

GENESIS 诱导小麦雄性不育与 幼穗中乙烯含量的关系*

刘宏伟, 张改生, 王军卫, 王小利, 方振武

(西北农林科技大学 陕西省作物杂种优势研究与利用重点实验室, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 在小麦发育的 Feekes 8.5 时期用化学杂交剂 GENESIS 进行处理, 分别在小麦花药发育的单核期、二核期和三核期测定幼穗中乙烯释放量的变化, 研究 GENESIS 诱导小麦雄性不育与乙烯的关系。结果表明: 经化学杂交剂 GENESIS 诱导后, 幼穗中乙烯释放量在 3 个时期均明显高于对照。随着 GENESIS 喷施剂量的增加, 诱导小麦雄性不育率也相应增加, 同时幼穗中乙烯释放量也表现出相同的增长趋势。表明 GENESIS 诱导小麦雄性不育的生化机理在于 GENESIS 诱导小麦幼穗中乙烯释放量增加, 乙烯释放量的变化与小麦雄性不育有直接关系。同时, 利用乙烯合成抑制剂 (AVG) 处理细胞核质互作雄性不育系后, 内源乙烯释放速率降低, 育性得到部分恢复。

[关键词] 小麦; 雄性不育; GENESIS; 乙烯释放量

[中图分类号] S512.103.51

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)03-0039-04

大量的研究证明^[1-5], 外源乙烯可诱导包括小麦在内的许多作物产生雄性不育, 另外多种细胞质雄性不育、核雄性不育以及光温敏雄性不育中内源乙烯含量的变化是导致雄性不育的原因所在。20 世纪 70 年代末到 80 年代, 我国诸多单位利用乙烯进行小麦雄性不育诱导研究, 取得了重大进展。研究发现, 外施乙烯后小麦植株体内乙烯含量显著增加^[2,6]; 李德红等^[3]发现, 过高的乙烯释放速率 (ethylene release rate, ERR) 是光敏核不育水稻农垦 58S, 在长日条件下花粉败育的关键因子之一; 夏涛等^[4]对玉米细胞质雄性不育性研究发现, 不育细胞质材料在整个小孢子发生和败育过程中, 花药组织中乙烯释放量的变化趋势与正常细胞质材料中的变化趋势相反。正常保持系 M 017 从减数分裂期间开始, 随着小孢子发育的进程, 花药组织中乙烯释放量逐渐增加; 而 3 种不育细胞质材料在败育前期败育发生期 完全败育的过程中, 其花药组织中乙烯释放量逐渐降低。因此认为, 乙烯在作物雄性不育性调控中具有重要的作用。张爱民等^[2]对化学杂交剂 Sc2053 诱导小麦雄性不育机理进行了研究, 结果表明, Sc2053 诱导小麦组织中内源激素发生了显著变化, 从而导致小孢子败育。本研究对新型化学杂交剂 GENESIS 诱导小麦雄性不育中, 小麦植株体内

内源激素乙烯含量变化进行了研究, 以探讨 GENESIS 诱导小麦雄性不育与乙烯含量变化的关系。同时利用乙烯合成抑制剂 (AVG) 处理细胞核质互作雄性不育系, 研究乙烯合成抑制剂对雄性不育育性的调控, 以探讨乙烯在小麦雄性不育育性调控中的作用。

1 材料与方法

1.1 GENESIS 诱导小麦雄性不育试验处理

试验选用西农 1376 为材料, 以 GENESIS 1.0 kg/hm² (1376G1.0) 和 5.0 kg/hm² (1376G5.0) 剂量对西农 1376 进行诱导雄性不育处理, 表面活性剂为 Mon8161。处理时期为西农 1376 生长发育到 Feekes 标准 8.5, 即旗叶露出一半。喷施药量为 300 L/hm², 以喷清水为空白对照 (1376W)。在西农 1376 抽穗后开花前, 处理区套自交袋 20 穗, 小麦蜡熟期调查自交结实率, 评价 GENESIS 诱导雄性不育效果。用下式计算雄性不育率:

相对雄性不育率/% = $((A - B) / A) \times 100\%$ 。

式中, A 为对照套袋穗粒数, B 为处理套袋穗粒数。

1.2 核质互作雄性不育系试验处理

供试小麦为西北农林科技大学陕西省作物杂种

* [收稿日期] 2002-12-18

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (39970454); 863 计划项目 (2001AA 241041); 国家杨凌农业生物技术育种中心资助项目 (1999-B9); 陕西省“十五”攻关项目 (K01-G02-01)

[作者简介] 刘宏伟 (1967-), 男, 陕西扶风人, 副教授, 博士, 主要从事小麦杂种优势利用研究。

优势研究与利用重点实验室选育的小麦核质互作雄性不育系 V-59A, 其细胞质为偏凸山羊草细胞质 (*Ae ventricosa*), 不育系已进行了连续 10 代以上的回交, 不育性表现稳定。乙烯合成抑制剂处理分设 80, 90, 100 和 110 mg/L 4 个质量浓度梯度, 分别在 V-59A 花药发育到雌雄蕊原基分化和药隔期进行处理。采用叶片涂抹法, 每处理涂抹 3 株, 处理后挂牌标记。待抽穗后, 套袋调查自交结实率。以涂抹清水为空白对照。用下式计算自交结实率:

相对自交结实率/% = (T/K) × 100%

式中, K 为保持系套袋穗粒数, T 为处理套袋穗粒数。

1.3 内源乙烯释放量的测定

幼穗组织内源乙烯释放量 (ERR) 的测定采用气相色谱法进行, 在上午 10:00 (田间温度 27℃ 左右) 分别取经 GENESIS 不同剂量处理和乙烯合成抑制剂不同剂量处理的幼穗各 2 个, 镜检幼穗中部花药发育时期, 按不同时期称重后迅速投入 50 mL 三角瓶中, 加入少量水 (2 mL) 保持湿润, 然后密封。密封后与标样乙烯瓶 (1 mL/mL) 一起置于室温下, 3 h 后用微量进样器吸 0.1 mL 气样注入气相色谱, 外标法定性, 定量测定乙烯释放量, 计算 ERR。每处理 3 次重复, 取平均值。

采用 Shimadzu GC-9A 气相色谱仪测定乙烯释放量。色谱柱填料为 Gox502, 柱高 1 m, 直径 3 mm。检测器为 FID, 灵敏度为 RAG/GE10², 载气为 N₂, 流速 39 mL/min。空气流速为 50 mL/min (0.5 kg/cm²), H₂ 的流速为 50 mL/min (0.6 kg/cm²)。柱温 60℃, 进样口温度 100℃。

2 结果与分析

2.1 GENESIS 对西农 1376 雄性不育率的影响

经多年试验证明^[7], GENESIS 是目前国内最优秀的化学杂交剂之一, 用其在 Feekes8.5 的活性窗口下对小麦进行诱导雄性不育处理, 就大多数小麦品种基因型而言, 在 3.0 kg/hm² 剂量下 GENESIS 诱导雄性不育率达 95% 以上, 在 5.0 kg/hm² 剂量下 GENESIS 诱导雄性不育率为 100%, 在 1.0 kg/hm² 剂量下 GENESIS 诱导雄性不育率低于 90%。西农 1376 经 1.0 和 5.0 kg/hm² GENESIS 处理后, 其诱导雄性不育率分别为 88.7%, 100.0%。

2.2 GENESIS 对幼穗组织中乙烯释放量的影响

使用气相色谱仪分析测定不同剂量 GENESIS 处理后, 供试材料西农 1376 在小孢子发育的不同阶

段幼穗组织中乙烯释放量, 结果如表 1 所示。

表 1 不同处理的西农 1376 在小孢子发育不同阶段幼穗组织中乙烯释放量

Table 1 The ethylene release rate of young spike during various stage of microsporogenesis after treated with GENESIS in Xinong 1376

处理 Treatment	小孢子发育时期 Stage of microsporogenesis	乙烯释放速率 Ethylene release rate nL/(g·h)
1376W	单核期 Mononucleate	4.17 ± 0.15
	二核期 Binucleate	3.86 ± 0.50
	三核期 Trinucleate	3.39 ± 0.20
1376G1.0	单核期 Mononucleate	9.85 ± 0.21
	二核期 Binucleate	6.77 ± 0.56
	三核期 Trinucleate	5.89 ± 0.43
1376G5.0	单核期 Mononucleate	11.85 ± 0.84
	二核期 Binucleate	8.33 ± 0.31
	三核期 Trinucleate	7.01 ± 0.11

注: 1376W 是喷清水对照; 1376G1.0 喷施 GENESIS 的剂量为 1.0 kg/hm²; 1376G5.0 喷施 GENESIS 的剂量为 5.0 kg/hm²。

Notes: 1376W means Xinong 1376 was sprayed with water as check; 1376G1.0 means Xinong 1376 was sprayed with GENESIS at 1.0 kg/hm² rate; 1376G5.0 means Xinong 1376 was sprayed with GENESIS at 5.0 kg/hm² rate.

从表 1 可以看出, 西农 1376 经 GENESIS 处理后, 在小孢子发育的不同时期, 幼穗组织中乙烯释放速率明显高于同期对照; 特别是在小孢子发育的单核期, 用 5.0 kg/hm² 处理的西农 1376 幼穗组织中, 乙烯释放速率是对照的 3 倍。5.0 与 1.0 kg/hm² 处理相比, 小孢子发育单核期乙烯释放量差异较大。以上结果表明, GENESIS 诱导小麦雄性不育的主要原因是小孢子发育的单核期乙烯释放量迅速增加, 导致小孢子败育。

2.3 乙烯合成抑制剂对 V-59A 育性调控的影响

V-59A 经乙烯合成抑制剂 AVG 处理后, V-59A 幼穗的乙烯释放速率和自交结实率发生了一定的变化, 结果列于表 2。从表 2 可以看出, V-59A 雄性不育系经乙烯合成抑制剂诱导后, 其乙烯释放速率大幅度下降, 在雌雄蕊原基分化期乙烯释放率平均下降了 19.39%, 最高下降了 24.90%, 其雄性不育性得到部分恢复, 自交结实率平均提高到 6.13%, 最高达到 7.3%。在药隔期, 处理后 V-59A 雄性不育系幼穗乙烯释放速率得到抑制, 其雄性不育性也得到部分恢复。结果证明, 利用乙烯合成抑制剂可以抑制小麦雄性不育系内源乙烯的合成量, 从而对雄性不育性进行调控, 进一步证明了乙烯在雄性不育育性表达过程中具有重要的作用。

表 2 不同剂量 AVG 处理对 V-59A 幼穗乙烯
释放速率以及育性的影响

Table 2 The ethylene release rate of young spike of V-59A
and its self-fertility rate at different rate of AVG

时期 Stage	AVG 质量 浓度/ (mg · L ⁻¹) AVG rate	内源乙烯 释放速率/ (nL · g ⁻¹ · h ⁻¹) The ethylene release rate	自交 结实率/% Self- fertility rate
雌雄蕊原基分化期 Fomation of primordium of pistil and stamen	0	12.41	0
	80	10.82	5.1
	90	10.14	5.4
	100	9.73	6.7
	110	9.32	7.3
药隔期 Fomation of anther chamber	0	13.32	0
	80	11.13	3.4
	90	11.35	4.2
	100	10.57	4.4
	110	10.01	4.8

3 讨 论

大量研究表明^[2, 3, 8, 9], 外施乙烯可诱导小麦等多种作物产生雄性不育, 而且人们已从细胞形态学和生理生化等方面对乙烯诱导小麦雄性不育机理进行了广泛深入的研究, 结果证明乙烯作为一种激素物质, 可从各个层次调控小麦植株体内与育性有关的酶活性及物质能量代谢过程。田长恩等^[1, 5]研究发现, 外施乙烯合成抑制剂 AVG 可引起水稻细胞质雄性不育系幼穗中的蛋白质、DNA 和 RNA 含量上升, 使其水解酶活性下降, 说明乙烯可能通过影响蛋白质、DNA 和 RNA 代谢, 进而影响到雄性不育性的发生。李德红等^[3]发现, 光敏核不育水稻在不育条件下其幼穗的乙烯释放量高于可育条件下的乙烯释放量。本研究结果表明, 小麦幼穗中乙烯释放量的变化与 GENESIS 诱导小麦雄性不育率显著相关, 小

麦幼穗发育的单核期内源乙烯的增加将直接导致小孢子发育受阻, 从而引起小孢子败育, 这与乙烯诱导小麦雄性不育机理相同。用乙烯处理小麦后, 其外源乙烯可加速内源乙烯生物合成代谢过程, 使内源乙烯释放量显著增加, 从而导致雄性不育。利用乙烯合成抑制剂抑制雄性不育系植株体内内源乙烯的释放量, 使不育性得到部分恢复, 从另一方面证明了乙烯在小麦育性调控中的作用。

乙烯作为信号分子, 其作用依赖于细胞检测乙烯浓度变化的能力, 及把这种信息转变成生理反应的能力^[13, 14]。生理研究揭示, 乙烯在纳摩尔水平就可产生生物学反应, 因此设想利用乙烯合成抑制剂抑制内源乙烯的释放量, 改变组织中内源乙烯的浓度, 从而改变信号转导, 以达到改变生理生化反应的目的, 从而实现育性调控, 这方面还需更深入的研究。

另外, 有关作物雄性不育与其他内源激素的关系研究表明^[2, 6~ 8, 10, 11], 作物雄性不育是几种内源激素综合作用的结果或是其他激素直接作用的结果。张爱民等^[2]研究发现, 经化学杂交剂 Sc2053 和 BAU 9403 处理后, 小麦穗部 IAA, GA 4 (赤霉素), ZR (玉米素核苷), DHZR (双氢玉米素核苷) 和 ABA 5 种激素均发生了变化, 认为花粉败育的发生不是某一种激素而是多种激素作用的结果。张能刚等^[12]研究认为, 内源激素亏损是水稻 58S 雄性不育发生的直接作用结果。对玉米雄性不育的研究也表明^[15], 在花药组织中 IAA 含量的降低与不育的发生有直接关系。因此, 有关激素与作物雄性不育的关系还需进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 田长恩, 梁承邨, 黄毓文, 等. 乙烯与水稻细胞质雄性不育的关系[J]. 作物学报, 1999, 25(1): 116- 119

[2] 张爱民, 李贤英, 黄铁城. 化学杂交剂诱导的雄性不育花药组织内源激素的变化[J]. 农业生物技术学报, 1997, 5(1): 64- 71.

[3] 李德红, 骆炳山, 屈映兰. 光敏核不育水稻幼穗的乙烯生成与育性转换[J]. 植物生理学报, 1996, 22(3): 320- 326

[4] 夏 涛, 刘纪麟. 玉米细胞质雄性不育性与乙烯的关系[J]. 华北农学报, 1996, 11(3): 68- 72

[5] 田长恩, 段 俊, 梁承邨. 乙烯对水稻 CM S 系及其保持系蛋白质、核酸和活性氧代谢的影响[J]. 中国农业科学, 1999, 32(5): 36- 42

[6] 汤福强, 刘 愚. 植物乙烯生物合成研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(1): 3- 10

[7] 刘宏伟, 张改生, 王军卫, 等. 新型化学杂交剂 GENESIS 诱导小麦雄性不育的初步研究[J]. 西北植物学报, 1998, 18(2): 218- 222

[8] Bennett M D, Hughes W G. Additional mitosis in wheat pollen induced by Ethrel[J]. Nature, 1972, 240: 5166- 5184

[9] Bleecker A B. Ethylene: a gas signal molecule in plants[J]. Anna Rev Cell Bio, 2000, 16: 1- 18

[10] Hua J, Meyerowitz E M. Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. Cell, 1998, 94: 261- 271.

[11] 李贤英, 张爱民. 植物雄性不育激素调控研究进展[J]. 中国农学通报, 1995, 14(3): 25- 28

- [12] 张能刚,周 燮. 3 种内源酸性植物激素与农垦 58S 育性转换的关系[J]. 南京农业大学学报, 1992, 15(3): 7- 12
- [13] Borghi B, Bonali F, Boggini G. I Induction of male sterility in wheat with ethephon for hybrid seed production[A]. Proceedings of the Fourth International Wheat Genetics Symposium [C]. Columbia, 1973. 337- 343
- [14] Cross J W. Transport and metabolism of pollen suppressant Sc2053 in wheat[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1995, 43: 548- 556
- [15] 夏 涛,刘纪麟. 玉米细胞质雄性不育的激素调控机制[J]. 北京农业大学学报, 1993, 19(增刊): 17- 22

Relation between ethylene of young spike and male sterility induced by GENESIS in wheat

L IU Hong-wei, ZHANG Gai-sheng, WANG Jun-wei, WANG Xiao-li, FANG Zhen-wu

(Key Laboratory of Crop Heterosis, Shaanxi Province, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: At wheat developing stage Feekes 8.5, the wheat variety Xinong 1376 was sprayed with Chemical Hybridizing Agent GENESIS at rate of 1.0 and 5.0 kg/hm². The ethylene release rate of the young spike was tested when the microspore was in mononucleate, binucleate and trinucleate respectively. The changes of endogenous hormone ethrel and its relation to male sterility were studied. The results indicated that the metabolism system of the endogenous hormone ethrel take change after wheat was treated with GENESIS. The ethylene release rate in young spike of the treated plants was obviously higher than that of the untreated plants during the stage of microsporogenesis and development, especially in the stage of mononucleate. It was found that the ethylene release rate was increased when the rate of GENESIS was changed from 1.0 kg/hm² to 5.0 kg/hm². At the same time, when the rate of GENESIS was increased, the rate of male sterility was increased sharply. It is concluded that the changes of the ethylene release rate caused by application of GENESIS may be the reason of male sterility induced by GENESIS in wheat. The high ethylene release rate in pollen brought about numerous phytophysiological reaction, and lead to pollen aborting. It was also found that the male sterility line was partially restored by the external application of AVG (aminoethoxyvinylglycine) that is a kind of inhibitor of ethylene synthesis.

Key words: wheat; male sterility; GENESIS; ethylene release rate