

黑麦花粉诱导小麦孤雌生殖及其利用的研究

董安书 陶少武 王明岐

(西北农业大学农学系, 陕西杨陵 712100)

摘要 [84G₆×79(1B)8-8]F₁ 去雄第7 d, 用 AR₇₇ 黑麦花粉重复授粉2次, 结实8粒, 诱导结实率4.4%, 孤雌生殖一代获得纯合二倍体5株, 纯合二倍体频率为2.78%; 孤雌生殖二代18-3-1和18-3-4两个株系的主要农艺性状表现整齐一致, 其中18-3-4植株较矮, 抗病性较好, 是一个早熟、大穗、大粒高抗条锈病的新品系。1993~1994年品比试验表明, 该品系较小偃6号增产25.3%, 较陕麦229增产18.1%。本文还对黑麦花粉诱导孤雌生殖的机理、诱导结实率和选择效率以及孤雌生殖二代的一致性进行了讨论。

关键词 黑麦花粉, 小麦育种, 诱导频率, 孤雌生殖

中图分类号 S512.103.52

孤雌生殖是卵细胞不经受精发育成植物体的生殖类型。最初有细胞胚胎学证据的孤雌生殖现象是在 *Solanum nigrum* var. *gracile* × *S. luteum*^[1] 的杂交后代中发现的。据40年代的文献统计资料, 所发现的单倍体植物以种间或属间杂交时出现较多, 尤其是烟草属和小麦属最多。小麦品种间 F₁ 用黑麦花粉诱导孤雌生殖也有较好的效果, 但过去多侧重筛选优良授粉者^[2] 及孤雌生殖后代遗传规律的研究^[3]。由于用某些授粉者诱导小麦品种间 F₁ 可产生较高频率的纯合二倍体, 只需对此纯合二倍体进行一次选择, 即可获得稳定的后代, 因而此类研究对缩短小麦常规育种周期, 提高育种效率有重要意义。

1 材料和方法

以 [84G₆×79(1B)8-8]F₁ 为母本, AR₇₇ 黑麦 (*Secale cereale*, $2n=2x=RR=14$) 为授粉者。母本抽穗后, 选5穗严格去雄并套袋隔离, 第7 d 对其仔细检查, 清除已膨大的子房, 然后进行2次重复授粉。1991年秋季播种诱导种子的同时播种杂交组合的 F₀ 及其亲本种子, 第二年根据亲本植株的形态特征、孤雌生殖一代的生活力、育性和染色体数目鉴别纯合二倍体。1992年秋季按其株系播种各纯合二倍体, 并在孕穗期用西北农大锈病组配制的条锈病混合小种(条中25, 27, 28和29号生理小种)诱发感病。抽穗后根据各株系生长发育的整齐程度及对条锈病和赤霉病的抗性, 选出较好的株系单独收获。1993年以小偃6号和陕229为对照进行品种比较试验, 小区面积5.98 m×2.1 m, 重复2次。试验地播种和管理条件一致, 生长期观察记载生育期及主要农艺性状, 成熟后单独脱粒。

2 结果与分析

2.1 诱导结实率和纯合二倍体频率

用黑麦花粉诱导的种子通常较小, 结实率也很低, 5穗产生饱满种子8粒, 胚和胚乳发育不足甚至完全无胚的秕粒18个(附图-1, 2), 按其去雄180朵小花计, 诱导结实率为

收稿日期: 1994-10-24

形	椭圆形	长 846.6	长方
形	卵圆形	长 846.6	纺锤
形	椭圆形	长 18 城-1	纺锤
形	椭圆形	长 18 城-2	长形
形	卵形	半圆质-3	长形
形	卵形	半圆质-4	纺锤
形	卵形	半圆质-5	纺锤
	887.03	15.00924	

表 6 本 组 建 筑 为 延 展 性 种 型 15 城
 延 展 性 种 型 系 统 延 展 性 种 型
 延 展 性 种 型 系 统 延 展 性 种 型
 延 展 性 种 型 系 统 延 展 性 种 型

2.2 孤雌生殖二代(Pa₂)各株系的稳定性及其抗病性

由表 2~4 可知,Pa₂ 各株系的株高和穗长较整齐,穗形无分离现象。除 18-3-2 和 18-3-5 外,其他株系在抽穗期抽穗的株数和调查的株数相同;除 18-3-3 和 18-3-5 以外,其他株系的粒形和品质与 Pa₁ 完全一致,表明这些株系的主要农艺性状和特性是稳定的。株系 18-3-4 的植株较矮,生长发育较整齐,粒形和品质无分离,条锈病反应型“免疫”株数的比率较高,赤霉病的病情指数较低,是一个较好的株系。

表 2 Pa₂ 抽穗期株高和穗长的整齐度(1993)

代 号	调查株数	抽穗株数	抽穗期 (日/月)	株高(cm)		穗长(cm)	
				$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
18-3-1	143	143	25/4	91.8	2.0318	8.1	0.5991
18-3-2	185	184	26/4	100.0	2.6984	8.5	0.6173
18-3-3	113	113	28/4	95.6	1.3702	8.3	0.5392
18-3-4	181	181	25/4	89.1	1.6204	9.4	0.4624
18-3-5	132	130	29/4	107.8	3.4540	10.2	0.6853

表 3 Pa₂200 株抽样中穗形粒形和品质的表现(1993)

代 号	穗形(株)		粒形和品质(株)			
	纺锤形	长方形	卵形 半硬质	卵形 粉质	椭圆形 粉质	椭圆形 硬质
18-3-1	200				200	
18-3-2		200			200	
18-3-3		200	198	—		—
18-3-4	200		200			
18-3-5	200		198	—	—	

表 4 Pa₂ 各株系的抗病性(1993)

代 号	调查 株数	条 锈 病 反 应 型					赤 霉 病	
		0	0 ₁	1	2	3	调查 株数	病情 指数
18-3-1	144	32	96	16	0	0	113	28.12.3
18-3-2	161	58	80	23	0	0	126	32.12.6
18-3-3	236	84	108	44	0	0	145	43.14.8
18-3-4	185	99	85	0	0	0	131	26.9.9
18-3-5	196	76	87	33	0	0	124	43.17.3

2.3 P₁₈₋₃₋₄的主要特性及产量水平

由表 5 可知,P₁₈₋₃₋₄ 属半冬性,幼苗半匍匐,植株较高,穗较长,籽粒较大(附图-4)。各生育期生长发育较小偃 6 号早 3~4 d,较陕 229 早 7~8 d。表 6 表明,该品系分蘖成穗

表 5 P₁₈₋₃₋₄的主要特性及农艺性状(1994)

品 种	生育期(日/月)			苗期形态			成株形态			籽粒特性及品质		
	拔节	抽穗	成熟	幼苗习性	叶相	叶色	株高	穗长	穗粒数	千粒重(g)	粒色	品质
P ₁₈₋₃₋₄	25/3	24/4	2/6	半匍匐	披叶	浅绿	89.2	9.3	46.0	47.0	白	半硬质
小偃 6 号	1/4	26/4	5/6	匍匐	挺叶	绿	83.7	7.5	36.9	42.0	白	硬质
陕 229	5/4	29/4	10/6	匍匐	挺叶	绿	79.3	8.3	38.5	37.5	白	硬质

较少,但小区产量较高,这可能是由于穗子较长,穗粒数较多,千粒重较高之故,因而在 1993~1994 年度的品比试验中,P₁₈₋₃₋₄ 较小偃 6 号增产 25.3%,较陕 229 增产 18.1%。

表 6 品种比较试验结果(1994)

品 种	小区穗数(个)			小区产量(kg)			千粒重 (g)	穗 数 (万穗/hm ²)	产 量 (kg/hm ²)	增 产 (%)
	1	2	平均	1	2	平均				
P ₁₈₋₃₋₄	3529	3805	3692	7.8	8.8	8.3	47.0	294.0	6609	
小偃 6 号	5013	4857	4935	6.6	5.8	6.2	42.0	391.5	4938	25.3
陕 229	5122	4770	4946	7.1	6.5	6.8	37.5	393.0	5415	18.1

3 讨 论

3.1 关于黑麦花粉诱导孤雌生殖的机理

本研究利用小麦品种间杂种 F_1 去雄延迟 7 d, 用黑麦花粉授粉获得了孤雌生殖纯合二倍体, 这一结果可能和授粉者的花粉刺激有关。由于小麦和黑麦的亲缘关系较远, 虽然黑麦花粉能在小麦柱头上萌发长出花粉管并伸入胚囊, 但不易使卵细胞受精。而延迟 7 d 授粉不仅使柱头趋于老化, 进一步增加了受精的障碍, 同时也有助于卵细胞的充分成熟。由于成熟的卵细胞容易开始分裂, 因而在黑麦花粉的刺激下, 卵细胞就有可能通过假受精诱导其单性发育, 产生单倍体或纯合二倍体的胚。关于黑麦花粉刺激的本质, 在“龙葵×黄茄”的杂交中^[1], 两个精子穿过卵细胞核, 不与卵核融合, 但却激发了卵细胞的分裂, 据此推测, 卵细胞的开始分裂可能与精子的刺激有关。关于纯合二倍体的来源, 杜尔宾等^[5]认为, 在第一减数分裂后的间期“已减数的单倍体子核仍停留在一个细胞中, 彼此相互融合而形成一个二倍体的‘自体融合’的核, 而这个核就是孤雌生殖二倍体胚的起源”。但是, 胡适宜^[6]认为: “单倍体的卵细胞在最初分裂时, 由于核内复制而染色体自然加倍”。由于在本研究的细胞学观察^[7]中(另文报道)未受精的卵细胞都是在黑麦精子进入卵核后开始分裂的, 这就表明, 染色体加倍的时期, 不可能在大孢子母细胞进行减数分裂时, 而可能在卵细胞核被诱发启动分裂时。又由于未受精前的卵细胞处在间期, 不亲和精子诱发卵细胞核开始分裂是从间期开始的, 而此时体细胞染色体加倍的方式只有核内复制一种, 同时只有卵细胞在启动分裂时进行染色体加倍, 才能决定以后形成的胚细胞都是纯合二倍体的, 因而卵细胞染色体加倍的时期必然在它启动分裂的时候, 而染色体加倍的方式也必然是核内复制。

3.2 诱导结实率和选择效率

本研究诱导结实 8 粒, 纯合二倍体只有 5 株, 大大限制了选择范围, 这是因为孤雌生殖后代中, 只有纯合二倍体才能参与育种选择, 如果利用黑麦花粉诱导的结实率较高, 不但产生纯合二倍体的频率会较高, 而且 F_1 双亲基因自由组合形成不同卵配子的类型也会随着增多, 从而选出较好品种的机会也就越大。相反, 如果诱导结实率很低, 即使绝大部分或全部都是纯合二倍体, F_1 产生不同卵配子的类型也难以完全表现, 从而在 Pa_2 很难选出较好的品种, 因此利用诱导孤雌生殖进行小麦育种的关键, 在于选好合适的 F_1 母本, 采用优良的授粉者和方法, 最大限度地提高诱导结实率和纯合二倍体频率, 以便在排斥大量杂合体表现型干扰的同时, 进一步有效地提高选择效率。

3.3 关于孤雌生殖二代的一致性

由于孤雌生殖一代纯合二倍体是 F_1 母本不同卵配子染色体加倍形成的, 因而在孤雌生殖二代应有整齐一致的表现型。实际上表 2 和表 3 所显示的整齐程度并不都是这样理想的, 例如 18-3-2 和 18-3-5 的抽穗期分别是 26/4 和 29/4, 但前者有 27/4 抽穗的, 而后者有 1/5 抽穗的。又如 18-3-3 和 18-3-5 的株高和穗长是比较整齐的, 都是卵形半硬质籽粒, 但这两个株系都有少数植株的籽粒出现卵形粉质和椭圆形硬质的变异(表 3)。由于收获和贮藏都是单独进行的, 因而上述这些变异不可能是有性生殖或孤雌生殖后代机械混杂的结果, 很可能与诱导时使用黑麦花粉重复授粉有关。因为有些研究结果显示花粉管物质

进入胚囊后能参与胚乳和胚的形成,例如在棉花、小麦、玉米、豌豆等植物双受精完成后,用同位素 ^{35}S 和 ^{32}P 标记花粉进行重复授粉,结果发现大量的同位素累积在胚珠和胚囊中,并随后又转移到正在发育的胚胎中^[8]。又如用酯酶同工酶分析高粱稻77125(银坊水稻 $\times$ 亨加利高粱, $2n=24$),发现高粱稻中有一条来自亨加利高粱的酯酶同工酶带谱^[9]。根据这些现象观测,去雄延迟7d诱导孤雌生殖时,虽然黑麦的精子不易和卵细胞受精,但其他花粉管物质不仅可作为营养参与胚乳和胚的形成,而且其中的DNA片段也可能与受体整合,从而对后代的遗传性产生影响。纯合二倍体后代某些性状发生变异,对其直接利用有一定影响,但由于通常发生变异的频率很低,且并非每个株系都有此类缺点,因而只要提高诱导结实率和纯合二倍体频率,争取 Pa_2 有较多的株系并注意及早进行去杂去劣,上述不利因素是完全可以弥补的。

参 考 文 献

- 1 Jorgensen C A. The experimental formation of heteroploid plants in the genus solanum. *Genet*, 1928, 19: 133~211
- 2 魏秀玲, 胡启德, 何宗宇等. 诱导小麦单性生殖及其在育种上的应用. 见: 中国科学院遗传研究所研究工作年报. 北京: 北京大学出版社, 1979, 179~182
- 3 杜连恩, 罗景兰. 延迟授以黑麦花粉和化学药剂诱导冬小麦孤雌生殖的研究续报. 河北农学报, 1985, 10(1): 14~18
- 4 C. C. 霍赫洛夫主编, 刘杰龙译. 单倍体与育种. 北京: 农业出版社, 1985, 18
- 5 华北农业大学, 中国科学院遗传研究所, 广东农林学院等. 植物遗传育种学. 北京: 科学出版社, 1976. 405~408
- 6 胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京: 人民教育出版社, 1983. 218
- 7 董安书, 陶少武. 黑麦花粉诱导小麦孤雌生殖的细胞学研究. 西北农业大学学报, (待发表)
- 8 李达模. 远缘花粉的诱导机理. 遗传与育种, 1978(4): 14~15
- 9 周光宇, 龚蓁蓁, 王自芬. 远缘杂交的分子基础. 遗传学报, 1979, 6(4): 405~412

Studies on Wheat Parthenogenesis Induced by Rye Pollen and its Utilization in Breeding

Dong Anshu Tao Shaowu Wang Mingqi

Department of Agronomy, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract Seven days after emasculation, the $[84\text{G}_4 \times 79(1\text{B})8-8]\text{F}_1$ plants were pollenized twice with pollen of rye AR₇₇. With 8 grains of seeds and 4.4% of induced seeds, 5 homozygous diploid plants were derived from parthenogenesis progenies 2. The frequency of the homozygous diploid was 2.78%. The two plant lines, 18-3-1 and 18-3-4 in pa_2 , were uniform in main agricultural features. The 18-3-4 plant line is dwarfer and has better disease resistance ability than the 18-3-1. So it is a new wheat strain with precocity, larger ear, bigger grain and higher resistance to stripe rust. The varietal trial in 1993~1994 indicated that the p 18-3-4 strain yielded 25.3% more of output than Xiaoyan No. 6 and 18.1% more than Shaanmai No. 229. The mechanism of the parthenogenesis induced by rye pollen, the induced seed-setting percentage and selecting efficiency as well as the uniformity of parthenogenesis generation 2 were also discussed.

Key words Rye pollen, wheat, induction, parthenogenesis, breeding