

提高冬小麦花粉植株加倍结实率的研究*

王 培 陈玉蓉 王 峰 何 萍

(河北省农林科学院粮油作物研究所, 石家庄 050031)

摘 要 于 1992 年 11 月 29 日将单倍体绿苗从试管中取出, 一次完成加倍和移栽。翌年 2 月 21 日和 3 月 3 日分别将冬前移栽成活并处于分蘖期的单倍体植株加倍。结果显示, 上述三个不同加倍时期对植株的生长发育有如下影响: (1) 株高依次为 54.24cm、44.85cm、37.50cm; (2) 单株穗数依次为 13.03、7.39、4.56 穗; (3) 株粒数依次为 267.1、73.7、69.3 粒。讨论了加倍、移栽一次完成致使植株较高、单株穗数多、株粒数和穗粒数多的原因。

关键词 冬小麦 单倍体花粉植株 加倍时期 结实率

冬小麦单倍体花粉植株是由经过减数分裂后处于单核期的雄性细胞——花药离体后在人工培养条件下生长发育而成的。染色体只有体细胞的一半($n=21$), 因此花粉植株称为单倍体植株。由于只有一套染色体的花粉植株, 染色体不能正常配对, 这种植株就不能结实。植株不结实是没有意义的, 因此必须经过染色体加倍结实后才能利用。冬小麦花粉植株的染色体加倍, 一般的作法是在单倍体植株栽入田间成活后, 处于分蘖期时, 再重新挖出幼苗, 并把根系上的泥土洗净, 用秋水仙碱浸泡分蘖节进行加倍^[1~4], 然后再栽回原处。和现昌^[5]提出, 3 月初气温 10℃ 左右适于浸根加倍处理。冬小麦花粉植株的分蘖期很长^[6], 什么时间加倍效果最佳, 特别是用秋水仙碱加倍, 对花粉植株的正常生长影响很大。迄今为止对于如何减少秋水仙碱加倍对花粉植株生长的抑制, 在不降低加倍成活率和加倍效果的情况下, 大幅度提高单株产量等问题的研究尚未引起足够的重视。近二年来, 作者通过延长加倍后的花粉植株的营养生长期, 特别是延长分蘖期, 对增加结实穗数和粒数取得明显效果, 这为花培 H_2 的田间选择和鉴定, 将花药培养作为一种常规育种方法提供了重要依据。

1 材料和方法

供试材料 普通冬小麦 F_1 花药诱导出的试管苗, C_{17} 、MS 培养基的各种化学试剂, 秋水仙碱, 二甲基亚砷, PP333, 竹竿, 农用塑料薄膜。

培养基 诱导愈伤组织的培养基 $C_{17}+2,4-D$ 2.0mg/L+KT 0.5 mg/L+蔗糖 9%。分化绿苗培养基 $C_{17}+KT$ 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+LH 500.0mg/L+蔗糖 3%。壮苗培养基

MS+PP333 3.0mg/L+NAA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+LH500.0mg/L+蔗糖 8%。

试管苗的移栽环境 于11月上旬挑选10株相同组合生长正常经越夏的单倍体试管苗,放在栽苗环境条件下闭管练苗20天左右,在11月底至12月初栽入田间,行长1.5m,行距25cm,株距10cm。栽后用竹竿搭成高70~80cm、长500~600cm,宽300cm的塑料棚,翌年2月底揭去薄膜。

加倍 加倍前用叶片保卫细胞长度鉴定倍性^[7],对确认没有自然加倍的单倍体植株分别于11月29日从试管中取出的绿苗洗净培养基后进行加倍,和翌年2月21日、3月3日把处于分蘖期的单倍体苗从土中挖出,洗净泥土后进行加倍,其加倍方法是将单倍体苗用0.04%秋水仙碱+1.5%二甲基亚砷,在18℃条件下浸泡(分蘖节以下)8h,然后用自来水将药液冲洗干净,再栽于田间。于6月上旬成熟后调查株高,单株穗数,株粒数和穗粒数。

2 结果与分析

2.1 加倍时期对花粉植株 H₁ 株高的影响

表1 加倍时期对 H₁ 株高的影响

| 加倍时期 (年-月-日) | 结实株 | | 不实株 | | 平均株高 (cm) |
|-----------------|-----------|------------|-----------|------------|--------------|
| | 株数 (株) | 株高 (cm) | 株数 (株) | 株高 (cm) | |
| 1992-11-29 | 49 | 56.74 | 35 | 51.74 | 54.29 |
| 1993-02-21 | 61 | 45.00 | 48 | 44.69 | 44.85 |
| 1993-03-03 | 11 | 48.73 | 8 | 35.50 | 37.50 |

表2 加倍时期对花粉植株单株穗数的影响

| 加倍时期 (年-月-日) | 结实株 | | 不实株 | | 平均穗数 (穗) |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| | 株数 (株) | 穗数 (穗) | 株数 (株) | 穗数 (穗) | |
| 1992-11-29 | 49 | 13.56 | 35 | 12.49 | 13.03 |
| 1993-02-21 | 61 | 8.10 | 48 | 6.67 | 7.39 |
| 1993-03-03 | 11 | 6.36 | 8 | 2.75 | 4.56 |

试验结果(表1)表明,用秋水仙碱加倍的花粉植株,无论加上倍的结实植株,还是加不上倍的不结实植株,其株高均是11月29日加倍和移栽一次完成的较高,翌年早春分蘖期加倍的植株则较矮。经统计11月29日移栽、加倍一次完成与翌年2月21日加倍,二种方法对花粉植株株高的影响所测, $t=14.5296$, $df=108$, $P>0.01$,表明移栽、加倍一次完成的花粉植株的株高极显著高于翌年早春加倍的花粉植株的株高。加上倍的结实植株和加不上倍的不结实植株的株高相比,结实植株略高于不实植株,这可能是加上倍的二倍体细胞繁殖分化正常所致。

2.2 加倍时期对 H₁ 代花粉植株穗数的影响

表2资料表明,冬小麦花粉植株于11月29日加倍移栽一次完成的单株成穗最多,翌年早春分蘖期不同时期加倍的,加倍越晚单株成穗越少。经 χ^2 统计,11月29日加倍的植株与翌年2月21日、3月3日加倍的,其穗数相比差异极显著。说明于11月29日单倍体试管苗加倍和移栽一次完成的单倍体花粉植株,其单株成穗数显著高于翌年早春分蘖期加倍的花粉植株的穗数,并且翌年早春加倍越晚,花粉植株的成穗越少。加上倍的和加不上倍的单株穗数相比,加上倍的植株的穗数多于加不上倍的,但差异不明显。

2.3 加倍时期对花粉植株穗粒数的影响

加倍时期对花粉植株穗粒数的影响的试验结果(表3)表明,于11月29日单倍体试管苗加倍、移栽一次完成的单倍体花粉植株的粒数最多,翌年早春加倍的单倍体花粉植株单株结实粒数较少,并且加倍时期越晚单株结实粒数越少。从穗粒数看,同样是11月29日加倍移栽一次完成的单倍体花粉植株的穗粒数多。经统计11月29日移栽、加倍一次完成与翌年2月21

日加倍,二种方法对株粒数和穗粒数的影响,所测株粒数的 $t=31.9630$,穗粒数的 $t=32.2670$, $df=108$ 时, P 均 >0.01 ,表明移栽、加倍一次完成的花粉植株的株粒数和穗粒数均极显著地多于翌年早春 2 月 21 日加倍的单倍体花粉植株的株粒数和穗粒数。

表 3 加倍时期对花粉植株单株穗粒数的影响

| 加倍时期 (年-月-日) | 株粒数 (粒) | 穗粒数 (粒) | 调查株数 (株) |
|-----------------|------------|------------|-------------|
| 1992-11-29 | 267.9 | 19.7 | 87 |
| 1993-02-21 | 73.7 | 9.1 | 61 |
| 1993-03-03 | 69.3 | 10.9 | 11 |

2.4 加倍时期对单倍体花粉植株的成活率和成功率的影响

11 月 29 日将单倍体花粉植株从试管中取出,立即用秋水仙碱溶液浸泡加倍后再栽入田间的成活率为 95% 左右;对照(11 月底从试管中取出不加倍直接栽入田间)的单倍体花粉植株试管苗成活率也为 95%,二者差异不大。翌年 2 月 21 日和 3 月 3 日二次从土中挖苗加倍的单倍体植株成活率在 90% 左右。结果显示,三次加倍成功率均为 60% 左右,不同时期的加倍成功率无明显差异。2 月 21 日和 3 月 3 日早春分蘖期加倍的花粉植株成活率均为 90% 左右。但由于早春加倍的是移栽二次,故其总成活率只有 85% 左右,因此比一次完成加倍移栽的成活率低 10% 左右。

3 讨论

本项研究结果表明,加倍、移栽一次完成的较非一次完成的 H_1 植株株高较高。单株穗数、株粒数和穗粒数均较多。造成这种结果的原因主要有以下几点:

1. 加倍时间对株高影响 秋水仙碱溶液透性强,当它溶于水时,可随水分子一起穿过细胞壁进入细胞内部。当细胞核内有丝分裂发生时,染色体复制,在秋水仙碱溶液作用下纺锤丝被破坏,不能形成细胞壁,两套染色体结合在一起,从而由单倍体细胞形成了二倍体细胞。单倍体植株在加倍过程中,在相同环境的有效加倍浓度条件下,秋水仙碱浸泡时间越长,加倍成功率越高^[3],说明加倍作用主要是在有效的浸泡时间内进行的。秋水仙碱加倍后会对花粉植株造成一定的毒害作用,随着加倍后时间的延长,毒害抑制作用逐渐减少。11 月 29 日加倍的单倍体花粉植株是加倍和移栽同时完成的,移栽后逐步恢复正常生理机能,加倍早,恢复得早,植株生长发育就早,就为以后正常的营养生长和生殖生长赢得了时间,因而植株长得高。

2. 加倍时间对穗数影响 本试验使用的小麦单倍体花粉植株都是冬性品种,这些品种一般都有较严格的发育阶段,对多数品种来说,春化阶段最适宜温度在摄氏 0~5℃,高于或低于这个温度时春化速度减慢^[8];从植株年龄看,冬小麦以苗期春化速度最快。石家庄地区一般年份气温在 3 月 10 日左右回升,稳定在 5℃ 左右。春季移栽的植株年龄较大,并处在温度迅速增高、日照延长的条件下,经加倍的新生蘖很难有机会通过春化阶段,从而导致加倍晚的植株分蘖少,成穗少。

据观察,1992 年整个冬季塑料棚的气温基本上在 0℃ 以上,3℃ 以上有效积温达 199℃^[6],栽于塑料棚的花粉植株整个冬季没有停止过生长,所以植株分蘖多,成穗亦多。11 月 29 日从试管取出加倍、移栽一次完成的单倍体花粉植株,恢复生长后就处于这种塑料棚内条件下,分

蘖和成穗自然也多。而翌年2月21日和3月3日加倍的单倍体植株是移栽成活的单倍体试管苗再次从大田土中挖出,经秋水仙碱溶液浸泡加倍后又栽回大田中的。它们不仅受到秋水仙碱的毒害抑制作用,还遭受移栽伤根的破坏作用,即使已有的分蘖都被加倍,由于新生根系少,特别是根扎得浅,各种营养满足不了,加之气温迅速升高小麦生长迅速对养分需求高,被加倍的分蘖有一部分就不能成穗,致使春天加倍时间越晚单株成穗就越少。

3. 加倍时间对穗粒数影响 生长锥伸长至小穗分化时期是决定每穗小穗数和小花数多少的关键时期,一般而言,生长锥伸长的早,适宜幼穗分化的时间长,成穗大,穗粒数多。栽于塑料棚的单倍体花粉植株,由于棚内3℃以上的有效积温高(1992年1月1日至27日达199℃),有利于已加倍的花粉植株的幼穗分化。而当揭去塑料棚(2月27日)后,花粉植株又处在大气低温条件下,使正在分化的幼穗继续分化,从而大大延长了幼穗的分化期,导致11月29日加倍、移栽一次完成的花粉单倍体植株穗大,粒多。只有21条染色体的未加倍的单倍体花粉植株,虽然冬季在塑料棚内也有适宜穗分化的温度条件,营养生长条件与加倍的植株没有什么区别,但因其染色体不配对,使生长的幼穗也不能结实。早春经秋水仙碱浸泡加倍的植株,缓苗后适逢气温迅速升高,光照时间延长,没有足够的幼穗适宜分化时间,故而造成加倍晚的单倍体花粉植株穗子小,穗粒亦少。

11月29日从试管中取出的单倍体试管绿苗一次完成加倍、移栽不降低成活率的原因尚需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 李德炎主编. 小麦育种学. 北京:科学出版社,1976,171~172
- 2 徐惠君. 花药培养. 农业新技术革命. 北京:农业出版社,1987,35~54
- 3 陈玉蓉等. 冬小麦花粉植株的适宜越冬苗龄和染色体加倍的研究,河北农业大学学报,1992,15(1):4~7
- 4 傅杰等. 小麦试管苗的管理及染色体加倍与移栽的研究,西北植物学报,1991,11(3):185~193
- 5 和现昌. 用半浸根法进行小麦花粉植株染色体加倍的研究. 见:植物细胞工程与育种. 北京:北京工业大学出版社,1990,407~409
- 6 王培等. 提高冬小麦花粉试管苗 H_1 穗系产率的新方法. 华北农学报,1993,8(4):7~11
- 7 王培等. 用保卫细胞鉴定花粉植株倍性的研究. 北京农业大学学报,1989,15(2):141~145
- 8 金善宝主编. 中国小麦栽培学. 北京:农业出版社,1960,14

A Study on Increasing Seed-Setting Rate of Doubled Haploid of Winter Wheat Pollen Plants

Wang Pei Chen Yurong Wang Feng He Ping

(Institute of Cereal and Oil Crops, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang)

Abstract Haploid plants of winter wheat were treated with colchicine on November 29 and February 11, 21, and March 3, respectively. The results of development of haploid plants with different doubling times were as follows; (1) the average plant heights were 54.24, 51.67, 44.85 and 37.50 cm at the four doubling times, respectively; (2) the spike numbers per plant were 13.03, 7.13, 7.39 and 4.56; (3) the grain numbers per plant were 267.1, 106.6, 73.7 and 69.30. The reasons of taller plant heights, more numbers of spikes and grains per plant resulted from earlier doubling treatment were discussed.

Key words: Winter wheat; Haploid plants; Doubling time; Seed-setting rate.