

秋水仙素和二甲基亚砷诱导矮败 小麦孤雌生殖的效应

孙耀中 董洪平

(河北农业技术师范学院农学系, 昌黎 066600)

摘 要 在隔离区内, 以矮败小麦轮回选择群体中的不育株为供试亲本, 用秋水仙素 (Col) 和二甲基亚砷 (DM SO) 诱导孤雌生殖。结果表明, Col 和 DM SO 均具有诱导不育株孤雌生殖的作用, 并且二者之间存在极显著的互作效应。同一药剂不同的诱导方法, 其诱导效果有差异; 小穗剪颖处理的孤雌生殖结实率较高; 处理时间和套袋与否对孤雌生殖结实率影响不显著。孤雌生殖纯系在纯度和遗传稳定性方面均接近于对照品种 (丰抗 8 号)。从遗传理论和育种实践的角度, 讨论了药物诱导矮败小麦孤雌生殖的可行性及在小麦育种中的应用价值。

关键词 矮败小麦 孤雌生殖 秋水仙素 二甲基亚砷

矮败小麦是由中国农科院作物育种栽培研究所刘秉华等育成的小麦新种质^[1]。它是太谷核不育小麦的第二代产品, 是显性不育基因 $M S_2$ 与显性矮秆基因 $Rht10$ 的紧密连锁体, 其遗传特点是: 不育株接受任一非矮秆父本的花粉, 后代总是分离出一半矮秆不育株和一半高秆可育株, 不育株具有明显的矮秆标记性状。矮败小麦的这一特性在进行遗传理论研究和育种实践上都具有重要的意义, 尤其是在小麦孤雌生殖育种方面更具有特殊的应用价值。作者自 1991 年开始, 在设置的隔离区内用化学药剂诱导矮败小麦不育株孤雌生殖, 成功地获得了二倍体纯系。本研究旨在探讨 Col 和 DM SO 诱导矮败小麦孤雌生殖的效应以及不同的诱导方法对孤雌生殖的影响, 为进一步筛选适宜的化学诱导剂和最佳的诱导方法提供依据。

1 材料和方法

矮败小麦的种子由中国农科院作物育种栽培研究所刘秉华提供, 矮败小麦不育株经过多代轮回选择。

在隔离区适期 (9月 22日~ 23日) 播种矮败小麦轮回选择群体, 采用等距点播, 田间管理同大田。在小麦拔节至抽穗期以矮秆标记性状判别植株育性, 除去可育株, 只保留不育株。当

不育株穗子抽出旗叶时,开始整穗,去掉基部和顶部的小穗,留中间发育完全的 10~ 12个小穗,然后再剪去小穗的中间小花,使每个小穗都保留 2朵小花(为了便于调查),分为小穗不剪颖和剪颖 1/3两种处理,整穗后进行药剂处理

试验设计: (1)CoI和 DM SO 不同浓度的 $L_9(3^4)$ 正交试验: CoI的浓度为 0.05%、0.1%、0.2%, DM SO 的浓度为 0.5%、1%、2%,共 9个处理组合(表 1)。处理方法:小穗剪颖 1/3 将各处理组合的药液用医用注射器滴入每朵颖花内,每朵颖花的用药量相同。每天早上 7时前和晚上 7时后各处理一次,连续处理 3天,药剂处理过的穗子不套袋。(2)施药方法、用药时间、剪颖和套袋等 4个因素的 $L_8(2^7)$ 正交试验:施药方法分为“滴”和“喷”两个水平,“滴”——用医用注射器将药液滴入颖花内,“喷”——用喉头喷雾器将药液喷到穗子上;用药处理时间分为早上 7时前和晚上 7时后两个水平,剪颖分为不剪颖和剪颖 1/3两个水平,套袋分为用药处理后套袋和不套袋两个水平,每个处理组合均用药处理 3次,诱导剂为 0.2% CoI+ 2% DM SO。

试验共设置两个对照: (1)用蒸馏水处理 (ck₁); (2)只整穗不做任何其它处理 (ck₂)。

按下述方法计算结实率: $\text{诱导结实率}(\%) = \frac{\text{诱导结实粒数}}{\text{处理总小花数}} \times 100$

正交试验结果应用方差分析,诱导结实率数据在方差分析前均经反正弦 ($\sin^{-1} \sqrt{p}$) 转换。

2 结果与分析

2.1 CoI和 DM SO 及其组合诱导不育株孤雌生殖的效果

由试验结果(表 1和 2)看出,当 CoI的浓度较低时(0.05%), 进一步增加其浓度,可明显提高诱导结实率;而当 CoI浓度增大到一定程度(0.1%)之后,若再继续增加其浓度对诱导结实率的影响较小。显著性测验结果表明,0.1%和 0.2%两种浓度的诱导结实率差异不显著,但它们极显著地高于 0.05%的诱导结实率,0.1%和 0.2%均为最佳处理浓度。

表 1 CoI和 DM SO 不同浓度的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

处理 代号	试 验 因 素				重 复 I		重 复 II		结实率
	CoI (%)	DM SO (%)	(CoI) DM SO) ₁	(CoI) DM SO) ₂	处理总 小花数	结实率 (%)	处理总 小花数	结实率 (%)	总和
1	1(0.05)	1(0.5)	1	1	473	0	482	0	0
2	1	2(1.0)	2	2	664	0.30	416	0.24	0.54
3	1	3(2.0)	3	3	636	0.79	980	0.51	1.30
4	2(0.1)	1	2	3	648	0.77	1390	0.43	1.20
5	2	2	3	1	706	0.85	513	0.78	1.63
6	2	3	1	2	352	1.99	486	1.23	3.22
7	3(0.2)	1	3	2	1394	0.86	714	0.98	1.84
8	3	2	1	3	478	0.63	488	0.61	1.24
9	3	3	2	1	1096	1.82	894	1.45	3.27
ck ₁					484	0	382	0	0
ck ₂					406	0	476	0	0

由表 2可见, DM SO 不同浓度的变化对诱导结实率影响较大, 3种浓度的诱导结实率之间有显著差异, 2 0%的诱导结实率最高, 极显著地高于其它两种处理浓度, 因此, 在本试验所研究的浓度范围内, 2 0%为最佳处理浓度

CoI和 DM SO 各处理组合间诱导结实率的比较分析结果表明, 9号处理 (0 2% CoI+ 2% DM SO)和 6号处理 (0 1% CoI+ 2% DM SO)的诱导结实率极显著地高于其它处理, 并且它们二者之间的诱导差异不显著, 说明在本试验范围内, 0 2% CoI+ 2% DM SO 和 0 1% CoI+ 2% DM SO 为最优处理组合。

2 2 同一药剂不同诱导方法对孤雌生殖结实率的影响

不同施药方法等 4个因素的试验结果列于表 3 对其进行方差分析的结果表明, 剪颖处理对孤雌生殖结实率的影响最大, 剪颖 1/3与不剪颖的诱导结实率差异极显著; 其次是施药方法, 滴与喷的诱导效果差异显著; 用药时间和套袋两个因素的水平变化对孤雌生殖结实频率的影响差异均不显著。同时由表 3可以看出, 剪颖 1/3的诱导结实率比不剪颖的高 5 66% (总和数, 下同), 滴比喷的诱导结实率高 3 62%。究其原因, 可能是因为小穗剪颖后用药处理和滴药均能使药液与雌蕊直接充分接触的缘故。所以, 就本试验结果而言, 最佳的处理方法应为: (1)小穗剪颖 1/3后再将药液滴入颖花内; (2)用药时间可灵活确定, 以晚上 7时后为宜, 此时气温较低, 施药后药液蒸发较少; (3)经药剂处理过的穗子不必套袋即可。

表 3 施药方法、用药时间、剪颖和套袋四个因素的 L₈(2⁷)正交试验结果

处理 代号	施药 方法	用药 时间	剪 颖	套 袋	重复I		重复II	
					处理总	结实率	处理总	结实率
					小花数	(%)	小花数	(%)
1	1(喷)	1(晚 7时)	1 1(不剪)	1 1 1(套袋)	1148	0 26	412	0 20
2	1	1	1 2(剪 1/3)	2 2 2(不套)	878	0 46	446	0 54
3	1	2(早 7时)	2 1	1 2 2	430	0	484	0 08
4	1	2	2 2	2 1 1	826	0 12	396	0 37
5	2(滴)	1	2 1	2 1 2	1464	0 07	574	0 10
6	2	1	2 2	1 2 1	628	1 59	406	0 81
7	2	2	1 1	2 2 1	448	0 10	621	0 20
8	2	2	1 2	1 1 2	498	1 17	418	1 61

2 3 孤雌生殖后代鉴定

将诱导产生的孤雌生殖种子 (p_{ai})播种在田间, 长成的植株自交结实 (p_{a2}), 当年再将 p_{a2}按株行种植, 观察各株行内株间从出苗到成熟各阶段的主要性状 (如育性、株型、株高、穗型、芒、抽穗期和成熟期)表现, 并对株高、穗长、小穗数、穗粒数和千粒重等数量性状进行统计分析。凡上述性状目测整齐一致, 同时株高、穗长、小穗数、穗粒数、千粒重的变异系数均接近于对

表 2 CoI和 DM SO 不同浓度的诱导结实率比较

诱导剂	诱导剂 (%)	诱导结实率		差异显著性	
		sin ⁻¹	P 平均值 反转换值 (%)	0 05	0 01
CoI	0 2	5 78	1 01	a	A
	0 1	5 61	0 96	a	A
	0 05	2 53	0 19	b	B
DM SO	2 0	6 39	1 24	a	A
	1 0	4 22	0 54	b	B
	0 5	3 33	0 34	c	B

照品种(丰抗 8号)的变异系数时,定为纯系。1991年秋在本院试验田内适期播种了 32粒孤雌生殖一代的种子(p_{a1}),结果有 22粒正常出苗,出苗率为 68.8%,出苗后植株生长正常,越冬后成苗 19株,成苗率为 59.4%。其植株育性、株高、株型、穗型、芒的有无等性状出现明显的分离,可育株与不育株的比例接近 1:1 将 p_{a1} 的植株按单株收获、脱粒,当年将可育株种成株行,翌年田间观察发现,各株行内株间的育性、株型、株高、穗型、芒等性状均基本整齐一致,成熟时按株行收获并进行室内考种。据统计分析(表 4),孤雌生殖系的株高、穗长、穗粒数、穗粒重和千粒重的变异系数均接近于对照品种,证明这些孤雌生殖系在遗传上是稳定的,也是纯合的,用 CoI 和 $DM SO$ 诱导矮败小麦不育株孤雌生殖是可行的。

表 4 部分孤雌生殖系几个主要数量性状的变异系数(%)

孤雌生殖 纯系代号	株高	穗长	小穗数	穗粒数	千粒重
91- 1-③	2.07	1.68	2.30	2.05	6.80
91- 2-①	2.61	2.43	3.25	2.32	4.57
91- 3-④	2.40	2.29	2.79	2.97	7.72
91- 4-⑦	1.83	2.03	3.50	2.73	6.33
丰抗 8号(ck)	2.42	2.09	3.37	2.69	7.52

3 讨论

本研究结果表明, CoI 和 $DM SO$ 均具有诱导矮败小麦不育株孤雌生殖的作用,并且二者之间存在极显著的互作效应。这与棉花^[4]和玉米^[5]上的研究结果基本一致。对于 CoI 和 $DM SO$ 诱导孤雌生殖的作用,周世琦^[4]认为 $DM SO$ 可促使 CoI 的渗透,从而使 CoI 发挥较大的作用。赵佐宇^[5]则认为 $DM SO$ 有可能起到花粉管分泌物的作用,启动卵细胞分裂,继之经 $DM SO$ 和 CoI 的共同作用而加倍,从而导致遗传上纯合的二倍体胚的形成。据资料介绍, $DM SO$ 不仅能启动卵细胞分裂,而且还具有促进细胞融合起到染色体加倍的作用; CoI 则可以通过 $C-mitosis$ 使染色体加倍。可见, CoI 和 $DM SO$ 不失为良好的孤雌生殖诱导剂,可在实践中应用。

实践证明,矮败小麦是适于孤雌生殖育种的理想材料,用 CoI 和 $DM SO$ 等化学药物诱导其不育株孤雌生殖在育种实践上具有以下几点意义:(1)矮败小麦不育株为杂合体,具有丰富的遗传基础,由它产生的细胞一半含有不育基因,一半含有可育基因,不育株经诱导所产生的孤雌生殖后代仍出现一半的可育株,从中可选出性状优良的可育后代。(2)不育株象个基因接受器,把外来基因接受进去并进行重组,如果孤雌生殖诱导结合育种目标进行,可先对诱导材料有目的地输入一些种质,再经过药物诱导使其孤雌生殖,就可以尽快获得理想的稳定品系,从而缩短育种进程。(3)不育株具有明显的矮秆标记性状,便于进行大面积诱导处理,若在隔离区内诱导孤雌生殖,其诱导程序更为简便。在小麦开花之前去除可育株后即可对不育株进行诱导处理,并且不育穗不需要套袋,这样不仅省去了人工去雄的麻烦,而且免去了人工套袋的烦琐劳动,同时,也避免了外来花粉的干扰,从而提高了诱导结果的准确性。总之,用 CoI 和 $DM SO$ 等化学药物诱导矮败小麦孤雌生殖是一种简便易行的孤雌生殖育种方法。此项研究的成功为矮败小麦这一特殊种质资源的利用开辟了一条新的途径。

鸣谢 本研究得到本院作物 91级于卫国、周九俊、李兰芬、郭大慧、陶春燕、李占荣等同学的大力协助,谨致谢意。

参 考 文 献

- 1 刘秉华, 杨丽. 矮败小麦的选育及利用前景. 科学通报, 1991, 36(4): 306~ 308
- 2 刘秉华, 杨丽, 王山荭. 矮败小麦的遗传研究. 作物学报, 1994 20(3): 306~ 307
- 3 刘秉华, 杨丽, 王山荭. 矮败小麦及应用途径分析. 华北农学报, 1994 9(1): 12~ 16
- 4 周世琦. 棉花孤雌生殖研究初报. 遗传学报, 1980 7(3): 247~ 256
- 5 赵佐宇, 谷明光. 药物诱导玉米孤雌生殖获得二倍体纯系. 遗传学报, 1984 11(1): 39~ 46

Inducing Effect of Colchicine and Dimethyl Sulfoxide on Parthenogenesis of Dwarfing-Sterile Wheat

Sun Yaoshong Dong Hongping

(Agronomy Department Hebei Agricultural Teachers' College Changli 066600)

Abstract The male-sterile plants of dwarfing-sterile wheat planted in an isolation plot were chosen for research. Colchicine and dimethyl sulfoxide were taken as inducing agents. The results showed that (1) colchicine and dimethyl sulfoxide were effective for inducing parthenogenesis and the interaction between the two chemicals was very significant. (2) inducing effect varied with different methods; dropping the agents inside florets after cutting apiculi could increase inducing rate, but the inducing time and bagging spikes did not affect inducing rate. Genetic stability of the induced parthenogenesis lines was similar to check (Fengkang 8). The feasibility of inducing parthenogenesis of dwarfing-sterile wheat with chemicals and its application value in wheat breeding were discussed from angles of genetic theory and breeding practice.

Key words Dwarfing-sterile wheat; Parthenogenesis; Colchicine; Dimethyl sulfoxide