

分类号

密级

湖南农业大学

# 博士学位论文

苎麻倍性育种研究

Studies on Ploidy Breeding of Ramie

研究生: 郑思乡

导师: 李宗道 教授

副导师: 孙福增 教授

专业: 作物栽培学与耕作学

研究方向: 生物技术

中国·长沙

一九九八年六月

# 目 录

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| 中文摘要 .....                    | 1  |
| 英文摘要 .....                    | 3  |
| 第一章 农作物同源多倍体研究综述 .....        | 6  |
| 1. 多倍体产生的途径 .....             | 6  |
| 2. 同源多倍体在农作物上的直接应用 .....      | 7  |
| 3. 利用诱导多倍体作遗传媒介 .....         | 9  |
| 4. 同源多倍体存在的问题 .....           | 9  |
| 5. 苎麻同源多倍体研究进展及本研究任务的提出 ..... | 10 |
| 第二章 苎麻同源四倍体诱导及不同倍性系列的建立 ..... | 11 |
| 一、苎麻同源四倍体诱导与鉴定 .....          | 11 |
| 1. 苎麻同源四倍体诱导 .....            | 11 |
| 1.1 材料与方法 .....               | 11 |
| 1.2 结果与分析 .....               | 11 |
| 1.2.1 秋水仙素常规处理所产生的诱变效果 .....  | 11 |
| 1.2.2 组织培养方法所产生的诱变效果 .....    | 12 |
| 2. 同源四倍体的分离与鉴定 .....          | 13 |
| 2.1 分离与鉴定方法 .....             | 13 |
| 2.2 结果与分析 .....               | 13 |
| 2.2.1 苎麻同源四倍体的分离 .....        | 13 |
| 2.2.2 苎麻同源四倍体的鉴定 .....        | 14 |
| 二、苎麻不同倍性系列的建立与离体培养 .....      | 14 |
| 1. 材料与方法 .....                | 14 |
| 2. 结果与分析 .....                | 15 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 2.1 不同倍性苕麻系列的建立 .....           | 15 |
| 2.2 不同倍性苕麻无性繁殖系的建立 .....        | 15 |
| 2.2.1 茎、叶愈伤组织的植株再生 .....        | 15 |
| 2.2.2 腋芽的快速增殖 .....             | 16 |
| 2.2.3 无性繁殖系的建立 .....            | 16 |
| 第三章 不同倍性苕麻形态解剖学观察 .....         | 17 |
| 1. 材料与方法 .....                  | 17 |
| 2. 结果与分析 .....                  | 17 |
| 2.1 不同倍性苕麻形态特征 .....            | 17 |
| 2.1.1 经秋水仙素处理的种子变异株幼苗形态特征 ..... | 17 |
| 2.1.2 不同倍性苕麻大田植株形态特征 .....      | 18 |
| 2.2 不同倍性苕麻茎的解剖特征 .....          | 20 |
| 第四章 不同倍性苕麻的细胞学观察 .....          | 23 |
| 1. 材料与方法 .....                  | 23 |
| 2. 结果与分析 .....                  | 23 |
| 2.1 苕麻单倍体水平植株的染色体数目观察 .....     | 23 |
| 2.2 秋水仙素诱变植株染色体数目的观察 .....      | 24 |
| 2.3 四倍体水平的苕麻杂交后代染色体数目的观察 .....  | 25 |
| 2.4 三倍体水平的苕麻杂交后代染色体数目的观察 .....  | 27 |
| 第五章 不同倍性苕麻同工酶及光合作用研究 .....      | 28 |
| 1. 材料与方法 .....                  | 28 |
| 2. 结果与分析 .....                  | 29 |
| 2.1 不同倍性苕麻过氧化物酶同工酶的表现特征 .....   | 29 |
| 2.2 不同倍性苕麻酯酶同工酶的表现特征 .....      | 30 |
| 2.3 不同倍性苕麻净光合强度的差异 .....        | 31 |
| 2.4 不同倍性苕麻蒸腾强度的差异 .....         | 32 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 2.5 不同倍性苕麻气孔阻力的差异 .....         | 32 |
| 第六章 苕麻三倍体育种 .....               | 33 |
| 1. 材料与方法 .....                  | 33 |
| 2. 结果与分析 .....                  | 34 |
| 2.1 四倍体母本的选择 .....              | 34 |
| 2.2 三倍体的培育及优良单菀的选择 .....        | 34 |
| 2.3 菀行比较试验结果 .....              | 34 |
| 讨 论 .....                       | 36 |
| 1. 组织培养在苕麻倍性育种中应用的优缺点 .....     | 36 |
| 2. 不同倍性苕麻形态解剖差异分析 .....         | 36 |
| 3. 关于不同倍性苕麻染色体数目多样性形成原因浅析 ..... | 37 |
| 4. 关于不同倍性苕麻同工酶及光合作用差异的评议 .....  | 37 |
| 5. 不同倍性苕麻的利用价值 .....            | 38 |
| 图版说明 .....                      | 40 |
| 图 版 .....                       | 42 |
| 参考文献 .....                      | 48 |
| 致 谢 .....                       |    |
| 作者简介 .....                      |    |

# 苎麻倍性育种研究

## 中文摘要

苎麻是我国重要的出口创汇作物，现有品种难以满足生产上需要。倍性育种是创造植物新种质的一条重要途径，以苎麻为材料，建立了不同的倍性系列，对其形态解剖、细胞学、生理生化特征进行了研究，并对倍性材料择优进行了田间比较试验，力争在三年内选育出高产、优质、抗风新品种。其主要研究结果如下：

1. 在同源四倍体诱导过程中，比较了不同秋水仙素处理方法的诱变效果。发现组织培养方法是最理想的，其优点有以下几个方面：①能显著提高诱变频率，其中最高诱变率高达56.10%；②首次采用不定芽技术分离苎麻同源四倍体，可使变异株四倍体细胞所占比例提高到90%以上；③变异株试管苗鉴定很方便。试管苗叶片表皮毛很少，气孔容易观察到，根尖或茎尖不需要酶解或酸解即可进行染色体制片。

2. 通过无性融合生殖获得了单倍体，采用四倍体与二倍体杂交又成功地获得了三倍体，从而建立了单倍体、二倍体、三倍体、四倍体不同倍性的苎麻系列。其中人工三倍体属国内外首创。这一倍性系列的建立为苎麻遗传育种研究提供了理想的材料。

3. 建立了不同倍性苎麻体细胞无性系。取叶片或茎段培养在附加IAA、NAA、6-BA、GA<sub>3</sub>的MS培养基上诱导出愈伤组织，然后在MS-2.0mg/L 6-BA-0.5-1mg/L GA<sub>3</sub>培养基上分化出不定芽。另外，还可将带腋芽茎段培养在MS-1~2mg/L 6-BA的培养基上形成茁壮的丛生芽。这种芽形态特征表现十分一致。不定芽或丛生芽转移到H-0.05mg/L NAA生根培养基上即形成完整的植株。

4. 对不同倍性苎麻植株进行了形态解剖学研究。四倍体叶片厚，颜色浓绿，气孔、花药粒、种子、纤维细胞均最大，但营养生长却不理想。三倍体叶片大而厚，颜色深，营养生长旺盛，气孔、花药粒、纤维细胞大小居二倍体与四倍体之间。单倍体植株较瘦弱，气孔、花药粒最小，育性和结实率以二倍体最佳，四倍体次之，单倍体和三倍体最差。

5. 对萌生苎麻根尖染色体观察结果表明：孤雌生殖后代染色体数目变化很大，有单倍体、混倍体和非整倍体细胞。秋水仙素诱变的同源四倍体中，四倍体细胞平均占44.06%，混倍体细胞占33.9%，非整倍体及二倍体细胞占22.3%。四倍体与二倍体杂

交。后代染色体数目也十分复杂，染色体数目变化在12~63之间。三倍体细胞所占比例在50%以上的植株仅占13.7%。三倍体与二倍体杂交，后代染色体数目变化更为复杂多样，染色体数目变动在14~84之间。

6. 对不同倍性的酯酶同工酶及过氧化物酶同工酶进行了初步研究。发现酯酶同工酶带少，活性弱，倍性之间差异很小，而过氧化物酶同工酶带多，活性强，倍性之间差异大，其中 $R_{F1}=0.027$ 和 $R_{F2}=0.082$ 两条海带为多倍体所特有，可作为其特征酶带。

7. 对不同倍性的麻光合作用特性进行了初步研究。发现不同倍性之间净光合强度、蒸腾强度、气孔阻力、叶温均有很大差异。多倍体光合强度大，单倍体低，二倍体居中；蒸腾强度以二倍体最大，三倍体次之，四倍体、单倍体较小；气孔阻力以单倍体最大，多倍体较小，二倍体居中。

8. 研究表明四倍体植株矮小、纤维支数低、分株数少，单倍体植株瘦弱，均不能直接利用进行品种选育。三倍体营养生长优势强，分株数多，纤维支数变幅大，利用三倍体育种，潜力很大。经过三年单选选择和繁衍比较试验，已初步筛选出比二倍体“湘慈三号”更好的三倍体材料，有待进一步进行品系比较试验和区域试验。

【关键词】 苧麻；倍性；育种

# Studies on ploidy Breeding of Ramie

## ABSTRACT

Ramie(*Boehmeria nivea* L.) is a native crop and its fibre is an export product. At present, ramie varieties are difficult to meet the demand of production, ploidy breeding is an important way to create new varieties. Different ploidy ramie series were established, their morphological, anatomical, cytological, physiological and biochemical characteristics and breeding work were studied. The main results were as follows:

1. Different inducing methods of tetraploid were compared, the results showed that the method of tissue culture with colchicine was the best. Compared with traditional methods, the tissue culture method can increase the survival rate of treated plants and increase inducing percentage of tetraploid (the highest percentage was 56.10%). It is the first time that adventitious bud were used to stabilize the ramie tetraploid, the tetraploid plant with 94% tetraploid cells, some triploid cells and some aneuploid cells were obtained. The stoma and chromosome of tube plants was also easier to be observed than the field plants. In addition cytological base trends of cell division, mitotic index, high frequency of cell division were also studied, the studies have laid a foundation for ramie polyploid breeding.

2. Haploids were obtained by inducing ramie apomixis, triploids were produced by tetraploid  $\times$  dipliod. Then the different ploidy ramie series were established, the series include haploid, diploid, triploid and tetraploid, which provide ideal materials for genetic and breeding work.

3. The somatic clone lines of the different ploidy ramie were established by culturing leaf sections or stem cuttings on MS medium supplied with IAA, 6-BA and GA<sub>3</sub>, shoots developed complete plant when shoots were cultured on H medium containing 0.05mg/L NAA. They were stable

in genetical quality.

4. Morphological and anatomical studies on different ploidy ramie were carried out. The results showed that the size of stoma, pollen grain, seed, fibre cell, leaf area existed significant differences among different ploidy. It can be used as a mark to identify polyploid. Stoma, pollen grain, seed, fibre cell of tetraploid were the biggest, the average size of triploid stoma, fibre cell and pollen grain was only next to tetraploid, whereas it was interesting that the size of fibre cell existed bigger difference between different triploid plants. Fibre cells of a few triploids were smaller than that of diploids. So their fibre fineness was better than diploid's.

5. The chromosomal constitution and ploidy in parthenogenic progeny plants of ramie induced by chemical treatment were observed. Their offsprings chromosomal numbers were varied. Among them were haploid, mixoploid and aneuploid. Haploid cells took up 52.5%~62.5%. Non-equal mitosis lay behind and mini-chromosomes appeared. Among the variants induced by colchicine with tissue culture, chromosomal numbers were varied, the results indicated that not only tetraploids but also triploids and mixoploids were produced. Tetraploids took up 44.06%, triploids took up 33.9%. The polyploids as mother plants were hybridized with diploid cultivator and then the cytological studies on 251 plants of the hybrid generation were carried out. The results showed that the chromosome numbers varied from 12~84 and 33 plants with more than 50% triploid cells were obtained from 251 plants of hybrid generation. All kinds of abnormal mitosis of polyploids was also observed.

6. It is the first time that studies on peroxidase and esterase isozymes of different ploidy ramie leaf were carried out, the results showed that ① peroxidase isozymes had 3~9 bands, there were significant difference among different ploidy plants. The peroxidase isozyme bands of  $R_f = 0.027$  and  $R_f = 0.082$  were characteristic bands of polyploid; ② Esterase isozymes only had 3~4 bands with low activity, there were little difference among different ploidy plants of ramie.

7. Photosynthesis characteristics of different ploidy plants of ramie were studied. The results indicated that (1)  $P_n$  of different ploidy plants existed significant difference, the polyploids had higher  $P_n$  values, haploids had lower  $P_n$  values; (2)  $Tr$  of diploid was the highest, next was the triploid, tetraploid was the lowest, haploid was lower too; (3)  $SR$  of polyploids was all  $0.2 \text{ cm s}^{-1}$ , diploid was  $0.3 \text{ cm s}^{-1}$ , haploid had the highest  $SR$  values of  $0.4 \sim 0.6 \text{ cm s}^{-1}$ .

8. Research results of ploidy breeding showed that tetraploid plants were shorter with fewer tillers and bad fineness, haploid plants were too thin, whereas the triploid plants were strong with more tillers and much varied fineness. So the prospect of triploid breeding was bright. Now we have selected five fine triploid materials by three years field trial.

Zheng Sixiang (Science of Crop cultivation and cropping system)

Directed by Li Tsongdao (Professor)

**Keywords:** Ramie (*Boehmeria nivea* L.), Ploidy, Breeding

## 第一章 农作物同源多倍体研究综述

多倍体育种作为创造植物新品种和新种质的重要途径,已受到国内外许多生物学的极大关注。已在各种农作物、水果、蔬菜、牧草、花卉、树木、药材等数百种植物上成功地诱导产生了多倍体(Stebbins, 1956, 张合成等1988, 马缘生1987)。虽然D.R Dewey、Stebbins等对于多倍体育种持悲观态度(Stebbins 1956, D.R Dewey, 1981),但事实上多倍体已在作物品种改良、克服远缘杂交不孕性,以及产生特殊商品价值的作物等方面作出了积极贡献。目前,多倍体研究进展十分迅速,本文将在多倍体诱导技术、同源多倍体在农作物上的直接应用、诱导多倍体作遗传媒介,以及苧麻多倍体研究进展作如下综述。

### 1. 多倍体产生途径

综合国内外有关文献,归纳起来多倍体产生的途径有以下几种:

(1)物理因素诱导产生多倍体: 这些因素包括温度剧变、切割、机械损伤、超声波、物理射线等。瑞典的植物学家就曾利用热刺激法使玉米受精后的合子的染色体数加倍,从而获得多倍体植株。但这些方法由于效率不高,早已不再在农作物上使用。

(2)化学因素诱导产生多倍体 自1937年Blakeslee和Avery发现秋水仙碱可以诱导植物染色体数目加倍以来(Blakeslee 1937, 孙敬三 1990),多倍体研究得到了迅速发展,迄今绝大多数植物多倍体均由秋水仙素诱导而成。当然能产生多倍体的化学试剂较多,如萘乙烷、富民隆、萘啶戊烷、生长素(2,4-D等)(胡含、陈英1988),谷仁乐生、磷酸乙基汞等,1963年,严育瑞筛选出富民隆诱变剂,成功地诱导产生了水稻多倍体。依处理方式不同可以分为以下几种方法:浸渍法、滴生长点法、琼脂(或羊毛脂)醃结法、微量注射法、喷雾法等。

(3)有性杂交获得多倍体 化学诱变一般只能产生偶数倍的多倍体,要培育奇数倍的多倍体必须应用有性杂交。杂交获得多倍体有以下两种方式:①二倍体在形成雌雄配子之前染色体数目没有减半,授粉后产生三倍体,这种三倍体可以保持母本性状(三分之二是母本),又能综合父本性状,故而优势强(陈志远 1979),不过这种多倍体产生的频率很低。②利用多倍体与二倍体杂交来获得奇数倍多倍体。最常用的是利用四倍体与二倍体杂交来获得三倍体,如三倍体无籽西瓜、三倍体甜菜均由此方式获得。

(4)秋水仙素结合组织培养技术产生多倍体 组织培养技术的渗入,给多倍体研究带来了新的面貌,采用组织培养方式已成功地获得了大量的多倍体植物。①此法可大大提

高诱变频率，并扩大繁殖系数，提高变异株的成活率。特别是象大蒜这类没有种子，且生长点包埋在鳞茎内的作物，用常规方法很难诱导出多倍体，而采用组织培养方法却很容易成功。②采用不定芽技术能有效地稳定多倍体，秋水仙素诱变的直接效果是形成嵌合体，加倍的细胞有的发生在茎尖L—I层，有的发生在L—II层，有的呈扇形突变等，故仅少部分细胞发生加倍，在变异初期，变异细胞分裂速度慢，而二倍体细胞分裂快，产生二倍体竞争，最后导致回复突变，故稳定也是多倍体成功的重要环节，从理论上讲不定芽一般是由一个或少数几个细胞发育而来，若这几个细胞为多倍体，则发育而成的不定芽应为完全多倍体，从而实现快速稳定。③多倍体鉴定简便快速，试管苗一般表皮毛少，叶片表皮易撕下或模印制片，气孔易观察到，且环境条件均匀一致，故气孔鉴定容易且可靠性也大。染色体鉴定过程中，试管苗根尖不需要酶解或酸解过程，即可压片，故大大简化了染色体鉴定程序。

(5) 胚乳培养 胚乳是由两个极核与一个精核融合发育而来，故其来源是三倍体，实践证明这种特殊组织同样具有一般植物细胞的全能性(胡适宜 1985)，能够形成愈伤组织、器官分化、及形成完整的植株。通过三倍体胚乳培养理论上应可以得到三倍体植株，但仅少数植物获得成功，如柚、枸杞(王大元等, 1978, 王丽, 1986)。其他的均为混倍体。其原因不甚清楚。若通过胚乳培养产生大量三倍体植物，则有可能成为一种育种的新途径，特别是对于产生无籽果实意义更大。

## 2. 同源多倍体在农作物上的直接应用

同源多倍体就是组成多倍体的染色体组来源于同一个二倍体物种。它们在细胞遗传学上的重要标志是减数分裂时出现两个以上的相同染色体联合在一起的多价体。在不同倍性的同源多倍体系列中，从营养生长来说，单倍体的生长最差，茎叶较细、花序和花较小，植株也较矮小。二倍体是系列中的标准状态，也是这个染色体组的代表类型，它的营养生长一般要比单倍体好得多。三倍体一般比二倍体还要长得好，是营养生长最好的一个倍性。四倍体的营养生长开始下降，有的植株比二倍体好，有的则不如(鲍文奎 1957, 李杲 1991)。倍性再高这个下降趋势越严重。所以，对营养体的利用来说，三倍体最有希望。从有性生殖来说，单倍体、三倍体都是不育的，因此，凡以种子为收获对象的植物一般都不能利用奇数的倍性(能进行无融合生殖的作物例外)。

在自然界多倍体物种里，同源多倍体不到10%，但多倍体研究和育种工作却大多数集中在同源多倍体上，据D.R.Dewey(1981)报道，1972—1979年，28个国家发表500多篇多倍体论文中，同源多倍体占79%，异源多倍体仅占21%，我国研究情况类似，1979—1987年所发表的70篇多倍体论文中，同源多倍体占67%(张合成 1988)。以种子

为收获对象的植物中，同源四倍体黑麦是最成功的一例。早在本世纪三十年代，德国育成了四倍体黑麦，并已大面积推广。其优点主要表现在：籽粒大、发芽力强、耐肥、秆硬，以及蛋白质含量高和烘烤面包质量好等。其他如水稻、高粱、大麦、玉米等作物，加倍变成同源四倍体后，虽然种子显著变大、蛋白质含量显著增加，但一般种子不够饱满，结实率大幅度下降，加之穗粒数减少，结果产量远不及二倍体。故同源四倍体往往不能直接利用，必须加以改造方可应用。如我国同源四倍体水稻育种工作始于1951年，经过长达36年的培育和选择，目前才初步选出优良株系，从理论上肯定了单株选择的效果（陈志勇等，1987）。另外，我国科学工作者发现水稻、高粱等作物四倍体杂种也具有较强杂种优势，目前，我国已育成水稻、高粱四倍体三系（罗耀武 1984，谭协和等，1979）。用高粱四倍体三系配制的杂种，不但籽粒大、蛋白质含量高，而且结实率显著提高，其它农艺性状也有所改善。其中尤以4N3A×4N3-1组合的杂种表现突出，植株高于亲本、分蘖力强，籽粒饱满，千粒重为40.8克，结实率高达95.5%，蛋白质含量为13.5%，比二倍体高3.35%，这说明在种子植物多倍体中，利用三系可能是一种有希望的重要途径。

以营养体、瓜果、花为收获对象的作物，不但已有了一些诱人的成功例子，而且技术难度上也小得多。同源倍性的增加，对贮藏器官如块根、块茎是有利的。马铃薯是同源四倍体，甘薯是同源六倍体。三倍体甜菜具有明显的营养生长优势（杨炎生，1980），已在生产上大面积推广。龙芽百合多倍体除营养生长优势强外，还表现出品质优良（刘选明，1995）。中国科学院遗传研究所选育的三倍体国光萝卜增产显著，比二倍体高19.7%，且耐贮藏，故有一定的推广价值（张继中，1984），多倍体的巨大性对于以茎、叶为收获对象的植物也是有利的。六十年代初，欧州有几个国家培育出一年和多年生诱导四倍体黑麦草，其鲜草产量比二倍体平均高8~18%，抗病能力增强，适口性提高，非结构性碳水化合物增加，粗纤维少，消化率高（D.R.Dewey, 1981）。我国已成功地培育出芹菜、白菜、茼蒿、芦笋等蔬菜多倍体。纤维作物中，红麻、黄麻、剑麻、南荻均有多倍体方面的研究报道。在瓜、果、花类作物中，无籽西瓜是较成功的范例，已在生产上大面积推广应用，并产生了巨大的经济效益。五十年代木原均育成的三倍体无籽西瓜，不仅品质优良，而且产量比二倍体高30%以上（Kihara, H. 1951）。我国也培出了在生产上产生巨大效益的三倍体西瓜品种。在水果中四倍体葡萄果大籽少，是五十年代改良葡萄的重要方法，虽然存在落果现象，但可通过栽培措施加以改进。1991年，湖南农业大学成功地培育出四倍体黄花菜新品系，其花蕾比二倍体显著增大，品质提高，等级上升，有利于出口创汇（周朴华，1991、1995）。花卉多倍体方面，君子兰、菊花等均

有成功的报道。

### 3. 利用诱导多倍体作遗传媒介

同五十年代一样,现在诱导多倍体作为遗传传递的工具有着重要的育种用途。借助人工诱导多倍性来克服种间杂交的不孕性和远缘杂种的不育性,从而把野生种的抗病等有利基因转移到栽培种里去,已成为许多作物较普遍的育种实践。据报道,在烟草、小麦、燕麦、马铃薯和棉花等作物中都曾从非栽培的亲缘种获得过抗病或抗虫基因,即便是数量性状。如棉花纤维品质和牧草的饲料品质也都通过诱导多倍性而实现基因转移(Culp, T.W 1973, Webster, G.T. 1971)。利用这种方式进行基因转移,那些不需要的基因必然随染色体一起进行转移。因此还需采用杂交、辐射处理、回交和选择等综合方式,才可排除不利基因,实现目的基因的转移,达到培育优良品种的目的。

### 4. 同源多倍体存在的问题

关于同源多倍体育种的前景,有不少学者持悲观的态度。诱导多倍体具有很突出的优点的同时,往往伴随着难以克服的缺点,必须将其缺点克服到最低限度方可应用。例如同源四倍体水稻虽然种子大、蛋白质含量高,但穗粒数却比二倍体显著少,分蘖力也明显下降,丰产性远不如二倍体。另外结实率低、种子饱满度差,几乎普遍地不同程度地存在于所有人工多倍体中,更难以克服(鲍文奎, 1981)。三倍体甜菜在多倍体育种上是一个成功的实例,但并没有明显证据证明它们优胜于二倍体。近几年来,欧州也有恢复采用二倍体品种的趋势。有人甚至认为“如果育种家把注意力集中在二倍体材料上,它们可能会培育出更多更好的品种来”。三倍体无籽西瓜在种子制备上也存在一定的困难,需要花费大量劳动力,故而种子昂贵。且种子发芽率较低。由于四倍体红三叶草种子生产力低,从而在很大程度上限制了多倍体红三叶草的利用(D.R.Dewey, 1981)。四倍体葡萄存在座果不稳的困难。四倍体黄麻、红麻、苧麻均存在纤维品质的问题(廖茂盛 1979, 蒋宝韶等 1982, C.Y.Chi 1964)。

诱导多倍体在作物育种上所取得的成功虽不尽人意,但也不能认为多倍体育种应该放弃或缩减。只要认真选择好作物,把更多的注意力放在经济性状上,把各种成功的因素协调好,多倍体育种的前景还是美好的。Levan曾在多倍体育种史的初期提出过三条原则:①选择的作物染色体数目较少;②以收获营养体为主;③异花授粉,这基本上得到了后来学者的肯定。除此三条原则外,笔者认为能进行无性繁殖的作物也有利于进行多倍体育种。多倍体一般孕性低,且其中三倍体是不育的,这对种子繁殖的作物是不利的。而无性繁殖的作物却不受影响,甚至还是有利的。如苧麻种子不仅消耗养分,降低三麻产量,而且易造成倒伏。故无籽或少籽对苧麻生产是有利的。

## 5. 苎麻同源多倍体研究进展及本项研究任务的提出

苎麻是我国特产和重要的创汇作物,是最优良的韧皮纤维作物之一。台湾C.Y.Chi等(1960)用秋水仙素处理“南华青皮种”苎麻种子,首次获得了同源四倍体突变种,并从中选出四倍体突变体Me-60和Me-60-11,其纤维产量超过了原二倍体产量的23~104%,而纤维支数则低于原二倍体品种;谢卓荣(1986)采用0.1~0.6%秋水仙素处理苎麻种子12~48h,以“黄壳早”和“芦竹青”品种为材料诱导出同源四倍体,董延瑜等(1989)也得到类似的结果。潘昌立等(1990)用0.1~0.4%秋水仙素或附加1%二甲亚砜处理实生苗茎尖,其多倍体诱导率达到9.04%,并且他们又提出了苎麻多倍体诱导中的嵌合现象和累积效应。嵌合体地下茎在不同年份不同季节间歇地或连续地发出不同倍性分株;赵立宁等(1994)进一步根据苎麻花粉粒形态特征与鉴定倍性的关系,探索出了新的快速鉴定技术。郑思乡等(1995)采用组织培养方法结合不定芽技术成功地诱导出四倍细胞所占比例高达94%的单株,诱导频率高达56.10%。作者曾诱导出2000个不同基因型的四倍体,但从中并未获得优势株系。为此我们提出了三倍体育种思路。因为三倍体是植物营养生长优势最强的倍性(施文奎 1981, 李莉 1991),且表现为无籽现象,为此,我们开展了三倍体育种以培育出高产、优质、高抗的多倍体新品种。

## 第二章 苕麻(*Boehmeria nivea* L.) 同源四倍体诱导及不同倍性系列的建立

### 一、苕麻同源四倍体诱导与鉴定

#### 1 苕麻同源四倍体诱导

##### 1.1 材料与方法

供试材料：“湘苕三号”、“芦竹青”、“黑皮苑”、“黄壳早”、“湘苕四号”、“湘苕二号”、“浏阳鸡骨白”、“青壳麻”。

秋水仙素诱导方法：将秋水仙素配成1%浓度的贮备液，置冰箱中保存，用时稀释至所需浓度。处理方法如下：

种子浸泡法：秋水仙素浓度为0.1%~0.4%，处理时间为12~48h，处理温度为28℃左右，处理后用清水漂洗，然后播于苗床育苗。

滴生长点法：0.1~0.4%秋水仙素溶液，滴麻茎生长点，早晚各一次，连续处理3~7天，以清水作为对照。

定量注射法：采用微量注射器，针对茎尖部位注射秋水仙素溶液5 μl，以无菌水作对照。

组织培养法：在MS+0.5~3mg/L 6-BA+1~3mg/L GA<sub>3</sub>培养基上培养的丛生芽，先在0.1~0.25%秋水仙素溶液浸泡72~120h，处理温度为25~28℃，然后用无菌水漂洗后接种到上述培养基上，多次继代培养。变异株转接至H+0.05mg/L NAA培养基上生根，炼苗后移栽大田。

##### 1.2 结果与分析

##### 1.2.1 秋水仙素常规处理所产生的诱变效果

以“湘苕三号”种子为材料，进行秋水仙素浸泡处理，在培养皿内发芽时，变异十分明显，特别是下胚轴显著增大，有的呈球状，有的呈米粒般增粗，生长极为缓慢。播种于苗床后，这类变异苗一般在子叶展开前死去，出苗率很低，最终变异率更低(表1)。

表 1 秋水仙素对种子的诱变效果

Table 1 The mutation effect of colchicine on seeds of ramie

| 秋水仙素浓度 (%) 时间(h)<br>The concentration<br>of colchicine (%) Time(h) | 处理粒数<br>No. of treated<br>seeds | 发芽数<br>No. of ger-<br>minating<br>seeds | 发芽率(%)<br>frequency<br>of germina-<br>ting seeds | 变异株数<br>No. of<br>mutation<br>plants | 变异率 (%)<br>Frequency of<br>mutation<br>plants |      |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------|------|
| 0.1                                                                | 12                              | 300                                     | 35                                               | 11.7                                 | 18                                            | 6.00 |
|                                                                    | 24                              | 300                                     | 23                                               | 7.7                                  | 19                                            | 6.33 |
|                                                                    | 48                              | 300                                     | 21                                               | 7.0                                  | 19                                            | 6.33 |
| 0.2                                                                | 12                              | 300                                     | 11                                               | 3.7                                  | 10                                            | 3.33 |
|                                                                    | 24                              | 300                                     | 9                                                | 3.0                                  | 7                                             | 2.33 |
|                                                                    | 48                              | 300                                     | 7                                                | 2.33                                 | 5                                             | 1.77 |
| 0.4                                                                | 12                              | 300                                     | 9                                                | 3.0                                  | 8                                             | 2.67 |
|                                                                    | 24                              | 300                                     | 6                                                | 2.0                                  | 5                                             | 1.67 |
|                                                                    | 48                              | 300                                     | 0                                                | 0                                    | 0                                             | 0    |

注: 播种一个月后调查的结果, 变异株以下胚轴明显增粗为准。

在常规处理方法中最有效的方法是实生苗生长点处理法, 其诱导率和成活率均较高。但大部分变异株均为嵌合体。不同生长季节倍性表现不一致, 就是同一生长季节、不同麻苑, 甚至同一麻苑不同分株的倍性表现也不一致。这些嵌合体还有待进一步分离稳定。

### 1.2.2 组织培养方法所产生的诱变效果

这一方法的诱变效果十分明显, 诱变频率高。苎麻经  $MS + 0.5 \sim 3mg/L$  6-BA +  $1 \sim 3mg/L$   $GA_3$  培养基培养的湘苎三号实生芽苗, 在  $25 \sim 28^\circ C$  室温下, 进行秋水仙素溶液浸泡处理, 其变异率以气孔明显增大作为初步鉴定指标。试验结果(表2)表明: ①秋水仙素浓度在  $0.1 \sim 0.25\%$  范围内均有效, 处理时间分3种: 72h、96h、120h。在上述浓度范围内, 随着处理时间的延长死苗率递增。浓度为  $0.15\%$ , 分别处理72h、96h和120h, 其死苗率相应为  $6.06\%$ 、 $22.30\%$  和  $28.33\%$ , 其中以  $0.15\%$  秋水仙素处理96h为最佳方案, 诱变率可达到  $56.10\%$ 。②通过组织培养的芽苗, 秋水仙素溶液浸泡的时间可长到120h, 仍能成活, 这在常规处理中是不可能的。③变异率明显提高, 这是因为处理材料经过含有6-BA、 $GA_3$  的培养基培养, 这两种激素均有利于腋芽的萌动, 使一个芽苗变成了几十个丛生芽, 使芽的基数扩大  $20 \sim 30$  倍, 从而大大提高了诱变率。

表 2 组织培养结合秋水仙素对湘兰3号试管苗的诱变效应

Table 2 Mutation effect of tissue culture with colchicine on tube seedlings of Xiangchu No.3

| 秋水仙素浓度(%) | 处理时间(h) | 株数  | 死苗数 | 死亡率(%) | 变异苗数 | 变异率(%) |
|-----------|---------|-----|-----|--------|------|--------|
| 0.10      | 72      | 41  | 2   | 4.90   | 14   | 33.00  |
|           | 96      | 98  | 17  | 16.80  | 38   | 38.60  |
|           | 120     | 50  | 11  | 20.20  | 12   | 24.00  |
| 0.15      | 72      | 66  | 4   | 6.00   | 23   | 34.85  |
|           | 96      | 139 | 31  | 22.30  | 78   | 56.10  |
|           | 120     | 106 | 34  | 28.33  | 31   | 25.83  |
| 0.25      | 72      | 50  | 5   | 10.00  | 10   | 20.00  |
|           | 96      | 90  | 25  | 27.38  | 34   | 37.78  |
|           | 120     | 73  | 36  | 49.32  | 17   | 23.78  |

## 2 同源四倍体的分离与鉴定

### 2.1 分离与鉴定方法

将变异株茎段或叶片接种在MS+3mg/L 6-BA+1~3mg/L GA<sub>3</sub>培养基上,以诱导不定芽。分离不定芽,转移到H+0.05mg/L NAA培养基上生根,然后经染色体检查,是否为多倍体。

同源四倍体鉴定包括形态学鉴定(气孔、腺体、叶色等)和染色体鉴定。气孔鉴定在同等条件下,取同一部位的试管苗叶片,撕下表皮或模印制片,然后显微测量气孔保卫细胞的长径和短径,气孔显著增大者为四倍体。采用扫描电镜观察茎尖和幼叶。染色体鉴定采用改良的F-BSG法。将F-BSG的前低渗、酶解、后低渗三个步骤省去,完成试管苗根尖的染色体制片。然后用OLYMPUS生物显微镜观察、照像。

### 2.2 结果与分析

#### 2.2.1 苎麻同源四倍体的分离

采用常规方法获得的多倍体,绝大多数为嵌合体。嵌合体植株一般采用反复分割的方法分离多倍体,但一般只能得到周缘嵌合体、倍性表现不稳定,而采用不定芽技术结合组织培养的方法可实现多倍体的有效分离。将秋水仙素诱变形成的嵌合体叶片或其他组织,接种到MS+3mg/L 6-BA 上进行不定芽诱导,经染色体检查和反复鉴定证明,可

以获得四倍体细胞所占比例高达 94% 的单株, 其余为三倍体细胞和非整倍体细胞。此外, 从反复继代培养的丛生芽分离得到的多倍体中, 也曾经获得四倍体细胞所占比例达到 92% 的单株。

### 2.2.2 苎麻同源四倍体的鉴定

形态学鉴定: 经种子处理的诱变材料与对照相比, 植株生长较缓慢。子叶肥厚、色深绿、开度小, 两子叶交接处茸毛密集丛生。电镜观察表明, 表皮毛明显增多, 变粗, 气孔增大, 而单位叶面积上的气孔数目则随倍性增加而递减(表 3)。

表 3 表皮气孔长径和短径的比较

Table 3 LSDtest of stoma long and short diameter

| 试验材料       | 气孔长径( $\mu\text{m}$ ) | 气孔短径( $\mu\text{m}$ ) |
|------------|-----------------------|-----------------------|
| 诱变材料1 (P1) | 34.425 <sup>A</sup>   | 28.000 <sup>A</sup>   |
| 诱变材料2 (P2) | 34.340 <sup>A</sup>   | 25.840 <sup>A</sup>   |
| 湘 苎 4 号    | 22.175 <sup>B</sup>   | 16.660 <sup>B</sup>   |
| 湘 苎 3 号    | 21.120 <sup>B</sup>   | 16.560 <sup>B</sup>   |
| 湘 苎 2 号    | 20.323 <sup>B</sup>   | 15.895 <sup>B</sup>   |

幼叶表皮上的腺体呈圆形。经诱变后, 其直径明显大于对照, 幼叶下表皮多为白色茸毛所覆盖。经电镜观察, 诱变幼叶上的茸毛粗而长, 且覆盖层也较厚。此外, 四倍体花粉粒比二倍体大 30%~50%。由此可见, 气孔、花粉粒、腺体显著增大可作为多倍体鉴定的间接指标。

染色体鉴定: 细胞学观察表明, 普通苎麻染色体  $2n=2x=28$ , 经诱变后加倍  $2n=4x=56$ 。诱变后细胞体积增大, 核和核仁也相应增大, 而且核仁数目增多, 同时有些诱变材料还出现重复加倍现象  $2n=8x=112$ 。此外, 还见到多核及微核现象, 间期染色中心明显增多。

## 二、苎麻不同倍性系列的建立与离体培养

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

单倍体 $D_{1a}(46)$ 、 $D_8(41)$ 由钟爱平博士提供。同源四倍体 $C_{22-1}$ 、 $C_{20-1}$ ：“湘芷三号”。

## 1.2 方法

三倍体的培育：以四倍体为母本与二倍体“湘芷三号”杂交，从后代中鉴定出三倍体。染色体鉴定采用F-BSG法。非整倍体的培育：以三倍体为母本与二倍体“湘芷三号”杂交，从后代中鉴定出各种非整倍体材料。

倍性材料的离体培养：直接从大田取材料，选择无病植株，切取20cm左右的茎段。去掉叶片，将麻茎浸泡在75%酒精中30秒钟，再用0.1%升汞消毒7~9分钟，然后用无菌水冲洗4~5次，切成小段进行培养。用种子作材料时，把种子包在纱布里，先用75%酒精消毒30秒钟，浸在含有效氯为1.6%的次氯酸钠(安替伏明)溶液中消毒15~20分钟，然后用无菌水冲洗4~5次，在无菌条件下将种子接种到不含任何激素的MS琼脂培养基上。培养温度25~28℃，光照时间每天10h；光照强度1500Lux。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同倍性苧麻系列的建立

单倍体材料采用钟爱平博士(1991~1992)通过化学药剂诱导无融合生殖而产生的单倍体。选用单倍体细胞所占比例最高的材料 $D_{1a}$ (单倍体细胞占62.5%)、 $D_8$ (单倍体细胞所占比例52.7%)。

三倍体产生途径一般有两种：①四倍体与二倍体杂交；②胚乳培养。最常用的是四倍体与二倍体杂交，但由于细胞质基因母性遗传的存在，正反交所产生的结果有差异。对苧麻而言，以四倍体作母本较好，这种方式较容易获得三倍体，而且三倍体植株数量多，有利于三倍体育种。反之，则三倍体植株很少，而且杂交很麻烦。杂交后代中有三种类型的材料：一类在外形上与四倍体接近；一类在外形上与二倍体相似，第三类介于两者之间。为了获得一系列非整倍体材料，作者又以三倍体作母本与二倍体杂交，虽然三倍体是不育的，但也非绝对不育，也有少量 $n+1$ 的配子是可育的，授以二倍体“湘芷三号”的花粉后，即形成 $2n+1$ 的三倍植株。三倍体结实率很低，不同株系结实率在0.05~0.85%之间。种子发芽率很低，而且发芽后成苗率也低，大量幼苗在第三片真叶期死亡。采用组织培养方法育苗后，可使成活率提高到80%以上。

### 2.2 不同倍性苧麻无性繁殖系的建立

#### 2.2.1 茎、叶愈伤组织的植株再生

茎、叶外植体接种在 $MS+0.2mg/L IAA+0.2mg/L GA_3+1mg/L 6-BA$ 培养基上，茎段愈伤组织发生快，多出现在切段的一端，也有出现在两端。叶片开始从切口的叶脉或

叶柄处形成愈伤组织,随后其他部位也逐渐肿大成瘤状,和二倍体一样,愈伤组织很容易产生,并且必需加1.0mg/L左右的6-BA,才可形成大量生长良好的愈伤组织。这些愈伤组织转移到分化培养基中培养,或在原来带有6-BA的诱导愈伤组织的培养基上培养,都能分化出苗,以MS+6-BA 2.0mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5mg/L的培养基较好,分化率高、苗生长健壮。

### 2.2.2 腋芽的快速增殖

带腋芽的茎段,培养在MS+0.5~1.5mg/L 6-BA培养基上,茎段切口处只产生少量愈伤组织,而腋芽萌动,迅速长大成苗,且这些苗的基部几个节的腋芽也长大成分枝苗,苗长势旺盛,且形态特征表现一致。

### 2.2.3 无性繁殖系的建立

当以上两类苗生长到3cm高时,即可切取下来,转移到H+0.05mg/L NAA生根培养基上,使其长根形成完整的植株。最后把生长健壮的植株,通过营养钵在苗圃炼苗,再移栽到大田。切下芽苗后剩余的部分继续培养在MS+1.5~2mg/L 6-BA +0.5mg/L GA<sub>3</sub>培养基上,又可形成大量丛生芽。丛生芽长大成苗后又可分割转接到生根培养基上形成完整的植株。

### 第三章 不同倍性芭麻形态解剖学观察

#### 1 材料与方法

##### 1.1 材料

供试材料为67'号、69'号、64号、65号、63号、62号、71号、68号(四倍体)、4号、18号、29号、13号、23号、30号(三倍体)、C20、0-2、0-5(二倍体)、46号、41号(单倍体)。

##### 1.2 方法

采用OLYMPUS实体显微镜观察诱变种子与对照种子发育过程。采用扫描电镜观察, 诱变材料与对照茎尖和幼叶, 采取同位叶撕取下表皮制片, 显微观察测量气孔大小。取即将开花的花蕾, 使其花粉散落在载玻片上, 分别用5%红墨水和KI- $I_2$ 染色, 显微观察测量。花粉培养采用丘荣熙(1984)提供的最佳配方: 琼脂2%、蔗糖2%、马铃薯汁20%, 将培养基调匀后用玻棒均匀地涂在载玻片上, 然后将干燥2小时的花粉播种在培养基上, 载玻片放入有湿润滤纸的培养皿内, 26~28℃下培养5小时, 然后进行显微观察。在头麻黑秆约三分之二时, 每个材料以平均株高和茎粗为标准选择4株, 切取茎基部、中部分别固定于F.A.A.固定液中, 用滑走切片机制片(切片厚度约40  $\mu$ m左右), 番红、亮绿染色, 随即在显微镜下观察测量纤维层厚度、纤维细胞大小及壁厚等解剖因子。

#### 2 结果与分析

##### 2.1 不同倍性芭麻形态特征

###### 2.1.1 经秋水仙素处理的种子变异株幼苗形态特征

经种子处理的诱变材料与对照相比, 生长较缓慢, 且随着浓度不同而异。诱变后子叶肥厚, 色深绿, 开度小, 两子叶交接处茸毛密集丛生。电镜观察表明, 表皮毛明显增多、变粗, 气孔增大, 而单位叶面积上的气孔数目则随倍性增加而递减。例如芭麻品种“黑皮芭”正常叶表皮上的气孔大小(长 $\times$ 宽)为 $19.75 \mu\text{m} \times 8.18 \mu\text{m}$ , 单位叶面积气孔数为98.77个/ $\text{mm}^2$ ; 诱变株叶片上的气孔也明显增大, 长 $\times$ 宽为 $31.82 \mu\text{m} \times 20.46 \mu\text{m}$ , 单位叶面积上的气孔数目仅为原品种的一半。“芦竹青”、“青壳麻”等品种经诱变后, 也获得了类似的结果。下胚轴的伸长和增粗也有较大变化, 与子叶开度相似, 胚轴伸长随浓度增高而递减; 而粗度则相反, 随着浓度增高而递增。例如芭麻品种“湘兰3号”种子处理浓度为0.025%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 变异株下胚轴长度相应为 $4.55 \pm 1.74 \mu\text{m}$ ,  $3.29 \pm 1.80 \mu\text{m}$ ,  $1.89 \pm 0.29 \mu\text{m}$ ,  $1.73 \pm 0.25 \mu\text{m}$ , 对照为 $10.50 \pm 2.55 \mu\text{m}$ 。就下胚轴粗度而言, 相应为 $0.72 \pm 0.14 \mu\text{m}$ ,  $0.87 \pm 0.22 \mu\text{m}$ ,  $0.95 \pm 0.14 \mu\text{m}$ ,  $0.99 \pm 0.06 \mu\text{m}$ , 对照为 $0.30 \pm 0.01 \mu\text{m}$ 。其余几个品种处理后的测定结果完全一致。胚根伸长

则随着浓度上升而递减。

幼叶表皮上的腺体呈圆形。经诱变后,其直径明显大于对照。例如苕麻品种湘芒3号和青壳麻的二倍体幼叶表皮上的圆球形腺体直径分别为  $7.66 \pm 1.67 \mu\text{m}$ ,  $6.02 \pm 0.70 \mu\text{m}$ , 经秋水仙碱诱变后,上述2个品种叶上腺体直径相应为  $11.23 \pm 1.09 \mu\text{m}$ ,  $10.91 \pm 1.34 \mu\text{m}$ 。处理与对照相比,分别增加了46.60%, 81.22%。幼叶下表皮多为白色茸毛所覆盖。经电镜观察,诱变株幼叶上的茸毛粗而长,且覆盖层也较厚(图1-11-16此图由董延瑜教授拍摄)。

### 2.1.2 不同倍性大田植株形态特征

与二倍体苕麻相比,不同倍性中以四倍体叶片最厚、颜色深绿,表面粗糙、多皱,叶缘锯齿深。三倍体叶片最大,颜色深绿,叶柄粗而长,叶缘锯齿大而深(见图1-2, 3),单倍体叶片则小而薄。叶片下表皮气孔大小,以四倍体气孔为最大,平均大小为  $374.45 \mu\text{m}^2$ ;其次为三倍体,气孔平均大小为  $256.91 \mu\text{m}^2$ ,变幅为  $231.17 \sim 291.63 \mu\text{m}^2$ ;二倍体平均气孔大小为  $179.75 \mu\text{m}^2$ ,变幅为  $162.69 \sim 202.87 \mu\text{m}^2$ (见表4)。四倍体气孔面积是二倍体气孔的2.08倍,三倍体气孔面积是二倍体气孔的1.43倍。单倍体气孔最小,气孔大小为  $121.82 \mu\text{m}^2$ 。

表4 不同倍性苕麻气孔大小

Table 4 The stoma size of different ploidy ramies

| 材 料<br>Material | 气孔长径( $\mu\text{m}$ )<br>The length of stoma | 气孔宽度( $\mu\text{m}$ )<br>the width of stoma | 气孔面积( $\mu\text{m}^2$ )<br>Stoma area |
|-----------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------|
| 64'             | $26.55 \pm 2.72$                             | $18.09 \pm 2.55$                            | 377.03                                |
| 72              | $26.42 \pm 3.55$                             | $17.93 \pm 3.10$                            | 371.86                                |
| 1               | $23.48 \pm 2.13$                             | $15.70 \pm 1.44$                            | 289.38                                |
| 18              | $23.35 \pm 1.97$                             | $15.91 \pm 2.16$                            | 291.63                                |
| 3               | $21.90 \pm 3.17$                             | $14.31 \pm 1.26$                            | 246.01                                |
| 29              | $21.10 \pm 2.52$                             | $15.05 \pm 2.13$                            | 249.28                                |
| 23              | $21.82 \pm 1.35$                             | $13.66 \pm 1.14$                            | 233.98                                |
| 17              | $20.45 \pm 1.93$                             | $14.40 \pm 1.82$                            | 231.17                                |
| 0-2             | $18.06 \pm 1.39$                             | $14.31 \pm 1.83$                            | 202.87                                |
| C20             | $16.89 \pm 1.07$                             | $13.10 \pm 1.09$                            | 173.69                                |
| 0-5             | $16.28 \pm 1.79$                             | $12.73 \pm 0.87$                            | 162.69                                |
| 46              | $14.53 \pm 1.23$                             | $10.68 \pm 1.03$                            | 121.82                                |

注: 64'、72为四倍体, 1、3、17、18、29、23均为三倍体, 46为单倍体, 0-2、0-5、C20、64、72为二倍体。

花粉粒大小以四倍体为最大, 平均直径为24.7  $\mu\text{m}$ , 其花粉平均染败率为17.6%, 典败率为11.9%, 花粉粒上萌发孔多, 一般为5~6个, 最多的有7个。三倍体花粉粒空壳率较高, 圆形花粉粒平均直径为19.50  $\mu\text{m}$ , 其油滴状内含物很少, 染败率为41.3%, 典败率为25.41%, 三倍体花粉粒有的比二倍体大, 有的则比二倍体小, 但总的趋势比二倍体要大。二倍体花粉粒平均直径为17.996  $\mu\text{m}$ , 平均染败率为11.56%, 典败率为5.1%, 可育率为84.33%, 单倍体花粉空壳多, 其花粉粒大小为16.3  $\mu\text{m}$ , 典败率为34.6%, 染败率为45.3%(见表5)。

表5 不同倍性苧麻花粉粒大小

Table 5 The size of pollen grain of different ploidy ramie plants

| 材料<br>Material | 花粉粒直径( $\mu\text{m}$ )<br>The diameter of pollen grain | 面积( $\mu\text{m}^2$ )<br>The area |
|----------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| 65             | 25.06 $\pm$ 1.68                                       | 514.46                            |
| 71             | 24.42 $\pm$ 1.49                                       | 468.12                            |
| 14             | 21.48 $\pm$ 1.36                                       | 362.19                            |
| 23             | 20.25 $\pm$ 1.87                                       | 321.90                            |
| 4              | 19.96 $\pm$ 1.23                                       | 312.75                            |
| 17             | 19.35 $\pm$ 1.39                                       | 293.92                            |
| 29             | 18.83 $\pm$ 1.65                                       | 278.34                            |
| 18             | 18.45 $\pm$ 1.13                                       | 267.22                            |
| 13             | 18.20 $\pm$ 1.74                                       | 260.02                            |
| D1             | 18.44 $\pm$ 1.58                                       | 266.93                            |
| D2             | 18.22 $\pm$ 1.36                                       | 260.60                            |
| D3             | 19.22 $\pm$ 0.904                                      | 289.98                            |
| C20            | 17.05 $\pm$ 1.25                                       | 228.20                            |
| 46             | 16.36 $\pm$ 2.31                                       | 208.57                            |

注: 65、71为四倍体, D1、D2、D3、C20为二倍体, 其他为三倍体, 46为单倍体

花粉粒培养试验表明二倍体萌发率最高, 平均为55%, 且花粉管发育正常, 长 $\times$ 宽为76.18 $\times$ 3.46( $\mu$ )。四倍体花粉萌发率比二倍体低, 平均为31.89%, 变幅为11.76~45.45%, 花粉管形态出现多种畸形, 有的萌发2~3根花粉管, 有的花粉管末端膨大呈球形, 有的分枝。四倍体花粉粒有大、小两种类型, 一般小花粉粒萌发数量多, 大花粉粒较难萌发, 且花粉管肥大。花粉管长 $\times$ 宽平均为86.81 $\times$ 8.17( $\mu$ )。三倍体花粉萌发率很低, 平均小于0.1%, 且萌发的花粉管畸形多, 大多呈小球形, 即不再向前延伸, 一

个花粉粒萌发2~3根花粉管。单倍体花粉萌发率也很低,萌发率小于0.1%,花粉管短而细,内含物很少、末端不清晰。

表 6 不同倍性苧麻花粉粒的萌发

Table 6 The frequency of germination of pollen grain of different ploidy ramie plants

| 材料号<br>Material                               | 71   | 69     | 68    | 18   | 13    | 4     | C20   | 0-5   | 46    |
|-----------------------------------------------|------|--------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 萌发率(%)<br>Frequency of<br>germination         | 11.7 | 38.46  | 45.45 | <0.1 | <0.1  | <0.1  | 60    | 50    | <0.1  |
| 花粉管长( $\mu$ )<br>The length of<br>pollen tube | 91.5 | 115.63 | 53.30 | 32.3 | 8.075 | 43.61 | 66.22 | 86.13 | 63.21 |
| 花粉管宽( $\mu$ )<br>The width of<br>pollen tube  | 7.75 | 7.88   | 8.88  | 6.46 | 8.075 | 6.46  | 3.68  | 3.23  | 3.12  |

注: 71、69、68均为四倍体, 18、13、4为三倍体, C20、0-5为二倍体, 46为单倍体。

不同倍性种子大小差异很显著(见图1-8), 四倍体种子体积比二倍体要大一倍以上, 四倍体种子呈“铁饼”形, 去除果皮后为黑色, 而二倍体种子呈扁椭圆形, 种皮为绿色。三倍体种子与二倍体种子大小差不多, 但饱满度不及二倍体, 单倍体种子小, 而且不饱满。不同倍性之间结实率差异很大, 四倍体结实率平均为34.25%, 变幅为23.0~44.5%, 三倍体结实率很低, 约0.05~0.85%, 单倍体结实率为0.13%, 二倍体结实率平均为75.3%。不同倍性苧麻种子萌发率也有较大差异, 一般二倍体种子萌发率最高, 其次是四倍体、三倍体和单倍体种子萌发率较低。例如, 将种子在培养皿内发芽, 二倍体C20、0-5、0-2发芽率平均为98.3%, 四倍体69'、68、71平均发芽率为69.85%, 三倍体18、13、4平均发芽率为10.3%, 单倍体46号发芽率为11.5%。

## 2.2 不同倍性苧麻茎的解剖特性

不同倍性苧麻茎横切面纤维层厚度、纤维细胞大小、壁厚的观察结果见表7、8, 从表中可以看出四倍体纤维细胞最大, 平均直径为76.59  $\mu\text{m}$ , 其次为三倍体, 平均直径为67.24  $\mu\text{m}$ , 变幅为53.46~74.38  $\mu\text{m}$ , 二倍体平均直径为63.27  $\mu\text{m}$ , 变幅为61.11~65.06  $\mu\text{m}$ , 壁厚以四倍体为最厚, 平均为9.835  $\mu\text{m}$ , 二倍体次之, 平均为9.496  $\mu\text{m}$ , 变

幅为 $8.66\sim 10.17\ \mu\text{m}$ , 三倍体平均壁厚为 $8.46\ \mu\text{m}$ , 变幅为 $6.88\sim 9.56\ \mu\text{m}$ 。纤维细胞平均直径, 四倍体比二倍体增加 $13.32\ \mu\text{m}$ , 三倍体纤维细胞平均直径介于二者之间, 但变幅范围大, 有的纤维细胞比二倍体还小, 有的则和四倍体接近, 但三倍体胞壁较薄(见表7)。纤维层厚度以三倍体为最大, 平均纤维层厚度为 $330.04\ \mu\text{m}$ , 变幅为 $306.85\sim 370.80\ \mu\text{m}$ , 其次是四倍体, 其平均纤维层厚度为 $323.64\ \mu\text{m}$ , 变幅为 $292.83\sim 368.22\ \mu\text{m}$ , 二倍体纤维层平均厚度为 $246.77\ \mu\text{m}$ , 变幅为 $239.02\sim 251.94\ \mu\text{m}$ 。每个视野纤维细胞数以二倍体为最多, 平均为 $10.75$ 个/视野, 四倍体平均为 $9.33$ 个/视野, 变幅为 $7\sim 11$ 个/视野, 三倍体最小, 平均为 $9.25$ 个/视野, 变幅为 $7.25\sim 11.75$ 个视野(表8)。巨原纤形态四倍体、三倍体与二倍体相似, 均呈圆柱形, 有不同程度的扭曲, 多数趋向轴向排列, 取向度较高。同层次及相邻层次的巨原纤普遍存在着交织现象, 但多倍体巨原纤比二倍体粗, 分布稍稀。另外还观察到多倍体导管比二倍体大。

表 7 不同倍性苧麻纤维细胞大小

Table 7 The size of fibre cells of different ploidy ramie plants

| 材 料                                     | 纤维细胞长径( $\mu\text{m}$ )<br>Thelonger diameter | 纤维细胞短径( $\mu\text{m}$ )<br>Theshorter diameter | 壁 厚( $\mu\text{m}$ )<br>Fibre cell wall<br>thickness( $\mu\text{m}$ ) | (长径+短径)/2( $\mu\text{m}$ )<br>(The longer+<br>the shorter)/2( $\mu\text{m}$ ) |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Material of fibre cell( $\mu\text{m}$ ) | of fibre cell( $\mu\text{m}$ )                | of fibre cell( $\mu\text{m}$ )                 | thickness( $\mu\text{m}$ )                                            | the shorter)/2( $\mu\text{m}$ )                                               |
| 67'                                     | $105.39\pm 23.58$                             | $48.84\pm 10.92$                               | $10.04\pm 0.81$                                                       | 77.12                                                                         |
| 64                                      | $103.20\pm 29.46$                             | $48.90\pm 10.21$                               | $9.63\pm 0.51$                                                        | 76.05                                                                         |
| 13                                      | $98.06\pm 24.58$                              | $50.71\pm 9.04$                                | $8.33\pm 0.78$                                                        | 74.38                                                                         |
| 18                                      | $95.29\pm 29.55$                              | $52.33\pm 11.21$                               | $8.88\pm 0.78$                                                        | 73.81                                                                         |
| 23                                      | $90.12\pm 21.61$                              | $47.48\pm 12.60$                               | $8.64\pm 1.26$                                                        | 68.8                                                                          |
| 4                                       | $91.14\pm 26.38$                              | $40.38\pm 10.49$                               | $9.56\pm 1.26$                                                        | 65.76                                                                         |
| 31                                      | $69.12\pm 18.83$                              | $37.79\pm 8.88$                                | $6.88\pm 0.54$                                                        | 53.46                                                                         |
| C20                                     | $83.40\pm 18.31$                              | $46.73\pm 8.14$                                | $8.66\pm 1.12$                                                        | 65.06                                                                         |
| 0-5                                     | $81.07\pm 13.73$                              | $46.19\pm 6.88$                                | $9.66\pm 0.58$                                                        | 63.63                                                                         |
| 0-2                                     | $79.04\pm 20.28$                              | $43.19\pm 8.14$                                | $10.17\pm 1.49$                                                       | 61.11                                                                         |

注: 67'、64为四倍体; C20、0-5、0-2为二倍体; 其余为三倍体。

表 8 不同倍性苧麻纤维层厚度及每视野纤维数

Table 8 Fiber layer thickness and fibre cells/scope of different ploidy ramie plants

| 材 料<br>Material                                 | 64     | 69     | 67'    | 4     | 13     | 23     | 31     | 18     | 0-2    | 0-5    | C20    |
|-------------------------------------------------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 纤维层厚度( $\mu\text{m}$ )<br>Fibre layer thickness | 368.22 | 292.83 | 310.08 | 370.8 | 331.08 | 306.85 | 306.85 | 334.63 | 251.94 | 239.02 | 249.36 |
| 每视野纤维数(个)<br>Fibre cells/scope                  | 10     | 11     | 7      | 11.75 | 10     | 8.25   | 7.25   | 9      | 9      | 10.5   | 12.75  |

注: 64、69、67' 为四倍体, 0-2、0-5、C20 为二倍体, 其他为三倍体

## 第四章 不同倍性苎麻的细胞学观察

植物染色体数目变异一般有几类: ①秋水仙素、富民隆等化学诱变产生多倍体; ②物理因素, 如温度骤变、X射线、激光、嫁接、切割等刺激产生多倍体; ③多倍体与二倍体杂交产生一系列多倍体和非整倍体, 自然界中还存在未进行减数分裂的配子受精而产生多倍体; ④组织培养过程中产生染色体数目的变异(张灵南等, 1984, 王仑山等, 1990); ⑤大多数胚乳培养产生的植株, 染色体数目变化呈现出多样性(顾淑荣等, 1987, 陈素萍等, 1989); ⑥远缘杂交后代染色体数目往往发生变化; ⑦化学诱导无融合生殖, 后代染色体数目变化较大(罗鹏, 1981, 周世琦, 1980, 赵佐宇等, 1988, Illies 1974)。对于苎麻使用秋水仙素结合组织培养所产生的染色体数目的变化, 多倍体杂交后代染色体数目的多样性, 以及孤雌生殖后代染色体数目的变化, 国内外均未见报道。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

钟爱平博士提供的化学诱导孤雌生殖后代28株: “湘兰三号”、“湘兰三号”种子。

#### 1.2 方法

种子消毒后接种到 $Ms+6-BA\ 0.5\sim3mg/L$ 培养基上培养, 发芽后经秋水仙素 $0.1\sim0.25\%$ 处理3~4d, 再转至 $Ms+2\sim3mg/L\ 6-BA+1\sim2mg/L\ GA_3$ 上培养成苗。待形成不定芽后, 再分割并转至生根培养基 $H+0.05mg/L\ NAA$ 上培养。移栽大田后以四倍体为母本与二倍体杂交, 杂交种子灭菌后培养在 $H+0.05mg/L\ NAA$ 培养基上培养成苗, 再移栽大田。选择三倍体水平的植株与二倍体栽培品种杂交, 杂交种子灭菌后接种到 $H+0.05mg/L\ NAA$ 培养基上培养成苗, 移栽大田。细胞学观察: 以根尖和茎尖为材料, 采用F-BSG法制片, 用OLYMPUS PM-10AD显微镜观察、计数并拍照。对有丝分裂行为的观察, 将根尖和茎尖用卡诺固定液直接固定→水洗4次左右→酶解1h→压片→火焰干燥→Giemsa染色, 显微观察。

### 2 结果与分析

#### 2.1 苎麻单倍体水平的植株染色体数目观察

对苎麻28个孤雌生殖后代进行了染色体观察, 共检查了1345个根尖, 结果发现染色体数目并不一致, 除单倍体外, 还有大量混倍体植株。依倍性变化, 这些材料大致可归

纳为两类：第一类是单倍体水平的植株，共有6株，其染色体数目变动在10~20之间，单倍体细胞所占比例在50.0~62.5%之间(见表9)。第二类是混倍体植株共22株，其染色体数目变化很大，变动在10~56之间，其中单倍体细胞占3.9%，二倍体细胞占39.6%，三倍体细胞占15.1%，四倍体细胞占1.9%，还含有一些非整倍体细胞。

表 9 单倍体水平孤雌生殖苎麻植株染色体数目的分布

Table 9 Distribution of chromosome numbers of the parthenogenic plants of ramie in haploid level

| 材 料<br>Material | 染色体数目<br>chromosome number | 12   | 13   | 14   | 16   | 18   | 20   | 合计    |
|-----------------|----------------------------|------|------|------|------|------|------|-------|
| 8               | 细胞数                        | 9    | 9    | 30   | 6    |      | 3    | 57    |
|                 | Number of cells            |      |      |      |      |      |      |       |
|                 | 百分数 (%)                    | 15.8 | 15.8 | 52.7 | 10.5 |      | 5.2  | 100.0 |
|                 | Percentage(%)              |      |      |      |      |      |      |       |
| 13              | 细胞数                        |      |      | 25   | 5    | 5    | 5    | 40    |
|                 | Number of cells            |      |      |      |      |      |      |       |
|                 | 百分数 (%)                    |      |      | 62.5 | 12.5 | 12.5 | 12.5 | 100.0 |
|                 | Percentage(%)              |      |      |      |      |      |      |       |

## 2.2 秋水仙素诱变苎麻染色体数目的观察

采用秋水仙素，结合组织培养方法共处理10000多株试管苗。根据麻苗形态特征，结合气孔、花粉粒观测，从中选择70个材料进行染色体数目检查，共观察了688个分裂相，发现染色体数目并不一致，其中四倍体细胞占44.06%、三倍体细胞占33.9%，非整倍体细胞及二倍体细胞占22.3%。不同植株染色体数目不同，有些偏向于四倍体水平，此类有17株占24.3%，其中一个材料四倍体细胞所占比例高达94%；也有偏向于三倍体水平的植株，此类有7株占10%，其中有一个材料三倍体细胞所占比例高达86%；还有46株占65.7%的植株，染色体数目比较混乱，难于归类。可见秋水仙素结合组织培养诱导苎麻多倍体，不仅可以获得四倍体水平高的植株，还可获得三倍体水平较高的植株。

现将三类典型变异株的染色体数目分布列于表10, 另外, 还对四倍体、三倍体水平的植株进行了有丝分裂观察, 发现了多极分裂、不均等分裂、染色体落后等异常有丝分裂行为(图III), 这些不正常的有丝分裂导致了染色体数目的异常。

表 10 诱导变异株染色体数目的分布

Table 10 Distribution of chromosome numbers of induced polyploids

| 倍性类型<br>Types of polyploids | 株 号<br>Plant No. | 项 目<br>Items           | 染色体数目类型<br>Types of chromosome numbers |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 合计<br>Total |
|-----------------------------|------------------|------------------------|----------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------|
|                             |                  |                        | 14                                     | 21 | 22 | 28 | 29 | 35 | 36 | 42 | 43 | 49 | 50 | 56 |             |
|                             |                  |                        | 20                                     | 27 | 34 | 41 | 48 | 55 |    |    |    |    |    |    |             |
| 四倍体<br>Tetra-<br>ploid      | C22-1            | 细胞数<br>Number of cells |                                        |    |    |    |    | 1  | 2  |    |    |    | 47 |    | 50          |
|                             |                  | 百分率(%)<br>Percentage   |                                        |    |    |    |    | 2  | 4  |    |    |    | 94 |    | 100         |
|                             | C20-1            | 细胞数<br>Number of cells | 3                                      |    | 10 |    | 2  | 7  | 3  | 1  | 1  | 72 | 2  |    | 101         |
|                             |                  | 百分率(%)<br>Percentage   | 3                                      |    | 10 |    | 2  | 7  | 3  | 1  | 1  | 71 | 2  |    | 100         |
|                             | C25-2            | 细胞数<br>Number of cells |                                        |    | 2  |    | 3  | 43 |    |    |    |    | 2  |    | 50          |
|                             |                  | 百分率(%)<br>Percentage   |                                        |    | 4  |    | 6  | 86 |    |    |    |    | 4  |    | 100         |
| 三倍体<br>Triploid             |                  |                        |                                        |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |             |
| 混倍体<br>Mixo-<br>ploid       | C4-2             | 细胞数<br>Number of cells |                                        |    | 9  |    | 5  | 3  | 10 | 2  | 1  | 5  | 15 |    | 50          |
|                             |                  | 百分率(%)<br>Percentage   |                                        |    | 18 |    | 10 | 6  | 20 | 4  | 2  | 10 | 30 |    | 100         |
|                             |                  |                        |                                        |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |             |

### 2.3 四倍体水平的苧麻杂交后代染色体数目的观察

根据染色体鉴定结果, 选择四倍体所占比例高的单株作母本, 与栽培品种( $2n=2X=28$ )杂交, 据经典遗传学规律, 其杂交后代应可得到完全三倍体( $2n=3X=42$ )。1994年我们对241个杂交后代进行根尖、茎尖的染色体观察结果, 发现染色体数目变化十分

复杂, 3990个分裂相中, 三倍体细胞391个占9.8%, 35条的细胞数626个占15.6%, 近二倍体细胞的个数1832个占45.91%, 还有各种类型的其它细胞, 染色体数目变幅在12~63之间(图II)。在上述241个材料中选出三倍体水平较高的植株共33株, 三倍体细胞所占比例大于50%, 并选择三个类型的典型株的染色体数目分布列于表11、12、13。

表 11 杂交后代三倍体水平植株染色体数目分布

Table 11 Distribution of chromosome numbers of triploid level plant in hybrid generation

| 染色体数目<br>Number of<br>chromosomes | 14 | 16 | 18 | 20 | 24 | 28 | 34 | 35 | 39 | 40 | 42 | 44 | 合 计<br>Total |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------------|
| 细胞数<br>Number of<br>cells         | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 8  | 2  | 26 | 1  | 3  | 46 | 1  | 92           |
| 百分率(%)<br>Percentage              | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 9  | 2  | 28 | 1  | 3  | 50 | 1  | 100          |

注: 供试材料为A25-2 Material: A25-2

表 12 杂交后代二倍体水平植株染色体数目分布

Table 12 Distribution of chromosome numbers of diploid level plant in hybrid generation

| 染色体数目<br>Number of<br>chromosomes | 14 | 17 | 18 | 20 | 21 | 24 | 25 | 26 | 28 | 合 计<br>Total |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------------|
| 细胞数<br>Number of<br>cells         | 2  | 4  | 2  | 3  | 9  | 3  | 4  | 6  | 18 | 51           |
| 百分率(%)<br>Percentage              | 4  | 8  | 4  | 6  | 18 | 6  | 8  | 12 | 35 | 100          |

注: 供试材料为A35-1 Material: A35-1

表 13 杂交后代混倍体水平植株染色体数目分布

Table 13 Distribution of chromosome numbers of mixoploid plant in hybrid generation

| 染色体数目<br>number of<br>chromosome | 12 | 16 | 21 | 25 | 26 | 27 | 28 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 40 | 42 | 56 | 合 计<br>Total |
|----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------------|
|                                  | 14 | 20 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |              |
| 细胞数<br>Number of cells           | 9  | 4  | 14 | 2  | 1  | 1  | 20 | 1  | 2  | 3  | 5  | 3  | 3  | 3  | 1  | 77           |
| 百分数 (%)<br>Percentage(%)         | 12 | 5  | 18 | 3  | 1  | 1  | 26 | 1  | 3  | 4  | 6  | 4  | 4  | 10 | 1  | 100          |

## 2.4 三倍体水平的苎麻杂交后代染色体数目的观察

根据传统的遗传学理论, 植株三倍体与二倍体杂交, 一般产生三体等一系列非整倍体后代。根据染色体鉴定结果, 选择三倍体细胞所占比例高的植株作母本, 与二倍体栽培品种杂交。我们观察了10个杂交后代材料。虽然发现有 $2n=2x+1=29$ 的三体细胞, 但未发现三体细胞所占比例高的植株, 而且染色体数目变化更为复杂, 变幅在14~84之间。10株中发现近三倍体水平的植株两个, 其余植株染色体数目分布很乱, 而且含有大量非整倍体细胞(表14)。从植株形态看, 近三倍体植株生长势较强, 而非整倍体植株生长势相对较弱, 而且畸形苗多, 生活力较差, 有些逐渐死亡。这可能与含有大量非整倍体细胞有关。

表 14 三倍体水平的植株杂交后代染色体数目分布

Table 14 Distribution of chromosome numbers of hybrid generations of triploid level plants

| 材 料<br>Material | 染色体数目<br>number of<br>chromosome | 25 | 28 | 29 | 30 | 33 | 34 | 35 | 36 | 38 | 39 | 40 | 42 | 63 | 84 | 合 计<br>Total |
|-----------------|----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--------------|
| B4-2            | 细胞数<br>Number of cells           | 1  | 5  | 1  | 2  | 1  | 2  | 4  | 1  | 3  | 2  | 3  | 25 | 1  | 1  | 52           |
|                 | 百分数 (%)<br>Percentage(%)         | 2  | 10 | 2  | 4  | 2  | 4  | 8  | 2  | 6  | 4  | 6  | 48 | 2  | 2  | 100          |
|                 | 染色体数目<br>number of<br>chromosome | 14 | 15 | 16 | 18 | 19 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 27 | 28 | 29 | 30 | 35           |
| B2-3            | 细胞数<br>Number of cells           | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 5  | 1  | 3  | 1  | 3  | 2  | 5  | 11 | 1  | 43           |
|                 | 百分数 (%)<br>Percentage(%)         | 5  | 5  | 5  | 5  | 2  | 12 | 2  | 7  | 2  | 7  | 5  | 12 | 26 | 2  | 100          |
|                 | 染色体数目<br>number of<br>chromosome | 14 | 15 | 16 | 18 | 19 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 27 | 28 | 29 | 30 | 35           |

## 第五章 不同倍性苕麻同工酶及光合作用研究

自从Markert和Moller首先提出同工酶这一概念后(Markert, C.L.1959), 同工酶技术已在多种植物上得到广泛的重视和应用。同工酶技术的应用归纳起来有以下几个方面:①在遗传育种方面主要用于:种质资源的研究(起源及演变);杂种优势的预测;遗传基因定位;体细胞融合杂种和鉴定;远缘杂种的鉴定;雄性不育性的研究及花粉植株来源鉴定。②在辐射育种中,可作为辐射效应的生化指标;突变体的早期鉴定及诱导杂种突变体的鉴别。③在生理学方面:主要用于植物发育的研究。另外,同工酶还可应用于病理方面的研究。苕麻方面同工酶已有一些研究报道。胡能书等(1991)利用同工酶技术对苕麻资源的亲缘关系作了系统的研究。唐明远(1982)报道,苕麻过氧化物酶同工酶的含量、活性的大小与产量呈正相关,而严文淦等(1984)报道却恰恰相反。尹帮奇(1984~1987)研究了同工酶等生化指标与苕麻产量、品质的关系,以此对早期育种材料进行鉴定。但对于不同倍性苕麻同工酶的差异,国内外尚未见报道。

作物叶片的光合作用、蒸腾作用、呼吸作用、水分分散导性及 $\text{CO}_2$ 扩散导性自60年代以来,已被广泛深入地研究。光合作用是唯一能把太阳能转化为稳定的化学能贮藏在有机物中并长期保存的自然过程,它是作物产量形成的基础。光合作用的研究一直是作物生理学最活跃的领域,在大田、园艺、牧草及林木等和生理研究中有广泛的应用。苕麻光合作用的研究已有不少报道(杨必泉等1984,彭定群等1986,张月娟等,1988,郭清泉,1988,刘飞虎等,1991),但这些报道均是以二倍体栽培种为材料,对于不同倍性苕麻光合作用的比较研究,尚未见报道。

### 1 材料与与方法

#### 1.1 供试材料

单倍体46号、单倍体41号、四倍体67'、四倍体63、三倍体4号、三倍体18号、嘉禾白脚麻、黄壳早

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 同工酶研究方法

①制样:以不同倍性苕麻苗期叶片为材料,用自来水洗干净、晾干,称取0.5g,加0.8ml 1/5 浓度的凝胶缓冲液以及0.8ml 40% 蔗糖液,于玻璃研钵中捣成糊状,转入

2.0ml 离心管中, 以每分钟5000转离心15分钟, 上清液即为酶液, 置于4℃冰箱备用, 时间3天为限。

② 电泳: 采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶不连续电泳法。浓缩胶缓冲液为pH6.7 和 Tris-HCl 凝胶浓度为3.3%, 分离胶浓度为7.5%, 缓冲液为pH8.9 Tris-HCl, 阳极缓冲液为pH8.3 Tris-甘氨酸。点样量50  $\mu$ l, 稳压300V, 4℃冰箱中电泳3~4小时, 溴酚兰指示前沿。

③ 染色: 过氧化物酶染色液为100ml 联苯胺+2ml 醋酸+0.3ml 过氧化氢+100ml 蒸馏水, 染色5分钟, 水漂洗, 清水浸泡数日。酯酶染色液为: 100mg 醋酸-a-萘酯+100mg 醋酸- $\beta$ -萘酯+100mg 醋酸羧基半兰 RR, 少许丙酮溶解加入, 入0.2M pH6.5 的磷酸缓冲液, 染色1.0~1.5小时, 水漂洗, 清水浸泡数日。

### 1.2.2 光合作用研究方法

本试验首次采用北京农业大学研制的BAU 光合测定系统。该仪器具有测定速度快、对样品无损伤, 可同时测定多项生态生理指标, 测量精确, 误差小等特点。于头麻生长中期, 从每个材料选择5个生长一致, 具有代表性的植株, 采用BAU 光合测定系统, 同步测定样株等5叶(顶部约2cm<sup>2</sup>大小叶片起往下数)田间净光合强度(Pn)、蒸腾强度(Tr)、气孔阻力(SR)、光合有效辐射(PAR), 水分利用率(WE)、每片叶被测定面积为10.1736cm<sup>2</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同倍性苎麻过氧化物酶同工酶的表现特征

不同倍性苎麻生长前期叶片中, 过氧化物酶同工酶从阴极到阳极共有3~9条酶带(见图IV), 根据其迁移率的大小和酶带的特征, 从阴极到阳极依次把酶带分成A、B、C三个区带, A区共三条酶带, 活性较弱, 染色时显色较浅、显色较迟。其中Rf=0.128的酶带为各种倍性苎麻所共同拥有。而另外两条酶带(Rf=0.027、Rf=0.082)为多倍体所独有, 四倍体、三倍体均有此两条酶带。故这两条酶带可作为多倍体的特征酶带。B区共三条酶带, 不同材料差异也很大, 四倍体和二倍体未发现此种带, 三倍体18号有三条且活性较强, 三倍体4号材料在B区, 却只有一条酶带, 而单倍体却有三条酶带。C区共三条酶带, 除黄壳早只有两条酶带, 其他材料均有三条酶带。不同材料酶的活性稍有差异。C区酶带不同倍性之间差异小, 难以辨别。另外, 从图中还可看出单倍体41号与嘉禾白脚麻的酶带很相似, 而41号恰好是嘉禾白脚无融合生殖生产的单倍体。而46号单倍体却比二倍体酶带更丰富, 活性也更强, 其原因尚不清楚, 可能与单倍体自然加倍有关。

## 2.2 不同倍性苕麻酯酶同工酶表现特征

苗期叶片中的酯酶同工酶带数少, 只有3~4条酶带, 且酶的活性比过氧化物酶要弱得多。酯酶同工酶的各酶带迁移率比较一致, 不同倍性之间看不出差异。酯酶同工酶电泳图(见图V)。

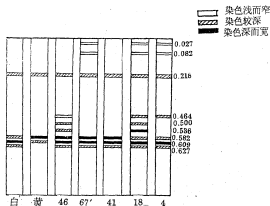


图 IV 不同倍性苕麻过氧化物酶同工酶带

FigIV POD isozyme stripes of different ploidy ramie

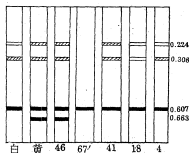


图 V 不同倍性苕麻酯酶同工酶带

FigV Esterase isozyme stripes of different ploidy ramie

### 2.3 不同倍性苧麻净光合强度的差异

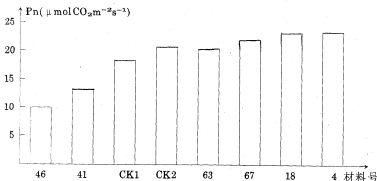
在田间活体测定的结果, 不同材料净光合强度差异十分明显, (见表15) 其中单倍体46号净光合强度最小, 仅 $10.11 \mu \text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{S}^{-1}$ , 最高为三倍体4号材料, 其光合强度为 $24.0 \mu \text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{S}^{-1}$ 。依净光合强度的大小排列如图VI, 从图中可以看出三倍体净光合强度最高, 其次为四倍体、二倍全居中, 单倍体光合强度最弱。当然, 我们所用的材料有限, 是否具有普遍性的规律, 还有待扩大材料范围。从营养生长来看, 三倍体长势最旺, 单倍体生长最差, 二倍体、四倍体居中。

表 15 不同倍性苧麻第5叶净光合强度的差异

Table 15 The difference of the fifth leaf Pn among different ploidy plants of ramie

| 材 料<br>material | 67'(4×) | 63(4×) | 4(3×) | 18(3×) | CK1(2×) | CK2(2×) | 41(×) | 46(×) |
|-----------------|---------|--------|-------|--------|---------|---------|-------|-------|
| Pn              | 23.1    | 22.5   | 24.0  | 23.8   | 19.1    | 22.7    | 14.0  | 10.1  |

注: 67'、63为四倍体; 4、18号为三倍体; 41、46为单倍体; Pn:  $\mu \text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$



图VI 不同倍性苧麻净光合强度差异

Fig VI. The difference of Pn of different ploidy plants

前人研究结果表明, 二倍体苧麻光合作用与产量的相关性很强, 特别是与单株产量

相关性更明显。不同倍性之间的这种相关性是否如此,还有待进一步研究,例如四倍体虽然光合强度大,但生长势并不旺盛,但在同一倍性水平这种相关性又能体现出来,如三倍体4号材料营养生长优势比18号强,净光合强度也高,二倍体和单倍体也分别存在这种相关性。

#### 2.4 不同倍性苧麻蒸腾强度的差异

蒸腾作用在植物生命活动中有重大的意义,蒸腾作用是植物对水分的吸收和运输的一个主要动力,它对吸收矿物质和有机物,以及这两类物质在体内运输都是有利的,另外还可降低叶片的温度,避免太阳强烈照射而灼烧叶片。蒸腾作用包括角质层蒸腾和气孔蒸腾,气孔蒸腾是最主要的形式。气孔蒸腾速率与气孔周长成比例,而不和小孔面积成比例,故叶片气孔小单位面积气孔数目多,蒸腾强度大,而气孔大单位面积气孔数目少则蒸腾作用弱。据观察苧麻四倍体气孔面积比二倍体大,单位面积气孔数目少,如四倍体 III-A 气孔大小为  $26.55 \times 18.09 (\mu\text{m}^2)$ ,而气孔数目则为  $49.38 \text{ 个}/\text{mm}^2$ ,而对照(二倍体)气孔大小为  $18.75 \times 14.18 (\mu\text{m}^2)$ ,而气孔数目为  $98.77 \text{ 个}/\text{mm}^2$ ,故四倍体的蒸腾强度要比二倍体弱得多,三倍体气孔大小与密度处于四倍体与二倍体之间。单倍体气孔小,但单倍体面积气孔数则和四倍体差不多,且气孔强度小,故蒸腾强度也较低。作者对不同倍性苧麻蒸腾作用进行了测定,其结果见表16,二倍体蒸腾强度最大,四倍体、单倍体蒸腾强度较低,三倍体蒸腾强度处于中间水平,而且蒸腾强度大的材料其中叶温较低,蒸腾强度小的材料,叶温则较高。

表 16 不同倍性苧麻蒸腾强度的差异

Table 16 The difference of transpiration rate among different ploidy plants of ramie

| 材 料<br>Material | CK1  | CK2  | 4    | 18   | 41   | 46   | 63   | 67'  |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 蒸腾强度<br>Tr      | 2941 | 2344 | 2294 | 2248 | 1968 | 1869 | 1802 | 1781 |
| 叶 温<br>Tl(°C)   | 38.2 | 38.4 | 38.6 | 38.9 | 39.0 | 39.0 | 39.0 | 39.6 |

注: CK1为嘉禾白脚麻, CK2为黄壳早; 4号、18号为三倍体; 41号、46号为单倍体; 67'、63为四倍体。  
Tr单位为  $\text{H}_2\text{O mg dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$

#### 2.5 不同倍性苧麻气孔阻力的差异

研究结果表明不同倍性之间气孔阻力有一定的规律性,四倍体和三倍体气孔阻力较

小, 二倍体次之, 单倍体气孔阻力最大(表17)。这可能与气孔大小及气孔下腔大小有关, 多倍体气孔大故气孔阻力小, 单倍体气孔最小, 故气孔阻力最大。

表 17 不同倍性苧麻气孔阻力差异

Table 17 The difference of Stomatal resistance among different ploidy plants ramies

| 材 料<br>Material                  | 46     | 41     | 白脚麻    | 黄壳早    | 4      | 18     | 67'    | 63     |
|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 气孔阻力<br>SR( $\text{cm s}^{-1}$ ) | 0.6    | 0.4    | 0.3    | 0.3    | 0.2    | 0.2    | 0.2    | 0.2    |
| 气孔大小<br>$\mu\text{m}^2$          | 136.13 | 158.24 | 210.06 | 220.34 | 245.01 | 291.63 | 371.86 | 377.03 |

## 第六章 苧麻三倍体育种

1964年, 台湾Chi C.Y报道成功地培育出超高产四倍体新品系。由于他的影响, 自八十年代开始, 不少科研单位苧麻多倍体育种工作均集中在四倍体的选育, 但都未获得优良品系。中国农业科学院麻类研究所培育了大量的四倍体, 并进行了田间比较试验, 未获得优势体系而中止了该项研究。本研究也碰到了相同的困难, 也曾经想放弃多倍体育种项目。在总结过去失败教训的基础上, 改变了原来的四倍体育种的方向, 提出了三倍体育种的思路。经过四年的育种实践, 证明了这一方向是正确的。现将三倍体育种的初步结果报道如下:

### 1 材料与方法

以“湘苎三号”种子为材料, 采用组培方法诱导大量四倍体。通过田间观察, 选择相对较好的四倍体作为母本, 以“湘苎三号”作父本进行杂交, 获得了三倍体。从三倍体群体中选择比“湘苎三号”优良的单株, 然后采用嫩梢扦插繁殖育苗, 每个材料种植一行, 以“湘苎三号”作对照, 进行并行比较试验。1997到1998两年内, 已筛选出5个优良并行正在按计划进行品系比较试验→区域试验→生产试验等一系列育种程序。

## 2 结果与分析

### 2.1 四倍体母本的选择

1993年共获得同源四倍体材料2000个。经过两年田间观察比较,发现四倍体虽然茎秆较粗,麻皮较厚,但植株较矮,分株数少,工艺成熟较迟,纤维支数低,一般比二倍体低300支左右,并且随着年份的递增,麻株逐渐矮化变小,经济价值低。从2000个材料中,我们选择了10个经济性状较好的四倍体材料。

### 2.2 三倍体的培育及优良单株的选择

对上述入选的四倍体进行详细的细胞学鉴定,选择四倍体细胞所占比例高的材料67'、65、64作为母本,与“湘兰三号”杂交,收获三倍体种子采用组织培养方法育苗。可大幅度提高成苗率。1995年采用这种方法共获得1500株三倍体。经过两年田间观察,根据株高、茎粗、皮厚、有效分株数、株型和抗风性等,共筛选出27个优良单株。1997年采用嫩梢扦插繁殖育苗,并进行田间苑行比较试验。

### 2.3 苑行比较试验结果

三倍体叶片均比对照“湘兰三号”大,叶柄粗长,茎秆平均直径比对照大8.3%,平均株高比对照高7.56%。三倍体开花期均在10月中旬以后,比对照迟一个月左右,有的甚至不开花,结实率很低,大部分材料表现为无籽现象。1998年大头麻纤维产量测定结果表明:有5个材料比对照高,其中Tr-26比对照增加一倍,有三个材料与对照相近。

表 18 三倍体头麻原麻产量比较 (1998)

Table 18. The comparison of fibre yield among the triploids

| 材料<br>Material                          | Tr-26 | Tr-20 | Tr-13 | Tr-25 | Tr-5  | CK   | Tr-19 | Tr-8 | Tr-3 | Tr-18 |
|-----------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|------|------|-------|
| 纤维产量<br>(g/行)<br>Fibre yield<br>(g/row) | 61.5  | 39.2  | 38.15 | 37.75 | 37.75 | 30.4 | 29.5  | 28.3 | 28   | 25    |

1998年头麻纤维支数测定结果表明:三倍体纤维支数变异幅度很大,变化范围在1004~2403支之间,多数材料比对照低,其中最低的Tr-26仅1004,但也有5个材料比

对照高,其中Tr-18支数高达2403支,比对照高630支。这是十分少见的。

表 19 三倍体苧麻纤维支数比较

Table 19 The comparison of fibre fineness among the triploids

| 材料<br>material           | Tr-18 | Tr-3 | Tr-4 | Tr-8 | Tr-20 | CK   | Tr-13 | Tr-26 |
|--------------------------|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|
| 纤维支数<br>Fibre<br>finenes | 2403  | 2109 | 1923 | 1893 | 1838  | 1773 | 1700  | 1004  |

单纤维强力测定结果表明,除Tr-9单纤维强力( $40.9 \pm 2.3g$ )比对照( $41.9 \pm 10.8g$ )稍低外,其余三倍体材料的纤维强力均比对照大,其中Tr-26、Tr-11、Tr-4单纤维强力很大,其值分别为 $75.8 \pm 10.24g$ 、 $69.15 \pm 11.29$ 、 $67.9 \pm 14.4g$ ,比对照( $41.9 \pm 10.8g$ )高出很多。

此外,在1998年4月8日一次强烈大风之后,进行田间调查抗风性,结果表明,绝大多数三倍体抗风性能均比对照强,其中Tr-13、Tr-26、Tr-25、Tr-8、Tr-5、Tr-4、Tr-22、Tr-20、抗风性最强,杆硬粗状。

从以上试验结果分析,综合性状好的材料有Tr-13、Tr-20,这两个材料属高产优质高抗型三倍体。Tr-18、Tr-8、Tr-3产量比CK稍低,但纤维支数特别高,属高支数类型,也可入选。

目前本研究正在继续进行繁衍试验,还需进一步完成品系比较试验、区域试验、生产试验等一系列程序,力争在21世纪初,评选出高产优质抗逆性强,特别是抗风性强的新品种,供滨湖和平原麻区推广、应用,为使我国苧麻行业在全世界重放光彩作出贡献。

## 讨 论

### 1. 组织培养在苎麻倍性育种中应用的优缺点

在苎麻同源四倍体诱导过程中,秋水仙素结合组织培养的处理方法与传统方法相比有如下特点:①本研究获得的诱变频率高达56.10%,比常规方法高出三倍多。②多倍体分离效果好,速度快。秋水仙素诱变的直接效果是形成嵌合体,加倍的细胞有的发生在茎生长点的L-Ⅰ层,有的发生在L-Ⅱ层,有的呈扇形突变等。刚产生的变异细胞生活力弱,而正常的二倍体细胞生活力强、分裂快,这样将导致变异细胞被“淹没”,使突变消失(Kaplan, 1951, Ganl, 1959)。不定芽一般是由表皮一个或几个细胞发育而来(Broetjes等, 1968; Haccius和Hausner, 1974)。故取嵌合体变异的部位进行不定芽诱导,这种不定芽应为完全多倍体。本研究选择变异的叶片和茎段进行不定芽诱导,由此产生的苎麻四倍体经染色体鉴定为完全多倍体。而常规方法获得的苎麻四倍体往往产生回复突变(潘昌立, 1993),得不到完全多倍体。③大大提高变异株的成活率,鉴定方便,繁殖速度快。由于组织培养条件优越,与常规方法相比,可大大提高变异株的成活率。试管苗叶片很容易进行气孔观察。根尖可不经酶解或酸解过程即可进行染色体鉴定,所以倍性鉴定很方便。

在培育三倍体和非整倍体的过程中,四倍体和三倍体所结的种子,一般发芽率低,成苗较困难,特别是三倍体所结的种子采用常规方法很难培养成苗,采用组织培养方法后可大大提高成活率。

组织培养方法最大的缺点是产生体细胞变异。体细胞无性系变异在水稻、高粱、玉米、烟草、大豆、亚麻等作物上均有报道(朱自清, 1992),潘昌立(1992)也报道了苎麻体细胞无性系变异。这些变异不利于保持品种的纯度,在苎麻的倍性育种中,还可能引起染色体数目的变异,造成染色体数目的混乱。

### 2. 不同倍性苎麻形态解剖差异分析

与其它作物多倍体相似,苎麻多倍体也表现出巨大性和低育性,苎麻多倍体气孔、花粉粒、纤维层厚度、纤维细胞、导管、种子、茎粗、皮厚均表现出巨大性。但四倍体结实率低、花粉粒育性差,三倍体花粉粒育性更差,结实率更低,表现出无籽现象。但无籽现象对于苎麻种增产和抗倒伏是有利的,纤维层厚、纤维细胞大、皮厚、茎粗这些巨大性对于高产是有利的,但纤维细胞大对于纤维品质却不利。有意义的是三倍体纤维细胞大小变幅很大,有的材料纤维细胞比二倍体还小,故通过不同基因型的比较筛选,

可选育出纤维层厚、纤维细胞较小的高产、优质、无籽型三倍体品系。

### 3. 关于不同倍性苕麻染色体数目多样性形成原因浅析

秋水仙素处理二倍体植物一般只能获得四倍体或重复加倍成八倍体,未见有过诱变产生三倍体的报道。作者用秋水仙素结合组织培养处理苕麻栽培品种( $2n=28$ ),却出现了多种多样的染色体数目的细胞,更有意义的是产生了三倍体细胞。作者观察的变异株中均存在三倍体细胞,并且有个别材料的三倍体细胞所占比例较高。三倍体形成的机理尚待研究,可能与秋水仙素及组织培养过程中所用的激素有关,从而导致异常的有丝分裂所致(胡含等,1988)。这方面还有待进一步探讨。另外,在组织培养过程中,作者不经过愈伤组织阶段,直接进行不定芽诱导获得了四倍体比例高达94%的无性系,这与前人的研究结果相同。但对于其他混倍体的稳定还存在一个问题,即染色体数目越乱,不定芽的分化就越难。故还有大量工作要做。

在水稻、高粱、西瓜、甜菜等种子繁殖作物中,同源四倍体与二倍体杂交均获得了无籽三倍体后代。水稻、玉米、曼陀罗、大麦、番茄、黑麦等三倍体与二倍体杂交均获得了一系列三体材料。作者以苕麻为材料进行了这方面的研究,将四倍体、三倍体水平植株与二倍体杂交,但并未获得完全三倍体和三体材料,其杂交后代染色体数目变化十分复杂,类型丰富多样,为什么会出现这种情况?从起源来看,每个杂交后代均来自一个受精卵细胞,即起源于单细胞,由此发育成胚,进而长成植株,其体细胞染色体数目均应与受精卵细胞相同。但当有丝分裂出现异常现象时,如观察到的三级分裂、不均等分裂及落后染色体等异常现象,就可能造成染色体数目减少或增多,呈现染色体数目的多样性。从比较遗传学角度来分析,苕麻存在着与有性繁殖作物不同的遗传特点。可能产生了丰富多样的变异,这些变异可通过无性繁殖保留下来,在长期进化过程中逐渐形成了不同的遗传特点,其中有些多样性变异也可能与染色体数目变异多样性有关。

### 4. 关于不同倍性苕麻同工酶及光合作用差异的评议

由于植物不同的生长发育时期,不同组织器官及不同的生理状态,其同工酶数量和活性均有很大变化(Scandalios, J.G.1964, Anytine, W.etal 1967),故在研究和分析同工酶时,必须采用同一时期,同一组织器官并在相同的环境条件下,才可获得准确的结果。研究结果表明:酯酶同工酶带数少,活力弱,倍性之间差异不明显。而过氧化物酶同工酶带数多,活性强,倍性之间差异明显,  $R_f=0.027$  及  $R_f=0.082$  两条酶带为多倍体所特有,可作为多倍体的特征酶带,另外“41号”两种同工酶均与“嘉禾白脚麻”相似,这也可证明41号单倍体与嘉禾白脚麻的亲缘关系,事实上“41号”是来自嘉禾白脚麻无融合生殖的后代。

作物产量主要来源于光合产物。光合产物形成的多少受光合强度、光合面积和光合时间的综合影响,而这三者除受本身遗传性制约外,又受到一系列生理、生态因素的影响。再者,光合产物向经济产量转化的多少,又受到作物转化效率的制约。因此,光合效率与产量的关系是比较复杂的。前人采用不同材料研究结果不尽相同,但总的说来,作物光合作用与产量(包括生物产量)的关系是比较密切的,多数研究结果证实了这一点(刘振业,1984, Gupta 1978, 李明启,1980, 杨必泉等,1984, 严文淦等,1984, 刘锦豪等,1986, 韩庚辰,1982)。刘飞虎等(1991)以二倍体苧麻为材料进行光合作用研究,发现苧麻净光合强度与产量呈显著正相关。在本研究中,不同倍性之间以三倍体光合强度最高,四倍体次之,二倍体仅比单倍体高。但营养生长优势在不同倍性之间并不呈现这种秩序,四倍体虽然光合强度比二倍体高,但营养生长优势却比二倍体差。但同一倍性不同材料的净光合强度与营养生长优势呈现正相关。蒸腾作用的最主要形式是气孔蒸腾。气孔蒸腾强度与气孔周长成正比,并不与气孔面积成比例。在气孔总面积相等的情况下,小气孔比大气孔蒸腾速率大得多。多倍体气孔大、单位面积气孔数目少,故蒸腾强度弱。二倍体气孔较多倍体小得多,且单位面积气孔数目多,故蒸腾强度比多倍体特别是四倍体高得多。单倍体气孔虽然小,但单位面积气孔数目少,且气孔阻力很大、气孔开关也不正常,故蒸腾强度反而弱。

#### 5. 不同倍性苧麻的利用价值

单倍体生长势差、产量低,没有直接利用价值。但单倍体加倍变成纯合二倍体以后,对于苧麻遗传育种却有着重大意义:因为苧麻是一种基因型高度杂合的纤维作物,现有的苧麻资源均为杂合体(李宗道,1981),故不能实现杂种优势利用,而单倍体加倍成二倍体纯系后,即可解决这一难题。另一方面苧麻种子繁殖变异很大,产量、品质下降,故在生产上禁止采用种子繁殖。然而单倍体加倍变成二倍体纯系后,其后代则不会发生变异,可保持母本的优良性状。这样即可实行种子繁殖,大大提高繁殖系数。

关于四倍体苧麻的利用,台湾Chi C.Y.(1964)曾选育出四倍体高产品系。但后来的研究均未获成功(潘昌立,1991, 谢卓荣,1986, 董延瑜,1990, 郑思乡,1993)。笔者等曾诱导了2000多四倍体苧麻,经过多年观察选择均未获得优势株系。而且随着生长年份的延长,四倍体逐渐矮化、变小。本研究认为苧麻四倍体主要用来培育三倍体,及用作遗传中介与野生资源杂交以克服远缘杂交的不孕性。

在所有倍性中,三倍体苧麻营养生长优势最强,其株高、茎粗、皮厚、纤维层厚度、叶片均表现出巨大性,这一研究结果与前人观点相吻合(鲍文奎,1959, 李楠1991)。利用这一优势一方面可以用来培育高产品种;另一方面,苧麻也是一种很优良的饲料作

物，其叶片蛋白质、维生素、糖等营养成分含量高(李宗道, 1989, 罗正伟, 1989)。三倍体生物产量高，蛋白质含量很高，故是一种很有开发潜力的牧草资源。

当然，强调单倍体、多倍体重要性的同时，不能掩盖二倍体的育种价值，二倍体育种仍是很有效的一种途径，是其它倍性不可替代的。

## 图版说明

图版 I 不同倍性苕麻形态特征

1. 四倍体植株; 2. 三倍体植株; 3. 二倍体植株;
4. 左为四倍体叶片, 右为二倍体叶片, 中间为三倍体叶片;
5. 四倍体染色体  $2n=4x=56(1650\times)$ ; 6. 三倍体染色体  $2n=3x=42(1650\times)$ ;
7. 二倍体染色体  $2n=2x=28(1650\times)$ ; 8. 上为二倍体种子, 下为四倍体种子。
9. 四倍体植株气孔大小 ( $800\times$ ); 10. 二倍体植株气孔大小 ( $800\times$ );
11. 四倍体子叶上的表皮毛 ( $800\times$ ); 12. 二倍体子叶上的表皮毛 ( $800\times$ );
13. 四倍体叶片下的绵毛 ( $800\times$ ); 14. 二倍体叶片下的绵毛 ( $800\times$ );
15. 四倍体叶表皮上的钩毛和腺体 ( $800\times$ ); 16. 二倍体叶表皮上的钩毛和腺体 ( $800\times$ )。

图版 II 苕麻多倍体及其杂交后代染色体数目的多样性

1.  $2n=12(1650\times)$ ; 2.  $2n=14(1650\times)$ ; 3.  $2n=19(1650\times)$ ; 4.  $2n=20(1650\times)$ ;
5.  $2n=28(1650\times)$ ; 6.  $2n=35(1650\times)$ ; 7.  $2n=40(1650\times)$ ; 8.  $2n=42(1650\times)$ ;
9.  $2n=56(1650\times)$ ; 10.  $2n=59(1650\times)$ ; 11.  $2n=61(1650\times)$ 。

图版 III 苕麻多倍体及其杂交后代不正常的有丝分裂

1. 有丝分裂中期, 有落后染色体 ( $1650\times$ ); 2. 有丝分裂后期, 有落后染色体 ( $1650\times$ );
3. 有丝分裂后期, 不均等分裂且有落后染色体 ( $1650\times$ );
4. 有丝分裂末期, 有断裂的桥及较多的微核 ( $1650\times$ );
5. 有丝分裂末期, 多吸分裂 ( $1650\times$ ); 6. 有丝分裂末期, 三极分裂 ( $1650\times$ )。

## Explanation of figure plates

Fig. I Morphological characteristics of different ploidy ramies

1. Tetraploid plant; 2. Triploid plant; 3. Diploid plant;
4. Left: tetraploid Leaf, Right: diploid leaf, between: triploid leaf;

5. Chromosome number of tetraploid (1650 $\times$ );
6. Chromosome number of triploid (1650 $\times$ );
7. Chromosome number of diploid (8250 $\times$ );
8. Above: diploid seeds, below: tetraploid seeds
9. Stomate size of tetraploid plant (800 $\times$ );
10. Stomate size of diploid plant (800 $\times$ );
11. Epidermal hairs of tetraploid cotyledon (800 $\times$ );
12. Epidermal hairs of diploid cotyledon (800 $\times$ );
13. Epidermal hairs inferior of tetraploid leaf (800 $\times$ );
14. Epidermal hairs inferior of diploid leaf (800 $\times$ );
15. Epidermal hairs and glandular bodies of tetraploid leaf (800 $\times$ );
16. Epidermal hairs and glandular bodies of diploid leaf (800 $\times$ ).

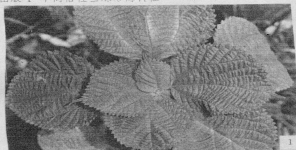
Fig. 1. Chromosome numbers of polyploids and its hybrid generations of ramie

1.  $2n=12$  (1650 $\times$ ); 2.  $2n=14$  (1650 $\times$ ); 3.  $2n=19$  (1650 $\times$ ); 4.  $2n=20$  (1650 $\times$ );  
 5.  $2n=28$  (1650 $\times$ ); 6.  $2n=35$  (1650 $\times$ ); 7.  $2n=40$  (1650 $\times$ ); 8.  $2n=42$  (1650 $\times$ );  
 9.  $2n=56$  (1650 $\times$ ); 10.  $2n=59$  (1650 $\times$ ); 11.  $2n=61$  (1650 $\times$ ).

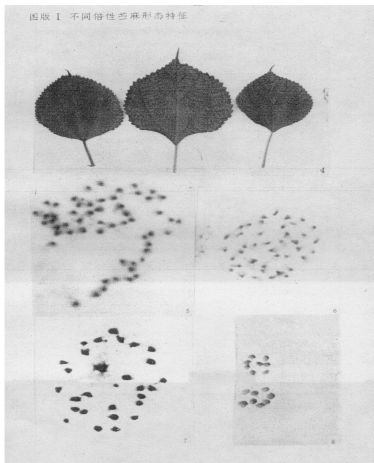
Fig. 2. Abnormal mitosis behavior of polyploids and its hybrid generations of ramie

1. Metaphase of mitosis, delayed chromosome (1650 $\times$ );
2. Anaphase of mitosis, delayed chromosome (1650 $\times$ );
3. Anaphase of mitosis, unequal mitosis and delayed chromosome (1650 $\times$ );
4. Anaphase of mitosis, broken bridge and some micronuclei (1650 $\times$ );
5. Telophase of mitosis, polypole mitosis (1650 $\times$ );
6. Telophase of mitosis, triple mitosis (1650 $\times$ );

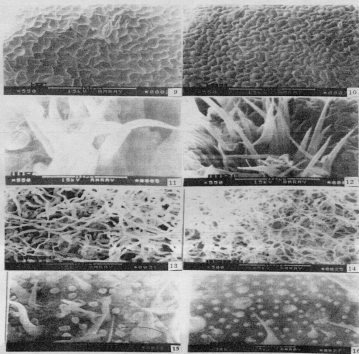
图版 I 不同倍性苎麻形态特征



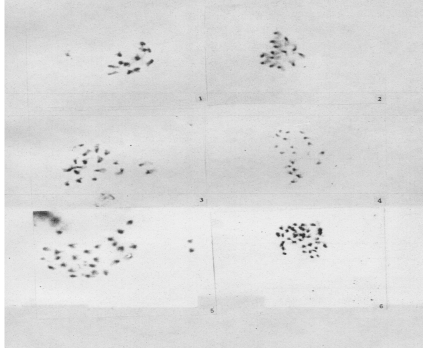
图版 I 不同倍性苎麻形态特征



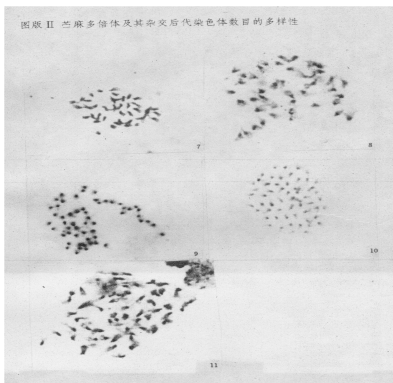
图版 I 不同倍性苕麻形态特征



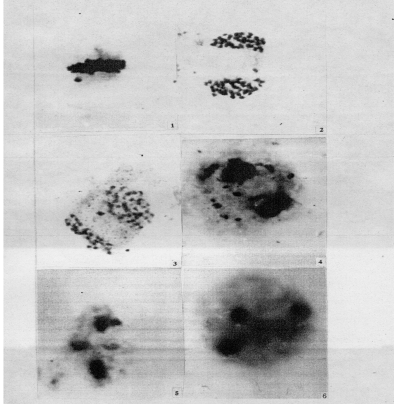
图版 II 苎麻多倍体及其杂交后代染色体数目的多样性



图版 II 苧麻多倍体及其杂交后代染色体数目的多样性



图版 III 苜蓿多倍体及其杂交后代不正常的有丝分裂



## 参 考 文 献

1. 李宗道, 麻作的理论与技术, 上海科学技术出版社, 1981。
2. 李宗道, 苧麻生理生化与遗传育种, 农业出版社, 1989。
3. 李宗道, 李宗道苧麻研究学术文集(中英文版), 湖南科学技术出版社, 1992。
4. 李宗道, 苧麻生物技术研究进展, 湖南科学技术出版社, 1996。
5. 李宗道, 胡久清, 麻类形态学, 科学出版社, 1987。
6. 鲍文奎等译, 植物多倍体, 北京科学出版社, 1959。
7. 胡金, 陈英, 植物体细胞遗传与作物改良, 北京大学出版社, 1988。
8. 陈振光, 果树组织培养, 上海科学技术出版社, 1985。
9. 顾品敬编著, 植物组织培养手册, 上海科学技术出版社, 1990。
10. 胡德书, 万贤国编, 同工酶技术及其在应用, 湖南科学技术出版社, 1985。
11. 郑国福, 生物显微技术, 人民教育出版社, 1979。
12. 李向编著, 染色体遗传导论, 湖南科学技术出版社, 1991。
13. 陆永林等, 诱导产生三叶橡胶多倍体的遗传研究, 遗传, 1980(6)
14. 杨炎生, 甜菜多倍体品种7301的选育, 中国甜菜1980, (1)
15. 李廷华, 人工引变四倍体重衣裳的研究, 园艺学报, 1980, (3)
16. 湖南农学院遗传育种室, 西瓜同源四倍体的诱导与鉴定, 中国果树, 1980, (1)
17. 黄金松等, 四倍体枇杷的培育, 中国果树, 1984, (2)
18. 张继增等, 国光萝卜多倍体育种研究, 园艺学报, 1984, (2)
19. 樊兴容等, 大白菜多倍体育种初报, 新疆农业科学, 1981, (4)
20. 樊金山等, 枸杞同源四倍体的诱导与鉴定, 遗传学报, 1985, 85(3)
21. 高正荣, 同源多倍体培养育种试验初报, 陕西农业科学, 1986, 86(3)
22. 陈志勇等, 同源四倍体水稻育种研究的近期进展, 中国农业科学, 1987, 87(1)
23. 黄济明, 百合的组织培养和试管内诱变多倍体试验, 园艺学报, 1983, 10(2)
24. 周朴华等, 黄花草圆球体经秋水仙素处理后再生苗加倍效果观察, 湖南农学院学报, 1991, 17(2)
25. 周朴华等, 龙芽苧麻中秋水仙素诱发黄花草圆球体同源四倍体的研究, 中国农业科学, 1995, 28(1)
26. 刘选明, 同源四倍体龙芽苧麻诱导及其形态发生的细胞学与生理生化特性的研究。

1995(博士学位论文)

27. 谢卓荣. 1986, 苧麻多倍体诱导研究, 中国农业科学, 1986, (2): 49~53
28. 潘吕立等, 苧麻多倍体诱导新技术研究, 中国麻作, 1990, (3)
29. 罗耀武等, 高粱同源四倍体及四倍体杂交育种, 遗传学报, 1985, 12(5): 339~343
30. 谭协和等, 多倍体水稻三系选育初报, 遗传学报, 1979, (2): 1~4
31. 张合成等, 多倍体育种的进展, 河北农业大学学报, 1988, 11(2): 136~139
32. 马缘生, 植物染色体工程在农业上的应用, 世界农业, 1987, 12: 33~35
33. 郑思乡等, 芦笋多倍体诱导及离体培育的研究, 湖南农业科学, 1996 (2)
34. 王仑山等, 伊贝母愈伤组织在继代培养过程中的染色体变异, 植物学报, 1990, 32(3): 241~244
35. 张灵南等, 栽培稻体细胞无性系及其后代性状与染色体变异, 中国农业科学, 1984, (4): 14~19
36. 顾淑荣等, 枸杞胚乳植株诱导及染色体倍性观察, 遗传学报, 1987, 14(1): 37~41
37. 陈素萍等, 枸杞胚乳植株二代的形态及细胞学观察, 遗传, 1989, 11(5): 9~11
38. 王大元等, 葡萄胚乳愈伤组织的诱导, 植物学报, 1977a, 19: 93~94
40. 母锡金等, 苹果胚乳愈伤组织的诱导和植株分化, 中国科学, 1977b, 3: 55~359
41. 景士西等, 果树遗传变异的特点初探, 遗传, 1995, 17(1): 40~44
42. 周光宇等, 遗传育种的生化指标—同工酶的分析, 上海农业科技, 1979, (3): 1~4
43. 周光宇等, 有关同工酶分析的几个问题, 植物生理学通讯, 1983, (1): 1
44. 蒙义文, 同工酶预测杂种优势, 遗传与育种, 1978, (4): 23
45. 周安靖, 黄麻圆果种和长果种的同工酶分析, 中国麻作, 1984, (3): 1~4
46. 唐明远等, 苧麻产量与阳离子交换量及同工酶关系的研究, 湖南农学科学, 1982, (6): 40~42
47. 尹邦奇, 利用生化指标预测苧麻产量品质的研究, 湖南农学院学报, 1989, (增刊)
48. 杜维广, 大豆不同品种(系)间光合活性的差异及其与产量的关系, 作物学报, 1982, 8(2): 131~135
49. 李明启, 作物光合效率与产量的关系及影响光合效率的内在因子, 植物生理学通讯, 1980 (2): 1~8

50. 彭定祥等, 苧麻光合特征及其与纤维产量和品质的关系, 华中农业大学学报, 1986, 5(1) 56~61
51. 张月娟等, 用  $C^{14}$  研究苧麻不同部位叶片的光合功能和光合产物分配, 中国麻作, 1988 (1): 1~2
52. 郭清泉, 苧麻不同品种叶片光合特性及其与产量形成关系的研究 I, 碳素代谢与产量形成, 湖南农学院学报, 1990, 16(2): 118~124
53. 杨必泉等, 苧麻净同化率等几项生理指标的研究, 中国麻作, 1984(2): 20~25
54. 刘飞虎等, 苧麻基因资源的光合作用及其与产量品质的关系研究, 湖南农学院学报, 1991, 17(2): 15~22
55. 严文淦等, 苧麻新品系“75~10”高产优质的生理基础, 中国麻作, 1984. (4): 5~8
56. Dewey D. R. 诱导多倍体在植物育种上的一些应用和误用, 国外遗传生育种, 1981, 6(1): 1~11
57. 荻谷勤. Amphidiploids between *Iris laevigata* fish and *I. ensata* Thunb. Induced through in vitro culture of embryos treated with colchicine. Japan, J. Breed. 1985, 35: 136~144
58. Maryakhina, I. Ya, L. V. Poulmordvinova and L. I. Moskovkin S-Khbiol O(4): 10~13, 1986, Polyploidization of plants of genus *Auium* by the method of tissue culture: Results and prospects.
59. Maryakhina, I. Ya, L. M. Moskovkin, V. P. Tugolukov, E. I. Tugolukova and I. V. Polu mondvinova S-Khbiol O(10):40~52. 1985 In Vitro garlic [*Auium sativum*] Polyploidization as a method for obtaining parental material for selection
60. Chavadej, supa and Hansbecker, plant Cell, Tissue, Organ culture treatment on chromosome number and growth rate of tissue cultures of *Valeriana wallichii*
61. Polumordvinova, I. V, I. ya, Mar'yakhina and G. S. Shevchenko S-Khbiol O (3): 71~76. 1985 Comparative appreciation of Onion polyloidization methods in vivo and in vitro and overcoming interspecific hybrid sterility.
62. Anisimov polyploidy in tissues of reproductive system of the succinid

snail.

63. Chi, C. Y. and Lai, M. L. Producing New Ramie Varieties Through Mutation by Colchicine, Prot. soil Fla 1964, (24): 405-408.
64. McClintock B. Science, 1929, 69: 629-630
65. Blakeslee A. F. J. Hered, 1934, 25: 81-108
66. Tsuchiya T. Seiken Eiho, 1958, 9: 69-86
67. Lesley J. W. Genetics, 1932, 17: 545-559
68. Kamanoi M. et al. Seiken Eiho, 1962, 9: 69-86
69. Al-Yasiri, S. and O. M. Rogers. J. Amer. soc. Hort. Sci. 1971; 96(1): 126-127
70. Overbeek, J. van and Conklin et al. Amer. J. Bot. 1941, 28: 647-656
71. Levam A. Hereditas 1938; 36: 1-18
72. Evans, H. J. and D. Scott. Genetics 1964; 49: 17-38
73. Illies, Z. M. Fertilization in Higher plant, New York Linsens, H. F. ed, Inc. 1974b; 335-340
74. Darlington, C. D. and J. Cleish. Nature. 1961; 167: 407-408
75. Marhert, C. L. and F. Moller: 1959, proc Natl Acad. Sci. USA. 45: 753
76. Moss, D. W.: 1982. Isoenzyme, Chapman and Hall, London 10-26
77. Scandalios J. G., 1974. Isoenzymes in Development and differentiation Ann Rev plant physiol 25: 225-228
78. R. Well. Cultivar differences in canopy apparent photosynthesis and their relationship to seed yield in soybeans. Crop sciences, 1982, 22: 886-890
79. M. M. Peet. Photosynthesis, stomatal resistance and enzyme activities in relation to yield of field dry. crop sciences, 1977, 17: 287-293

## 致 谢

四年来承蒙恩师李宗道教授和孙福增教授精心指导，谆谆教诲，师母周孝坚女士的亲切关怀，使我顺利地完成了学业及毕业论文。本人将终身难忘。

在研究过程中曾得到董延瑜教授、周朴华教授、何立珍副教授、程尧楚副教授、刘选明博士，杨维伦(硕士生)、杨素英(硕士生)、崔国贤博士、甘霖博士、蒋键雄(博士生)、晏春耕讲师的大力支持。苾麻研究所甘红霞、李利良、李罗先、易冬梅等同志为田间试验和测试付出了辛勤的劳动。研究生办及苾麻所领导也给予我诸多帮助。在此一并表示我最诚挚的感谢和深深的敬意。

此外，还要感谢我父母及妻子从物质上、精神上给我的关怀和鼓励。

## 作者简历

姓 名: 郑思乡

性 别: 男

籍 贯: 湖南省华容县

出生日期: 1966年12月28日

工作经历:

1988年湖南农业大学农学专业毕业后分配到湖南农业大学苎麻研究所工作至今。主要从事苎麻细胞工程方面的研究工作,曾主持和参加了苎麻多倍体、花药离体培养、无融合生殖、体细胞杂交等研究工作,积累了较丰富的经验。1994年攻读博士学位(在职),在此期间承担了科研项目6项,主持项目两个。自工作以来共发表论文20余篇,获科技成果奖两项,合著专著一本。

附: 攻读博士学位期间著作及论文(1994.9—至今)

1. 麻类生物工程进展, 中国农业出版社, 1998(第二作者)
2. 苎麻品种改良途径与新技术研究, 1998年度省教委科技进步三等奖(排名第三)
3. 组织培养在苎麻多倍体研究中的应用初报 1996年度湖南省自然科学三等奖优秀论文。(第一作者)
4. 苎麻多倍体及其杂交后代细胞学观察 农业现代化研究, 1996(2) (第一作者)
5. 苎麻多倍体细胞遗传特点初探 湖南农业大学学报, 1996(3) (第一作者)
6. 芦笋多倍体诱导及离体培养的研究 湖南农业科学, 1996(1) (第一作者)
7. 苎麻原生质体再生植株及影响因子的初步研究 农业生物技术学报 1996 4(2) (第三作者)
8. 苎麻花药离体培养的研究 I 雄核发育的细胞学观察 海南大学学报自然科学版 1994, 12(2) (第二作者)
9. 苎麻诱导无融合生殖及其胚胎学初步研究 作物研究, 1994(增刊) (第三作者)
10. 莲多倍体研究: I 莲多倍体诱导及变异株形态特征和细胞学观察 湖南农业大学学报, 1997, 23(1) (第二作者)
11. 莲多倍体研究: II 莲花粉母细胞减数分裂行为观察 湖南农业大学学报 1998 24(2) (第二作者)
12. 河塘植莲关键技术 湖南农业科学 1997(1) (第一作者)