

# 谷子不育性的化学保持研究

杜瑞恒, 张玉宗, 籍贵苏, 王新玉

(河北省农林科学院谷子研究所, 河北 石家庄 050031)

**摘要:**以谷子高度雄性不育系 927A 和其近等基因可育系 927C 为材料, 研究了不育株与可育株内源激素含量水平的差异, 结果表明: 927A 的败育与低水平的内源细胞生长素(IAA) 有关。对 927A 施用外源细胞生长素(IAA) 可部分恢复其雄配子的育性, 显著提高其当代的自交结实率, 证明 IAA 对 927A 的不育性具有化学保持作用。

**关键词:** 谷子; 核不育; 生长素; 化学保持

**中图分类号:** S515.03      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-7091(2003)院庆专辑-0070-03

## Study on Chemical Maintenance of Sterility in Millet

DU Rui-heng, ZHANG Yu-zong, JI Gui-su, WANG Xin-yu

(Institute of Millet Crops, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031, China)

**Abstract:** Foxtail millet (*Setaria italica* B.) male-sterile line 927A and its near isogonics fertile line 927C were used as experimental materials. The difference between content of endohormone in their plants was analyzed. Results showed that Sterility was related to low content of indole acetic acid (IAA) in 927A plant. The fertility of 927A plants treated by indole acetic acid (IAA) was improved, Selfed seed sitting percentage was increased. Indole acetic acid (IAA) could maintain the sterility of 927A.

**Key words:** Millet; Nuclear inherited sterility; Indole acetic acid (IAA); Chemical maintenance of sterility

谷子(*Setaria italica* B) 因抗旱、耐瘠、耐贮藏、适应性广而著称。在 20 世纪 60 年代末, 在谷子上发现了不育现象。目前, 我国育出核隐性高度雄性不育系、核显性不育系和光(温) 敏核不育系三大类型的谷子不育系, 同时也发现了细胞质不育现象<sup>[1~4]</sup>, 这为谷子杂种优势利用奠定了基础。刁现民、朱光琴等<sup>[1,5]</sup> 将谷子的败育类型归纳四种: 花药退化型、无花粉型、花粉败育型、功能败育型(花药不开裂型); 花粉败育有三个主要时期: 造孢细胞期、小孢子期和花粉成熟期。927A 是通过地理远缘杂交育成的谷子高度雄性核不育材料。该不育材料不育度在 98% 以上, 不育株率稳定在 99% 以上。在 927A 的自交群体中有同型近等基因可育株分离, 将同型近等基因可育株自交无分离, 定为 927A 的近等基因可育系 927C。用 927C 的不同单株做父本和 927A 成对杂交并回交 3~5 个世代, 目的是在 927C

中寻找保持系。在所有的杂交或回交的后代中均有育性分离, 没有找到 927A 的保持系, 因此无法用三系法保持该不育系的育性。因 927A 不育度极高, 无法自交繁殖足量的不育系施行一系两用, 也不宜用两系法制种。杜瑞恒等<sup>[6]</sup> 研究证明 927A 败育和过氧化物酶同工酶有关, 在一级枝梗分化期就出现败育特征酶带, 生理败育时期早于形态败育时期; 细胞形态学观察表明 927A 属花粉败育型, 败育发生在小孢子期。在上述研究基础上, 用高效液相色谱法测定了关键败育时期的内源激素; 研究了外源细胞生长素(IAA) 对其育性相关特征的影响, 目的是探讨化学保持谷子不育系 927A 育性的可行性。

### 1 材料和方法

#### 1.1 试验材料

将 927A 及其同型近等基因可育系 927C 种于

收稿日期: 2003-06-25

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(301438); 国家高技术研究发展计划专项经费资助(2001AA241231)

作者简介: 杜瑞恒(1963-), 男, 河北赞皇人, 研究员, 主要从事谷子杂种优势利用研究工作。

大田, 根据各项试验的要求及时取样。

1.2 试验方法

1.2.1 激素测定 取正在抽穗单株的顶 1~ 3 叶, 速冻保存备用。内源激素的提取、纯化、测定参照向旭等人<sup>[7]</sup>的方法进行。用高效液相色谱仪(岛津 IC-A6 型)测定, 色谱柱为 YWG-C18(4.6×150 mm), 流动相: 45% 甲醇- 55% 水(pH4.0), 检测器: UV254 nm×0.04AUFS。

1.2.2 外源激素对 927 A 酶特征影响的研究 用 100×10<sup>-6</sup>的 IAA 和 200×10<sup>-6</sup>的奈乙酸在小花分化期涂抹不育株的绿叶, 第二天取样, 分析过氧化物酶同工酶的变化, 取顶 1~ 3 片幼嫩鲜叶速冻保存备用。按王中仁<sup>[8]</sup>提供的聚丙烯酰胺凝胶电泳法(PAGE)进行过氧化物酶同工酶研究, 用电泳薄层扫描仪对电泳酶谱进行了扫描, 扫描波长为 492 nm。用扫描所得主要酶带的值输入电子表格, 然后自动绘制成图, 反映酶带的强弱。

1.2.3 IAA 对结实特性影响的研究 用 200×10<sup>-6</sup>的 IAA 新鲜溶液从枝梗分化期起到开花始止, 对 927A 7 d 喷施一次, 共进行 4 次。在抽穗后开花前, 分别取用激素处理和对照的小花, 用 Canoys 固定液固定 18~ 20 h, 而后保存于 5℃冰箱中备用。用亚历山大染色液对花药进行压片观察。开花前套袋自交, 成熟时收获, 单穗脱粒, 统计其自交结实率, 对照和处理各调查 20 穗。

2 结果与分析

2.1 谷子高度雄性核不育与内源激素

以 927A 及其近等基因可育系 927C 为试材, 在小孢子期取顶 1~ 3 叶测定其内源吡唑乙酸(IAA)、细胞分裂素(CTK)、赤霉素(GA<sub>3</sub>)、脱落酸(ABA) 4

种主要内源激素含量水平, 其结果列于表 1。

表 1 927A 与其近等基因可育系 927C 花粉形成期的内源激素对比

材料	重复	激素				ng/g
		IAA	CTK	GA <sub>3</sub>	ABA	
927A	I	0.2482	136038.873	15540.070	痕量	
	II	0.1960	164904.893	22064.498	痕量	
	平均	0.2221	150471.883	18802.284	痕量	
927C	I	1.2750	98874.707	25478.098	痕量	
	II	1.0210	140213.833	12285.716	痕量	
	平均	1.1480	119544.270	18881.907	痕量	

从表 1 看出, 可育株的 IAA 含量水平明显高于不育株的 IAA 含量水平, 平均为不育株的 5.17 倍, 重复之间变化一致, t 测验表明两者之间的差异达到显著水平(t= 5.0465> t<sub>0.05</sub>= 4.303) 说明花粉的正常发育需要较高水平的植物生长素 IAA, 927A 的败育和内源 IAA 含量水平低有关。CTK 的含量水平在不育株与可育株之间虽有差异, 但差异不显著(t= 1.2268), 重复之间也不规律。不育株和可育株之间的 GA<sub>3</sub> 含量水平重复之间变化较大也不规律, 平均值也比较接近, 差异不显著(t= 0.0108)。在花粉形成期 ABA 的含量水平很低, 难以确定与败育的关系。

2.2 IAA 对 927A 过氧化物酶同工酶酶带特征的影响

在小花分化期用奈乙酸涂抹不育株的绿叶, 第二天取样, 分析过氧化物酶同工酶的变化。对照株、奈乙酸处理株、IAA 处理株的酶谱特征如图 2~ 4 所示。图 1 是花粉形成期 927A 和 927C 的过氧化物酶同工酶酶谱扫描重叠图。位于 A<sub>2</sub> 处的酶带为不育系的特征酶带, 在一级枝梗分化期就出现此特征酶带。

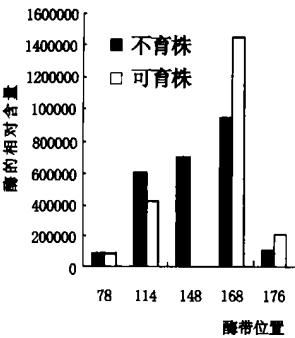


图 1 927A 和 927C 的酶谱比较

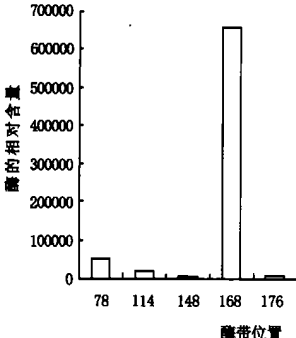


图 2 IAA 处理不育株酶谱

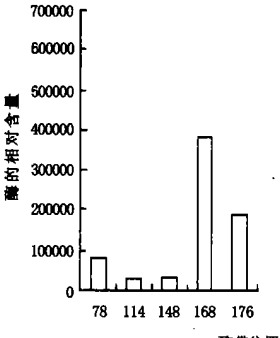


图 3 奈乙酸处理不育株酶谱

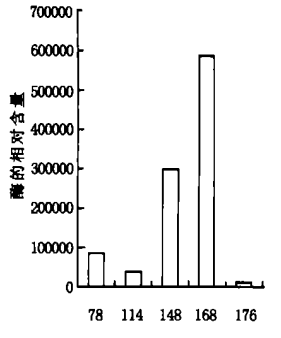


图 4 对照不育株酶谱

从图 2 可以看出, 未经处理 927A 不育系的标志酶带 A<sub>2</sub> 酶带明显可见。图 3 表明, 经奈乙酸处理的不育系酶带虽有变化但不育系的标志酶带仍明显可见, 表明奈乙酸对花粉败育没有显著影响。图 4 为 927A 经 IAA 处理的酶谱, 从中看出不育系的标志酶带基本消逝, 说明外源 IAA 对花粉败育有影响, 该试验结果和内源激素含量水平的试验结果相吻合, 进一步证明 927A 的花粉败育和 IAA 有关。

### 2.3 IAA 处理对 927A 自交结实特性的影响

927A 为花粉败育程度很高的花粉败育型不育系, 在花粉成熟时, 药室内败育小孢子很小, 绝大部分处在单核期, 细胞质退化明显, 细胞壁也有退化; 小孢子数量也较少, 一般在 0~ 30 个; 可育的花粉很少, 一般 0~ 5 个。开花后, 花药较小, 褐色, 开裂不明显。成熟后单穗结实在 0~ 60 粒, 结实率不超过 2%。

用  $200 \times 10^{-6}$  的 IAA 新鲜溶液从枝梗分化期起到开花始止, 对 927A 7 d 喷施一次, 共进行 4 次。在抽穗后取成熟花粉进行镜检, 可以观察到发育程度不同的小孢子几乎充满整个药室, 可育的花粉粒数明显增多, 一般在 5~ 30 个之间。开花后, 观察花药破裂情况发现, 花药开裂明显。从细胞形态学上看, IAA 处理对 927A 的花药发育有影响。处理和对照的不育系自交结实情况如表 2 所示。

表 2 927A 自交结实和用 IAA 处理不育株的自交结实对比

	最低		最高		平均	
	单穗粒数	结实率 (%)	单穗粒数	结实率 (%)	单穗粒数	结实率 (%)
对照	0	0.0	156	5.1	60	2
处理	64	2.3	443	14.8	180	6

从表 2 可以看出, 927A 经 IAA 处理之后, 平均自交结实率从原来的 2% 提高到 6%, 自交结实率明显提高, 达 3 倍左右。另一个变化是自交结实率的变化幅度扩大, 原来的变化范围为 0~ 5.1%, 变化幅度为 5.1 个百分点; 经 IAA 处理后变动范围为 2.3%~ 14.8%, 变化幅度为 12.5 个百分点。

从理论上讲, IAA 处理不会改变不育性和其他性状的遗传。种植经 IAA 处理的 927A 自交结实种子, 不育度没有发生明显变化, 仍为 2% 左右, 变化范围也无变化。这说明 IAA 对 927A 的不育性有保持作用。

### 3 结论与讨论

本研究认为 927A 不育系的败育与低水平的内源细胞生长素( IAA) 有关, 外源激素( IAA) 能够明显促进 927A 的自交结实, 并保持其原有的不育特性, 这使得自交结实极低的 927A 在没有找到保持系的情况下, 对提高不育系的繁殖系数和保证不育系的纯度有重要意义, 通过化学保持的方法, 可以有效地繁殖足量的不育系种子, 实行两系法制种, 为利用谷子不育系开辟一条新路子。本试验用的浓度范围和使用时期有限, 若通过改变浓度, 加入适当的助剂, 在关键时期使用, 效果可能会更好。

### 参考文献:

- [1] 李荫梅. 谷子育种学[ M ]. 北京: 中国农业出版社, 1997. 504- 616
- [2] 王天宇, 杜瑞恒. 谷子高度雄性不育基因在常规品种选育中的应用[ J ]. 华北农学报, 1994, 9( 3 ): 14- 16
- [3] 赵治海, 崔文生. 谷子光敏 821 选育及其不育性与光、温关系的研究[ J ]. 中国农业科学, 1996, 29( 5 ): 23- 31.
- [4] 胡洪凯, 王朝斌, 余艳华, 等. 谷子显性基因互作雄性核不育的选育与配套[ J ]. 作物杂志, 1991, ( 1 ): 6- 7.
- [5] 刁现民, 杜瑞恒, 王天宇, 等. 谷子 Ch 型显性雄性核不育花药发育的细胞形态学研究[ J ]. 华北农学报, 1991, 6( 1 ): 13- 17.
- [6] 杜瑞恒, 王天宇, 史兰波, 等. 谷子( *Setaria itlica* B. ) 雄性不育系败育时期的过氧化物酶同工酶研究[ J ]. 河北省科学院学报, 1994, ( 3 ): 473- 477.
- [7] 向旭, 张展薇, 邱燕萍. 适合荔枝样品几种内源激素的分析方法[ J ]. 果树科学, 1993, 10( 2 ): 119- 121.
- [8] 王中仁. 植物等位酶分析[ M ]. 北京: 科学出版社, 1996. 90- 128.