

利用小麦与玉米杂交诱导单倍体得胚率的研究

张明爽

(黑龙江省农业科学院 克山分院, 黑龙江 克山 161606)

摘要:为了更好地利用小麦×玉米单倍体育种技术,利用不同基因型小麦、不同类型玉米,研究单倍体得胚率。结果表明:不同小麦基因型对诱导单倍体胚得频率影响较大,高得胚率达20%,低得胚率仅为3.4%;不同玉米类型对得胚率的影响不同,甜玉米花粉的得胚率高于用普通玉米花粉的得胚率。

关键词:小麦与玉米杂交;单倍体;得胚率

中图分类号:S512

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)05-0023-02

长期以来,小麦加倍单倍体育种主要以花药培养为主^[1],尽管花药培养育出了许多品种,在小麦中利用花药诱导单倍体时,常常遇到单倍体诱导率低、幼胚发育差和大量白化苗等问题^[2]。1986年Laurie等利用小麦×玉米成功诱导出小麦单倍体植株,并通过细胞学观察证实了小麦×玉米得到的幼胚是单倍体幼胚,小麦授玉米花粉1 d后的杂种胚存在21条体积较大的小麦染色体和10条体积较小的玉米染色体,授粉2 d后的杂种胚中出现玉米染色体消失现象,授粉3~6 d的杂种胚中仅有21条小麦染色体和微核,表明玉米染色体已消失。这是由于玉米染色体被完全排除掉,产生仅有21条母本小麦染色体的单倍体^[3]。用小麦×玉米诱导单倍体不受小麦基因型的限制,任何基因型小麦都可以得到单倍体植株^[4-5],但不同基因型小麦对得胚率存在显著差异,得胚率最高组合达30%以上,最低组合在5%以下^[6]。不同类型玉米对单倍体胚的产生在不同处理组合间具有显著差异^[7-9]。

1 材料与方法

试验于2006~2007年在黑龙江省农业科学院克山分院小麦试验地进行。供试小麦为F₁品系、F₃品系,玉米品种为甜玉米、普通玉米。

1.1 小麦与玉米杂交

小麦种植时间:4月6~10日播种小麦种子。

玉米种植时间:2006年4月15日、20日、

25日、30日分4期播种,2007年3月20开始隔7 d分期种5次,加田间自然玉米粉共6期。催芽后先栽到营养钵中,待大气温度达到15℃以上时移到田间,以调节花期。

小麦的去雄:杂交3~4 d之前去雄套袋。

小麦和玉米的杂交:玉米取当日的花粉,早晨8:00左右把前一天的花粉都抖落掉,9:00~10:00取花粉,新鲜花粉有利于杂交。

1.2 2,4-D溶液注射处理

在田间授完玉米粉40 min后小麦穗下节注射2,4-D苯氧乙酸培养液(浓度为100 mg·L⁻¹,首先把2,4-D苯氧乙酸溶解在1 mL的酒精溶液中,再溶解于1 L水溶液中),连续注射3 d,在9:00~10:00和15:00~16:00进行。

1.3 胚拯救

取出胚(无菌操作):授粉后10、14、18 d取回在超净工作台扒胚。种子消毒:把拟似种子包在沙布上,放入培养皿里,70%酒精洗30 s,在红汞中浸泡8 min,无菌水(用高温高压蒸汽灭菌)洗3次,放入超净工作台用紫外灯消毒30 min。

1.4 计算公式

颖果结实率/% = 结实颖果数/授粉颖花数×100;结实颖果得胚率% = 单倍体胚数/结实颖果数×100;得胚率% = 单倍体胚数/授粉颖花数×100。

2 结果与分析

2.1 不同基因型小麦与玉米杂交的得胚率的比较

用玉米花粉给7个小麦杂交组合的F₁和F₃植株授粉,授粉后40 min在穗下节注射2,4-D,处理浓度为100 mg·L⁻¹。由表1可见,颖果结实率幅度为57.6%~80.2%,结实颖果得胚率幅度

收稿日期:2010-03-11

基金项目:黑龙江省科技攻关资助项目(GA09B101-4)

作者简介:张明爽(1983-),男,黑龙江省克山县人,学士,研究实习员,主要从事科研管理工作。E-mail: cryu1122@163.com。

为 5.4~29.7, 每个组合的得胚率相差较大, 06F₃1170 组合的得胚率仅为 3.4%, 说明不同小麦的基因型对诱导单倍体胚频率影响较大。

表 1 不同基因型小麦与玉米杂交的得胚率的比较

区号	授粉小花数	结实颖果数	颖果结实率/%	得胚数	结实颖果得胚率/%	得胚率/%
06F ₁ 10	270	182	67.4	54	29.7	20.0
06F ₁ 11	344	256	74.4	43	16.8	12.5
06F ₁ 780	323	258	79.9	14	5.4	4.3
06F ₁ 922	295	235	79.7	25	10.6	8.5
06F ₃ 158	598	361	60.4	27	7.5	4.5
06F ₃ 1170	295	170	57.6	10	5.9	3.4
07F ₁ 2559	323	259	80.2	40	15.4	12.4

2.2 不同玉米类型对小麦与玉米杂交的得胚率的比较

试验分别用甜玉米和普通玉米给同组合的小麦授粉, 通过计算得胚率的结果表明, 小麦授不同种类玉米花粉后, 得胚率是不同的。用甜玉米花粉授粉的得胚率高于普通玉米花粉的得胚率。

表 2 不同玉米类型对小麦得胚率的影响

玉米品种	小麦品系	授粉小花数	颖果结实数	得胚数	得胚率/%
1	06F ₁ 788	360	284	41	11.4
	06F ₃ 155	659	445	35	5.3
2	06F ₁ 788	638	410	18	2.8
	06F ₃ 155	390	231	8	2.0

3 结论与讨论

利用小麦与玉米远缘杂交诱导小麦双单倍体是否能获得成功, 主要依赖于单倍体胚产生频率、单倍体植株的获得频率以及单倍体植株的加倍成功率, 其中每个环节都很重要。

影响单倍体胚产生频率的因素很多, 试验结果表明不同基因型小麦, 不同类型玉米品种, 2, 4-D 溶液处理方法不同, 其产生的单倍体得胚率都不同。得胚率的高低还受空气湿度、土壤湿度、2, 4-D 溶液浓度等影响^[9-14]。

利用小麦与玉米远缘杂交诱导小麦单倍体, 经加倍后第一代即可获得纯合的双单倍体 DH 系。单倍体育种与常规育种结合可以大大提高育种效率, 在材料创新方面效果较好。

参考文献:

[1] 王宏芝, 杨成民, 魏建华, 等. 低温预处理和高温饥饿胁迫对冬小麦小孢子胚胎发生和植株再生的影响[J]. 农业生物技术学报, 2004, 12(4): 390-395.

[2] 李新华. 花药组织培养和小麦×玉米杂交技术应用于产生小麦单倍体的比较研究[J]. 核农学报, 2005, 19(1): 528-531.

[3] Laurie D A, Reymondie S. High frequencies of fertilization and haploid seedling production in crosses between commercial hexaploid wheat varieties and maize[J]. Plant Breed, 1991, 106: 182-189.

[4] Szarejko I. Production of doubled haploids in wheat (*Triticum aestivum* L.) through chromosome elimination [C]// Manual on General Genetics and Basic Methods in Plant Biotechnology. Gliwice, Poland: Silesian University of Poland, 2001: 175-180.

[5] 李根英, 孟庆华, 隋新霞, 等. 玉米花粉诱导小麦单倍体的研究进展[J]. 山东农业科学, 2003(1): 52-54.

[6] 陆维忠, 郑企民. 植物细胞工程与分子育种技术研究[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 68-71.

[7] 王广金. 小麦与玉米杂交产生单倍体胚频率的研究[J]. 麦类作物, 1998, 18(6): 12-14.

[8] 陈新民, 徐惠君, 陈孝, 等. 小麦×玉米单倍体植株的产生[J]. 北京农业科学, 1993, 11(3): 7-8.

[9] 安颖蔚, 张宝石. 利用小麦×玉米诱导小麦单倍体的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(5): 528-531.

[10] 刘辉, 陈纯贤, 孙敬三, 等. 小麦×玉米杂交后代的蛋白质及酯酶同工酶分析[J]. 植物学报, 1996, 38(5): 357-361.

[11] 王子宁, 张艳敏, 郭北海, 等. 利用单倍体育种技术快速培育糯性小麦新品系[J]. 华北农学报, 2001, 16(1): 1-6.

[12] 顾坚, 刘琨, 李绍祥, 等. 小麦×玉米杂交诱导小麦单倍体的割穗离体培养研究[J]. 麦类作物学报, 2008, 28(1): 1-5.

[13] 张新玲, 王霞, 石书兵, 等. 玉米花粉诱导不同基因型小麦单倍体得胚率的比较及幼胚离体培养方法对成苗率的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2007, 30(3): 19-22.

[14] 顾坚, 刘琨, 李绍祥, 等. 昆明自然条件下利用小麦×玉米诱导小麦单倍体的研究初报[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(4): 23-26.

小麦穗发芽试验中穗姿态及灭菌剂的选择

赵远玲

(黑龙江省农业科学院 生物技术研究所以, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:小麦穗发芽是世界性的灾害,高效的穗发芽抗性鉴定方法是穗发芽抗源选择及抗穗发芽育种中有效选择的关键。穗发芽抗性鉴定受到多种环境条件的影响,其中发芽试验中穗的摆放姿态和灭菌剂的选择对鉴定结果影响较大。通过比较小麦发芽试验过程中穗摆放姿态和不同的灭菌剂对穗发芽试验结果的影响,以期筛选出适合黑龙江省生态条件的小麦穗发芽鉴定方法。

关键词:小麦;穗发芽;穗姿态;灭菌

中图分类号:S512

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)05-0025-04

小麦穗发芽是世界性的灾害,不仅降低了产量和容重,而且营养品质、加工品质和种用价值均受到破坏。穗发芽还会降低籽粒的透明度和商品等级,给生产和加工带来严重影响^[1]。建立科学、准确的小麦穗发芽抗性鉴定方法,是提高育种准确性和预见性的有效途径。

完整穗发芽法和籽粒发芽法是在实验室鉴定小麦穗发芽抗性的主要方法。完整穗发芽法从种子休眠、外源抑制物质和穗部形态、结构等多种因素综合作用,能全面地反映其品种穗发芽特性,最接近于小麦收获期的田间自然状况,简单易行^[2]。相比之下,籽粒发芽法则侧重反映种子休眠,可以

作为鉴定穗发芽的间接指标^[3]。

人工模拟自然条件下的整穗发芽法需要在发芽过程中定时喷水保湿,但是试验中麦穗多处于平放姿态,容易因浸泡在水中测定抑制呼吸,从而降低发芽率。所以合理的穗部姿态对于发芽率鉴定的准确性很重要。另外,发芽试验还涉及到表面灭菌的问题。种子因田间感染而带菌,通常受根霉菌、交链孢、镰刀菌的感染严重,有极少数种子受青霉菌的感染^[4]。如果小麦的颖壳、种皮表面带菌,将抑制发芽,给试验带来误差。通常在发芽试验前,要采用灭菌处理。同时,灭菌后的清洗方法也影响试验结果,清洗不彻底会降低发芽率。

该研究以 2007 年田间小区试验的 20 个品系为研究材料,对整穗发芽试验穗部姿态的选择及发芽试验中灭菌条件进行研究,以期找到适应黑龙江省生态环境的穗发芽鉴定方法,以提高穗发芽抗性鉴定结果的可靠性。

收稿日期:2010-02-22

作者简介:赵远玲(1977-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,研究实习生,主要从事作物分子育种研究。E-mail:lizixin418@sina.com。

Study on the Frequencies of Embryo Formation Induced by Wheat and Maize Crosses

ZHANG Ming-shuang

(Keshan Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Keshan, Heilongjiang 161606)

Abstract: In order to better use of wheat and maize haploid breeding technology, the frequencies of embryo formation were researched by using different genotypes of wheat and maize. The results showed that the different wheat genotypes of induction haploid had great influence on the frequency of embryo, high reached 20%, and lower was only 3.4%. The frequencies of embryo formation was influenced by different types of maize, which was higher by the pollen from the sweet maize than that from the ordinary maize.

Key words: wheat and maize crosses; haploid; frequencies of embryo formation