

玉米体细胞无性系变异及在 品种改良中的应用研究概况(综述)

陈举林

(山东省泰安市农科所,泰安 271000)

体细胞无性系变异具有变异范围较广泛,单基因或少数基因变异的情况较多,因此适合于用来对现有品种进行有限的修饰与改良,这种变异是作物改良又一新的变异来源。

自 60 年代以来,由于细胞组织培养的迅速发展,已可获得多种植物的再生植株,其后又不断发现再生植株广泛地存在着遗传变异,即体细胞无性系变异。现在体细胞无性系变异已被确认为一种新的遗传变异来源,可作为植物品种改良的有效手段。我国自 70 年代末开始对细胞组织培养中的变异进行研究,并将其应用于品种改良,其后又进行了抗性突变体的筛选,取得了可喜的成就。

1 玉米体细胞无性系变异的研究概况

1902 年,德国科学家 Haberlandt 就试图采用无菌培养方法将植物的某一离体部分,在人为条件下研究它的生长、发育及分化规律,从而培养成一个完整的植株,虽未获成功,却提出了“细胞全能性”理论。此后的 30 多年内,很少有人给予重视,30 年代至 50 年代,植物细胞离体培养取得了一定进展。玉米组织培养始于 50 年代,玉米首次利用组织产生类愈伤组织生长的成功事例是胚乳的培养(1949),用未成熟的胚乳为外植体在添加番茄汁的怀特培养基上始发和保持了这些组织。但开始的 20 年间进展不大,只是到了 1975 年,Green 等^[18]才由玉米幼胚培养获得了再生植株,此后玉米体细胞组织培养工作进入了快速发展阶段。许多研究者对玉米体细胞组织培养基的选择、外植体基因型的选择、愈伤组织诱导及植株再生进行了广泛的

研究。Green(1977)^[24]在 85 个由未成熟胚的愈伤组织再生的 R_1 中注意到在株高、节数、叶序和穗形上有差异。Rodes 和 Green(1982)^[21]利用幼雄穗培养,获得了体细胞胚状体,并获得了再生植株。Duncan 等(1985)^[19]从众多基因型未成熟玉米胚中诱导出能再生植株的胚性愈伤组织,包括具有重要育种价值的 M_{017} 、 B_{73} 、 B_{84} 、 A_{632} 、 M_{71} 、 W_{117} 、 H_{99} 、 H_{95} 和 C_{m105} 等。1988 年,Armstrong 等^[20]研究表明,两种再生植株的途径都能产生变异,但变异的频率不一样。

我国科技工作者早在 30 年代就开展了植物体细胞组织培养工作,多年来一直进展不大。直到 70 年代末,玉米体细胞组织培养研究才取得了较快的发展。1982 年,吴家道利用玉米幼穗作为外植体获得了愈伤组织和再生植株。北京农业大学谢友菊等(1986)^[6]利用 51 个玉米自交系的雄幼穗进行细胞胚状体的诱导,44 个产生了胚状体,并有 3 个再生了植株。1987 年谢友菊^[7]又研究了 Lu 的高糖法只能使少数自交系(74-258-9、齐₃₁、综₆₃、莱₁₀₂₈等)产生一定频率的胚性愈伤组织和再生植株。同年王毅等研究认为 mM-sA 培养基系列能使获白自交系愈伤组织通过胚状体途径再生大量植株,适当调节培养基系列中各种培养基中蔗糖浓度能有效地促进胚状体的发生。朱金宝等(1989)^[11]研究表明,不同的基因型和培养基对胚状体的诱导有影响。同一材料的取材时期不同也影响到愈伤组织的诱导与分化,不同基因型植株再生能力有很大差异。高树芳等(1989)^[3]研究认为,再生植株出现多性状的变异。李世润等

(1990)^[2]研究,接种幼胚的大小和基因型、基本培养基成份及蔗糖浓度、激素种类和浓度对胚性愈伤组织的诱导、继代和分化幼苗均有明显影响。将培养7~8天的幼胚夹碎,可显著提高胚性愈伤组织的诱导率,并使较大的幼胚产生胚性愈伤组织。随着胚性愈伤组织继代次数的增多,再生植株畸形苗率升高。郑乐娅等(1991)^[9]对63株再生植株 R_1 — R_4 12个性状分析表明:体细胞无性系变异具有广泛的变异性,这种变异性既表现在质量性状上,又表现在数量性状上。张举仁等(1991)^[12]以黄早四为材料,研究了再生植株 R_1 — R_4 代的变异情况认为,玉米体细胞无性系变异范围大、频率高。刘允晶等(1992)^[8]研究表明,再生苗分化后生根、炼苗、移栽、再生苗恢复到一个时期受到不良条件的影响,均能延长生根到缓苗的总时间,导致再生幼苗的发育异常。采取综合农艺措施和长日照处理,可提高再生株苗的正常率。许方佐等人(1989)还对玉米杂交种体细胞组织培养后代进行了配合力测定,认为来源于同一基础材料的不同 R_0 单株后代配合力有明显差异。从而证明,从玉米体细胞再生植株后代中选育自交系,只要选材恰当,方法适宜,能够选育出高配合力的自交系。陈举林等(1992)^[16]研究表明,生育期、雄穗分枝数、株叶数、叶片与主茎间夹角及穗行数等性状可在早代进行决选。而株高、穗位高、叶长、穗长、穗粗等性状可在高代进行决选。以上诸多研究为利用玉米体细胞无性系变异来进行品种改良和创造新种质展示了良好前景。

2 玉米体细胞组织培养的方法

2.1 基因型的选择

外植体基因型是组织培养成功与否的内在条件。已有的资料表明,接种外植体的基因型、组织的类型以及发育阶段的不同,都能影响到组织培养的成败,不同材料在诱导反应上是受遗传控制的。从作物品种改良的要求来说,如果研究对象只限于某个种的特定基

因型,而基因型的生产实用价值又比较低,则失去了组织培养的意义。如果能培养处理对生产具有重要意义的材料,就为品种改良和创造新种质提供了极大的机会。目前,我国大部分对生产和育种有重要价值的材料均能通过培养产生愈伤组织并再生大量植株^[1,2,6,7,12]。

此外,不同组织及同一组织的不同发育阶段,培养效果也不同。一般来讲,分生区域的幼嫩组织容易诱导生成愈伤,禾本科植物的未成熟胚尤其适合作外植体而产生具有植株再生能力的愈伤组织。

2.2 培养基的选择

培养基也是组织培养成功与否的一个先决条件,适合玉米组织培养的基本培养基主要有 M_0 、 N_0 、改良 MS 、 LS 、 Yu - pei 等,都能不同程度地使某些基因型再生植株。目前常用的基本培养基主要是 N_6 和改良 MS ^[1,7,9-14],愈伤组织的诱导只要在基本培养基中加入一定数量的2,4-D即可。愈伤组织的继代在较低浓度的2,4-D培养基上即可,诱导再生植株一般是进一步降低培养基中生长素的浓度,诱导茎、叶的分化,最终将培养物转移到完全不含2,4-D的培养基上诱导根的分化。

2.3 愈伤组织的诱导及植株再生

玉米在培养一周后就可观察到幼胚胚根鞘末端增殖的愈伤组织,呈暗白色坚硬并带有凸起的边缘和沟。为了在春季得到大量再生植株,就需进行愈伤组织继代。每两周继代一次,对于保存和继代培养的反应,不同基因型的愈伤组织是不同的。有一些保存一、两年仍具有较旺盛的植株再生能力,有一些则在保存过程中逐渐丧失再生能力,甚至愈伤组织本身死亡^[4]。在愈伤组织的水平上,可加入选择剂,如毒素、药物及盐等,进行抗病、抗药、抗盐等抗性突变体的筛选。

再生植株的产生有两条途径^[1,5,22],即胚胎发生途径和器官发生途径。胚胎发生途径产生生长迅速具有结构良好的松脆性胚性愈

伤组织(Type I);器官发生途径产生表面坚硬、致密、半透明状、生长较缓慢的愈伤组织(Type I)。胚性愈伤组织分化形成胚状体,但并不都产生再生植株,这主要与培养基成分和胚状体所处的生理状态有关。

再生植株的诱导,须先诱导茎、叶的分化,再诱导根的分化,否则不产生再生植株。

3 玉米体细胞无性系变异

由组织培养诱导的变异是作物改良又一种新的变异来源。通过组织培养再生的植株及其后代,往往在一个性状或多个性状上发生变异^[3,9,11,12],这种变异有稳定的遗传基础,被称为“体细胞无性系变异”。它对有关突变体筛选的作物品种改良有着很重要的应用价值。这些变异主要有基因突变、染色体结构和数量上的变异。但在这些变异中往往有益的变异少,而且是随机的,因此应重在变异后代的选择。由于作物的产量是由多基因控制的数量性状,因此,通过在培养基中加入某种化学物质从而对产量性状选择是不可能的,在这种情况下选择只能在再生植株的后代中进行。

4 突变体的筛选

同植株水平上的选择相比,这种体外选择对作物品种改良是一条很好的途径,利用这种方法可以对抗病、抗药、抗盐及一些生理生化特性如高赖氨酸变异进行筛选。在 Gen-genbach 等人的一项试验中,利用 H·maydis 小种 T 的毒素由感病的 cms-T 培养物中选择抗性细胞系,在开始时使用亚致死剂量的毒素,以后不断增加选择压力,5 个培养周后,他们得到了在致死水平的毒素感染下抗病的细胞系。由这些细胞系再生的植株也是抗病的,但恢复了育性。对这些抗病但雄性可育的植株获得的后代进行的遗传分析表明,这两个特性(抗病性和育性)都是母性遗传的。目前,我国通过突变体筛选已选出耐盐突变体^[13]、青饲玉米突变体^[17]、抗赖氨酸加

苏氨酸(LT^r)和氨乙基半胱氨酸抗性(AEC^r)突变体^[14,15]。LT^r 是单个显性核基因控制并能稳定遗传,AEC^r 细胞中的游离赖氨酸、苏氨酸和精氨酸分别为野生型的 2.4、1.9 和 4.4 倍,这一研究结果很可能对解决玉米等禾谷类作物的蛋白质营养问题产生重大影响。

5 玉米体细胞无性系变异在品种改良上的应用前景

体细胞无性系变异对作物品种改良具有重要意义,但目前主要处在理论探索阶段。今后还需进一步从细胞学、生理学和遗传学角度研究其内部发生机理,方能更好地利用这种变异。由于主要农艺性状多是由多基因控制的,非常复杂,因此选择的难度就大。目前这种方法主要用于抗病、抗药、抗盐及对一些生理生化特性变异的选择,并取得了可喜成就。近十多年来,玉米体细胞组织培养研究工作取得了很大进展,并日趋完善,作为一条育种途径,在技术上关键是提高培养过程中的有效再生株率。随着现代科学技术的发展,组织培养将越来越显示出它在作物品种改良中的重要作用。

参 考 文 献

- [1]朱金宝等,玉米胚性愈伤组织诱导研究简报,《莱阳农学院学报》,1989,6(3):59—61
- [2]李世润等,玉米胚性愈伤组织诱导及植株再生的研究,《山东大学学报》(自然版),1990,25(1):116—124
- [3]高树芳等,玉米幼胚愈伤组织再生植株的变异,《山东大学学报》(自然版),1989,24(1):84—89
- [4]李俊明,体细胞无性系及其变异,《遗传》,1983,5(1):41—44
- [5]周俊彦,植物体细胞在组织培养中产生胚状体,《植物生理学报》,1981,7(4):389—397
- [6]谢友菊等,玉米体细胞胚状体诱导及其植株再生的研究,《遗传学报》,1986,13(2):113—119
- [7]谢友菊等,玉米胚性愈伤组织诱导及其植株再生的研究,《遗传》,1987,9(3):11—13
- [8]刘允晶等,提高玉米组培再生植株正常化的研究,《北京农业科学》,1992,10(2)
- [9]郑乐娅等,玉米雌幼穗培养再生植株 (下转第 24 页)

(上接第20页)

变异性状的遗传,《安徽农业科学》,1991,3:219—222

[10]蒋有铎等,玉米幼胚培养基因型差异的研究,《北京农业科学》,1991,9(5):11—12

[11]谷明光等,玉米体细胞培养再生植株及其后代的细胞遗传学研究,《植物体细胞无性系变异与育种》,江苏科学技术出版社,1991,166—175

[12]张举仁等,玉米体细胞无性系变异及利用,《植物体细胞无性系变异与育种》,江苏科学技术出版社,1991,176—184

[13]张举仁等,玉米耐盐植株的再生及其后代的特性,《植物体细胞无性系变异与育种》,江苏科学技术出版社,1991,294—301

[14]缪树华等,氨基酸过量合成的玉米突变体的选择与营养品质改良,《植物体细胞无性系变异与育种》,江苏科学技术出版社,1991,313—321

[15]缪树华等,抗赖氨酸加苏氨酸玉米突变体的选择,《植物学报》,1987,29:565—572

[16]陈举林等,玉米体细胞无性系变异后代遗传进度及选择差研究初报,《泰安农业科技》,1992,2:9—11

[17]施介村等,青饲玉米有益变异体的选育,《植物体细胞

无性系变异与育种》,江苏科学技术出版社,1991,185—188

[18]Green C E et al. Plant regeneration from tissue cultures of maize, *Crop Sci.*, 1975, 15: 417—421

[19]Duncan D R et al. The production of callus capable of plant regeneration from immature embryos of numerous *Zea mays* genotypes. *Planta*, 1985, 165: 322—332

[20]Armstrong C L et al. Geneic and cyto genetic variation in plants regenerated oganogenic and fragile, embryo-genic tissue cultures of maize. *Crop Sci.*, 1988, 28: 363—369

[21]Rhodes C A et al. Maize genetics cooperation new letter. 1982, 56: 148—149

[22]Lu C et al. Somatic embryogenesis in *Zea mays* L. *Theor. Appl. Genet*, 1982, 62: 109—112

[23]Lu C et al. Improved efficiency of somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of maize (*Zea mays* L.). *Theor. Appl. Gevet*, 1983, 24: 559—565

[24]Green C E. Pnospects for crop improvement in the field of cell culture. *Hortsci*, 1977, 12: 7