

高粱体细胞无性系变异育种若干问题的探讨

王良群, 白志良, 刘勇, 杨伟, 侯丽萍, 武秀兰

(山西农科院高粱研究所, 晋中 030600)

摘要: 基于我们自己的研究实践和设想, 对高粱体细胞无性系变异育种的几个主要问题进行了分析讨论, 指出高粱体细胞无性系变异育种是一种比较实用和有效的育种技术, 进一步开展高粱体细胞人工诱变筛选育种具有很重要的意义。

关键词: 高粱; 体细胞无性系变异; 诱变; 品种改良

中图分类号: S514.035 **文献标识号:** A

Discussions on Utilization of Somaclonal Variants in Sorghum

Wang Liangqun, Bai Zhiliang, Liu Yong, Yang wei, Hou Liping, Wu xiulan

(Sorghum Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Jinzhong 030600)

Abstract: Based on our research experiences and tentative plans, utilization of somaclonal Variants in Sorghum were discussed. It was especially pointed out that sorghum somaclonal variants screening is an effective and practical breeding method, and more research on artificial variation induction and indoor variation screening should be done.

Key words: sorghum, somaclonal variants, variation induction, variety improvement

植物组织培养是一种用途广泛且比较成熟的基础性生物技术, 目前许多植物都可通过组培产生再生苗。大量的研究表明, 组培分化产生的再生苗极其后代并非完全一致, 而且具有一定的变异性^[1-5], 其频率有时可高达 20%, 甚至因物种和培养条件的变化会更高。显然, 这种变异源的存在给作物新品种选育提供了新的途径。所谓的无性系变异育种就是利用组培技术培养出再生苗, 再从其后代中进行有利变异个体选择的过程。

高粱组织培养研究最早报道于 20 世纪 60 年代, 其后也出现了不少有关单个外植体培养成功的报道, 但总体上讲, 20 世纪 90 年代以前以组培技术研究为主, 再生苗极其后代变异筛选及利用研究很少。多年来, 我们实验室在高粱体细胞克隆变异育种应用方面进行了大量的研究, 建立了一套体细胞培养技术体系, 创立了体细胞无性系后代田间选育方法, 筛选到了许多无性系变异材料, 并育成优良杂交种晋杂 18 号。本文结合我们的研究实践与设想就组培育种的意义、技

术特点和研究应用潜力等方面的问题进行探讨。

1 高粱组培育种开发应用的意义

随着社会发展, 人们对农业粮食生产提出了精细化和多样化的要求。强化粮食生产的关键在于提高作物品种水平, 而作物品种水平的提高有赖于作物育种技术手段的创新与利用。

长期以来, 以杂交育种为主的常规育种技术占据绝对的主导地位, 为粮食生产提供了许多优良的新品种。但是, 随着常规杂交育种技术的长期反复应用, 各种具有杂交亲和性物种间的基因重组交换得到了大规模开发应用, 除非远缘杂交技术取得进一步突破, 有效扩大可杂交范围, 否则利用常规杂交技术进行材料创新的潜力会越来越小。此外, 以杂交育种为主的育种技术的主要特点是它把不同亲本的全部遗传信息无选择一揽子全部重组在一起, 而实际上品种改良在许多情况下只需要控制少数有利性状的遗传物质, 这样大规模不加控制的遗传物质的集聚重组, 势必给性状稳定和选择带来困难。特别是由于大规模全套遗传物质的

第一作者简介: 王良群, 男, 1959 年出生, 山西闻喜人, 副研究员, 山西农业大学毕业, 农学学士, 主要从事高粱新技术育种工作, 获山西科技进步二等奖励成果两项, 育成审定品种一个, 发表论文 40 余篇。通信地址: 030600 山西晋中市 山西农科院高粱研究所。Tel: 0351-3963931, E-mail: wanglq2006@sohu.com。

收稿日期: 2008-04-21, **修回日期:** 2008-05-22。

交换重组,破坏原有许许多多形态学性状和生物学性状的原有搭配,即使选择到目标性状,但很可能丧失优良综合性状赖以形成的遗传基础。

由于高粱体细胞克隆产生的变异来源于自身部分遗传物质的有限变异,因此,它不破坏改良对象的主体遗传基础,比如某个材料综合性状优良,但具有个别不良性状,采用该方法对其进行改良,在选择到具有目标性状的同时,一般不破坏该材料主体遗传基础。因此建立有效的高粱体细胞克隆育种技术体系是非常有意义的,符合育种技术的发展趋势。

2 高粱组培育种技术的特点及有效性

多年的研究应用表明,高粱组培育种具有较高的实用性和有效性。首先,该方法简便易行,容易掌握,易于推广普及。经过国内外许多研究人员系统的研究总结,以出苗为目的的高粱组培技术已比较成熟,再生苗的分化产生已非常容易,需要的设备比较简单,投入也少。我们研究结果表明,高粱组培采用幼穗、幼胚、茎尖、和成熟胚都容易进行愈伤组织培养。其中幼穗和幼胚作为外植体很容易分化产生再生苗,分化率可达70%以上,并且不需专门生根培养可一次生根出苗,如果培养室自然透光好,甚至不用辅助照明,利用自然光照就能取得良好的分化效果^[2]。

其次,由于再生苗及其后代变异是依靠自身遗传基础的部分改变而不像杂交育种那样有大量的无选择的外源遗传物质导入,这就决定了该方法具有变异的遗传基础不复杂、变异量小后代分离温和、变异性状稳定快和育种周期短等特点。比如,多年来,我们选用晋梁5号、三尺三、忻七等多个恢复系为试验材料进行了组培育种研究,在田间建立了这些品种的大群体和多世代的无性系后代,结果表明,再生苗出现了许多变异,有些变异在R2代就表现稳定,不在分离,可以进行用于配制杂交种。与常规杂交种相比能提早2~3代趋于稳定,从而加快了育种进程,缩短了育种周期。

第三、由于变异的产生是自身遗传物质发生了变化的结果,所以有可能出现新的类型。比如我们在对进晋梁5号的再生苗后代筛选时,发现了一个变异系R111,该变异系除具有秆硬抗倒和配合力高以外,还特别具有对4个高粱丝黑穗病生理小种具有免疫和高抗等特点,这在中国高粱类型骨干恢复系中很少见,被有关专家称为最好的抗源材料之一,目前以R111为父本配制了优良杂交种晋杂18号,该品种具有秆低秆硬抗倒伏、高抗丝黑穗病、粒大容重高、丰产性好等突出特点。该品种已成为高粱中晚熟区种植的骨干品种,深受种植区群众的欢迎,

第四、尽管没有大量的外源物质导入,但无性系后代变异类型也很丰富。根据我们的观察,许多性状可发生变异这其中有株高、生育期、抗病性、穗型、穗形、子粒大小、粒色、株型、叶形等。这其中株高和生育期是最易发生变异的性状,由于利用该方法进行改良的材料一般都是综合性状较好而存在个别缺点的材料,所以,某些性状的改变就可显著提高材料的利用价值。如较高的材料降低株高,较晚的材料提早成熟,较散的穗型变紧,粒小的变大等都可显著提高其在育种上的利用价值。

3 组培育种的技术潜力及进一步完善可行性与必要性

组培育种可分为两个主要技术环节:室内组培与田间筛选,常规组培育种技术的两个环节的主要特征是:一是变异是在正常的组培过程中自然产生的,变异量相对有限。二是再生苗植株后代的筛选在田间进行,群体要求比较大,这与常规育种一样易受季节气候、土壤等外部环境的影响,在时空上很受影响。如果我们在第一环节培养阶段有意识的采用适当的方法进行人工诱变,则会提高变异频率,获得更多的变异材料,并且如果我们在培养阶段通过利用选择筛选剂或改变特定的培养条件,就能进行室内人工选种来代替田间受时空限制费时费力的选择程序。更重要的是能使你进行一些在田间无法进行的性状选择,这说明该方法具有很大的完善提高余地,技术开发应用潜力很大。

3.1 人工诱导变异

所谓的人工诱导变异产生就是指在组培过程中采用物理、化学或转基因的方法来诱导或改变生物体的遗传基础致使出现更多的变异性状。目前包括过内外许多学者在这方面做了不少工作,取得了一定的进展。人工诱导变异一般概括起来可归结为物理诱变、化学诱变和转基因诱变。

物理诱变所用的诱变因素主要指各种物理辐射,比如X-射线、(r-)射线、中子和紫外线,采用物理辐照诱变即可处理培养所选用的外植体,也可处理愈伤组织,而一般较多的用于外植体。Co⁶⁰是一种常用的r-射线源,我们曾用Co⁶⁰辐射处理了高粱愈伤组织和幼穗,结果发现外植体对辐射更敏感,辐射剂量高于0.5kR时会产生大量色素出愈率很低,而辐射愈伤组织的剂量则为3kR,剂量过低,虽然分化率高,但诱变效果差,剂量过大则严重影响分化率,培养得不到足量的再生苗。根据我们的观察辐射的诱变效果非常明显,在室内再生苗分化培养阶段就可发现很多畸形苗。

化学诱变所用的诱变剂有多种,如甲基磺酸乙酯

(EMS)、硫酸二乙酯(DES)、秋水仙素和叠氮化钠等,这些都是接触性试剂,基本原理就是与生物体接触后在引起遗传物质DNA的变化,它不像物理辐射那样作用时间短,几乎瞬间完成,而是有迟效作用,诱导频率通常比较高。化学诱变剂一般用于处理愈伤组织。

转基因诱变:转基因技术的研究应用对动植物育种具有十分重大的意义,也是过内外学者重点研究的领域。转基因的方法有多种,但客观地说目前各种方法还不十分成熟,转基因技术的日常化应用仍有较大难度。在各种转基因的方法中,利用组培技术作为研究平台是很重要的一种,其前景看好。由于它也是利用组培过程,并且从事组培育种的实验室,只要有合适的重组好的基因来源,都会自然开展这方面研究,所以笔者也把它和物理化学诱变方法相提并论。目前以组培为平台进行转基因研究有基因枪法、农杆菌法等多种方法。

3.2 室内筛选变异

高粱无性系变异室内人工筛选是一个有重要研究价值的育种筛选技术。但是,目前研究开发的力度相对较小。有效的室内人工筛选技术意味着:其一、对有些性状的选择可以代替田间筛选从而打破时空限制,克服了易受外部环境的影响,只能一年一次的缺点,能进行工厂化室内重复筛选。其二、可以开展那些无法或很难在田间进行筛选的性状,比如许多抗逆性选择。

室内无性系筛选研究的关键是寻找到合适的筛选

剂同时要有合适的使用方法。目前已发现的筛选剂有多种,如除草剂、毒素、PEG等,可直接应用于特定的抗性或耐性的突变体的筛选。一般的使用方法是,能进行高温高压灭菌而不失效的筛选剂按一定的剂量添加到培养基中,然后接种进行筛选。不能高温高压灭菌的筛选剂则进行过滤灭菌,然后可进行对培养物的筛选培养。几年来,我们在高粱体细胞室内筛选方面开展了初步研究,通过对除草剂(百草枯和草甘膦等)和有机磷农药(辛硫磷等)的筛选研究,发现同一品种同一外植体的培养物对筛选剂的敏感性不一样,说明不同的愈伤组织块对特定的筛选剂的抗性或耐性存在明显的差异,进行室内筛选选择是可行的,加强在这方面研究探索是很有意义的^[4]。

参考文献

- [1] 马鸿图,Liang GA.高粱幼胚培养及再生植株变异研究.遗传学报,1985,(5):350-357.
- [2] 白志良,王良群.高粱不同外植体离体培养.华北农学报,1995,(1):60-63.
- [3] 王呈祥,王良群.高粱组培无性变异系 R111 的选育.华北农学报,1997,(2):49-53.
- [4] 王良群,王呈祥.高粱离体培养物主要特征特性的研究分析.山西农业科学,2005,(2):26-27.
- [5] Waskom RM, Miller DR, Hanning GE, et al. Field evaluation of tissue culture derived sorghum for increased tolerance to acid soils and drought stress. Can J Plant sci, 1990, 70: 997-1004.