

农学与植保

烟草新胞质雄性不育系 86-6的创造及其利用^{*}

孙玉合 雷敏 张历历 卜锅章 龚明良

青州烟草研究所 青州 262500

摘 要

普通烟草 (*N. tabacum*) 与野生粉蓝烟草 (*N. glauca*) 叶肉原生质体诱导融合获得体细胞杂种, 其中编号为 TG-8 的植株除具有雄性不育特征外, 其他生物学性状及体细胞染色体数目均与其普通烟草亲本相同, 且遗传性状稳定, 表现为典型的胞质杂种特征。用普通烟草做轮回亲本与其杂交至 12 代, 后代仍然保持雄性不育特征。用烤烟品种 G-28 回交 4 代, 选育出烟草新胞质雄性不育系 86-6。用 86-6 与烤烟新品系 88-4 及 86-1 组配成一代杂交种 92-7 92-8, 杂种优势明显, 抗病性也有提高。

关键词: 体细胞杂交 胞质雄性不育 烟草 杂种优势

目前我国种植面积较大的烤烟栽培品种, 如 NC82 NC89 K326 等均引自美国, 这些品种优质, 抗黑胫病, 但对气候斑、花叶病等抗性较差。国内育成品种适应性强, 但品质欠佳。为满足我国烟草生产对优质、高抗品种的需求, 一些科研院所正致力烟草雄性不育系的转育研究和配制开发杂种一代^[1,2]。最近几年我国相继审定了几个烟草的一代杂交种, 如广遵 2 号、中烟 9203 辽烟 15 和鄂烟 1 号等, 在生产中发挥了较大的作用, 充分显示了杂交种在烤烟生产中广阔的应用前景^[3]。但目前我国生产上所用的烟草雄性不育系都是由 1973 年从美国引进的 MS (Burley 2 K KY 14) F1 为基础材料, 经过多年的回交转育而来的, 雄性不育胞质 (来源于 *N. suaveolens*) 来源单一, 遗传基础相对窄小, 使优势降低, 而且潜在的危险性较大。

为了给我国烟草雄性不育的研究增加新的胞质来源, 丰富其遗传基础, 我们课题组从 80 年代初便开始了利用体细胞杂交技术从野生烟草中转移雄性不育胞质的研究。本文报道利用体细胞杂交获得烟草种间胞质杂种, 进而创造烟草新胞质雄性不育 86-6 及其利用的有关结果。

1 材料和方法

1.1 材料

普通烟草 (*N. tabacum*, $2n=48$) 栽培品种: 革新一号。

野生烟草: 粉蓝烟草 (*N. glauca*, $2n=24$)

1.2 方法

1.2.1 原生质体融合: 将革新一号与粉蓝烟草的种子播种于温室, 待烟苗长至 7~8 片真叶时, 移栽到花盆中, 在烟苗进入旺长前, 取其上部功能最大的叶片进行叶肉原生质体的游离。两种原生质体以 1:1 的比例混合, 经 PEG、高 Ca 高 pH 值溶液诱导融合, 融合体经进一步培养, 分化形成再生植株。有关原生质的游离、诱导融合方法、融合体培养及试管苗的诱导等见有关文献^[1,4]。

1.2.2 将再生植株移栽到温室的花盆中进行生物学形态观察, 并用醋酸洋红法进行根尖染色体检查^[5], 选出编号为 TG-8 的植株。

1.2.3 用普通烟草栽培品种革新一号与 TG-8 连续进行回交保持, 并观察其后代性状变异情况。

1.2.4 用普通烟草栽培品种 G-28 为父本与 TG-8 连续回交 4 次, 获得稳定的雄性不育系, 编号为 86-6。

1.2.5 在田间对 86-6 进行农艺性状的观察, 单行种植, 行距 1.0m, 每行 20 株, 株距 0.5m。

1.2.6 以特香型烤烟新品系 84-4 86-1 分别与 86-6 杂交, 组配杂种一代 92-7 92-8。

1.2.7 在田间对一代杂交种进行产量、质量鉴定。G-140 为对照, 2 行区, 3 次重复, 随机排列, 行距 1.0m, 每行 20 株, 株距 0.5m。烟叶成熟采收后, 与其他品种一同烘烤, 取中四烟叶, 测定其化学成分。

* 收稿日期: 1998-06-20。

1. 2. 8 田间进行黑胫病诱发测定 ,单行区 ,重复 2 次。田间调查花叶病 ,气候斑及赤星病的发病情况

2 结果

2.1 胞质杂种生物学形态

在 1980 年 *N. tabacum* 与 *N. glauca* 的融合实验中共获得 70 多株再生植株 ,其中有一株编号为 TG-8 的单株 ,其营养器官的形态 ,如株高、叶数、叶型、叶片大小、侧翼的有无和大小等都与其普通烟草亲本相同 ,唯有其生殖器官——花 ,虽从表面观察其颜色、大小、花冠筒长短等与普通烟草亲本相似 ,但其花冠筒比普通烟草细 ,解剖花冠筒则可以发现其雌蕊发育正常 ,雄性器官发育不正常 ,表现为花丝极短 ;无花药 ;或虽有花药 ,但花药中无花粉粒 ;或只有少数干瘪的花粉粒 ,因而表现为雄性不育 (见封三图版 1)。其根尖染色体数目为 $2n=48$,跟普通烟草一样。所以可以断定 TG-8 是一个胞质杂种。

胞质杂种 TG-8 的雄性器官发育不正常 ,但其雌蕊发育正常 ,用普通烟草亲本革新一号的花粉授粉后结实正常 ,连续回交 3 代后 ,获得遗传性状稳定的株系 ,即 (TG-8× 革新 1 号) B3 (见封三图版 2)。该株系的主要生物学性状 ,包括株高、叶数、叶长、叶宽、侧翼宽等与普通烟草品种表现相似 ,无明显的分离现象。详见表 1。

表 2 雄性不育系 86-6 的产量、品质						
品 系 编号	产 量		级 指		产 值	
	kg /hm ²	位次	平均	位次	元 /hm ²	位次
1	2857. 5	5	0. 075	7	1038. 85	7
2	2892. 0	4	0. 1023	6	1435. 65	6
3	2365. 5	8	0. 2221	3	2521. 05	3
4	3282. 0	3	0. 1480	4	2332. 05	4
革新一号	3303. 0	2	0. 2224	2	3225. 45	2
86-6	3615. 0	1	0. 2290	1	3937. 65	1
7	2815. 5	6	0. 1418	5	1915. 95	5
8	2497. 5	7	0. 0650	8	779. 40	8
9	2202. 0	9	0. 0463	9	489. 90	9

表 3 86-6 烟叶化学成分分析表					
品种 (系)	还原糖%	总糖%	尼古丁%	总氮%	蛋白质%
革新一号	7. 79	14. 29	3. 52	2. 29	10. 51
86-6	7. 72	11. 59	3. 61	2. 42	11. 06

目前用普通烟草品种与 TG-8 连续回交已至 12 代 ,但仍保持高度的雄性不育特性 ,尚未发现有育性恢复的单株 (系)。

2.2 86-6 农艺性状观察

用烤烟栽培品种 G-28 与 TG-8 进行连续 4 年回交选育 ,育成烟草雄性不育系 86-6 ,即 (TG-8× G28) B4 (见封三图版 3)。

2.2.1 对 86-6 进行田间农艺性状观察 ,结果发现 ,该品系农艺性状优良 ,生产性能较好 ,表现为叶长 ,节间密 ,田间生长整齐 ,长势旺 ,产量因素构成较合理 ,生长后期叶片易落黄 ,易烘烤 ,烤后原烟颜色金黄 ,叶片厚薄适中 ,有油分 ,内在化学成分也比较协调。在 1989 年品比试验中 ,其产量、质量均居首位 ,详见表 2 和表 3。

表 1 杂种后代的变异系数 (C. V%) 比较						
材料	株高	叶数	叶长	叶宽	侧翼宽	
(TG-8)B ₁	10. 14	16. 16	7. 19	11. 60	14. 95	
革新一号	8. 72	7. 75	11. 37	15. 62	16. 41	
(TG-8)B ₂	11. 16	8. 17	14. 63	7. 67	17. 64	
革新一号	6. 72	5. 82	4. 35	6. 07	11. 16	
(TG-8)B ₃	8. 86	11. 34	4. 26	8. 47	21. 34	
革新一号	4. 45	7. 69	1. 61	3. 42	10. 77	

表 2 雄性不育系 86-6 的产量、品质						
品 系 编号	产 量		级 指		产 值	
	kg /hm ²	位次	平均	位次	元 /hm ²	位次
1	2857. 5	5	0. 075	7	1038. 85	7
2	2892. 0	4	0. 1023	6	1435. 65	6
3	2365. 5	8	0. 2221	3	2521. 05	3
4	3282. 0	3	0. 1480	4	2332. 05	4
革新一号	3303. 0	2	0. 2224	2	3225. 45	2
86-6	3615. 0	1	0. 2290	1	3937. 65	1
7	2815. 5	6	0. 1418	5	1915. 95	5
8	2497. 5	7	0. 0650	8	779. 40	8
9	2202. 0	9	0. 0463	9	489. 90	9

2.2.2 抗黑胫病诱发测定和花叶病、赤星病田间调查结果 ,见表 4。从表 4 可以看出 86-6 对黑胫病的抗性达高抗水平 ;花叶病田间表现属高耐水平 ;赤星病田间自然发病也轻 ,说明该品系综合抗病性较好。

2.3 (86-6× 88-4) F1和 (86-6× 86-1) F1两个一代杂交种主要农艺性状表现

以雄性不育系 86-6为母本,用特香型烤烟新品系 88-4 86-1(两者均为体细胞杂种后代)为父本,组配成一代杂交种 92-7(见封三图版 4)和 92-8(见封三图版 5),经产量和质量测定,优势明显,详见表 5,表 6

表 4 86-6抗病性测定			
品种(系)	诱发鉴定病指	田间调查发病率%	
		花叶病	赤星病
革新一号	32.05	16.67	稍重
86-6	6.82	29.17	轻

表 5 杂种一代 92-7 92-8优势测定

组合	品系	株高 (cm)	叶数 (个)	腰叶长 (cm)	腰叶宽 (cm)
86-6× 88-4	母本 86-6	92.2	25.8	41.3	19.2
	父本 88-4	139.9	28.3	47.4	25.0
	双亲评价值	116.05	27.05	44.35	22.1
	杂种 92-7	133.5	25.9	48.3	24.1
	优势%	115.04	95.75	108.91	109.05
86-6× 86-1	母本 86-6	92.2	25.8	41.3	19.2
	父本 86-1	144.3	28.4	46.5	24.3
	双亲平均值	118.25	27.1	43.9	21.75
	杂种 92-8	140.1	28.6	51.5	24.4
	优势%	118.48	105.54	117.31	112.18

表 6 92-7 92-8与主栽品种 G-140产量、等级比较 (1994年)

品种 或品系	产 量		级 指		产 指		产 值	
	kg /hm ²	位次	指数	位次	指数	位次	元 /hm ²	位次
92-7	1638.3	1	0.2824	2	31.071	1	2610.0	1
92-8	1482.1	2	0.2698	3	30.282	2	2543.7	2
G-140	960.45	3	0.3484	1	22.276	3	1871.25	3

表 7 一代杂交种 92-7 92-8烟叶主要化学成分 (%)

品种(品系)	还原糖	总糖	尼古丁	总氮	蛋白质
92-7	11.88	15.08	2.92	2.07	9.76
92-8	10.11	12.18	1.54	1.73	9.16
G-140	10.33	12.67	2.27	2.05	10.35

表 8 一代杂交种田间抗黑胫病诱发鉴定及花叶病、气候斑、赤星病田间调查 (1994年)

品种(品系)	黑胫病病指	花叶病病指	气候斑病情	赤星病病情
92-7	27.2	36	轻	轻
92-8	19.9	43	轻	轻
G-140(CK)	18.8	47	较轻	重

从表 7可以看出,用 88-4 86-1分别和 86-6配制的杂种一代 92-7和 92-8的主要化学成分比较协调,各项指标均属于适宜范围

由表 8可以看出,92-7 92-8对黑胫病的抗性达高抗水平,田间花叶病发病与对照品种相仿,气候斑和赤星病田间发病均比对照品种轻,即综合抗病能力较强

3 讨论

3.1 传统方法创造烟草雄性不育系的缺陷

植物细胞质与细胞核存在着相互联系和彼此制约的关系,细胞质基因对遗传性状的表现也有较大的影响^[6],如烟草的雄性不育性状,一般说是由细胞质的线粒体基因所控制。为了获得烟草雄性不育系,传统方法

是采用种间有性杂交技术,即以野生烟草为母本与普通烟草杂交,再与栽培烟草连续回交,一般经 BC4~BC5世代才能获得具有野生烟草的细胞质和栽培烟草细胞核的胞质雄性不育系。为了使雄性不育系更多地像栽培烟草,回交常常需要进行到 BC8或 BC9世代^[7]。利用这种传统的方法创造烟草雄性不育系,不仅所需时间较长,而且由于亲缘关系远导致的杂交不亲和性障碍,使有些野生烟草与普通烟草杂交时,常常遇到杂种不孕的情况,从而妨碍了野生烟草不育胞质的转移。

3.2 体细胞杂交创造雄性不育系的优点

由于体细胞杂交涉及到杂交双方的细胞质,从而为细胞质基因的遗传操作提供了机会。通过体细胞杂交可以把植物的细胞质基因如雄性不育基因转移到全新的核背景中,在培育植物新胞质雄性不育等方面具有独特的应用价值^[4, 8, 10, 11]。

利用体细胞杂交转育烟草雄性不育系的关键是获得胞质杂种,即拥有普通烟草的细胞核与野生烟草细胞质的体细胞杂种。这是因为胞质杂种的形态特征与其核供体一普通烟草亲本相同,但表现不育。胞质杂种的遗传性状稳定,用优质抗病烤烟品种连续回交 2~3代后,便可选育出稳定的雄性不育系。新胞质雄性不育系 86-6的选育成功,首先要归功于在普通烟草 (*N. tabacum*)与野生粉蓝烟草 (*N. glauca*)的种间体细胞杂种中,筛选出了胞质杂种植株 TG-8

3.3 新胞质雄性不育系 86-6及其杂种一代的应用价值

我们利用体细胞杂交获得了普通烟草与野生烟草的种间胞质杂种,经回交选育,获得烟草新胞质雄性不育系,并组配一代杂交种首次应用于生产,为体细胞杂交技术与常规育种手段的完美结合开创了先例。新胞质雄性不育系 86-6的农艺性状较好,综合抗病性强。

与特香型烤烟新品系 86-6 86-1组配成的一代杂交种 92-7 92-8优势明显,在生产中具有较大的应用潜力。烟草新胞质雄性不育系 86-6的选育成功,不仅为我国烟草雄性不育的研究和利用提供了新的胞质来源,而且用之组配的一代杂交种在生产上推广种植面积已有千亩,并有进一步扩大的趋势。

参考文献

- 1 佟道儒等. 烟草雄性不育系的转育及其利用的研究. 中国烟草, 1980, (2): 5~ 8
- 2 艾树理. 烟草杂种一代的研究利用现状. 中国烟草, 1987, (3): 38~ 41
- 3 方传斌等. 关于烤烟细胞质雄性不育杂种优势利用问题. 中国烟草, 1995, (3): 6~ 9
- 4 龚明良、卜锅章等. 烟草原生质体融合及其应用. 农作物组织培养 (颜昌敬主编), 上海科技出版社, 1991: 483~ 493
- 5 卜锅章、龚明良等. 烟草体细胞杂种植株当代细胞学观察. 中国烟草, 1984, (2): 1~ 3
- 6 方守熙等. 关于细胞质遗传. 遗传, 1979, (1): 34~ 38
- 7 佟道儒主编. 烟草育种学. 北京: 中国农业出版社, 1997, 285~ 287
- 8 龚明良等. 烟草体杂交育成新品系. 中国烟草学报, 1992, 1 (2): 22~ 28
- 9 龚明良等. 烟草原生质体融合选育新品种进展. 农业科学集刊 (第二集), 1995 13~ 19
- 10 Aviv D. and E Galun. Reslovation of made fertile Nicotiana by fusion of protoplasts derived from two different cytoplasmic male-sterile cybrids. Molecular Biology. 1986, (7): 411~ 417.
- 11 Valentina P and IL Cheva. Application of somatic hybridization to tobacco improvement. Information Bulletin of 1996 CORESTA Congress, 86~ 87

The Creation and Application of New Tobacco Cytoplasmic Male Sterile (CMS) Line 86-6

Sun Yuhe Ding Changmin Zhang Lili Bu Guozhang Gong Mingliang
Qingzhou Tobacco Research Institute, Qingzhou 262500

Abstract

A interspecific hybrid was produced by protoplast fusion between *N. tabacum* ($2n=48$) and *N. glauca* ($2n=24$). The hybrid, designated as TG-8, resembled *N. tabacum* for most of the morphological characters except male sterility. The male sterility keeps no segregations in the back-cross progenies for 12 generations. A new tobacco cytoplasmic male sterile (CMS) line named 86-6 was obtained after TG-8 backed crossed with G-28 for four generations. The F1 hybrids named 92-7 92-8, obtained by crossing 86-6 with 88-4 and 86-1 separately, were also tested for yield, quality and disease-resistance.

Key words: Tobacco Somatic hybridization Cytoplasmic male sterility (CMS) Hybrid vigor