

平阳霉素对水稻诱变效应的研究

夏英武 吴关庭 舒庆尧

(浙江农业大学原子核农业科学研究所 杭州 310029)

本试验用 0、5、10、15、20、和 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的平阳霉素处理水稻种子。结果表明,平阳霉素在 M_1 能引起较高频率的染色体畸变,并对种子发芽、幼苗生长、植株结实等产生不同程度的损伤效应;在 M_2 能诱发频率较高的叶绿素、株高与抽穗期突变,三者的总突变频率以浓度为 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的最高。就诱发有益突变而言,平阳霉素诱导早熟的效果不如 EMS,但诱导矮秆突变的效果则优于 EMS。

关键词:平阳霉素 水稻 诱变效应

前 言

长期以来,突变频率不高一直是植物诱变育种亟待解决的主要问题之一。为此,人们不断地积极致力于新的高效诱变源的开拓与利用。平阳霉素(Pingyangmycin,简称 PYM)是由轮枝链霉菌平阳变种(*Streptomyces verticillus* var. *pinyangensis*)所产生的一种新型抗菌素,属糖肽类化合物^[1],目前主要作为抗肿瘤药用于临床,对多种癌症具有较好的疗效^[2-5]。80年代初,科学工作者相继在微生物^[6]、哺乳动物^[7,8]和高等植物^[9-11]上研究证明,PYM 诱发染色体畸变的能力超过 EMS 和 ET^[12,13]。然而,真正将 PYM 应用于作物诱变育种研究仅仅始于几年前。赵丽梅等^[14]首先在大麦上进行了试验,结果表明,PYM 不但能诱发较高频率的染色体畸变,而且能在 M_2 产生较高频率的性状变异,特别是早熟和高分蘖力等有益突变。为明确 PYM 在水稻诱变育种中的利用价值,本试验研究了该诱变剂对水稻的诱变效应。

材 料 与 方 法

供试品种 遗传性稳定的早粳品种陆青早 1 号。

化学诱变剂 平阳霉素(PYM,天津市河北制药总厂生产),甲基磺酸乙酯(EMS)。

试验方法 1. 种子处理:水稻风干种子在 30 ± 2 的室温下用自来水预浸 20 小时,临结束前用去离子水将 PYM 配制成浓度为 5、10、15、20 和 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的诱变液,EMS 的浓度为 0.4%。将预浸过的种子置于其中,在 30 ± 2 室温下处理 8 小时,EMS 为 6 小时,药液与种子的比例为 1 粒/ ml 。处理完毕用自来水冲洗 3 小时,然后催芽。以去离子水处理作为对照。

2. M_1 细胞学观察:待种子在室温下发芽后,取 1~2cm 的根用卡诺液固定,碱性品红染色,压片并显微观察。每处理观察 6~15 个不等的根尖,每个根尖随机观察 600 个左右细胞,统计染色体结构变异的细胞率及有丝分裂指数(MI)。

此文于 1994 年 11 月 8 日收到。

3. M_1 苗高、根长及其活力指数测定:采用垂直发芽法,在 32 ± 2 室温下生长,每处理 75 粒种子,记载每天发芽粒数,7 天后测量苗高和根长,按发芽指数 \times 生长势(本试验以平均苗高和根长表示)计算活力指数。

4. M_1 发芽率、成苗率与结实率调查:PYM 每处理 150 粒种子,EMS 每处理 220 粒,3 次重复,30 恒温箱内催芽 36 小时后,检查发芽粒数,随后播于网室,移栽时统计成苗数。所有秧苗全部移栽大田,单本插,密度 $16.7\text{cm} \times 13.3\text{cm}$,成熟时各处理随机取 10 株考查结实率,然后抽取 100 ~ 200 穗调查叶绿素突变频率,最后混收余下种子,用于调查株高与抽穗期突变。

5. M_2 突变频率调查:将上年收获的种子播于大田,三叶一心时调查叶绿素缺失突变(包括白化、黄化、浅绿、条纹和斑点等各种类型)。35 天秧龄,每处理种植 1000 株左右,对照减半,单本插,3 次重复,见穗时观察抽穗期突变,凡抽穗早或迟于对照群体齐穗期 10 天以上的,分别定为早熟或迟熟突变株。成熟后调查株高突变,随机测量 500 个对照单株的株高,求出平均数和标准差,然后确定突变界限 $\bar{X} \pm 3S$,将高度在该范围以外的植株定为株高突变株。

结果与分析

(一) M_1 生物学效应

1. 对根尖细胞染色体畸变和有丝分裂的影响:由表 1 可见,水稻种子经 PYM 处理后, M_1 根尖细胞中出现微核、桥、断片、落后染色体等染色体畸变,虽然类型与未处理的基本相同,但数量明显增加,各处理的畸变细胞率均极显著高于对照,而各处理之间,以浓度为 $15\mu\text{g/ml}$ 的最高。EMS 诱发的染色体畸变率稍低于 PYM 处理,但差异并不显著。同时,PYM 处理还导致根尖有丝分裂细胞锐减,使分裂指数极显著下降,说明 PYM 处理对幼根的生长产生严重影响。

2. 对种子发芽与幼苗生长的影响:表 2 表明,较低浓度的 PYM 处理,对种子发芽具有一定的刺激作用,当浓度达到 $15\mu\text{g/ml}$ 时,发芽率开始下降,超过 $20\mu\text{g/ml}$ 后,发芽率显著降低,但仍高于 EMS 处理。值得注意的是,较低浓度 PYM 的刺激作用仅仅表现在发芽率上,室内培养 7 天后测得的苗高、根长、苗高活力指数和根长活力指数以及大田成苗率,基本上随处理浓度的升高而急剧下降,大多与对照呈显著或极显著差异,即 PYM 对幼苗生长有明显的抑制作用。EMS 处理对幼苗造成的生理损伤与 $25\mu\text{g/ml}$ 左右的 PYM 相近,唯根长例外。从表 2 可以看出,PYM 对根长的抑制作用要远远高于 EMS。

3. 对植株结实的影响:不同浓度 PYM 处理对植株育性产生了明显影响(表 2)。在 $15\mu\text{g/ml}$ 以下,随着浓度的增大,结实率逐渐降低,超过该浓度后,结实率反而有所回升。EMS 处理的结实率与 $5\mu\text{g/ml}$ 的 PYM 相仿,表明 EMS 对育性的影响比 PYM 轻。

(二) M_2 诱变效应

1. 叶绿素缺失突变:PYM 诱发的叶绿素缺失突变有白化、黄化、条纹、浅绿等多种类型,其中以前两种为主,占 75 % 以上。突变频率随处理浓度的增大而提高,至 $15\mu\text{g/ml}$ 时达到最高,此后又逐渐下降,按穗计和按苗计的结果完全一致(表 3)。在 $15\mu\text{g/ml}$ 的浓度下,PYM 诱发的叶绿素突变频率按穗计几乎与 EMS 处理相同,按苗计则高于 EMS。由此可见,PYM 具有较强的诱发叶绿素突变的能力。

表 1 PYM 对 M₁ 根尖细胞染色体畸变及有丝分裂的影响

Table 1 Effect of PYM on chromosome aberration and mitotic division of root tip cells in M₁ generation

处 理		CK	P YM(μg/ ml)					EMS
Treatment			5	10	15	20	25	0.4 %
观察细胞数		9308	6956	7324	7267	5170	3508	5274
No.of cells observed								
染色体畸变 Chromosome aberration	微核 Micronucleus	21	182	206	212	138	98	114
	桥 Bridge	31	38	66	80	40	40	60
	断片 Fragment	9	16	22	18	18	6	14
	落后染色体 Laggard	6	2	22	26	12	12	34
	总畸变数 No.of total aberrations	67	238	316	336	208	156	222
	畸变频率 Frequency of chromosome aberration (%)	0.72	3.42 **	4.32 **	4.62 **	4.02 **	4.45 **	4.21 **
有丝分裂 Mitotic division	细胞数 No. of cells	843	276	243	247	205	115	192
	分裂指数 Mitotic index (%)	9.06	3.97 **	3.32 **	3.40 **	3.97 **	3.28 **	3.64 **

* * 表示 1 %水平上显著。 * * Significant at 1 % level.

表 2 PYM 对种子发芽、幼苗生长及植株育性的影响

Table 2 Effect of PYM on seed germination , seedling growth and spikelet fertility in M₁ generation

处 理	CK	P YM(μg/ ml)					EMS
Treatment		5	10	15	20	25	0.4 %
发芽率	76.5	80.4	83.9	73.8	62.6 *	52.9 **	45.8 **
Germination percentage(%)							
成苗率	72.9	69.9	61.4 *	46.7 **	38.1 **	29.7 **	32.6 **
Seedling survival rate(%)							
苗高	9.56	8.50	7.79	5.67 *	5.83 *	5.04 **	5.23 **
Seedling height (cm)							
根长	11.03	8.45	6.35 *	4.19 **	4.81 **	3.93 **	6.35 *
Root length (cm)							
苗高活力指数	459.64	340.00 **	244.61 **	156.10 **	137.01 **	117.18 **	89.85 **
Vigorous index of seedling height							
根长活力指数	530.32	338.00 **	199.39 **	115.35 **	113.04 **	91.37 **	109.09 **
Vigorous index of root length							
结实率	80.81	66.05 *	56.30 **	49.20 **	55.11 **	50.45 **	66.63 **
Seed setting rate(%)							

*, * * 分别表示 5 %和 1 %水平上显著。

*, * * Significant at 5 % and 1 % level respectively.

表 3 PYM 诱发的叶绿素缺失突变频率

Table 3 Frequency of chlorophyll-deficient mutation induced by PYM treatment

处 理 Treatment	CK	PYM(μg/ ml)					EMS 0.4 %
		5	10	15	20	25	
调查穗数 No. of spikes planted	662	647	602	525	486	350	605
突变穗数 No. of mutation spikes	3	52	77	76	62	39	86
调查苗数 No. of seedlings observed	31931	29394	26404	23892	21700	16925	29117
突变苗数 No. of mutants	7	241	434	456	374	251	490
以穗计突变频率 Mutation frequency of spike (%)	0.45	8.04	12.79	14.48	12.76	11.14	14.22
以苗计突变频率 Mutation frequency of seedling (%)	0.022	0.820	1.644	1.909	1.724	1.483	1.683

2. 株高与抽穗期突变 :从表 4 可看出 ,不同浓度 PYM 诱发的株高突变 ,其趋势同于叶绿素缺失突变 ,也是随浓度的升高而增加 ,至 15μg/ ml 时最多 ,此后又逐渐减少。在诱发的株高突变中 ,矮秆突变多于高秆突变 ,这显然对育种实践十分有利。与 EMS 处理相比 ,PYM 诱发的株高突变频率明显增高 ,即 PYM 诱导株高突变 ,尤其是矮秆突变的效果优于 EMS。

表 4 PYM 诱发的株高与抽穗期突变频率

Table 4 Mutation frequency for plant height and heading date after PYM treatment

处理 Treatment	调查株数 No. of plants observed	株高突变					抽穗期突变					合计 Total (%)
		Mutation in plant height					Mutation in heading date					
		矮秆 Dwarf		高秆 Tall		合计 Total	早熟 Early		迟熟 Late		合计 Total	
		No.	%	No.	%	(%)	No.	%	No.	%	(%)	
CK	1240	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYM 5μg/ ml	2596	12	0.462	10	0.385	0.847	6	0.231	11	0.424	0.655	1.502
PYM 10μg/ ml	2607	20	0.767	12	0.460	1.227	7	0.269	19	0.279	0.998	2.225
PYM 15μg/ ml	2724	25	0.918	13	0.477	1.395	8	0.294	17	0.624	0.918	2.313
PYM 20μg/ ml	2660	21	0.790	9	0.338	1.128	8	0.301	15	0.564	0.865	1.993
PYM 25μg/ ml	2660	16	0.602	3	0.113	0.715	9	0.338	13	0.489	0.827	1.542
EMS 0.4 %	2700	13	0.482	7	0.259	0.741	17	0.630	14	0.519	1.149	1.890

PYM 处理引起的抽穗期突变 ,除 25μg/ ml 浓度外 ,在数量上均不及株高突变 ,且以迟熟突变占多数。抽穗期突变频率以 10μg/ ml 浓度最高 ,但低于 EMS 处理 ,特别是早熟突变频率 ,PYM 处理虽然随浓度的增大略有上升 ,但与 EMS 相比 ,差异较大。

讨 论

1. PYM 的育种利用价值。从本试验结果看 ,PYM 处理不但能引起较高频率的染色体畸变 ,降低有丝分裂指数 ,并对 M₁ 幼苗生长和植株结实产生较重的生理损伤 ,而且还能在 M₂ 诱

发高于 EMS 处理的叶绿素与株高突变,尤其是矮秆突变。由此得出初步结论:PYM 是一种有效的诱变剂。

2. PYM 对水稻的适宜诱变浓度。本试验结果表明, M_1 染色体畸变率、 M_2 叶绿素缺失突变频率、株高突变频率以及总突变频率,均以 $15\mu\text{g/ml}$ 处理最高,超过该浓度,诱变效果逐渐降低。由此表明,PYM 浓度不宜过高,否则会加重 M_1 生理损伤,并降低突变频率和诱变效率。在本试验条件下,PYM 对水稻的诱变浓度以 $15\mu\text{g/ml}$ 较为适宜。

本试验得到浙江省农业科学院原子能利用研究所王贤裕等同志的支持,慎玫同志在细胞学观察上给予帮助,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 张 瑞等. 争光霉素的研究. 争光霉素的分离、纯化、理化性质及鉴定. 微生物学报, 1980, 20(1) 76 ~ 81
- 2 甄永苏等. 争光霉素 A_5 和争光霉素 A_2 的抗肿瘤作用与毒性研究. 药学报, 1979, 14(2) 83 ~ 89
- 3 林赴田等. 平阳霉素的抗肿瘤作用与临床前药理研究. 中华肿瘤杂志, 1979, 1(3) 161 ~ 166
- 4 冼美生等. 平阳霉素对鳞癌选择性治疗作用的病理形态学分析. 中华肿瘤杂志, 1979, 1(3) 167 ~ 171
- 5 争光霉素协作组. 平阳霉素治疗恶性肿瘤的临床疗效评价. 中华肿瘤杂志, 1979, 1(3) 172 ~ 175
- 6 陈玲爱等. 平阳霉素诱发枯草杆菌基因回复突变. 科学通报, 1981, 26(14): 884 ~ 885
- 7 王钦南等. 平阳霉素诱发中国地鼠细胞株染色体畸变和姊妹染色单体交换. 环境科学学报, 1983, 3(1) 78 ~ 84
- 8 王钦南等. 平阳霉素三种成份对 CHO 细胞染色体畸变和 SCE 的影响. 遗传, 1986, 8(2) 28 ~ 30
- 9 王英彦等. ^{60}Co 射线和平阳霉素诱发蚕豆根尖细胞微核与染色体畸变的剂量效应. 环境科学, 1984, 5(4) 20 ~ 22
- 10 沈光平等. 平阳霉素三种成份诱发染色体畸变的研究. 遗传学报, 1984, 11(2) 109 ~ 112
- 11 沈光平等. 微核与染色体畸变的相关性. 遗传, 1985, 7(1) 15 ~ 17
- 12 谷爱秋等. 平阳霉素诱发蚕豆染色体畸变. 科学通报, 1981, 26(15) 941 ~ 943
- 13 王钦南等. 强烈的环境诱变剂——平阳霉素. 环境科学学报, 1981, 1(3) 265 ~ 269
- 14 赵丽梅等. 平阳霉素 Pingyangmycin 对大麦的诱变效应. 核农学报, 1990, 4(4) 199 ~ 205

MUTAGENIC EFFECTS OF PINGYANGMYCIN ON RICE (*Oryza sativa* L.)

Xia Yingwu Wu Guanting Shu Qingyao

(Institute of Nuclear Agricultural Sciences, Zhejiang
Agricultural University, Hangzhou 310029)

ABSTRACT

The mutagenic effects of Pingyangmycin (PYM) on rice were studied by means of seed treatment with 5, 10, 15, 20 and $25\mu\text{g/ml}$ of PYM. The results showed that PYM could induce high frequency of chromosome aberrations, produce physiological damages of various degrees in terms of seed germination, seedling growth and spikelet fertility in M_1 generation, and induce high frequency of chlorophyll-deficient mutation and mutation in plant height and heading date in M_2 generation. With $15\mu\text{g/ml}$ of treatment, the highest total mutation frequency, higher than that of the widely used chemical mutagen EMS, was reached. As induction of beneficial mutations was concerned, PYM was inferior to EMS in inducing early heading mutation, but superior to EMS in inducing short straw mutation.

Key word: Pingyangmycin, rice, mutagenic effects