

小麦T型雄性不育系及其杂交种 种子皱缩问题的研究

李正德 王成社 杨天章 何蓓如

(西北农业大学农学系)

摘 要

对小麦T型雄性不育系与其保持系(A×B)、不育系与恢复系(A×R)、保持系与恢复系(B×R)以及恢复系与保持系(R×B)等杂交种的试验分析表明,不育系及其杂交种种子皱缩的生化原因在发种子于育后期 α -淀粉酶活性增强所致;其遗传原因与种子本身的基因及母体效型应有关;种子形成过程中的条件对种子皱缩程度也有影响。据此提出了克服T型小麦雄性不育系及其杂交种种子皱缩的三条途径。

关键词 小麦; 杂种小麦; 种子皱缩; 雄性不育; 细胞质遗传; 杂种优势

小麦T型雄性不育系及其杂交种的种子皱缩问题,是目前杂种小麦未能广泛应用于生产的重要原因之一。关于这个问题,国外已有一些报道^[5-8,10-11],认为T型小麦不育系及其杂交种不仅存在着种子皱缩现象,而且皱缩种子对后代也产生不良影响。对种子皱缩原因,多数人认为是由于T型细胞质对普通小麦细胞核的不良效应所致,而Raj和Takashiro^[8]却认为是T型雄性不育基因的不良效应。一些生化分析结果表明,种子皱缩与其 α -淀粉酶的提前释放有关^[9,8]。国内对种子皱缩问题研究较少,仅在研究其他问题时稍有涉及^[11]。本项研究的目的在于进一步探讨T型不育系及其杂交种子皱缩的生化 and 遗传原因,并寻求其解决途径。

材 料 和 方 法

试验选用T小偃4号A、T小偃5号A、T陕农17A、T6626A和T73(36)9-2A等五个不育系(A)及其同型保持系(B)和T-6-3, T3016-26, T矮恢等三个恢复系(R)为材料,采用不完全双列杂交,组成A×B, A×R, B×R和R×B等45个杂交组合。

本文于1986年3月12日收到。

王明峻、刘庆法同志在试验和论文撰写过程中曾给予大力协助,特此表示感谢。

田间试验分为两个裂区设计,三次重复。设计Ⅰ为不育系和保持系,主区为不育系(或保持系)的随机排列,副区为不育系与其保持系的顺序排列;设计Ⅱ为45个杂交组合,主区为A×R(或B×R或R×B)15种组合的随机排列,副区为三组同核杂交种,按A×R, B×R, R×B顺序排列。单行区,行长6尺,行距7.5寸,株距3寸,双粒点播,出苗后双苗间一,缺苗移补(移补苗不取样)。主要考察项目为百粒重、发芽率、出苗率、冬前分蘖数和株高。种子饱满度和相对种子皱缩度的测定采用张晓龙等^[2]提出的新方法,即种子饱满度(%) = $\frac{V_{干}}{V_{胀}} \times 100$ 。然后按下列公式计算相对种子皱缩度:

$$\text{不育系相对种子皱缩度}(\%) = \left(1 - \frac{\text{A系饱满度}}{\text{B系饱满度}}\right) \times 100$$

$$\text{杂交种相对种子皱缩度}(\%) = \left(1 - \frac{\text{A} \times \text{R 饱满度}}{\text{B} \times \text{R 饱满度}}\right) \times 100$$

由于在预备试验中发现,不育系相对种子皱缩度和杂交种相对种子皱缩度分别与 $\left(1 - \frac{\text{A系百粒重}}{\text{B系百粒重}}\right) \times 100$ 和 $\left(1 - \frac{\text{A} \times \text{R 百粒重}}{\text{B} \times \text{R 百粒重}}\right) \times 100$ 的计算结果一致,因此,在正式试验中,采用了直接用百粒重计算的公式。 α -淀粉酶活性采用光电比色法测定。测定时期从授粉后第15天开始,每隔4天测定一次,直到种子成熟收获时为止。

结果与分析

(一) 不育系与保持系及其杂交种种子百粒重差异及皱缩度比较

从1983和1985年的试验结果可以看出,供试的五个T型不育系的种子百粒重均显著地低于其同型保持系,说明T型不育系普遍存在着种子皱缩问题,皱缩最严重的为T陕农17A,其相对种子皱缩度高达57.32%,皱缩最轻的是T6626A,皱缩度为20.63%(表1)。

分别以五个不育系及其保持系与矮恢、T-6-3、T3016-26三个恢复系各配制了15个杂交组合,比较了A×R与B×R杂种的种子百粒重和相对种子皱缩度。从表1可以看出,和T型不育系种子皱缩的趋势相似,除个别例外,A×R杂交种的种子百粒重均较B×R的为低,15个不育系杂交种的百粒重与相应保持系杂交种的平均百粒重差为0.47克,说明其种子皱缩的程度比不育系本身为轻。从不育系杂交种的相对种子皱缩度可以更清楚地看到这一趋势,其中皱缩最重的是T陕农17A的杂交种,皱缩度为36.1%;最轻的是T6626A的杂交种,仅3.77%。T小偃4号A的杂交种种子皱缩也较轻,为11.3%。15个T型不育系杂交种的平均相对种子皱缩度为18.3%。这些结果说明,T型雄性不育系不仅本身种子皱缩,而且影响杂交种子也皱缩,二者的相关系数高达0.8347,同时说明恢复基因有克服或减轻种子皱缩的作用。

表1 不育系与保持系及其杂交种的百粒重差异和种子皱缩度比较

项 目	年份	不育系或保持系					平均
		陕农17	73(36)	9-2	小偃4号	小偃5号	
A系与B系百粒重差异							
B - A (克)	1983	2.20**	1.10**	1.05**	0.95**	0.70**	1.22
	1985	2.17**	0.96**	1.03**	1.23**	0.79**	1.24
\bar{X}		2.24	2.04	1.04	1.09	0.75	1.23
1 - A/B (%)		57.32	30.08	25.06	27.40	20.63	32.1
A系杂交种与B系杂交种百粒重差异							
B × R - A × R (克)	1983	1.22**	0.73**	0.27	0.98**	0.24	0.69
	1984	—	0.23	0.22	0.54*	-0.01	0.25
\bar{X}		1.22	0.43	0.25	0.76	0.12	0.47
1 - A × R/B × R (%)		36.10	15.80	11.30	24.70	3.77	18.3

注：A为T型不育系，B为保持系，R为恢复系，B - A代表B系与A系百粒重差，B × R - A × R代表B系与A系分别与矮恢、T-6-3和T3016-26三个恢复系间杂交种百粒重平均数之差，1 - A/B代表A系与B系的相对种子皱缩度，1 - A × R/B × R代表A系杂交种与B系杂交种的相对种子皱缩度。

(二) T型不育系及其杂交种皱缩种子对发芽率和后代植株发育的影响

1983和1985年考查了不育系皱缩种子对发芽率、田间出苗率、冬前分蘖数、有效分蘖数和株高的影响，1983和1984年考查了不育系杂交种皱缩种子对这些性状的影响，其资料分别列于表2和表3。

从表2可以看出，上述所有被研究的性状，不育系的都比保持系的为差，除了T6626A以外，所有不育系各性状与保持系各性状的差异均达到了差异显著水平。从发芽率来看，影响最严重的是T陕农17A，发芽率只有6.0%，而其保持系为76.0%，影响最小的是T6626A，发芽率为77.0%，其保持系为79.0%，二者仅差2.0%。由于T陕农17A的苗数太少，所以其他性状只对其余四个不育系及其保持系进行了比较，其中影响最小的还是T6626A，其田间出苗率、冬前分蘖数、有效分蘖数和株高分别与其保持系的差异为9.0，1.5，1.4和4.9。只有冬前分蘖数达到了差异显著水平。说明T型不育系不仅造成种子皱缩，而且明显影响后代植株的发育，但其影响程度却因核供体不同而有差异。

杂交种的出苗率、冬前分蘖、有效分蘖和株高等性状直接关系到杂种一代群体的生长发育，最终必然影响到杂交种的产量。从表3可以看出，除了T小偃4号A杂交种的出苗率和有效分蘖以外，A × R与B × R相比，不育系杂交种这四个性状都有所降低。15个杂交组合平均，不育系杂交种的田间出苗率、冬前分蘖数、有效分蘖数和株高比保持系杂交种的分别降低17.4%、19.5%、13.3%和3.7%。这些性状的差异度与相对种子皱缩度的相关系数表明，其性状的降低与种子皱缩密切相关。

表2 不育系皱缩种子对发芽率及其对后代发育的影响

项 目	发芽率 (%)	田间出苗率 (%)	冬前分蘖数	有效分蘖数	株高 (cm)
T 陕农17A	6.0	—	—	—	—
陕农17 B	76.0	88.0	—	—	—
B - A	70.0	—	—	—	—
T 73〈36〉9-2 A	57.0	60.0	5.1	6.1	66.0
73〈36〉9-2 B	81.0	82.0	7.5	8.0	64.9
B - A	24.0	22.0*	2.4**	1.9*	-1.1
T 小偃4号A	60.0	72.0	4.5	5.1	82.1
小偃4号B	78.0	88.0	6.4	7.1	87.3
B - A	18.0	16.0*	1.9**	2.0*	5.2*
T 小偃5号A	66.0	67.0	5.6	6.5	70.2
小偃5号B	83.0	85.0	7.7	8.3	73.2
B - A	17.0	18.0*	2.1**	1.8*	3.0*
T 6626A	77.0	75.0	5.4	6.4	76.3
6626 B	79.0	84.0	6.9	7.8	81.2
B - A	2.0	9.0	1.5*	1.4	4.9

表3 不育系杂交种皱缩种子对后代植株的影响

不育系或保持系	B × R - A × R							
	田间出苗率 (%)		冬前分蘖数		有效分蘖数		株 高 (cm)	
	差异	相对差异 度	差异	相对 差异度	差异	相对 差异度	差异	相对 差异度
陕农17	28.5**	77.1	2.5**	52.4	3.7*	48.3	13.8*	13.0
73〈36〉9-2	0	0	0.4	10.4	0.97	13.6	0.2	0.2
小偃4号	-0.4	-1.2	4.3	10.0	-0.4	-5.8	0.4	0.4
小偃5号	4.2	11.0	1.0	19.9	0.7	9.3	0.6	0.6
6626	0.1	0.3	0.2	4.6	0.1	1.2	4.1	4.5
平 均	6.5	17.4	1.7	19.5	1.0	13.3	3.8	3.7
性状差异度与种子皱缩度相关系数 (r)	0.8059**		0.7445**		0.7816**		0.5040	

注: 相对差异度指不育系杂交种 (A × R) 相对于保持系杂交种 (B × R) 的差异程度, 由 $\frac{(B \times R) - (A \times R)}{(B \times R)}$

× 100 而得。

(三) T型不育系及其杂交种种子皱缩原因分析

α -淀粉酶的活性直接影响到种子的发育,在种子成熟期, α -淀粉酶活性的增强必然导致种子贮藏淀粉的分解,造成种子皱缩。1985年对参与试验的不育系、保持系、恢复系及其杂种 F_1 , F_2 等14个材料,在种子发育过程中,进行了 α -淀粉酶活性的测定(见表4)。结果表明,T型不育系及其杂交种的种子皱缩是由于在种子形成后期明显出现第二次 α -淀粉酶活性增强而引起的。表4中第5次测定的数字(下划线者)表示有第二次 α -淀粉酶活性增强的材料。其种子皱缩与 α -淀粉酶活性、细胞质、基因型以及环境条件的关系分析如下:

表4 α -淀粉酶活性在14个材料种子发育过程中的表现

材 料	测 定 次 数				
	1	2	3	4	5
73(36)9-2A	0.1	0.0	<u>1.5</u>	0.0	<u>2.0</u>
73(36)9-2B	0.3	0.5	<u>1.0</u>	0.0	0.1
小偃4号A	-0.1	<u>1.2</u>	<u>2.2</u>	0.3	<u>1.1</u>
小偃4号B	0.1	<u>0.8</u>	<u>0.9</u>	0.4	0.0
小偃5号A	0.2	0.0	<u>1.2</u>	0.1	<u>1.3</u>
小偃5号B	0.1	0.1	<u>1.3</u>	0.1	0.0
矮恢	0.1	0.1	<u>1.8</u>	0.1	0.1
T-6-3	0.0	0.0	<u>1.2</u>	0.0	0.1
73(36)9-2A \times F ₁	0.1	0.5	0.9	0.0	0.1
矮恢F ₂	0.0	0.2	<u>1.3</u>	0.2	<u>1.0</u>
73(36)9-2B \times F ₁	0.3	<u>1.1</u>	<u>1.4</u>	0.0	0.0
矮恢F ₂	0.1	0.3	<u>1.1</u>	0.1	0.0
矮恢 \times F ₁	0.1	0.3	<u>1.4</u>	0.5	0.0
73(36)9-2B F ₂	0.1	0.1	<u>1.0</u>	0.2	<u>0.9</u>

注: α -淀粉酶测定时期是从授粉后第15天开始,以后每4天测定一次直到种子收获为止;表中数字为:实际测定值 \times 100;表中划横线者表示有酶活性增强表现。

1. 种子本身基因型与种子皱缩的关系

从表4可以看出,不育系均有两次 α -淀粉酶活性增强过程,一次出现在授粉后22天左右,一次在种子成熟期;而保持系与恢复系都只有一次 α -淀粉酶活性增强过程,出现时间与不育系第一次的大致相同;A \times R, B \times R和R \times B各杂交种也只有一次活性增强表现,与保持系或恢复系情况相似。不育系与保持系是同核异质,前者是T质,后者是A质,造成二者在 α -淀粉酶活性上的差异,主要是细胞质的作用。而不育系与恢复系是同质异核,造成它们之间酶活性的不同,则是恢复基因起了主导作用,即恢复基因可以抑制 α -淀粉酶的第二次活性。在A \times R, B \times R和R \times B中,不管细胞质如何,都有恢复基因存在,因此,只有一次 α -淀粉酶活性增强表现。F₂种子(F₁植株所结

种子)表现较为特殊,具有A质的 $B \times R F_2$ 种子发育过程中,仅出现一次 α -淀粉酶增强过程,而两种T质杂种 $A \times R$ 和 $R \times B$ 的 F_2 种子却又有两次 α -淀粉酶活性增强过程。说明在T质背景下,由于 F_2 基因的分离,又出现了 α -淀粉酶的第二次活性,可见 α -淀粉酶活性在成熟期的第二次增强,是T质与隐性纯合不育基因互作的结果,这种互作取决于种子本身的基因型,而与母体的基因型无关。

2. 种子着生植株基因型与种子皱缩的关系

但是杂种 F_1 当代种子却与 F_2 种子有所不同,因为T质 F_1 杂种种子本身具有恢复基因,没有T质与纯合不育基因的互作,也没有在成熟期出现 α -淀粉酶的第二次活性增强,但种子仍有一定程度的皱缩。如在1983和1984年的 $A \times R$ 与 $B \times R$ 杂交种子比较试验中, $A \times R$ 即T质杂交种的种子却程度不同地表现有种子皱缩现象,与 $B \times R$ 的种子显然表现不同(表1)。根据1985年 $B \times R$ 和 $R \times B$ 杂交 F_1 种子的比较试验,二者表现完全一致,没有差异。 $A \times R$, $B \times R$ 和 $R \times B F_1$ 种子本身的基因型完全相同,都有恢复基因,所不同的是 $A \times R$ 的母体为不育系, $B \times R$ 的母体为保持系, $R \times B$ 的母体为恢复系。那末 $A \times R F_1$ 种子的皱缩只能用母体效应来解释。即不育系母体的T质与纯合不育基因的互作的母体效应对 F_1 种子皱缩也有一定程度的影响。 $B \times R$ 和 $R \times B$ 的母体植株没有T质与纯合不育基因的互作,因而没有这种影响。

据此,可以将种子皱缩与种子本身的基因型、母体基因型和 α -淀粉酶活性的关系

表5 种子皱缩与种子本身基因型、母体基因型之间的关系

代号	材料	种子基因型	有无第二次 α -淀粉酶 活性	母体基因型	有无不良 母体效应	种子 皱缩程度
A	不育系	T (rf rf)	有	T (rf rf)	有	严重
B	保持系	A (rf rf)	无	A (rf rf)	无	正常
R	恢复系	T (Rf Rf)	无	T (Rf Rf)	无	不皱缩
$A \times R (F_1)$	不育系杂交种	T (Rf rf)	无	T (rf rf)	有	较轻
$B \times R (F_1)$	保持系杂交种	A (Rf rf)	无	A (rf rf)	无	正常
$R \times B (F_1)$	恢复系杂交种	T (Rf rf)	无	T (Rf Rf)	无	不皱缩
$A \times R (F_2)$	T质不育系杂种 F_2	T (Rf Rf) T (Rf rf) T (rf rf)	无 无 有	{ T (Rf rf) }	无	较轻 有分离
$B \times R (F_2)$	A质保持系杂种 F_2	A (Rf Rf) A (Rf rf) A (rf rf)	无 无 无	{ A (Rf rf) }	无	正常
$R \times B (F_2)$	T质恢复系杂种 F_2	T (Rf Rf) T (Rf rf) T (rf rf)	无 无 有	{ T (Rf rf) }	无	有分离 较轻

总结于表5。从表5可以看出, T型不育系种子, 既受种子本身基因的影响, 又受母体效应的影响, 因而皱缩严重; T型不育系同恢复系杂交的种子, 种子本身的基因型含有R₁基因, 没有第二次 α -淀粉酶活性增强表现, 只受雄性不育系母体不良效应影响, 种子皱缩较轻; 不育系与恢复系杂种的F₂种子(F₂植株所结种子)皱缩的原因, 是在T型细胞质背景下, 恢复基因与不育基因分离产生纯合不育基因型的结果。由于具恢复基因的种子占多数, 所以只有少数种子皱缩。

3. 环境条件与种子皱缩的关系

1983年和1984年的不育系杂交种相对种子皱缩度比较中, 在种子发育期间, 1983年的综合条件较差, 相对种子皱缩度大, 12个杂交组合的平均皱缩度为18.1%; 1984年的综合条件较好, 相对种子皱缩度较小, 12个组合的平均值为8.7%。说明T型不育系及其杂交种对环境条件的反应比较敏感, 这也是在选育和推广T型杂交小麦时应当注意的一个问题。

讨 论

根据以上结果分析和前人的研究, 提出如下克服种子皱缩的途径。

1. 选育抗种子皱缩能力强的多恢复基因恢复系。恢复基因具有明显抑制种子皱缩的作用, 使种子发育过程中 α -淀粉酶活性正常, 杂交当代就有效果; 也可使F₁植株生长正常, 不良母体效应消失, 减轻种子皱缩度; 多恢复基因恢复系还可以使F₂分离皱缩种子的频率大大降低。例如, 恢复系T-6-3含一对主效恢复基因, R₁₁₃含两对恢复基因, 使其分别与T小偃5号A和T73(36)9-2A杂交, T-6-3杂交种F₂皱缩种子的比率分别为13.7和7.2%, R₁₁₃杂交种F₂皱缩种子的比率分别为10.0%和3.6%。后者较前者皱缩种子比率明显降低。

2. 选育具有抑制种子皱缩基因的优良不育系。恢复系并不能解决不育系本身的种子皱缩问题, 同时杂种F₂还必然或多或少发生皱缩种子的分离。因此, 要消除母体影响, 选育种子不皱缩的不育系, 才能彻底解决种子皱缩问题。如前所述, T6626A及其杂交种表现种子皱缩轻微或不皱缩, 应加以充分利用。据Rai^[8]报道, 大姆指矮具有种子皱缩抑制基因。我校的试验证明, 来自大姆指矮的种子皱缩抑制基因, 可以使T陕农17A的种子皱缩度从57.2%降低到39.1%, 使其他不育系的种子皱缩度也有不同程度的降低。因此, 还应广泛搜集具有抑制种子皱缩基因的材料, 以便选育出种子不皱缩的不育系。

3. 改善栽培条件, 提高不育系及其杂交种的种子饱满度。前已述及, 1983年和1984年的自然条件对种子皱缩的影响迥然不同。河北海兴县也曾报道, 施用硼肥具有明显提高种子饱满度的效果, 这方面的具体情况还需进一步研究。但改善栽培条件, 施用能够增大光合强度, 促进光合产物运输, 增强淀粉合成酶活性的硼、锌、磷等肥料, 无疑可减轻T质不育系及其杂交种对环境敏感的缺点, 提高种子的饱满度。

参 考 文 献

- [1.] 张芬、孙华涛: T型杂种优势与T型细胞质的遗传效应, 《安徽农学院学报》, 1981(1): 29-37。
- [2.] 张晓龙等: 测定种子饱满度的新方法, 《作物学报》, 1983(2): 125-127。
- [3.] 西北农学院、山东农大: 《植物生理学实验指导》, 山东科技出版社, 1978: 12-14。
- [4.] CoglxoBa, Д.Д. 著, 孙传谓译: 远缘杂交种的细胞质效应, 《国外农业科技》(小麦杂优利用专刊), 1978: 23。
- [5.] Hayward, C.F. 著; 黄世缓译: 杂种冬小麦的研究与展望, 《国外农业科技》, 1976(2)。
- [6] Doig, R. I., Done, A. A., Rogers, D. F.: Preharvest Sprouting in bread wheat (*Triticum aestivum*) as influenced by cytoplasmic male sterility derived from *T. timopheevi*, *Euphytica*, 1975, 24: 229-233.
- [7] Kihara, K.: Cytoplasmic relationships in the *Triticinae*. *proc. 3rd Intern. Wheat Genet. Symp.*, 1968: 125-134.
- [8] Rai, R. K.: Influence of the male sterility (*Triticum timopheevi* Zhuk. cytoplasm) on F_1 seed in common wheat, *Proc. 5th Intern. Wheat Genet. Symp.* 1978: 299-305.
- [9] Sage, G. G. M.: The expression of heterosis for yield in restored F_1 hybrid wheats and its interactions with seed rate and size, *The Journal of agricultural Science*, 81(1)1973: 125-129.
- [10] Sage, G. C. M.: The interaction of restoration with environment in wheat. *Proc. 7th Congress of Eucarpia*, 1976: 123-134.
- [11] Willson, J. A.: Hybrid wheat development with *Triticum timopheevi* Zhuk. derivatives. *Proc. 3rd Intern. Wheat Genet. Symp.*, 1968: 423-430.

STUDIES OF SHRIVELED SEEDS OF MALE-STERILE LINES AND THEIR HYBRIDS WITH *T. timopheevi* CYTOPLASM IN WHEAT

[Li Zhengde]

Wang chengshe Yang Tianzhang He Peiru

(Department of Agronomy, Northwestern Agricultural University)

Abstract

Five male-sterile lines having *T. timopheevi* cytoplasm and their corresponding B-lines, F_1 and F_2 from crosses involving $A \times B$, $A \times R$, $B \times R$ and $R \times B$ in common wheat were used to study the problem of shriveling seeds. The results obtained from biochemical analysis showed that the shriveled seeds were caused by the enhancement of α -amylase activity that led to the starch being broken down during the late stage of seed development. The genetic reason for shriveling seeds, on one hand, depends on the genotype of seeds themselves, and on the other hand, depends on maternal effects resulting from the interaction between *T. timopheevi* cytoplasm and recessive male-sterile genes(gene). In addition, the seed shriveling is also affected by the environment especially at the time of pollination and seed development. Based on the results above and literature cited, three proposals are suggested for solving this problem.

key Words wheat, hybrid wheat, male sterility, cytoplasmic inheritance, heterosis