

核农学研究进展

华 珞 梁 劬 主编

中国农业科技出版社

加强核农科学研究
促进农业生产发展

陈子元题

一九九四年

序 言

我国核技术在农业上的应用已有 30 多年的历史,从小到大,目前在全国各个省市、自治区已经建成了原子能农业应用研究机构。从事专业研究及应用研究的单位有 100 多个,专业队伍 3000 多人,形成了以中国农业科学院原子能利用研究所为中心的协作研究体系的网络和以中国原子能农学会为中心的学术交流网络,这两个网络促进了中国核农学的形成和发展。在科研上取得了显著的成果,据不完全统计,截至 1994 年底获得各级奖励的成果有 930 多项,其中获省部级成果奖 530 项,获国家发明奖 12 项。其社会经济效益每年 30 亿元以上;在国内外发表论文约 3750 多篇。我国核农学的成就受到国际原子能机构的高度赞誉。

中国核农学的形成和发展,是老一辈科学家徐冠仁教授、陈子元教授等人的率领和培养下,经过几十年的艰苦奋斗,目前形成了一支团结、奋进,敢于攀登科学高峰的队伍。他们活跃在国内外的学术活动和生产第一线,为国家做出了重要贡献。

值得可喜的是,青年核农学科技工作者茁壮成长,他们热爱核农学事业,思维敏捷,勇于开拓,有献身精神。他们是 21 世纪核农事业的接班人。第二届全国核农学青年科技工作者学术交流研讨会的论文集说明,青年科技工作者继承和发扬了老一辈核农科学家的优良传统,做出了许多高水平的研究成果和取得了可喜的经济社会效益;希望核农青年科技工作者在九五和 21 世纪科研工作中,进一步拓宽和深化核农学科的发展,勇于承担责任,刻苦攻关,以无私奉献精神为我国农业科学和生产做出贡献。我深信核农事业一定会取得更大的成绩,在 21 世纪将会取得更大的声誉。

中国原子能农学会常务副理事长
中国农科院原子能利用研究所所长

温贤芳 研究员

一九九六年元月五日

前 言

核农学在我国发展近 40 年了, 经历了盛、衰、成长等发展过程, 这其中凝结着老、中、青三代科技工作者的心血。青年是核农学事业继续前进的希望。在中国原子能农学会的大力支持下, 青年工作委员会于 1994 年 10 月 15 日至 18 日在北京召开了“第二界核农学青年科技工作者学术交流会”。参加会议的代表共宣读论文几十篇, 因故未能参加会议的青年同志也积极提交了论文多篇。会议组织者决定将青年科技工作者提交的论文编成论文集, 供给广大核农学科技工作者参考并指正。由于编者的专业水平有限, 文集中定有不少错误及不当之处, 敬请专家学者及同行们批评指正。

编 者

目 录

辐射遗传育种

辐照促成小麦与大概草属间杂交的研究.....	胡小元等(1)
γ 射线对小麦×玉米生产小麦单倍体的影响.....	陈 纲等(7)
影响水稻离体辐射诱变分化出苗数的因素.....	吕慧能等(13)
辐射长绒突变体 226 系的体细胞培养和高频率再生.....	时香玉等(18)
水稻突变体 R ₉₁₇ 抗瘟性及遗传研究.....	施 德等(23)
提高小麦幼胚离体培养效率的研究.....	唐凤兰等(28)
吸收剂量及吸收剂量率对种子黑后发光的影响.....	陈有君 (32)
激光处理棉籽对当代的促进效应.....	吕爱清等(35)
氮离子注入应用于早籼稻早熟性状改良的研究.....	舒庆尧等(39)
水稻氮离子注入的同工酶谱分析及细胞学效应研究.....	慎 玖等(43)
水稻新矮秆突变基因研究.....	金 卫等(47)
赣晚籼 23 号的选育.....	曹丰生等(51)
IN VITRO MUTATION INDUCTION AND SOMACLONAL VARIATION IN MAIZE LINE WITH MARKER GENES.....	Liang Q. (55)

同位素示踪技术应用

应用示踪原子法研究枸杞对肥料的吸收利用.....	陈梅红等(60)
应用 ^{15}N 、 ^{32}P 研究夏谷对硝酸磷肥及尿素普钙氮、磷的利用.....	陈有君 (65)
小麦幼苗对硒的吸收与累积研究.....	吕金印等(70)
灰潮土无机磷形态有效性和转化动态的研究.....	涂书新等(73)
叶片标记同化产物在茎鞘中时空分布的示踪动力学研究.....	葛才林等(79)
PERSISTENCE OF ^{14}C -PIRIMICARD IN THREE CHINESE SOILS.....	Pan J. R. (87)
THE RESPONSE OF WINTER WHEAT TO WATER STRESS AND FERTILIZER USE EFFECIENCY.....	Qi M. (93)

辐照加工及应用

辐照加工剂量学中 ε m 值测定问题.....	李乃宁等(99)
马尾松花粉辐射灭菌效应的研究.....	傅俊杰等(103)

聚丙烯辐射变色的研究.....	张九宏等(108)
龙胆苦甙水溶液辐解的研究.....	文 陵等(112)

生物技术

海藻糖的生物合成及其抗逆机理.....	董志扬等(115)
RAPD 分子标记技术及其应用.....	宛煜高等(121)
籽粒苋的 RAPD 指纹图谱研究初探.....	梁 劲等(128)
苋属遗传多样性研究.....	金尧军等(133)
粪产碱菌 (<i>Alcaligenes faecalis</i>) 的固氮分子遗传学研究进展.....	林 敏等(138)
固氮酶结构基因 <i>nifHDK</i> 的表达调控机制.....	林 敏等(143)
固氮粪产碱菌 (<i>A. faecalis</i>) 在高 NH_4 下合成固氮酶的证明及机理初探.....	张雪涛等(148)

动植物生理生化

干旱地区节水型农业中作物物质资源抗旱性研究进展.....	郭洪飞等(151)
春小麦籽粒灌浆期旗叶同化物输出的昼夜变化.....	张玉文等(155)
晚播冬小麦耗水规律研究.....	褚衍杰等(159)
种籽含铁量对冬小麦幼苗早期释放植物高铁载体的影响.....	陈 清(165)
Sn - 9106 纤维素酶性质和稳定的研究.....	李淑荣等(170)
短梗霉多糖的分离纯化及分子量测定.....	张 英等(175)
探索天然防腐剂的抑菌效果.....	高美须等(179)
柑桔大实蝇生殖生理研究 I 交尾授精对产卵繁殖的影响.....	张 维等(184)
柑桔大实蝇生殖生理研究 II 成虫补充营养对产卵繁殖的影响.....	张 维等(187)
辐照玉米螟 <i>Ostrinia furnaalis</i> (Guen.) 后代的交尾竞争力研究.....	康 文(190)
GnRH-A 缓释胶囊诱导青年泰和母鸡排卵的生殖内分泌特征.....	王公金等(194)
不同污染方式的 90Sr 在蛋鸡体内的分布与积累以及向蛋的转移规律.....	商照荣 (201)

农业生态环境

氮肥的集约管理及其对环境的影响.....	陈 清等(205)
不同 pH 条件下土壤 Cd 形态分布与土壤对 Cd 的缓冲性.....	韦东普等(210)
国产化学复印膜的鉴定及在农业生态系统中的应用.....	白玲玉等(214)
有机物对 MBT 在土壤中残留的影响.....	周洪杰等(220)
土壤和水中双胍辛胺残留量 HPLC 柱前反应分析方法研究.....	贾明宏等(226)

BUFFERING DYNAMIC CHARACTERISTIC OF THE SOIL TO APPLIED INORGANIC ARSENIC.....	Hua L. (230)
THE RESPONSE OF WINTER WHEAT TO WATER STRESS AND WATER USE EFFICIENCY UNDER VAEIOU SCHEDULES OF IRRIGATION.....	Qi M. (235)

学会管理

拓宽学会工作领域 发展新疆核农学事业.....	徐 舫 (241)
-------------------------	-----------

辐射遗传育种

辐照促成小麦与大赖草属间杂交的研究*

胡小元 施巾帼 王琳清 范庆霞

(中国农业科学院原子能利用研究所 北京 100094)

采用7种剂量的 γ 射线辐照大赖草花粉,结果表明:15Gy以下的低剂量辐照能促进花粉在柱头上的萌发率及提高幼胚获得率,花粉的萌发率与幼胚获得率呈高度的正相关($r=0.9565$),9Gy处理能得到最高的幼胚获得率,8Gy、10Gy处理也有较好的处理效果。采用重复授粉、激光、 γ 射线处理等都不同程度地提高了杂种幼胚获得率,用18个不同基因型的小麦品种与大赖草杂交,表明小麦与大赖草属间杂交的幼胚获得率与母本的基因型有较大的关系。

关键词: 小麦 大赖草 花粉辐照 杂交

利用远缘杂交的方法,将异缘属的优良性状转给小麦,是改良小麦品种的有效途径之一。大赖草是多年生自花不孕植物,穗长达30cm,花药长9mm,粒大、秆壮、蛋白质含量高、植株分蘖力强、根系发达,具有较强的抗病、耐寒、抗旱能力,是一种非常有用的基因供体材料,但由于阻抑配对基因的作用及与小麦之间亲缘关系甚远,杂交和回交结实率极低、杂种胚败育,杂种 F_1 代高度不育、染色体加倍困难等,致使大赖草的优良基因未能得到有效地利用。近年来,国内外利用辐照花粉的方法,不同程度地提高了杂种后代的获得率^[1-3],根据以上结果,我们于1987年始,前后用了18个普通小麦品种和小麦近缘种, Pavon、波斯小麦等作为母本,与大赖草杂交并辅助以 $60\text{Co-}\gamma$ 射线辐照花粉,试图将大赖草的优良基因导入小麦,并通过此途径研究辐射在促成小麦 $\times$ 大赖草属间杂交中的作用。

材料与方法

材料 以大赖草(*Elymus giganteus*)为父本,母本有中国春, J_{11} , 中7902、中8713、绵阳91-19、ENCA131、台农45号、绵阳90-55、绵阳91-5553等普通小麦、硬粒小麦、新疆小麦、V2代换系等。

*本研究由农业部重点项目农06-01-02及国家自然科学基金项目资助。

方法 (1).花粉处理: 春麦材料 J_{11} 等去雄, 于次日授以经用 0、7、8、9、10、15、17、20、30Gy(剂量率为 0.9Gy/min) ^{60}Co γ 射线照射后的父本花粉。(2).花粉在柱头上萌发数的统计方法: 将辐照过的花粉授于母本材料的柱头上 3 个小时后, 取其子房, 于 40% 醋酸洋红中染色并于显微镜下观察计数, 统计萌发率。(3).幼胚培养的方法: 将 12 天龄杂种幼胚用 1% 升汞消毒 5min, 接种于 B₅ 培养基上直接分化成苗或愈后分化成苗。

结果与分析

1. 辐照大赖草花粉适宜剂量的确定

图 1 所示是不同处理剂量的 γ 射线辐照大赖草花粉后, 两个不同小麦品种的幼胚获得率。结果表明: 经不同剂量的 γ 射线处理后, 两个品种虽然起始和最终的处理效果各异, 但都在 9Gy 处其幼胚获得率达到最高, 为 5.17%, 另外还有 10Gy、8Gy 等处理花粉也能获得较多的幼胚, 这与孙光祖等人在其它物种上的结果基本一致^[4]。

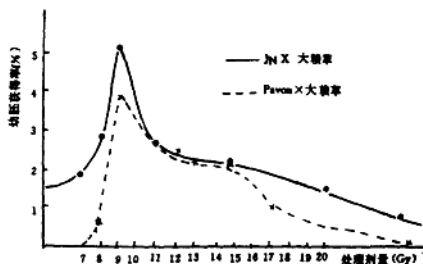


图 1 不同处理剂量的幼胚获得率

2. 辐照对大赖草花粉在母本柱头上萌发率的影响

辐照对大赖草花粉萌发率的影响如图 2 所示, 由图可知: 对照的花粉萌发率仅为 25.1%, 幼胚获得率为 15.1%, 经不同剂量的 γ 射线辐照后, 花粉在母本柱头上的萌发率都有不同程度地提高, 但以 9Gy 提高最多, 8Gy、10Gy 处理效果次之, 其结果与上述幼胚获得率的趋势相同, 经相关性检验, 两者之间呈高度的正相关, 相关系数达到 0.9565, 说明辐照可能是通过刺激花粉萌发等途径来促进小麦与大赖草的杂交。

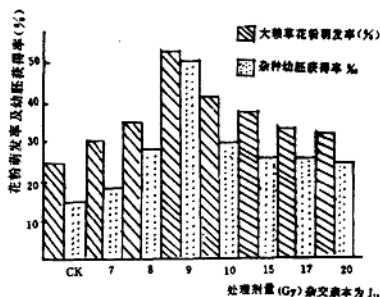


图2. 不同剂量辐照大赖草花粉后其在柱头上的萌发率及幼胚获得率

3. 不同处理对小麦 × 大赖草属间杂交结实率的影响

经不同因素处理后, 小麦 × 大赖草杂交的结实率如表 1 所示: 授粉一次的幼胚获得率仅为 0.4%, 而授粉二次的幼胚获得率为 1.2%, 提高了近两倍, 说明重复授粉可以提高杂种幼胚获得率, 采用适宜剂量的 γ 射线辐照大赖草花粉, 使杂种幼胚的获得率提高到了 2.4%, 又比重复授粉的处理提高了 1 倍, 充分显示了辐射在促成远缘杂交中的作用; 应用激光辐照大赖草花粉, 使杂种幼胚获得率提高到了 3.8%, 可见激光处理的效果要优于 γ 射线的处理。

表 1 不同处理对小麦 × 大赖草杂交的影响

处理	授粉小花粉	幼胚获得数	幼胚获得率(%)
不授粉(CK ₁)	260	0	0.00
授粉一次(CK ₂)	260	1	0.40
授粉二次	260	3	1.20
γ 射线处理	1430	34	2.38
激光处理	260	10	3.38

4. 不同母本基因型对杂种幼胚获得率的影响

在田间条件下, 不同小麦基因型与大赖草杂交的幼胚获得率的总计结果如表 2 所示: 小麦的不同母本基因型与大赖草杂交有不同的幼胚获得率, 各个基因型与大赖草杂交的幼胚获得率相差较大。如用 Ph₁Ph₂ 综合体作母本时, 连续两年都有较高的幼胚获得率, 平均可达 36.1%; 而用中 4、中 7902、绵阳 90-55、绵阳 91-5553、小黑麦/燕麦等作母本时,

结实率则为零。另外幼胚获得率较高的亲本还有中国春、 J_{11} 、Pavon、台农45号、分枝麦等, 幼胚获得率分别为2.38%、3.45%、3.24%、2.33%、3.5%。由于Ph1Ph2综合体缺少Ph基因使其易与大赖草杂交, 同时又含有Kr基因(可配对基因), 因此其幼胚获得率较高; 中国春、 J_{11} 都含有两对以上的Kr基因, 它们也具有较高的幼胚获得率。至于其它材料, 是否含有Kr基因或缺少Ph基因, 有待进一步研究。上述结果表明小麦母本基因型对杂种幼胚的获得率有较大的影响。因此在弄清母本基因型的基础上, 选择较合适的材料作母本与大赖草杂交, 是获得较多幼胚的关键因素之一。

表2 不同基因型小麦与大赖草杂交的幼胚获得率

小麦母本基因型	授粉小花数	幼胚获得数	幼胚获得率(%)
中国春*	3150	75	2.38
J_{11} *	4010	140	3.45
新疆小麦*	3604	28	0.80
V_2 代换系*	1904	35	1.84
京冬 86-6554	1250	7	0.56
Ph ₁ Ph ₂ 综合体	360	130	36.11
台农45号	600	14	2.33
Pavon	1050	34	3.24
分枝麦	400	14	3.50
硬粒小麦	2239	5	0.22
锦阳 869(W)	475	8	1.67
K/冬密穗 ³	208	0	0.00
CI17681	450	2	0.00
中4*	422	0	0.00
小黑麦/燕麦	530	0	0.00
锦阳 90-55	520	0	0.00
锦阳 91-5553	600	0	0.00
中 7902	360	0	0.00

*为3年的平均结果。

5. 低温处理对幼胚成苗率的影响

表3所示是中国春、新疆小麦、Pavon与大赖草杂交所得幼胚经低温处理后成苗率的结果, 由所示结果可知: 在正常条件下(28℃)培养, 幼胚的成苗率在10%以下, 而采用低温(0℃)处理2周后, 可使幼胚的成苗率提高到30%以上, 3个品种都有相同的趋势, 可见采用低温培养能适当地提高幼胚的成苗率。

表 3. 低温处理对幼胚成苗率的影响

杂交组合	常规培养(28℃)			低温培养 2 周(0℃)		
	幼胚数	成苗数	成苗率(%)	幼胚数	成苗数	成苗率(%)
中国春/大赖草	12	1	8.3	12	4	33.3
新疆小麦/大赖草	5	0	0	5	2	40.0
Pavon/大赖草	10	1	10	10	3	30.0

讨 论

克服远缘杂交的不亲和性, 提高杂种幼胚的获得率, 一直是小麦远缘杂交育种中探索研究的焦点之一。大赖草是大麦亚族中一个很有价值的野生植物, 由于与小麦染色体的不同源性, 目前还没有很好的利用, 小麦与大赖草属间杂交不亲和性主要在于染色体的互不同源性, 尽管小麦与大赖草杂交的工作始于 40 年代, 但目前仍没有理想的研究进展, 近年来 Davies^[6]等将父本花粉用适宜剂量的 γ 射线辐照, 其杂种后代的性状大体近似于母本性状, 从而显著缩短了后代的选育时间。我组也通过辐照大赖草花粉的途径, 在新疆小麦与大赖草杂交之后获得了类似母本的后代—89AR 不育系, 说明通过辐照花粉的途径促进小麦与大赖草杂交的工作是有效可行的。鉴于上述结果, 我们于 1987 年始, 对影响小麦与大赖草远缘杂交的几个因素进行了研究。(1)合适剂量的 γ 射线辐照能明显地提高杂种幼胚的获得率, 这在十多个品种上都有此现象, 但各个品种之间的反应有所差别, 辐照对无杂交结实材料其促进效果不明显, 对结实性较好的材料也较差一些, 但这两部分材料一般都较少见, 因此辐射促进远缘杂交的效果比较明显。(2)低剂量(15Gy 以下)是通过刺激花粉的萌发来促进小麦与大赖草的杂交, 从实验结果可看出, 花粉在小麦柱头上的萌发率和杂种幼胚获得率经辐照后都有明显的增加, 且两者之间呈高度的正相关, 这可能是由于低剂量的辐照提高了花粉的萌发率, 从而增加了杂种幼胚获得的机会。(3)经多年的研究及对多种剂量处理效果的比较, 9Gy 的 γ 射线辐照花粉的效果最好, 8Gy、10Gy 也比较合适, 这与其它人的类似工作也较接近^[4]。(4)经几年的研究发现, Ph1Ph2 综合体, J_{11} 、中国春、台农 45 号、Pavon 等都具有较高的杂种幼胚获得率, 这可能是由于 Ph1Ph2 综合体缺少 Ph 基因, 使染色体易于配对, 同时又含有 Kr 基因(可交配基因), 因而其杂种幼胚获得率较高, J_{11} 、中国春也具有 Kr 基因, 也具有较高的幼胚获得率, 说明母本基因型对远缘杂交有较大的影响。(5)由杂种幼胚培养成幼苗是小麦与大赖草杂交成功的关键, 前人的很多工作及我们的工作都证实了组培在这项工作中的作用^[3,7]。在组培中, 本实验采用 2 周时间的低温处理, 较明显地提高了成苗率, 这仅仅是初步结果, 还有待于进一步研究。因此, 在实现小麦与大赖草远缘杂交的工作中, 在弄清母本基因型的基础上, 选配较合适的母本材料, 采用适宜剂量辐照大赖草花粉, 增加授粉次数, 对幼胚辅助以低温处理并进行组培, 就能较好的实现大赖草基因向小麦中转移。

参考文献

- 1 陈义纯等. 辐射与远缘杂交相结合选育抗病小麦新品系. 原子能农业应用. 1985(增刊): 28-33
- 2 孙光祖等. 辐射选育小麦易位系的研究. 核农学报. 1990. 4(4): 1-6
- 3 陶舜华. 在远缘杂交中应用离体培养和辐射技术提高杂种后代的获得率. 核农学报. 1988. (6): 263-268
- 4 陈义纯等. 辐射小麦雌雄配子克服远缘杂交不亲和性的研究. 核农学报. 1992. 6(1): 1-7
- 5 胡小元等. 辐照花粉对小麦×大穗草属间杂交的影响. 核农学报. 1994. 15(2): 59-62
- 6 Davies. D. R. Pollen irradiation and the transfer of internal genes in *Pisum Sativum*. Theor. Appl. Genet. 1984. 67:245-248
- 7 张学勇. 普通小麦和毛颖稷草杂交. 杂种细胞无性系的建立及植株再生. 作物学报. 1992, 18(4):

STUDIES ON THE INCREASING OF HYBRIDIZATION BETWEEN WHEAT AND *ELYMUS GIGANTEUS* BY IRRADIATION

Hu Xiaoyuan Shi Jinguo Wang Linqing Fan Qingxia

(Institute for Application of Atomic Energy, CAAS Beijing 100094)

ABSTRACT

Two varieties of *T. aestivum* were pollinated with pollen grains of *Elymus giganteus* which were irradiated by γ -rays with dosage of 7、8、9、10、15、17、20、30Gy. The results showed that the percent of pollen germination and immature embryo obtained can be increased by lower doses irradiation. The optimum dose of pollen irradiation was 9Gy. Positive relationship was found between the percent of pollen germination on stigma and immature embryo acquired. ($r = 0.9565$). Repollinated, laser and γ -rays irradiation can increase the percent of immature embryo acquired, respectively. The effect of laser treatment on pollen was better than γ -rays treatment. The percent of plantlet regeneration from immature embryo can be increased by culture at 0℃ for two weeks. Eighteen varieties of *Triticum* with different genotype were used to cross with *Elymus giganteus*, J₁₁, Ph₁Ph₂ mutant, C. S. Pavon. Tainong No.45 Were suitable parents to cross with *Elymus giganteus*.

Key words: Wheat (*T. aestivum*) *Elymus giganteus* Pollen irradiation Hybridization

γ 射线对小麦 × 玉米产生小麦单倍体的影响

陈 纲 彭清才 李中存 王宝娟 李雅志

(山东农业大学作物遗传育种研究所 泰安 271018)

近几年我们初步完善了小麦 × 玉米产生小麦单倍体的技术程序,并将该方法应用到小麦育种项目中。将玉米花粉授到小麦去雄后小花柱头上, 31.0% ~ 42.9% 的小花能够受精。由于玉米染色体在最初的合子细胞分裂过程中偏向消失,而产生仅具一套小麦染色体的单倍体幼胚,经化学药物处理,离体穗培养、幼胚抢救等措施而获得单倍体幼苗。由于该单倍体起源于小麦 × 玉米的杂种合子。因此在玉米染色体消失之前,用电离辐射处理,从而诱发染色体易位,有可能通过有性杂交将玉米的部分遗传物质导入小麦的遗传背景中,也有可能产生有益单倍体突变,为此在小麦单倍体产生过程中的不同阶段,用不同剂量的 γ 射线分别处理离体杂交穗、盆栽植株和母本小麦种子,以探讨适宜的照射剂量。结果表明低剂量处理对单倍体苗的产生有一定的促进作用。高剂量处理则抑制了单倍体幼胚的发育,从而降低了单倍体苗的产生频率。当用 5Gy 的 γ 射线处理离体杂交穗和盆栽植株量,单倍体幼胚和幼苗的获得率显著高于对照,当剂量高于 20Gy 时,单倍体幼胚的获得率随剂量提高而降低。在 γ 射线处理小麦种子的试验中,由于辐射效应的影响, 10 ~ 100Gy 处理时,单倍体幼胚的获得率比对照略低。200Gy 以上剂量处理,幼胚获得率急剧降低。经辐射处理后的单倍体及加倍体植株产生了不同类型的形态学及细胞学变化。

关键词: γ 射线 小麦单倍体 小麦 × 玉米 胚抢救

小麦与玉米杂交后,由于玉米染色体偏向消失而产生小麦单倍体幼胚,经幼胚抢救后能有效的获得小麦单倍体苗,最近的研究表明,与小麦花药培养相比,该方法对小麦基因型的依赖性低,在所研究的小麦基因型中都能获得单倍体苗^[1];小麦与玉米杂交后产生的单倍体幼胚经胚抢救后直接成苗,不经愈伤组织阶段,不易产生染色体自然加倍,也不会从二倍组织中再生幼苗,在所见的报道中幼苗均为单倍体,且无白化现象。与球茎大麦法产生小麦单倍体的途径相比,小麦 × 玉米的杂交成功率不受 Kr 基因的影响,因此能在更广泛的小麦基因型中获得单倍体,而且玉米花粉量大,便于操作,是一种有效的小麦单倍体产生的途径^[1,2,3]。

由于小麦单倍体幼胚起源于小麦 × 玉米的合子,在受精合子中来自小麦的 21 条染色体和来自玉米的 10 条染色体共存,只是在合子发育成幼胚的过程中玉米染色体逐渐消失。因此在玉米染色体消失之前用电离辐射将两种染色体打断有可能产生染色体易位,将玉米的部分遗传物质转移到小麦的遗传背景中^[4]。据燕麦 × 小麦的结果观察(H.W.Rine, 个人通讯)玉米的染色体可以通过减数分裂形成附加的个体(系),小麦单倍体幼胚起源于单细胞合子,在合子期辐射处理单倍体细胞有可能提高诱变频率,获得纯质突变体,据报道远缘杂

交前后,用较低剂量的 γ 射线处理母本或父本可提高杂交的成功率和结实性。

本研究的目的是探讨不同时期不同剂量 γ 射线处理对小麦 $\times$ 玉米产生小麦单倍体幼胚及幼苗的影响,研究在诱变剂量范围内提高小麦单倍体幼胚、幼苗产量的途径。最终目的是探讨产生小麦玉米染色体易位的可能性,或选择优良加倍单倍体突变系。

材料和方法

小麦稳定品系 903375 为母本,玉米杂交种掖单 2 号为花粉供体,玉米种植在温室内,错期播种使其与小麦花期相遇,去雄、杂交、保湿按以前描述的方法^[1,2]。

γ 射线处理离体杂交穗去雄后 1 天,用以前描述的方法液体培养,并授以玉米花粉[2],24 小时后以 γ 射线 5、10、20、40、80、100Gy 照射处理,剂量率 0.5Gy/min,液体培养 12~14 天后,剥离颖果,幼胚抢救。 γ 射线处理盆栽植株,授粉前 24 小时和授粉后 24 小时分别处理盆栽植株,分别用上述相同的剂量照射,处理过程中以铅块护根,授粉后 72 小时用 100mg/L 2,4-D 注射处理穗下节间。

γ 射线处理种子,在小麦种子播种前用 10、20、40、100、200、300Gy, γ 射线分别处理小麦种子,辐射当代植株抽穗后,进行小麦 $\times$ 玉米杂交,具体步骤同以前描述的方法^[1,2]。收获后的幼胚在离体条件下抢救出苗,所用培养基为 1/2MS,附加 2mg/LKT、30g/L 蔗糖、6.5g/L 琼脂,萌发的幼苗经越冬后,染色体加倍,移栽到盆中生长。具体照射时期及单倍体产生程序如下图:

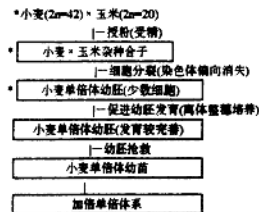


图 1 小麦 $\times$ 玉米产生小麦单倍体程序及 γ 射线处理时期

* 代表 γ 射线处理时期

结果与分析

1. 小麦 $\times$ 玉米的受精频率

由于小麦单倍体起源于小麦 $\times$ 玉米的合子,因此研究小麦 $\times$ 玉米的受精频率对于了解

小麦单倍体幼胚产量的潜力, 比较不同剂量 γ 射线和不同方法处理对小麦单倍体频率的影响具有一定的意义。

本试验选用 3 个小麦品种和 1 个稳定品系测定小麦 $\times$ 玉米受精频率。在解剖的 198 个小麦授粉后子房中, 32.3% 的子房仅含有幼胚, 4.0% 的子房同时含有胚和胚乳, 而 1.0% 的子房仅含有胚乳而无幼胚, 总的受精频率为 37.4%。不同小麦基因型与玉米杂交的受精频率差异不显著, 变化范围在 31.0% - 42.9%。

表 1 小麦 $\times$ 玉米受精频率测定

小麦材料	解剖子房数	胚	胚+胚乳	胚乳	受精(%)
鲁麦 14 号	48	14	2	1	35.4
鲁麦 1 号	52	17	3	0	38.5
903375	42	10	2	1	31.0
济南 13	56	23	1	0	42.9
合计	198	64(32.3%)	8(4.0%)	2(1.0%)	37.4

2. γ 射线处理离体杂交穗

表 2 γ 射线处理离体杂交穗获得的单倍体幼胚及幼苗

处理剂量(Gy)	授粉小花数	获胚数	获胚率(%)	出苗数	单倍体苗的获得率(%)
0(CK)	67	9	13.4	7	10.5
5	76	13	17.1	10	13.2
10	80	11	13.8	5	6.3
20	72	7	9.7	2	2.8
40	77	4	5.2	0	0
80	69	0	0	0	0
100	51	0	0	0	0

试验结果表明, 5Gy 处理的幼胚获得率显著高于对照; 10Gy 处理与对照持平, 随着剂量提高 20Gy 和 40Gy 显著降低了幼胚获得率; 80Gy 和 100Gy 处理没有获得幼胚, 但颖果也能明显膨大, 颖果内充满透明无色液体, 只是幼胚已退化。经胚抢救后, 5Gy 处理的单倍体幼苗获得率显著高于对照; 而 10Gy、20Gy 处理中, 由于幼胚体积小, 分化不完全、萌发率显著降低, 从而导致单倍体苗的获得率明显低于对照; 而 40Gy 处理获得 4 枚幼胚, 都没能抢救成功。由试验结果看出低剂量处理离体杂交穗, 对单倍体幼胚的产生具有一定的刺激作用, 可提高单倍体幼胚的获得率和单倍体苗的获得率; 而大于 10Gy 的高剂量不仅降低幼胚产量, 并导致幼胚发育不良萌发困难。

3. γ 射线处理盆栽植株

授粉前用 γ 射线处理盆栽植株, 其幼胚的获得率和单倍体苗的获得率明显低于对照,

这类处理的颖果能在植株上维持的时间较短,授粉后 14 天颖果已明显干瘪。授粉后照射处理, 5Gy 和 10Gy 处理的幼胚获得率和单倍体苗的获得率都高于对照, 似有一定的刺激作用; 20Gy 以上剂量的处理, 单倍体幼胚和幼苗的获得率随着剂量的提高而降低。

表 3 γ 射线处理盆栽植株获得的单倍体幼胚及幼苗

照射时间	照射剂量(Gy)	授粉小花数	获胚数	获胚率(%)	出苗数	单倍体苗的获得率(%)
授粉前	0(CK)	127	19	15.0	16	13.0
	5	169	7	4.1	5	3.0
	10	401	11	2.7	9	2.2
	20	116	0	0	0	0
	40	233	0	0	0	0
	80	329	0	0	0	0
授粉后	5	164	29	17.7	27	16.5
	10	125	21	16.8	19	15.2
	20	178	23	13.0	7	3.93
	40	210	7	3.3	2	1.0
	80	253	9	3.6	0	0
	100	166	0	0	0	0

4. γ 射线处理小麦种子

用 γ 射线处理小麦种子, 随着剂量提高当代辐射效应加重, 10 ~ 100Gy 的处理对幼胚和幼苗的获得率影响不大仅略有降低, 与对照比差异不显著。而 200Gy 和 300Gy 的处理, 使幼胚和幼苗的获得率急剧下降, 主要是由于辐射当代植株抽穗困难, 小花发育不良。

表 4 γ 射线处理小麦种子获得的单倍体幼胚及幼苗

处理剂量(Gy)	授粉小花数	获胚数	获胚率(%)	出苗数	单倍体苗的获得率(%)
0(CK)	78	17	21.8	14	18.0
10	111	22	19.8	18	16.2
20	103	22	21.4	15	14.6
40	92	16	17.4	14	15.5
100	72	15	21.0	13	18.1
200	88	6	6.8	2	2.3
300	64	0	0	0	0

也可能当代植株的遗传物质受到严重损伤, 形成的性细胞异常造成受精困难, 使幼胚和幼苗的获得率明显降低。

5. 单倍体及 DH1 代的表现