

Tal 小麦花药培养出愈和分化的研究*

达龙珠

刘毓侠

薛国典

(河南省农科院小麦研究所, 郑州 450002) (河南省农科院情报所) (内乡县农科所, 河南省内乡县)

摘 要 采用 Tal 小麦轮回选择集团 4 个不同世代的可育株和 Tal、矮败小麦多父本复合杂交 3 个世代的可育株, 分别进行花药培养。结果表明: 1. Tal 小麦高世代具有较高的出愈率和绿苗分化率, 但与常规品种间杂交一样, 出愈率和绿苗分化率有随世代提高而降低的趋势。2. 不同交配方式花培效果有明显差异, 其中以轮选群体的出愈率最高, 其次是多父本复合杂交后代; 回交转育稳定的 Tal 小麦的单交出愈率最低。3. 基因型对出愈率、绿苗分化率有明显的影响。

关键词 Tal 小麦 可育株 花药培养

Tal 小麦是世界上首次发现的显性雄性不育材料, 它的研究和应用, 改变了小麦常规育种一直沿用的人工去雄一次杂交、多代自交选择的有限杂交方式, 提出了无限杂交的概念。尤其用于轮回选择和基因库的建拓优点更为突出, 它有利于广泛、不断地基因重组, 创造丰富的遗传基础和复杂的遗传背景材料, 也是花药培养极好的材料。然而, 目前国内外有关将花培技术应用到 Tal 小麦研究中的报道尚少。为了探索加速小麦新品种选育的有效途径, 我们自 1991 年开始将花药培养技术应用于 Tal 小麦的后代处理, 取得了较满意的效果。现将初步结果简报于后。

1 材料和方法

自 1981 年开始对携有 Tal 基因的材料, 按育种目标进行逐年不断地成对杂交, 并采用生产上大面积推广品种和抗病亲本进行回交转育, 以此为基础材料组成轮选群体, 对后代分离出的优良可育株按常规方法选拔升级。花药培养材料包括: ①抗白粉轮回选择群体入选的 Tal F_3 , Tal F_5 , Tal F_6 优良可育株; 丰抗群体入选的 Tal F_2 优良可育株; ②以 Tal、矮败小麦为基础材料经多父本复合杂交入选的 Tal F_1 、Tal F_2 、Tal F_3 代可育株; ③以转育稳定的 Tal 百农 3217 为母本的单交 Tal F_1 , Tal F_2 可育株(表 1、表 2)

1991 和 1994 年分别从各世代中选择表现优异的可育株, 于孕穗期取其单核中晚期的花药, 在无菌条件下接种于 C17+2, 4-D2mg/L+KT 0.5mg/L+蔗糖 9%+琼脂 7g/L(pH5.8) 的培养基上, 然后放在 28℃ 无光照的培养室内培养。待诱导出愈伤组织后计块并转入分化培

表 1 组配两个轮选集团的主干亲本名称

集 团	亲 本 名 称
抗白粉群	Axmin 8 cc * pml, Ulka * 8ccpm2, marisDOVepm2, Asosa * 8 ccpm3a, Chul * 8 ccpm3b, khaplipm4, Sonor * 8ccpm3c. Hope * 8ccpm5, TP114Pm2Pm6, CI12633Pm2Pm6, 丰抗 8 号, 宁 8201, 宁 8331, 85037, 85050, 85060, 钢 84-346, 钢 84-347, 郑州 831 等
丰抗群	南阳 756, 内乡 18, 82200-5, 内乡 82C6, KVZ-Ti1l/maya74“S”/Bb-Inla, 郑州 831, 宁 7840, 中 8325, 郑州 79350, Veery, 西植 83550-3-1, 安扎, HD2204, 湖北 881

表 2 提供花药培养的 Tal 小麦组合

组合代号	世代	组 合
Tal9351	F ₁	矮败百农 3217 ^{4*} /百农 3217
Tal9227	F ₂	矮败百农 3217 ⁴ /郑州 8329
Tal9228	F ₂	矮败百农 3217/烟 1604
Tal9358(2)	F ₁	矮败/郑州 85141//西安特大穗/3/豫麦 2 号/4/豫麦 29
Tal9357(1)	F ₁	矮败/冀 5418//冀 5418/3/豫麦 13/4/豫麦 13
Tal9210(3)-1	F ₂	矮败/郑州 85141//西安特大穗/3/豫麦 29
Tal9210(2)-1	F ₂	矮败/冀 5418//冀 5418/3/豫麦 29
Tal9212(5)-2	F ₂	矮败/冀 5418//郑州 8444/3/豫麦 13
Tal9213(3)-1	F ₂	矮败/郑州 831//豫麦 13/3/豫麦 13
Tal9236(2)-1	F ₂	Tal9126/7152//7152/3/7152/4/8586-206/5/百农 3217/6/冀 5418/7/豫麦 13/8/豫麦 13/9/Tal8614/10/豫麦 29
Tal9234(2)	F ₂	Tal9118/77(2)-1-7-5//百农 3217/3/郑州 831/4/绵阳 87-5/5/小花农场 542/6/冀 5418/7/85 中 36/8/豫麦 13/9/贵农 10 号/10/豫 29
Tal8901(12)-1	F ₂	Tal8805(24)/77(2)-1-7-5//百农 3217/3/百农 3217/4/80(4) 055/5/114427/6/ZS81044/7/冀 5418/8/冀 5418
Tal9151(1)-1-1	F ₃	矮败/贵农 10 号//豫麦 13
Tal8811(2)	F ₃	Tal8705(1)/77(2)-1-7-5//百农 3217/3/百农 3217/4/绵阳 81-5/5/30640-3-1/6/冀 5418/7/郑州 8494

* 回交代数

培养基。分化培养基成份为 MS(大量元素减半)+KT 1mg/L+NAA0.5mg/L+REA+糖 8%+多效唑 3mg/L;在 22 C,光照 10~12h/日条件下分化绿苗,将分化出的绿苗放入 5~6℃冰箱中越冬。

2 结果与分析

2.1 轮回选择集团中可育株花药培养的世代表现

用两个轮选集团四个世代的可育株共接种 9000 个花药,平均出愈率 9.44%,绿苗分化率平均为 19.32%,均较品种间杂交 F₁ 的平均出愈率(5.9%)和绿苗分化率(19%)高(表 3)。各世代平均出愈率分别是: Tal F₂ 为 16.8%, Tal F₃ 为 4.19%, Tal F₅ 为 7.41%, Tal F₆ 为 5.16%,出愈率有随世代提高而降低的趋势。 Tal F₂~F₆ 四个世代的绿苗分化率依次为 14.76%,25.16%,18.18%,16.66%(表 3)。高世代具有如此高的出愈率是已有小麦花药培养的报道中少见的。以往的研究表明^[1,2],小麦花药培养の出愈率和绿苗分化率的高低主要与品种的基因型、外植体的生理状态、培养基的成份及培养条件有关。出愈率与绿苗分化率存在着

明显的杂种优势, 且与供试材料的遗传基础是否丰富和异质结合的程度有密切的关系, 材料愈纯, 出愈率愈低。值得注意的是, 通过两年 195 个常规 F_1 花药培养的结果, 出愈率低于 Tal F_2 , Tal F_5 , 略高于 Tal F_3 , Tal F_6 , 这是在取样标准和培养条件一致的情况下进行的, 只是基因型和组配方式不同, 前者是多个基因型简单杂交, 后者是多父本同时互交。这从理论上解释了轮选集团高世代仍具较高出愈率的原因。

表 3 轮选集团可育株与品种间杂交 F_1 花药培养结果比较

组合号	世代	接种花药 (个)	转愈伤 (块)	总愈伤 (块)	绿苗 (丛)	出愈率 (%)	绿苗分化率 (%)
ARG-43	丰抗群 F_2	855	191	231	26	27.0	14.86
ARG-61	丰抗群 F_2	3060	117	133	13	4.3	11.5
ARG-27	丰抗群 F_2	900	159	172	26	19.1	17.93
	$F_2\bar{x}$					16.8	14.76
丰 Tal1717	抗白粉群 F_3	720	35	64	3	8.89	8.82
丰 Tal92107	抗白粉群 F_3	1035	5	15	0	1.45	0
丰 Tal1719	抗白粉群 F_3	630	3	14	2	2.22	66.67
	$F_3\bar{x}$					4.19	25.16
丰 Tal93201	抗白粉群 F_5	675	44	50	8	7.41	18.18
丰 Tal2328	抗白粉群 F_6	1125	37	58	6	5.16	16.66
	Tal $F_2\sim F_6\sum x$	9000					
	\bar{x}					9.44	19.32
常规组合*	F_1					5.9	19.0

注: 1991、1992 年共 195 个组合的平均。

2.2 Tal、矮败小麦可育株花药培养的世代表现

矮败小麦是 Tal 小麦与带有显性矮秆标记基因结合的核不育材料, 克服了花药处在单核中晚期的 Tal 小麦的不育株与可育株在田间不易辩别的弊病。1994 年我们用 Tal、矮败小麦的多父本复合杂交 Tal F_1 , Tal F_2 , Tal F_3 三个世代可育株进行花药培养, 共接种 13 475 个花药。Tal F_1 平均出愈率为 19.01%, Tal F_2 为 10.15%, F_3 为 2.8%(表 4), 表明 Tal 小麦可育株的不同世代的出愈率有差异, 且出愈率也有随世代提高而降低的趋势。而三个世代的绿苗分化率均较高。

2.3 交配方式与基因型对 Tal 小麦可育株花培效果的影响

不同交配方式、不同遗传背景的 Tal 小麦可育株, 其花药培养的结果明显不同。从表 3、表 4 看出, 不同交配方式其出愈率有差异, 以 F_2 为例, Tal 轮选集团 F_2 出愈率最高为 16.8%(表 2), 其次为复合杂交, 平均出愈率为 10.15%(表 4), 成对简单杂交最低为 2.68%(表 4)。同一杂交方式, 不同遗传背景材料对花药培养的反应也明显不同, F_1 Tal9358(2) 出愈率为 35.1%, Tal 9357 出愈率为 2.92%; F_2 Tal9210(2)-1 出愈率最高为 41.67%, Tal9212(5)-1 出愈率最低为 0.6%, 说明 Tal 小麦不同基因型对花药离体培养的反应是有明显差异的。

表 4 Tal、矮败小麦花药培养的世代表现

组合号	交配 方式	世代	花药数 (个)	转愈伤 (块)	总愈伤 (块)	绿苗 (丛)	出愈率 (%)	绿苗分化 率(%)
Tal9358(2)	复交	F ₁	840	121	295	15	35.1	12.4
Tal9357(1)	复交	F ₁	720	8	21	1	2.92	12.5
	\bar{x}	F ₁	—	—	—	—	19.01	12.45
Tal9210(3)-1	复交	F ₂	1080	12	40	0	3.7	0
Tal9210(2)-1	复交	F ₂	360	47	150	14	41.67	29.79
Tal9212(3)-1	复交	F ₂	800	1	5	0	0.6	0
Tal9212(3)-1	复交	F ₂	1080	31	62	13	5.7	41.9
Tal9236(2)-1	复交	F ₂	960	33	71	5	7.3	15.15
Tal9234(2)-1	复交	F ₂	1520	16	56	0	3.65	0
Tal8901	复交	F ₂	3195	192	267	23	8.4	12.64
	\bar{x}	F ₂	—	—	—	—	10.15	14.21
Tal9151(1)-1-1	三交	F ₃	1480	6	14	3	0.9	50.00
Tal8811(2)	复交	F ₃	1440	67	68	17	4.7	27.87
	\bar{x}	F ₃	—	—	...	-	2.8	38.94
Tal9351	单交	F ₁	760	10	22	0	2.89	0
Tal9227	单交	F ₂	3280	45	133	2	4.1	4.4
Tal9228	单交	F ₂	720	4	9	0	1.25	0
	\bar{x}	F ₂	—	—	—	—	2.68	2.2

3 讨论

显性雄性核不育基因在自花授粉作物中有多种利用途径,其中以轮回选择育种与建拓基因库最为突出。轮选法和基因库建拓可以持久地保持一个大的杂合群体,通过开放授粉,基因重组,基因累加,可以获得极其丰富的遗传变异,其中一些遗传基础丰富、变异类型多样、表现优异的可育株会逐代分离出来,但需要较长时间的自交,分离,选择,稳定的过程,采用花药培养是当前育种过程中使其早日稳定的最好途径。

花药培养通常是以常规去雄杂交获得组合,接种花药费工费时,限制了接种组合的数量。利用 Tal 小麦尤其是矮败小麦,可以扩大杂交组合的数量,提高工作效率。研究表明,无论采用轮回选择或是多父本复合杂交,从不育株中分离出的可育株可以通过花药培养的方法稳定下来,这种材料对花药培养的出愈率、绿苗分化率无不良影响,相反其出愈率、绿苗分化率均高于常规品种间杂交,结果也表现出杂种 F₁ 出愈率最高;F₂ 代次之;F₃、F₅ 较低的趋势,这为进一步利用花药培养,加速稳定 Tal 小麦后代提供了可靠的保证。

利用花药培养技术,不仅能加快杂种后代的稳定,而且轮选集团或复合杂交后代丰富的遗传变异,甚至一些隐性性状,通过花粉植株得以表达,其次由于花培育种不受或少受显性基因的干扰,有利于对稳性基因控制的优良性状的选择和不良性状的淘汰,从而提高了选择效率。由于 Tal 小麦高世代仍具有较高的出愈率和绿苗分化率,有利于通过 F₂、F₃ 甚至 F₄、F₅ 单株选择后,再针对性接种优良株系,从而提高花培的预见性。

综上所述,若能将 Tal 小麦的育种新技术与花药培养结合起来,必将为小麦新品种的选育

开辟一条多快好省的新途径。

参 考 文 献

- 1 颜昌敬. 农作物组织培养. 上海: 上海科学技术出版社, 1991
- 2 黄承彦, 颜廷进, 张存良等. 不同世代小麦花药培养的遗传效应. 作物学报, 1991, 17(4): 304~309
- 3 沈锦华, 李梅芳, 陈银全等. 花药培养在水稻品种改良上的应用. 中国农业科学, 1982(2): 15~19
- 4 赵瑞堂, 朱惠梅, 毕艳娟. 影响小麦花药培养诱导率及绿苗分化率的几个因素. 遗传, 1984, 6(1): 23~25

A Study on Callus Induction and Differentiation in Tal Wheat Anther Culture

Da Longzhu

(Wheat Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou)

Liu Yuxia

(Scientific and Technical Information Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou)

Xue Guodian

(Neixiang Institute of Agricultural Sciences, Heixiang County, Henan Province)

Abstract The anthers of fertile plants from 4 generations of Tal wheat by recurrent bulk selection and that from 3 generations of abortive short-straw Tal wheat by multiple hybridization with multi-parents were cultured respectively in 1991 and 1994. Results showed that: 1. the high generation of Tal wheat had higher frequency of callus induction and green-seedling differentiation, same as the conventional hybrids between cultivars, their callus induction and green-seedling differentiation frequencies trended to decline with the increase of generations; 2. there was a significant difference of anther culture effect in different cross modes, in which the highest callus induction occurred in population by recurrent selection, the second in progeny of multiple hybridization with multi-parents and the lowest in single cross of Tal wheat with stable characters in backcross; 3. the genotype had obvious effect on the frequencies of callus induction and green-seedling differentiation.

Key words: Tal wheat; Fertile plant; Anther culture