

γ射线和早疫病菌毒素对番茄愈伤组织生长的影响

蒋有绎 周 枫 孟祥启

(北京市植物细胞工程实验室, 北京)

摘 要

用不同剂量的γ射线辐照处理番茄叶片诱导的愈伤组织, 然后把愈伤组织接到含有早疫病菌毒素及不含毒素的培养基上进行培养。结果表明, γ射线对番茄愈伤组织的生长有明显的抑制作用, 3000rad剂量就表现出较强的抑制作用。毒素对愈伤组织生长的抑制作用也极为明显, 因此在筛选抗病突变体的研究工作中, 可以用毒素作为选择压力。

关键词 γ射线 毒素 愈伤组织

根据体细胞无性系变异的理论, 利用真菌毒素作为选择压力, 筛选抗病突变体, 培育植物抗病新品种, 已经在实践中取得一定成效〔1〕。用番茄进行抗病突变体研究的报道并不多, Shepherd和Sohndal曾进行过这方面的研究〔2〕。Shahin和Spivey用镰刀菌 (*Fusarium*) 毒素的纯品 (Fusaric acid) 筛选出抗萎蔫病的番茄再生苗, 并对其后代的抗病性分离情况进行了分析〔3〕。

作者用番茄叶片作外植体, 通过不同的培养途径在含有早疫病 (*Alternaria solani*) 毒素的培养基上已经分化筛选出再生苗, 并正在进行抗病性鉴定。为了获得更好的变异效果, 本试验对试材进行了物理因素的诱变处理, 即先用不同剂量的γ射线照射由叶片分化来的愈伤组织, 再分别接到含毒素和不含毒素的培养基上进行培养。比较了射线和毒素对愈伤组织生长的影响, 并对这两种因素之间的关系进行了探讨。

材料和方法

番茄品种为佳粉10号, 用小塑料盆播种。出苗后剪取第3~4片真叶, 冲洗干净, 用0.1% HgCl₂消毒10分钟, 再用无菌水冲洗4~5遍, 然后把叶片剪成小片, 接入装有诱导培养基 (MS + BA 1 mg/l + NAA 2 mg/l) 的三角瓶中。每瓶接6小片。培养20天后, 所有的叶片均分化成浅黄色、近似圆形又较丰满的愈伤组织。第21天对愈伤组织进行γ射线

本文于1989年11月6日收到。

供试番茄种子由北京市蔬菜研究中心张环副研究员提供; 毒素由植物环保所李明远副研究员提供。特此感谢。

照射, 辐射剂量分为 0、500、1000、2000、3000、4000、6000、8000rad 8 个等级。每个剂量等级照射 4 瓶, 共 24 块愈伤组织。再把照射后的每一块愈伤组织都切成 3 小块, 这样每个剂量等级就有 72 块愈伤组织。把这些愈伤组织块分别接到不含毒素和含有毒素 (含 3% 早疫病毒素粗滤液 V/V) 的分化培养基 (MS + Zt 2 mg/l) 中, 两种培养基各接 6 瓶, 共 12 瓶。在接种的过程中, 称出每瓶愈伤组织的重量。本试验为 2 种培养基、8 个辐射剂量等级的两因子试验, 共有 16 个处理, 每个处理有 6 次重复。

所有的愈伤组织经过 2 周的培养, 均转接到不含毒素的相同培养基上, 每周后继代一次, 共继代两次。在每次继代转瓶的过程中, 称出每瓶愈伤组织的鲜重, 以便了解愈伤组织增重的情况, 并进行统计分析。

结果与讨论

表 1 列出了不同处理愈伤组织经不同天数培养后鲜重变化的情况以及增重的倍数。经过一个月的培养, 未照射、无毒素处理 (对照 I) 愈伤组织的鲜重增加了 7.19 倍。未照射、有毒素 (对照 II) 愈伤组织的鲜重增加了 4.53 倍, 前者的生长量明显大于后者, 说明毒素对愈伤组织的生长有较强的抑制作用。照射 8000rad、无毒素处理愈伤组织的鲜重在同期内仅增重 2.09 倍, 其增重倍数明显低于对照 I。说明高剂量辐射对愈伤组织生长的抑制作用要大于毒素的抑制作用。不过照射 8000rad、有毒素处理愈伤组织的鲜重只增加了 1.97 倍, 这

表 1 不同处理愈伤组织的鲜重变化及其增重倍数

处 理	称 重 次 数	辐 射 剂 量 (r)															
		0	500	1000	2000	30	(C0)	(C00)	8000	增 重 (克)	增 重 (倍)	鲜 重 (克)	增 重 (克)	增 重 (倍)	鲜 重 (克)	增 重 (克)	增 重 (倍)
无 毒 素	1	0.72±0.14	0.81±0.08	0.65±0.07	0.60±0.09	0.78±0.11	0.92±0.14	0.98±0.23	0.74±0.07								
	2	3.66±0.79	5.08	3.32±0.53	5.10	1.88±0.20	3.13	1.83±0.45	2.35	2.33±0.32	2.53	1.97±0.27	2.01	1.36±0.17	1.38		
	3	4.75±1.40	6.59	4.65±1.35	7.15	2.42±0.31	4.03	2.02±0.58	2.59	2.62±0.29	2.85	2.32±0.40	2.37	1.50±0.18	2.02		
	4	5.18±2.16	7.19	5.95±2.21	7.34	5.69±2.45	8.75	2.88±0.27	4.80	2.07±0.64	2.65	2.72±0.35	2.96	2.46±0.54	2.51	1.55±0.21	2.09
有 毒 素	1	0.57±0.11	0.77±0.12	0.78±0.24	0.80±0.05	0.79±0.07	0.73±0.09	0.85±0.19	0.77±0.11								
	2	1.55±0.55	2.72	1.77±0.50	2.27	1.67±0.35	2.09	1.67±0.23	2.11	1.57±0.26	2.15	1.73±0.13	2.04	1.34±0.16	1.74		
	3	2.20±1.10	3.85	2.44±1.10	3.17	2.15±0.59	2.76	2.05±0.59	2.56	1.92±0.38	2.43	1.72±0.29	2.36	1.85±0.20	2.18	1.39±0.17	1.81
	4	2.58±0.77	4.53	2.94±1.37	3.82	2.53±0.70	3.24	2.28±0.73	2.85	2.09±0.55	2.65	1.81±0.51	2.48	1.92±0.53	2.26	1.52±0.89	1.97

个数字与2.09比较接近。说明在高剂量辐射的情况下,无论毒素的有无,愈伤组织生长都已遭受到严重的影响,生长极为缓慢,大部分细胞褐化,丧失生长能力。

再比较在每一个相同剂量等级中4次称重的结果,都是有毒素的愈伤组织鲜重增加倍数要低于无毒素的倍数。说明愈伤组织第一次在有毒素培养基上生长半个月,即使以后几次转到无毒素培养基上,毒素的抑制作用也还继续存在。可见毒素对愈伤组织的生长影响是深刻的,可以起到选择压力作用。

从表1还可以看出,在低剂量(2000rad以下)条件下,有毒素的愈伤组织增重明显低于无毒素的愈伤组织;而在高剂量(3000rad以上)条件下,无毒素与有毒素的愈伤组织增重倍数却比较接近。其原因可能是在低剂量条件下,毒素对愈伤组织生长的抑制作用比较明显。当剂量超过3000rad时,辐射的抑制作用成了主导因素,于是在一定程度上掩盖了毒素的影响。表1的数字还表明,无论是无毒素或有毒素,在3000~8000rad这4个等级间愈伤组织增重倍数都比较接近。说明愈伤组织经3000rad以上的剂量照射,它们的抑制作用几乎相当。因此可以认为,就番茄愈伤组织而言,3000rad可视为临界辐射剂量。

从图中的曲线清楚地看出,在无毒素条件下,经500和1000rad照射的愈伤组织增重倍数反而要高于对照,可能是低剂量的辐射对愈伤组织细胞的分裂增殖有一定的刺激作用;当剂量超过2000rad时,则辐射对愈伤组织的抑制作用随剂量的增加而增加。在有毒素条件下,由于毒素和辐射都会对愈伤组织细胞的分化产生影响,即使是低剂量,毒素的抑制作用要大于辐射的刺激作用。所以愈伤组织增重倍数的变化呈现为平缓下降的曲线。

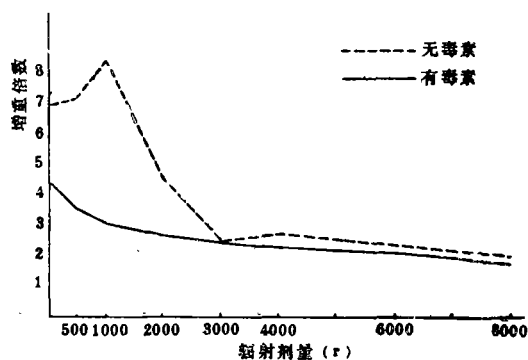


图 番茄愈伤组织增重与 γ 射线及毒素两因素之间的关系

通过对各处理愈伤组织鲜重进行统计分析,结果表明,在无毒素条件下,不同 γ 射线辐射剂量处理的平均增重倍数与对照I相比,500和1000rad的差异为不显著;2000rad的差异显著;而3000至8000rad这4个剂量的差异均为极显著(表2)。从而可进一步推断,3000rad是最低的临界剂量。

表2 无毒素条件下,不同辐射剂量处理愈伤组织平均增重倍数差异显著性测验

辐射剂量 (r)	0 (对照I)	500	1000	2000	3000	4000	6000	8000
平均增重 倍数 $n=3$	6.287	5.680	7.000	3.987	2.530	2.780	2.297	1.980
t 值及其 显著性		0.502	0.58	2.90*	5.92**	5.47**	6.19**	6.81**
$t_{4, 0.05}=2.776$		$t_{4, 0.01}=4.604$		* $\alpha=0.05$ 差异显著		** $\alpha=0.01$ 差异显著		

在有毒素条件下,不同 γ 射线辐射剂量处理的平均增重倍数与对照 I (未照射、无毒素)相比,每一个辐射处理的差异均为极显著(表 3),充分说明愈伤组织经 γ 射线照射后,在

表3 有毒素条件下,不同辐射剂量处理愈伤组织平均增重倍数差异显著性测验

辐射剂量 (r)	0 (对照 I)	0 (对照 II)	500	1000	2000	3000	4000	6000	8000
平均增重 倍数 $n=3$	6.287	3.700	3.140	2.757	2.500	2.397	2.330	2.160	1.840
t 值及其 显著性		3.155*	4.64**	5.14**	5.69**	6.01**	6.23**	6.54**	7.04**
$t_{4,0.05}=2.776$		$t_{4,0.01}=4.604$		* $\alpha=0.05$ 差异显著			** $\alpha=0.01$ 差异显著		

毒素培养基上培养 2 周,即使转接到无毒素培养基上,其生长仍然受到严重的抑制。如果与对照 II (未照射、有毒素)相比,只有 6000 和 8000 rad 这两个剂量表现为差异显著和极显著(表 4)。说明在有毒素条件下,低剂量的抑制作用被毒素的抑制作用所掩盖,只有在高剂量照射下才能充分显示出它的抑制作用。

表4 有毒素条件下,不同辐射剂量处理愈伤组织平均增重倍数差异显著性测验

辐射剂量 (r)	0 (对照 II)	500	1000	2000	3000	4000	6000	8000
平均增重 倍数 $n=3$	3.700	3.140	2.757	2.500	2.397	2.330	2.160	1.840
t 值及其 显著性		0.84	1.58	2.10	2.37	2.55	2.90*	3.49**
$t_{4,0.05}=2.776$		$t_{4,0.01}=4.604$		* $\alpha=0.05$ 差异显著			** $\alpha=0.01$ 差异显著	

结 论

1. γ 射线对番茄叶片诱导的愈伤组织生长有明显的影响,可以用来进行诱变处理。一般 3000 rad 剂量就表现出较强的抑制作用,因此可视其为临界剂量。

2. 真菌毒素对愈伤组织生长的抑制作用是相当明显的,在进行抗病突变体筛选时,可以用毒素作为选择压力。

3. 在有毒素条件下,愈伤组织生长受抑制的情况随 γ 射线辐射剂量的增加而愈趋严重;在无毒素条件下,低剂量的辐射可能对愈伤组织的生长有一定的刺激作用,高剂量的辐射对愈伤组织的生长表现出较强的抑制作用。

参 考 文 献

- [1] 蒋有绎等: 植物体细胞无性系变异与抗病突变体筛选, 《北京农业科学》, 1988(5): 6~8
- [2] Shepherd, S. L. K. et al: Selection for early blight disease resistance in tomato: Use of tissue culture with *Alternaria solani* culture filtrate, IV International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Abstracts, 1986: 248
- [3] Shahin, E. A. et al: A single dominant gene for *Fusarium* wilt resistance in proto-plast-derived tomato plants, *Theor Appl Genet*, 1986(73): 164~169

The Effect of γ Ray and Early Blight Fungitoxin on the Growth of Tomato Calli

Jiang Youyi Zhou Feng Meng Xiangqi

(*Beijing Laboratory of Plant Cell Engineering, Beijing*)

Abstract

Calli derived from tomato leaves were treated with different γ ray doses and inoculated in medium with or without early blight fungitoxin. The experimental results indicated that γ ray had obvious influence on the growth of tomato calli, with a stronger inhibition being at 3000 rad dose. The fungitoxin had strong inhibition as well. So the fungitoxin could be used as selection pressure in the screening of resistant disease mutant.

Key words: γ ray, Fungitoxin, Callus