

烟草种间体细胞杂种后代的遗传性状观察和选育

卜锅章 龚明良 丁昌敏 姚绍满 张历历

(中国农业科学院烟草研究所, 青州)

1980年, 通过原生质体融合获得普通烟草与黄花烟草 (*N. tabacum* ⊕ *N. rustica*)、普通烟草与粉蓝烟草 (*N. tabacum* ⊕ *N. glauca*) 种间体细胞杂种植株。对其后代连续七年进行了遗传性状观察和选育。结果表明: 杂种一代呈典型的双亲中间型, 杂种三代和回交二代开始分离, 也有一直不分离的稳定株系和雄性不育株系。杂种后代育性差, 回交能转育并逐步累积轮回亲本性状, 染色体数目则逐渐减少。在杂种后代选育中, 已选出了有一定应用价值的烟草新类型。通过体细胞杂交技术, 有可能开辟出烟草育种新途径。

关键词 烟草; 体细胞杂种; 分离; 育性; 类型选育

近年来, 国内外植物体细胞杂交的研究已得到约80多个组合的种内、种间、属间杂种植株。然而, 有关体细胞杂种后代的遗传性状观察和选育方面报道不多。1981—1987年, 我们对普通烟草与黄花烟草^[1] (简称TR)、普通烟草与粉蓝烟草^[2] (简称TG) 两个组合的体细胞杂种后代进行了自交和回交的遗传性状观察和选育, 初步选育出有一定应用价值的烟草新品系, 把体细胞杂交研究工作向生产应用推进了一大步。

材料和方法

以普通烟草、黄花烟草、粉蓝烟草的叶肉组织为材料, 用纤维素酶 Onozuka R-10和离析酶 Macerozyme R-10分离出原生质体, 聚乙二醇(PEG)作融合剂促使两种原生质体融合。融合体诱导培养成再生植株。

以杂种植株的自交株系和用普通烟草回交的回交株系为材料, 进行观察, 普通烟草作对照。单行区, 每行24—30株。观察、选择出优良单株。对连续两年以上遗

传性状表现稳定的株系进行产量、品质和抗性测定。

试验结果

(一) 融合亲本及杂种植株的形态特征

1. 融合亲本的形态特征: 普通烟草具有粉红色的花, 花筒较长, 叶片较大, 无叶柄(被包在侧翼中), 叶色黄绿(图版 I-1)。黄花烟草具有黄色的花, 花筒较短, 叶片较小, 有叶柄, 叶色深绿(图版 I-3)。粉蓝烟草具有黄色的花, 花筒细长, 叶片小, 表面光滑, 有叶柄, 叶色蓝绿(图版 II-3)。

2. 杂种植株的形态特征: TR组合杂种植株的花淡红色, 介于粉红色与黄色之间, 花筒长度、株高、叶数和叶片大小都介于双亲中间(图版 I-2)。叶柄似有但又有窄小的侧翼。叶色浓绿。TG组合杂种植株的花淡红色(图版 II-6, 中), 花筒长度、叶柄、叶色也表现双亲的中间型(图版 II-2)。杂种植株和亲本性状的观察结果如表 1。

本文于1988年9月19日收到。

表 1 杂种一代与亲本形态比较

Table 1 Morphological comparison of hybrid first generation and parents (Length unit:cm)

亲本或杂种 Plants or hybrid	株高 Height	茎粗 Stem diameter	节距 Nodes distance	叶数 Leaves amount	叶长 Leaves length	叶宽 Leaves width	花长 Flower length	叶柄宽 Leaf stalk width	正常花粉 Normal pollen (%)
普通烟草 <i>N. tabacum</i>	214.0	1.38	7.0	35.5	38.16	21.25	4.9	5.22	80.0
黄花烟草 <i>N. rustica</i>	66.5	0.85	7.2	15.5	19.7	12.6	1.8	0.45	72.9
粉蓝烟草 <i>N. glauca</i>	122.0	1.2	2.52	46.0	13.5	4.5	3.16	0.45	89.57
TR植株	188.0	1.35	6.6	27.5	32.6	16.8	3.2	1.7	22.5
TG植株	137.6	1.28	4.61	26.37	29.34	13.25	4.39	1.27	30.92

(二) 杂种后代的分离

下:

对体细胞杂种自交和与普通烟草回交各五个世代的连续观察, 数量性状变异结果列于表 2, 性状分离情况主要表现如

1. 体细胞杂种二代和回交一代: 株系内的植株形态基本整齐, 没有明显分离现象, 其变异系数(见表 2)大多

表 2 体细胞杂种各世代与回交各世代变异系数

Table 2 The comparisons of hybrid progeny variation coefficient (C.V.%)

项目 Items	杂交代数 SH generation	TR ₄	TR ₇	TG ₁₃	TG ₃₂	T	回交代数 Backcross generation	TR×T	TG×T
株高 Plant height	2	8.01	10.69	14.35	13.45	8.72	1	22.83	10.14
	3	8.34	23.58	13.09	35.45	6.27	2	12.69	13.16
	4	15.60	26.90	10.65	12.49	4.45	3	15.18	8.86
	5	7.40	22.13	10.19	14.15	13.74	4	8.72	7.19
	6	15.06	18.19	14.66	7.93	10.04	5	8.02	6.22
叶数 Leaf amount	2	13.00	13.34	17.29	14.96	7.75	1	8.14	16.16
	3	12.90	25.60	17.21	36.29	5.32	2	12.70	8.17
	4	22.55	33.94	8.55	18.10	7.69	3	18.10	11.34
	5	7.34	24.76	11.56	22.76	5.11	4	5.27	5.01
	6	13.07	21.99	17.96	10.39	5.74	5	7.53	5.89
叶长 Leaf length	2	10.78	7.57	9.01	9.15	11.37	1	4.67	7.19
	3	7.64	14.01	8.11	15.15	4.35	2	15.90	14.63
	4	14.79	6.90	11.50	12.23	1.61	3	10.76	4.26
	5	12.92	23.47	6.89	16.16	8.30	4	7.16	7.49
	6	11.86	21.78	10.82	8.31	6.41	5	2.33	6.18
叶宽 Leaf width	2	21.18	10.56	18.16	8.77	15.62	1	9.40	11.60
	3	10.55	11.38	11.74	22.49	6.07	2	17.20	7.67
	4	11.96	11.87	14.27	14.03	3.42	3	13.09	8.47
	5	13.67	28.72	13.36	9.71	11.07	4	10.34	5.12
	6	11.07	25.59	22.71	12.78	11.16	5	16.61	9.03
侧翼宽 Flank width	2	30.00	17.25	29.87	28.20	16.41	1	18.70	14.95
	3	23.80	50.90	44.33	111.23	11.16	2	22.00	17.64
	4	67.88	78.75	28.41	40.37	10.77	3	28.40	21.34
	5	10.74	71.79	28.64	42.81	22.18	4	34.30	6.29
	6	36.89	32.35	79.06	28.75	28.75	5	32.87	11.17

近于亲本品种。

2. 体细胞杂种三代和回交二代: TR 和 TG 两组合除部分株系继续保持整齐外, 较多的株系表现出分离现象。供试的八个株系中, TR 组合的两个杂种三代表现整齐, 一个分离, 一个回交二代出现分离; TG 组合的一个杂种三代整齐, 二个杂种三代和一个回交二代则表现明显分离。从有分离的 TG 组合的花器官特点看, 大致可分为近普通烟草的红花和近粉蓝烟草的黄花。有的植株花色相同, 但其叶片的侧翼又分为近普通烟草的宽翼型和近粉蓝烟草的窄翼型。由表 2 几种数量性状的变异系数可以看出, 侧翼的宽窄变异幅度最大, 其次为株高、叶数等。

3. 体细胞杂种四代和回交三代: 两个组合中除少数不分离株系仍保持整齐外, 其它株系继续分离, 分离现象变得更加复杂。如 TR 组合的花器官分离为红花和黄花两种类型。从红花中选的单株, 其后代又分离出红、黄两种类型。叶型的分离也有两种以上类型。混播的株系分离类型更多。几个数量性状的变异系数变化仍和上一代相似。

4. 体细胞杂种五代和回交四代: 两个组合的分离现象同上代一样, 原整齐的还是整齐, 分离的继续分离。其分离的类型和复杂程度以及几个数量性状的变异系数除与上代相似外, 从这一代开始, 各株系生长整齐度出现了不同情况, 分离株系进入高度分离时期, 分离类型多而复杂, 没有发现生长整齐的株系。而回交世代, 大多数株系除仍然分离外, 少数株系生长整齐。生长整齐的株系从大田长相看, 同普通烟草几乎相差不多。两组合的株系中都有整齐类型出现。

5. 体细胞杂种六代和回交五代: TR 和 TG 两组合的自交稳定株系仍保持杂种一代双亲中间型, 一直未出现分离现象。在杂种三代出现分离的株系, 至第六代仍为高度分离时期, 这在有性杂种中尚属少见。回交株系中回交五代比回交四代有更多的株系趋向稳定, 但仍有株系继续分离。

(三) 体细胞杂种后代的育性

各自交或回交株系后代的结实性, 各年度间表现不一, 有提高也有下降, 连续三年的调查结果列于表 3。

表 3 杂种后代的结实性

Table 3 Fruit habit in hybrid drogeny

杂种和亲本 Parent & hybrid	单 株 产 果 数 Numbers of fruit per plant			单果种子数 Seeds in Individual	千粒重 Weight 1000/mg
	1981	1982	1983		
TR4	105.0	151.0	75.67	257	186.3
TR13	108.0	9.86	45.33	121	150.6
TR13×T	极少	0.7	18.30		70.6
TR23×T	极少	0.7	31.60	36.48	83.6
TG7	10.3	3.5	18.10	131	40.0
TG13	28.7	10.7	27.6	211	70.6
TG32	25.7	4.5	13.30		
TG8×T	1.0	0.5	0.7		88.6
TG2×G	0	0			
P.T			107.1	1612	70.9
R			63.0	447	218.3
G			29.0	732	56.3

。由表 3 可以看出,两个组合体细胞杂种植株的座果率有一定差异,TR 组合座果较多,TG 组合座果少。不论那一个组合,蒴果小而瘪,种子量少,一般在 200 粒左右,只相当于普通烟草的 1/10。

用普通烟草初次回交,座果率低,回交 2—3 次后,有的座果率已接近轮回亲本,种子量亦与轮回亲本相当。

烟草种间体细胞杂种植株育性低的主要原因,根据我们的观察是雄性器官发育不正常^[3],花粉母细胞不能进行正常的减数分裂,往往不能形成正常的花粉粒,绝大多数是败育的花粉粒。

(四) 体细胞杂种后代的染色体数变化

普通烟草和黄花烟草的体细胞染色体数都是 $2n = 48$,而体细胞杂种植株的染色体数是 60—90 多条(图版 I-6),多为非整倍体,多数不是双亲染色体数之和。粉蓝烟草染色体数是 $2n = 24$,TG 杂种植株的染色体数是 36—72 条,其中以 42—64 条之间者多,也多属非整倍体。

两组合自交后代各有一株始终不分离

株系,遗传性状始终保持双亲的中间型,细胞学鉴定染色体数较多。近二年经多次压片观察,最后确定 TR 一株的染色体数是 96 条。TG 一株的染色体数是 72 条,均为双亲染色体数之和,属双二倍体类型。

杂种植株回交的后代,随着回交代数的递增,染色体数逐渐减少,最后趋向回交亲本的染色体数 $2n = 48$ 。

(五) 体细胞杂种后代的性状改良与烟草育种

几年来,通过对烟草种间体细胞杂种后代的观察看出,杂种后代变异类型比较丰富。有的变异性状属于育种工作者所希望的有利变异。如粉蓝烟草的抗黑胫病和叶斑病能力,黄花烟草的高尼古丁和粉蓝烟草的低尼古丁含量特性可以在杂种植株中得到表现。但是,不可忽视的是某些不良性状在杂种中也得到表现,特别是烟叶难变黄,烟叶烤后颜色暗,呈青褐色,缺油性,破碎多;烟叶化学成份不协调,总糖、还原糖偏低,蛋白质含量偏高,施木克值不适宜(表 4)。所以杂种植株不可能直接被利用,必须改进。

表 4 烟草体细胞杂种植株后代原烟化学成份分析

Table 4 Chemical component analysis of hybrid plants progeny

材 料 Material	还原糖 % Reducing sugar	总糖 % Total sugar	尼古丁 % Nicotine	总氮 % Total nitrogen	蛋白质 % Protein	施木克值 Shmoke value
TR54	12.18	16.96	2.52	3.01	16.08	1.06
TG7	8.12	9.32	0.41	2.89	17.29	0.54
TG13	5.00	5.46	0.37	2.40	14.58	0.37
TG32	3.74	4.90	0.42	2.62	15.89	0.31
大白筋 599 Da baijin 599	12.18	16.96	1.78	2.09	11.14	1.52
革新一号 Ge xin 1	15.32	23.17	0.72	2.45	13.04	1.78

通过用烤烟作轮回亲本回交的方法,可以逐步累加烤烟的优良性状,这既有利于烟叶品质的改进,又可提高育性。

回交次数多少,要以回交株系的农艺

性状和育性以及烟叶品质能否达到人们的要求而定。目前,采用回交、自交及单株选择方法,已经选出一些遗传性状稳定、育性正常的株系,烟叶质量已接近对照亲

本。如TR₁₃×大白筋₅₀₀株系,回交二次后自花授粉已至四代,遗传性状基本稳定,烟叶质量提高,其尼古丁含量2.96%,比对照提高59.80%,施木克值达3.43。而对照品种的尼古丁含量是1.77%,施木克值3.14。

此外,通过体细胞杂交也已获得有高度的雄性不育类型,亦可提供利用。

讨 论

1. 体细胞杂种与有性杂种之间的遗传差异:体细胞杂种与有性杂种比较,由于杂种形成时核内的遗传物质前者是以偶倍体后者以单倍体为单位参与结合的,胞质内的遗传物质前者多为合二为一,而后者则以母性为主。因此,体细胞杂种蕴有较有性杂种更丰富的遗传背景。

有性杂种F₁的遗传表现高度一致,F₂达到分离顶峰,F₃代以后性状逐渐趋于稳定。但体细胞杂种在杂种一代即有不同类型表现。杂种二代的性状基本整齐一致,杂种三代开始分离。杂种六代以后分离仍然继续。杂种后代的分离类型较有性杂种要多,分离的幅度甚至呈“疯狂”型。

值得指出的是,在体细胞杂种后代中还有自始至终不发生分离的株系,这可能是体细胞融合时形成的异源基因组偶倍性的对称性杂种。这种杂种类型在TG、TR组合中均有出现。

在TG杂种组合中,还有雄性不育典型特征的不育类型。表现雄性不育的株系,保持至第八代,雄性不育性的遗传仍然稳定。

由体细胞杂种后代的遗传行为和细胞

学鉴定看出,体细胞杂种后代有遗传性相对稳定的偶倍性异源基因组的多倍体,有遗传性不稳定的非整倍体的多倍体类型,也有异体质核代换形成的新质核关系类型。从而造成体细胞杂种后代的分离和变异范围超越了有性杂种。

2. 体细胞杂种组合之间的遗传差异:从本研究两个体细胞杂种组合融合成功率和后代的类型分离看出,融合亲本的选择也是重要的。均为2n=48的普通烟草与黄花烟草做亲本,融合成功率高于普通烟草与2n=24的粉蓝烟草亲本组合,用普通烟草与2n=18的白花烟草(*N. alata*)的亲本组合,融合的成功率极低。

体细胞杂种后代的分离类型与亲本组合也有很重要的关系,TG组合的分离类型多于TR组合,TG组合中有典型的雄性不育类型,已有稳定的雄性不育系。普通烟草与白花烟草的杂种后代都是呈近普通烟草类型的不对称杂种,没有中间类型。因而,在选择融合亲本时,结合研究目的正确地选择融合亲本可能是获得成功的重要内容。

从文献报道和我们的研究结果看,体细胞杂交虽然也存在着杂种育性低的问题,但通过回交可使杂种逐渐恢复育性。我们亦把黄花烟草的高尼古丁含量和粉蓝烟草的黑胥病、叶斑病抗性通过体细胞杂交转移到了栽培烟草,采用回交转育的方法已选育出了几个稳定株系,正在进行产量、品质和抗病性测定,从实践上支持了体细胞杂交的应用前景。利用体细胞杂交的方法有可能在烟草品种改良方面取得成功。

参 考 文 献

- [1] 中国农业科学院烟草研究所体细胞杂交课题组: 中国烟草, (4):1—40, 1980.
[2] 中国农业科学院烟草研究所体细胞杂交课题组: 中国烟草, (3):14—17, 1981.
[3] 卜钢章等: 中国烟草, (2):1—3, 1984.
[4] Pandeya, R.S. et al.: *Z. Pflanzenzüchtg.*, 96:346—352, 1986.

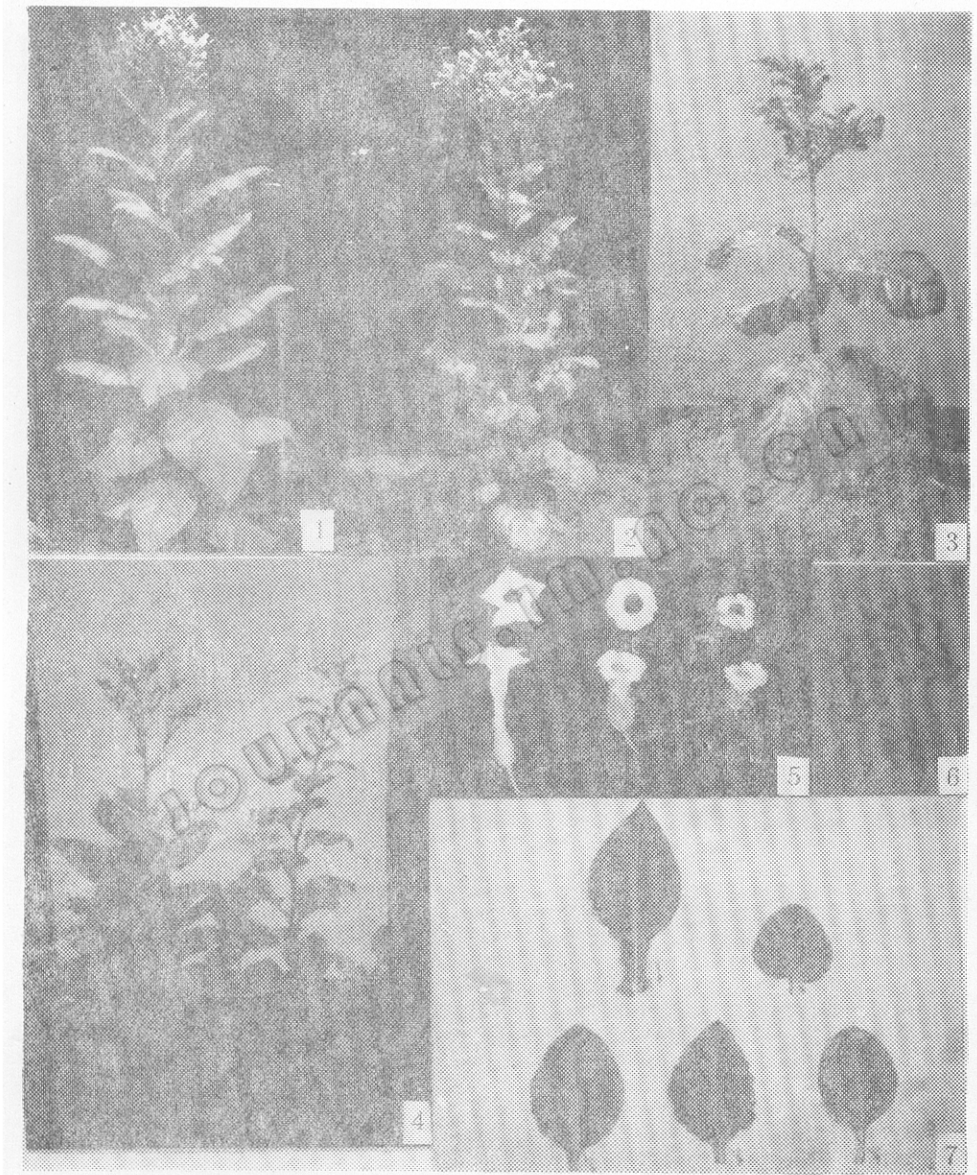
OBSERVATION OF GENETIC CHARACTERS AND SELECTION OF THE INTERSPECIFIC CELL HYBRIDS AND THEIR SUCCEEDING GENERATIONS IN TOBACCO

Bu Guozhang Gong Mingling Ding Changmin Yao Shaoman Zhang Lili
(*Institute of Tobacco Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingzhou*)

The somatic hybrid plants were obtained through protoplast fusion between *N. tabacum* L. and *N. rustica* L. and *N. tabacum* L. and *N. glauca* L. in 1980. The results from the present study show that the performance of the hybrid plants are typical median of the two parental lines involved in the hybridization. Segregation of most characters of hybrid plants begins in SH3 and (SH)B2 generations. However, there is one stable hybrid plant in each protoplast fusion combination mentioned above, respectively and some hybrid plants are male sterile. The fertility of hybrid progenies is generally poor. The characters of recurrent parent can be accumulated gradually via backcrosses and the numbers of chromosomes in hybrid plants are gradually reduced. Having been made selections to the hybrids for more than 7 years, some new types of tobacco have been selected through backcrosses. The conclusion from this study is that it is quite possible to exploit a new tobacco breeding approach with the help of somatic hybridization technique.

Key words

Nicotiana tabacum L.; somatic hybrid plants, segregation; fruit habit; types selection



1. 普通烟草 2. TR杂种植株 3. 黄花烟草 4. TR分离植株 5. 花(左)普通烟草(中)杂种(右)黄花烟草 6. TR杂种植株根尖染色体(近90条) 7. TR杂种植株叶形(下), 上左: 普通烟草, 上右: 黄花烟草。

1. *N. tabacum* 2. the plant of TRSH 3. *N. rustica* 4. segregated plant of TRSH 5. the flower of TRSH(middle), *N. tabacum*(left), *N. rustica*(right) 6. root tip cell chromosome of TRSH(more than ninety) 7. the leaf types of TRSH(lower three leaves)

Bu Guozhang et al., Observation of genetic characters and selection of the interspecific cell hybrids and their succeeding generations in tobacco

plate II



1.普通烟草 2.TG杂种植株 3.粉蓝烟草 4.TG杂种植株分离类型 5.TG雄性不育株系 6.花, 左:普通烟草,中:杂种,右:粉蓝烟草 7.用普通烟草回交的TG杂种植株叶形(下)
1. *N. tabacum* 2. TGSH 3. *N. glauca* 4. segregation plants of TG 5. A-line of TGSH
6. the flower of TGSH(middle), *N. tabacum*(left); *N. glauca*(right) 7. the leaf types of (TGSH × T)(lower)