

航天搭载诱变获得多腋芽矮化遗传的烟草突变体—*T-srd*

郑少清, 胡重怡, 叶定勇, 蔡刘体*

(贵州省烟草科学研究所, 贵阳 550081)

摘要: 从搭载神舟三号上天的烤烟品种 GT11 (*Nicotiana tabacum* var. GT11) 后代中, 筛选到稳定的多腋芽矮化突变体 (*T-srd*, Tobacco of Sucker-rich and Dwarf mutant)。利用正反交和测交获得 F_1 、 F_2 和测交群体, 通过田间观察与苗期观察相结合的方法, 对该突变体进行性状分析, 研究其遗传规律。结果显示, 该突变体播种后 5 周左右 (31~38 d) 即在第一真叶节位处发生腋芽, 此时 GT11 和正交、反交群体 (F_1) 无腋芽出现。经卡方检验表明, 正交和反交的 F_2 烟苗群体中有腋芽烟苗和无腋芽烟苗比例符合 1:3 分离规律, 有一个测交组合符合 1:1 分离规律。移栽后 90 d, *T-srd* 的株高 (161.73±16.30) cm, 比 GT11 矮 24.45%, 节距 (3.77±0.24) cm, 比 GT11 低 31.33%, 茎围 (10.03±0.42) cm, 比 GT11 低 12.71%, 以上指标与 GT11 间存在极显著差异。叶数与 GT11 相当, 没有显著差异。田间 *T-srd* 的腋芽自茎基部萌发, 并逐步向上发展, 与顶芽间存在距离效应。结果表明, *T-srd* 多腋芽性状符合孟德尔分离规律, 该性状属于质量性状, 可能由单基因隐性突变所致。

关键词: 烟草; 航天诱变; 多腋芽; 矮化; 突变体; 遗传规律

中图分类号: S572.02

文章编号: 1007-5119 (2011) 02-0006-05

DOI: 10.3969/j.issn.1007-5119.2011.02.002

A Tobacco Mutant, *T-srd* with Characters of Abundant Sucker and Dwarfness was Obtained by Aerospace Mutation

ZHENG Shaoqing, HU Zhongyi, YE Dingyong, CAI Liuti*

(Guizhou Tobacco Research Institute, Guiyang 550081, China)

Abstract: A dwarf mutant with abundant sucker was observed in populations of second generation of *Nicotiana tabacum* (L) cv. GT11 which experienced space mutation in a recoverable satellite, the Chinese third unmanned spacecraft "Shen-Zhou III", and these heredities were stable. It was named as *T-srd*, Tobacco of Sucker-rich and Dwarf mutant. The suckers of *T-srd* emerged at the first leaf node in 5 weeks after sowing. In field, the emergence of sucker was orderly from bottom to top, and under the control of the apical bud, which had no sucker until the node laid under half of the stalk height at first flower stage. At 90 days after transplanting, the plant height, length of internodes, and stem girth of *T-srd* were lower than those of GT11. There was no sucker-rich and dwarf phenotype in F_1 population, and the segregation ratio in F_2 population of seedling between sucker-rich and sucker-free phenotype in Chi-square test followed the Mendel Genetic Law. Those results suggest that the sucker-rich and dwarf trait is a qualitative character which belongs to recessive mutation controlled by single gene.

Keywords: tobacco; aerospace mutation; sucker-rich; dwarf; mutant; rule of inheritance

随着人类活动范围不断扩大, 太空环境受到人们的广泛关注^[1]。太空的高度优势、太阳能、微重力、高能重粒子和高真空等已经得到不同程度的开发利用。太空生命科学在这一背景下应运而生, 它的基本任务是研究地球生物在太空环境条件下的生命活动规律及其与人类的关系。人们以航天飞

机、空间站、返回式卫星、高空气球、探空火箭、宇宙飞船等为运载工具, 迄今为止已研究了太空环境对动物^[2-5]、植物^[6-11]、微生物^[12-14]等的影响。

广泛的研究表明, 空间诱变作物具有诱变频率高, 变异幅度大, 多数性状变异能够遗传 (生理性变异除外)^[15-18, 22], 有些变异是迄今地球上

基金项目: 国家烟草专卖局资助项目 (981057); 贵州省烟草专卖局资助项目 (04-01)

作者简介: 郑少清, 男, 硕士, 主要从事烟草育种研究及科技论文编辑工作。E-mail: shaoqzheng@163.com。*通信作者, E-mail: cailiuti01@163.com

收稿日期: 2009-10-19

修回日期: 2010-01-27

用其他诱变因素处理难以出现的。因而把空间诱变作为农作物遗传育种的一种新途径已受到国内外遗传育种界的广泛关注^[15]，并取得明显效果^[18]。

烟草作为一类重要经济作物，国内在 863 计划期间曾开展过种子和愈伤组织搭载^[1]，但未见发现突变体的报道。自 2002 年以后，贵州省烟草科学研究所利用神舟 3 号搭载 13 个烤烟品种上天，陆续从 K326、春雷 3 号、GT11 和 K346 等推广品种中获得了一些变异材料^[19-21]。本文研究了 *T-srd* (多腋芽矮化突变体, Tobacco of Sucker-rich and Dwarf mutant) 的基本特征、稳定性以及变异性的遗传规律。

1 材料与方法

1.1 材料

GT11 是全国审定品种。2002 年贵州烟草科学研究所将包括 GT11 在内的 13 个烤烟品种搭载神舟三号上天，回收后开展田间观察试验，2005 年从 GT11 SP₂ (诱变子 2 代) 群体中发现 1 株多腋芽矮化突变株 (*T-srd*)，经连续 2 年的田间观察，该性状稳定出现，表明该变异可遗传。以 *T-srd* 和 GT11 作正交和反交，收获了 F₁ 和 F₂ 代种子，同时以 *T-srd* 为父本，正反交 F₁ 为母本进行测交，获得测交 1 代种子。

1.2 方法

1.2.1 育苗 采用漂浮育苗法 (Floating Tray System)，基质与苗肥来自黔南金福有限责任公司，按漂浮育苗操作技术规程执行。2008 年 2 月 28 日播种，用于田间栽培观察。自 2009 年 5 月 20 日起，正反交组合 F₁ 和 GT11 种子每周播种 1 次，每个材料播 20 孔，共播种 4 次，用于苗期腋芽发生观察。同时将正反交 F₂ 和 GT11 种子各播种 2 盘，测交 1 代种子各播 1 盘 (每盘 160 孔)，作性状分离情况统计，样本量以实际成苗数为准。

1.2.2 大田栽培 试验在福泉基地进行。按常规栽培，施氮量 90 kg/hm²，每个材料 5 次重复，每重复

种 36 株。行距 × 株距 = 110 cm × 60 cm。田间管理按优质烟栽培管理措施进行。

1.2.3 观察记载 苗期：从三真叶期开始观察腋芽发生时期及发生部位，同时拍照。在第一次播种后 57 d 统计 F₂ 代和测交组合的烟苗群体中性状分离情况。

大田期：在移栽后 42 d 和 90 d 测量自然株高、茎围、节距、叶数、叶长宽，同时拍照。

1.2.4 统计分析 采用 SPSS 统计软件中的 One-way Anova 分析植物学性状的差异显著性，采用卡方检验法分析杂交后代分离比。

2 结果

2.1 *T-srd* 的特点

2.1.1 *T-srd* 腋芽发生时间与部位 苗期观察发现，*T-srd* 在播种后 38 d 即出现肉眼可见的腋芽 (图 1)，而播种后 31 d 的烟苗上未出现腋芽，推测腋芽发生时间应该在播种后 5 周左右 (31 ~ 38 d)。至播种后 45 d，腋芽第一片叶已清晰可见。而对照 GT11 在此 3 个时期均未发现腋芽。

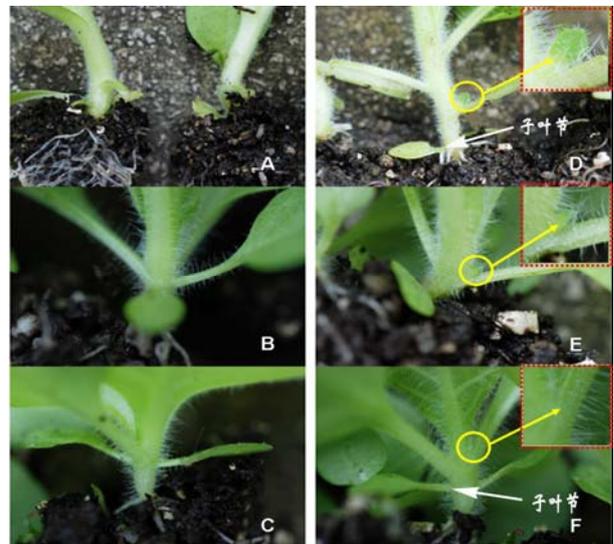


图 1 *T-srd* 腋芽发生时期观察

Fig.1 Observation on timing of sucker emergence

注：A：GT11，播种后 45 d；D：*T-srd*，播种后 45 d；
B：GT11，播种后 38 d；E：*T-srd*，播种后 38 d；
C：GT11，播种后 31 d；F：*T-srd*，播种后 31 d；

图 1D 和 F 显示,子叶节上未发生腋芽,腋芽是从第一真叶节位开始发生的。

2.1.2 *T-srd* 的田间表现 *T-srd* 在移栽后 15~20 d 腋芽即已发生。移栽后 57 d,腋芽自下而上生长明显(图 2 左)。移栽后 90 d,烟株上腋芽丛生(图 2

右)。在整个生育期中,*T-srd* 的株高始终低于 GT11,而对照 GT11 腋芽生长不明显。

2.1.3 *T-srd* 的植物学性状 *T-srd* 发现之初,与 GT11 相比株高较矮,茎围较细,节距较密,叶数相差不大,叶长变短,叶宽与 GT11 相当,叶面积较小(表 1)。



图 2 *T-srd* 田间表现
Fig.2 *T-srd* in field

表 1 2005—2006 年度突变株 *T-srd* 性状观察 ($n=10$)

Table1 Observation of the characters of *T-srd* in field in 2005 and 2006

| 年度 | 株高/cm | 茎围/cm | 节距/cm | 叶数/片 | 叶长/cm | 叶宽/cm | 叶面积/cm ² |
|----------------------|-------------|------------|-----------|------------|------------|------------|---------------------|
| 2005 (单株) | 84.50 | 9.75 | 3.15 | 21.50 | 64.20 | 31.85 | 1297.40 |
| 2006 ($n=10$) | 91.40±5.24 | 9.70±1.43 | 4.56±0.73 | 18.40±2.86 | 64.34±3.30 | 33.06±6.60 | 1351.55±293.54 |
| 2006 GT11 ($n=10$) | 116.00±5.27 | 10.80±1.04 | 5.70±0.29 | 19.40±1.11 | 75.56±4.41 | 33.84±1.67 | 1621.90±112.80 |

注: n 为观察样本数。

田间观察发现(表 2),移栽后 42 d,*T-srd* 的株高、叶数、叶长宽低于 GT11 和正反交组合(F_1),其中株高矮 38%~42%,叶数少 2.1~3.1 片,叶长短 19%,叶宽短 17%~20%。方差分析结果表明,*T-srd* 与 GT11 和正反交组合之间存在极显著差异,但这些性状在 GT11 和正反交组合之间差异不显著。

移栽后 90 d,*T-srd* 的株高、茎围和节距低于 GT11 和正反交组合,其中株高、茎围、节距分别低 21%~26%,11.5%~15%和 29.8%~35.11%,方差分析表明存在极显著差异。这些性状在 GT11 和

正反交组合间差异不显著,所有参试材料的叶数均无显著差异。

与 GT11 相比,*T-srd* 的植物学性状具有株高较矮、茎围较细、节距较密、腋芽发生早而且生长茂盛等特点,这些性状一直保留。虽然叶数与 GT11 相当,但 42 d 前出叶数比 GT11 略少(表 2)。

T-srd 的腋芽是从烟株基部开始生长,逐渐向上发展。到初花期,发生腋芽的节位已接近全株节位的 50%左右,平均为 14.9 节/株。所在节位高度为株高的 47%左右,平均距离为 64.9 cm(表 3)。结果表明,*T-srd* 腋芽生长的节位与顶芽之间存在距离

表 2 移栽后 42 d 和 90 d 参试材料部分植物学性状 ($n=180$)

Table 2 Characters of materials tested at 42 days and 90 days after transplanting

| 参试材料 (组合) | 株高/cm | | 茎围/cm | 节距/cm | 叶数 | | 叶长/cm | 叶宽/cm |
|--------------------|-------------|----------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 移栽后 42 d | 移栽后 90 d | 移栽后 90 d | 移栽后 90 d | 移栽后 42 d | 移栽后 90 d | 移栽后 42 d | 移栽后 42 d |
| GT11 | 24.69±1.01A | 214.07± 12.00A | 11.80± 0.73A | 5.49± 0.28A | 12.05±0.21A | 29.20±1.72A | 54.36±0.98A | 30.66±0.51A |
| GT11× <i>T-srd</i> | 23.87±0.95A | 214.93± 13.26A | 11.33± 0.74A | 5.81± 0.35A | 12.28±0.25A | 28.47±1.20A | 52.78±0.99A | 30.21±0.53A |
| <i>T-srd</i> ×GT11 | 23.05±1.11A | 206.40± 15.40A | 11.33± 0.74A | 5.37± 0.24A | 11.83±0.23A | 29.33±1.70A | 52.35±0.79A | 31.24±0.69A |
| <i>T-srd</i> | 14.30±0.62B | 161.73± 16.30B | 10.03± 0.42 B | 3.77± 0.24B | 11.23±0.19B | 30.20±1.84A | 44.00±0.69B | 25.08±0.42B |

注：表中大写字母表示达 0.01 极显著差异。

表 3 初花期 *T-srd* 腋芽发生的节位分析 ($n=10$)

Table 3 Analysis on node position of sucker emergence at first flowering stage

| 统计量 | 株高/cm | 无腋芽节位到 顶芽距离/cm | 迟发腋 芽节数 | 单株叶数 |
|------|---------------|-------------------|-------------|-----------|
| 均值 | 135.8±8.79 | 64.9±4.82 | 14.9±1.47 | 29.8±1.00 |
| 上、下限 | 127.01-144.59 | 60.08-69.72 | 13.53-16.27 | 28.8-30.8 |

效应，离顶芽越远的节位腋芽发生越早，至初花期时，顶端优势的影响范围占株高的一半左右。

2.2 *T-srd* 性状稳定性分析

对移栽后 90 d 的叶长宽、叶数和株高等植物学性状的稳定性进行分析 (表 4)。 *T-srd* 叶长、叶宽、叶数和株高的变异系数 ($CV\%$) 接近或低于 GT11 和正反交组合 (F_1)，以 $CV\%$ 的倒数代表性状整齐度， *T-srd* 的性状整齐度接近或高于对照 GT11，说明 *T-srd* 群体基本稳定。

2.3 *T-srd* 遗传规律分析

在播种后 57 d 时统计正反交的 F_2 代和测交后代烟苗的多腋芽性状分离情况 (表 5)，在此，多腋芽性状表现为腋芽发生早，而且都是从第一真叶节

开始发生 (图 1)。在 F_2 及测交后代烟苗中，只存在无腋芽和有腋芽两种类型。

按 1:3 理论分离比对 F_2 代性状进行卡方检验。

F_2 (*T-srd* × GT11) 组合的烟苗中，有腋芽和无腋芽比值为 1:2.97，经检验， p 值大于 0.05； F_2 (GT11 × *T-srd*) 的烟苗中，有腋芽和无腋芽分离比为 1:3.26，经检验， p 值也大于 0.05。结果说明正反交 F_2 代实测值与理论值之间差异不显著，性状分离符合 1:3 分离比。测交组合 (GT11 × *T-srd*) × *T-srd* 有腋芽和无腋芽的比例为 1:1.13，经检验 p 值大于 0.05，说明实测值与理论值之间差异不显著，性状分离符合 1:1 的分离比。但是测交组合 (*T-srd* × GT11) × *T-srd* 有腋芽和无腋芽的比值为 1:1.56，经卡方检验， p 值在 0.01 ~ 0.05 之间，说明实测值与理论值之间存在显著差异。

GT11 × *T-srd*、*T-srd* × GT11 (F_1) 群体中，未发现腋芽丛生且植株矮化现象，在 GT11 × *T-srd*、*T-srd* × GT11 (F_2) 烟苗群体中，卡方检验结果表明，苗期腋芽的有无符合 1:3 的分离规律，测交组合

表 4 *T-srd* 和 F_1 代植株部分植物学性状的稳定性分析 ($n=180$)

Table 4 Analysis on stability of part of botanical characters of *T-srd* ($n=180$)

| 参试材料 (组合) | 叶长 | | 叶宽 | | 单株叶数 | | 株高 | |
|--------------------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|
| | $CV\%$ | 整齐度 | $CV\%$ | 整齐度 | $CV\%$ | 整齐度 | $CV\%$ | 整齐度 |
| GT11 | 12.20 | 8.19 | 11.30 | 8.85 | 11.65 | 8.59 | 27.80 | 3.60 |
| GT11× <i>T-srd</i> | 12.78 | 7.82 | 11.87 | 8.42 | 13.94 | 7.18 | 27.10 | 3.69 |
| <i>T-srd</i> ×GT11 | 10.26 | 9.75 | 14.99 | 6.67 | 13.10 | 7.63 | 32.71 | 3.06 |
| <i>T-srd</i> | 10.68 | 9.36 | 11.31 | 8.84 | 11.41 | 8.76 | 29.68 | 3.37 |

表 5 *T-srd* 正交和反交的 F_2 代及测交后代多腋芽性状分离比的卡方检验

Table 5 Chi-square test on segregation ratio of sucker-rich character in population of F_2 and test cross of *T-srd*

| 参试材料 (组合) | 有腋芽 (预测值) | 无腋芽 (预测值) | n | ν | χ^2 | p 值 |
|------------------------------------------|-------------|-------------|-----|-------|----------|-----------------|
| GT11× <i>T-srd</i> (F_2) | 61(60.50) | 181(181.50) | 242 | 1 | 0.00 | >0.05 |
| <i>T-srd</i> ×GT11(F_2) | 65(69.25) | 212(207.75) | 277 | 1 | 0.18 | >0.05 |
| BC2 (GT11× <i>T-srd</i>) × <i>T-srd</i> | 63(67.00) | 71(67.00) | 134 | 1 | 0.24 | >0.05 |
| BC1 (<i>T-srd</i> ×GT11) × <i>T-srd</i> | 105(134.50) | 164(134.50) | 269 | 1 | 6.55 | 0.01< p <0.05 |

(GT11 × *T-srd*) × *T-srd* 烟苗群体符合 1:1 的分离规律。以上说明 *T-srd* 的多腋芽性状(苗期腋芽早发生)属于隐性突变,而且可能是单基因突变所致。

3 讨论

空间环境对生物体的影响机制尚未完全清楚,目前认为空间环境具有的微重力、强辐射和高能粒子是损伤生物体、诱导生物体变异的重要因素^[17,22]。航天诱变引起烟草突变也有部分报道^[19-21]。

笔者首次报道了烟草突变体 *T-srd*,该突变体的主要特征是在田间植株矮化、腋芽多,腋芽最早发生在苗期的第一真叶节位,在田间腋芽的发生从茎基部开始,在初花期时烟株上半部分腋芽受顶端优势影响,腋芽发生尚不明显。

对 *T-srd* 与 GT11 进行正交和反交(GT11 × *T-srd*, *T-srd* × GT11),子代群体(F_1)均不表现出 *T-srd* 多腋芽和矮化的性状, F_2 的烟苗群体出现有腋芽和无腋芽分离,分离比经卡方检验符合 3:1 的分离规律,(GT11 × *T-srd*) × *T-srd* 测交组合的烟苗群体中,有腋芽和无腋芽烟苗的比例符合 1:1 分离规律。以上结果表明,*T-srd* 多腋芽性状属质量性状的隐性突变,可能受单基因控制。

T-srd 作为一种新型种质资源,可以为烟草腋芽的生长发育、腋芽相关功能基因克隆与定位、分子调控和抑制腋芽的研究提供良好的研究材料。

参考文献

- [1] 蒋兴村. 农作物空间诱变育种进展及其前景[J]. 卫星应用, 1996, 4(3): 21.
- [2] 刘波, 曾志南, 叶金聪, 等. 太空搭载害虫诱变效应的 AFLP 分子标记检测[J]. 台湾海峡, 2008, 27(4): 417-421.
- [3] 唐劲天, 房青, 向青, 等. 太空环境诱导肿瘤细胞变异的初步结果[J]. 中日友好医院学报, 2003(17): 229-232.
- [4] 杨丞, 李官成, 李跃辉, 等. 太空诱变宫颈癌细胞的生物学研究[J]. 中南大学学报: 医学版, 2007, 32(3): 380-386.
- [5] 杨丞, 李官成. 太空诱变宫颈癌细胞的差异表达基因初探[J]. 科技导报, 2006, 24(8): 31-35.
- [6] Mei M, Qiu Y, Sun Y, et al. Morphological and molecular changes of maize plants after seeds been flown on recoverable satellite[J]. Adv Space Res, 1998, 22: 1691-1697.
- [7] Paul A L, Ferl R J. Molecular aspects of stress-gene regulation during spaceflight[J]. J Plant Growth Regul, 2002, 21: 166-176.
- [8] Paul A L, Popp M P, Gurley W B, et al. *Arabidopsis* gene expression patterns are altered during spaceflight[J]. Adv Space Res, 2005, 36: 1175-1181.
- [9] 刘敏, 王亚林, 薛淮, 等. 模拟微重力条件下植物细胞亚显微结构的研究[J]. 航天医学与医学工程, 1999(12): 360-363.
- [10] Kern V D, Schwuchow J M, Nadeau J A, et al. Gravitropic moss cells default to spiral growth on the clinostat and in microgravity during spaceflight[J]. Planta, 2005, 221: 149-157.
- [11] Nechitailo G S, Lu J Y, Xue H, et al. Influence of long term exposure to space flight on tomato seeds[J]. Adv Space Res, 2005, 36: 1329-1333.
- [12] Qi J J, Ma R C, Chen X D, et al. Analysis of genetic variation in *Ganoderma Lucidum* after space flight[J]. Adv Space Res, 2003, 31: 1617-1622.
- [13] 马旭光, 张宗舟, 刘星斌. 航天诱变黑曲霉菌株 ZM-8 产纤维素酶的固态发酵条件研究[J]. 中国酿造, 2008(23): 37-40.
- [14] 马旭光, 张宗舟. 航天诱变啤酒酵母菌株的复壮与筛选[J]. 中国酿造, 2008(21): 72-75.
- [15] 蒋兴村. 863-2 空间诱变育种进展及前景[J]. 空间科学学报, 1996, 16(增刊): 77.
- [16] 沈桂芳, 倪丕冲, 孙丙耀. 中国的航天育种[J]. 世界农业, 2002(1): 37-40.
- [17] 董志坚, 董顺德, 赵献章, 等. 空间诱变育种技术及其在烟草上的研究前景[J]. 中国烟草学报, 2005, 11(2): 35-39.
- [18] 李金国, 王谕, 张健, 等. 中国农作物航空航天诱变育种的进展及其前景[J]. 航天医学与医学工程, 1999, 12(6): 464-468.
- [19] 郑少清, 叶定勇, 杨俊. 航天条件对烟草几个性状变异的影响[J]. 中国烟草科学, 2004, 25(1): 1-4.
- [20] Liu-Ti Cai, Shao-Qing Zheng, Xue-Lin Huang. A crinkly leaf and delay flowering mutant of tobacco obtained from recoverable satellite-flown seeds[J]. Space Res. 2007, 40: 1689-1693.
- [21] 谢永萍, 郑少清, 叶定勇. 太空环境对 13 个烤烟品种发芽率及幼苗生长速度的影响[J]. 贵州烟草, 2003(1): 33-37.
- [22] 樊秋玲, 刘敏. 空间育种研究进展[J]. 航天医学与医学工程, 2002, 15(3): 231-234.