

摘 要

本实验使用了 5 种不同的诱导剂配方对 4 个苎麻品种材料进行无融合生殖诱导。实验结果表明诱导剂配方、喷施时间、喷施方法和苎麻品种不同,诱导效果也各不相同。其中以 II 号和 III 号诱导剂效果最好,在处理的品种材料中,以芦 S4-2-2-1-1 最为敏感。芦 S4-2-1-1-1 用 II 号诱导剂处理,其单株诱导结实数达到 2808.8 粒,在大多数雌花柱头伸出子房时,对雌花及其附近叶片喷施诱导剂,诱导效果较好。用诱导剂处理后,植株生长有一些异常现象。无融合生殖种子发芽率与对照相似。

通过用碱液解离和改进了的整染透明法相结合,初步探索出了一个简易观察苎麻胚囊的方法,并观察到反足细胞团、梨形胚、球形胚等现象。

通过对诱导无融合生殖后代的倍性分析,发现了较多混倍体植株,非整倍体植株,以及染色体数为 7 的倍数的细胞,尤其是含 21 条染色体的细胞较多。亦有不少倍性与母本相同的植株。无融合生殖后代植株中部分在苗期有生长异常现象,其中以三子叶苗发生频率最高。

综合整个研究,认为苎麻诱导无融合生殖可能有数种类型,为了证明其类型并更好地控制、利用无融合生殖,则需要更深入和全面的研究。

关键词: 苎麻; 无融合生殖; 胚胎学; 染色体

目 录

— 摘要

— 1. 前言

— 1.1 无融合生殖的起源和分类

— 1.2 无融合生殖研究的进展

— 1.3 研究意义和目的

— 2. 材料与方法

— 2.1 试验材料

— 2.2 试验设计

— 2.3 试验方法

— 3. 结果与分析

— 3.1 对苧麻进行无融合生殖诱导的结果

— 3.1.1 诱导剂与各品种结实数的关系

— 3.1.2 诱导无融合生殖后代幼苗形态异常现象

— 3.1.3 诱导剂对植株生长的影响

— 3.2 胚胎学研究

— 3.2.1 解离液的选择

— 3.2.2 染色的方法与时间

— 3.2.3 胚胎学的观察

— 3.3 无融合生殖诱导产生后代的倍性

— 4. 讨论

— 参考文献

— 英文摘要

— 致谢

— 图版说明

1. 前言

苧麻是最优良的韧皮纤维作物之一，在纺织工业等方面有着广泛的用途（刘国民 1993）。尤其在我国的苧麻是重要的特产和纺织纤维作物，占世界总产量的 80% 左右。在经历了一段时期的不景气之后，我国苧麻产业于 1998，1999 年出现了强劲的回升势头，相应于不断扩大的国内外苧麻纺织品市场，我们需要培育和推广更多适合各种栽培生产条件和高产优质的苧麻新品种。而目前国内当家品种多属杂种一代（李宗道，1980），其遗传背景普遍非常复杂，为避免由种子繁殖带来的性状分离，传统的繁殖方式主要是利用无性繁殖，以保持其品种纯度和良种特性（颜昌敬等，1993）。这种方式速度慢，繁殖系数低，成本高。复杂的遗传背景亦使苧麻新品种的选育十分困难，选育一个新品种，通常至少需要 10 年的时间（刘国民，1993）。育种和繁殖的困难束缚了苧麻产业的发展，为了扭转这一局面，我们寄希望于利用无融合生殖方法培育和繁育苧麻新品种。

1.1 无融合生殖的起源和分类

植物界中存在着有性生殖，无性生殖和无融合生殖三种生殖方式。其中无融合生殖是指配子体没有经过配子融合的过程，而在其它因素刺激下或者在基因的控制下发育产生了孢子体的生殖过程（钟爱平，1993），按照 Battaglia 的定义（胡适宜，1982）可以根据无融合生殖的起源将其分为两大类，第一类：在减数胚囊中的无融合生殖；第二类：在未减数胚囊中的无融合生殖。前者又分为三种形式：①单倍体孤雌生殖；②单倍体孤雄生殖；③无配子生殖，后者则可分为二倍体孢子生殖和体细胞无孢子生殖。二倍体孢子生殖指胚囊起源于减数分裂受阻的孢原细胞或大孢子母细胞，而体细胞无孢子生殖的胚直接产生于珠心或珠被的二倍体细胞。这两种无融合生殖方式可用于固定杂种优势和更新繁殖技术，是我们最期望获得的，而第一类的无融合生殖则可用于育种程序，为育种服务。

1.2 无融合生殖研究的进展

相对于另外两种更为普遍一些的生殖方式来说，无融合生殖无疑是具有特殊价值的。早在 90 年代初期 Hanna 就指出“无融合生殖基因在改良世界粮食、牧草、纤维生产的数量和质量中的重要作用是很少有其它基因

与之相媲美的”(Hanna,1992)。Stelly 也认为“如果我们能够使有性生殖的作物变为无融合生殖的,那么随之而来的农业革命就可能使原来的‘绿色革命’相形见绌了”(Stelly,1992)。正是由于这种诱人的前景,各国科学家纷纷开展了无融合生殖的研究。据报道(蔡得田、陈冬玲,1983)已有几十个国家,300 多个实验室在从事无融合生殖研究,目前已从 36 个科 300 多种植物中发现了无融合生殖现象(Hanna,1990),Bashaw 在牧草中已经获得无融合生殖育种的成功(Bashaw,1980;1990),国外在作物的无融合生殖研究中取得进展的有玉米(Petrow,1973)、小麦(Bashaw,1980)、高粱(Hanna,1970)、马铃薯(Jongedijk.E et al,1988)、甜菜(Bashaw,1990)等,我国的无融合生殖研究在七十年代末八十年代初主要采用化学药剂诱导的方法在水稻(赖来展,1983)、小麦(胡启德,1979)、棉花(周世崎,1980)、油菜(四川大学生物系遗传组,1979;罗鹏,1981)、玉米(朱庆麟,1979;赵佐宇、谷光明,1984)等作物上取得了一定的成功。其后在水稻无融合生殖研究中取得了很大进展,从八十年代中期起,袁隆平提出了利用无融合生殖来简化杂交水稻制种,实现三系变二系,二系变一系,最后固定水稻杂种优势的战略设想(袁隆平,1987)。蔡得田等从湖北光敏感核不育水稻的未受精子房和花药中培养出单倍体植株(蔡得田等,1988),继而选育出高频无融合生殖水稻材料 HDAR(蔡得田等,1991),我国水稻无融合生殖研究经历了活体诱导,离体诱导,无融合生殖材料的筛选和杂交选育三个阶段(蔡得田、陈冬玲,1992)。

无融合生殖研究的一个瓶颈是无融合生殖的发生频率,将无融合生殖本身所蕴有的巨大价值,转变为在科学研究和生产实践可资利用的方法和手段,必须达到可提高和控制其发生频率等目的,为了达到这个目的,人们做了大量的工作,使用了各种方法,从早期的用射线处理过的花粉或者是异种授粉诱导处理(胡启德,1979;罗鹏,1981;杜连恩,1983;牛天堂,1987),变化授粉后的温度(赖来展,1983),用化学药剂进行诱导(钟爱平,1993;胡启德,1979;周世崎,1980;罗鹏,1981;赵佐宇、谷光明,1984;王春秀,1989)到配子体的离体培养(周嫦、扬弘远,1980;蔡得田等,1991;周嫦等,1983;郭仲琛,1982)和从多胚苗中筛选(黎

恒庆等, 1990; 姚家琳等, 1991; 孙蒙祥等, 1990) 再到将无融合生殖基因转入作物中 (Engvild, 1974), 经过多年的研究实践, 已经逐渐对无融合生殖发生频率的机理有了一定的认识, 认为研究的方向和重点在于选育专性无融合生殖材料。

苎麻的无融合生殖研究起步较晚, 目前处于调查种质资源和化学诱导无融合生殖发生的阶段, 臧巩固 (1991; 1996) 报道在苎麻属中发现 5 个种具有无融合生殖特性, 全部为全雌型, 并且经遗传学和细胞胚胎学鉴定为专性自主型无融合生殖 (臧巩固, 1997a), 并对苎麻属全雌型无融合生殖种进行了雄花诱导研究 (臧巩固, 1997b), 指出苎麻无融合生殖诱导研究的方向为 1) 在苎麻栽培种中寻找无融合生殖材料; 2) 通过远缘杂交和生物技术相结合的手段, 将近缘种中的无融合生殖基因转入苎麻 (臧巩固, 1995)。湖南苎麻研究所也对化学药剂诱导苎麻无融合生殖进行了一定的研究 (钟爱平, 1993)。

1.3 研究意义和目的

1.3.1 无融合生殖可能成为苎麻的一种优良繁殖方式

苎麻是雌雄同株, 异花授粉的作物, 目前生产上所用的苎麻品种多为杂种一代 (李宗道, 1980), 遗传背景十分复杂。试图连续自交获得纯系, 也因为自交后代高度不育或者生长势明显衰退而无法付诸实践 (刘国民, 1993), 若用种子繁殖, 那么后代势必会出现大量分离, 无法避免严重的退化问题。当前普通采用的无性繁殖 (麻蔸繁殖) 虽然可以固定杂种优势, 但也存在一系列缺点。而若能采用无融合生殖的方式来进行繁殖, 则如上述, 若为第二类无融合生殖, 其产生的孢子体 (种子) 为二倍体, 基因型与母本一致, 用这种种子进行繁殖, 复杂的遗传背景将不再是问题, 若为第一类无融合生殖, 则可经过染色体加倍进入育种程序: 获得优良单株后再经无融合生殖诱导和染色体加倍, 可得优良纯合自交系, 配制杂交组合后, 同样可用种子进行繁殖, 而不再有后代分离的问题, 因此利用无融合生殖改良苎麻繁殖方式是可行的, 而且有以下优点:

1.3.1.1 因为用麻蔸进行无性繁殖的方法繁殖系数比较小, 因此用传统方法建立麻园成本较高, 约 250 元/亩-300 元/亩, 而且麻蔸重量大、运输

困难,而种子繁殖的方式建园成本只需 4 元/亩-5 元/亩,且种子轻,运输上没有困难。

1.3.1.2 传统的麻苑繁殖属营养繁殖,会携带病虫,传播病虫害,而用种子繁殖则可以避免这些问题。

1.3.1.3 目前一些新的优良苎麻品种推广较慢,除了上述经济原因之外,还有一个主要的原因就是因为繁殖速度慢。一亩麻园的全部种苑都用来繁殖,也只能繁殖大田 10-20 亩,而采用种子繁殖的方法,1kg 种子便可繁殖 40 亩以上大田,可以大大加快繁殖速度,从而方便新品种推广,而且也将使苎麻生产可以更灵活地适应于市场的需求,需则建园,不需则停园。

1.3.2 缩短育种周期

苎麻作为一种优良的韧皮纤维作物,由于其育种周期太长,一般需 10 年以上时间(刘国民,1993),从而使近年来选出的苎麻优良新品种较少,与苎麻产业的迫切需求很不相称,而无融合生殖无需经过精卵融合而生成种子,具有杂合的基因型和整齐一致的表现型的特点,容易获得稳定品系(蔡得田、陈冬玲,1983)。可以通过单倍性无融合生殖和染色体加倍简便快速地获得纯合的二倍体,避免了复杂而浪费时间的自交纯化步骤,这在苎麻育种上是有很大的利用价值的。

1.3.3 固定杂种优势

目前国内普遍栽培的当家品种都属杂种一代(李宗道,1980)。基因型十分复杂,而利用二倍性无融合生殖方式,可以使亲代的杂合基因型完整地传递给子代,因为它避免了有性生殖过程中基因的分离和重组,不会改变基因的杂合性的组合方式,因此,可以有效地将亲代的杂种优势传递到子代。

1.3.4 可以给常规育种带来革命(蔡得田、陈冬玲,1983)

1.3.4.1 有利于作物的高产、稳产、对以收获果实种子为目的作物来说,在栽培管理中最需要引起高度重视的时期,也即容易影响到最终经济产量的关键时期就是作物的减数分裂阶段和开花受精阶段。而具有无融合生殖特性的作物,却正好可以不通过这两个阶段而结实,从而避开了这个

敏感时期，稳产、高产也就不会因之而受到影响。

1.3.4.2 有利于选育出综合抗病虫的品种。

众所周知，病虫生理小种的变化远比选育作物品种的速度要快，因此选育综合抗病虫的品种十分困难。但是具无融合生殖特性的作物具有杂合基因型下一致表现型的特点，因此也就具备了综合抗几个生理小种的病虫的可能性，所以在无融合生殖作物中是可以选育出综合抗病虫的品种。

1.3.5 经单倍性无融合生殖产生的单倍体植株只有一套遗传物质，表现性状上无显隐性问题，所有基因效应俱表现出来，适用于遗传分析，也可使诱变处理效果更快、更显著。

在苎麻的无融合生殖诱导研究中，已在苎麻属作物中发现了无融合生殖现象（臧巩固，1991），并进行了人工诱导的尝试（钟爱平，1993），初步筛选出了一些对特定品种具有一定诱导频率的诱导剂，但此项工作尚未深入开展。由于受诱导频率和苎麻雌花特殊形态的限制，对于其无融合生殖现象还停留在一个较浅的层次上，而探明苎麻无融合生殖的性质、起源对于在苎麻研究和生产中恰当而充分地应用无融合生殖的特性有着十分重要意义。本试验拟在前人研究的基础上，进一步筛选出更经济适宜，诱导频率更高，适用范围更广的诱导剂，并利用细胞学和胚胎学的方法，争取能对苎麻诱导无融合生殖有更深入的认识，可以初步确定其无融合生殖的类型，对实践应用和理论研究起到一定的指导作用。

2. 材料与方法

2.1 试验材料

本试验选用 4 个品种材料：分别为芦 S4-2-2-1-1，湘 S4-2-2-1-1，黔 815H-2-1-1-1-1，2117-9，其中前三个材料为全雌性材料，不开雄花，2117-9 为本校麻类研究室新选品种。

诱导剂以本校麻类研究室筛选的四个配方为主，并对其成分加以调整，共用五种配方分别进行诱导。

2.2 试验设计

本试验选用四个品种分别隔离栽培，在材料四周和之间建立隔离墙，

墙高 2.6m, 试验场所周围 200m 范围内所有其它苎麻砍掉, 试验从始到终, 严格去雄 (手工), 主要针对 2117-9, 花期每天早上全部检查一遍。

每个品种材料分别施以五种诱导剂, 每个处理设两个重复 (两苑; 每苑 5-10 株) 一个重复用来采取雌花进行观察, 另一重复留待种子成熟, 测单株结实数。四个材料都设有对照, 喷施蒸馏水, 以观察其是否有天然显性无融合生殖的情况, 并检察隔离效果。

2.3 试验方法

2.3.1 喷施诱导剂。在材料的花序上大多数雌花柱头伸出子房时, 于午后至傍晚对花序及其附近几片叶的背面喷施诱导剂, 以花被外壁绒毛和叶片背面出现均匀水雾为准, 每个处理依照苎麻不同节位的花序的发育时间喷施 3-5 次, 约每周一次。

2.3.2 胚胎学观察

2.3.2.1 采样 材料喷施诱导剂后 2-15 天内每隔 3 天采一次样, 用醋酸甲醇 (1:3) 固定液进行固定, 约 20 小时, 然后保存于 70%乙醇中 (四摄氏度)。

2.3.2.2 解离。

采用 4 种解离液

- 1) Jeffery 氏解离液 (郑国锷, 1979) 10%铬酸和 10%硝酸等量混合, 室温浸渍 1-2 天
- 2) 段续川解离液 (郑国锷, 1979) 铬酸 2 克, 浓硫酸 8 毫升, 浓硝酸 3 毫升, 水 89 毫升, 室温下分离处理 3-6 小时
- 3) 酶解离液 (周嫦、扬弘远, 1982; 李乐工、胡适宜, 1985; 扬弘远、周嫦, 1984) 2.5%果胶酶和 2.5%纤维素酶等量混合保温振荡 5-20 小时
- 4) 碱液 10%KOH 85℃处理 3-4 小时

2.3.2.3 染色透明观察 用爱氏苏木精:45%醋酸与 50%酒精等量混合液 5:1 的稀释液染色 5 分钟, 经蒸馏水到自来水返蓝, 再逐级脱水, 经 1/2 无水乙醇+1/2 冬青油到冬青油中透明, 最后将材料放在载玻片上, 轻轻盖上盖玻片, 不加压, 显微镜下观察, 摄影。

2.3.3 考种 种子成熟后按常规方法考查单株结实数，千粒重，并测发芽势、发芽率。

2.3.4 无融合生殖后代倍性观察

将诱导产生的种子于恒温无菌条件下培养发芽，待根长至 1 厘米左右时，于上午 6:30-8:30 取样。母本取顶芽水插生根，同法取样，按下列步骤制片。

- 1) 前处理 用二氯代苯处理 4 小时
- 2) 固定 用卡诺氏固定液处理 30-60 分钟
- 3) 解离 用浓盐酸：95%酒精 1：1 处理 12 分钟
- 4) 自来水洗 换水 2-3 次 蒸馏水过一遍
- 5) 媒染 4%铁矾媒染 10 分钟
- 6) 自来水洗 换水 2-3 次 蒸馏水过一遍
- 7) 染色 海氏苏木精染色 30 分钟
- 8) 自来水返蓝 1 分钟
- 9) 分色 2%铁矾或 45%醋酸分色至根尖深蓝色，伸长区浅灰色
- 10) 入蒸馏水

然后压片、观察，在 OLYMPUS BH-2 显微镜下计数，摄影。

2.3.5 用部分诱导产生的种子播于苗床，观察其种子萌发和幼苗形态的异常特征并摄影。

3.结果与分析

3.1 对苎麻进行无融合生殖诱导的效果

3.1.1 诱导剂与各品种结实数的关系

各品种的对照未结实，而由各诱导剂处理过的材料均有不同程度的结实，结实的数目因不同的品种，不同诱导剂和喷施的时间而各不相同。最高可达 4000 余粒/株，如芦 S4-2-2-1-1 施以 II 号诱导剂，5 棵单株中最高结实数达到 4076 粒，平均为 2808.8 粒。其千粒重为 0.146g，种子比较饱满，各处理所获得种子经过发芽测验，活力也相当高，各材料对照雌花一段时间后萎蔫，而经诱导的材料除刚处理后几天内有一些异常表

现，其余发育过程都很正常。

3.1.1.1 不同诱导剂之间的差异

本试验共使用了 5 种诱导剂，是在前一年实验当中经证明较为有效的配方的基础上，本着经济有效，适宜推广的原则重新调配而成的。这 5 种诱导剂分别处理了 5-10 株麻（1 苑）。表 1 中列出了各处理结实数的最高值，最低值和平均值，从表中数据可以看出，各诱导剂处理均与对照有明显差异（对照基本未见结实），都对苧麻无融合生殖有不同程度的诱导效果。同样可以看出，不同诱导剂之间的差异在各品种上的表现也基本相同，在所有供试品种上，II 号和 III 号诱导剂的诱导效果都不错。它们对芦 S4-2-2-1-1

表 1 各诱导剂处理的结实数

Table 1 The induced setting number of each treatment

材 料		I	II	III	IV	V	对照
芦 S4-2-2-1-1	单株数	12	5	12	5	10	5
	Max	400	4102	3761	5	1176	1
	Min	24	258	98	1	195	0
	平均数	243	2808.8	2044.5	2.6	754.4	0.4
湘 S4-2-2-1-1	单株数	5	5	8	5	6	6
	Max	26	135	306	0	149	0
	Min	6	91	93	0	133	0
	平均数	13.2	113	172	0	142.5	0
黔 815H-2-1-1-1	单株数	7	5	5	5	5	5
	Max	63	103	112	3	117	1
	Min	21	27	55	2	76	0
	平均数	31	69	91	2.4	88	0.2
2117-9	单株数	9	6	7	5	6	6
	Max	51	4	101	5	137	1
	Min	6	1	62	0	22	0
	平均数	21.8	2.7	84.7	3.5	70.7	0.3

的平均诱导结实数分别达到了 2808.8 粒和 2044.5 粒，对湘 S4-2-2-1-1 的平均诱导结实数也达到 113 粒和 172 粒，这个数字在生产上已经具有利用价值。II 号和 III 号诱导剂的这个诱导频率是十分让人感兴

趣的，尤其是III号诱导剂，由于其在经济上的优越性而适宜推广。以IV号诱导剂的诱导效果最差，它在所有品种上的诱导结实数都寥寥无几。

3.1.1.2 不同品种间受诱导的差异

本试验在统计各诱导剂诱导无融合生殖的效果时采用了统计单株结实数而非统计结实率的方法，一是因为苧麻单株雌花数目极大，可达上万之多，因此统计结实率将是一个十分耗工费时的工作；二是因为统计结实数可以更直观地反映利用无融合生殖种子进行繁殖的繁殖系数。而在试验过程中，2117-9 这个品种因为管理上的某些原因，开花较少，结实数也较少，但若统计结实率，与其它品种之间差异应该不大，除此之外，各品种之间还是存在一些差异，芦 S4-2-2-1-1 的各处理结实数明显高于其它材料，湘 S4-2-2-1-1 黔 815H-2-1-1-1-1 的诱导结实率相对较低，而且这两个品种经 V 号诱导剂处理的效果要优于 II 号，与芦 S4-2-2-1-1 不同，后者以 II 号诱导剂效果最佳。最后需要指出的是 2117-9 似乎对 II 号诱导剂敏感，在用 II 号诱导剂处理后，2117-9 大部分雌花萎缩，花柄弯曲，下垂，数日后雌花枯萎脱落，只有极少数花序可以继续发育进程。这是由于处理的方式、时期不对，还是因为 2117-9 本身的原因，有待进一步研究。

3.1.1.3 不同处理方法和时期的差异

本试验采用了喷施的方法。因为其方法简便，节约时间，可以充分利用诱导剂（钟爱平，1993）。但在喷施的具体对象上，采用了只喷花序和既喷花序也喷花序附近叶片的背面两种方法，用 I 号和 II 号诱导剂处理芦 S4-2-2-1-1，只对花序进行处理的结实数约为第二种方法的一半或更少。（平均结实数 I 号处理为 131 粒，II 号处理为 976 粒）。

关于进行处理的时期，由于苧麻花期相当长，同一单株不同节位的花序，发育进程相差很大，最大可相差一个月左右，而即使同一节位的花也不是完全发育同步的，因此采取适当的处理时期对于诱导能否成功十分重要。有人认为，对同一节位的花序，应于约半数雌花的柱头伸出子房时进行处理（钟爱平，1993）。根据本实验的结果，认为从开始有柱头伸出子房到绝大多数柱头都伸出子房处理都可，在这个时间段里，愈早处理则花

序枯萎死亡愈严重, 2117-9 有几蔸材料在约半数雌花柱头伸出子房时进行处理, 结果发现在 2 天-3 天内有大约一半花序变成黑褐色, 不久枯死, 而推迟 5 天-6 天处理, 则只有极少数枯死。因此认为在上述时间段里, 处理宜迟不宜早, 但也不可太晚, 否则一旦错过启动无融合生殖发育的时期, 诱导将会失败。对于不同节位的花序, 则可以分批处理, 一般一周一次为佳, 处理时由下向上喷施, 花序表面和叶片背面出现均匀水雾则停止, 不可有水珠, 否则会流淌至下部花序(已处理过)上, 影响其发育进程。各品种对处理时期的要求可能不太一致。芦 S4-2-2-1-1、湘 S4-2-2-1-1 对处理略早的反应就没有 2117-9 那么敏感。

3.1.1.4 经无融合生殖所获种子的特性

将各处理所产生的种子取一部分于 28℃ 恒温培养发芽, 另取对照种子于相同条件发芽, 每天记载发芽率(见表 2)。

根据何嵩山(1983)报道, 苎麻种子发芽于第 3 天开始, 第 4—第 7 天为高峰期, 第 8—第 13 天仍有少数种子发芽, 用第 7 天作为计算发芽势的时间, 可用发芽势+发芽势 $\times$ 10%=估算的总发芽率这个经验公式来估计总发芽率, 从表 2 可以看出, 各处理的种子发芽情况基本符合前述, 第 4—第 7 天为高峰期, 湘 S4-2-2-1-1 V 号处理第 4 天发芽率达到 75%, 第 7 天为 79%, 而 2117-9 I 号处理第 4 天只有 25%, 第 7 天也达到 65%, 大部份处理的种子发芽势在 65%-75%之间。几乎所有处理的种子估计发芽率都在 70%以上, 与对照基本相同。事实上, 第 8 天的发芽率已大部分超过了 70%, 其中芦 S4-2-2-1-1 I 号处理估计发芽率达到 90.2%, 而湘 S4-2-2-1-1 II 号处理发芽率最低, 只有 63.8%。

15 个处理中 8 个千粒重在 0.101g-0.150g 之间为中粒组, 7 个在 0.151g-0.200g 之间属大中粒组(何嵩山, 1983)。有规律的是, 几乎所有 III 号、V 号处理的种子千粒重都在 0.151g 以上, 为大中粒组, 仅有的一个例外是 2117-9 III 号处理千粒重也达到 0.149g。所有诱导所产生的种子千粒重都远大于对照(湘苎二号)。

3.1.2 诱导无融合生殖后代幼苗形态异常现象

将上述种子在发芽试验中发芽的种子移栽至无菌土中, 另外, 播一部

表 2 各处理种子的千粒重、发芽势与估计发芽率
Table 2 The weight of one thousand granules, vigor of germination, germination capacity of each treatment

	芦 S4-2-2-1-1				湘 S4-2-2-1-1				黔 815-2-1-1-1-1				2117-9				对 照 (湘芒二号)
	I	II	III	V	I	II	III	V	I	II	III	V	I	III	V	V	
千粒重	0.139	0.146	0.155	0.155	0.136	0.148	0.180	0.155	0.133	0.145	0.157	0.150	0.132	0.149	0.153	0.095	
种子总数	100	100	100	100	20	50	60	100	20	50	50	50	20	50	50	100	
发芽数	3	5	8	2	1	5	0	3	0	1	4	3	0	2	3	4	
发芽率	3%	5%	8%	2%	5%	10%	0%	3%	0%	2%	8%	6%	0%	40%	6%	4%	
第四天发芽数	60	41	58	40	10	27	31	72	6	14	21	26	5	23	20	51	
发芽率	63%	46%	66%	42%	55%	64%	52%	75%	30%	30%	50%	58%	25%	50%	46%	55%	
第五天发芽数	10	9	3	16	2	2	6	0	4	7	3	5	4	5	5	8	
发芽率	73%	55%	69%	58%	65%	68%	62%	75%	50%	44%	56%	68%	45%	60%	56%	63%	
第六天发芽数	4	7	0	12	0	3	1	3	1	5	3	1	3	8	5	6	
发芽率	77%	62%	69%	70%	65%	74%	63%	78%	55%	54%	62%	70%	60%	76%	66%	69%	
第七天发芽数	5	6	0	3	2	0	2	1	2	2	3	0	1	0	1	3	
发芽率	82%	68%	69%	73%	75%	74%	67%	79%	65%	58%	68%	70%	65%	76%	68%	72%	
第八天发芽数	0	2	0	0	1	0	0	1	1	0	2	1	1	0	0	0	
发芽率	82%	70%	69%	73%	80%	74%	67%	80%	70%	58%	72%	72%	70%	76%	68%	72%	
估计发芽率	90.2%	74.8%	75.9%	80.3%	82.5%	81.4%	73.7%	86.9%	71.5%	63.8%	74.8%	77%	71.5%	83.6%	74.8%	89.2%	

分种子于无菌土中，观察到在幼苗生长过程中出现一些形态上的异常现象，对照中没有见到类似异常的现象。

3. 1. 2. 1 子叶异常

绝大部分幼苗的子叶比正常对照幼苗子叶肥大。有分子叶形状异常，类似真叶。苎麻是双子叶植物，对照幼苗子叶全部两片，而无融合生殖一代幼苗子叶除两片外，还有单子叶，三子叶，各种异常现象频率见表 3，其中三子叶苗最多，又可根据真叶情况分为①三子叶二真叶；②三子叶三真叶。也可以根据叶柄情况分为①三子叶三叶柄；②三子叶二叶柄，后者二片子叶共生于一个叶柄上。而且所有三子叶二叶柄的幼苗都属于三子叶二真叶类型。

3. 1. 2. 2 真叶异常

正常苎麻真叶为互生叶片，第一，二片真叶发生虽有先后，但几乎同时，其后则每次一叶，相继发生，真叶叶缘有浅齿。在无融合生殖后代幼苗中观察到下列异常现象①真叶叶缘异常，叶齿巨大，但一株中仅一片叶

表 3 各处理后代幼苗形态异常统计

Table 3 The statistic of abnormal phenomena of each treatment seedlings

异常现象	芦 S4-2-2-1-1				湘 S4-2-2-1-1			2117-9			湘苎 二号
	I	II	III	V	II	III	V	I	III	V	
总单株数	126	131	107	123	19	25	21	16	12	15	0
单子叶	1			3						1	0
三子叶二真叶	13	5	8	8		1	3			1	0
三子叶三真叶	9	2	11	9	3	2	3	1	2	2	0
三子叶三叶柄	12	3	13	12	3	2	4	1	2	2	0
三子叶二叶柄	10	4	6	5		1	2			1	0
真叶叶缘异常				1							0
真叶迟缓、子叶肥厚	6	10	7	12		2				1	0
真叶状子叶				1						2	0
双子叶单真叶		2			3						0

如此；②两片子叶生出后只发生一片真叶，幼苗生长趋于停止；③真叶发生迟缓。子叶生出三周半后仍未见真叶生出。对照子叶生出后 15 天左右出第一片真叶。

因时间有限,未对异常幼苗作进一步观察,对于其产生原因,发育去向尚不清楚,有待进一步深入研究。

3.1.3 诱导剂对植株生长的影响

喷施诱导剂后,植株的叶片、花序会出现一些异常现象。若喷施的时期,方式不对,会造成花序枯死,甚至植株死亡。即使在正确喷施的情况下,也会出现植株生长受影响的现象。III号、IV号诱导剂可促进花序生长,处理后花序明显肥大。2117-9花序呈淡红色,喷施诱导剂之后花序颜色会减淡,所有诱导剂处理后的雌花的柱头颜色会略微变深。I号、III号、V号处理后花柄伸长明显,可达1.5cm-2.0cm,同期对照花柄长为0.6cm-1.2cm。处理后第二天叶柄、花柄都披垂,2-3天后恢复正常。I号、II号、V号叶片处理后第二天呈卷曲状,并翻转至背面朝上,3-4天后恢复正常,III号,IV号处理几天后叶片正面出现白色小斑。

3.2 胚胎学研究

3.2.1 解离液的选择

通过用4种解离液解离苧麻雌花宿存花被和子房壁的对比,发现用碱液解离效果较好。由于苧麻雌花很小,而花被又结合紧密,用手工的方法剥出胚珠十分困难,若直接用整体染色透明法,会因为花被着色很深,无法透明。因此花被解离的好坏直接关系到是否可以在苧麻胚囊的观察上使用整染透明法。用Jeffrey氏解离液浸渍2天后发现只有极少数雌花的花被被解离,而且材料子房壁呈深褐色,水洗无法除去,影响下一步观察。用段续川解离液处理的材料解离强度稍好于Jeffrey氏解离液,但同样面临材料子房壁颜色加深的问题,用果胶酶和纤维素酶混合液恒温酶解1-2天也效果不佳。实验证明,用10%的KOH溶液在85℃恒温条件下处理3-4小时,效果明显,半数以上的雌花花被被解离,材料呈淡黄色,若马上继之以水洗,可使材料恢复到白色透明状。值得注意的是,在KOH处理后就直接可以在普通显微镜下观察到胚囊的结构,当然不是很清晰,但如果不摄影而仅仅观察是完全可以的,碱液处理的时间幼嫩的材料应该比较老的材料长一些,可能是因为幼花花被结合更紧密的原因。

3.2.2 染色的方法和时间

体的细胞；各处理后代植株中除有较多含 14, 28 条染色体的细胞，还有较多含 21 条染色体的细胞，这似乎意味着苎麻染色体是以 7 条为一组，而非通常所认为的 14 条。钟爱平（1993）曾有类似报道。苎麻的染色体数目为 7 的细胞是本试验首次发现，以前未见报道。如果这一假设成立，那么大量含 21 条染色体植株的来源则有多种可能，是否性细胞与体细胞融合、抑或三个性细胞融合而成？这有待更进一步的研究。

在诱导产生的种子中，有相当一部分是与母本的倍性相同的，如芦 S4-2-2-1-1，4 个处理中 14 条染色体植株都占到 20%-30%，2117-9 III 号处理更是达到 45%，当然，这些植株的基因型是否与母本完全一致还有待进一步检查。

在无融合生殖后代植株中还观察到不均等分裂，染色体落后等异常现象。见图版 1，混倍体细胞和各染色体数目细胞也见图版 1。

4. 讨论

4.1 根据试验结果，利用化学药剂诱导苎麻无融合生殖是有效的。提高诱导频率和降低诱导剂成本的目的基本达到。各诱导剂之间，各品种之间的诱导结实数有差异，效果较好的有 II 号、III 号、V 号诱导剂，尤其以 III 号诱导剂最佳，对各品种的诱导效果普遍较好，适用范围较广，最具推广前景。由于苎麻雌花众多，发育时期长，不同节位甚至同一节位上的花发育时期存在着差距，为实践中的施药时期选择带来了一定的困难。只能根据整体指标尽可能多的启动雌花发育，而各品种在整体指标的选择上存在一定差异，针对某一特定品种，适时适次喷施诱导剂的模式仍需在实践中探索。

4.2 本试验所用 4 个品种材料中，3 个为全雌性材料，另 1 个 2117-9 为异花同株，采取人工去雄，十分繁琐，而且必须非常仔细，大田中不可能利用人工去雄，而化学去雄势必对苎麻生长发育产生一定影响，是否会对无融合生殖诱导产生影响，本试验未作探讨。本试验采取高墙加空间距离进行隔离，证明效果较好。而用套袋隔离（钟爱平，1993）会较严重地影响植株生长，甚至导致部分花序停止发育。

4.3 从单株诱导结实数来看, 芦 S4-2-2-1-1 的任何一个处理都远远超出了其他三个供试品种, 而且其无融合生殖诱导后代种子发芽势和发芽率亦优于其它三个品种来的种子, 这种差异的原因是什么? 是否和其本身基因型有关, 恰巧芦 S4-2-2-1-1 的染色体数目为 14, 和其它三个供试品种 ($2n=28$) 不同。臧巩固 (1995) 指出在苧麻中从事无融合生殖研究的方向之一是在苧麻栽培种中寻找无融合生殖材料, 并认为经物理或化学诱导的材料后代可能会存在无融合生殖的突变基因。这是否意味着可以在芦 S4-2-2-1-1 及其诱导后代植株上深入开展研究, 或许会有新的突破。

4.4 无融合生殖诱导后代种子饱满, 发芽率较高, 与对照无明显差异。但所出幼苗中异常现象较多, 与对照差异很大。这些差异有可能是由于诱导剂诱发的突变使然, 也可能是诱导剂启动雌花发育的特定方式导致原来的隐性基因的效应表现出来, 但各处理所获种子所出幼苗均有大量三子叶苗 (20%左右), 这在正常苧麻杂合体的分离后代中是见不到的 (钟爱平, 1993)。除三子叶苗之外的幼苗异常形态并不普遍, 也许三子叶苗是苧麻化学诱变后代中的普遍现象, 这令人很自然的联想到在无融合生殖后代倍性检查中 21 条染色体的植株和混倍体中含 21 条染色体的细胞也较多, 同样大约在 20%左右, 不知其中是否有必然联系。有待进一步的实验证明。

4.5 传统的研究胚胎发育的方法是利用切片, 但是苧麻雌花极小, 切片时很难切到一个全面的胚囊图像, 而且包埋和切片的定向也不好控制。通常要进行很大规模的切片才可以得到一个较令人满意的纵切面图像, 而苧麻无融合生殖的频率并不很高, 启动发育的只是较少数的材料。因此利用切片来观察苧麻无融合生殖胚胎发育的过程无疑是不适宜的。这就需要设计另一种简便、快速、有效的方法来代替切片进行观察。

杨弘远 (1986; 1988) 提出了用整体染色透明的方法来观察植物的胚囊, 这一技术由于其简单, 快速而且不破坏整体结构, 三维立体感好而在植物胚胎学研究中得到了日益广泛的应用。但整体染色透明的操作对象是剥除子房壁和珠被的材料, 这一步主要依靠手工剥除, 在子房较大的材料上这是比较容易做到的。但正如前述, 苧麻雌花极小, 用手工方法剥除宿存花被和子房壁几乎是不可能的, 若对苧麻的完整雌花采用整染透明的方

法,则无法透过外层遮蔽而观察到胚囊。因此,本试验采用了解离液处理的方法来脱去苎麻的花被和子房壁。解离法是借药物的作用,将组织浸软,使组织的各个组成部分之间的某些结合物质被溶化而分离的一件非切片法(郑国钊,1979),正确使用解离法的关键在于所用解离液对组织部分之间的结合物质是否能起作用。常用的有 Jeffrey 氏解离液和段续川解离液,前者适用于木质化组织,后者适用于草本植物的薄壁细胞,都不适用于苎麻雌花花被的解离,而酶法解离针对的是含果胶和纤维素的初生壁,对木质化和栓质化的细胞壁则无能为力(周嫦等,1982;李乐工等,1985)。看来,苎麻雌花花被和子房的结合物质应该既非含只具初生壁细胞的组织也非一些木质化的组织,但其可以被碱液解离,目前仍不清楚其组织成分,若进一步研究探明则可以为碱液在植物组织解离中的应用指明方向。

本试验只是初步指明了一条简单的观察苎麻及其他类似植物胚囊的方法,而由于时间的关系和采集样品的数量的局限,并未能对苎麻无融合生殖胚的发育过程进行全面的观察。

但从已观察到的一些现象来看,苎麻无融合生殖有可能部分起源于反足细胞的无配子生殖,据报道大部分无融合生殖起源于卵细胞或助细胞,如水稻(田惠桥等,1983;李国民等,1986;姚家琳等,1994)、油菜(罗鹏,1981)、向日葵(阎华等,1985;1989),而在韭菜(田惠桥等,1991)、大麦(黄群飞等,1982)中则有报道反足细胞无配子生殖,当然苎麻无融合生殖也有可能起源于二倍体孢子生殖,在同为荨麻科苎麻属的赤苎中就发现了二倍体孢子生殖(臧巩固 1997)。

4.6 利用化学药剂诱导苎麻无融合生殖后代的染色体数目变化很大,实验结果表明有两条规律:第一,混倍体植株多;第二,染色体数目为7的倍数的细胞频率高。

胡含(1978)、张玉玲(1988)报道了小麦花粉愈伤组织植物体细胞染色体数目存在变异,赵佐宇等(1988)也报道了化学药剂诱导的玉米孤雌生殖植株中有超过一半为混倍体,国外在烟草(Hanna,1970)、白花蔓陀罗(Iyer,1972)、矮牵牛(Engvila,1974)等材料中诱导出了花粉植株,也在其中观察到混倍体植株,这些用化学药剂诱导产生的植株都有混倍现

象,说明混倍体植株的产生不是偶然的,而是一种普遍现象。胡含(1978)认为由于离体培养和花粉的单倍性容易引起植物体细胞的有丝分裂异常,从而导致非整倍体的出现,而在苎麻无融合生殖诱导后代的根尖细胞中也发现了一些有丝分裂的异常现象,其原因显然不是因为离体培养和花粉单倍性,而应与所使用化学药剂有关,其机理可能是复杂的,有待进一步研究。

一般认为,苎麻染色体组型为 $2n=28$,即一组为 14 条,钟爱平(1993)提出了苎麻染色体是否 7 条一组的假设,他的依据是发现了大量含染色体 21、35、49 的细胞,而本试验所用亲本芦 S4-2-2-1-1 为 14 条染色体,其诱导后代中甚至出现了部分 7 条染色体的植株,为上述假设提供了更进一步的支持,此假设最终是否正确还有待进一步验证。

4.7 苎麻无融合生殖诱导现在仍处在活体诱导的阶段,虽然已经取得了一定的成绩,但由于活体诱导在实践上不稳定,操作上有一定困难,产生后代情况复杂,产生机理不清晰,这都阻碍了苎麻无融合生殖研究的进一步发展,而想要深入彻底地解决这些问题,方向应该是活体诱导和无融合生殖材料的筛选和杂交选育(蔡得田,1992)。活体诱导有利于深入探讨无融合生殖机理,而无融合生殖真正的大范围使用必须能拥有显性、专性无融合生殖材料。

因时间有限,未对异常幼苗作进一步观察,对于其产生原因,发育去向尚不清楚,有待进一步深入研究。

3.1.3 诱导剂对植株生长的影响

喷施诱导剂后,植株的叶片、花序会出现一些异常现象。若喷施的时期,方式不对,会造成花序枯死,甚至植株死亡。即使在正确喷施的情况下,也会出现植株生长受影响的现象。III号、IV号诱导剂可促进花序生长,处理后花序明显肥大。2117-9花序呈淡红色,喷施诱导剂之后花序颜色会减淡,所有诱导剂处理后的雌花的柱头颜色会略微变深。I号、III号、V号处理后花柄伸长明显,可达1.5cm-2.0cm,同期对照花柄长为0.6cm-1.2cm。处理后第二天叶柄、花柄都披垂,2-3天后恢复正常。I号、II号、V号叶片处理后第二天呈卷曲状,并翻转至背面朝上,3-4天后恢复正常,III号,IV号处理几天后叶片正面出现白色小斑。

3.2 胚胎学研究

3.2.1 解离液的选择

通过用4种解离液解离苧麻雌花宿存花被和子房壁的对比,发现用碱液解离效果较好。由于苧麻雌花很小,而花被又结合紧密,用手工的方法剥出胚珠十分困难,若直接用整体染色透明法,会因为花被着色很深,无法透明。因此花被解离的好坏直接关系到是否可以在苧麻胚囊的观察上使用整染透明法。用Jeffrey氏解离液浸渍2天后发现只有极少数雌花的花被被解离,而且材料子房壁呈深褐色,水洗无法除去,影响下一步观察。用段续川解离液处理的材料解离强度稍好于Jeffrey氏解离液,但同样面临材料子房壁颜色加深的问题,用果胶酶和纤维素酶混合液恒温酶解1-2天也效果不佳。实验证明,用10%的KOH溶液在85℃恒温条件下处理3-4小时,效果明显,半数以上的雌花花被被解离,材料呈淡黄色,若马上继之以水洗,可使材料恢复到白色透明状。值得注意的是,在KOH处理后就直接可以在普通显微镜下观察到胚囊的结构,当然不是很清晰,但如果不摄影而仅仅观察是完全可以的,碱液处理的时间幼嫩的材料应该比较老的材料长一些,可能是因为幼花花被结合更紧密的原因。

3.2.2 染色的方法和时间

根据杨弘远(1986、1988)报道,可用整体染色透明法进行植物胚胎学的观察。本试验在苎麻胚胎的观察上使用了整染透明的方法,并在一些方面针对苎麻雌花的特点加以改进,用爱氏苏木精稀释液染色,时间从5分钟到1小时,染色深浅始终无法达到清晰,不是太浅就是太深,过度染色再经铁矾分色效果也不理想,我们经反复实验,发现改变染色剂的浓度,以爱氏苏木精:45%醋酸与50%酒精等量混合液5:1染色3-5分钟,胚囊细胞和珠心、珠被细胞染色差异较大,经透明后可以较好地观察到胚囊的结构,此法对染色时间要求比较精确,具体到不同幼嫩程度的材料,时间还需摸索,一般愈幼嫩的材料染色时间愈短。此外,染色时一小瓶材料中各材料之间染色常常不均匀,加以连续轻微振动可以较好地解决这个问题。

3.2.3 胚胎学的观察

由于本试验摸索条件的时间比较长,而且取样数量不够,加之试验中雌花损失较多,因此未能对苎麻整个无融合生殖的发育过程进行观察,仅观察到下列现象:

1) 反足细胞团:所观察的胚囊中(大多为喷施诱导剂后3-4天的样品),绝大多数极核与卵器都已退化,可以看到明显的反足细胞团,而在正常苎麻胚囊中,反足细胞团应是较早退化的。

2) 胚的形状有两种,一种为球形胚,一种为梨形胚,其来源不详。

3.3 无融合生殖诱导产生后代的倍性

取诱导无融合生殖后代和母本的根尖进行压片,观察染色体数目,四个母本材料,除芦S4-2-2-1-1为14条染色体,其余三个材料染色体都为28条,母本的染色体数目情况比较整齐。

而对诱导无融合生殖后代根尖分生组织体细胞染色体数目的检查则表明,这些植株染色体倍性比较复杂,有单倍体、二倍体、非整倍体和超单倍体。有的即使是同一植株,各细胞之间的染色体数目也不一致,表现为混倍体植株。这种植株占所检查后代植株的25%-45%(见表4),从十二个处理中各取一株混倍体植株检查其含不同染色体数目细胞的频率(见表5),发现其中非整倍体细胞占相当大的比例,其中含21条染色体的细胞

表 4 各染色体数目植株的频率
Table 4 The frequency of each chromosome plants

材料	总单		混倍体		7		14		21		28		其余非整倍体植株数目				
	株数	数目	株数	百分比%	数目	百分比%	数目	百分比%	数目	百分比%	数目	百分比%	13	16	17	18	23
芦 I	30	11	36.7		2	6.7	6	20.0	9	30.0		0			2		
芦 II	30	9	30.0		3	10.0	8	26.7	6	20.0		0	1	2	1		
芦 III	30	8	26.7		2	6.7	9	30.0	8	26.7		0	2			1	
芦 V	30	13	43.3		1	3.3	8	26.7	5	16.7		0		1			
湘 II	20	7	35.0			0	3	15.0	3	15.0	5	25.0			1		1
湘 III	20	6	30.0			0	4	20.0	5	25.0	3	15.0	1		1	1	
湘 V	20	9	45.0			0	3	15.0	4	20.0	3	15.0					1
黔 II	20	5	25.0			0	3	15.0	5	25.0	7	35.0					
黔 III	20	7	35.0			0	2	10.0	6	30.0	4	20.0		1			
黔 V	20	9	45.0			0	5	25.0	3	15.0		0			1		2
2117-9III	20	7	35.0			0	1	5.0	3	15.0	9	45.0					
2117-9V	20	11	55.0			0		0	2	10.0	5	25.0	1				1

表 5 混倍体植株染色体数目的分布

Table 5 The distribution of chromosome number of mixoploid plants

染色体数目		7	10-13	14	16-18	21	23-25	28	合计
芦 I	细胞数	1	6	9	10	13	1		40
	百分数%	2.5	15.0	22.5	25.0	32.5	2.5		100.0
芦 II	细胞数	2	8	12	12	7			41
	百分数%	4.9	19.5	29.3	29.3	17.1			100.0
芦 III	细胞数		3	8	11	8	2		32
	百分数%		9.4	25.0	34.4	25.0	6.3		100.0
芦 V	细胞数	1	14	9	10	11			45
	百分数%	2.2	31.1	20.0	22.2	24.4			100.0
湘 II	细胞数		3	8	5	9	10	13	48
	百分数%		6.3	16.7	10.4	18.8	20.8	27.1	100.0
湘 III	细胞数		1	12	14	12	7	16	62
	百分数%		1.6	19.4	22.6	19.4	11.3	25.8	100.0
湘 V	细胞数		2	3	2	3	1	5	16
	百分数%		12.5	18.8	12.5	18.8	6.3	31.3	100.0
黔 II	细胞数		3	5	8	7	5	11	39
	百分数%		7.7	12.8	20.5	17.9	12.8	28.2	100.0
黔 III	细胞数			7	11	7	9	14	48
	百分数%			14.6	22.9	14.6	18.8	29.2	100.0
黔 V	细胞数		1	10	9	11	4	16	51
	百分数%		2.0	19.6	17.6	21.6	7.8	31.4	100.0
2117-9 III	细胞数			11	3	8	6	9	37
	百分数%			29.7	8.1	21.6	16.2	24.3	100.0
2117-9 V	细胞数			7	9	7	2	10	35
	百分数%			20.0	25.7	20.0	5.7	28.6	100.0

亦较多,这一点和非混倍体植株中染色体数目的分布有些相似。另一个相同点就是无论在混倍体还是非混倍体植株中都未见超过 28 条染色体的多倍体,这一点和前人在苎麻的无融合生殖诱导研究中的报道(钟爱平, 1993; 晏春耕等, 1995)不同。

芦 S4-2-2-1-1 为从芦竹青品种自交后代中选出的材料,染色体数目为 14 条,以芦 S4-2-2-1-1 为母本进行诱导产生后代中发现有含 7 条染色

体的细胞；各处理后代植株中除有较多含 14, 28 条染色体的细胞，还有较多含 21 条染色体的细胞，这似乎意味着苎麻染色体是以 7 条为一组，而非通常所认为的 14 条。钟爱平（1993）曾有类似报道。苎麻的染色体数目为 7 的细胞是本试验首次发现，以前未见报道。如果这一假设成立，那么大量含 21 条染色体植株的来源则有多种可能，是否性细胞与体细胞融合、抑或三个性细胞融合而成？这有待更进一步的研究。

在诱导产生的种子中，有相当一部分是与母本的倍性相同的，如芦 S4-2-2-1-1，4 个处理中 14 条染色体植株都占到 20%-30%，2117-9 III 号处理更是达到 45%，当然，这些植株的基因型是否与母本完全一致还有待进一步检查。

在无融合生殖后代植株中还观察到不均等分裂，染色体落后等异常现象。见图版 I，混倍体细胞和各染色体数目细胞也见图版 I。

4. 讨论

4.1 根据试验结果，利用化学药剂诱导苎麻无融合生殖是有效的。提高诱导频率和降低诱导剂成本的目的基本达到。各诱导剂之间，各品种之间的诱导结实数有差异，效果较好的有 II 号、III 号、V 号诱导剂，尤其以 III 号诱导剂最佳，对各品种的诱导效果普遍较好，适用范围较广，最具推广前景。由于苎麻雌花众多，发育时期长，不同节位甚至同一节位上的花发育时期存在着差距，为实践中的施药时期选择带来了一定的困难。只能根据整体指标尽可能多的启动雌花发育，而各品种在整体指标的选择上存在一定差异，针对某一特定品种，适时适次喷施诱导剂的模式仍需在实践中探索。

4.2 本试验所用 4 个品种材料中，3 个为全雌性材料，另 1 个 2117-9 为异花同株，采取人工去雄，十分繁琐，而且必须非常仔细，大田中不可能利用人工去雄，而化学去雄势必对苎麻生长发育产生一定影响，是否会对无融合生殖诱导产生影响，本试验未作探讨。本试验采取高墙加空间距离进行隔离，证明效果较好。而用套袋隔离（钟爱平，1993）会较严重地影响植株生长，甚至导致部分花序停止发育。

参考文献

- [1]牛天堂、孙毅、白志良. 远缘授粉和激素处理刺激高粱的无融合生殖。
华北农学报, 1987; 2 (3): 1-7
- [2]王春秀. 化学药剂诱导孤雌生殖在玉米育种中的应用研究。 山东农业
科学, 1989; 5: 9-12
- [3]四川大学生物系遗传组. 油菜孤雌生殖的遗传学研究. 遗传学报, 1979;
6 (1): 56
- [4]田惠桥、杨弘远. 水稻子房培养时助细胞的无配子生殖和卵细胞的异常
分裂. 植物学报, 1983; 25 (5): 403-408
- [5]田惠桥、杨弘远. 非菜孤雌生殖和反足细胞无配子生殖超微结构观察。
植物学报, 1991; 33 (11): 819-824
- [6]刘国民. 苎麻育种的困难和生物技术的应用. 见: 李宗道主编, 苎麻生
物技术研究进展. 长沙, 湖南科学技术出版社, 1996: 1-4
- [7]朱庆麟. 玉米单性孢子体的诱发及其性状表现. 西北农学院学报, 1979;
4: 49-58
- [8]孙蒙祥、姚家琳、李和平、蔡得田、王灶安. 多胚水稻多胚类型的研究。
华中农业大学学报, 1992; 11 (1) 21-25
- [9]李宗道. 麻作的理论与技术. 上海, 上海科学技术出版社, 1980:
196-240
- [10]李乐工、胡适宜. 用酶解压片法分离胚囊. 植物学报, 1985; 27 (6):
561-568
- [11]李国民、杨弘远. 水稻离体无配子生殖的进一步胚胎学研究. 植物学
报, 1986; 28 (3): 229-234
- [12]杜连恩、郭素芹、罗景兰、孙志华. 延迟授以黑麦花粉和化学药剂诱
导冬小麦孤雌生殖的研究初报. 河北农学报, 1983; 7 (1): 7-9
- [13]何嵩山. 苎麻种子特性的试验. 华中农学院学报, 1983; 2 (2): 86-87
- [14]张玉玲、李德森、潘卫华. 麦花培后代产生非整倍体的研究. 遗传学
报, 1985; 15 (4): 260-264
- [15]周世崎. 棉花孤雌生殖研究初报. 遗传学报 1980; 7 (3): 247-256

- [16]周嫦、杨弘远. 从水稻未授粉的幼嫩子房培养出单倍体小植株. 遗传学报, 1980; 7: 287-288
- [17]周嫦、杨弘远. 被子植物胚囊酶法分离的研究: 固定材料的分离技术与显微观察. 植物学报, 1982; 24 (5): 403-406
- [18]周嫦、杨弘远、田惠桥、刘中来、阎华. 水稻的未传粉子房培养. 武汉大学学报, 1983, 4: 146-154
- [19]罗鹏. 油菜的孤雌生殖及其实际应用. 中国农业科学, 1981; 4: 27-40
- [20]郑国锷. 生物显微技术. 北京, 人民教育出版社, 1978: 132-135
- [21]杨弘远、周嫦. 用酶解技术观察泡桐与芝麻的大孢子发生和雌配子体发育过程. 植物学报, 1984; 26(4): 355-358
- [22]杨弘远. 用整体染色与透明技术观察胚、胚乳和胚状体. 植物学报, 1986; 28 (6): 575-581
- [23]杨弘远. 植物胚胎学中的整体透明技术. 植物学通报, 1988; 5 (2): 114-116
- [24]钟爱平. 苎麻诱导无融合生殖及其胚胎学初步研究. 见: 李宗道主编, 苎麻生物技术研究进展 长沙, 湖南科学技术出版社, 1996: 230-151
- [25]胡含、郝子英、贾双娥. 小麦花粉愈伤组织植株体细胞染色体的变异. 遗传学报, 1978; 5 (1): 24-29
- [26]胡启德、何宗宇、曹化林、魏季玲、杜述荣、宋海燕. 诱导小麦孤雌生殖及其应用. 遗传学报, 1979; 6 (1): 20
- [27]胡适宜. 被子植物胚胎学. 北京, 高等教育出版社, 1982: 216
- [28]赵佐宇、谷明光. 药物诱导玉米孤雌生殖获得二倍体纯系. 遗传学报, 1984; 11 (1): 30-46
- [29]赵佐宇、谷明光. 化学药剂诱导玉米孤雌生殖植株的细胞遗传学研究. 遗传学报, 1989; 15 (2): 89-94
- [30]赵立宁、臧巩固. 苎麻属全雌性无融合生殖种雄花诱导研究. 中国麻作, 1997; 19 (2): 5-8
- [31]姚家琳、孙蒙祥、李和平、蔡得田、王灶安. 多胚的起源及胚胎发育中的异常现象. 华中农业大学学报, 1991; 10: 233-237

- [32]姚家琳、蔡得田、马平福、王灶安、祝虹. 无融合生殖水稻 HDAR002 的胚胎学研究. 华中农业大学学报, 1994; 13 (4): 339-343
- [33]袁隆平. 杂交水稻的育种战略思想. 杂交水稻, 1987; (1): 1-3
- [34]郭仲琛. 水稻未受精子房离体培养的初步研究. 植物学报, 1982; 24: 33-38
- [35]晏春耕、王春桃、郑恩乡、崔国贤、程尧楚、李宗道. 苎麻孤雌生殖后代染色体倍性的初步观察. 见: 李宗道主编, 苎麻生物技术研究进展. 长沙, 湖南科学技术出版社, 1996: 252-258
- [36]黄群飞、杨弘远、周嫦. 大麦未授粉子房培养的胚胎学观察. 植物学报, 1982; 24 (4): 295-300
- [37]阎华、吴燕、陈小民、魏正元、周嫦、杨弘远. 向日葵未受精胚珠培养时胚状体发生的显微观察. 植物学报, 1985; 27 (1): 13-18
- [38]阎华、杨弘远. 向日葵离体孤雌生殖的超微结构研究. 植物学报, 1989; 31 (1): 1-6
- [39]赖来展. 化学药剂诱导水稻孤雌生殖及其在育种上的应用. 遗传, 1983; 5 (3): 13-16
- [40]蔡得田、陈冬玲、祝虹、金丰. 从“湖北光敏核不育水稻”的未受精子房和花药培养出单倍体植株. 实验生物学报, 1988; 21: 401-407
- [41]蔡得田、祝虹、姚家琳. 多胚水稻未受精子房和花药培养. 华中农业大学学报, 1991; 10 (3): 228-232
- [42]蔡得田、马平福、关和新、姚家琳、王灶安、祝虹. 高频率无融合生殖水稻的研究. 华中农业大学学报, 1991; 10 (3): 223-227
- [43]蔡得田、陈冬玲. 水稻无融合生殖研究的进展. 华中农业大学学报, 1992; 11 (1): 15-20
- [44]蔡得田、陈冬玲. 水稻无融合生殖的研究动态及其进展. 华中农业大学学报, 1993; 12 (6): 529-534
- [45]臧巩固. 苎麻属无融合生殖种质资源的初步研究. 中国麻作, 1991; 2: 6

- [46]臧巩固. 植物无融合生殖及其在苧麻育种中的应用. 中国麻作, 1995; 17 (1): 16-19
- [47]臧巩固. 中国苧麻属无融种综发现初报. 中国麻作, 1996; 18 (1): 19
- [48]臧巩固、赵立宁、孙敬之. 赤苧无融合生殖细胞胚胎学研究. 植物学报, 1997; 39 (3): 210-213
- [49]颜昌敬、赵庆华、胡继金、周朴华、范鸿芝、李宗道、潘昌立、王春桃. 苧麻组织培养及其在快速繁殖上的应用. 见: 李宗道主编, 苧麻生物技术研究进展. 长沙, 湖南科学技术出版社, 1996: 8-19
- [50]黎恒庆、袁隆平. 水稻双胚苗遗传学研究. 作物学报, 1990; 16 (2): 176-182
- [51]黎恒庆、邓鸿德、袁隆平. 水稻无融合生殖研究的新进展. 杂交水稻, 1990; (1): 29-30
- [52]Bashaw .E. C Apomixis and its application in crop improvement, In :W R Fehr and H H Hadley (eds)Hybridization of crop plants American society of Agronomy and crop science society of America Madison WI, 1980.455-633
- [53]Bashaw E C et al In:Gp Chapman (ed) Reproductive versatility in the Grasses New York: Cambridge vniversity Press Cambridge 1990.101-130
- [54] Engvild, K.C. Hereditas, 1974; 76: 320
- [55]Hanna W W et al Apospory in sorglam bicolor (L.) Moench Science, 1970: 338-339
- [56] Hanna W W Transfer of germplasm from the secondary to the primary gene pool in *pennisetum* Theor Appl Genet 1990; (80): 200-202
- [57]Hanna W W Transfer of apomixis in *Pennisetum*. In: James H Jr and Miksche JP (eds) Proceedings of apomixis workshop USDA-ARS. ARS-104 1992. 30-33
- [58] Iyer . R.D et al. planta 1972; 104: 146
- [59]Jongedijk.E Ramanna.M.S Synaptic mutants in potato *solanum tuberosum* L.I. Expression and identity of genes for

desynapsis .Genome.1988.(30):664-667

[60]Petrow .D.F et al First case of the transmission and apomixis Doklady Akademil Nauk SSR. 1973;208:22-24

[61]Stelly DM.Important reproductive angiosperm mutants and a detailed discussion of the semigamy mutant of cotton In: James HJr and Miksche(eds) proceedings of the apomixis workshopUSD-ARS,ARS-104 1992. 53-57

Abstract

Five kinds of agents were used to induce ramie apomixis on four varieties. The results of the test show that the induced efficiency was different according to different agents, spraying time and methods of the agents and the variety of ramie. The number II and III agents were the best among the five kinds of agents. Lu S4-2-2-1-1 was the most sensitive one among the four treated varieties, when treated with agent number II, the induced setting number of Lu S4-2-2-1-1 was 2808.8. If we spray agents on the female flowers and the nearby leaves when the stigma of most of the female flowers in an anthotaxy were out of the ovary that we could obtain the best induced efficiency. After treatment, there were some abnormal growth phenomena of the plant. Apomixis seeds is similar in germination capacity to Xiang Zhu number 2.

The whole stain-clearing method, which was modified, combined with alkali isolation was formed an easy method which used to observe embryo sacs in ramie. We observe some phenomena, such as antipode cell mass, globular embryo and pyriform embryo.

The somatic cell chromosome of the first generation of induced apomixis plants were observed. There were a lot of mixoploid plants, aneuploid plants and a series of cells in which the chromosome number was the multiple of 7, especially the cells in which the chromosome was 21. There were some abnormal growth phenomena of the first generation of induced apomixis plants at seeding stage, especially tricotyledon seedlings.

From the whole research, we believe there are several type of ramie induced apomixis and more researches are needed.

Key words : Ramie, Apomixis, Embryology, Chromosome

致 谢

本文是在恩师彭定祥副教授的精心指导下完成的。三年来在论文选题，课题研究以及论文撰写过程中，恩师对我倾注了大量心血，悉心指导，循循善诱，这是我能够顺利完成论文的最大保证，恩师实事求是，勇于创新的科研作风，严谨治学，自由民主的教学态度，令我受益匪浅，终身难忘，恩师及师母也在生活中给予了我无微不至的关怀，在此，谨向恩师及师母表示衷心的感谢和诚挚的敬意！

论文开题，课题研究以及论文的撰写得到了王维金教授，张献龙教授，余德谦教授，胡立勇副教授，马平福副教授，蔡明历工程师的悉心指导和热心帮助，在此表示深深的谢意！

我衷心感谢学友李映志、刘天舒、褚云霞、杨杰、谷晓峰的热心帮助与支持。

最后，感谢家人对我多年的关心、爱护和支持。

图版说明

图版 I: 1.反足细胞团

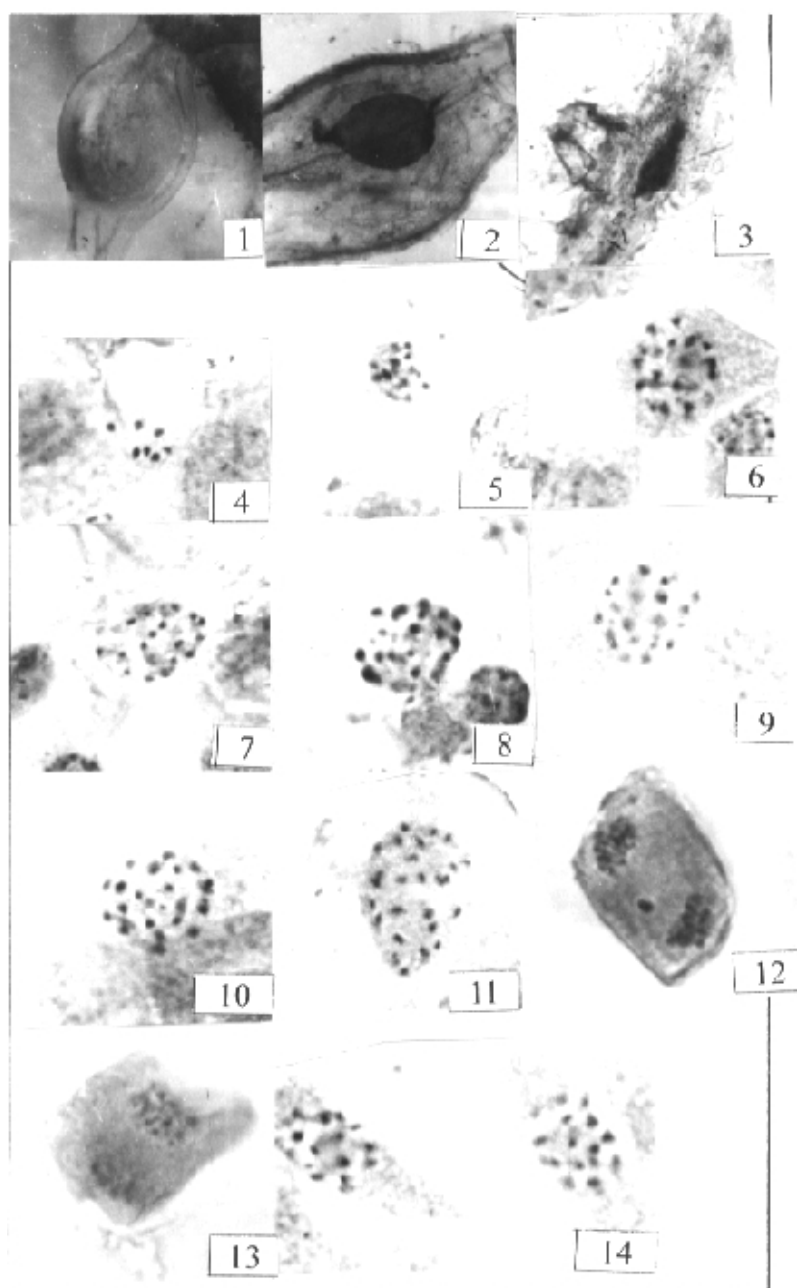
- 2.球形胚
- 3.梨形胚
- 4.含 7 条染色体的细胞
- 5.含 14 条染色体的细胞
- 6.含 16 条染色体的细胞
- 7.含 17 条染色体的细胞
- 8.含 18 条染色体的细胞
- 9.含 21 条染色体的细胞
- 10.含 23 条染色体的细胞
- 11.含 28 条染色体的细胞
- 12.染色体落后
- 13.不均等分裂
- 14.混倍体植株细胞 (13, 15)

图版 II: 1.单子叶幼苗

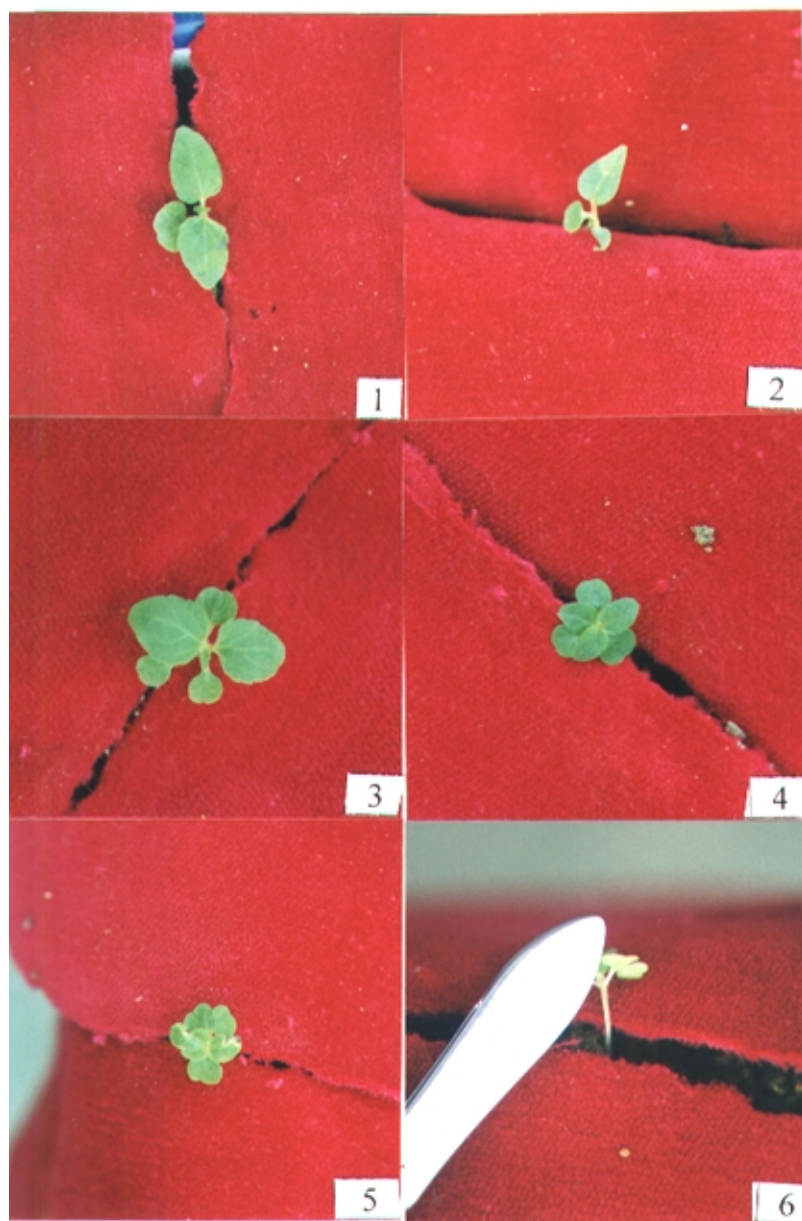
- 2.双子叶单真叶
- 3.三子叶二真叶
- 4.三子叶三真叶
- 5.三子叶二叶柄 (俯视)
- 6.三子叶二叶柄 (侧视)

图版 III: 1.真叶叶缘异常

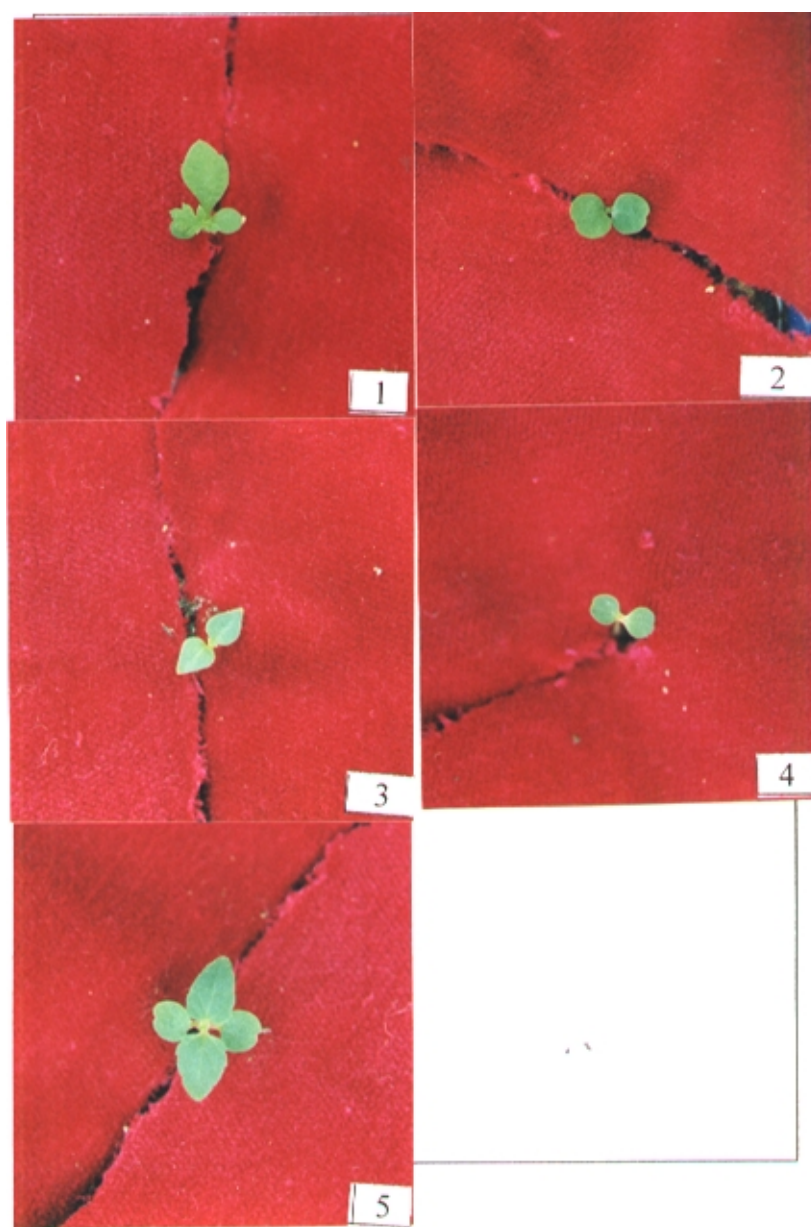
- 2.真叶迟缓、子叶肥厚
- 3.真叶状子叶
- 4.二子叶 (正常)
- 5.二子叶二真叶 (正常)



图版 I



图版 II



图版III