

冬小麦花药愈伤组织无性系 R₂ 的变异

王 培 陈玉蓉 王 峰 何 萍

(河北省农林科学院粮油作物研究所, 石家庄 050031)

摘 要 从一株冬小麦 H₁ 花粉试管苗基部, 取未分化绿苗的胚性愈伤组织建立细胞无性系, 从中获得 4 丛 R₁ 结实株系, 对其 R₂ 进行田间观察, 发现其中一株发生了变异, R₂ 的株系变异率为 25.00%。该变异株系 R₂ 的 86 个单株的变异情况统计结果显示, 在 3 个主要农艺性状中, 株高变异率最高, 为 67.44%, 其次是千粒重, 为 50.00%, 单株穗数居第三位, 为 47.67%。其它性状如种子蛋白质含量, 粒色, 粒形, 穗形均发生变异, 且幅度大, 频率高, 不仅株系内存在变异, 穗系内也存在变异。在调查的性状中只有芒性未发生变异。

关键词 冬小麦 花药愈伤组织 无性系变异

国内外研究都已证实, 体细胞无性系可以诱导植物性状的变异^[1,2,8~12]。对这些变异的研究中, 所用外植体均来源于生产应用品种。我们曾用花培 H₁ 幼穗无性系, 观察到农艺性状和蛋白质含量的变异^[3], 这说明来源于纯系的体细胞的确发生了变异, 花培育种可以缩短育种世代, 提高选择效果^[4,5]。我国不少学者对花药单倍体育种进行了研究, 但迄今为止尚无见到关于花培和无性系变异结合研究的报道。本工作以 H₁ 冬小麦花培试管绿苗基部的胚性愈伤组织为材料, 对其无性系进行研究, 以期从中发现农艺性状的变异。

1 材料和方法

1.1 材料

以一株冬小麦 H₁ 花粉试管苗(编号 90—2431)基部未分化绿苗的胚性愈伤组织为起始材料。单倍体 90—2431 是石 5144 新品种花粉植株中的一株。由于愈伤组织来自花粉单倍体植株基部, 这就从根本上排除了因供体植株遗传上可能不纯而引起的干扰。

1.2 组织培养

将发育到单核中晚期的石 5144 小麦的花药接种到 C₁₇^[6]培养基上诱导出愈伤组织。待愈伤组织的愈龄达到 10d 左右时, 将其转移到分化培养基上诱导出绿苗。当绿苗长到 2~3cm 时, 将绿苗基部存活的新鲜胚性愈伤组织和绿苗分开, 再将分离出来的胚性愈伤组织转入含有 2,4-D 的 C₁₇培养基上。每 25d 左右挑选新鲜胚性愈伤组织继代一次。培养 3~4 代后, 转入分化培养基上诱导出绿苗, 于 11 月下旬栽入田间塑料棚中, 次年 5 月下旬有 4 株结实, 成熟后, 按株、穗收获考种。

1.3 无性系的田间种植

试验地土壤为壤土, 水肥条件良好。试材种植: 行长 2m, 行距 40cm, 株距 10cm。对再生植株 R₁、R₂ 的形态和农艺性状观察记载和考种均以株为单位。R₁ 按穗收获种子, R₂ 按株收获种

子。

1.4 种子蛋白质含量分析

在 R₂ 收获后,选取来源于 90—2431 试管苗的种子量较大的 24 个单株,用凯氏法^[7]测定蛋白质含量。

2 结果与分析

选用冬小麦花粉试管苗(90—2431)H₁ 一株基部未分化绿苗的胚性愈伤组织为起始培养材料。该试管苗是石 5144 新品种的花粉植株中的一株。从经 3~4 次继代的花粉愈伤组织细胞无性系 R₁ 获得 4 丛结实植株,对 R₂ 的田间观察发现,其中一株发生了变异,R₂ 的株系变异率为 25%。对这个变异株系 R₂ 的 86 个单株进行了考种。现将调查统计的几个主要性状分述如下。

2.1 R₂ 株系内农艺性状的变异

2.1.1 株高 R₁ 该株系的株高为 72cm,由这个株系衍生出来的 R₂ 共种植 5 个穗,每穗种 1 行,每行 20 株,收获考种 86 株,从图中可以看出,R₂ 的 86 个株系的株高分布在 40.0~95.0cm 之间,平均为 71.2cm。76~80cm 的植株最多,其频率为 20.9%,其他株高分布频率依次为 66~70cm,17.4%;81~85cm,12.8%;71~75cm,11.6%;61~65cm,10.5%;56~60cm,9.3%;86~90cm,5.8%;46~50cm,4.7%;51~55cm,3.5%;41~45cm,2.3%;91~95cm,1.2%。经统计 R₂ 86 个株系的株高标准差(S)和变异系数(CV)都显著大于对照(表 1)。表 1 还表明,花药愈伤组织经多次继代后获得的无性系 R₂ 的株高为 40~95cm,变异类型多,幅度大,是选择不同植株高度的世代。继代花药愈伤组织 90—2431 无性系一株 R₁ 衍生出 86 个 R₂ 无性系株,对其株高的变异方向作了如下分析:将同一生长环境条件下的原亲本石 5144 小麦株高的分布范围(67~77cm)称为中段,作为变异范围的依据;高于石 5144 最高单株 77cm 的为正向变异,称为上段;低于石 5144 的最低单株(67cm)的为负向变异,称为下段,其他性状变异类同。对上、中、下段和原亲本的株高进行 t 值测验,结果显示中段的株高与石 5144 株高的 t 值为 0.427,说明这个区间的植株的株高与原亲本的差异不显著。上段和下段与石 5144 株高的 t 值分别为 10.400 和 10.742,说明上段和下段区间的植株高度和原亲本的差异极显著。从表 2 看出,株高的正向变异率为 34.0%,负向变异率为 32.5%,表明花药愈伤组织继代后获得的无性系 R₂ 的株高总变异率达 67.44%,这对选育不同类型的植株高度是非常有益的。

表 1 R₂ 株系内性状变异范围

性状	株系	平均数 \bar{x}	标准差 S	变异系数 CV	变异范围
株高(cm)	R ₂	71.12	11.55	16.24	40.0~95.0
	ck	71.30	1.97	2.76	67~77
千粒重(g)	R ₂	41.50	7.21	17.37	15.2~52.3
	ck	40.37	2.49	6.17	35.8~43.5
穗数(穗)	R ₂	18.10	7.29	40.28	1.0~44.0
	ck	19.58	2.33	11.89	16.0~23.0

2.1.2 单株穗数 R_1 2431 无性系获得的 R_1 变异单株共成穗 10 个, 收获后种植 5 个穗, 每穗一行, R_2 由一株 5 个穗衍生为 86 株。经调查, 单株穗数最低者为 1 个, 最高者达 44 个, 平均为 18.1 个(表 1)。单株穗数在 16~20 个之间的占总株数的 33.7%, 其他植株穗数的分布频率依次为: 11~15 穗为 20.9%, 21~25 穗为 18.6%, 26~30 穗为 10.5%, 6~10 穗为 8.1%, 1~5 穗为 4.7%, 30~35 穗为 2.3%, 41~45 穗为 1.2%。统计的标准差(S)和变异系数(CV)都显著高于原品种石 5144 的对应值。说明继代花药愈伤组织产生的无性系 R_2 , 其单株穗数变异范围很大, 这为选择单株不同穗数的品种创造了条件。从 R_2 的穗数变异方

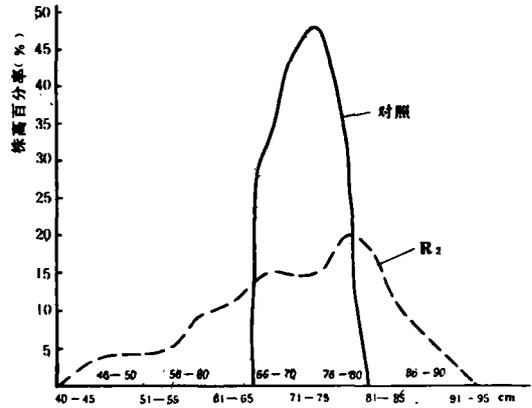


图 株高分布

向看(表 2), 正向变异的有 12 株, 占总数的 13.95%; 负向变异的为 29 株, 占 33.72%, R_2 穗数的总变异率为 47.67%。经对不同变异方向植株 t 值测验, 结果表明, 中段和原品种石 5144 的穗数差异不显著, 正向和负向变异 t 值均达极显著水平, 说明正向和负向变异均属遗传性变异。继代的花药愈伤组织获得的不同穗数的无性系, 为选择高产多穗品种创造了条件。

表 2 R_2 株系内性状变异方向

性 状	调 查 株 数	正向变异		负向变异		变 异 率	
		株	%	株	%	株	%
株 高	86	30	34.98	28	32.50	58	67.44
穗 数	86	12	13.95	29	33.72	41	47.67
千粒重	86	30	34.88	13	15.12	43	50.00

2.1.3 千粒重 R_1 种子的千粒重为 42g。由 R_1 一株衍生出来的 R_2 花药愈伤组织继代 86 株无性系, 千粒重分布在 15.2~52.3g 之间(表 1), 平均为 41.5g, 标准差(S)为 7.21, 变异系数(CV)为 17.37%。其中以 41~45g 的植株数最多, 占 29.1%, 其他植株的千粒重分布是: 46~50g, 27.9%; 36~40g, 20.9%; 31~35g, 9.3%; 51~55g, 7.0%; 26~30g 和 16~20g 均占 2.3%, 15g 以下的占 1.2%。表明继代花药愈伤组织无性系后代植株, 在构成小麦产量最重要因素的千粒重上, 变异类型多, 频率高, 是选择不同千粒重类型的一个世代。从千粒重的变异方向看(表 2), 正向变异的有 30 株, 占总数的 34.88%, 负向变异的为 13 株, 占 15.12%, 总变异率为 50.0%。经 t 值测验, 正向和负向变异均达极显著水平, 表明正负向变异均属遗传性变异。特别是正向变异大于负向变异, 表明继代花药愈伤组织的无性系后代变异出的大粒品种高于小粒品种, 因此, 可以认为, 继代花药愈伤组织获得的无性系为选育大粒高产品种创造了条件。

2.1.4 蛋白质含量 1992 年对 R_2 86 个株系中种子量较大的 24 个品系进行了蛋白质含量测

定,结果是,24个品系的蛋白质含量为13.82%~17.97%,蛋白质含量以16.0%的最多,占50.0%。较低和较高的较少。原品种石5144的蛋白质含量为13.96%。测定的24个品系只有一个低于亲本,23个品系(占测定株数的95.8%)高于亲本。表明蛋白质含量是正向倾高变异,说明可以从花药愈伤组织经多次继代后获得的无性系中,选出高蛋白的品系,这对改良植物品质是很有意义的。

2.2 R₂ 穗系内农艺性状的变异

获得的该株无性系5个穗系的主要农艺性状的考种结果列于表3。从表3中看出,穗系内单株平均穗数和千粒重的变异都是以主穗最高,平均株高以第三蘖穗为最高。经t值测验,各穗系的平均株高和平均穗数在穗系间差异不显著。在主穗和第三蘖、第二蘖和第三蘖之间的平均差异显著,其他穗系间差异不显著。

表3 R₂ 穗系内变异情况

穗系	株高			单株穗数			千粒重		
	\bar{x}	S	CV	\bar{x}	S	CV	\bar{x}	S	CV
主穗	71.9	13.04	18.14	19.6	5.92	30.20	43.7	6.05	13.84
一蘖	71.7	10.99	15.32	18.1	9.11	50.33	42.6	5.85	13.73
二蘖	67.2	13.56	20.18	18.4	6.18	33.59	43.1	5.16	11.97
三蘖	72.7	8.02	11.03	18.7	8.14	43.53	38.4	7.63	19.87
四蘖	72.11	11.51	15.96	16.1	7.05	43.79	39.6	9.60	24.24

穗系间株高的变异系数(CV)为11.03~20.18,各穗系的变异均大于对照;二蘖与主穗之间变异较大(表3),二穗系的变异均大于株系变异,其他穗系的变异小于株系变异。穗系间单株穗数的变异系数为30.20~50.33,以第一蘖穗变异最大,主穗变异最小。5个穗系的变异系数均大于亲本石5144,主穗和第二蘖的单株穗数变异小于株系间的变异。穗系间千粒重的变异系数为11.97~24.24,也大于对照。主穗和一、二蘖穗系的变异系数小于株系的变异系数,第四蘖的变异系数最大。第三蘖的占第二位,由此说明,从花药愈伤组织获得的无性系R₂,不仅株系内有较多的变异类型和较高的变异频率,而且在无性系R₂的穗系内和穗系间均出现变异。

2.3 R₂ 株系内植物性状的变异

2.3.1 籽粒形状 石5144原品种的籽粒为椭圆形。R₂代86个花药无性系后代中仍以椭圆形为主占58.1%,但变异后出现卵圆形麦粒30株,占34.9%;出现长圆形麦粒6株,占7.0%,籽粒形状变异率为41.9%。表明花药愈伤组织无性系后代可以选出不同粒形的品种。

2.3.2 穗形 石5144新品种是方形穗。经花药愈伤组织多次继代培养,无性系R₂出现方形、纺锤、棍棒、塔形四种类形穗,其频率分别为61.6%、33.7%、3.5%和1.2%。穗形变异率为38.4%。

2.3.3 粒色 石5144原品种为白粒。86个R₂中有84个为白粒,表明粒色较稳定,有一株籽粒也是白色但全为黑胚,另一株部分麦粒有兰色斑点,称为兰白嵌合粒。

2.3.4 饱满度 石 5144 品种饱满度不好,一般为 3 级。而 86 个花药愈伤组织无性系的籽粒中,二级饱满度者占 43.0%,3 级的占 43.0%,干瘪粒占 16.3%,一级的占 7.0%。说明花药继代愈伤组织无性系可以在籽粒饱满不好的品种中选育出饱满度好的品种。

2.3.5 芒性 亲本石 5144 为长芒,86 个 R_2 全为长芒,在芒性上未发生变异。

3 讨论

从 H_1 花粉试管苗基部取未分化绿苗的胚性愈伤组织,转入含有 2,4-D 的 C_{17} 培养基上,经多次继代后转入分化培养基上诱导出的绿苗,我们称之为花药愈伤组织细胞无性系。1991 年获石 5144 继代花药愈伤组织细胞无性系自然加倍结实植株 4 丛,经对 R_2 的田间观察,有 3 丛苗的后代与亲本石 5144 一样,未发生变异,1 丛苗的 R_2 的多种农艺性状和植物性状发生了变异,变异植株占 R_2 株系的 25%。

业已证明,通过花药培养进行单倍体育种可以缩短育种世代,提高选择效果^[4,5]。应用这种新技术培养体细胞,可以使后代发生无性系变异。我们在幼穗组织培养中也观察到后代农艺性状的变异^[3],本研究结果表明,继代花药愈伤组织细胞无性系在株高、单株穗数、千粒重和蛋白质含量等农艺性状上均出现很大变异,植物性状也发生多种变异。不仅株系内变异范围大,频率高,而且穗系内变异范围也很大,这就为有目的地改良品种创造了条件。

从 H_1 花粉试管苗基部取愈伤组织作为外植体,由于材料本身是无菌的,因此不需要反复消毒,也不需要田间种植外植体,工序少,操作简便。花培育种能提供大量试管苗,绝大多数试管苗基部均有愈伤组织,不利用则白白浪费,因此在花粉试管苗转移到壮苗培养基时,将其基部的愈伤组织继代培养,诱发变异,从而把花培和无性系变异结合起来,既创造了变异,又缩短了育种世代,不失为一项有效而可行的育种良法。

参 考 文 献

- 1 梁竹青等. 供育种用的小麦未成熟胚离体培养技术研究. 作物学报,1988,14(2):137~142
- 2 赵成章等. 水稻再生植株及其后代的性状表现. 遗传学报,1982,9(4):320~324
- 3 王培等. 幼穗无性系变异在小麦育种上的应用. 作物学报,1992,18(5):391~396
- 4 胡道芬等. 冬小麦花粉孢子体的诱导及京花一号的育成. 中国农业科学,1983,(1):29~35
- 5 李梅芳等. 应用花药培养选育抗稻瘟病品种的研究. 作物学报,1983,9(3):173~179
- 6 王培等. C_{17} 培养基在小麦花药培养中应用的研究. 植物学报,1986,28(1):38~45
- 7 史瑞和等. 土壤农化分析. 北京:农业出版社,1981,257~260
- 8 Evans DA et al. Somaclonal variation and its application in plant breeding. IAPTC Newsletter, 1988(54): 2~10
- 9 Karp A. Can genetic instability be controlled in plant tissue cultures? IAPTC Newsletter, 1989(58): 2~11
- 10 Larkin PJ et al. Somaclonal variation—a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. Theor Appl Genet, 1981(60): 197~214
- 11 Larkin PJ et al. Heritable somaclonal variation in wheat. Theor Appl Genet, 1984(67): 443~455

- 12 Mohmand AS et al. Somaclonal variation plants of wheat derived from mature embryo explants of three genotypes. *Plant Cell Rep*, 1990(8): 558~560

Variation of the R₂ Generation of Somaclones from Anther Calli

Wang Pei Chen Yurong Wang Feng He Ping

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

Abstract Four patches of fertile R₁ generations were obtained from somaclones initiated from non-differentiated anther calli of a new cultivar of winter wheat—Shi 5144. The observation results in the field showed that the variation occurred in 1 plant of R₂ generation, and the variation frequency was 25%. 86 progenies of this variant were observed. Among the three major agronomic characters, the plant height showed the highest variation frequency (67.44%), followed by 1000-grain-weight and the number of spikes per plant, which were 50.00% and 47.67%, respectively. Variation was also observed in other characters including protein content in seed, grain colour and type, spike shape. The variation occurred not only within the plant lines but also within the spike lines. Only awn did not change among the characters investigated.

Key words: Winter wheat; Anther callus; Somaclone variation