

## 利用植物体细胞无性系变异技术选育高粱恢复系“011”的研究

林 凤 王学英

(沈阳农业大学生命科学技术学院 沈阳 110161)

石太渊

周邵东

(辽宁省农业科学院 沈阳 110161) (沈阳农业大学成人教育学院 沈阳 110161)

**摘 要** 试验研究以高粱恢复系“0-30”幼穗作外植体,用 $10\text{Gy}^{60}\text{Co}$ 辐照处理,离体培养得到89株再生苗( $R_0$ )。 $R_1$ 代株系27.9%出现7种可见性状的变异,从第2代( $R_1$ )中筛选出稳定或分离的优良变异株,经多代选择最终选育出高粱恢复系“011”,用其配制的杂交种“7050A/011”产量高且抗病性强。

**关键词** 体细胞无性系变异 高粱 恢复系

A restorer line ‘011’ for hybrid sorghum production developed by using somaclonal variation technique. LIN Feng, WANG Xue-Ying (College of Bioscience and Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China), SHI Tai-Yuan (Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110161, China), ZHOU Shao-Dong (Adult Education College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China), *CJEA*, 2006, 14(2): 37 ~ 39

**Abstract** The young inflorescences collected from ‘0-30’, the male parent of ‘Shenza 5’, were exposed to  $^{60}\text{Co}$  rays at a dose of  $10\text{Gy}$ , then in-vitro cultured on MS media. A total of 89  $R_0$  regenerants were obtained. Solid and segregating somaclonal variations in seven kinds of visual traits were seen in  $R_1$  generation with a variation frequency of 27.9%. Elite variants were isolated from the  $R_1$  solid and segregating population and crossed to sorghum male sterile lines. A somaclonal restorer called ‘011’ were selected out. The hybrid combination ‘7050A/011’ was featured by its high production and high antifungal.

**Key words** Somaclonal variation, Sorghum, Restorer line

(Received Nov. 20, 2004; revised Dec. 31, 2004)

植物体细胞无性系变异是指植物细胞经组织培养产生的遗传变异<sup>[7]</sup>,目前国内外利用体细胞无性系变异技术改良农作物品种已见诸报道<sup>[1~5,8,9]</sup>。笔者在高粱育种研究中发现近年辽宁省和河北省东部地区主栽品种“沈杂5号”(TX622A/0-30)叶病和丝黑穗病发生愈发严重,迫切需要提高其抗病性。本试验研究利用植物体细胞无性系变异技术,选育出抗病、优质高粱恢复系“011”及配制出优良杂交种“7050A/011”,为提高作物产量寻求有效途径。

### 1 试验材料与方法

供试高粱恢复系“0-30”由辽宁省农业科学院高粱研究所提供。取长约1~3cm高粱幼穗用 $10\text{Gy}^{60}\text{Co}$ 照射处理,再经表面灭菌后切成约3mm片段接种于MS培养基上诱导愈伤组织。愈伤组织诱导、分化、生根等具体操作程序见文献[3]。再生植株当代( $R_0$ )自交授粉,按株系收集种子。第2代( $R_1$ )、第3代( $R_2$ )分株系小区栽种,每隔8行种2行对照(“0-30”)。从第2代( $R_1$ )中筛选稳定或分离的优良变异株若干与不育系“7050A”测交,用以鉴定 $F_1$ 代杂种育性恢复程度及杂种优势大小,以选出恢复力强、杂种优势大且具抗病能力的优良恢复系,供第3代( $R_2$ )及以后各代继续观察、选择,选择鉴定及收获方法同常规育种法。丝黑穗病鉴定使用头年采收好的成熟菌种,播前6d左右筛土,按0.6%比例拌匀菌土,并覆盖塑料膜保持一定湿度令菌种萌发。比正常播种期提前7d左右(10cm耕层地温保持在 $10^\circ\text{C}$ 以上)穴播,每穴6~7粒种子,其上覆盖100g菌土后再覆土5cm左右。田间管理同常规,出穗后调查总株数、发病株数,并计算发病率,确定植株抗病性。

## 2 结果与分析

### 2.1 R<sub>0</sub> 代无性株系表现与 R<sub>1</sub> 代无性株系的变异

R<sub>0</sub> 代共得再生苗 89 株, 与其亲本“0-30”相比 R<sub>0</sub> 代无性株系若干重要农艺性状和形态均有明显差异(见表 1), 株高平均降低 30% 左右, 穗长、穗粒重和千粒重等约下降 20%, 植株分蘖明显增加, 而对照恢复系“0-30”一般情况下无分蘖, 但它的无性株有 2~6 个分蘖; 其芽、茎、叶形态及其色泽也发生变化, 其中有些属于畸形变异如茎形、穗形、叶形畸变现象, 但植株结实率未受影响, 说明辐照剂量适宜。

表 1 R<sub>0</sub> 株与恢复系“0-30”主要农艺性状比较

Tab.1 Comparison of the major traits between R<sub>0</sub> regenerants and its parent ‘0-30’

性状 Traits	R <sub>0</sub> 株平均值与变幅 Mean value and value range of R <sub>0</sub> plants	对照平均值与变幅 Mean value and value range of CK plants
株高 / cm	96.2(73.2~125.4)	136.3(130.4~141.1)
单株分蘖数/个	3.4(2~6)	0
穗长 / cm	19.8(12.3~25.6)	24.6(21.6~27.4)
千粒重 / g	25.5(21.8~28.4)	31.3(28.3~33.2)
结实率 / %	92.9(76.5~94.2)	93.6(90.7~95.2)

本试验的 89 个 R<sub>1</sub> 株系中有 25 个株系某一性状出现稳定变异或分离变异(见表 2), 按株系不重复计算变异率, 有 27.9% 株系出现 7 种可见性状的变异, 其中早熟变异最多, 其株系变异率达 12.4%, 其他矮秆、千粒重增加、穗型变大、粒色和结实率等变异的株系变异率亦均 > 1%, 表明诱变处理与体细胞组织培养技术相结合能大大提高某些性状的变异频率, 这与其他作物相关研究报道的结果相同<sup>[1,2,5]</sup>, 而 25 个变异株系中分离变异的株系约占总株系的 22.5%, 稳定变异的株

系则仅占 5.6%。R<sub>1</sub> 植株的 7 种可见变异性状中有抽穗提早、千粒重增加、粒色 3 种性状出现稳定变异, 有 4 种出现分离变异。抽穗最早的可比对照提前 13d, 延迟抽穗的可推迟 15d; 矮秆变异中一般矮秆株比对照低 15cm 以上; 穗型增大变异株穗长可达 30cm, 而对照仅为 23.5cm; 千粒重增加的变异株系其千粒重高达 32.2g, 比对照增重 11.5%; 结实率偏低的变异株多属半育株, 其结实率为 42%~65%, 仅为对照结实率的 50%~66.7%。上述各株变异中早熟、株高适度降低、千粒重增大和穗型变大等变异较具实用价值。

### 2.2 恢复系“011”农艺性状与 7050A/011 主要特征及产量表现

R<sub>0</sub> 代植株农艺性状和形态变异率很高, 但多数变异为非遗传的, 可能是因愈伤组织诱导、分化、生根等一系列过程而造成细胞结构、细胞内含物及细胞生理代谢过程异常<sup>[4]</sup>, 并会在 R<sub>1-2</sub> 代中消失。因此一般不对 R<sub>0</sub> 代植株作任何选择。从 R<sub>1</sub> 代的 89 个株系中选出单株产量、株型、穗型、成熟期等方面优于对照的变异单株共 31 株, 并从中筛选 8 个穗大、抗病优良变异株与不育系“7050A”测交。测交所得杂交种具较强的杂种优势, 以后经 R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub> 及以后各代连续不断筛选, 最终选育出 1 个恢复力强、杂种优势大且具抗病能力的优良恢复系“011”, 该恢复系生育期比“0-30”提前 6d, 株高下降 8cm, 穗长和穗粒重均较“0-30”有所增加, 且对叶斑病及丝黑穗病 3 号小种表现为免疫。

恢复系“011”与不育系“7050A”测配的杂交种“7050A/011”苗期芽鞘绿色, 幼苗浓绿, 长势较强且分蘖多, 根系发达, 花药黄色、花粉量大, 颖壳紫红色, 籽粒白色近圆形, 紧穗, 长纺锤型; 叶片数为 20~22 片, 株高 184cm, 穗长 32.2cm, 籽粒整齐, 穗粒重 83g, 千粒重 26.1g, 生育期为 132d, 属晚熟杂交种, 高抗叶部病害, 持绿性强, 秸秆成熟, 耐盐碱、抗旱抗涝、抗倒伏, 对丝黑穗病 3 号小种表现为免疫。该组合 2002 年顺利通过全国高粱区域试验, 在全国区域试验中平均产量为 8145.5kg/hm<sup>2</sup>, 比对照(“锦杂 93 号”)平均增产 11.9%。

本试验仅调查 R<sub>1</sub> 代群体 7 种性状的变异, 并分析这些性状变异是否在同一株系中稳定遗传或分离, 同一株内不重复计算变异数, 若早熟变异株中出现矮秆和大粒则只将其中 1 种早熟变异性状列入表 2。

表 2 “0-30”R<sub>1</sub> 代体细胞无性系的变异

Tab.2 Somaclonal variations in some agronomic traits of R<sub>1</sub> sorghum plants(‘0-30’)

变异性状 Varied traits	稳定变异的株系数/个 No. of lines with solid variation	分离变异的株系数/个 No. of lines with segrega- ting variation	变异株系率/% Freq. of variant lines
成熟早 7d 以上	2	9	12.4
成熟晚 7d 以上	1	5	6.7
矮秆	-	1	1.1
穗型变大	-	2	2.2
千粒重增加	1	1	2.2
结实率降低	-	2	2.2
粒色	1	-	1.1
合计	5	20	27.9

近年来该杂交种在辽宁、河北省等地累计推广示范面积已近1.3万 $\text{hm}^2$ ,一般平均产量为11250 $\text{kg}/\text{hm}^2$ ,最高产量可达14850 $\text{kg}/\text{hm}^2$ ,2004年报送辽宁省品种审定委员会审定。

### 3 小结与讨论

无性系变异常出现1个或少数基因的突变,可保证在不改变品种基本特征情况下改进个别性状,如降低株高、提高抗病性等<sup>[4]</sup>,这是杂交育种或诱变育种所无法比拟的。但无性系变异的缺点是变异频率低,一般为10%~20%甚至更低<sup>[6,7]</sup>。本试验将体细胞无性系变异技术与诱变技术、常规育种技术相结合,使无性系后代材料变异率>45%,并从这些变异材料中选育出优质恢复系“011”,由恢复系“011”与不育系“7050A”测配的杂交种“7050A/011”产量高且抗病性强,故体细胞无性系变异技术与诱导技术相结合可在高粱育种工作中发挥巨大作用。

### 参 考 文 献

- 1 高明尉,童海军,舒庆尧等.利用植物体细胞无性系变异技术育成三系杂交水稻恢复系371.农业生物技术学报,1999,7(2):123~127
- 2 黄剑华.大麦细胞工程育种研究的一些进展.上海农业学报,1998,14(4):92~96
- 3 韩福光,张颖.高粱不同外植体愈伤组织诱导的研究.辽宁农业科学,1993(1):45~48
- 4 刘选明,杨远柱,陈彩艳等.利用体细胞无性系变异筛选水稻光温敏核不育系株1S矮秆突变体.中国水稻科学,2002,16(4):321~325
- 5 母秋华,原亚萍,王金余等.大豆体细胞无性系(Clone)的变异与优良品系筛选.大豆科学,1998,17(3):242~247
- 6 朱至清.植物体细胞无性系变异与育种.植物学报,1991,8(增刊):1~8
- 7 Davoyan E. I. Occurrence of mutant in rice tissue culture and acquirement of new original materials. Agronomy Abroad: Rice, 1985, 2: 32
- 8 Evens D. A., Sharp W. R. Single gene mutation in tomato plants regenerated from tissue culture. Sci, 1983, 223: 949~951
- 9 Vasil V., Vasil I. K. Somatic embryogenesis and plant regeneration from tissue cultures of *pennisetum americanum* and *P. purpureum* hybrid. Amer. Jour. Bot., 1981, 68: 864~872