

幼穗无性系变异在小麦育种上的应用

王培 范光年 方仁

(河北省农林科学院粮油作物研究所, 石家庄 050031)

桑建利 王玉秀 朱至清

(中国科学院植物研究所, 北京 100044)

提 要

冬小麦(综抗矮6号×泰山1号) F_1 代花培 H_1 代纯系经幼穗离体培养建立的13—7管无性系获得一株 R_0 代种子, 后代变异类型多、频率高, 其 R_2 、 R_3 代株高、抽穗期都呈一个正态分布、连续性变异, 调查的几个性状在 R_3 代稳定率已达84.85—100%。已从稳定品系中选择出一批不同株高和高蛋白材料, 其中4个品系比对照冀麦6号增产17.2—35.8%, 2个品系比对照早熟3天, 3个品系的千粒重比对照提高7.2—13.7克。

关键词 冬小麦, 花培纯系, 幼穗培养, 无性系变异

自1971年开始系统地研究体细胞无性系变异现象^[1]以来, 国内外先后在甘蔗^[10]、马铃薯^[2]、水稻^[3,11]、番茄^[1]、小麦^[4-6]等作物中观察到了体细胞无性系的变异, 这些变异研究的外植体均来源于生产应用品种, 用花药培养获得的纯合材料再进行幼穗培养建立的体细胞无性系及后代性状变异的研究还未见报道, 特别是无性系变异能引起小麦种子蛋白质含量变异在小麦作物上还从未有人报告。我们从1985年对(综抗矮6号×泰山1号) H_1 进行幼穗培养, 1986—1989年对无性系后代性状的变异进行了观察, 1989—1990年对入选的优良品系进行了产量鉴定, 现已从变异后代中选出矮秆、早熟、增产的稳定品系及一批蛋白质含量高的材料。

材 料 和 方 法

综抗矮6号为母本, 泰山1号为父本杂交的 F_1 代, 其花药发育到单核中晚期时接种在 C_{17} ^[7]+2,4-D 2 mg/l+KT 0.5 mg/l+蔗糖9%的培养基上诱导出愈伤组织, 转移到 C_{17} +IAA 2 mg/l+KT 0.5 mg/l+蔗糖3%的培养基上分化绿苗。当 H_1 代花粉植株纯系移栽成活后, 其幼穗伸长到1.0厘米时, 在无菌条件下将每个幼穗切成2—4段种植在一个三角瓶中, 其培养基为 N_6 ^[8]+2,4-D² mg/l+KT 1 mg/l+蔗糖5%。诱导出愈伤组织后, 每20—25天用 N_6 +2,4-D 0.5 mg/l+6BA 1 mg/l+蔗糖5%继代一次, 继代后的愈伤组织转移到 N_6 +2,4-D 0.1 mg/l+蔗糖5%的分化培养基上, 其中只有编号为13—7管的无性系分化绿苗数丛, 移栽成活后多为单倍体, 只有一株结实, 共收 R_0 代(本文采用查利夫(Chaleff)无性系后代表示法^[11])种子42粒。

R_1 代将 R_0 代42粒种子全部种植, 其中34粒出苗并成株结实。 R_2 代将 R_1 代收获的34

个株系的种子, 根据种子量大小分别种植1—5行, 行长2米, 行距40厘米, 株距10厘米, 每个株系随机选取10株(有的系不足10株)进行系统调查(共298株)。R₃代根据育种目标各系均选择一株种植, 每株种植3行, 种植方式同R₂代, 共种植2100株。每个株系从其第2行的第4株开始连续选择10株来代表每个株系进行观察记载, 如自第一株抽穗开始每日逐株挂牌记载抽穗日, 最后统计变异情况。

试验结果

一、无性系后代性状的变异类型及频率

对无性系后代的株高、成熟期(抽穗期)、单株成穗数、芒性、叶面蜡质调查结果如下:

(一)株高

R₁代株高变异的范围在43.0—91.5厘米之间, 平均高度为65.1厘米, 变异系数(CV)为17.31%。其中以70—80厘米高的植株数最多(35.29%), 8.82%的植株变矮(低于50厘米), 变高的植株有两个(86.3厘米和91.5厘米), 占34株的5.88%(图1)。由此看出, R₁代株高的变异类型多、频率亦高, 是选择不同植株高度类型的一个世代。R₂

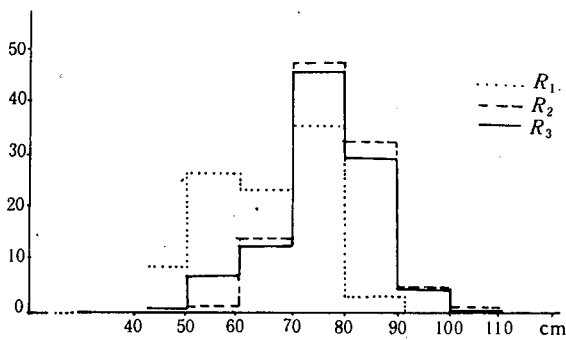


图1 小麦无性系后代株高性状的变异

Fig. 1 Variation of plant height in somaclonal progenies of wheat.

代对298株进行了统计, 平均高度为78.3厘米, 其分布仍集中在71—80厘米之间, 频率为47.7%, 其它植株高度分布频率依次为: 81—90厘米(32.2%) > 61—70厘米(13.9%) > 91—100厘米(4.4%) > 50—60厘米(1.1%) > 101—110厘米(0.8%)。表明R₂代无性系植株高度表现了倾高趋势, 但总数与R₁代无差异。经对R₂代298株株高的统计, 其标准差(S)是7.9, 标准误($S\bar{x}$)为0.48。株高在69厘米以下的为29株, 统计结果标准差(S)是3.56, 标准误($S\bar{x}$)是0.66, t 值为19.30 ($t_{28, 0.01} = 2.763$), 差异极显著, 说明(综抗矮6号 × 泰山1号)H₁代幼穗无性系在R₂代的变异株高在69厘米以下的株系占总数的10.86%, 也就是说无性系矮秆变异率可达10.86%。即通过幼穗无性系变异可以选到矮秆抗倒的植株。株高在90厘米以上的有14株, 标准差(S)是4.42, 标准误($S\bar{x}$)为0.82, t 值为22.04 ($t_{13, 0.01} = 3.012$), 差异极显著, 即无性系的高秆变异率可达5.24%。表明幼穗无性系也可变异出高秆品系, 从而可以从中选择适应性强、耐瘠薄品种。R₃代统计了343株, 株高的变幅在43.0—102.0厘米之间, 出现频率的高峰仍在70—80厘米之间(图1), 为46.06%。通过1986、1987、1988连续三年对冬小麦花培幼穗无性系(R₁、R₂、R₃代)株高变异的调查表明, 株高的变异具有一定的稳定性, 历年均成正态分布连续性变异, 通过对R₁和R₂代选择就可得到各种理想的植株高度。

(二)成熟期

R₁代34株的成熟期分布在6月6日—18日之间, 6月18日成熟的有19株, 占R₁代植株总数的55.88%, 早于6月18日成熟的15株, 占R₁代植株的44.12%, 其中6月6

日—10日成熟的植株占20.59%，即变异出的早熟植株率高达20.59%。表明幼穗无性系可以变异出早熟的植株。

R₂代对298株统计抽穗期最早出现在5月2日，最迟出现在5月17日，相差15天，有84.2%的植株抽穗期出现在5月6—10日(表1)。5月5日前早抽穗的植株和5月11日以后晚抽穗的植株很接近，分别为7.4%和8.4%，即变异出的早熟和晚熟植株基本相等，呈一个连续性变异，为选择早熟植株提供了条件。

R₃代统计了343株的抽穗期，出现在4月29日—5月16日之间，以5月3日—5日抽最多，占总数的68.5%(表1)，早于5月2日抽的植株占总数的19.8%，晚于5月6日抽穗的植株占总数的11.7%，表明R₃代变异出的早熟植株明显高于变异出的晚熟植株，仅从生育期方面讲，有益变异率较高。R₂代和R₃代的抽穗期均贯穿着一个高峰，只是年度间峰点有异，说明幼穗无性系的抽穗期变异可以遗传，选择早熟植株是有效的。

(三) 芒性

(综抗矮6号×泰山1号)花培H₁代为长芒，幼穗R₁代出现长芒和顶芒两种类型，其比例为16:1，说明花粉植株幼穗培养产生的无性系R₁代在芒性上有5.88%的植株发生了变异(表2)。R₂代经对298株芒性的统计，出现了长芒、顶芒、无芒三种类型，其出现频率分别为87.92%、6.38%、5.70%，说明芒在R₂代的变异率为12.08%，并且变异出的顶芒和无芒两种类型基本相等。R₃代共调查343株，仍为长芒、顶芒、无芒三种类型，分别占总数的90.96%、6.12%和2.92%，各系均全部稳定。

(四) 单株穗数

R₁代以1—4个穗/株的最多，占植株总数的76.47%，单株穗数大于5个的植株占23.53%，可变异出高成穗的植株。资料还表现分蘖和成穗为正相关。R₂代共调查298株，单

表2 幼穗无性系芒性的变异频率
Table 2 Somaclonal variation in awnness of wheat

芒性 Awn	R ₁ (%)	R ₂ (%)	R ₃ (%)
长芒 long-awned	94.12	87.92	90.96
顶芒 Tip-awned	5.88	6.38	6.12
无芒 Awnless	0.00	5.70	2.92

* R₁ 代为34株，R₂ 代为298株，R₃ 代为343株。

* R₁ has 34 plants, R₂ has 298 plants, R₃ has 343 plants.

株成穗在10—19个之间的占总数的49.5%，单株成穗小于9个的占总数的17.7%，单株

成穗在30个以上的有16株,占总数的5.4%,即幼穗无性系 R_2 代变异出有价值的多穗株率为5.4%,给选择成穗多的株系创造了条件。 R_3 代调查了343株,单株成穗仍主要集中在10—19之间,占总数的58.6%,单株少于9个穗的占总数的26.8%,单株成穗在20—29之间的占13.1%,单株成穗在30个以上的占总数的1.5%。历年均呈正态分布,连续性变异,为选择多穗高产品种创造了条件。

(五)叶面蜡质

R_1 代中观察到有蜡质和无蜡质两种类型,其比例为1:16,变异率为5.88%。 R_2 代无蜡质的基本上没有变异,有蜡质的又变异出无蜡质或少蜡质的植株。

二. 幼穗无性系变异的稳定性

花培(综抗矮6号×泰山1号) H_1 幼穗培养获得的无性系变异后代各性状表现了较快的稳定性。例如:芒,变异出长芒、顶芒、无芒三种类型在 R_3 代的比例分别为90.96%、6.12%、2.92%,各系内均不再变异,稳定率已达100%(表3)。单株穗数 R_3 代有93.94%

表3 无性系(R_3)的稳定性

Table 3 Stability of agronomic characters in R_3 somaclonal families of wheat

农艺性状 Agronomic characters	稳定 stable		不稳定 Unstable	
	品系 lines	%	品系 lines	%
株高 plant height	28	84.85	5	15.15
抽穗期 Heading date	29	87.88	4	12.12
单株穗数 Ears per plant	31	93.94	2	6.06
芒性 Awnedness	33	100.00	0	0.00

的株系稳定,株高和抽穗期二性状 R_3 代也有85%左右的系趋于稳定。说明花培纯系幼穗无性系变异的后代经 R_1 代和 R_2 代的选择到 R_3 代有85%以上的植株稳定,可供选优进行产量鉴定。在仍有变异的6%—15%的株系中还可继续选拔优良单株。

三. 无性系变异的应用

从冬小麦花培(综抗矮6号×泰山1号) H_1 幼穗无性系变异后代的选择结果来看,幼穗无性系变异对小麦品种改良具有显著效果。

(一) 创造高蛋白种质

R_4 代经对农艺性状已稳定的株系目测挑选77份样品测定,其中33份为 R_3 代已稳定的无性系,另外44份为 R_2 代第9株分离后选育的后代,测定结果77个株系的种子蛋白质含量变动于12.14—21.33%之间,不同含量等级的无性系所占百分数呈常态分布,即较低和较高含量的株系趋向减少,含量居中的无性系数量较多(图2)。其中有五个无性系种子蛋白质含量超过19%,它们是 R_5 510-6, R_5 516-5, R_5 522-6, R_5 526-3, R_5 528-2,均属 R_3 代已稳定的无性系。这五个无性系农艺性状的共同特点是冬性,株高89—106

厘米，白壳、白粒、饱满度 1—2 级，千粒重 32—40 克。R₆ 代重复测定了种子的蛋白质含量，其结果和 R₅ 代相近（表 4），说明无性

表 4 无性系不同世代种子蛋白质含量

Table 4 Grain storage protein contents in different somaclonal generations.

无性系名称 Name of somaclonal	种子蛋白含量 Contents of grain protein	
	R ₅ R ₆	
	R ₅	R ₆
510-6	19.71	19.71
516-5	19.87	20.24
522-6	19.16	20.77
526-3	21.33	21.78
258-2	19.08	19.97

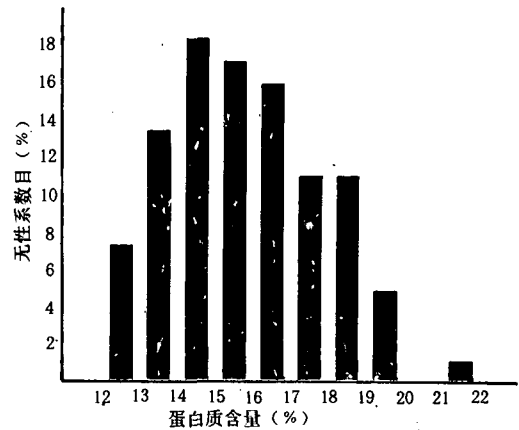


图 2 幼穗无性系后代蛋白质含量分布

Fig 2 Grain storage protein distribution of young somaclonal posterity

系变异获得的高蛋白特性是可以遗传的，因此认为应用无性系变异可以提高蛋白质含量并可获得高蛋白种质。

(二) 进行品种改良

1989 年经对 R₄ 代已稳定的株系观察，从田间考评入选 16 个株系，又经室内考种决选 13 个品系参加了 1989—1990 年的产量比较试验，其中 89R₄ 早 125、89R₄ 早 171、89R₄ 早 197、89R₄ 早 273 四个品系表现增产，其特点是千粒重和对照冀麦 6 号接近，亩穗数略有提高，穗粒数增加 2.7—6.1 个，每亩多产小麦 58.7—122 公斤，增产 17.2—35.8%，二个品系早熟 3 天，是四个很有希望的品系，1990—1991 年继续进行产量等农艺性状鉴定，有可能成为用无性系变异的方法培育出高产、早熟的品种，应用于生产。

讨 论

我们在田间对(综抗矮 6 号 × 泰山 1 号)花培 H₁ 代，冀 5263、宝丰 7228、徐州 2111、冀早 15、Z124、冀 C₄102-5 七个材料的 15 个无性系后代进行了观察，其中宝丰 7228 的一个无性系后代(另文报道)和(综抗矮 6 号 × 泰山 1 号)花培 H₁ 代无性系后代发生变异，变异率占田间种植的 15 个无性系的 13.3%。

本试验结果表明，(综抗矮 6 号 × 泰山 1 号)F₁ 花培 H₁ 幼穗离体培养 13—7 管无性系获得的这株 R₀ 代种子，其 R₂、R₃ 代株高、抽穗期、单株成穗都呈现一个正态分布、连续性变异，并且变异频率具有一定的稳定性。因此，体细胞无性系后代性状的这一变异与稳定快的规律为体细胞无性系后代选育品种提供了早期预测选择的理论依据。

后代性状的变异其株高、抽穗期、单株穗数等性状在各世代出现的高峰区基本相同，遗传表现呈连续性变异，这些变异具有超亲现象，特别是蛋白质含量超亲显著。我们认为引起这一变异的遗传现象可能是幼穗无性系在继代过程中由于培养基中某种激素的作用使其休眠的某一基因苏醒重新发挥作用，从而导致无性系突变体变异的发生。

用花粉植株进行幼穗离体培养诱导的体细胞无性系具有稳定快的特点,这一结果比常规育种的 F_3 代稳定率高。即缩短了育种年限。其它体细胞无性系变异的后代性状的遗传规律是否与本试验结果相同,有待进一步研究证实。

参 考 文 献

- [1] 陈维伦等编著, 1987, 植物生物技术, 科学出版社, 136—147.
- [2] 邓定辉, 种子, 1988 (2), 5—7.
- [3] 赵成章等, 1982, 遗传学报, 9 (4), 320—324.
- [4] 胡含等, 1980 中国科学, (5), 485—491.
- [5] 梁竹青等, 1988, 作物学报, 14 (2), 137—142.
- [6] 郑企成等, 1989, 核农学报, 3 (3), 129—136.
- [7] 王 培等, 1986, 植物学报, 28 (1), 38—45.
- [8] 朱至清等, 1975, 中国科学, (5), 484—490.
- [9] 金善宝主编, 1986, 中国小麦品种志, 农业出版社, 北京.
- [10] Krishnamurthi, M., Proc. Isset, 1977, (16), 23—28.
- [11] Oono, K., Trop. Agric. Res. Series, 1978, (11), 109—123.

Application of Somaclonal Variation in Wheat Breeding

Wang Pei · Fan Guangnian · Fang Ren

(Cereal and Oil Crops Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences)

Sang Jianli · Wang Yuxiu · Zhu Zhiqing

(Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing 100044)

Abstract

An H_1 pure line obtained by anther culture of the F_1 of a winter wheat cross, Zongkangai No.6 / Taishan No.1, was used in immature inflorescence culture and the seed of the only successful R_0 plant was harvested. Studies on the progenies of this R_0 plant showed that in vitro culture could lead to high frequency of numerous kinds of somaclonal variation in different characters. For example, both the plant height and the heading date of the R_2 and R_3 progenies seemed to be continuous variation presenting a normal distribution. The stability of several characters investigated have already reached 84.85—100% in R_3 generation. From the stable lines, a batch of different height and high protein content materials have been selected, in which 4 lines yielded 17.2—35.8% more than the check, Jimai No.6, 2 lines were 3 days earlier and the 1000-kernel weight of 3 lines were 7.2—13.7 g more than the check.

Key words Winter wheat, Anther cultured pure line, Immature inflorescence culture, Somaclonal variation