



第三集

单倍体育种资料集

科学出版社

单倍体育种资料集

第三集

中国科学院北京植物研究所 编译

科学出版社

1977

内 容 简 介

本书收集和选译了国内外单倍体育种资料 31 篇、摘要 5 篇, 书后并附有近年来关于花药培养方面的参考文献。书中介绍了我国在水稻、烟草上利用花药培养技术在上世界上首次育成新品种; 同时还分别叙述了玉米、大麦、杨树、茄子、百合等 8 种植物成功地诱导出单倍体植株, 以及利用理化因子处理在提高诱导频率方面的进展和实验结果。

本书可供育种工作者、有关科研人员、干部、上山下乡知识青年和高等院校师生参考。

单倍体育种资料集

第 三 集

中国科学院北京植物研究所 编译

*

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1977 年 4 月第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1977 年 4 月第一次印刷 印张: 9

印数: 0001—11,550 字数: 205,000

统一书号: 13031·527

本社书号: 773·13—12

定 价: 0.92 元

目 录

烟草新品种“单育一号”培育成功		
..... 山东省烟草研究所	烟草单倍体育种协作组 (1)	中国科学院北京植物研究所
用单倍体育种法育成水稻新品种“单丰一号”的研究报 告		
..... 中国科学院北京植物研究所	单倍体育种协作组 (6)	黑龙江省农业科学院作物育种研究所 松花江地区农业科学研究所水稻实验站
花粉单倍体育种的新成果——水稻新品种“花育 1 号” 及“花育 2 号”培育成功		
..... 天津市农业科学研究所水稻组	中国科学院遗传研究所三室二组 (21)	
一种较好的花药培养基		
..... 中国科学院北京植物研究所	单倍体育种协作组 (26)	黑龙江省农业科学院作物育种研究所
水稻白化花粉植株质体的亚显微结构(摘要)		
..... 中国科学院北京植物研究所	(28)	
关于水稻花粉植株的诱导条件及其遗传学表现的研究		
..... 中国科学院遗传研究所三室二组	(32)	
基本培养基及附加成分在诱导籼稻花药产生愈伤组织 及根芽分化中的作用		
..... 广东省植物研究所遗传室	(50)	
小麦花粉植株的诱导因素和遗传学表现的研究		
..... 中国科学院遗传研究所三室一组	(65)	
小麦单倍体育种工作的初步体会		
..... 黑龙江省农业科学院作物育种研究所	单倍体育种协作组 (82)	中国科学院北京植物研究所

诱导玉米花粉植株的初步研究.....	中国科学院遗传研究所组织培养实验室、四室一组 (90)
诱导大麦花粉植株试验简报.....	浙江农业大学基础课部植物教研组 (101)
杨树花粉植株的诱导.....	中国科学院北京植物研究所 (108)
茄子花药培养的研究.....	北京市农业科学研究所蔬菜室单倍体组 中国科学院北京植物研究所形态组 (115)
从油菜花药培养出花粉植株的研究.....	广东省植物研究所遗传室花药培养组 (121)
烟草花粉植株秋水仙碱玻管浸泡染色体加倍技术探索	广东省农业科学院经济作物研究所烟草组 (133)
从大麦离体花药诱导单倍体植株 D. Clapham (139)	
单倍体百合.....	W. R. Sharp, R. S. Raskin, H. E. Sommer (152)
从马铃薯花药培养诱导出 12 个染色体的植株 Y. Irikura, S. Sakaguchi (155)	
从离体花药培养获得小麦单倍体幼小植株.....	E. Picard, J. de Buyser (158)
颠茄花药培养中单雄生殖的研究.....	E. Misiura, M. Zenkteler (162)
从矮牵牛 <i>Petunia axillaris</i> (Lam.) B. S. P. 花药离体培 养诱导小植株和愈伤组织.....	R. D. Swamy, E. K. Chacko (169)
雄核发育的愈伤组织和单倍体天竺葵植株的起源.....	M. M. Abo El-Nil, A. C. Hildebrandt (172)
变温对于在花药中或从花药分离的毛叶曼陀罗 <i>Datura innoxia</i> 培养的花粉胚胎发生能力的影响	

.....	C. Nitsch, B. Norreel (178)
离体培养时水稻花粉胚胎形成的遗传型差异.....	
.....	S. Guha-Mukherjee (183)
烟草花药产生的单倍体植株——用碳提高频率.....	
.....	S. L. Anagnostakis (187)
离体诱导曼陀罗 <i>Datura metel</i> L. 单倍体、二倍体和三 倍体雄核发育的胚状体和幼小植株.....	
.....	S. Narayanaswamy, L. P. Chandy (189)
烟草胚胎发生的花粉中核酸和蛋白质的含量.....	
.....	S. S. Bhojwani, J. M. Dunwell, N. Sunderland (197)
花粉与花药培养.....	N. Sunderland (206)
曼陀罗花药培养: 花芽发育时期和胚状体倍性水平...	
...K. C. Engvild, IB., Linde-Laursen A. Lundqvist (243)	
来自烟草和番茄的未成熟花粉粒的单倍体愈伤组织和 小植株.....	
.....	W. R. Sharp, D. K. Dougall, E. F. Paddock (246)
在合成培养基上培养分离的花粉.....	C. Nitsch (251)
从千年不烂心 <i>Solanum dulcamara</i> 花粉粒离体发育的 胚和苗.....	M. Zenkteer (255)
龙葵 <i>Solanum nigrum</i> 花药培养的研究...	C. Y. Harn (258)
三种倍性水平的咖啡的愈伤组织的产生.....	
.....	W. R. Sharps, L. S. Caldas, O. J. Crocomo, L. C. Monaco, A. Carvalho (259)
运用花药培养来诱导玉米单倍体植株.....	
.....	村上道夫 高桥信夫 原田贤之 (260)
离心处理对烟草离体花药小植株发生的影响.....	
.....	田中正雄 (261)
参考资料.....	(262)

烟草新品种“单育一号”培育成功

山东省烟草研究所

中国科学院北京植物研究所

烟草单倍体育种协作组

在毛主席革命路线指引下，经过无产阶级文化大革命和批林批孔运动，科技人员深入三大革命第一线，接受工农兵再教育，阶级斗争、路线斗争觉悟有了进一步提高。为了开辟育种新途径，多快好省地培育烟草新品种，为无产阶级政治服务，为社会主义建设服务。我们遵照毛主席关于“**我们必须打破常规，尽量采用先进技术**”的教导，从1971年9月起，两所协作开展烟草单倍体育种的研究。在工作中贯彻执行毛主席的科研路线，实行理论与实践相结合，科研、生产、使用三结合，以及领导干部、贫下中农、科技人员三结合，开展了社会主义大协作，互相学习，取长补短，密切配合；使这项工作取得较快的进展，同时把花粉植株后代直接交给烟区贫下中农，进行群众性的后代鉴定，大大加快了育种速度。1974年在山东省的八个县共十七个基点进行了面积八十多亩的生产示范，在全国烟草单倍体育种会议上进行了现场鉴定，会议认为单倍体育种法应用于烟草生产实践是切实可行的，并把单倍体育种法培育成的“4051”定名为“单育一号”烟草新品种（见图1）。

研究过程中，第一年着重研究花药离体培养条件，培养基的组成，花粉发育时期以及花粉形成“胚状体”的过程，同时培育出1500多株单倍体植株，经过秋水仙碱进行染色体加倍，



图1 单倍体育种法育成的“单育一号”烟草新品种

有 340 株获得二倍体种子。第二年对培养基进行改革试验，用马铃薯提取物代替H培养基（Nitsch，1969）中复杂的有机成份，以利于推广应用。同时从已获得种子的 340 株中，选出 66 个株系进行后代纯合鉴定。1973 年 3 月在全国烟草育种会议上，有关烟草研究单位参加了选育鉴定工作，并提出了鉴定意见。同时在益都、临朐选了三个生产大队种植花粉植株后代，请贫下中农参加鉴定，并在山东烟草所组织了领导、工人、科技人员三结合小组，对烟草花粉植株（已加倍的单倍体植株）的产量、质量、抗病能力进行评选鉴定，从中选出“4051”，“4052”两个较好的株系，进一步鉴定其生产性状。第三年在山东益都等八个县十七个基点进行大面积生产鉴定，由于贫下中农有丰富的实践经验，加上在平原、丘陵、山区进行多点试验，为“4051”，“4052”的鉴定，提供了大量可靠的数

据，加速了单倍体育种进程。经过全国烟草单倍体育种会议现场鉴定，认为“4051”优于它的亲本“革新一号”和“乔庄多叶”，也优于目前在山东烟区大面积生产应用的品种“金星6007”，受到烟区广大贫下中农的欢迎。

一、“单育一号”烟草新品种的获得

“单育一号”烟草新品种是由“革新一号”和“乔庄多叶”杂交一代花药培育成的。“革新一号”是少叶品种，叶数 30 片左右，叶宽椭圆形，株高 1.5 米左右，生育期短；“乔庄多叶”是多叶类型，叶数 60 片以上，叶柳叶形，株高 3 米左右，生长期较长。1971 年 10 月 2 日从“革新一号”和乔庄多叶杂种第一代采集花药，接种在改良的 H 培养基上。加倍方法为 0.2% 秋水仙碱浸泡小苗 24 小时。1972 年 2 月移栽到小花盆，3 月移栽到温室地里，10 月现蕾开花，整个花序结果；当代表现株式筒形，株高 2 米左右；有效叶片 60 片以上，叶形长椭圆形，腰叶长 69 厘米，宽 26 厘米，叶面略皱，叶基较长，叶尖渐尖；花序较散，花冠管较细长，花色深粉红，花瓣中间缺刻较深；蒴果长。群体中没有发现明显分离现象，形态整齐一致，其它性状和当代相近似。大田生育期 145 天左右，自然条件下能收下种子；中抗黑胫病，干叶样品化验分析：总糖 26.03%，还原糖 24.36%，总氮 1.35%，尼古丁 0.39%，蛋白质 8.04%，施木克值 3.24，易烘烤。“单育一号”烟草新品种其形态特征基本上属于父本类型，经济性状上它既保持了“乔庄多叶”叶数多、产量高的特点，又改进了父本“乔庄多叶”叶片太窄、上部叶太小、底烘严重等缺点，经全国烟草单倍体育种会议鉴定，认为它具有产量高，质量较好，有一定抗病能力的优良品种。可在黄淮烟区作春烟栽培推广。

二、烟草单倍体育种方法

烟草单倍体育种法概括起来包括杂交亲本的选配；单倍体植株的诱导；染色体的加倍；当代选择和后代鉴定等4个环节。

1. 杂交亲本的选配 杂交亲本的选配与后代类型的表现是有密切关系的，是关系到单倍体育种法能否选出新品种的关键性问题。其选配原则和常规杂交育种法相同。三年来我们共选配了24个杂交组合，进行了花药培养。

2. 单倍体植株的诱导 选择合适的花粉发育时期进行人工培育，是获得花粉植株的重要关键之一。关于烟草花药培养的合适时期，有过不同的报道。我们的实验结果表明，处在单核靠边期的花粉是烟草花药培养的最适时期，出苗率最高。

培养基以H培养基效果较好，但其中的蔗糖浓度从2%提高到3%能显著提高出苗频率。H培养基配方复杂，有些有机成分价格昂贵，不利于开展群众性的科学实验，为了因地制宜，普及烟草单倍体育种工作，我们对H培养基进行了简化试验。改革后的培养基由20—30%马铃薯汁、3%蔗糖、1%活性炭、0.8%琼脂及H培养基中的五种大量元素和铁盐组成，培养效果良好。

3. 烟草单倍体植株的加倍 加倍方法有三种：

(1) 秋水仙碱溶液浸泡小苗，加倍频率达35%；

(2) 秋水仙碱处理生长锥，加倍频率可达25%；

(3) 愈伤组织培养，加倍频率较高，可达60%以上。

加倍方法可以根据具体情况灵活应用，首先可采用小苗浸泡方法，如不成功，可再考虑生长锥或愈伤组织加倍方法。愈伤组织加倍方法中又以茎的愈伤组织加倍频率高于叶柄和

叶片的愈伤组织。

4. 烟草花粉植株当代选育和后代鉴定

(1) 由杂种 F_1 花粉产生的花粉植株是能够产生性状重组的新类型。其分离范围和杂种 F_2 一样,也是相当广泛的。因此,亲本组合的选配和当代植株的选择是非常重要的。

(2) 花粉植株二代是纯合二倍体,其农艺性状都表现整齐一致。

(3) 花粉植株后代遗传性状相对稳定,即一旦形成纯合二倍体以后,其后代没有明显的分离现象,各种性状的遗传性和定型品种一样,是相对稳定的。

单倍体育种法是对常规育种的重大技术革新。通常采用杂交育种方法,因其后代的遗传性状不断发生分离,需要六、七年甚至更长的时间才能获得遗传性状稳定的品种,而采用杂交一代的花药培养,诱导花粉产生单倍体植株,经染色体加倍,其后代遗传性状基本整齐一致,可以大大缩短育种年限,简化育种程序,节省人力物力。如培育“单育一号”新品种,从培养杂交一代花药算起,只用了三年时间。

“单育一号”的培育成功,充分显示了我国社会主义制度的无比优越性,这是无产阶级文化大革命的丰硕成果,是对林彪一伙诬蔑攻击无产阶级文化大革命伟大成就的有力回击,是毛主席革命科研路线的伟大胜利!

烟草单倍体育种法是个新技术,在实践应用中有待进一步提高。某些问题还需继续研究解决,如品种间的差异还很大;有的品种花药出苗率很低;染色体加倍方法和花药培养技术需要进一步改进;花粉植株后代遗传规律等问题,尚需进一步深入研究。今后必须开展社会主义大协作,走群众路线,把单倍体育种工作提高到一个新水平,为我国农业生产提供更多、更好的新品种。(原载《植物学报》,1974年,第4期)

用单倍体育种法育成水稻新品种

“单丰一号”的研究报告

中国科学院北京植物研究所

黑龙江省农业科学院作物育种研究所 单倍体育种协作组

松花江地区农业科学研究所水稻实验站

摘 要

本文报道运用单倍体育种技术培育水稻新品种的研究结果。用 N_6 或 Miller 培养基诱导花粉愈伤组织,并使其分化出单倍体和自然加倍的二倍体花粉植株。用秋水仙素或富民隆使单倍体植株染色体加倍。来源于杂种的花粉植株当代表现多种多样,二代基本整齐一致,后代没有生活力减退现象。通过对花粉植株后代的选择鉴定,从中决选出三个优良品系(单3,单4,单8),并进行了广泛的区域性鉴定和生产示范,其中的“单4”品系于1975年8月经水稻单倍体育种会鉴评,命名为“单丰一号”。“单丰一号”水稻亩产1200斤左右,适于在松花江南部地区推广。

还讨论了水稻单倍体育种技术和后代选育的有关问题。

水稻花药培养工作近几年来有很大的进展。但花粉植株诱导频率还比较低,不能满足水稻育种的需要。特别是将这一方法实际用于育种、快速拿出新品种为生产服务还有许多尚待解决的问题。

在毛主席革命路线指引下,为适应农业生产发展对种子工作的要求,我们从1971年开始从事水稻花药培养工作。几

年来,工作重点一直在提高花粉植株的诱导频率和后代的选育上。本文着重报道这方面的结果。

一、材料和方法

供试材料为粳稻 (*Oryza sativa* subsp. Keng) 杂种 F_1 和 F_2 的花药。取材时注意了组合的选择。取孕穗期的稻穗,用醋酸洋红压片镜检以确定花粉发育时期,接种花粉处于单核期的花药。稻穗事先用 10% 的漂白粉溶液上清液灭菌 10 分钟,经无菌水冲洗,在无菌条件下取花粉接种于培养基上,置 18—28 度条件下培养。

采用 Miller 和 N₆ 基本培养基。诱导愈伤组织时,附加 2, 4-D 2 毫克/升。当愈伤组织分化幼苗时,将愈伤组织转移到不含 2, 4-D、加或不加 IAA(或 NAA) 和动力精的培养基上。

除自然加倍外,用秋水仙素水溶液和富民隆悬浮液¹⁾浸根使之加倍。

花粉植株后代,采用塑料薄膜湿润育苗,9 × 3 寸大垄单本移栽。于抽穗期进行人工接种稻瘟病菌。于分蘖期、抽穗期、成熟期进行了田间调查、选择和群众性鉴评。

入选品系当年冬在海南作进一步的鉴定和繁殖。

决选品系进行区域性鉴定。并根据品系特性选择适宜地区与当地良种进行大面积对比生产示范。

二、实验结果

(一) 花粉植株的诱导与分化

1. 花粉愈伤组织的诱导 开始采用 Miller 培养基进

-
- 1) 悬浮液制备: 先将药粉倒入约 20 倍量的丙酮中,加热使之溶解,而后将丙酮溶液徐徐倒入蒸馏水中,并加以搅拌,制成乳白色悬浮液。

行水稻花药培养,获得了花粉愈伤组织和植株,但产生频率很低。1971、1972 两年实验结果,产生愈伤组织的平均频率为 3.39%,产生幼苗占接种花药数的 1.06%。从实验结果看出,同一材料在不同培养基上产生愈伤组织的频率不同。更值得注意的是,在同一培养基上愈伤组织出现的频率因材料不同而有很大的差异。通过改变培养基中的有机附加成分使花粉愈伤组织的诱导频率有所提高,但不甚明显。1974 年,我们对培养基中的氮源做了系统的比较实验,建立了一种高效的水稻花药培养基——N₆ 培养基。在这种培养基上,水稻花粉愈伤组织诱导频率有大幅度的提高,最高达到 50%。

关于花粉发育时期,我们曾观察到处于四分孢子期的幼嫩花药,接种后始终保持淡黄色,既不裂开也不产生愈伤组织。处于二核或三核期的花药接种后易于变褐色,但很少产生愈伤组织。只有花粉处于单核后期的花药逐渐由淡黄色变褐色至黑褐色,药室纵向裂开,随即长出白色球状愈伤组织,有些花药中有一个以上的花粉粒产生愈伤组织。通过几年来的形态观察和镜检,我们注意到花粉为单核后期的颖花有如下特征:

- (1) 颖壳宽度已接近最终大小,但颜色为淡黄绿色;
- (2) 颖壳较幼嫩,容易用镊子刺穿;
- (3) 雄蕊总长度大于颖壳长度的 $\frac{1}{3}$, 接近其 $\frac{1}{2}$ 。

2. 花粉愈伤组织的分化 去掉诱导愈伤组织的培养基中的 2, 4-D, 添加 IAA 0.2 毫克/升, 动力精 1 毫克/升, 即可诱导愈伤组织分化幼苗。N₆ 培养基上幼苗分化的频率较 Miller 培养基高。

值得提出的是,在无任何激素的培养基上,水稻花粉愈伤组织也能分化出苗来,且分化频率与激素存在的培养基大体相同(表 1)。这一初步结果表明,对目前花粉植株诱导频率较高的水稻来说,为了开展群众性水稻单倍体,进一步简化培

表 1 激素对水稻花粉愈伤组织分化的影响*

吲 哚 乙 酸 (毫克/升)	动 力 精 (毫克/升)	愈伤组织块数	分化苗的愈 伤 组 织 数	%
0.2	1.0	14	7	50.0
0	0	12	6	50.0

* 所用材料为花粉株系 71—11。基本培养基为 N₆。

培养基组成是值得研究的。

当采用二次诱导法时,比一次诱导的效果为好(表 2)。

表 2 不同诱导法对愈伤组织分化的影响

诱导方法	愈伤组织数	绿苗数	%	白苗数	%	总苗数	%
一次诱导法*	50	9	18.0	7	14.0	16	32.0
二次诱导法**	10	7	70.0	1	10.0	8	80.0

* 培养基为 Miller+IAA 1 毫克/升+动力精 2 毫克/升。

** 先将愈伤组织移至 Miller+IAA 0.1 毫克/升+动力精 2 毫克/升,芽点出现后,再移至 Miller+IAA 2 毫克/升+动力精 2 毫克/升。

在我们的实验中,各种培养基出现白化苗的频率大都接近甚至超过 50%。在 N₆ 培养基和其他改换氮源的培养基上,白化苗也接近 50%。表明改换氮源不能控制白化苗的发生。

我们曾对培养基中镁的含量作过实验,结果如表 3。从表 3 看出,在镁含量变化较大的情况下,对白化苗的发生频率无明显影响。

表 3 在镁含量不同的培养基上白化苗的频率*

MgSO ₄ (毫克/升)	分化总苗数	白 苗 数	白苗率(%)
185	64	23	51.6
740	47	26	55.4
1480	50	25	50.0

* 供试材料为廉江密早,基本培养基为 N₆。

我们曾把培养基中铁盐的浓度提高 2—3 倍,也没有观察到对白化苗的发生频率有明显的作用。

综上所述,无论是改变氮源,或是调整镁盐和铁盐的浓度,对白化苗的发生频率均无明显的作用。这初步表明,白化苗的成因主要是愈伤组织的内在因素,只有弄清楚白化苗发生的内在原因之后,在解决内部矛盾的基础上,结合控制外部条件,才能降低白化苗的发生频率。

3. 花粉植株的染色体加倍 我们所获得的花粉植株,约有 50% 是单倍体植株,其余的是能够正常开花结实的二倍体。二倍体花粉植株的出现率随着愈伤组织的年龄而增高,在愈伤组织产生后 30—50 天再转移分化时,能结实的植株比率可达 80%。将其后代进行遗传学分析,没有遗传性状的分离,表明它们是在培养过程中发生核内有丝分裂而自然加倍的。

从育种角度出发,这种加倍效率还是不够的。我们采用了秋水仙碱水溶液和富民隆悬浮液对花粉植株一代 ($H_1^{(1)}$) 中的单倍体植株进行浸根处理,收到了较好的效果(表 4)。

(二) 花粉植株后代的观察

通过几年来的田间观察和室内考种,可以看出以下几点:

(1) 在同一组合中花粉株系间表现了多样性,同一组合各花粉株系间在熟期上有早有晚。如 7104-1 是 9 月 20 日,而 7104-6 是 9 月 14 日; B_1 -8B-1 是 9 月 24 日,而 B_1 -8B-11-2 为 9 月 15 日。在株形上有的像父本,有的像母本。如 7104-5 像母本,而 7104-8 像父本。有些是超亲类型,如 7224-1 (单 3), 7224-2 (单 4), B_1 -8B-11-2 (单 8) 等分蘖力强,穗数多,长势壮。我们在获得的各个杂交组合中都观察到双亲性状在

1) H 为汉语拼音 Huafenzhizhu (花粉植株) 一词的第一个字母,用作花粉植株的代号。 H_1 表示花粉植株第一代, H_2 表示第二代,依次类推。

表4 水稻单倍体花粉植株人工加倍情况

材 料 名 称	药剂及浓度	处理时间 (小时)	处理 方法	处理 丛数*	结实 穗数
H ₁ (牡丹江 13×京引 143)	秋水仙碱0.2%	24	浸根	1	1
"	"	48	"	1	1
"	"	72	"	1	0
"	"	96	"	1	0
"	"	120	"	1	0
H ₁ (京引 58×京引 39)	"	24	"	1	7
"	"	48	"	1	14
"	"	72	"	1	0
"	"	96	"	1	0
"	"	120	"	1	2
"	富民隆 0.2%	24	"	1	0
"	"	48	"	1	0
"	"	72	"	1	0
"	"	96	"	1	0
"	"	120	"	1	1

* 将不结实的花粉植株地上部剪去,再生出芽,每盆除留少许芽作对照外,余下的全部拔出洗净,分成5—10丛(每丛3—5分蘖)作浸根处理。

表5 来源于杂种F₁的花粉植株二代及其亲本一些性状考种结果

项 目 \ 材 料	杜交 19 号	延梗 6 号	H ₂ (杜交 19 号 × 延梗 6 号)
株高(厘米) $\bar{x} \pm S$ C.V.	97.8±2.6 2.7	99.8±5.4 5.4	103.2±1.5 1.4
穗长(厘米) $\bar{x} \pm S$ C.V.	18.8±0.9 5.1	18.6±1.5 8.2	20.2±1.0 5.1
有效穗数 $\bar{x} \pm S$ C.V.	15.8±3.2 20.9	14.2±1.9 13.0	16.2±1.0 6.4
总粒数 $\bar{x} \pm S$ C.V.	133.3±38.8 29.1	119.2±7.7 6.5	173.8±26.1 15.0