植物学通报 2000，17（3）：232～241
Chinese Bulletin of Botany

水稻离体育性变异研究①

范树国 梁承邺 刘鸿先
（中国科学院华南植物研究所 广州 510650）

摘要 对野败型不育系珍汕97A、保持系珍汕97B、恢复系IR24、IR26、泰引1号、明恢63、红莲型不育系红源A、包台型不育系包源A、光敏核不育系农垦58s、温敏核不育系W6154s等10个水稻材料的幼穗在不同的培养基上培养、再生植株及对其后代进行育性鉴定，探讨了体细胞无性系变异中雄性不育突变发生的机率以及影响离体筛选雄性不育变异体的因素，结果表明 在5个材料（珍汕97B、红源A、包源A、W6154s和IR26）中共获得了29例雄性不育变异株，其中R_1代有24株，R_2代有5株。在R_1代，共获得2 368株再生植株，雄性不育变异的频率为1.02%（0.96%～1.08%）。在珍汕97B和泰引1号R_2代各发现一个株系分离出雄性不育和育性正常植株。出现不育株系的频率分别为2.22%和1.89%。水稻花粉败育类型可分为无花粉、典败、圆败和染败4种类型。同时，还发现了不育花粉败育类型之间可以相互转换这一现象，在IR26和明恢63 R_1代再生植株中，各发现一株嵌合体。在泰引1号和珍汕97B R_2代再生植株中分离出不育株。在影响离体筛选雄性不育变异体的因素中，基因型的差异是主要的，在所试10个材料中，除农垦58s、IR24、泰引1号和珍汕97A，都有雄性不育变异株产生。外植体的脱分化对产生雄性不育变异是必需的，在这一过程中，2，4-D起决定性的作用。随着继代时间的延长，发生雄性不育变异的频率也随之提高。雄性不育变异频率在R_2代高于R_1代。

关键词 水稻，幼穗培养，育性变异，基因型，外植体

Studies on Fertility Variation of Rice *in vitro* Culture

FAN Shu-Guo LIANG Cheng-Ye LIU Hong-Xian
（*South China Institute of Botany*, *The Chinese Academy of Sciences*, Guangzhou 510650）

Abstract Young panicles from ten rice materials, Zhenshan 97A (WA type cytoplasmic male-sterile (CMS) line, *indica*), Zhenshan 97B (WA type maintainer line, *indica*), IR24, IR26, Taiyin 1, Minghui 63 (WA type restorer line, *indica*), Hongyuan A (HL type CMS line, *indica*), Baoyuan A (BT type CMS line, *indica*), Nongken 58s (photoperiod-sensitive genic male-sterile rice (PGMR), japonica) and W6154s (thermosensitive genic male-sterile rice (TGMR), indica), were cultured on different media. Regenerated plants were obtained. Pollen fertility was examined. Male sterile variation frequency and factors influencing the *in vitro* screening of male-sterile variants are discussed. The main results are as follows: 29 cases of male-sterile variants in five rice materials, Zhenshan 97B, Hongyuan A, Baoyuan A, W6154s and IR26, were found, in which 24 cases belonged to R_1 generation (regenerated plants from rice somaclones), and five to R_2 generation (plants from first self-pollination, viz. progeny obtained by self-fertilizing the regenerated plants). 2 368 regenerated plants were obtained in R_1 generation, the male-sterile variation frequency was 1.02% (0.96 ~ 1.08%). Male-sterile variants were found in Zhenshan 97B and Taiyin 1 in R_2 generation, and the average male-sterile variation frequency in Zhenshan 97B and Taiyin 1 was 2.22% and 1.89% respectively. Abortive pollen of rice could be classified into four types: pollen-

https://www.scienging.com/doi/10.3724/CBB-t99-021

① 广东省自然科学基金博士后启动项目（编号：994487）资助，中国科学院华南植物所所长基金（编号：10-96-60）资助
收稿日期：1999-03-17 接受日期：1999-05-27 责任编辑：程红焱

free type (PFT), typical-abortion type (TAT), spherical-abortion type (SpAT) and stained-abortion type (StAT). The phenomenon that the type of pollen abortion could change from one to another through tissue culture was found in rice somaclones in R_1 generation. One chimera was obtained from R_1 regenerated plants of IR26 and Minghui 63 respectively. Fertility segregation was found in R_2 generation of Taiyin 1 and Zhenshan 97B. Genotype was the main factor in the course of inducing male-sterile variants. Male-sterile variation was found in all rice materials except Nongken 58s, IR24, Zhenshan 97A and Taiyin 1 in R_1 generation. Dedifferentiation of explants was essential to producing male-sterile variation, and 2,4-D played a decisive role in this course. The frequency of male-sterile variation in somaclones was affected by the duration of subculture passage. The frequency of male-sterile variation in R_2 generation (around 2%) was higher than that in R_1 generation (around 1%). The higher frequency of male-sterile variation in R_2 generation showed that the mutant frequency of one site of a pair of genes from the wild type was much higher than that in a homozygous mutant (two sites of a pair of genes undertaking mutant at the same time).

Key words *Oryza sativa* L., Young panicle culture, Fertility variation, Genotype, Explant

通过组织培养可以得到很多变异，其中包括雄性不育突变和育性恢复突变，这些变异统称为体细胞无性系变异(somaclonal variation)(Larkin 和 Scowcroft,1981)。在水稻离体培养中，也发现了大量育性变异(Kaul,1986；凌定厚等，1988；1990；1991；Ling 等,1987；1989；Ling,1991；1996；范树国和梁承邺,1995；范树国等,1998；Fan 和 Liang,1995；Akagi 等,1989；Min 等,1991；赵成章等,1990；Nawa 等,1987；沈毓渭等,1994；戚秀芳等,1997),其中雄性不育突变研究得较为深入,有的已转成不育系,且已实现三系配套(凌定厚等,1988；1990；1991；Ling 等,1987；1989；Ling,1991；1996；戚秀芳等,1997)。但通过离体培养获得的大批雄性不育突变体未能真正用于水稻育种生产上,故需进一步筛选优良的不育系。湖北光周期敏感细胞核雄性不育水稻(HPGMR)发现以后,全国各大单位对其遗传育种、生理生化、形态解剖等方面进行了研究,但组织培养方面的研究很少,至于在离体培养条件下的育性变异研究则更少。目前利用离体突变方法筛选水稻雄性不育系的研究还很不充分，亟需深入进行研究。本研究对不同类型的水稻不育材料及可育材料进行组织培养,产生大批试管苗，从中筛选出水稻雄性不育突变体，对这些雄性不育突变体的不育特性进行了观察及恢保关系鉴定,以期从中选出新细胞质源雄性不育系和光温敏核不育系,并使用于育种实践上。

1 材料和方法

1.1 材料

野败型不育系：珍汕 97A(籼稻，*Indica*)；野败型保持系：珍汕 97B(籼稻，*Indica*)；野败型恢复系：IR24、IR26、明恢 63、泰引 1 号(籼稻，*Indica*)；红莲型不育系：红源 A(籼稻，*Indica*)；包台型不育系：包源 A(籼稻，*Indica*)；光敏不育系：农垦 58s(粳稻，*Japonica*)；温敏不育系：W6154s(籼稻，*Indica*)

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB.t93-021

这些材料于 1994 年 8 月种植于华南植物研究所试验田,用于组织培养的外植体为幼

穗，发育时期为水稻幼穗发育的第 III 期，即第二次枝梗原基和颖花原基分化期，幼穗长度为 0.1～0.3 cm，主要特征是幼穗密布白毛，顶端颖花出现副护颖及护颖原始体。

1.2 方法

1.2.1 组织培养 培养基成分：基本培养基为 MS 培养基，用于愈伤组织诱导、继代培养、植株再生及壮苗的培养基同前报（范树国和梁承邺，1995；Fan 和 Liang，1995），用于颖花直接出芽的培养基附加蔗糖 3%、KT 与 NAA 各 2 mg/L、ABA 0.1 mg/L、6-BA 1 mg/L。

外植体消毒方法与无菌操作、愈伤组织的继代、愈伤组织的分化、培养条件、再生植株及其后代的管理等见凌定厚等（1988；1990；1991）的方法。

1.2.2 花粉镜检方法及育性划分标准 再生植株及其后代花粉镜检方法参见文献（广东省农作物杂种优势利用研究协作组，1978），育性划分标准同前报（范树国和梁承邺，1995；Fan 和 Liang，1995）。

2 结果和分析

2.1 颖花直接出芽植株 R_1 代育性表现

通过颖花直接出芽得到的植株中，几种不育系按照其小孢子败育主要类型而言，珍汕 97A、农垦 58s 和 W6154s 属典败型，典败率为（97.68 ± 2.53）% ～（98.34 ± 3.57）%，而对照为（97.82 ± 8.41）% ～（99.23 ± 11.54）%；红源 A 属圆败型，圆败率为（91.46 ± 3.21）%，而对照为（90.18 ± 5.72）%；泡源 A 为染败型，染败率为（89.25 ± 3.47）%，而对照为（92.45 ± 7.18）%；IR24、IR26、泰引 1 号、明恢 63 和珍汕 97B 育性正常，花粉可育率达到（96.83 ± 2.73）% ～（98.44 ± 9.46）%，而对照为（96.35 ± 2.45）% ～（98.67 ± 9.52）%。可见，通过颖花直接出芽得到的植株 R_1 代均表现正常，没有育性以及败育类型的变异产生。

2.2 通过脱分化再生植株 R_1 代育性表现

通过脱分化再生植株 R_1 代育性表现见表 1。由表 1 可以看出：

农垦 58s 花粉败育类型原属典败，R_1 代再生植株有 512 株，其中保持不育的仅占 13.09%，21.68%的植株表现为可育，65.23%的植株表现为半不育。

W6154s 花粉败育类型原属典败，R_1 代再生植株有 278 株，其中有 2 株表现为无花粉型，1 株表现为染败，二者占 R_1 代中的 1.08%。

珍汕 97A 花粉败育类型原属典败，R_1 代再生植株有 453 株，其中有 2 株可育、3 株低不育、2 株半不育，这些可育变异株占 R_1 代中的 1.55%。

珍汕 97B 为野败型的典型保持系，花粉育性正常。R_1 代再生植株有 497 株，其中有 1 株为无花粉型、2 株为典败、1 株为圆败、1 株为染败，共 5 株雄性不育变异株，占 R_1 代中的 1.01%；此外有 2 株低不育、2 株半不育、1 株高不育，分别占 R_1 代中的 0.40%、0.40%、0.20%。

IR24 为野败型的典型恢复系，花粉育性正常，R_1 代有 381 株再生植株，其中有 2 株低不育、2 株半不育、1 株高不育，共 5 株，占 R_1 代中的 1.31%。

IR26 为野败型的典型恢复系，花粉育性正常，R_1 代再生植株有 466 株，其中 5 株为典败，占 R_1 代中的 1.07%。

http://www.chinagrsci.com.cn/article/2000/1672-9072-17-5-21

表 1　R_1 代再生植株育性表现

Table 1　Fertility expression of R_1 regenerated plants

品种 Cultivar	总株数 Total no. of plants	雄性不育变异 (Male sterile variation)										可育变异 (Fertile variation)										未变异植株 Normal plants		对照植株花粉败育类型 Type of pollen abortion of check plants
		无花粉型 PFT		典败 TAT		圆败 SpAT		染败 StAT		总计 Total		可育 F		低不育 LS		半不育 SS		高不育 HS		总计 Total				
		株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	株数 No. of plants	%	
农垦58s Nongken 58s	512											111	21.68			334	65.23			455	86.91	67	13.09	典败(TAT)
珍汕97B Zhenshan 97B	497	1	0.20	2	0.40	1	0.20	1	0.20	5	1.01			2	0.44	2	0.44	1	0.20	5	1.01	487	97.99	可育(F)
珍汕97A Zhenshan 97A	453											2	0.44	3	0.66	2	0.44			7	1.55	446	98.45	典败(TAT)
红源A Hongyuan A	312	1	0.32	1	0.32			1	0.32	3	0.96	3	0.96	2	0.64	1	0.32			6	1.92	303	96.79	圆败(SpAT)
包源A Baoyuan A	406	1	0.25	2	0.49	1	0.25			4	0.99	3	0.74	2	0.49	1	0.25			6	1.48	396	97.54	染败(StAT)
W6154s	278	2	0.72					1	0.36	3	1.08											275	98.92	典败(TAT)
IR24	381													2	0.52	2	0.52	1	0.26	5	1.31	376	98.69	可育(F)
IR26	466			5	1.07					5	1.07											461	98.93	可育(F)
泰引1号 Taiyin 1	392																					392	100	可育(F)
明恢63 Minghui 63	409			4	0.98					4	0.98											405	99.02	可育(F)
总计 Total	4106	5	0.12	14	0.34	2	0.05	3	0.07	24	0.58	119	2.89	11	0.27	342	8.33	2	0.05	474	11.54	3608	87.87	

注：SpAT：Spherical abortion type；StAT：Stained abortion type；TAT：Typical abortion type；SSSR：Self seed set rate；PFT：Pollen free type；F：Fertile；SS：Semisterile；LS：Low sterile；HS：High sterile；S：Sterile.

泰引 1 号为野败型的典型恢复系，红莲型的优良保持系，花粉育性正常。R_1 代再生植株有 392 株，未发现育性变异株。

明恢 63 为野败型的优良恢复系，具正常花粉，R_1 代再生植株有 409 株，其中有 4 株典败，占 R_1 代中的 0.98%。

红源 A 为红莲型的不育系，花粉败育类型为圆败，R_1 代再生植株有 312 株，其中有 1 株为无花粉型、1 株为典败、1 株为染败，共 3 株不育变异株，占 R_1 代中的 0.96%；此外，有 3 株可育、2 株低不育和 1 株半不育，分别占 R_1 代中的 0.96%、0.64%和 0.32%。

包源 A 为 BT 型的不育系，花粉败育类型为染败，R_1 代再生植株有 406 株，其中 2 株为典败、1 株为无花粉型、1 株为圆败，共 4 株发生不育变异，占 R_1 代中的 0.99%；此外，有 3 株可育、2 株低不育和 1 株半不育，分别占 R_1 代中的 0.74%、0.49%和 0.25%。

综上所述，可见通过离体培养各种类型的雄性不育系 R_1 代中出现了程度不等的育性变异株，且变异的类型也多样化，如农垦 58s R_1 育性变异特别大，与其他供试不育系明显不同，这是基因型差异所致。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t99-021

表 2 R_1 代雄性不育变异株不育特性

Table 2 Male-sterile characteristics of male-sterile variants in R_1 generation

雄性不育变异株 Male sterile variants	来源 Origin	柱头外露率(%) Percentage of exerted stigma	柱头生活力开花后天数(d) Duration of receptive stigma (Days after flowering)	颖花开张角度 Angle of spikelet	午前花累积率(%) Flowering rate before noon	闭颖率(%) Percentage of cleistogamous spikelet
S10-2	明恢 63 Minghui 63	85.28	9	大 Large	85.31	5.17
S11-14	明恢 63 Minghui 63	80.27	5	大 Large	75.47	6.36
S10-7	明恢 63 Minghui 63	43.84	6	小 Small	53.41	9.72
S12-4	明恢 63 Minghui 63	35.62	5	中 Medium	49.37	14.31
26-9-15-7	IR26	55.23	6	大 Large	60.78	5.16
26-9-24-11	IR26	68.48	8	大 Large	65.62	4.18
26-1	IR26	40.31	6	小 Small	40.93	15.19
26-2	IR26	45.24	5	中 Medium	45.32	8.72
26-3	IR26	50.31	6	小 Small	45.26	10.84
24-1	红源 A Hongyuan A	68.49	7	大 Large	73.82	4.35
24-5	红源 A Hongyuan A	34.38	6	中 Medium	47.36	9.24
S14-1	红源 A Hongyuan A	53.46	6	大 Large	58.94	10.72
28-5	包源 A Baoyuan A	85.79	6	大 Large	48.26	9.70
28-18	包源 A Baoyuan A	94.68	5	大 Large	66.37	5.38
28-19	包源 A Baoyuan A	83.21	7	大 Large	51.73	7.64
28-35	包源 A Baoyuan A	47.36	5	中 Medium	45.84	10.95
B2-9-15-4	珍汕 97B Zhenshan 97B	73.84	6	大 Large	53.29	5.14
B-1	珍汕 97B Zhenshan 97B	35.74	5	小 Small	38.47	8.26
B-2	珍汕 97B Zhenshan 97B	29.81	4	中 Medium	42.62	10.75
B-3	珍汕 97B Zhenshan 97B	32.44	4	小 Small	39.78	7.21
B-4	珍汕 97B Zhenshan 97B	47.62	5	小 Small	37.64	9.74
WP-1	W6154s	37.43	4	中 Medium	48.38	5.34
WP-2	W6154s	38.18	5	中 Medium	52.44	9.28
WS	W6154s	39.25	4	小 Small	39.86	12.85

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/SP.J.1259-t99-

2.3　R_1 代雄性不育变异株不育特征观察

对脱分化再生植株 R_1 代产生的雄性不育变异株的不育特性进行了观察，这些特性包括柱头外露率、柱头生活力、颖花开张角度、午前花累积率以及闭颖率，结果见表 2。

从表 2 可以看出各不育变异株的柱头生活力都在 4 天以上，个别达到 9 天(S10-2)；柱头外露率最低为 29.81%，最高可达 94.68%；午前花累积率最低为 37.64%，最高可达 85.31%；闭颖率均低于 15.19%；颖花开张角度则大小不一。

2.4　IR26 和明恢 63 R_1 代出现嵌合体(chimaera)

来自 IR26 的嵌合体有 3 个穗正常(可育)，其余的 5 个分蘖穗表现不育。正常穗结实率 85%左右，其 R_2 代出现育性分离(95 可育株∶20 不育株)，χ^2 测验表明，控制不育性的基因有 1 对。不育穗与可育亲本杂交能结实(10%～50%)，且 F_1 全部可育。

来自明恢 63 的嵌合体有 2 个穗可育，其它 6 个穗不育。可育穗结实率 90%以上，其 R_2 全部可育(结实率在 90%以上)。不育穗与可育亲本杂交 F_1 能结实(8%～45%)，F_1 全部可育。

2.5　泰引 1 号和珍汕 97B R_2 代分离出不育株

在泰引 1 号 R_1 代再生植株中选取株型及开花习性好的 53 个株系，收获其种子，在 R_2 代发现有一株系(编号为 TY-2-23)发生育性分离，该株系共 50 株，其中可育株 47 株，不育株 3 株 (编号为 TY-1、TY-2 和 TY-3)，χ^2 测验表明，控制不育性的基因有 2 对。不育株具花粉粒，但不为 I-KI 着色，表现为典败，异交结实率 (自然结实) 为 0.2%左右。人工授粉则育性较高(最高可达 50%～60%)。

在珍汕 97B R_1 代再生植株中选取株型及开花习性好的 45 个株系，在 R_2 代发现有一株系(编号为 ZS-2-19)发生育性分离，该株系共 35 株，其中雄性不育株 2 株 (编号为 ZS-1 和 ZS-2)。这两株不育株很矮，株高仅 43 cm，叶片很绿，但很窄小，穗包颈严重，仅能抽出一小部分穗，大部分穗不能抽出，花粉内几乎无花粉粒，自然结实率 0.2%左右，人工授粉可以结实，F_1 结实率为 53～75%。F2 代出现育性分离，可育∶不育接近 15∶1，χ^2 测验表明，控制该不育株育性的基因有 2 对。

2.6　影响离体诱发雄性不育变异体的因素

2.6.1　基因型的差异　在所试验的 10 个材料中，农垦 58s、IR24、泰引 1 号和珍汕 97A 没有发生雄性不育变异，而珍汕 97B、明恢 63、IR26、红源 A、包源 A 和 W6154s 则发生了雄性不育变异，变异频率在 0.96%～1.08%之间。这表明基因型不同，发生雄性不育变异的频率也是不相同的。

2.6.2　愈伤组织继代次数多少的影响　愈伤组织继代次数的多少，即继代培养持续时间的长短，对再生植株中雄性不育变异的频率有很大影响。由表 3 可以看出，经历 6～10 代的愈伤组织分化出来的植株中，发生雄性不育变异的频率，比仅经历 5 次以下继代培养的高出 10 多倍。

2.6.3　培养基成分的影响　前已述及，凡是通过颖花直接出芽产生的再生植株均没有雄性不育变异株产生，只有通过植株脱分化(dedifferentiation)、再分化(redifferentiation)再生植株，才有雄性不育变异，这说明外植体的脱分化、再分化是产生雄性不育变异所必需的，而导致脱分化的关键因素是 2,4-D，所以，可以说，2,4-D 是导致雄性不育变异的因素之

一。未发现其他培养基成分与雄性不育变异的直接联系。

表 3 愈伤组织继代培养持续时间对再生植株中雄性不育变异频率的影响

Table 3 The effect of subculture duration of callus on the frequency of male sterile variants in regenerated plants

品种 Cultivar	5 次以下的继代培养 Subculture duration less than 5 times			6 ~ 10 次的继代培养 Subculture duration of 6 to 10 times			总的变异频率(%) Total variation frequency
	再生植株当代(R1)总株数 Total no. plants	雄性不育变异株数 No. of ms variants	雄性不育频率(%) ms frequency %	再生植株当代(R1)总株数 Total no. plants	雄性不育变异株数 No. of ms variants	雄性不育频率(%) ms frequency %	
农垦 58s Nongken 58s	434	0	0	78	0	0	0
W6154s	218	1	0.46	60	2	3.33	1.08
红源 A Hongyuan A	312	3	0.96	0	0	0	0.96
包源 A Baoyuan A	406	4	0.99	0	0	0	0.99
珍汕 97A Zhenshan 97A	359	0	0	94	0	0	0
珍汕 97B Zhenshan 97B	410	1	0.24	87	4	4.60	1.01
IR24	337	0	0	44	0	0	0
IR26	408	0	0	58	5	8.62	1.07
泰引 1 号 Taiyin 1	351	0	0	41	0	0	0
明恢 63 Minghui 63	335	0	0	74	4	5.41	0.98
总计 Total	3570	9	0.25	536	15	2.80	0.58

2.6.4 不同世代的差异 在珍汕 97B 和泰引 1 号体细胞无性系第二代(R_2 代)各发现 1 个株系分离出雄性不育和育性正常两类植株，出现不育株系的频率分别为 2.22% 和 1.89%。在 R_1 代，珍汕 97B 发生雄性不育变异的频率为 1.01%，而泰引 1 号则没有发生雄性不育变异。可见，在不同世代发生雄性不育变异的频率是有差异的，R_2 代的比 R_1 代的高。

3 讨论

3.1 体细胞无性系中雄性不育突变发生的机率

体细胞无性系变异的频率一般在百分之几到几十之间，远远高于自然变异频率(朱至清，1991)。

体细胞无性系中雄性不育突变发生的机率是较高的，据凌定厚等(1988；1990；1991)观察，在 R_1 代大约为 1%，在 R_2 代大约为 2%。表型与基因型相似的突变 91-20 和 S5541 重复地被体细胞培养诱导发生(分别在 R_1 和 R_2 代)。另外，S5541 突变体发生在 R_1 代，而且已证明它为两对相互独立的隐性基因所控制，因而 S5541 为典型的纯合点突变。经

典遗传学的研究证明，纯合突变(即便是 1 个位点的突变)和同一突变重复出现的机率都是很低的。然而在组织培养中却同时发生，这从侧面证明了体细胞无性系中诱发雄性不育的机率相当高。马镇荣等(1990)发现起源于花药愈伤组织的变异频率较高，平均为 4.38%；而起源于幼穗及成熟种子的变异频率较低，在 1.3% ~ 3.13%之间。赵成章等(1990)利用离体诱变技术培育水稻雄性不育系已获成功，实验表明，采用离体诱变技术可以较短时间(2 ~ 3 年)产生水稻雄性不育系，而且诱发频率也较高，平均为 0.5% ~ 6%，这样就可以根据育种目标的需要培育各种类型的水稻雄性不育系，以满足不同地区的要求，为克服当前杂交水稻雄性不育系种源单一化提供新的途径。范树国和梁承邺(1995)、Fan 和 Liang(1995)、范树国等(1998)通过幼穗培养也发现了一批雄性不育突变，其变异频率在 R_1 代约 1% (0.83% ~ 1.08%)，在 R_2 代为 2%。本文也得到了相似的结果。

总的来说，目前利用体细胞无性系来筛选雄性不育突变体的工作还不够深入，对体细胞无性系变异的产生以及对细胞脱分化与再分化机理缺乏了解，离体培养方法有待完善，还缺乏人为的控制手段和能力，难以达到人为控制的目的。如何能使外植体产生“定向”变异，如何提高变异频率还有待进一步研究。

3.2　水稻在离体培养条件下的雄性不育变异

研究表明，离体培养可以产生雄性不育 (Kubo 和 Kumashiro，1984；Kumashiro 和 Kubo，1984；Sakai 和 Imamura，1988)。正常可育水稻通过组织和细胞培养也可产生雄性不育 (Kaul，1986；Ling 等，1987；1989；凌定厚等，1988；1990；1991；Ling，1991；1996；Akagi 等，1989；赵成章等，1990；马镇荣等，1990；1993；梁承邺等，1990；Min 等，1991；范树国和梁承邺，1995；Fan 和 Liang，1995；孙国凤，1997；范树国等，1998)。在本试验中，我们通过幼穗培养，在 IR24、IR26、明恢 63 和珍汕 97B 也获得了一些雄性不育突变株，有的颇具应用前景，如来源于明恢 63 的 S10-2，其不育特性明显优于其他雄性不育突变体，这表明，水稻雄性不育突变在离体培养条件下是经常发生的。

雄性不育水稻在离体培养条件下可以转变成另一种类型的雄性不育 (Ling 等，1989；凌定厚等，1990；Ling，1991；范树国和梁承邺，1995；Fan 和 Liang，1995；范树国等，1998)。在本试验中，通过对一些不育系进行幼穗培养，在其 R_1 代再生植株中发现了一批雄性不育突变株，这些突变株虽仍然为雄性不育，但其不育特性发生了变化，关于产生雄性不育变异的原因正在研究之中。

虽然通过组织培养可以得到许多雄性不育突变体，但这些雄性不育突变体却未能真正用于水稻育种生产上，很有必要加强这方面的研究。如能最终揭示水稻雄性不育这一具有重大理论意义和经济价值的遗传现象的本质，将极大地促进水稻育种工作。

3.3　雄性不育水稻离体恢复突变

离体条件可以诱发育性恢复突变 (Brettell 等，1980；Umbeck 和 Gengenbach，1987；Earle 等，1987；Nawa 等，1987；Ling 等，1989；凌定厚等，1990；Ling，1991；范树国和梁承邺，1995；Fan 和 Liang，1995；范树国等，1998)。本试验在农垦 58s、红源 A、包源 A 和珍汕 97A 又分别得到了 111 株、3 株、3 株和 2 株育性恢复突变。由此看来，在离体培养中，育性恢复突变是较普遍的，这些育性恢复突变株具有潜在的应用价值，有的已转为优良的恢复系(全

文另发)，并可望在水稻育种生产中加以应用。

3.4 影响离体诱发水稻雄性不育变异的因素

马镇荣等(1990)对影响离体诱发水稻雄性不育突变的因素进行了探讨，认为籼稻离体诱发雄性不育突变(及变异)频率差异与不同世代、不同品种、不同外植体、愈伤组织继代次数多少以及培养基中某些成分有关。范树国和梁承邺(1995)、Fan 和 Liang(1995)、范树国等(1998)通过幼穗培养，也得到了类似的结果。研究表明，基因型是主要的，在所培养的七个品种中，农垦 58s、珍汕 97A 没有发生雄性不育变异，而其他品种则发生了雄性不育变异；随着继代次数的增多发生雄性不育变异的机率也随之增高，经过 4 ~ 6 代的愈伤组织分化出来的植株中发生雄性不育变异的频率比仅经历 3 次以下继代培养的高出 3 倍多；外植体经脱分化再生植株是产生雄性不育变异所必需的，在脱分化过程中，2,4-D 起决定性作用；珍汕 97B 的雄性不育变异频率在 R_2 代(2%)高于 R_1 代(0.98%)，通常，雄性不育为两对独立的隐性基因所控制，只有当它们纯合时(如 rf1rf1rf2rf2)才表现为雄性不育。关于水稻细胞质雄性不育恢复性的基因控制前人已做过大量研究，普遍认为以野败型为主的孢子体雄性不育恢复性由 2 对主基因控制(杨仁崔和卢浩然，1984；黎垣庆，1985；张桂权和卢永根，1987；严菊强和薛庆中，1995；陈深广等，1995；周天理等，1983；高明尉，1981；Govinda 和 Virmani，1988)，也有少数学者认为是一对基因控制(王三良，1980)或数量性状(傅爱军，1988)，朱英国等育成的马协细胞质雄性不育恢复性亦由 2 对主基因控制(张晓国等，1997)，以 BT 型为代表的配子体雄性不育恢复性则由 1 对主基因控制(陈深广等，1995；洪德林等，1990；Shinjyo，1975)。就我们所接种的不育系而言，珍汕 97A 和 W6154s，有研究表明其雄性不育性由两对基因控制(万邦惠和马海峰，1997)；红源 A 和包源 A 为一对基因控制；大部分学者认为，农垦 58s 亦为一对基因控制，万邦惠和马海峰(1997)认为农垦 58s 的光敏不育性由核内两对隐性基因控制。雄性不育在 R_1 代出现，这一突变必定为纯合突变(如野生型 Rf1Rf1Rf2Rf2→rf1rf1rf2rf2)；而雄性不育在 R_2 代才分离出来的，则只要在两对基因中有一个位点发生突变(Rf1Rf1Rf2Rf2→Rf1rf1Rf2rf2)就足够了。因此，后者的机率当然远远大于前者(马镇荣等，1990)。在本试验中，R_2 代的突变频率高于 R_1 代，就说明了这一点。

参 考 文 献

广东省农作物杂种优势利用研究协作组，1978. 水稻"三系"杂种优势利用. 广州：广东省科学技术出版社，第 106 ~ 115 页

马镇荣，陈梅芳，凌定厚，1990. 影响离体诱发水稻雄性不育突变因素的初探. 中国科学院华南植物研究所集刊，**6**：164 ~ 169

马镇荣，陈梅芳，凌定厚，梁承邺，何炳森，1993. 籼稻体细胞克隆雄性不育系 54257/162 - 5 及其保持系. 华南植物学报，试刊 **II**：52 ~ 61

万邦惠，马海峰，1997. 三种光敏核不育水稻种质的遗传研究. 华南农业大学学报，**18**(2)：1 ~ 6

王三良，1980. 水稻恢复因子的遗传及选育新恢复品种方法的探讨. 湖南农业科技，**4**：1 ~ 4

孙国凤，1997. 日本的农业生物技术. 见：世界农业，**6**：46 ~ 48

朱至清，1991. 体细胞无性系变异与植物改良. 植物学通报，**8**(增刊)：1 ~ 8

张桂权，卢永根，1987. 水稻质核互作孢子体雄性不育性的基因分析. 作物学报，**13**(1)：23 ~ 28

张晓国，梅启明，朱英国，1997. 水稻马协胞质雄性不育恢复性的遗传分析. 作物学报，**23**(2)：242 ~ 246

严菊强，薛庆中，1995. 水稻广亲和性和细胞质雄性不育恢复性的遗传分析. 遗传学报，**22**(5)：361 ~ 371

杨仁崔，卢浩然，1984. 水稻恢复系 IR24 恢复基因的初步分析. 作物学报，**10**(2)：81 ~ 86

沈毓渭，蔡其华，高明尉，1994. 水稻细胞质雄性不育性恢复突变的初步研究. 中国水稻科学，**8**(1)：27 ~ 31

陈深广，闵绍楷，熊振民，吴建利，朱旭东，1995. 水稻胞质雄性不育基因的遗传分析. 中国水稻科学，**9**(2)：115 ~ 118

范树国，梁承邺，1995. 水稻体细胞无性系 R_1、R_2 代中的雄性育性变异观察. 遗传学报，**22**(4)：293 ~ 301
范树国，梁承邺，刘鸿先，1998. 水稻雄性不育系及雄性不育突变体筛选研究进展. 植物学通报，15(增刊)：7 ~ 17
周天理，沈锦骅，叶复初，1983. 野败型杂交籼稻的育性基因分析. 作物学报，**9**(4)：241 ~ 247
洪德林，马育华，盖钧镒等，1990. 粳稻恢复系宁恢 3 – 2 育性恢复力的遗传. 作物学报，**16**(1)：1 ~ 7
赵成章，戚秀芳，郑康乐，熊振民，闵绍楷，徐星明，于飞，1990. 利用离体诱变技术培育水稻雄性不育系. 见：胡含，王恒立主编，植物细胞工程与育种，北京：北京工业大学出版社，第 226 ~ 230 页
高明尉，1981. 野败型杂交籼稻基因型的初步分析. 遗传学报，**8**(1)：66 ~ 74
凌定厚，马镇荣，陈琬瑛，陈梅芳，1988. 起源于组织培养的籼稻雄性不育体细胞无性系变异. 遗传学报，**15**(1)：9 ~ 14
凌定厚，梁承邺，马镇荣，陈梅芳，何炳森，1990. 籼稻体细胞无性系雄性不育变异及其表现. 中国水稻科学，**4**(1)：15 ~ 21
凌定厚，马镇荣，陈梅芳等，1991. 起源于组织培养的籼稻雄性不育体细胞无性系变异. 遗传学报，**18**(2)：132 ~ 139
傅爱军，1988. 水稻雄性不育性的遗传研究概述. 杂交水稻，**6**：35 ~ 37
戚秀芳，赵成章，杨长登，吴连斌，1997. 水稻 TRB 型胞质雄性不育系的产生和特性. 中国水稻科学，**11**(1)：11 ~ 15
梁承邺，凌定厚，马镇荣，何炳森，梅建峰，1990. 离体筛选籼稻 CMS 不育突变体及其细胞质类型的初析. 见：胡含，王恒立主编，植物细胞工程与育种，北京：北京工业大学出版社，第 221 ~ 224 页
黎垣庆，1985. IR24 恢复基因遗传的系谱分析. 中国农业科学，**1**：24 ~ 31
Akagi H, Sakamoto M, Negishi T, Fujimura T, 1989. Construction of rice cybrid plants. *Mol Gen Genet*, **215**(3): 501 ~ 506
Brettell R I S, Thomas E, Ingram D S, 1980. Reversion of Texas male-sterile cytoplasm maize in culture to give fertile, T-toxin resistant plants. *Theor Appl Genet*, **58**(2): 55 ~ 58
Earle E D, Gracen V E, Best V M, Batts L A, Smith M E, 1987. Fertile revertants from S-type male-sterile maize grown *in vitro*. *Theor Appl Genet*, **74**(5): 601 ~ 609
Fan S G, Liang C Y, 1995. An observation on male fertility variation of R_1 and R_2 generations in somaclones of rice. *Chin J Genet*, **22**(3): 181 ~ 187
Govinda R K, Virmani S S, 1988. Genetics of fertility restoration of 'WA' type cytoplasmic male sterility in rice. *Crop Sci*, **28**(5): 787 ~ 792
Kaul M L H, 1986. Male sterility in doubled haploid rice. *Rice Genet Newsl*, **3**: 109
Kubo T, Kumashiro T, 1984. Production of cytoplasmic male sterile tobacco by protoplast fusion. II. S Burley 21 + Tsukuba 1. *Jpn J Breed*. (Suppl)**34**: 56 ~ 57
Kumashiro T, Kubo T, 1984. Production of cytoplasmic male sterile tobacco by protoplast fusion. I. *Nicotiana debneyi* + *N. tabacum* cv *cosolation* 402. *Jpn J Breed*. (*Suppl*)**34**: 54 ~ 55
Larkin P J, Scowcroft W R, 1981. Somaclonal variation: a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor Appl Genet*, **60**(4): 197 ~ 214
Ling D H, Ma Z R, Chen W Y, Chen M F, 1987. Male sterile mutant from somatic cell culture of rice. *Theor Appl Genet*, **75**(1): 127 ~ 131
Ling D H, Liang C Y, Ma Z R, Chen M F, 1989. In: Proceedings of the 6th International Congress of SABRAO. Japan: Tsuhukuba, pp737 ~ 740
Ling D H, 1991. In: Bajaj Y P S (ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol 14 Rice, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. pp347 ~ 367
Ling D H, 1996. A male-sterile line 54257/162 – 5 in *indica* rice from somaclonal variation. In: Xu Z H, Chen Z H (eds) Proceedings of 2nd Asia-Pacific Conference on Plant Cell and Tissue Culture (Plant Biotechnology for Sustainable Development of Agriculture). Beijing: China Forestry Publishing House, pp81 ~ 89
Min S K, Xiong Z M, Qi X F, 1991. Effects of gamma-ray radiation on somatic cell culture in rice, *Oryza sativa* L. *Cereal Research Communications*, **19**(1 ~ 2): 201 ~ 207
Nawa S, Sano Y, Yamada M-A, Fuji T, 1987. Coning of the plasmids in cytoplasmic male sterile rice and changes of organization of mitochondrial and nuclear DNA on cytoplasmic reversion. *Jpn J Genet*, **2**(4): 301 ~ 314
Sakai T, Imamura I, 1988. Transfer of *Raphanus sativus* CMS cytoplasm to *Brassica napus* via protoplast fusion. *Jpn Plant Breed*, **38**(1): 12 ~ 13
Shinjyo C, 1975. Genetical studies of cytoplasmic male sterility and fertility restoration on rice (*Oryza sativa* L.). *Sci Bull Coll Agric Univ Ryukyus*, **22**: 1 ~ 51
Umbeck P F, Gengenbach B G, 1987. Reversion of male-sterile T-cytoplasm maize to male fertility in tissue culture. *Crop Sci*, **23**(3): 584 ~ 588

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t99-021