在相当程度上影响抗性鉴别的准确性^[2]。作者认为, 在对突变体进行筛选时, 有时也不一定要求过严, 正如本文的供试材料那样, 只要综合性状较为理想, 具有中抗水平的突变体也不失其利用价值。

(二) 关于多基因遗传的突变体的利用

实践证明, 从多基因突变的群体中, 一般不易选出高抗病类型。这是因为, 当基因数越多, 要使所有位点均为正效基因的纯合型就越困难。特别是在显性抗病性突变的情况下, M_2 群体中的抗病个体, 多为非集中分布的杂合型, 即使经过多代自交使基因型纯合化, 也不易获得集中分布的基因型。对这类材料可考虑从两个方面加以利用: 1. 对原繁殖系继续进行系统选择。无论是非完全纯合基因型的自交, 或者是同品系内的全同胞交配, 通过基因重组, 都可在后代出现抗性有所提高的纯合型。正如从辐竹₂系统选育出辐竹₂选, 抗病性水平比原品系提高了一步。2. 作为抗病育种的中间材料利用。可能把另一个亲本所携带的少数几个抗病性正效基因, 通过重组而集中起来, 从而育成集中分布的纯合型, 至少也能提高正效基因的集中程度。以辐竹₂与某些感病亲本相组配, 从后代中选育出比辐竹₂具更高抗病性的品种已被证明是可行的。当然, 有关理论及技术上的问题仍有待进一步探讨。

引用文献

- [1] 万帮惠, 孙恢鸿, 农秀美, 褐绮琳, 黄福新. 广西农业科学, 1980 (9): 24—27
- [2] 王润华, 黎祖强, 王国昌, 卢永根, 何汉生. 华南农业大学学报, 1988; 9 (2): 47—55
- [3] 林克治. 国际水稻研究讨论会文集 (中文版). 中国农业科学院. 北京: 农业出版社, 1981: 125—135
- [4] 曾佐癸, 谢岳峰. 华中农学院学报, 1983, 2 (1): 1—9
- [5] 谢岳峰. 国外农学—水稻, 1981 (2): 27—33
- [6] Ezuka, A., Horion, O., Toriyama, K., Shinoda, H. and Moniaka, T., 1975, Bull. Tokai-Kinki Nat. Agric. EXP. Stn. 28: 124—130
- [7] Ezuka, A. and Sakaguchi, S., 1979, Agriculture and Horticulture, 54: 1210—1241, 1340—1344, 1461—1468
- [8] Kaku, H., Kimura, T. and Mori, M., 1980, Bull. Chugoku Nat. Agric. EXP. Stn. E (1980), NO. 17: 17—32
- [9] Librojo, V., Kauffman, H.E. and Khush, G.S., 1976, SABRAO Journal 8 (2): 105—110
- [10] Nakai, H., Goto, M., 1974, J. Agric. Sci. Camb. 84: 167—172
- [11] Nakai, H., Goto, M., 1975, SABRAO I. 7: 159—170
- [12] Ogawa, T., Morinaka, T., Fujii, K. and Kimura, T., 1978, Ann. Phytopath. Soc. Japan 44: 137—141
- [13] Olufowote, J.O., Khush, G.S. and Kauffman, H.E., 1977, Phytopathology 67: 772—775
- [14] Pada, A., Chaudhary, R.C., 1978, Oryza 15: 194—200
- [15] Petpisit, V., Khush, G.S. and Kauffman, H.E., 1977, Crop Sci. 17: 551—554
- [16] Sakaguchi, S., 1967, Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. Japan Ser. D. 16: 1—18. (in Japanese with English summary)
- [17] Sidhu, G.S. and Khush, G.S., 1978, Phytopathology 68: 461—463
- [18] Sidhu, G.S., Khush, G.S. and Mew, T.W., 1978, Theoretical and Applied Genetics 53: 105—111
- [19] Singh, D.P. and Nanda, J.S., 1977, Indian Journal of Genetic and Plant Breeding, 37: 335—340
- [20] Singh, R.J., Khush, G.S. and Mew, T.W., 1983, Crop Science, 23: 558—560
- [21] Yamada, T. and Horino, O., 1981, Japan. J. Breed., 31: 423—431
- [22] Yoshimura, A., Mew, T.W., Khush, G.S. and Omura, T., 1983, Phytopathology 73: 1049—1412

**STUDIES ON INHERITANCE OF RICE BACTERIAL BLIGHT
RESISTANT MUTATION INDUCED BY IRRADIATION**

Cai Jianxi Zhou Yanling Wang Shaoyi Chen Wei

(Institute of Bio-technology, Guangdong Academy of Agricultural Sciences)

Lu Yonggen Wang Renhua Li Zuqiang Wang Guochang

(Agronomy Department)

ABSTRACT

A study on inheritance pattern of two rice cultivars "Fuzhu 2" and "Fuzhu 2 Selection", derived from a bacterial blight-resistant mutant induced by ^{60}Co - γ irradiation was made. It proved that resistance of the two cultivars was conditioned by multiple genes. Based on transgressive inheritance, the gene distribution pattern of resistant sources tested was identified as a decentralized one. Problems relevant to screening mutants derived from irradiation and utilization approach to these mutants were discussed. In addition, the utilization value of such mutants with multiple-gene inheritance pattern in disease resistance breeding program were assessed positively.

Key words: Rice, Irradiation-induced mutation; Bacterial blight resistance