

文章编号: 1005-0906(2007)04-0049-03

6 叶期秋水仙素注射处理玉米单倍体的加倍效果研究

魏俊杰¹, 张晓丽¹, 陈梅香¹, 刘志增², 祝丽英²

(1.保定师范专科学校, 河北 保定 071001; 2.河北农业大学农学院, 河北 保定 071001)

摘要: 以孤雌生殖诱导系高诱 1 号诱导的单倍体植株为材料, 在 6 叶期用不同浓度的秋水仙素配以二甲基亚砜(DMSO)注射处理茎尖生长点, 对单倍体植株进行人工加倍, 并对不同处理效果进行方差分析和多重比较。结果表明: 从不同基因型的材料中诱导出的单倍体的加倍都是有利的, 且不同基因型材料间有显著差异; 0.5% 浓度的秋水仙素的处理效果最好, 加倍率与对照有了明显的提高。

关键词: 玉米; 单倍体; 秋水仙素

中图分类号: S513.035.2

文献标识码: A

Analysis of the Results of Injection Treatment with Colchicines in Six Leaf Stage to Maize Haploid

WEI Jun-jie¹, ZHANG Xiao-li¹, CHEN Mei-xiang¹, LIU Zhi-zeng², ZHU Li-ying²

(1. Baoding Teachers College, Baoding;

2. Department of Agronomy, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: Using induced haploids as materials, their shoots were treated separately with different colchicines concentration and DMSO in six-leaf stage to double them. At the same time analysis of variance and multiple comparisons were made to the results. The findings showed that injection treatment was good for haploids induced from different sources in six-leaf stage, and the difference was obvious. The best result was the treatment which was made with 0.5% colchicines which was higher than the CK and was better than 0.1% concentration.

Keys words: Maize; Haploid; Colchicines

Chase(1952)、张铭堂(1996)报道, 单倍体的自然加倍率达 10% 左右^[1,2]。Zabirova 等(1993)和 Shatskaya (1994)的研究显示, 许多材料的单倍体自然加倍率低于 5%, 有些材料不发生自然加倍^[3,4]。对于散粉株率高的单倍体基因型, 依靠育性的自然恢复就可实现自交结实, 而对自然加倍率低的单倍体基因型, 必须经过人工加倍, 才能提高其加倍率, 从而使之应用于育种实践。玉米单倍体植株自然加倍率低, 要获得较多的纯合二倍体植株, 就需要对其进行人工化学加倍。秋水仙素是一种应用最广泛的化学加倍试剂。本实验在 6 叶期使用不同浓度的秋水仙素和一定浓度的二甲基亚砜(DMSO)对从自交系 Syn695、高油杂

交种、411/Syn695、411/230 和 411/340 中诱导出的单倍体进行了人工化学加倍, 为玉米单倍体的人工加倍提供有效方法。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本实验所采用的单倍体是利用孤雌生殖诱导系高诱 1 号为父本, 以 411/Syn695、Syn695、411/230、411/340 以及高油杂交种为母本材料进行杂交, 从杂交种中挑选单倍体子粒, 种植于田间, 得到单倍体植株。

1.2 方法

在 6 叶期, 分别用浓度为 0.1%、0.5%、1.0% 的秋水仙素 + 2.0% 的二甲基亚砜(DMSO)混合液 2.0 μ L 注射处理单倍体幼苗茎尖生长点, 以同期播种的单倍体为对照, 花期凡能散粉的植株记为加倍成功的

收稿日期: 2007-02-20; 修回日期: 2007-04-13

作者简介: 魏俊杰(1974-), 女, 硕士, 从事玉米遗传与育种研究。

植株,统计加倍率。

2 结果与分析

2.1 6 叶期从 411/Syn695 中诱导出的单倍体的处理效果

由表 1 可看出 6 叶期的单倍体幼苗经秋水仙素注射处理后,不仅加倍频率有了大幅度的提高,并且

受药害株数较少,受药害株率低。这个时期用注射处理法对玉米单倍体的加倍非常有效,且 0.5%的秋水仙素浓度处理效果最好,0.1%浓度次之,1.0%浓度的处理效果虽然最差,但单倍体的加倍率比对照也有一定程度的提高。处理的单倍体幼苗生长正常,出现畸形苗或致死苗等药害现象少。

表 1 6 叶期秋水仙素注射处理的效果

Table 1 Results of injection treatment with colchicines in six leaf stage

秋水仙素浓度(%) Colchicines concentration	处理单倍体苗数(株) Treated haploid seedlings	受药害株数(株) Drug injured plants	受药害株率(%) Rate of drug injured plants	散粉株数(株) Pollen shedding plants	散粉株率(%) Rate of pollen shedding plants
0.1	68	1	1.5	19	27.9
0.5	62	2	3.2	20	32.3
1.0	48	5	10.4	4	8.3
CK	60	0	0	4	6.7

注:表中单倍体从 411/Syn695 中诱导。
Note: The haploid in the table were induced from 411/Syn695.

2.2 6 叶期从不同基因型材料中诱导出的单倍体的处理效果

由表 2 可看出,在 6 叶期注射 0.5%浓度的秋水仙素对从不同基因型材料中诱导出的单倍体的加倍均起到了一定的效果。从自交系 Syn695 中诱导出的单倍体经注射处理后加倍率升高了 3 倍;从杂交种

411/230 中诱导出的单倍体的加倍率升高了 2.36 倍;从杂交种 411/340 中诱导出的单倍体的加倍率由对照的 12.5%升高为 27.78%;从高油杂交种中诱导出的单倍体的加倍率由 6.25%升高为 19.74%。0.1%浓度的秋水仙素的处理效果不如 0.5%的明显,但也均高于各自的对照。

表 2 6 叶期秋水仙素对从不同基因型材料中诱导出的单倍体注射处理的效果

Table 2 Results of injection treatment with colchicines to haploids induced from different genotype sources in six leaf stage

单倍体的来源 Source materials of haploid	秋水仙素浓度(%) Colchicines concentration	处理单倍体苗数(株) Treated haploid seedling	散粉株数(株) Pollen shedding plants	散粉株率(%) Rate of pollen Shedding plants
Syn695	CK	60	3	5.00
	0.1	14	1	7.14
	0.5	40	8	20.00
411/230	CK	24	2	8.33
	0.1	26	5	19.23
	0.5	25	7	28.00
411/340	CK	32	4	12.50
	0.1	48	8	16.67
	0.5	54	15	27.78
高油杂交种	CK	48	3	6.25
	0.1	42	4	9.52
	0.5	76	15	19.74

对以上 4 个品种和 411/Syn695 中诱导出的单倍体在 6 叶期秋水仙素的不同处理效果进行方差分析结果(表 3)。由表 3 可以看出,基因型间的 F 测验值 4.52 大于 $F_{0.05}$,说明基因型间的加倍率在 5%水平

上存在显著差异,即从不同基因型材料中诱导出的单倍体的加倍率存在显著差异,不同秋水仙素处理间的 F 测验值 24.17 大于 $4.48(F_{0.05})$,说明不同的秋水仙素浓度对单倍体的加倍效果有显著差异。

表 3 单倍体加倍率的方差分析

Table 3 Variance analysis of haploid doubling percentage					
变异来源	平方和	自由度	均 方	F 值	F _{0.05}
Source of variance	SS	DF	MS	F value	
基因型间	296.99	4	74.24	4.52	3.84
处理间	793.65	2	396.83	24.17	4.48
误差	131.32	8	16.42		
总变异	1 221.98	14			

LSD 法测验结果(表 4),0.5%的秋水仙素处理的效应最强,与对照有极显著差异;0.1%的秋水仙素次之,有显著差异。

表 4 秋水仙素处理与对照的差异显著性分析

Table 4 Analysis of the different significance between colchicines treatment and check		
秋水仙素浓度(%)	平均数	与对照的差数
Colchicines concentration	Average	Difference between olchicines treatment and CK
对照	7.75	
0.1	16.10	8.35*
0.5	25.56	17.81**

注:LSD0.05=5.90,LSD0.01=8.59。

以上结果表明,在 6 叶期对单倍体进行茎尖注射处理,从不同基因型的材料中诱导出的单倍体的加倍都是有效的,且不同基因型材料间有显著差异。0.5%浓度的秋水仙素的处理效果最好,加倍率与对照相比有明显的提高,0.1%浓度的处理对单倍体的加倍也有一定的效果,但不如 0.5%浓度的处理效果明显。

3 讨 论

(1)玉米单倍体植株的加倍方法。秋水仙素是一种应用最广泛的化学加倍试剂,当它与正在进行分裂的细胞接触时,通过阻止细胞有丝分裂中期纺锤丝微管的收缩而使复制了的染色体不能移向细胞的

两极而实现染色体的加倍^[5,6]。白守信等认为,二甲基亚砷(DMSO)是一种助渗剂,秋水仙素与之配合是取得加倍成功的关键^[7]。用秋水仙素和 DMSO 的混合液处理小麦、荞麦、大麦和黑麦单倍体,发现都比单独使用秋水仙素处理的加倍成功率高得多^[8]。本研究在 6 叶期用秋水仙素 +DMSO 注射处理了单倍体幼苗茎尖生长点部位。结果表明,在此时期用 0.5%浓度的秋水仙素进行注射处理对玉米单倍体的加倍是一种行之有效的方法,但是玉米单倍体染色体加倍实验中的 DMSO 浓度有待进一步探索。

(2)加倍处理的时期。徐玉冰(1991)在对甜菜进行染色体加倍处理的实验中,认为加倍的好坏和细胞的生理状态有关,处于活跃分裂期的细胞越多,加倍效果则越显著,所以要特别注意处理的时期^[9]。由于玉米本身的特点如不具有分蘖以及单倍体数量上的限制,应进一步探索更多的处理时期。

参考文献:

[1] Chase S S, Monoploids and monoplod-derivatives of maize[J]. Bot. Rev., 1969, 35: 117-167.

[2] 张铭堂. 40 年玉蜀黍研究的进展[J]. 科学农业, 1996, 44(1-2): 53-80 .

[3] Zabirowa E R, Shatskaya O A, Shcherbak V S. Line 613/2 as a source of a high frequency of spontaneous diploidization in corn[J]. Maize Genet. Coop. News Lett., 1993, 67: 67.

[4] Shatskaya O A, Zabirowa E R, Shcherbak V S, Chamak M V. Mass induction of maternal haploids in corn[J]. Maize Genet. Coop. News Lett., 1994, 68: 51.

[5] 田增荣(译). 秋水仙素对小麦小孢子胚胎发生产生双单倍体植株的直接影响[J]. 国外农学-麦类作物, 1992(3): 1-3 .

[6] 陈锦华,周 力,高和平. 秋水仙素诱导辣椒染色体结构变异初探[J]. 湖北农业科学, 1995(6): 53-56 .

[7] 白守信,刘翠云,张振刚,等. 单倍体小麦染色体加倍的研究[J]. 遗传学报, 1979(2): 230-232 .

[8] 陈玉蓉,王 培. 冬小麦花粉植株的适宜越冬苗龄和染色体加倍的研究[J]. 河北农业大学学报, 1992, 15(1): 4-7 .

[9] 徐玉冰,牛维和,刘继红,等. 甜菜单倍体植株染色体人工加倍技术的探讨[J]. 中国甜菜, 1991(3): 7-11 .

(责任编辑:朱玉芹)