

抗生素诱变小麦雄性不育研究*

I. 链霉素诱变小麦雄性不育的诱变效应

刘志勇 孙其信 黄铁诚

王力江

(中国农业大学植物遗传育种系, 北京 100094)

(河北省昌黎县种子站)

摘要: 利用链霉素连续4年较系统地研究了诱变冬、春小麦不同基因型雄性不育的可行性和诱变效果。试验结果表明链霉素处理小麦种子可降低田间出苗率,并诱导出程度不同的白化苗。不同小麦基因型对链霉素的敏感性不同。对链霉素的抗性和雄性不育株诱变率在不同品种间都存在较大的差异。恢复类型的品种对链霉素反应较迟钝,保持类型的品种间也存在一定的差异。500 mg·L⁻¹和1 000 mg·L⁻¹的链霉素浓度处理后雄性不育株诱变率无明显差异。链霉素可在冬、春小麦不同基因型中诱导出雄性不育突变,不同年份和不同的基因型上有较好的重现性,诱变当代雄性不育诱变率可从 0.13×10^{-3} 到 13.07×10^{-3} 。诱变二代雄性不育诱变率在 2.04×10^{-3} 左右。重复诱变可提高诱变效果。

关键词: 小麦; 雄性不育; 链霉素; 诱变

中图分类号: Q319.33; S335.3

小麦雄性不育是小麦的一个重要遗传现象,小麦雄性不育材料是进行遗传学研究、杂种优势利用和开展轮回选择及进行种质改良的重要工具。普通小麦在生长发育过程中可自发产生雄性不育突变^[1~3],通过种间或品种间杂交及人工诱变^[3]也可创造新的雄性不育类型。国内外采用理化诱变的方法在小麦中现已获得多种雄性不育类型^[3~5]。链霉素等抗生素作为诱变剂诱导农作物产生雄性不育突变在珍珠粟^[6]、向日葵^[7]、玉米^[8]和水稻^[9]等作物中均有报道。利用链霉素等抗生素诱变小麦雄性不育国内外还未见报道。本研究尝试用链霉素诱变处理小麦不同基因型,探讨其诱发小麦雄性不育的可行性及诱变效果。

1 材料和方法

本研究于1993年~1995年在原北京农业大学科学园进行,1996年在原北京农业大学昌平试验站进行。

1.1 供试小麦基因型 小麦K型及T型细胞质雄性不育系的恢复系R1(原67/有芒红9号)和保持系BAU3338,BAU92,BAU95及春小麦品系CA8131共5种基因型。

1.2 药剂及浓度 链霉素为Serva公司出品,775 U·mg⁻¹,购自华美公司。采用500和1 000 mg·L⁻¹的浓度,以水处理为对照。

1.3 处理方法 根据种子发芽率确定每个基因型处理种子量,保证出基本苗1万株左右。在4℃黑暗条件下用链霉素水溶液浸种48 h,之后用自来水充分冲洗,凉干后播于大田,条播,行距20 cm,行长20 m。

收稿日期: 1996-10-03

* 国家自然科学基金和攀登计划资助项目

1.4 重复诱变 诱变处理 M1 代种子混合收获,继续用上年相同浓度处理。

1.5 诱变后代处理 诱变当代(M1)植株于开花期进行穗部形态及花药形态鉴定,选择雄性不育株(穗)套袋自交,鉴定自交结实率,并用未处理的相同基因型的正常可育株回交。鉴定自交结实率小于 5% 为完全雄性不育,5%~50% 为部分雄性不育。

1.6 花粉母细胞减数分裂检查 取雄性不育株分蘖幼穗,卡诺固定液固定 24 h 以上,之后转入 70% 乙醇中保存。醋酸洋红压片。

1.7 统计方法:

$$\text{自交(回交)结实率 I} = \frac{\text{基部小花结实粒数}}{\text{基部小花数}} \times 100\%$$

$$\text{自交(回交)结实率 II} = \frac{\text{单穗结实粒数}}{\text{基部小花数}} \times 100\%$$

$$\text{白化苗率} = \frac{\text{白化苗数}}{\text{实际出苗数}} \times 100\%$$

$$\text{成株率} = \frac{\text{发育至成熟植株数}}{\text{实际出苗数}} \times 100\%$$

$$\text{雄性不育株诱变率} = \frac{\text{雄性不育植株数}}{\text{诱变后代植株数}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 链霉素对小麦品种出苗率的影响 链霉素水溶液处理小麦风干种子表现为对出苗的抑制和诱导产生白化苗(表 1)。部分白化苗可逐渐转绿成为正常植株,另一部分白化苗则死亡。1 000 mg·L⁻¹ 的浓度对出苗的抑制和白化苗率明显高于 500 mg·L⁻¹。不同基因型间对链霉素的耐受能力存在差异。R1 抗性较强,出苗率明显高于其它品种,而其它品种间差异较小。

表 1 链霉素诱变对不同小麦品种出苗率的影响

Table 1 Effect of streptomycin treatment on germination rate of wheat

基因型 Genotypes	浓度/mg·L ⁻¹ Concentration	出苗率/% Germination rate		白化苗率/% Albino seedling rate		成株率/% Percentage of plant developed to maturity	
		1994	1995	1994	1995	1994	1995
R1	0	94.80	91.00	0.00	0.00	88.28	90.99
	500	84.00	82.80	8.57	50.72	91.58	94.93
	1 000	62.40	68.70	30.77	55.02	83.48	91.99
BAU3338	0	90.33	93.60	0.00	0.00	83.56	87.18
	500	63.56	67.20	17.65	60.71	87.41	75.81
	1 000	54.67	56.00	21.95	83.57	91.06	54.64
BAU92	0	92.80		0.00		28.02*	
	500	72.80		6.59		68.68	
	1 000	62.80		17.20		46.50	
BAU95	0	95.00	87.71	0.00	0.00	85.26	92.35
	500	63.60	72.30	28.30	65.15	69.18	67.22
	1 000	57.60	60.40	45.83	75.50	56.94	59.60
BAU95-500*	0		83.10		0.00		73.65
	500		76.00		55.79		48.95
BAU95-1000*	0		83.70		0.00		71.45
	1 000		62.00		69.68		34.84

* 表示重复诱变 Indicating repeated treatment; ** 严重冻害 Serious freezing

2.2 链霉素诱变小麦雄性不育的诱变效果

2.2.1 不同基因型诱变效果 用链霉素处理小麦种子,不同品种均在 M1 代诱变出了一定比例的完全雄性不育株和部分雄性不育株。M1 代完全雄性不育株诱变率在 $0.13 \times 10^{-3} \sim 7.41 \times 10^{-3}$ 之间,部分雄性不育株诱变率略高,变化幅度在 $0.40 \times 10^{-3} \sim 22.22 \times 10^{-3}$ 。不同小麦基因型对链霉素敏感性不同,M1 代雄性不育株诱变频率有明显差异(表 2)。诱变当代完全雄性不育株诱变率 R1 为 0.52×10^{-3} ,BAU92 为 4.23×10^{-3} ,BAU95 为 3.48×10^{-3} ,BAU3338 较低,为 0.97×10^{-3} ,春小麦品系 CA8131 为 0.23×10^{-3} 。表明不同小麦基因型对链霉素的反应不同,BAU92、BAU95 较为敏感,BAU3338、R1 和 CA8131 敏感性均较差。

表 2 链霉素诱变小麦雄性不育诱变效果

Table 2 Effectiveness of streptomycin in inducing male sterility in wheat

		BAU92						BAU3338					
浓度/mg·L ⁻¹	年份	群体 Popu- lation	MS*		PS*		群体 Popu- lation	MS		PS			
			株数 No. of plant	诱变率** Mutation rate	株数 No. of plant	诱变率** Mutation rate		株数 No. of plant	诱变率 Mutation rate				
0	1993	12700	0		0		19300	0		0			
	1994	52	0		0		671	0		0			
	1995	1300	0		0		3660	0		0			
	1996						8160	0		0			
100	1993					16100	0		0				
500	1993	7800	34	4.36	17	2.18	12400	10	0.81	12	0.97		
	1994	135	1	7.41	3	22.22	735	2	2.72	6	8.16		
	1995	7500	9	1.20	16	2.13	7500	1	0.13	3	0.40		
	1996						5100	3	0.59	2	0.39		
平均值 Mean				4.32		8.84			1.06		2.48		
1 000	1993						8400	4	0.48	16	1.90		
	1994	247	1	4.05	2	8.10	2034	3	1.47	9	4.42		
	1995	4380	18	4.11	17	3.88	6720	2	0.30	6	0.89		
	1996						3060	4	1.31	4	1.31		
平均值 Mean				4.08		5.99			0.89		2.13		
总平均 Mean				4.23		7.70			0.97		2.30		

		BAU95						R1			CA8131		
浓度/mg·L ⁻¹	年份	群体 Popu- lation	MS		PS		群体 Popu- lation	MS		群体 Popu- lation	MS		
			株数 No. of plant	诱变率 Mutation rate	株数 No. of plant	诱变率 Mutation rate		株数 No. of plant	诱变率 Mutation rate		株数 No. of plant	诱变率 Mutation rate	
0	1995	4860	0		0		1521	0					
	1996	8100	0		0		8280	0		5760	0		
500	1995	6600	25	3.79	16	2.42	1392	0					
	1996	4860	19	3.19	2	0.41	7860	2	0.25	7392	1	0.14	
平均值 Mean				3.85		1.42							
1 000	1995	4920	25	5.08	20	4.07	1011	0					
	1996	3600	4	1.11	2	0.56	6320	5	0.79	6284	2	0.32	
平均值 Mean				3.10		2.32							
总平均 Mean				3.84		1.87			0.52			0.23	

* MS 完全雄性不育 MS for complete male sterility; PS 部分雄性不育 PS for partial male sterility;

* *: 诱变率单位为 10^{-3} The unit of mutation rate is 10^{-3} .

2.2.2 不同年份处理的重现性 链霉素诱变在不同年份和相同基因型上有较好的重现性。几年间 M1 代雄性不育株诱变率 BAU3338 在 $0.13 \times 10^{-3} \sim 2.72 \times 10^{-3}$ 间, 平均 0.97×10^{-3} ; BAU95 在 $1.11 \times 10^{-3} \sim 5.08 \times 10^{-3}$ 间, 平均 3.48×10^{-3} ; BAU92 在 $1.20 \times 10^{-3} \sim 7.41 \times 10^{-3}$ 之间, 平均为 4.23×10^{-3} 左右。

2.2.3 不同浓度的诱变效果差异 对照处理在不同年份和不同基因型中均未在 M1 代发现雄性不育株。500 mg·L⁻¹ 和 1 000 mg·L⁻¹ 两种链霉素浓度处理雄性不育株诱变率未见明显差异。500 mg·L⁻¹ 和 1 000 mg·L⁻¹ 两种链霉素浓度处理种子完全雄性不育株诱变率在 BAU3338 中分别为 1.06×10^{-3} 和 0.89×10^{-3} ; 在 BAU92 中分别为 4.32×10^{-3} 和 4.08×10^{-3} ; 在 BAU95 中分别为 3.85×10^{-3} 和 3.10×10^{-3} ; CA8131 中分别为 0.14×10^{-3} 和 0.32×10^{-3} 。但用 1000 mg·L⁻¹ 处理, 出苗率下降, 幼苗白化率增加, 死亡率升高。因此, 通常以 500 mg·L⁻¹ 的处理浓度较为适宜。

2.2.4 诱变二代和重复诱变的效果 1995 年种植链霉素诱变 BAU3338 M2 代, 在约 5 000 株的群体中未发现雄性不育株。这可能与 BAU3338 对链霉素不敏感有关。1996 年在 BAU95 M2 代群体中, 发现有许多雄性不育株, 雄性不育株诱变率在 2.04×10^{-3} 左右(表 3), 用上年相同浓度链霉素重复诱变 M1 代种子, 雄性不育株诱变率可提高到 $3.76 \times 10^{-3} \sim 6.02 \times 10^{-3}$ 。因此, 重复诱变可使诱变率明显提高。同时在 M2 代群体中发现有许多类型的其它性状变异。

表 3 链霉素重复诱变效果(1996 年)

Table 3 Effectiveness of repeated treatment by streptomycin(1996)

浓度(mg·L ⁻¹) Concentration	BAU95-500			BAU95-1000		
	群体 Population	雄性不育 Male-sterile		群体 Population	雄性不育 Male-sterile	
		株数 Plants	诱变率($\times 10^{-3}$) Mutation rate		株数 Plants	诱变率($\times 10^{-3}$) Mutation rate
0	9180	20	2.18	8940	17	1.90
500	3720	14	3.76			
1 000				2160	13	6.02

2.3 抗生素诱变 M1 代雄性不育株的农艺性状和育性特征 诱变当代雄性不育株除育性差异外, 大部分农艺性状未见明显不同, 只在植株高度上有所降低(表 4)。诱变当代雄性不育株中完全雄性不育株在开花期护颖开张, 雄蕊干瘪不开裂, 花粉败育彻底, 没有内含物, 碘和碘化钾不染色。雌蕊外观正常。但在完全雄性不育株中有一定比率的植株雌性不育, 自交和多次授粉回交均不结实, 这类植株一般株高明显低于正常可育植株, 生长势较弱, 叶片较细, 叶色较浅, 可能与诱变造成的生理损伤或遗传物质的变异有关。自交和多次重复授粉回交均未结实。通过对一些雌雄不育株花粉母细胞减数分裂观察, 结果表明其为单倍体。完全雄性不育株中的雌雄不育株率在不同的品种间差异较大。BAU 95 和 BAU3338 中较高, 约为 40%~50%, 完全雄性不育株回交结实率较低, 在 2.75%~5.59% 间; BAU92 雄性不育株中雌雄不育株较少, 约占 5.55%~11.11%, 完全雄性不育株回交结实率较高, 可达

25.82%~74.78%。这表明链霉素诱变在诱导小麦雄性不育的同时也诱发了雌性器官的不育性。完全雄性不育株较低的回交结实率也进一步说明了雌性器官受到了伤害。

表 4 链霉素诱变 M1 代雄性不育株农艺性状及育性表现(1995 年)

Table 4 Agronomic characters and fertility of streptomycin-induced male sterile plant in M1 generation

基因型 Geno- types	浓度 /mg·L ⁻¹ Concen- tration	不育 类型* Type of sterile	株数 No. of plant	株高 /cm Plant high	穗长 /cm Spike length	小穗数 No. of spiklet	基部不 育小穗 Abortive spiklet	基部小花 结实粒数 Kernels in base flowers	穗粒数 Kernels per spike	自交结实率/% Seedset of selfing	回交结实率/% Seedset of backcrossing			
BAU3338	500	FS	1	40.00	6.30	19.00	3.00							
		PS	3	52.00	0.00	18.75	2.50	4.00	8.50	11.76	29.41	64.71	82.35	
	1000	FS	1	41.50	6.50	16.15	3.00							
		MS	1	35.00	7.50	18.00	2.10					2.94	2.94	
	CK	PS	6	47.40	8.50	17.64	3.00	8.25	11.00	30.41	39.98	76.93	88.21	
		N	10	50.50	7.95	18.60	2.50	24.70	30.20	76.95	93.69			
	BAU95	500	FS	11	49.41	5.69	18.37	3.16						
			MS	14	51.71	6.01	17.76	2.65	0.13		0.42		4.66	5.59
PS			16	51.90	6.76	18.41	3.51	9.33	10.52	30.31	33.08	46.39	50.29	
1000		FS	10	47.00	5.83	18.11	2.33							
		MS	15	47.70	6.15	17.90	2.40	0.24		0.76		2.78	4.39	
		PS	20	56.20	6.60	16.95	3.10	10.26	12.08	32.90	35.45	52.86	58.57	
CK	N	10	67.50	6.40	20.10	3.50	21.20	24.30	63.94	74.91				
BAU92	500	FS	1	46.00	6.50	16.00	2.00							
		MS	8	45.74	8.58	15.63	2.88	0.46		1.80		55.10	74.78	
		PS	16	47.00	8.07	18.00	2.79	14.69	17.85	41.14	51.59	58.54	62.88	
	1000	FS	1	45.00	7.00	11.00	2.00							
		MS	17	48.31	8.09	17.56	2.75	0.73		2.44		25.82	31.12	
		PS	17	50.75	7.57	16.29	2.59	12.43	13.71	37.84	39.82	63.60	68.48	
CK	N	10	55.60	8.10	17.50	2.30	27.40	35.50	90.79	119.83				
CA8131	500	FS	1	73.00	8.00	18.00	1.00							
		PS	14	74.74	8.31	17.18	1.92	16.00	20.94	50.38	66.00			
	1000	MS	2	74.50	9.50	18.00	1.00	0.50	1.00	1.47	2.94	48.53	60.29	
		PS	27	75.30	8.70	17.23	1.32	13.54	18.04	42.54	56.70			
CK	N	10	74.78	8.60	18.30	1.67	30.19	39.85	90.79	119.83				

* FS 雌雄不育; PS 部分雄性不育; MS 雄性不育; N 正常。FS,PS,MS and N indicating female and male sterile, partial male sterile, male sterile and normal respectively

2.4 链霉素诱变小麦雄性不育的遗传分析 对 1993 年和 1994 年两年链霉素诱变获得的雄性不育突变体经过回交和自交,分析其不育性的遗传行为。结果表明,链霉素在 BAU92 和 BAU3338 中诱变出了不同遗传方式的雄性不育突变。其中一些突变体是非遗传的变异,但在两种基因型上均诱导出了可遗传的雄性不育突变(表 5)。

表 5 链霉素诱变雄性不育突变体后代育性表现
Table 5 Fertility in progenies of male sterile mutants

突变体 Mutamts	世代 Generation BC ₁ * BC ₂ , B ₁ F ₂		育性类型** Type of sterile	突变体 Mutamts	世代 Generation BC ₁ BC ₂ , B ₁ F ₂		育性类型 Type of sterile
93-28S	F	S	RGMS	94-11S	F	S	RGMS
38S	F	F	NH	12S	F	S	RGMS
42S	F	S	RGMS	13S	F	S	RGMS
46S	F	S	RGMS	51S	F	F	NH
56S	F	F	NH	52S	F	F	NH
59S	F	S	未知 unknown	53S	F	S	RGMS
60S	F	F	NH	54S	F	F	NH
63S	S	S	DGMS				
64S	F	F	NH				

* F 可育 F Fertile; S 分离 S. Segregation;

** RGMS 隐性核不育。RGMS Recessive genic male sterile; DGMS 显性核不育。DGMS Dominant genic male sterile;
NH 非遗传不。育 NH Not heritable

3 讨论

理化因素诱变农作物雄性不育通常随机性较大^[3],用同一基因型和相同的处理方法很难重复出现雄性不育。本试验结果表明,链霉素在不同年份和不同小麦基因型上诱发雄性不育突变有较好的重现性,M1 代雄性不育诱变率也较高。诱变 M2 代群体中,仍有许多雄性不育株,但雄性不育株诱变率与品种对链霉素的敏感性有关。BAU3338 的 M2 群体中未发现雄性不育株,BAU95 M2 代群体中,雄性不育株诱变率较高,与其 M1 代相近,而且用链霉素重复诱变可提高诱变效果。

不同的小麦基因型对链霉素的敏感程度存在明显差异。在所用几个小麦基因型中,恢复系 R1 对链霉素耐药性明显高于其它品种,出苗率、成株率均高于 BAU3338、BAU92 和 BAU95。保持系品种间对链霉素敏感程度也存在差异,BAU92 和 BAU95 的敏感性均高于 BAU3338。诱导雄性不育突变的效果基因型间差异也较大,BAU92 和 BAU95 较敏感,而 BAU3338、R1 和 CA8131 较为迟钝。这种品种间诱变率的差异除小麦基因型间对抗生素敏感性不同外,恢复系与保持系之间是否存在对链霉素的不同反应还需作进一步的研究。

诱变后代雄性不育株中存在一些雌雄不育株表明链霉素诱变造成的损伤不仅导致雄性器官的败育,而且还影响到雌性器官的育性。抗生素诱变对遗传物质的损伤,可造成多种染色体畸变,如染色体断裂、粘连、缺失、易位和染色体桥等^[10]。诱变当代雄性不育株从植株高度上均比对照正常品种或可育株有程度不同的下降,也表明诱变可能造成许多遗传和生理变化,在诱变当代和以后世代中均观察到许多株高、芒性和穗部等性状变异。通过对链霉素诱变出的雄性不育株回交后代分析表明,一些雄性不育突变是可遗传的变异,对这些雄性不育突变体的遗传分析将另作报道。因此,用链霉素诱变可成为一条创造小麦雄性不育的新途径。

参 考 文 献

- 1 邓景扬,高忠丽. 小麦显性雄性不育基因的发现和利用. 作物学报,1980, 6(2):85~98
- 2 Briggie L W. A recessive gene for male sterility in hexaploid wheat. Crop Sci, 1970, 10:693~696
- 3 Kual M L H. Male sterility in higher plants. Springer-Verlag,1988
- 4 Driscoll C J. Registration of Cornerstone male-sterility wheat germplasm. Crop Sci, 1977, 17:190
- 5 Franckowiak J D, Maan S S, Williams N D. A proposal for hybrid wheat utilizing *Aegilops squarrosa* L. cytoplasm. Crop Sci, 1976, 16:725~728
- 6 Burton G W, Hanna W W. Stable cytoplasmic male-sterile mutants induced in Tift 23DB1 pearl millet with mitomycin and streptomycin. Crop Sci, 1982,22:651~652
- 7 Jan C C, Rutger J N. Mitomycin C and streptomycin induced male sterility in cultivated sunflower. Crop Sci, 1988, 28:792~795
- 8 Petrov D F, Fokina E S, Zhelagnova N B. Method of producing cytoplasmic male sterility in maize. U. S. Pat. 3594152, 1971, Date issued 20 July
- 9 Hu Jinguo, Rutger J N. A streptomycin induced no-pollen male sterile mutant in rice (*Oryza sativa* L.). J Genet & Breed, 1991, 45:349~352
- 10 原亚萍,许耀奎. 平阳霉素(Pingyangmmycin)对大豆诱变效应的研究. 作物学报,1993, 19(1): 7~16

Study on The Antibiotics-induced Male Sterility in Wheat (*Triticum aestivum* L.)

I. Effectiveness of Streptomycin in Inducing Male sterility

Liu Zhiyong Sun Qixin Huang Tiecheng

Wang Lijiang

(Dept. of Plant Genetics & Breeding, CAU, Beijing 100094)

(Changli Seeds Station)

Abstract: Both cytoplasmic and genic male sterility are useful for wheat genetics and breeding. The effects, possibility and reproducibility of Streptomycin in inducing male sterility of common wheat (*Triticum aestivum* L.) were studied for 4 years at Beijing Agricultural University. The result indicated that the germination rate was seriously inhibited by the treatment of streptomycin. Many chlorophyll mutants such as albino seedling were induced by streptomycin in M1 generation. The induced male-sterile mutation rate was highly dependent on the wheat genotypes, the restorer line has shown to be less sensitive to the streptomycin than maintainer line although great difference was also existant among the maintainer lines. No significant difference was observed in using either 500 mg·L⁻¹ or 1000 mg·L⁻¹ streptomycin.

The induction of male sterile mutant in wheat by streptomycin was highly reproducible in different years for the genotypes used. Male sterile mutant rates in M1 generation vary from 0.13×10^{-3} to 13.07×10^{-3} , depending on the genotypes. Higher mutation rate could be obtained when the M1 seeds were treated with streptomycin successively.

Key words: wheat *Triticum aestivum*; male sterility; induced mutation; streptomycin