

# 玉米远缘杂交幼胚离体培养研究初报

杜 翠 贤

(黑龙江省农科院牡丹江农科所)

我们从 1978 年开始进行玉米和高粱等作物的远缘杂交,并研究克服远缘杂交的不亲合性,采取幼胚离体培养方法获得了杂种。现将研究结果初报如下:

## 一、试验材料及方法

试验材料:母本为玉米自交系“新 212”、“牡 1412”、当地农家种“密山白玉米”。父本采用牡杂四号高粱、薏苡。

方法:父母本开花前严格套袋。待母本花丝抽出后,在田间进行“开天窗”授粉,即在果穗中部用解剖刀将苞叶切除 3~4 厘米见方,露出子房将花丝剪至 0.5 厘米,为保持花丝新鲜并增强接受异种花粉的能力当即喷上免疫抑制剂,(100PPM 的硼酸、氨基乙酸或水杨酸)。第二天上午采集父本花粉,将予先干燥好的玉米死花粉掺合均匀进行授粉。授粉翌日再向花丝上喷生长刺激素(100 PPM 赤霉素),隔日再行重复授粉。

幼胚培养:为避免远缘杂交种幼胚中途衰亡,将杂种幼胚接种在玉米活体胚乳上置于培养基中生长。

1) 培养基:采用马铃薯培养基,即 300 克土豆加 500 毫升水煮沸 30 分钟的过滤液,加水至 1000 毫升;尿素 0.5 克/升; $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 克/升;赤霉素 1 毫克/升; $\text{Fe}$ 、 $\text{Na}$  盐 5 克/升;蔗糖 30 克/升;琼脂 8 克, $\text{PH}$  为 5.8。将培养基分装在三角瓶内在 1.2 公升/厘米<sup>2</sup>压力下,灭菌 30 分钟。

2) 接种:授粉后一周要进行检查,发现玉米果穗“天窗内”子房膨大者做好标记,经

12~16 天将结实的果穗取至室内经消毒后用镊子剖开已膨大的胚囊取出未成熟的胚放入蔗糖液中待进行胚乳置换。活体胚乳的提取,采乳熟末期的玉米种子,在过饱和漂白液中消毒 5~10 分钟,用无菌水冲洗二次,在无菌条件下用镊子撕去种皮,除掉种胚,把杂种幼胚准确地移植在玉米活体胚乳上,放入三角瓶培养基面上培养。

3) 幼胚培养条件:培养箱温度应保持 20~28℃,光照要充足。三天后幼胚开始发芽,幼苗经 7~10 天移至盆钵土壤中培育。移栽后的幼苗避免强光照射,温度保持平稳,尽量接近试管培养的温度,昼夜温差不得过大,待根系扎牢后,锻炼幼苗逐渐适应自然条件。

## 二、试验结果

(一) 1978 年田间杂交 60 个果穗,取 10 个组合的 40 个结粒果穗接种 239 瓶。瓶内成苗 48 株,频率为 20.08%。瓶内幼苗移栽成活 11 株,在温室条件下生长,收到玉米×薏苡 2 穗,玉米×高粱 4 穗(见图 1、图 2 及表 1)。

从  $F_1$  结穗植株外形观查:白玉米×薏苡,植株较矮,平均高度为 83.6 厘米,雄穗发育不良,平均叶数 6 片。白玉米×高粱,平均株高 110.8 厘米,平均叶数 8.4 片,雄穗发育正常,分枝数 1~3 个,花粉量较多。玉米自交系新 212×高粱,雄穗分枝多(4~10),并于雄穗上结粒(见表 2)。在不同组合中,株形和穗形有一定变化,杂种具有

双亲的性状。1979年利用远缘杂种进行了自交选拔，田间长势旺，其中78~13为白玉米×分枝高粮， $F_2$ 分枝为三个，主茎在中部结穗，分枝均于茎秆顶部结穗，表现出分枝高粮的特征。另外茎秆坚硬抗倒，在拔节期遇一次持续5分钟的冰雹，雹子过后风力很大，多数玉米倾斜倒伏，叶片被风撕裂，而远杂后代毫无损伤。经观察自交 $S_2$ 植株苗期株型与高粱类似，叶片窄长，叶面光滑波纹少，叶面色白而硬。

### (二) 玉米幼胚离体培养的适宜时期

玉米×薏苡的组合杂交后12天接种即能成活，玉米×高粱的组合以15日龄为宜。杂交20天后虽然接种成活率较高，但籽粒出现枯萎和龟裂现象，剩下的完整粒为数极少(见表3)。幼胚过小移植时易受损伤，常出现有根无叶和有叶无根的畸形苗。适宜时期为12~16日龄，最晚不超过20天。

(三) 活体胚乳的选择：做为杂交幼胚保姆的玉米胚乳，不得过于幼嫩。乳熟初期种子尚未定浆，去掉种皮后胚乳不成形。进入腊

熟期，种皮不易剥掉，老熟的胚乳亦不便杂种幼胚从中吸取营养。通过试验认为，乳熟末期的玉米种子做杂种幼胚的保姆最适合。同时做了有胚乳和无胚乳的比较，明显看出杂种幼胚接在玉米胚乳上，根与芽长势健壮，而无胚乳的杂种胚长势差，苗细弱(见图3)。

## 三、小 结

1. 幼胚离体培养是克服远缘杂交幼胚和胚乳发育不协调而中途衰亡，并能提高杂交结实率的一个有效方法。胚乳置换则是离体培养成败之关键环节。

2. 杂种幼胚生长发育快慢受双亲性状所决定，也受光温条件所影响，因此幼胚离体时间要以不同组合和具体条件而定，掌握在幼胚生长最旺时期为适。

关于玉米×高粱和玉米×薏苡的杂种后代形态及生长特性具备双亲的特点，此种性状变异是否是父本特异基因转入而引起的，计划进一步从细胞学以及通过同工酶测定来确定和进一步观察其遗传变异情况。

表1 各组合接种及成苗数调查

| 组<br>合<br>项<br>目 | 玉米×高粱 |       | 玉米×薏苡 |       | 玉米×西粘谷 |       | 合 计   |       |         |
|------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|---------|
|                  | 接 种 数 | 成 苗 数 | 接 种 数 | 成 苗 数 | 接 种 数  | 成 苗 数 | 接 种 数 | 成 苗 数 | 成 苗 率 % |
| 18/8             | 9     | 3     | 10    | 0     |        |       | 19    | 3     |         |
| 19/8             | 28    | 10    | —     | —     |        |       | 28    | 10    |         |
| 20/8             | 12    | 3     | 14    | 8     |        |       | 26    | 11    |         |
| 22/8             | 17    | 6     |       |       |        |       | 17    | 6     |         |
| 26/8             | 21    | 1     |       |       |        |       | 21    | 1     |         |
| 28/8             | 1     | —     | 62    | 6     | 5      | —     | 68    | 6     |         |
| 30/8             | 17    | 1     | 24    | 2     |        |       | 41    | 3     |         |
| 31/8             | 16    | 7     | 1     | —     | 2      | 1     | 19    | 8     |         |
| 合计               | 121   | 31    | 111   | 16    | 7      | 1     | 239   | 48    | 20.08   |

表 2

F<sub>1</sub> 不同杂交组合主要性状比较

| 品 系 号 | 组 合      | 株高 (厘米) | 叶 数 | 雄穗分枝数 | 结 实 粒 数     |
|-------|----------|---------|-----|-------|-------------|
| 78~11 | 白玉米×薏苡   | 74      | 5   | 无雄穗   | 20          |
| 78~3  | 白玉米×薏苡   | 110     | 8   | 1     | 59          |
| 78~31 | 白玉米×薏苡   | 67      | 5   | 雄花不育  | —           |
| 78~33 | 白玉米×高粱   | 92.8    | 8   | 3     | —           |
| 78~34 | 白玉米×高粱   | 109.5   | 8   | 1     | 1           |
| 78~26 | 白玉米×高粱   | 115.9   | 9   | 1     | 31          |
| 78~25 | 白玉米×高粱   | 128.0   | 9   | 2     | —           |
| 78~13 | 白玉米×分枝高粱 | 108.5   | 8   | 无     | 14 (老鼠吃剩一粒) |
| 78~40 | 新 211×高粱 | 88      | 7   | 4     | 雄穗结 2 粒,    |
| 78~39 | 新 211×高粱 | 77      | 6   | 10    | 雄穗结粒未成熟,    |

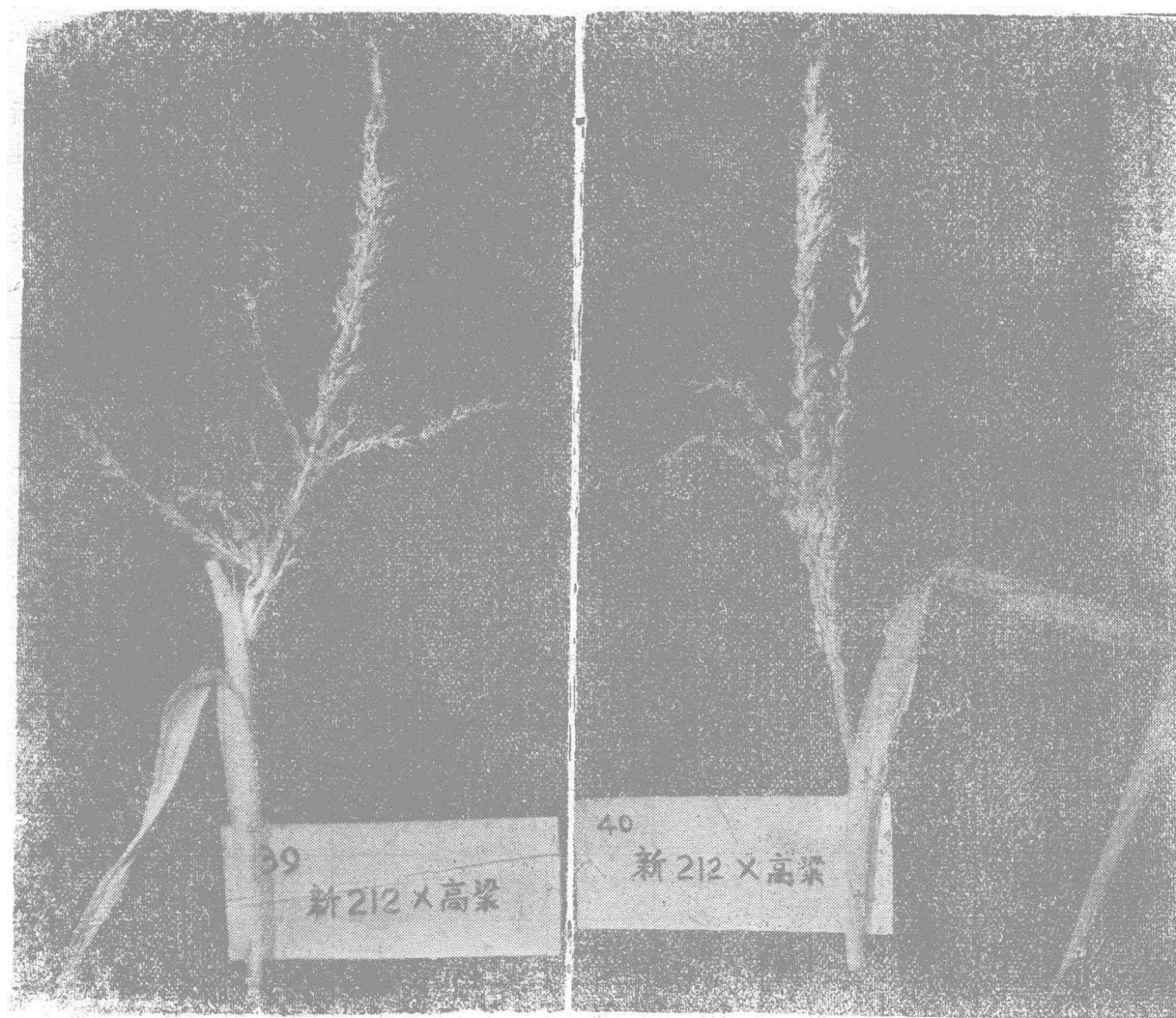


图 1 多分枝型雄穗

表 3

不同胚龄离体培养结果

| 幼胚离体天数(日) | 玉米×高粱 |       |         | 玉米×薏苡 |       |         |
|-----------|-------|-------|---------|-------|-------|---------|
|           | 接 种 数 | 出 苗 数 | 成 苗 率 % | 接 种 数 | 出 苗 数 | 成 苗 率 % |
| 12        | 5     | —     | 0       | 7     | 6     | 85.7    |
| 15        | 9     | 2     | 22.2    |       |       |         |
| 16        | 4     | 1     | 25      | 5     | 1     | 20      |
| 18        |       |       |         | 15    | 2     | 13.3    |
| 20        |       |       |         | 14    | 1     | 7.1     |
| 23        | 21    | 2     | 9.5     |       |       |         |
| 24        | 16    | 7     | 43.3    |       |       |         |
| 25        | 9     | 5     | 55.5    |       |       |         |

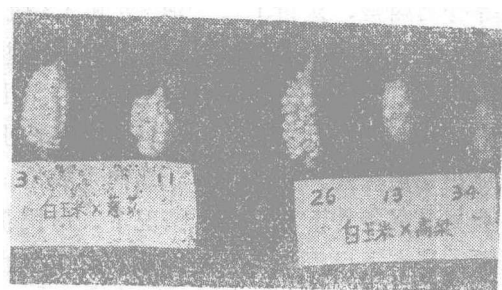
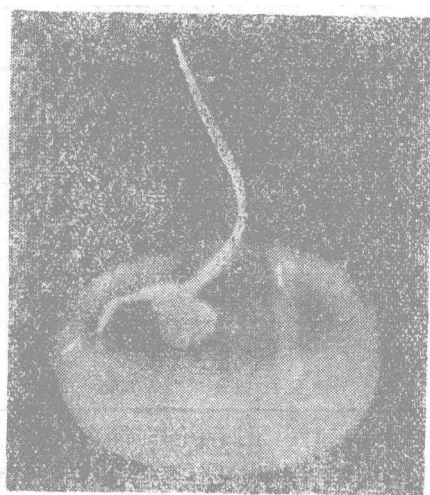
图 2 F<sub>1</sub> 结实穗

图 3-1 有胚乳幼苗



图 3-2 单胚幼苗