

花粉单倍体育种

河南省花粉单倍体育种编写组

花
粉
單
倍
體
育
種

花粉单倍体育种

河南省花粉单倍体育种编写组

河南人民出版社

花粉单倍体育种

河南省花粉单倍体育种编写组

河南人民出版社出版

许昌地区印刷厂印刷

河南省新华书店发行

787×1092毫米32开本 $3\frac{1}{2}$ 印张 67千字

1978年12月第1版 1978年12月第1次印刷

印数 1—14,000册

统一书号16105·41 定价0.26元

前 言

单倍体育种是一种多快好省地育种方法，它能够控制杂种分离，加快育种速度，简化选育程序，提高选择效率，是育种工作的一项重大技术革新。近几年来，我国单倍体育种研究工作，在毛主席的无产阶级革命路线指引下，短期内已取得了重大成果。不仅在小麦、玉米、橡胶、白菜等十八种作物上首次获得了花粉植株，并育出了小麦、水稻、烟草、茄子等作物新品种，达到了世界先进水平，对我国社会主义农业生产作出了贡献。

在全国科学大会精神鼓舞下，为迅速把我国花药培养和单倍体育种搞上去，普及应用这项新技术，省单倍体育种协作组的主持单位——洛阳市农科所，特组织了该所的黄太运、李玉龙，新乡师院生物系周希澄、张加宝，中国农业科学院棉花所胡绍安等同志，在总结我省这项研究成果的同时，学习参考了我国在主要农作物上单倍体育种方面的有关资料，采取集体讨论、分别执笔的方式，编写了《花粉单倍体育种》这本小册子。

单倍体育种技术的研究工作，我省开展时间短，实践经验还不够丰富，加之我们编写水平有限，书中难免有错误和不妥之处，希望读者提出批评指正。

河南省《花粉单倍体育种》编写组

一九七八年四月

目 录

一、花粉单倍体在育种上的意义·····	(1)
(一) 什么叫单倍体育种·····	(1)
(二) 单倍体植物在育种上的意义·····	(3)
(三) 花粉单倍体育种的进展·····	(6)
二、花药培养的方法·····	(9)
(一) 实验前的准备·····	(9)
(二) 培养基的配制·····	(11)
(三) 花药的接种·····	(18)
三、花粉愈伤组织和单倍体植株的培养·····	(25)
(一) 愈伤组织的诱导·····	(25)
(二) 从愈伤组织分化成绿苗·····	(31)
(三) 关于白化苗问题·····	(36)
四、花粉育株外界条件的探讨·····	(41)
(一) 培养基的组成和作用·····	(41)
(二) 培养条件·····	(54)
五、花粉植株幼苗的移栽和染色体加倍·····	(57)
(一) 花粉植株幼苗的移栽·····	(57)
(二) 染色体加倍的原理和方法·····	(62)
六、花粉植株后代的选育与鉴定·····	(68)
(一) 组合亲本的选配·····	(68)
(二) 花粉植株后代的选育·····	(69)

(三) 花粉植株后代的田间鉴定..... (73)

(四) 单倍体育种程序的讨论..... (74)

七、常用的显微制片技术..... (76)

(一) 醋酸洋红压散法..... (76)

(二) 铁苏木精压片法..... (81)

(三) 孚尔根反应染色法..... (82)

附 1. 永久玻片标本的制作..... (82)

2. 几种常用药液的制法..... (84)

附表:

(一) 常用的培养基..... (86)

(二) 一些作物花粉育株的常用培养基和花粉
发育时期..... (103)

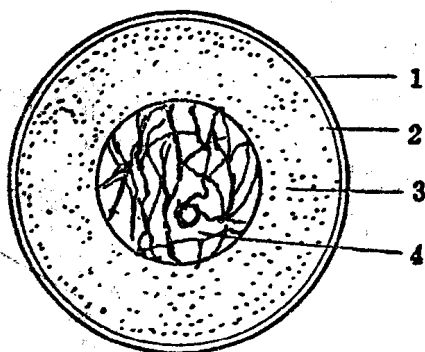
(三) 花药培养需要的药品、仪器清单..... (105)

一、花粉单倍体在育种上的意义

(一) 什么叫单倍体育种

单倍体，也称单元体，即细胞仅含有一组染色体的个体。植物的配子体和少数动物(如蜜蜂的雄体)都是单倍体。花粉单倍体育种，就是打破传统上用种子培育新芽的办法，只通过植物细胞的培育，即用花粉培育植物新品种的方法。大家都知道，所有生物，除病毒、噬菌体外，都是由细胞组成的。植物细胞一般包括细胞壁、质膜、细胞质和细胞核四部分(图一)。

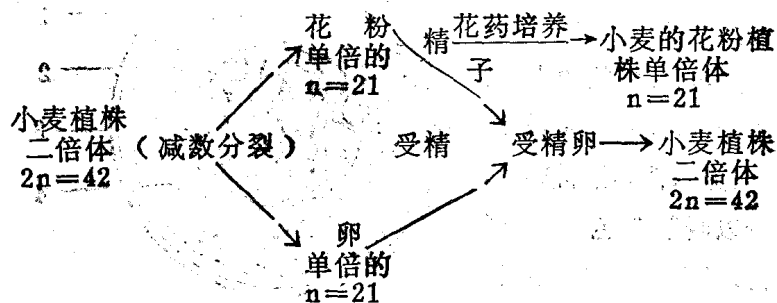
正在分裂时期的细胞，在核内还可以看到一些粒状、杆状的小体。由于这些小体能被洋红、苏木精等染料染色，所以叫做染色体。通常，只有在细胞分裂时，染色体才明显可见。在不分裂的细胞中，由于染色体极度伸长变细，不易着色，所以在光学显微镜下是看不见的。



图一、细胞的构造

- | | |
|--------|--------|
| 1. 细胞壁 | 2. 质膜 |
| 3. 细胞质 | 4. 细胞核 |

染色体是细胞核内主要的遗传物质基础。它是由去氧核糖核酸和一种蛋白质组成的。同种生物细胞内的染色体数目是相同的。例如，普通小麦的体细胞里都有42条染色体；在有性繁殖时，体细胞经过减数分裂形成的两性细胞（精子和卵）中，染色体数目减少一半，只有21条；受精时，精子和卵结合，染色体数目又恢复为42条，其中21条来自精子，另外21条来自卵。所以普通小麦的性细胞只含有一套染色体（21条），是单倍性的，可用 n 表示。而体细胞却具有来自精子和卵的两套染色体（42条），是二倍性的，可用 $2n$ 表示。凡是体细胞中含有两套染色体的植株都叫二倍体。从花粉发育成的植株，由于体细胞只有一套染色体，所以统称单倍体。现仍以普通小麦为例，将二倍体与单倍体的关系简要图解于下：



单倍体育种就是利用单倍体植株经过染色体加倍、优良植株的选择，繁殖和培育等步骤育成新品种的过程。目前用辐射、远缘杂交等方法，虽然也能获得一些单倍体植株，但因手续繁杂，成功率很低，尚难用于生产，只有用花药培养

法成效最显著。所谓单倍体育种法，就是采用离体培养花药诱发单倍性生殖的方法，使杂交后代的异质配子长成单倍体植株，经药物处理（或自然加倍）染色体加倍成为纯系，然后进行选育的一种育种方法。此法能缩短育种年限，提高选择效率，是多快好省地培育优良品种的新方法。本书就是专门介绍这方面的技术的。

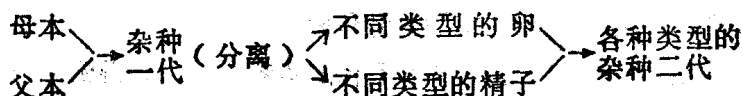
（二）单倍体植物在育种上的意义

单倍体育种是常规育种技术上的一次重大技术革新。它和常规育种方法结合，可以克服其它方法的缺点和困难。现分别说明单倍体植物在杂交育种、杂交优势利用、远缘杂交和辐射诱变育种中的作用。

1. 稳定杂种性状，缩短育种年限

在杂交育种时，由于杂种后代的不断分离，要得到一个稳定的品系，一般要经过5—6代的时间，甚至更长些。用单倍体育种方法要获得一个稳定后代只需2—3年时间。其主要道理是：亲代的遗传性状是通过性细胞中的主要遗传物质——染色体传递给后代的。目前广泛采用的有性杂交是用遗传性不同的亲本杂交产生出杂交后代，即杂种。由于杂种第一代的一套染色体来自父本的精子，另一套染色体来自母本的卵细胞，所以杂种一代既具有父本也具有母本的遗传性。来自父母本的两套遗传物质（主要是染色体），在杂种一代中并不是彼此孤立地机械拼凑在一起的，当杂种一代的体细胞进行减数分裂形成性细胞时，来自父本和母本的两套染色体在

杂种一代的细胞里要发生复杂的相互交换和重新组合，形成遗传性各不相同的精子和卵细胞。杂种一代有性生殖时，这些遗传性不同的精子和卵又结合，当然就会产生各种类型的杂种二代，其中有些植株象父本，有些植株象母本，有些植株在这方面象父本而另方面象母本，变得很不整齐一致，这就是分离。一句话，亲本遗传物质在杂种一代细胞里重新组合，形成遗传性不同的杂种一代的生殖细胞，这是杂种二代分离的根本原因。同样的原因，杂种后代还会继续分离，但由于多代自交和人们对每代都选留某一种类型。随着代数的增加，逐渐缩小了杂种后代遗传性的差别，最后就选出不再分离的、稳定而整齐一致的后代，叫做纯系，从纯系再育成新品种。上述过程可概括简明图解于下：

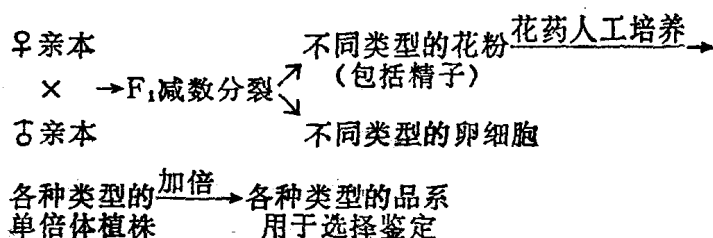


(多代自交)
(多代选择) 纯系 → 新品种

从有性杂交中选育纯系需要相当长的时间，一般需要经过五、六代。

如果能从杂种后代的花药培养中，获得单倍体花粉植株，经染色体加倍，使之成为二倍体植株，即为纯合二倍体，相当于同质配子的结合，它的后代性状不会发生分离，相当稳定，比较整齐一致。这样就克服了杂交育种时间较长的困难。从杂交开始，只需两、三年时间就能得到稳定而不分离

的品系，从而缩短了育种年限。这个过程可用下图表示。



2. 能快速培育异花授粉作物的自交系

在异花授粉的作物（玉米、高粱）杂交优势利用中，为了获得自交系，按照常规的自交方法，一般需5—6年的时间，要花费大量的人力和时间，而且多代自交还不能达到理想的纯度；若采用花药培养产生单倍体植株的方法，经过染色体加倍，只要一年时间就可获得与多代自交效果相同的自交系。这将会大大缩短育种年限，节省人力、物力，提高育种的成效。1974年我国科学工作者首次获得了玉米花粉植株，此后，许多单位也相继培育出了上千苗的玉米花粉植株并结了种子，使采用花药培养方法选育玉米自交系成为现实。

3. 有助于创造远缘杂种的新类型

远缘杂交，由于血缘关系较远，后代不易结实，即使结实也极不易获得稳定的后代，分离代数比品种杂交要长得多，这是阻碍远缘杂交成功的主要原因。但采用单倍体育种，就可能创造远缘杂种的新类型。因为在远缘杂交杂种的花粉中，有少数花粉具有生活力，如果从这少数花粉中培养出单倍体植株，然后再使染色体加倍，变成二倍体植株，就可以从中选育出新的类型。如一九七〇年有人用羊茅草和黑麦草

远缘杂交种的花粉，培育出少量的单倍体植株，为创造远缘杂种带来了希望。同时，采用花粉培养可以稳定杂种后代，有可能获得理想的结果。

4. 便于辐射诱变与化学诱变

用人工诱变法培育一个新品种，一般也要四年以上的时间，如果用辐射和化学药剂直接处理花粉或单倍体植株，当代就表现出性状的变异，有利于选育优良品种。单倍体育种与人工诱变育种相结合，这是一种快速培育新品种的方法。如一九六九年，有人曾对烟草单倍体植株进行辐射诱变，证明这种作法是可行的。

此外，植物的花粉在离体培养下生长和发育而成植株，对高等植物遗传基础的研究、遗传变异规律、植物细胞学、植物胚胎学的研究都有着十分重要的意义。

（三）花粉单倍体育种的进展

我国从1970年开展花粉单倍体育种以来，在毛主席革命科研路线的指引下，理论联系实际，大搞群众运动，组织社会主义大协作，在短短的几年时间内，已经对三十多种主要农作物和蔬菜、果树、林木的花药培养等研究工作上，取得了重大进展，首次培育出了小麦、小黑麦、玉米、辣椒、茄子、大白菜、杨树、橡胶等十八种植物的花粉植株，并利用花粉植株进行单倍体育种，选育出烟草、水稻（粳稻和籼稻）、小麦、茄子等新品种，已在生产上推广。对一些重要经济作物的花药培养研究也出现了可喜的苗头。例如，已培养出

了甘蔗、甜菜、亚麻、油菜、青菜的花药植株和大豆的胚状体。在棉花上已培养出花药愈伤组织并分化出根、叶状体和茎状物，而且观察到花粉的均等分裂。在花生和葡萄上，已获得花药愈伤组织。

几年来，对花药培养中一系列问题，如提高花粉植株诱导频率；愈伤组织和花粉植株二倍化的方法和条件；花粉植株的遗传分析；白化苗形成的原因和控制；培养基的改革和简化；温、光等外界条件的作用等都进行了大量的研究，积累了不少经验，从而大大推动了花粉单倍体育种工作的群众运动向纵深发展。对花药培养中的一些理论问题，如花粉去分化的机理；雄核发育模式；花粉植株的细胞遗传等也进行了一定的研究，获得了一些值得注意的、独创性见解。

以英明领袖华主席为首的党中央，为了加速我国的现代化，号召全党、全军和全国各族人民向科学技术现代化进军。一个规模宏大的、群众性的科学实验运动正在迅猛发展。在这样的大好形势下，我国花药培养研究的进展也更加广泛和深入。为了适应形势的要求，中国科学院于1977年召开了全国花药培养会议，制订了我国《花药培养研究规划》。《规划》要求短期内在水稻、小麦、烟草、油菜、茄子等作物上培育出比当地推广品种优越的早熟、高产、抗病、优质的新品种；玉米得到花粉纯系，并配制出一批单交种；杨树上育出一批纯合植株；诱导出棉花、大豆、花生、高粱等经济作物的花粉植株。并开展花药培养和其它育种新技术，如杂种优势利用、远缘杂交、多倍体育种、理化因素诱变等相

结合的研究。同时，注意加强花药培养中有关植物形态学、植物生理学、生物化学、细胞学、遗传学等基础理论方面的研究。在不太长的时期内，花药培养研究要全面赶超世界先进水平。

我国花药培养研究，有广泛的实践基础，积累了一定的经验，在党的领导下，有信心一定能在不久的将来全面赶超世界先进水平，为我国社会主义建设作出更大贡献。

二、花药培养的方法

(一) 实验前的准备

为保证培养工作的顺利进行，所使用的药品、用具及各类玻璃器皿，应做好必要的准备；同时，对每一步试验都应严格、认真进行。当然，这不排除根据具体情况，因地制宜，因陋就简地创造简易可行的设备进行工作，更不排除在前人工作基础上的革新创造。

简易实验室及必要的设备是保证实验工作顺利进行的必要条件。实验室是花粉培养工作的主要活动场所，由于大部分工作是在无菌条件下进行的，要求环境条件较为严格；因此在改建原有旧房，特别是新建实验室时，必须根据花粉培养工作的要求及具体条件慎重考虑，周密设计。

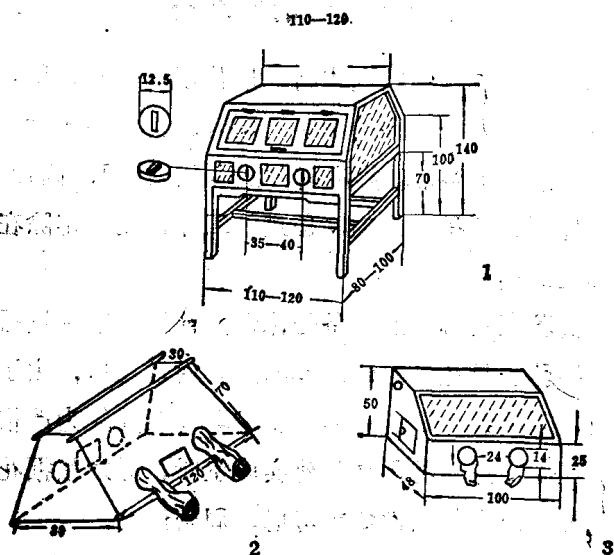
实验室要求建造在地势较高、干燥、通风良好的地方。其大小可根据具体情况而定。只要符合以上条件，草房、瓦房均可改造成实验室。

实验室内要经常保持清洁；同时，在花粉培养研究工作中，还需要一定的设备和用具。社队科研站，可根据自己的条件，以自力更生，就地取材，因陋就简、土法上马，制作一些构造简单、经济实用的土设备。现将实验室的基本设备介绍如下：

接种箱（室），为要把花药接种到灭过菌的培养基上，

必须在接种箱或接种室内进行无菌操作，防止杂菌污染。

简易的接种箱可用大纸箱和塑料薄膜作成，有条件的可用少量木料与几块玻璃制成（图二）。还可购买有机玻璃接种箱和超净工作台。



图二、接种箱

1. 双人接种箱 2. 尼龙接种箱 3. 单人接种箱

接种室，是一间可以关闭严密的小房间，它和接种箱的作用一样，只是操作的空间较大，便于熏蒸消毒后进行无菌操作。接种室体积不宜过大，一般以5—7平方米为宜。接种室的外面应设有一小间缓冲室，门不宜对开，最好装拉门。接种室内的地板和墙壁应经常保持清洁，室内还应装有