

# 橡胶树新品种云研 77-2 和云研 77-4 的 细胞学鉴定及育种过程

李惠波, 周堂英\*, 宁连云, 李国华

(云南省热带作物科学研究所, 云南 景洪 666100)

**摘要:** 对巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis*)新品种云研 77-2 和云研 77-4 及其亲本 PR107 和 GT1 的染色体进行了细胞学观察, 并介绍了它们的育种历程。结果表明: PR107 和 GT1 的染色体数为  $2n = 2x = 36$ , 云研 77-2 和云研 77-4 的染色体数目为  $2n = 3x = 54$ , 均为三倍体; 利用特殊父母本建立杂交授粉园获取种子, 设定合理的筛选标准在逆境中进行实生筛选是巴西橡胶树新品种选育的有效途径。

**关键词:** 巴西橡胶; 三倍体; 细胞学观察; 育种; 实生筛选

中图分类号: Q943

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2009)06-0602-04

## Cytological Identification and Breeding Course of *Hevea* 'Yunyan 77-2' and 'Yunyan 77-4'

LI Hui-bo\*, ZHOU Tang-ying, NING Lian-yun, LI Guo-hua

(Yunnan Institute of Tropical Crops, Jinghong 666100, China)

**Abstract:** The chromosomes of two new varieties 'Yunyan 77-2' and 'Yunyan 77-4' and their parents 'PR107' and 'GT1' were observed, and the breeding process of the new varieties was summarized. The results showed that the chromosome number of 'PR107' and 'GT1' is  $2n = 2x = 36$ , whereas  $2n = 3x = 54$  for 'Yunyan 77-2' and 'Yunyan 77-4'. 'Yunyan 77-2' and 'Yunyan 77-4' are triploids. It is an effective way to breed new *Hevea* varieties by establishing a pollination garden of special parents, setting reasonable screening criteria and selecting the polyploid seedlings under stress circumstances.

**Key words:** *Hevea brasiliensis*; Triploid; Cytological observation; Breeding; Seedling screening

巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 是大戟科 (Euphorbiaceae) 橡胶树属最高产的种, 也是主要的栽培种, 原产于亚马逊河西部——巴西的阿克里 (Scre) 和朗多尼亚 (Rondonia) 地区, 是典型的热带高大树种, 喜高温、多湿的环境<sup>[1]</sup>。云南是我国最早引种橡胶树的地方, 云南省植胶区位于北纬 21°04'~24°59', 海拔 600~1 000 m。云南省热带作物科学研究所始于二十世纪五、六十年代大量引进国外优良品种进行多点适应性种植试验, 选出了抗性强、产量高的 GT1、PR107、RRIM600 等品种进行较大规模的种植, 同时开始培育新品种的探索。云研

77-2 和云研 77-4 就是该所选育出的适应于高海拔、高纬度的抗寒、高产、速生的优良新品种。它们是由 1977 年筛选出的优良杂种实生苗通过茎干芽繁殖成的茎芽无性系, 抗寒性比 GT1 强, 单株木材蓄积量高, 2002 年开始在云南植胶区大规模推广栽培, 是首选的推广品种, 目前种植面积在 40 000 hm<sup>2</sup> 以上。云研 77-2 和云研 77-4 具有明显的多倍体特征: 抗寒性强, 生长势旺盛, 叶片明显比父母本大, 育性极低。染色体观察表明云研 77-2 和云研 77-4 是三倍体, 这从细胞学角度解释了它们为什么不育; 结合它们的育种过程, 总结橡胶树多倍体育种

经验,对橡胶树多倍体育种实践具有指导意义,也为云研77-2和云研77-4抗寒基因的分子生物学研究提供基础。

## 1 材料和方法

选取巴西橡胶树(*H. brasiliensis*)云研77-2和云研77-4刚萌发的幼叶叶柄为材料,用李懋学<sup>[2]</sup>的去壁低渗火焰干燥法进行染色体制片,用0.002 mol/L的8-羟基喹啉预处理2.5~3 h,固定液(乙醇:冰醋酸3:1)固定1 h以上,无菌水冲洗3~5遍,吸干无菌水,用含0.3%纤维素酶和0.03%果胶酶的混合酶液酶解3 h,去离子水低渗10 min,固定液固定,涂片,火焰干燥,用5%的Giemsa染色5~8 min。镜检取染色体分散好且着丝点清晰的分裂相进行数码照相。染色体数检查重复5次以上。

## 2 结果和分析

### 2.1 染色体观察

通过镜检观察,云研77-2和云研77-4的细胞比GT1和PR107大,染色质明显更多。经完整细胞的染色体计数表明,云研77-2和云研77-4的染色体数为54,而GT1和PR107为36。因此判断云研77-2和云研77-4为三倍体。

### 2.2 育种过程

云研77-2和云研77-4的亲本均为GT1×PR107,是20世纪五、六十年代经过多点区域试验和生产性试种后筛选出的适合于云南不同环境类型小区种植的国外优良品种。由于PR107雌性不育,GT1雄性不育,二十世纪六十年代于西双版纳景洪农场建立GT1×PR107双无性系自然杂交种

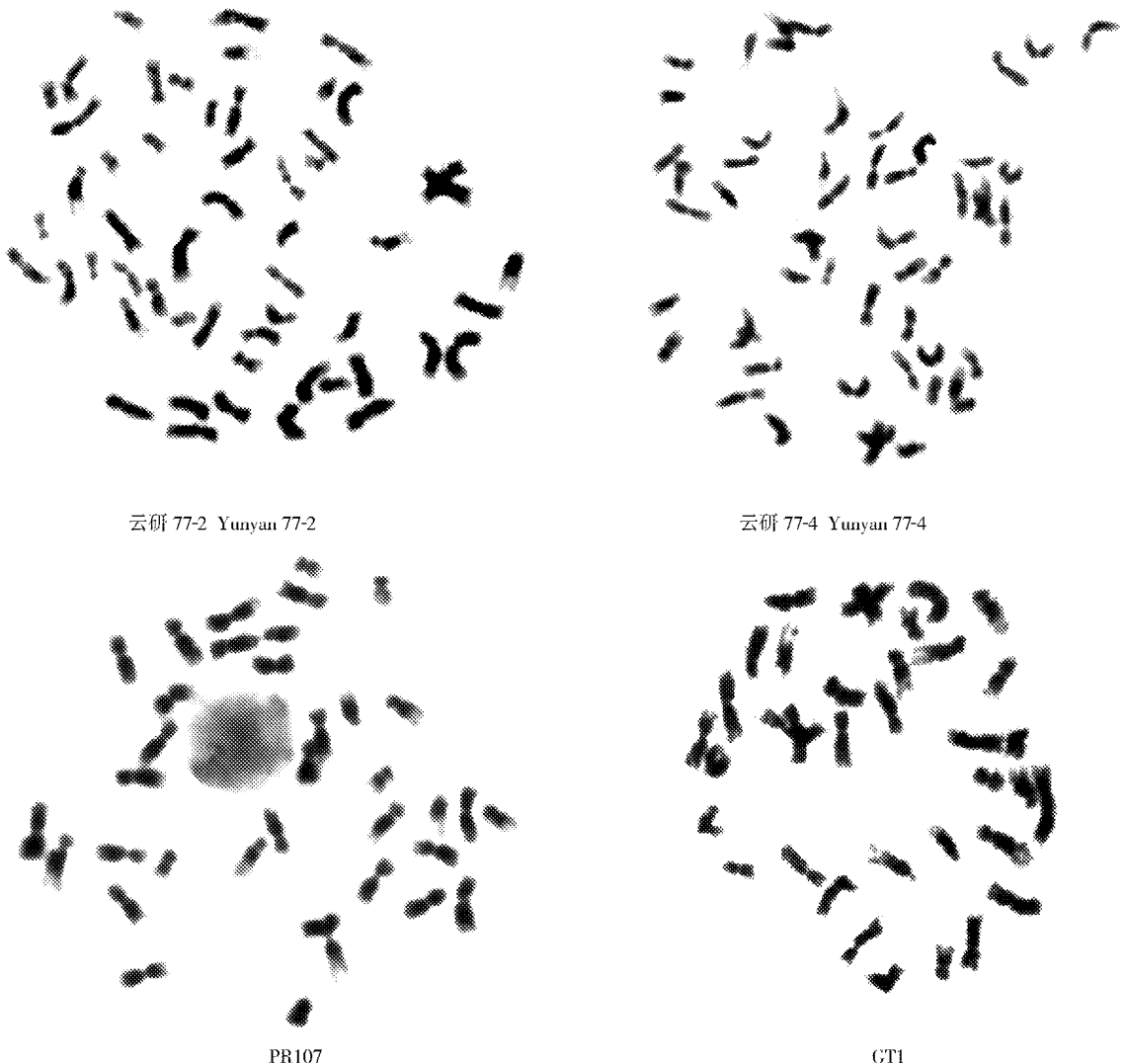


图1 云研77-2、云研77-4及其父母本PR107和GT1的染色体图(×1 000)

Fig. 1 The chromosome maps of 'Yunyan 77-2', 'Yunyan 77-4' and their parents 'PR107' and 'GT1' (×1 000)

子园,获取杂种种子。1974 年采种,1975 年将 8 个月苗龄的种子苗定植于云南思茅抗寒前哨苗圃(海拔 1 302 m,东北坡),进行苗期耐寒性选择。当年适逢云南省植胶区遭受第二次特大低温寒害,极端最低气温为 $-0.9^{\circ}\text{C}$ ,地温 $-2.7^{\circ}\text{C}$ ,静水结冰 4 d,很多实生苗当年被冻死。为加快育种速度,综合考虑寒害指标、物候、环境条件以及植株生长量和生长势,对经过 1975/1976 年低温考验的植株进行苗期筛选。寒害级别以不超过 2 级为准,物候观察以 1975 年低温前的物候为依据,分别以变色、展叶、伸长、萌动、稳定等作为评定条件,又根据思茅地区以辐射降温为主的特点,分为坡上、坡中和坡下 3 种地段类型,寒害分别为轻、中等、重 3 类型,并根据植株离地面 50 cm 高的直径,把生长势分为强、中等、弱 3 等进行打分,以级别总数最小者为优良耐寒植株。

通过打分,云研 77-2 和云研 77-4 的母株得分最低,初步筛选后于 1977 年繁殖茎芽无性系进行多点小区试验,测定其抗寒性、生长势和产胶量,以抗寒性好和产量高的 GT1 为对照。结果表明:云研 77-2 和云研 77-4 比 GT1 更抗寒,抗寒等级比对照分别低 0.62 和 1.19 级,在海拔低于 850 m 的植胶区割胶,头 4 a 的产量分别是 GT1 的 165.3% 和 143.1%,云研 77-4 的生长势要比 GT1 好,尤其在重寒害区<sup>[9]</sup>。1978 年建立初级系比区,1984 年建立高级系比区,通过连续 10 a 以上对各系比区的抗寒性、产胶量和生长量进行调查,云研 77-2 和云研 77-4 均优于对照 GT1。

总结云研 77-2 和云研 77-4 的育种历程可以发现:(1) PR107 和 GT1 是进行橡胶树杂交育种很好的亲本选择。一是它们本身抗性好,产量高,二是 PR107 雌性不育,GT1 雄性不育,不仅节省了人工杂交过程,且比人工杂交的结实率高,增大了筛选样本;(2)根据明确的育种目标,综合考虑各种影响因素,设定合理的筛选标准在实生苗苗期就进行筛选可以加快优良单株选出,缩短育种年限,并可使选育出的优良株系更好的符合生产需要;(3)在低温条件下筛选抗寒植株是抗寒育种的捷径。总之,利用特殊父母本,根据明确的育种目标,综合考虑各种影响因素,设定合理的筛选标准,在相应的逆境(如在自然低温条件下进行抗寒鉴定)中进行实生杂种筛选是橡胶树新品种选育的有效途径。如在育种早期进行细胞学的倍性鉴定,将大大加快多

倍体的筛选过程。根据我们的染色体鉴定,还有一些优良抗寒株系也为三倍体。由此可以推断在自然状态下多倍体实生种子可能会经常产生,特别是有些种质本身是雄性不育或雌性不育,大大增加了二倍性配子的产生几率。

### 3 讨论

#### 3.1 实生筛选多倍体是进行多倍体育种的较佳途径

多倍体具有生长势旺盛、抗性好等优点,橡胶多倍体育种一直是一个方向,但是人工诱导的多倍体会发生倍性不纯,在自然环境中适应性差,无法推广。马来西亚在 20 世纪 60 年代进行过秋水仙素诱导处理<sup>[1]</sup>,我国从 20 世纪 70 年代就开始了巴西橡胶树的多倍体育种,但大部分都是人工诱导获得四倍体<sup>[6-9]</sup>,三倍体育种也有报道<sup>[10-11]</sup>,但一直未见多倍体橡胶树应用于生产的报道。云研 77-2 和云研 77-4 具有高产、速生和抗寒等优点,所以从种子苗开始就受到了重视,但没有人意识到它们是多倍体。曾有人对它们授粉多年,但未获一果。通过细胞学鉴定,它们的细胞比二倍体明显更大,单个细胞的染色质比二倍体明显得多,染色体数为  $2n = 54$ ,所以断定它们为三倍体。从云研 77-2 和云研 77-4 的成功选育可以得出实生筛选多倍体是一条多倍体育种的较佳途径。如果能结合植株的外部特征进行早期的细胞学鉴定,并尽快进行抗性和割胶产量试验将大大加快橡胶树的育种历程。

#### 3.2 云研 77-2 和云研 77-4 的成功选育

巴西橡胶树是热带雨林高大乔木树种,从南美洲亚马逊河流域引种,到现在包括亚洲、非洲、拉丁美洲等热带地区种植也不过一百多年的历史,所有选育的品种对低温的忍耐力有限。20 世纪,很多学者认为橡胶树仅可生长在赤道南北纬大约  $10^{\circ}$  以内的热带地区,中国的云南不适合种植橡胶树。云南省植胶的纬度在  $21^{\circ}\sim 25^{\circ}$  之间,海拔较高,冬季出现的低温危害是种植橡胶树的最大瓶颈。事实上 1973 /1974 年冬和 1975/1976 年冬的两次特大低温寒害确实给生产上造成了极大损失,突出了橡胶树喜温怕冷的遗传特性与冬季低温寒害的矛盾,于是培育高产抗寒新品种成为云南省植胶区的育种方向。云研 77-2 和云研 77-4 的培育成功有以下原因:(1)通过建立自然杂交授粉园获得大量杂种种子,扩大了筛选范围,这是橡胶树人工杂交方法无

法相比的。(2)特殊的父母本。云研77-2和云研77-4的父母本是PR107和GT1,PR107雌性不育,GT1雄性不育,且这两个品种的抗性好、生长势较强,产量较高。雌性不育和雄性不育可能增加了 $2n$ 配子的产生几率,而它们的花器官发育还有待进一步观察。(3)在比大规模种植区更冷的地方——思茅建立抗寒前哨苗圃进行逆境筛选。由于云研77-2和云研77-4是三倍体,有较强的抗寒能力,所以在极端最低气温为 $-0.9^{\circ}\text{C}$ ,地温 $-2.7^{\circ}\text{C}$ ,静水结冰4d的情况下顽强地生存下来,且生长势良好。可以这样说,是低温逆境使云研77-2和云研77-4等一批具有较强抗寒能力的实生树凸显了出来。也许正是云南的低温促进了多倍体的产生,多倍化是巴西橡胶树在高纬度、高海拔且冬季温度低的新环境的适应性表现。

### 参考文献

- [1] Chen Z H(陈正华). Tissue Culture of Woody Plant and Its Application [M]. Beijing: Higher Education Press, 1986: 481-500.(in Chinese)
- [2] Li M X(李懋学), Chen R Y(陈瑞阳). Chromosome and Its Research Techniques of Crops [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996: 23-27.(in Chinese)
- [3] Yang L Q(杨立青). Election of the new rubber tree varieties yunyan 77-2 and yunyan 77-4 and the earlier studies [J]. Yunnan Techn Trop Crop(云南热作科技), 2002, 25(1): 1-4.(in Chinese)
- [4] Shepherd H, Crosfield S B. Induction of polyploidy in *Hevea brasiliensis*: Preliminary observation on traits conducted at Prang Besar Estate [J]. Plant Bull, 1969, 104: 248-256.
- [5] Zheng X Q(郑学勤), Zeng X S(曾宪松), Chen X M(陈向民). A further report on induction and cytological studies on polyploid mutants of *Hevea* (I) [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 1980, 1(1): 27-29.(in Chinese)
- [6] Zheng X Q(郑学勤), Zeng X S(曾宪松), Chen X M(陈向民). A further report on induction and cytological studies of polyploidy mutants of *Hevea* (II) [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 1981, 2(1): 1-9.(in Chinese)
- [7] Zeng X S(曾宪松), Zhang S Z(张树珍), Zhang Y D(张银冬), et al. Inducing of pure polyploid clone of *Hevea* by culturing comatic cell *in vitro* [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 1997, 18(2): 15-19.(in Chinese)
- [8] Lu Y L(陆永林), Feng X Y(冯雪原), Lu Y Y(陆益业), et al. Induction of polyploid plants in *Hevea brasiliensis* [J]. Hereditas(遗传), 1980, 2(6): 23-26.(in Chinese)
- [9] Ling X B(凌绪柏), Chen G S(陈广盛), Yang Y Y(杨廷元). A method for increasing polyploid induction rate in *Hevea brasiliensis* [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 1988, 9(2): 1-9.(in Chinese)
- [10] Saraswathyamma C K, Nzeer M A, Premakumari D, et al. Comparative hytomorphological studies on a diploid, a triploid and a tetraploid clone of *Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. De Jass) Muell Arg [J]. Ind J Nat Rabb Res, 1988, 1(1): 1-7.
- [11] Zheng X Q(郑学勤), Zeng X S(曾宪松), Chen X M(陈向民). A new method for induction triploid of *Hevea* [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 1983, 4(1): 1-4.(in Chinese)