

新型化学杀雄剂 EN 对甘蓝型油菜的 杀雄效果及其应用研究

刘绚霞¹,董军刚¹,刘创社¹,董振生¹,严自斌¹,高晓岚¹,高崇玉²

(1 西北农林科技大学 农学院,陕西 杨凌 712100;2 陕西省米脂县植保站,陕西 米脂 718100)

[摘要] 针对油菜细胞质不育系微粉及配制化学杀雄杂种问题,用新型化学杀雄剂 EN 对甘蓝型油菜进行杀雄效果试验,研究 EN 对甘蓝型油菜花器、花粉活力、农艺性状及不育系育性的影响。结果表明,甘蓝型油菜单核期用 0.5~0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EN 处理杀雄效果最好,全不育株率在 95% 以上,不育株率 100%,对油菜生长发育和农艺性状的影响很小。油菜花药皱缩干秕呈针状、颜色变浅、花丝缩短,花药无花粉或为空秕、畸形的败育花粉。用 EN 控制细胞质不育系微粉效果明显,使 F_1 代种子纯度提高 8% 以上。说明该杀雄剂效果好、成本低,是较为理想的新型油菜化学杀雄剂。

[关键词] 甘蓝型油菜;雄性不育系;化学杀雄剂;杀雄效果;微粉

[中图分类号] S565.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)04-0081-05

Effect and utility of a novel chemical hybridizing agent EN on *Brassica napus*

LIU Xuan-xia¹, DONG Jun-gang¹, LIU Chuang-she¹, DONG Zhen-sheng¹,
YAN Zi-bin¹, GAO Xiao-lan¹, GAO Chong-Yu²

(1 College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 The Plant Protection Station of Mizhi County, Mizhi, Shaanxi 718100, China)

Abstract: Focused on trace pollen and screening hybridization agent (CHA) in rapeseed, a novel chemical hybridizing agent EN was used to induce male sterile in rapeseed (*Brassica napus*) to investigate its effect on floral parts, viability of pollen, agronomic traits and the male fertility of cytoplasmic male sterile line. Results showed that the treatment of 0.5–0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EN at uninucleic stage of *Brassica napus* had the best efficacy with over 95% completely sterile and 100% sterile plants, but had little effect on the fertility and the agronomic traits of *B. napus*. The anther was shriveled, dwindled to be acerate shape and fade, and the length of filament was shortened. There was no pollen or only shrunken, malformed and aborted pollen. The application of EN could obviously suppress the occurrences of trace amount pollens on the cytoplasmic male sterile line, which made the purity of F_1 hybrid seed increase 8% in comparison with the contrast. EN is a better chemical to induce male sterility agent with the advantage of high effect and low cost.

Key words: *Brassica napus*; male sterile line; chemical hybridizing agent; effects of sterile induced; pollen

用化学物质诱导作物雄性不育是作物杂种优势 利用的重要途径之一^[1]。细胞质雄性不育是油菜杂

[收稿日期] 2006-03-20

[基金项目] 陕西省重大科技攻关项目(2006KZ06-G2); 陕西省自然科学基金项目(2004C123)

[作者简介] 刘绚霞(1964—),女,陕西咸阳人,副研究员,硕士,主要从事油菜遗传育种与品质分析研究。
E-mail: liuxuanxia2000@yahoo.com.cn

[通讯作者] 董振生(1957—),男,陕西永寿人,研究员,硕士生导师,主要从事油菜遗传育种研究。

种优势利用最广泛、最有效的途径。目前,世界上最具实际应用价值的油菜不育系是波里马不育系^[2]和陕 2A 不育系^[3]。利用波里马不育系和陕 2A 不育系已成功选育出系列油菜杂交种,但这两种不育系均存在育性不稳定,初花期遇低温会产生微量花粉,造成大约 10% 的自交结实现象,影响了亲本和杂交种的纯度。因此,解决细胞质雄性不育系问题已引起许多育种专家的关注。化学杀雄剂 EN 的应用能够有效控制细胞质雄性不育系发生,提高种子纯度和制种产量。

近 30 年来,国内外对油菜化学杀雄的研究已有一些报道^[4-12]。公开报道的油菜化学杀雄剂种类较多,主要有 MG₁、MG₂、MG₃、MG₄、MG₅、MG₆、EXP、KMS-1、SX-1、WP 等。据报道, MG₁ (杀雄剂 1 号) 和 MG₄ (杀雄剂 1 号与赤霉素的配合试剂) 应用较多,效果较为理想。但 MG₁ 和 MG₄ 杀雄不彻底,稳定性差,全不育株率仅为 60%~80%,不能完全诱导雄性不育的发生。本研究用新型化学杀雄剂 EN 对甘蓝型油菜进行杀雄效果试验,研究 EN 对甘蓝型油菜花器、花粉活力、农艺性状及不育系育性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

化学杀雄剂 EN 为自制的复合型油菜化学杀雄剂,主要成分为巨星和四硼酸钠(质量浓度 1:2 000)。供试油菜品种为西北农林科技大学农学院经济作物研究所选育的甘蓝型优质油菜自交系 S₁₁₀₂、S₁₁₁₂ 和不育系 208A。

花粉活力测定试剂:酒精、冰乙酸、洋红等。杂交种纯度测定试剂:甘氨酸、丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、核黄素、蔗糖和固兰 B 盐等。

主要仪器:显微镜、电冰箱、电泳仪和离心机等。

1.2 EN 杀雄效果研究

试验于 2001~2002 年在陕西杨凌西北农林科技大学农学院试验地进行。2001-09 播种,行长 2 m,行距 0.5 m,留苗密度 12 万株/hm²。2002 年春季,从油菜现蕾初期(03-09)开始每隔 2 d,用背囊式高压喷雾器喷药 1 次,即在 03-09、03-11、03-13、03-15、03-17、03-19、03-21、03-23、03-25 等 9 个时期共喷药 9 次,每次设 0, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0, 1.3 和 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 9 个质量浓度梯度,每个质量浓度喷 5 行(平均用药量为 400~450 kg/hm²)。喷药后,每 2 d 调查 1 次油菜生长开花情况,花期调查统

计单核期(03-17)每个质量浓度处理及 9 个时期 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理的全不育株率、半不育株率、可育株率、不育株率和药害株率,并照相。测定单核期 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理的全不育株及可育株(对照)花冠直径、花瓣大小、雌蕊长度、花丝长度、花药长度等,观察花粉活力,调查初花期和花期;收获后考察各农艺性状,统计自交结实率和自然结实率。

2002~2003 年用不同质量浓度 EN 在单核期处理不育系 208A。每 3 d 调查 1 次油菜生长发育情况,适宜时期调查微粉及药害情况,收获后测定杂交种纯度。

1.3 测定方法

1.3.1 花粉活力的观察方法 从油菜初花开始每 2 d 取样镜检 1 次。采用 1% 醋酸洋红染色,镜检呈深红色的花粉为活花粉,淡红色的为部分失去活力的花粉,无色、空秕、畸形的为败育的或失去活力的花粉。

1.3.2 杂交种纯度鉴定 用杂交种幼芽酯酶同工酶进行聚丙烯酰胺垂直板不连续凝胶电泳,根据电泳图谱分析和大田鉴定共同确定种子纯度。

1.3.3 杀雄效果鉴定标准 以油菜花期花器形态、花粉活力和田间结实情况确定。全不育株:雄蕊退化呈针状,花药无花粉,败育与死花粉率在 90% 以上;半不育株:雄蕊退化呈三角形,位置低于雌蕊,花药有少量花粉,败育与死花粉率为 50%~90%,或前期不育后期可育;可育株:花器正常,花药有大量花粉,农艺性状无明显变化;药害株:雄蕊退化呈针状,花药无花粉,且明显有落蕾死蕾现象,花器变态,植株明显降低,各农艺性状发生变化,异交结实性差。

2 结果与分析

2.1 EN 对甘蓝型油菜杀雄效果的影响

2.1.1 喷药时期对甘蓝型油菜杀雄效果的影响

由表 1 可见,从现蕾初期(03-09)开始至初花期以前 9 个时期,喷施 EN 对油菜均有不同程度的杀雄效果。油菜单核期(03-17~03-19)杀雄效果最好,全不育株率达 95% 以上,无可育株,不育株率 100%;单核期以前喷药,全不育株率 65%~87%,半不育株率 12%~30%,可育株率 2%~5%,不育株率 95% 以上;单核期以后喷药,全不育株率 62%~90%,半不育株率 3%~11%,可育株率 7%~27%,不育株率 73%~93%。表明喷药时期恰当与否,对杀雄效果影响较大,油菜单核期为最适杀雄时期。

表 1 不同时期喷施 EN 对甘蓝型油菜杀雄效果的影响

Table 1 Male sterilizing effect of EN of different spraying time in *B. napus* L. %

处理时期 Spraying date	全不育株率 Percentage of complete sterile plants	半不育株率 Percentage of semi-sterile plants	可育株率 Percentage of fertile plants	不育株率 Percentage of sterile plants
03-09	65	30	5	95
03-11	78	19	3	97
03-13	84	12	2	96
03-15	87	13	0	100
03-17	95	5	0	100
03-19	96	4	0	100
03-21	90	3	7	93
03-23	77	8	15	85
03-25	62	11	27	73

2.1.2 不同质量浓度 EN 对甘蓝型油菜育性的影响

由表 2 可见,不同质量浓度 EN 均可诱导甘蓝型油菜雄性不育。用 0.05~0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EN 处理的可育株率和半不育株率分别为 3%~15%,11%~22%,对自然结实率影响很小,与对照接近;用 1.0~1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EN 处理的药害株率为 7%~34%,且异交结实率低;而以 0.5~0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EN 处理的杀雄效果最好,全不育株率在 95%以上,不育株率达 100%,无可育株和药害株,半不育株率为 2%~5%,自交不结实,异交正常结实,自然结实率也接近对照。说明 EN 的最佳质量浓度为 0.5~0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 2 不同质量浓度 EN 对甘蓝型油菜育性的影响

Table 2 Effect of EN of different concentration on the fertility of *B. napus* L. %

EN 质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration of treatment	全不育株率 Percentage of complete sterile plants	半不育株率 Percentage of semi-sterile plants	可育株率 Percentage of fertile plants	不育株率 Percentage of sterile plants	药害株率 Percentage of toxic plants	自交结实率 Percentage of seedset	自然结实率 Percentage of allogamy seedset
0	0	0	100	0	0	100	100
0.05	63	22	15	87	0	0	95
0.1	78	11	11	89	0	0	94
0.3	88	12	3	100	0	0	93
0.5	95	5	0	100	0	0	93
0.8	98	2	0	100	0	0	95
1.0	100	0	0	100	7	0	89
1.3	100	0	0	100	28	0	70
1.5	100	0	0	100	34	0	60

2.2 EN 对甘蓝型油菜花器和花粉活力的影响

由表 3 可见,甘蓝型油菜自交系 S₁₁₀₂ 在单核期用 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EN 处理后,与可育株花器相比,全不育株花器变化明显,花冠直径和花瓣略微变小,雌蕊长度增加,花丝明显缩短,花药略有伸长。花器外观形态变化较明显,花药皱缩干秕,色淡,朝内紧贴于雌蕊上,雄蕊退化呈针状,高度明显低于雌蕊,形状与细胞核不育系相似。花药有的无花粉,有的为空秕、畸形的败育花粉,有的有少量花粉,而花粉无活力,或花粉活力在 5%以下,自交不结实(图 1~3)。

2.3 EN 对甘蓝型油菜生长发育与农艺性状的影响

用不同质量浓度的 EN 处理甘蓝型油菜自交系 S₁₁₁₂,对油菜生长发育和农艺性状的影响不同。EN

质量浓度越大,植株高度降低越明显,一次分枝数变化不大,主花序和角果长度变短,植株生长速度减慢,偶见落蕾死蕾现象,角果数和角粒数减少,而 EN 质量浓度低于 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时对甘蓝型油菜生长发育与农艺性状的影响很小(表 4)。如果用药量过大则会影响油菜的正常生长发育,农艺性状也会发生变化,造成不同程度的药害(图 4);如果用药量过少则会影响油菜的杀雄效果。由表 4 可见,用 0.05~0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EN 处理,初花期较对照推迟 1~2 d,花期延长 1 d;用 0.5~0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理,初花期较对照推迟 2~3 d,花期延长 2 d;用 1.0~1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理,初花期较对照推迟 3~5 d,花期延长 3~4 d。

表 3 甘蓝型油菜全不育株、可育株花器大小和花粉活力的比较

Table 3 Comparson of pollen activity and flower-organs form between complete sterile and normal plants of *B. napus* L.

项目 Item	重复 Repetition	花冠直径/mm Diameter of corolla	花瓣大小/mm Size of petal	雌蕊长度/mm Length of pistil	花丝长度/mm Length of filament	花药长度/mm Length of anther	花粉活力/% Viability of pollen
全不育株 Complete Sterile Plants	1	21.9	14.5×8.5	12.5	4.0	2.5	0.5
	2	19.5	12.0×7.5	10.0	3.7	2.6	2.3
	3	21.8	12.5×8.0	9.8	3.2	2.6	0
	4	19.0	12.6×8.5	9.0	3.9	3.0	1.4
	5	22.0	14.5×8.5	11.5	3.5	3.0	0.3
可育株 Fertile plants	1	21.5	14.0×9.5	9.0	7.5	2.2	89
	2	22.0	15.0×10.0	9.5	6.5	2.1	87
	3	23.0	15.0×9.5	9.6	7.1	2.0	93
	4	22.2	14.7×9.7	9.4	7.0	2.1	85
	5	20.6	13.9×9.5	9.2	6.8	1.9	79

表 4 EN 对甘蓝型油菜农艺性状的影响

Table 4 Influence of EN on the agronomic traits of *B. napus* L.

EN 质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration of treatment	株高/cm Plant height	一次分枝数 No. of Primary branches	主花序长度/cm Length of main inflorescence	角果长度/cm Length of silique	角果数 No. of siliques	角粒数 Seeds persilique	初花期 Initial flowering	花期/d Flowering term
CK	155	8.2	58.5	5.6	325	18.3	04-03	26
0.05	153	8.1	58.2	5.6	320	18.1	04-04	27
0.1	152	8.1	57.5	5.3	311	17.3	04-04	27
0.3	150	7.8	56.2	5.3	307	16.8	04-05	27
0.5	148	8.0	55.0	5.2	303	16.1	04-05	28
0.8	151	8.2	54.3	5.1	302	15.5	04-06	28
1.0	143	7.9	50.1	4.8	294	13.2	04-06	29
1.3	135	7.6	46.8	4.2	290	12.5	04-07	29
1.5	120	8.1	40.2	3.9	283	10.9	04-08	30

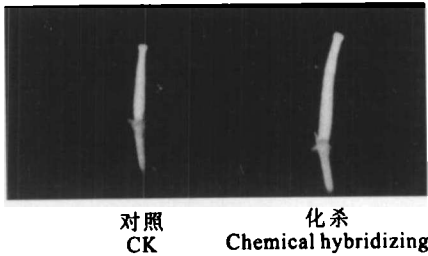


图 1 喷施 EN 后甘蓝型油菜雌蕊的变化

Fig. 1 Pistol changes after sprayed EN

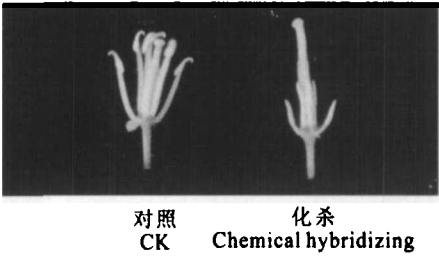


图 2 喷施 EN 后甘蓝型油菜雄蕊的变化

Fig. 2 Anther ahanges after sprayed EN



图 3 喷施 EN 后甘蓝型油菜花器的变化

Fig. 3 Flowers changes after sprayed

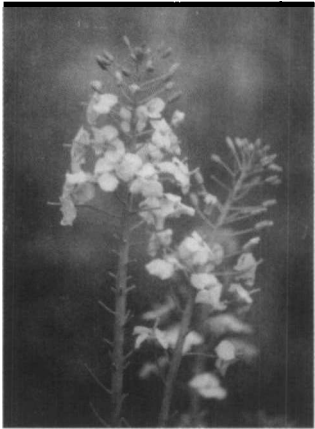


图 4 过量喷施 EN 后甘蓝型油菜单株的变化

Fig. 4 Plants changes after sprayed EN over normal amount

2.4 EN 对不育系 208A 微粉的控制效果

不育系 208A 农艺性状优良,长势强,但在低温下有微粉,使得杂交种纯度受到影响。由表 5 可见,不同质量浓度 EN 处理的杂交种纯度均有提高。0.05~0.3 $\mu\text{g/mL}$ EN 处理的杂交种纯度较对照提高 5.1%~8.8%,0.5~0.8 $\mu\text{g/mL}$ EN 处理的杂交

种纯度较对照提高 11.7%~12.5%,1.0~1.5 $\mu\text{g/mL}$ EN 处理的杂交种纯度较对照提高 13.4%,但有药害株,影响杂交种产量。综合考虑认为,0.3~0.8 $\mu\text{g/mL}$ 为最佳的 EN 质量浓度,其杂交种纯度提高 8% 以上。从而进一步证明新型化学杀雄剂 EN 的最佳杀雄质量浓度为 0.5~0.8 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 5 不同质量浓度 EN 对不育系 208A 微粉的控制效果

Table 5 Effect of EN with different concentration on CMS lines 208A with little normal pollen grain

EN 质量浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration of treatment	花朵 总数 No. of flowers	微粉花 朵数 No. of Flowers with trace amount pollen	微粉花朵占 总花朵/% Ratio of trace amount pollen	较 CK 控制 微粉效果/% Effect of controlling trace amount pollens	药害 株数 Harmful plants	杂交种 纯度/% Purity of hybrid seed	较 CK 纯度 提高/% Increasing of purity
CK	800	185	23.1	—	0	87.8	—
0.05	800	26	3.25	85.9	0	92.3	5.1
0.1	800	21	2.62	88.6	0	93.2	6.2
0.3	800	8	1.00	95.6	0	95.5	8.8
0.5	800	3	0.38	98.3	0	98.1	11.7
0.8	800	2	0.25	98.9	0	98.8	12.5
1.0	800	0	0	100	2	100	13.4
1.3	800	0	0	100	6	100	13.4
1.5	800	0	0	100	11	100	13.4

3 结论与讨论

新型油菜化学杀雄剂 EN 在单核期对甘蓝型油菜杀雄效果好,可诱导全不育株率达 95% 以上,这一结果与已往报道的其他化学杀雄剂最佳时期相一致。EN 最佳使用质量浓度为 0.5~0.8 $\mu\text{g/mL}$,每 hm^2 用量为 450 kg,较其他杀雄剂用量少,成本低,并对甘蓝型油菜各农艺性状影响不大,对结实能力影响小,是一种较为理想的新型油菜化学杀雄剂。

化学杂交剂的质量浓度与用量关系到诱导雄性不育的效果,喷雾器的雾化程度与之相关。经多年试验表明,在总用量不变的情况下,平均每株油菜用背囊式高压喷雾器高质量浓度(0.5~0.8 $\mu\text{g/mL}$)少用量(3~5 mL)喷雾较用小型压缩喷雾器低浓度(0.3 $\mu\text{g/mL}$)多用量(5~13 mL)喷雾杀雄效果好。这一结果尚未见报道,有待进一步研究讨论。

EN 同其他化学杀雄剂一样,可用于化学杀雄制种,扩大了杂种优势的应用范围,减少了转育不育系等繁琐程序,加速了育种进程。而且 EN 用于去除细胞质不育系的微量花粉效果明显,使杂交种纯度提高到 95% 以上,减少了制种风险,提高了经济效益。

[参考文献]

[1] 于澄宇,胡胜武,张春宏,等. 化学杂交剂 EXP 对油菜的杀雄效果[J]. 作物学报,2005,31(11):1455-1459.

[2] 朱 刚. 多效唑对油菜雄性不育系陕 2A 微粉的调控作用[J]. 贵州农业科学,1997,25(1):14-16.

[3] 杨光圣,傅廷栋. 油菜细胞质雄性不育恢保关系的研究[J]. 作物学报,1991,17(2):151-156.

[4] 刘绚霞,董振生,刘创社,等. 新型油菜化学杀雄剂 EN 的杀雄效果与应用研究初报[J]. 西北农业学报,1999,8(4):60-62.

[5] 官春云,李 桐,王国槐,等. 化学杂交剂诱导油菜雄性不育机理的研究[J]. 作物学报,1997,23(5):513-518.

[6] 官春云,王国槐,李 桐,等. 几种化学药物对油菜杀雄效果的研究[J]. 作物研究,1993,7(3):13-16.

[7] 袁晏松,官春云. 油菜不同发育时期喷施杀雄剂 1 号的杀雄效果和对花药细胞形态的影响[J]. 作物研究,1990,4(2):19-21.

[8] 官春云,王国槐,李 桐,等. 油菜化学杀雄药物、机理和杂种研究[J]. 作物研究,1990,4(3):13-19.

[9] 官春云. 关于油菜化学杀雄杂种的几点说明[J]. 作物研究,1995,9(增刊):10-11.

[10] 张耀文,尚 毅,李永红,等. 新型化学杂交剂 SX-1 和肥料混用对甘蓝型油菜 CMS 的作用效果[J]. 西北农业学报,2004,13(3):9-13

[11] 张耀文,尚 毅,李永红,等. 新型化学杂交剂 SX-1 对甘蓝型油菜 CMS 的作用效果研究[J]. 西北农业学报,2003,12(3):57-61.

[12] 张学昆,李加纳,唐章林,等. 化学杂交剂对油菜胞质不育系波利马育性的影响[J]. 西南农业大学学报,1999,21(2):140-143