

大豆体细胞无性系 (Clone) 的变异 与优良品系筛选^{*}

母秋华 原亚萍 王金余 贾玉峰 赵 明
田立国 杜 娟 张新生

(中国人民解放军农牧大学 长春 130062)

摘 要

本研究以栽培大豆辽豆 85-38_Y m₂ 九农 15 及半野生大豆公野交 2246 等 10 个品种为材料,通过茎节培养从辽豆 85-38_Y m₂ 中获得了可以继代培养的体细胞无性系 (Clone) 并再生植株。不同继代培养世代 (SC₁, SC₂, SC₃) 的再生植株在株高、叶形、分枝数、百粒重等重要农艺性状上均产生了变异。通过二年的田间产量鉴定与产量比较,从 SC₂ 中筛选出 4 个高产、虫食率低的优良品系。

关键词 大豆;体细胞无性系;变异;优良品系

自从 Larkin 和 Scowcroft (1981) 等^[1]系统地评述了在植物组织培养的再生植株中广泛存在着无性系变异以来,这一现象引起了育种工作者的普遍重视。国内外一些研究单位先后开展了利用无性系变异进行优良突变体筛选和品种改良的研究^[2-4, 5]。目前已在 30 多个物种上获得了有价值的材料或品系。大豆是重要的粮食和油料作物,大豆 Clone 技术及遗传转化受到各国科技工作者的重视,因为体细胞克隆 (Clone) 可以实现转入目的基因再生植株的扩增或直接筛选有益的突变体。为此,本试验室近年来,以大豆不同基因型外植体做原始材料,通过茎节培养获得了可长期继代培养并不断再生植株的无性繁殖 (Clone) 系统。同时对它们的后代的遗传变异做了较为系统的研究。

材料与方 法

1 材料

半野生豆:勃力、公野交 2246 (吉林省农科院提供) 栽培品种:辽豆 85-38⁶⁰ Co- γ 射

^{*} 注:常太和、张颜珍、王萍、徐振彪、付作申、王书恩、于树清、武凯、温玉梅参加部分工作,在此一并致谢。

收稿日期 1996-11-28

This paper was received on Nov. 28, 1996.

线诱变 (1.0万伦 /100分)后代 (m_2),大青豆 九农 15等 10份材料。

2 方法

将上述品种苗龄 10–14天试管种子苗的子叶茎节切割后,分别接种在 8114诱导培养基上 (附加 2,4–D 2mg/L, 6BA 1.5mg/L, NAA 0.4mg/L) 发现由芽原基组成的细胞团时,及时切割,分别转到 50ml的三角瓶中,每 4周继代培养一次。绿苗分化是 8114培养基 (成分同上,但去掉 2,4–D,再附加 IBA 0.2–0.5mg/L),苗高 1.5–2cm时,转移到 $\frac{1}{2}$ 8114 (附加 6BA 0.5–1mg/L, NAA 0.2mg/L, IAA 0.2mg/L)的壮苗培养基上培养。苗高 6–8cm的试管苗再移栽到庭院的盆土中,成活后移栽到大田苗床。Clone后代种子,按株行种于田间。按物候期和选种目标对各性状进行调查分析及产量比较。

试验结果

1 愈伤组织诱导与植株再生

1.1 幼胚培养诱导形成愈伤组织与植株分化

将授粉 14天的半野生大豆公野交 2246及栽培豆九农 15的幼胚分别接种在 8114培养基上,3周后发现在幼胚脐部形成结构紧密浅绿色的胚性愈伤组织。其中公野交 2246诱导频率较高,接种 240个幼胚,形成 49个胚性愈伤组织,诱导频率为 20.4%。经分化培养后形成 18株绿苗 (图版 1),分化频率为 36.3%。九农 15次之,诱导与分化频率分别为 18%与 3.6%。

1.2 体细胞无性系 (Clone)的获得与植株再生

当大青豆、辽豆 85–38 m_2 等试管苗长出真叶时,在无菌条件下,取子叶部分的茎节,在 8114诱导培养基上培养,参试的品种 80%可形成愈伤组织,但分化能力很弱,一部分材料如大青豆可直接长出 2–6个绿芽,但不能继代培养。而辽豆 85–38 m_2 的茎节培养 2周后有 10个茎节长出许多绿色的小突起 (图版 2),当长到 0.5cm大小时将其切割数块分别转移到 8114继代培养基上。在自然散射光下培养,2周后发现 3个细胞团增殖速度很快。然后,根据细胞团的增殖快慢、绿苗分化力,进行 Clone的筛选。经 3次继代培养后发现 Clone3具有很大的增殖与分化潜力,继代培养 8个月分化出较多的绿苗和芽,获得了 3个不同培养世代 (SC_1 、 SC_2 、 SC_3)的 Clone试管苗及可移栽成活的正常植株 (图版 3),并对它们的后代进行了跟踪调查。

2 大豆 Clone3后代主要农艺性状的变异

为了研究大豆 Clone3无性繁殖世代 SC_1 、 SC_2 、 SC_3 再生植株的生育情况与同一世代的不同株系 SC_{1-1} 、 SC_{2-3} 、 SC_{3-} 等主要农艺性状的差异与育种价值。从 1993–1996年的 3个生长周期对 16种主要农艺性状进行系统研究。结果表明:来自不同继代培养世代及同一世代分离出的不同株系间在株型、叶色、叶形、花色、荚色、粒型、脐色等质量性状上十分相似;但在产量、抗性等方面存在很大差异。

数量遗传学的研究证明,大豆的株高、节数、分枝数、叶片大小是受一定数量基因控制的,并和产量性状相关。同时在无性系长期继代培养的实验中发现,随着无性系继代培养

次数的增加其增殖速度、再生绿苗数、株高等易产生变异。本试验通过无性系后代 D₁—D₃ 的田间种植发现,经试管培养的大豆绿苗随着继代培养次数的增加,其生长势有减弱趋势。但随着田间种植世代的增加有所恢复。表 1 中的 SC₂₋₁、SC₃₋₁、SC₃₋₂ 的株高均低于对照。其 SC₂₋₁ 的株高比对照低 16.8cm。从表 1 还可看到大豆茎节培养的无性系繁殖后代,其节数、分枝数都明显地高于对照,SC₁₋₁、SC₂₋₁、SC₃₋₂ 的分枝数是对照的 2 倍以上,同时变异系数有 60% 增大。说明体细胞无性系可产生增加分枝数的有利变异。另外无性系繁殖后代 D₄ 的大豆植株叶片的大小除 SC₄₋₁ 外均小于对照,SC₂₋₁ 比对照叶片长度小 1.2cm,变异系数是对照 2 倍多。

表 1 大豆无性繁殖系 D₄ 田间生育性状变异

Table 1 The characters variation of soybean somaclone in D₄ generation

材料 Materials	株高		节数		分枝数		最大叶片长	
	Plant height		No. of nodes		No. of branches		The largest leaf length	
	$\bar{X} \pm S$	c. v (%)	$\bar{X} \pm S$	c. v (%)	$\bar{X} \pm S$	c. v (%)	$\bar{X} \pm S$	c. v (%)
无性系 SC ₃₋₁	56.4±3.21	5.69	13.0±2.24	17.20	9.6±38.5	40.07	9.6±0.55	5.70
无性系 SC ₃₋₂	58.7±5.68	9.70	14.0±1.41	10.10	13.2±3.11	23.59	9.2±0.84	9.09
无性系 SC ₂₋₁	45.5±91.9	20.20	13.0±2.83	23.5	14.5±0.71	4.88	8.7±0.97	14.43
无性系 SC ₁₋₁	66.4±4.83	7.27	14.6±1.52	10.39	16.4±3.29	20.04	10.6±0.55	5.17
无性系 SC ₁₋₂	69.6±5.59	8.04	14.2±0.84	5.89	16.4±1.67	10.20	9.6±0.55	5.17
辽豆 85-38 γ m ₂ (CK)	62.3±12.24	19.60	11.7±3.06	26.18	6.7±4.51	17.6	9.9±0.61	6.12

3 大豆体细胞无性繁殖后代产量性状变异

大豆体细胞无性系后代是否在产量性状上产生突变,是所有育种者所关心的问题。表 2 列出了大豆无性繁殖系 D₃ 的产量性状

表 2 大豆无性繁殖系 D₃ 的产量性状

Table 2 Yield characters of soybean somoclone in D₃ generation

材料 Materials	粒色	粒形	虫食率 (%)	百粒重 (g)		单株粒重 (g)	
	Grain colour	Grain shape	Percentage of insect-eating	100-grain weight		Grain yield per plant	
				$\bar{X} \pm S$	c. v (%)	$\bar{X} \pm S$	c. v (%)
SC ₃₋₁	黄	圆	1.5	22.75±3.13	16.21	35.23±14.51	41.17
SC ₃₋₂	黄	圆	2.0	21.38±0.91	4.25	49.25±15.29	31.05
SC ₂₋₁	黄	大圆	1.0	21.82±1.59	7.29	58.04±12.70	21.88
SC ₁₋₁	黄	大圆	4.0	21.16±0.84	3.99	57.85±14.39	24.88
SC ₁₋₂	黄	大圆	3.5	22.73±0.85	3.73	43.66±4.41	10.09
辽豆 85-38 γ m ₂ (CK)	黄	圆	6.0	18.19±2.59	14.23	35.72±8.54	54.33

从表 2 看到,粒色、粒型同对照相比有较强的遗传保守性。各无性系的虫食率都比对照低。SC₂₋₁ 的虫食率仅为 1%。百粒重都高于对照,变异系数 80% 小于对照。另外 SC₃₋₁、SC₂₋₁、SC₁₋₁、SC₁₋₂ 的单株粒重都高于对照,SC₂₋₁、SC₁₋₁ 的单株粒重分别为 58.04g、57.

85g,变异系数明显低于对照

4 大豆体细胞无性系产量比较

1996年从上年参试的 32个辽豆 85- 38/ m₂的体细胞无性系后代中,通过产量观察和系统分析,筛选出 4个优良品系 9516 9518 9522 9523,以生产上主推品种吉林 27为对照进行产量比较,小区行长 5m, 3行区,株行距为 10× 60cm, 3次重复,随机区组排列,产比结果见表 3

表 3 大豆体细胞无性系繁殖后代产量比较
Table 3 Yield comparison of soybean somaclone progeny

品系	株高 (cm)	结荚高度 (cm)	分枝	结荚习性	节数	单株粒数
Strain	Plant height	Pod height	No. of branches	Pod character	No. of nodes	Grains per plant
9516	50. 6	11. 4	3. 6	亚	12. 2	104. 0
9518	51. 8	9. 8	5. 3	亚	15. 0	110. 3
9522	60. 0	11. 0	4. 6	亚	12. 0	96. 4
9523	53. 7	10. 0	4. 3	亚	11. 5	85. 0
吉林 27	73. 6	8. 0	0	亚	12. 6	83. 4

品系	虫食率 (%)	单株粒重 (g)	百粒重 (g)	小区平均产量 (kg)	公顷产量 (kg)	比对照增产 (%)
Stiain	Percentage of insect-eating	Grain yield per plant	100- g rain weight	Average yield per plot	Hectare yield	Increase in yield to CK
9516	18. 1	30. 0	27. 8	1. 89	2100. 0	40. 0
9518	14. 5	24. 1	23. 8	2. 13	2366. 7	57. 8
9522	12. 0	29. 6	22. 0	2. 25	2500. 0	66. 7
9523	14. 4	20. 2	25. 3	2. 20	2444. 4	62. 9
吉林 27	20. 1	17. 3	21. 8	1. 35	1500. 0	0. 0

从表 3可见,大豆体细胞无性系繁殖后代与吉林省主推品种吉林 27相比,在分枝数、单株粒数、单株粒重、百粒重、小区产量上都有增加,虫食率比对照降低。方差分析结果表明品系间差异显著,各品系较对照吉林 27增产幅度较大,其中 9522公顷产量 2500kg,比吉林 27增产 66. 7%,且品质优良,较抗食心虫(图版 4)

讨 论

通过体细胞无性系长期继代培养可出现畸型苗或畸型株、生长势减弱等不良现象,但通过试管选择和田间种植及不同株系间的筛选,可得到生长发育正常且具优良性状的株系。

大豆茎节培养的体细胞无性系的继代培养可以扩大增殖倍数,可在细胞水平上跟踪观察、系统选择。同时再生植株中广泛存在着无性系变异,并可产生优良农艺性状。根据

育种目标选择相应的变异可获得有价值的材料或品系

产量比较结果表明,体细胞 Clone 无性繁殖的大豆株系,通过田间选择可得到产量高、植株性状好、虫食率低有利用价值的优良品系,如 9522 从而加速了大豆品种选育进程,为大豆 Clone 育种工作展示了美好的前景。

1 公野交 2216 的分化苗

Regenerated seedling of GYJ 2216

3 移栽成活的正常植株

Plant of transplant

2 85- 38 m₂ 绿芽团

Green sprout mass of 83- 38 m₂

4 9522 新品系

New strain of 9522

参 考 文 献

- [1] Larkin, P. J. and W. R. Scowcroft, 1981, Somaclonal Variation- a Novel Source of Variability from Cell Cultures for Plant Improvement. *Theor. App. Genet.*, 60 197- 214

- [2] 郭仲琛等, 1988,《细胞工程应用基础研究新进展》,学术期刊出版社

- [3] 母秋华等, 1984, 高粱蔗体细胞无性系的建立及再生植株的后代表现, 吉林农业科学, 4: 17- 21
- [4] 赵成章等, 1991, 《植物体细胞无性系变异与育种》, 江苏科学技术出版社
- [5] 隋德志等, 1989, 大豆体细胞组织培养再生植株的研究, 大豆科学, 8(2): 145- 152

VARIATION OF SOYBEAN SOMACLONE AND PROMISING STRAIN SELECTION

Mu Qiuhua Yuan Yaping Wang Jinyu Jia Yufeng

Zhao Ming Tian Liguo Du Juan Zhang Xinsheng

(*Agricultural and Animal Sciences University of P. L. A., Changchun 130062*)

Abstract

Stem node of semi-wild soybean and Liaodo 85-387 m², GJ2246 etc were cultivated in the 8114 medium, the somaclone and regenerated plants were obtained. The variation occurred on some regenerated plants (SC₁ SC₂ SC₃). The variation included plant height, leaf shape, number of branches, 100-grain weight. Four promising strains with higher yield were obtained through yield test.

Key words Soybean; Somaclone; Variation; Promising strain