

# 陆地棉和亚洲棉种间杂交胚珠离体培养

王国昌 郝亚宾

(邯郸地区农业科学研究所)

生产中使用的棉种绝大部分是四倍体陆地棉种。如何进一步扩大其遗传基础,把诸如早熟、抗逆性强等更多更好的优良性状综合到栽培品种中去是一个很重要的问题,解决这一问题的途径之一就是种间杂交。但是种间杂交除栽培的陆地棉和海岛棉较易成功外,一般种间杂交成功的可能性很低。主要表现为亲本的不亲合性和杂种后代的不育性。过去在田间条件下所做的大量研究主要问题是结铃率很低,能获得的种子和杂种植株的频率都非常低。近年根据胚胎学研究的进展,已经能够观察到种间杂种中胚和胎乳发育上的不协调异常现象。当陆地棉 $\times$ 亚洲棉时,亚洲棉花粉能够在陆地棉柱头上正常萌发,授精率也达90%以上(李正理、胡绍安1978),但大多数不能结实。其原因是杂种胚乳的发育不正常,胚乳游离核比正常的少,并提前形成胚乳细胞,胚乳细胞形成后很快解体,致使杂种胚得不到正常的营养供给而萎缩死亡。对此Weaver (1958)曾提出将杂种胚在其萎缩之前转移出它们的胚胎环境,使之在人工培养基上正常发育,作为克服种间杂交不亲合性的手段。Stewart (1978)采用胚珠内培养胚的技术获得成熟的杂种植株。胡绍安、李秀兰(1979)获得了幼苗。我们1979、1980年进行了陆地棉 $\times$ 亚洲棉的胚珠离体培养工作,以期配合常规育种,为常规育种提供具有某些优良特性的育种材料。

## 材 料 和 方 法

第一批试验材料用本所植保研究室早春育苗移栽的〔(中4 $\times$ 乌3) $\times$ 3778〕F<sub>2</sub>,自交三天后摘取幼铃,无菌条件下取出胚珠,接种于以MS为基础液体培养基上。为防止胚珠下沉到培养液中造成死亡,做一滤纸桥使浮于培养液表面,以保证胚珠不致下沉,于30 $^{\circ}$ C恒温下暗培养。其余各次试验均以本所试验地正常播种的棉株为材料,母本为陆地棉科遗2号、中棉所7号、鲁棉1号、爱5701W;父本为亚洲棉石系一号、小毛籽等。基础培养基为Beasley培养基,补加800—1,650毫克/升NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>,以4%的蔗糖为碳源。培养8—10周时可见少数已萌发,此时在无菌条件下取出萌发胚转移到生根培养基上,同时剖开未萌发的胚珠,发现胚就转移到生根培养基中。幼苗发育到1—2片真叶时转为盆栽继续培养。

## 实 验 结 果

### 一、硝态氮水平和激素的不同对比对离体培养胚珠产量的影响

表1中M—1和M—5是未加任何激素条件下两个不同硝态氮水平的试验结果, M

—1 不仅在培养前期胚珠体积的增长和纤维的伸长均较 M—5 为快, 而且后期剖开胚珠时胚产量%也是前者高于后者, 说明较高的硝态氮水平对离体培养胚珠是必要的。

表 1 硝态氮水平、激素用量对离体培养胚珠胚产量的影响

| 代 号 | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub><br>(毫克/升) | 激 素 用 量 (毫克/升) |     |     |    | 接种胚<br>珠 数 | 有胚的<br>胚珠数 | 有胚的<br>胚 珠<br>(%) |
|-----|---|----------------|-----|-----|----|------------|------------|-------------------|
|     |   | IAA            | K   | BA  | GA |            |            |                   |
| M—1 | 1650                                      | 0              | 0   | 0   | 0  | 88         | 28         | 31.82             |
| M—2 | 1650                                      | 0.5            | 0.5 | 0   | 10 | 82         | 3          | 3.67              |
| M—3 | 1650                                      | 0.5            | 0   | 0.5 | 10 | 97         | 10         | 10.31             |
| M—4 | 800                                       | 0.5            | 0.5 | 0   | 10 | 54         | 5          | 9.26              |
| M—5 | 800                                       | 0              | 0   | 0   | 0  | 48         | 12         | 25.00             |
| M—6 | 800                                       | 0              | 0.5 | 0   | 0  | 48         | 9          | 18.75             |
| M—7 | 800                                       | 0              | 0   | 0.5 | 0  | 96         | 11         | 11.46             |
| M—8 | 800                                       | 0              | 0.5 | 0   | 0  | 60         | 11         | 18.33             |
| M—9 | 800                                       | 0              | 0   | 0.5 | 0  | 30         | 3          | 10.00             |

在所有 9 次试验中, 以未加任何激素的 M—1 和 M—5 胚产量最高, 分别为 31.82% 和 25.00%。只加 K (激动素) 或只加 BA (6-卞基嘌呤) 胚产量下降, 相同浓度的 K 和 BA 相比, BA 对胚产量下降影响更甚, 而且观察到 K (或 BA) 对胚珠体积的增长也有很强烈的抑制作用。

同时加有 IAA (吲哚乙酸)、K (或 BA)、GA (赤霉素) 时 (如: M—2、M—3 和 M—4) 胚产量最低, 分别为 3.7%、10.3% 和 9.26%。如前所述, K 或 (BA) 对胚发育有一定的抑制作用。IAA 对胚产量并无明显影响 (Stewart 1978), 主要是 GA 抑制了幼胚的早期发育。同时还观察到, 凡加有 GA 的处理, 其珠被细胞便形成大量愈伤组织。这种愈伤组织的过分生长也影响幼胚的正常发育。

## 二、陆地棉×中棉不同组合间、杂交和自交间胚产量的差异, 以及激素对它们的影响

本试验中所用各组合母本都是四倍体陆地棉, 父本都是二倍体中棉, 但不同组合间、杂交和自交间都有较大差异。

科遗二号×石系亚一号有胚频率达到 62.50%, 虽是一次重复的数字, 但联系到科遗 2 号自交组的有胚频率也很高 (52.38), 可以认为科遗 2 号×石系亚一号在种间杂交中是一个较好组合。中棉所 7 号×石系亚一号的有胚频率也很高, 而且相对稳定, 是棉属种间杂交常用的亲本材料。鲁棉一号×石系亚一号的有胚率比较低, 而以爱 5701W 作母本的组合其有胚频率等于零, 可见不同杂交组合间的有胚频率差异是很大的, 也反映了棉属种间杂交不同亲本间它们的不亲和程度也是有区别的。

表2 不同组间、杂交和自交间胚产量的差异以及激素对它们的影响

| 亲本组合* | 激素成分(毫克/升) |     |    | 接种胚珠数 | 出现胚数 | 有 胚(%)   |
|-------|------------|-----|----|-------|------|----------|
|       | IAA        | K   | GA |       |      |          |
| 科×石   | 0          | 0   | 0  | 8     | 5    | 62.50 ** |
| 科自交   | 0          | 0   | 0  | 21    | 11   | 52.38    |
| 中7×石  | 0          | 0   | 0  | 15    | 5    | 33.33    |
| 中7自交  | 0          | 0   | 0  | 17    | 3    | 17.65    |
| 中7×石  | 0.5        | 0.5 | 10 | 18    | 8    | 44.44    |
| 鲁×石   | 0.5        | 0.5 | 10 | 9     | 2    | 22.22 ** |
| 爱×石   | 0.5        | 0.5 | 10 | 50    | 0    | 0        |
| 科自交   | 0.5        | 0.5 | 10 | 20    | 4    | 20.00    |

\* 科×石(科遗2号×石系亚1号);中7×石(中棉所7号×石系亚1号)鲁×石(鲁棉一号×石系亚一号);爱×石(爱5701w×石系亚一号)

\*\*为一次重复的统计数。其余均为两次以上重复的统计数。

杂交组和它们的自交对照相比,杂交组的有胚频率高于自交对照组的有胚频率,无论科遗二号×石系亚一号,还是中棉所7号×石系亚一号都有这样的趋势。这一结果与中棉所胡绍安(1979)的结果一致,和 Stewert (1978)的结果不同。我们还观察到和杂交组相比自交组的珠被细胞过多的产生愈伤组织。

在基本培养基中添加激素IAA0.5毫克/升,K0.5毫克/升,GA10毫克/升,降低自交组胚产量(如科遗二号),却提高杂交组的胚产量(如中棉所七号×地系亚一号)。可见杂交组植株的生理状态和自交对照组植株的生理状态是有很大差别的。

### 三、幼苗发育情况

本试验获得幼苗62株,其中胚根、子叶和生长点都分化完全、能正常发育的幼苗9株,由生根培养基转为盆栽,部分植株已开花。其余53株都不正常,有的只发育一条带叶柄的狭长的叶,有的有两条狭长的子叶而缺少生长点或者无下胚轴,这些不正常的苗在培养中往往夭折。一般三毫米以上的大胚能发育为正常苗,三毫米以下的小胚或发育成上述的不正常苗,或长期保持原有大小不能继续发育,以致夭折。

对于进一步把试管幼苗转移到土盆中使之成活并继续发育的问题,是一项技术性较强的工作。掌握不好,就会大量死苗。甚至前功尽弃。为避免试管苗在转移中全部死掉,我们分两期以不同的方法进行了比较试验:第一期转移两株。苗龄为1—2片真叶,幼苗转入土盆灌足水,并罩以塑料薄膜使之保湿,于28°C—30°C下辅以光照培养,培养的前4天,幼苗挺直,不萎蔫,但第五天幼苗平倒于土盆中全部死亡,经检查系立枯病所致。第二期转移五株,苗龄仍为1—2片真叶,不加盖塑料薄膜,灌少量水,在子叶

以下覆以两厘米厚的沙土,结果五株幼苗成活四株,成活率为80%。

## 小 结

1、通过对陆地棉×亚洲棉五个不同杂交组合的胚珠离体培养,除爱5701W×石系亚一号外至少得到22.22%的有胚频率,并且获得杂种植株,从而证明人工培养基代替胚乳,作为克服由于胚乳败育造成的种间杂交不亲合性的手段是可行的。它比在田间植株上杂交能获得更高频率的胚,而且有节约用工、节约用地,能保证后代都是杂种的优点。

2、激素对种间杂交离体培养的影响比较复杂,它的作用因杂交组合的不同、植株的发育阶段和植株的生理状态、光照的强弱等多种因子而有所变化。根据本试验和前人的试验结果可以明确以下几点:第一,赤霉素(GA)明显地促进纤维伸长。也刺激珠被细胞过分地形成愈伤组织,降低胚的出现频率,但有利于得到更大一些的胚。第二,吲哚乙酸(IAA)促进纤维的伸长和胚珠体积的增大,对胚产量没有明显影响。第三,激动素(K)和6-卞基嘌呤(AB)抑制胚珠体积的增长,使胚产量下降。

3、本研究中,在同一培养基上,杂交组和自交对照组相比,杂交组的有胚频率有高于自交对照组的趋势,这一结果与中棉所胡绍安等(1979)的结果一致。而不同于Stewart(1978)的研究结果,其原因有待进一步研究。

4、把培养中能得到的胚最大限度地培养成幼苗和植株是改进和完善这一技术的关键,笔者认为应从两方面进行研究:一是改进培养基,调整激素种类及其配比,筛选更好的适宜幼胚发育的培养基。二是扩大杂交组合的研究范围,筛选适宜培养的杂交组合。

## 参 考 文 献

- (1) 张圣章等:离体棉花胚株的纤维生长和幼苗的形成。《植物生理学报》1978(2)
- (2) 胡绍安、李秀兰:棉花种间杂交胚珠离体培养及胚和幼苗的发育。《棉花》1680(5) 1—3
- (3) 梁正兰等:克服棉花种间杂交不亲性及杂种F<sub>1</sub>不育性的试验效果《遗传学报》5卷3期 171—179
- (4) 冯午、潘乃燧等:陆地棉与亚洲棉种间杂交的胚胎学观察。《北京大学学报》1959(5)
- (5) Stewart等:胚珠内培养胚的方法与二倍体和四倍体棉花的杂交。《国外遗传育种》1978(6) 33—44