

寒地多年生麦草新种质的形态学分析与细胞学检测

陈 平¹,何 莉¹,尚 晨²,李信恺²,张海玲²,李集临¹,张延明¹

(1. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院/黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150025;2. 黑龙江省农业科学院 草业研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为丰富北方寒地牧草品种,选育适合北方寒冷地区种植的优势牧草,以八倍体小偃麦(*Trititrigia*)与中间偃麦草(*Thinopyrum intermedium*)杂交后代选育的 10 份寒地多年生麦草新种质为材料,借助我国东北哈尔滨地区的气候特点,对其进行形态学分析和细胞学鉴定。结果表明:10 份材料田间自然生长年限超过 3 a,均具有抗寒性和多年生特性,可在哈尔滨地区-30℃环境下安全过冬;根系发达,除 2 个株系 8LF2 1-1-4 和 11LF3 1-1-4 外,其他株系具有地下茎。植株生长繁茂,有 5 个株系总分蘖数超过 40,2 个株系穗长超过 24 cm。株系 11LF3 1-1-4 和 11LF4 1-18-1 结实率平均值在 80%以上,远高于亲本中间偃麦草;10 份材料种子发芽率在 60%~90%;株系 5Q10L1-18-1 茎秆干重可达 1.7 kg·m⁻²。10 个株系根尖体细胞染色体为 42 条,遗传稳定,植株均表现抗旱、抗寒,抗病等特性。本研究可为北方寒地的牧草选育提供理论和材料基础。

关键词:寒地;多年生麦草;中间偃麦草;再生性

中图分类号:S543 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)03-0017-06 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.03.0017

我国是草地资源大国,草地面积 4 000 万 hm² 约占国土总面积的 41.7%,包含干草原、草甸草原、荒漠草原、沼泽化草甸和山地草原等草原类型。是我国陆地生态系统中最重要的一部分^[1]。目前我国草原退化、沙化、盐碱化现象严重。人工草地在我国草地总面积中所占比重小,我国牧草种质资源不足 8 000 份^[2],适宜种植的优质牧草品种数量很有限,与世界上畜牧业大国

相比差距较大。国际上普遍认为多年生草本植物是边际土地上最有潜力的能源作物^[3],麦草具有适应性强,对环境负面影响小,栽培和运输成本低等特点。尤其是根部生物量比例较大,既能减少土壤流失,又能增加土壤有机质,改善边际土壤环境。由于我国人均土地资源严重不足,既需要发展能源又不能影响人类粮食安全,而北方干旱半干旱边际土地面积广阔,半农半牧区(农牧交错带)北起大兴安岭西麓的呼伦贝尔,向西南延伸,经内蒙古东南、河北北部、山西北部、内蒙古鄂尔多斯直到陕北,面积达到 0.44 亿 hm²^[4]。该地区生态环境脆弱,农业生产效益低而且极不稳定。如在这一地区利用多年生作物,试验自然耕作系统对于农牧业的持续发展具有重要意义。多年生作物作为一年生作物的遗传资源创新供体,对环境具有极强的适应性和抗逆性,可以在一年生

收稿日期:2017-02-20
基金项目:国家重点研发计划资助项目(2016YFD0100102-16);黑龙江省大学生创新创业训练计划重点资助项目(2016 10231024)
第一作者简介:陈平(1991-),男,黑龙江省齐齐哈尔市人,在读硕士,从事分子细胞遗传学研究。E-mail:1113565172@qq.com。
通讯作者:张延明(1977-),男,山东省蓬莱市人,博士,副教授,从事分子细胞遗传学研究。E-mail:blueright@163.com。

Adaptability of Sanjiang 1 Planted in Heihe City

SHANG Quan-yu

(Heihe Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heihe, Heilongjiang 164300)

Abstract: In order to promote the rice production of Heihe city, Sanjiang1 was planted in the same place of Heihe city during 5 years from 2012 to 2016. It showed well stability, suitable maturity, lodging resistance, high seed setting rate, and it was suitable for the local rice planting.

Keywords: Sanjiang1; Heihe city; adaptability

作物生长极端不利的环境中种植。在防止土壤侵蚀、减少水分和养分流失,储存地下碳、氮元素,以及抵抗病虫害和降低耕种成本等方面具有明显优势^[5-8]。多年生作物对表层土壤和土壤肥料的保持能力更强,可以改良土壤结构提高生物多样性^[9],并充分利用贫瘠土壤改善自然生态环境^[10]。目前,多年生作物育种研究是各国育种家关注的热点之一,主要包括多年生水稻、多年生小麦、多年生高粱、多年生向日葵等^[9-12]。

本研究以八倍体小偃麦(*Trititrigia*)与中间偃麦草(*Th. intermedium*)杂交后代选育的寒地多年生麦草新种质为材料,借助我国东北哈尔滨地区的气候特点,进行形态学分析和细胞学鉴定。这些材料主要特点为生长茂盛,根系发达,多分蘖,植株有地下根茎,具有再生性和多年生特性,兼具抗病、抗寒、抗旱、耐盐碱等特点。本研究旨在为进一步开展优质多年生牧草的选育提供材料基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

寒地多年生麦草新种质由哈尔滨师范大学遗传学教研室创制^[13-14]并提供。该材料为八倍体小偃麦麦草 8 号、麦草 9 号(AABBDDDEE, 2n=8x=56)、远中 2 号(AABBDE1E1 或 AABBDE2E2, 2n=8x=56)与中间偃麦草(JJJSJSSSt, 2n=6x=42)杂交后代 F₂~F₄。2008-2014 年,经人工选育与自然筛选,得到多份具有抗寒和再生特性的多年生麦草株系。以其中 10 份材料即 8LF2 1-1-4、10LF3 1-15-1、11LF4 1-18-1、11LF3 1-1-4、14LF2 1-12-3、15LF2 1-18-1、18LN-18-1、19L2013-1、7Q11L7-11-1、5Q10L1-18-1 为研究对象进行分析和鉴定,亲本中间偃麦草为对照材料。

1.2 方法

1.2.1 抗寒性、多年生特性检测 2006-2016 年,在哈尔滨师范大学生命科学与技术学院实验田进行田间杂交及杂种后代选育,实验田面积约 400 m²。2008-2016 年,利用哈尔滨冬季自然条件检测植株抗寒性和多年生特性。2008-2013 年,每年 10 月,将种子萌发后种于温室,次年 5 月初移入哈尔滨师范大学试验田。每份材料种植 2 垄,行长 1 m,行距 0.2 m,株距 0.1 m,每个株系种三个重复,田间管理同当地大田生产。7-8 月观察成熟性,9-11 月观察割后再生性。12 月至次

年 2 月植株田间自然过冬。第 3 年 3-4 月统计返青情况,随后 5-8 月调查植株生长及成熟情况,9-11 月观察割后再生性。依此过程,连续检测 3 a。度过 2 个冬天,生长 3 a 以上的植株,确认具有抗寒和多年生特性。

1.2.2 形态学分析 2015-2016 年,依据《牧草种质资源描述规范和数据标准》^[15]对田间植株农艺性状进行观察记录和分析,如株高、分蘖数、穗长、小穗数、主穗粒数、抗病性、芒性等。

1.2.3 体细胞染色体检测 将种子腹沟朝下摆在放有滤纸的培养皿中,加适量去离子水。23.5℃培养 24~48 h。种子露白后移至 4℃,处理 48 h。然后 23℃培养 24 h,待幼根生长至 1.5~2.0 cm 时,剪下根尖,放入冰水混合物中处理 36~48 h。随后,将根尖移入卡诺固定液,4℃固定 24~48 h。1%醋酸洋红染色,镜检统计根尖染色体数目。

2 结果与分析

2.1 抗寒性、多年生特性检测

由表 1 可知,10 份材料田间自然生长年限超过 3 a,均具有抗寒性和多年生特性,根系发达,8 个株系具有地下茎,可在哈尔滨地区-30℃环境下安全过冬。

表 1 2016 年植株抗寒性、多年生特性调查
Table 1 The investigation of cold resistance and perennial traits in 2016

材料 Material	抗寒性 Hardiness	再生性 Reproducibility	生长年限	
			No. of growth years	地下根茎 Rhizome
8LF2 1-1-4	+	+	8	-
10LF3 1-15-1	+	+	7	+
11LF4 1-18-1	+	+	5	+
11LF3 1-1-4	+	+	6	-
14LF2 1-12-3	+	+	6	+
15LF2 1-18-1	+	+	5	+
18LN-18-1	+	+	4	+
19L2013-1	+	+	4	+
7Q11L7-11-1	+	+	3	+
5Q10L1-18-1	+	+	3	+

+表示性状存在;-表示性状不存在。
+ and - indicate the presence and absence of the traits, respectively.

2009-2014 年,10 份材料移栽大田当年,匍匐生长,不拔节。11 月,哈尔滨地区开始结冻,植株进入休眠期。次年 3-4 月,植株返青后,苗健壮,生长迅速(见图 1A)。幼苗基部带紫色,分蘖多;5 月中旬拔节,生长繁茂;6 月中旬抽穗;夏天生长季节,长势繁茂,植株高大,并逐渐形成株丛,根系发达;7 月初进入花期,成熟期从 7 月下旬至 9 月上旬。植株割后,再生旺盛(见图 1B),部分植株出现地下根茎(见图 1C),生长至 11 月进入越冬期,再生植株部分叶片受冻后干枯,但近根部叶片仍保持绿色(见图 1D),植株在自然条件下可安全越冬。第三年 3-4 月,植株正常返青,开始新的生长周期,地下茎可独立成苗(见图 1C),植株占地面积逐步增大。9 月收获后,出现新的地下根茎,在休眠期前生长旺盛。第四年植株生长稳定,返青和再生性良好。



A:返青; B:割后再生; C:地下茎再生苗(箭头所示); D:越冬期
A:Recovering; B:Post-harvested regrowth; C:Rhizome and regeneration seedling(the arrows); D:Overwintering period

图 1 多年生麦草再生性及越冬性调查

Fig. 1 The regrowth and hardness of perennial wheatgrass

10 份材料中,株系 8LF21-1-4 生长年限最长。在 2011 年 11 月-2012 年 3 月,哈尔滨地区冬季无雪覆盖的条件下,植株顺利过冬,生长至今,表现出很好的抗寒和多年生特性。该株系不同于其他材料,具有再生特性但没有地下根茎(表 1、图 2A-D、图 3),从分蘖节上可生出再生苗。株系 11LF31-1-4 为 8LF21-1-4 后代材料,具有相同特性。



A:幼苗期; B:成熟期; C:再生期; D:越冬期
A:Seedling stage; B:Maturity; C:Regeneration; D:Overwintering period

图 2 株系 8LF21-1-4 形态表现

Fig. 2 Morphological characters of 8LF21-1-4

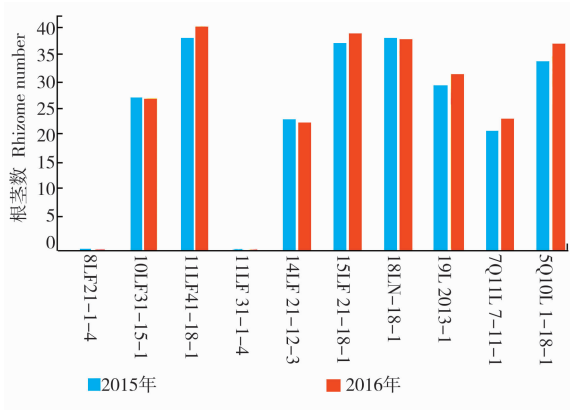


图 3 2015-2016 年 10 个株系的地下根茎数

Fig. 3 Rhizome number of 10 plants in 2015-2016

2.2 形态学分析

2015-2016 年,对 10 份寒地多年生麦草进行形态学分析。结果表明,多年生麦草成熟期随着生长年限的增加而提前,由 9 月初提前到 8 月初。地下根茎 9-10 月生长旺盛,移栽可独立存活。

经 2 a 的植株数据平均值分析(见表 2),10 个株系中除 8LF2 1-1-4 和 10LF3 1-15-1 外,有 8

表 2 2015-2016 年 10 个株系的性状分析

Table 2 Morphological characters of 10 plants in 2015-2016

性状 Trait	8LF2 1-1-4	10LF3 1-15-1	11LF4 1-18-1	11LF3 1-1-4	14LF2 1-12-3	15LF2 1-18-1	18LN-18-1	19L 2013-1	7Q11L7-11-1	5Q10L1-18-1
株高/cm Plant height	95±3.4	95±5.1	107±3.4	118±5.4	110±4.7	122±3.4	102±4.3	107±5.9	102±8.3	107±3.4
总分蘖数 No. of tillers	30±3	32±5	34±7	53±7	29±4	46±4	41±5	46±9	27±8	45±4
穗长/cm Spike length	18.8±1.4	18.6±1.3	25.8±1.6	25.2±1.4	18.9±1.3	19.5±1.5	19.6±1.2	18.3±1.5	17.9±1.2	18.9±1.4
小穗数 No. of spikelets	18±2	21±2	23±3	21±2	24±5	22±3	19±4	20±3	17±2	17±2
结实率/% Seed-setting rate	62.39	59.59	81.25	86.24	56.29	68.87	69.20	46.94	54.29	59.96
有无病害 Occurrence of disease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
芒 Awn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



图 4 10 个株系穗型对比

Fig. 4 Comparison of spike types of 10 plants

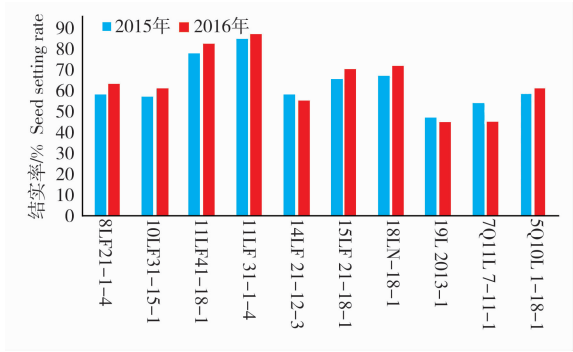


图 5 2015-2016 年 10 个株系的结实率分析

Fig. 5 Analysis on seed setting rate of 10 plants in 2015-2016

个株系株高平均值超过 100 cm;5 个株系总分蘖平均数超过 40 个,分别为 11LF3 1-1-4,15LF2 1-18-1, 18LN-18-1, 19L 2013-1, 19L 2013-1, 5Q10L1-18-1。2 个株系,11LF4 1-18-1 和 11LF3 1-1-4 穗长超过 24cm。虽然穗型接近亲本中间偃麦草,但各有不同,略有弯曲(见图 4A-H、J),其中株系 7Q11L7-11-1 穗型特殊,直立坚挺(见图 4I)。2 个株系,11LF4 1-18-1 和 14LF2 1-12-3 小

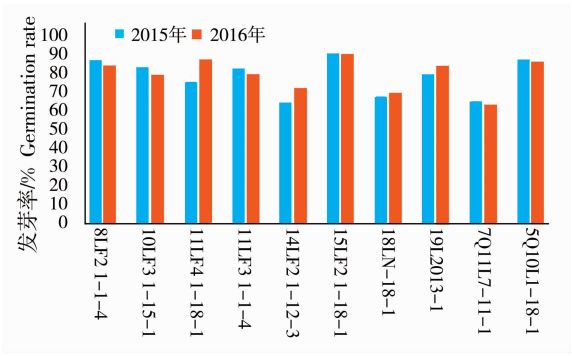


图 6 2015-2016 年 10 个株系的发芽率分析

Fig. 6 Analysis of germination rate of 10 plants in 2015-2016

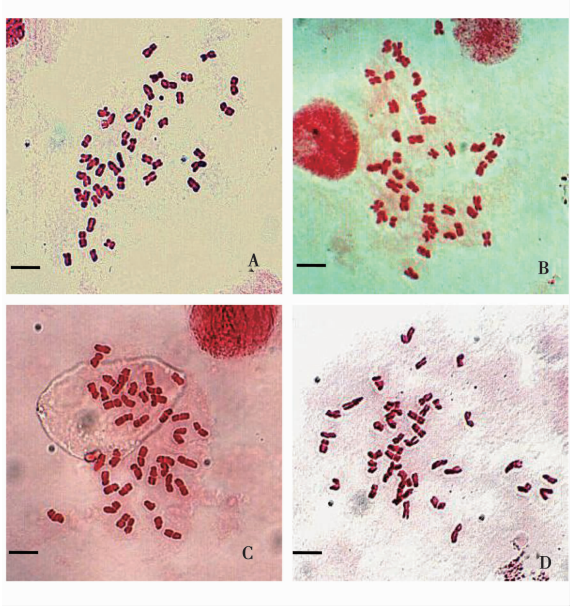


图 7 根尖体细胞染色体检测(标尺=10 μm)

Fig. 7 The test of chromosome number on root tip cell (Bar=10 μm)

穗数超过 23 个;除 2 个株系,19L 2013-1 和 7Q11L7-11-1 以外,其他株系结实率都超过

55%,结实率最高的2个株系为11LF3 1-1-4和11LF4 1-18-1,平均值在80%以上(见图5),远高于亲本中间偃麦草;种子发芽率在60%~90%(见图6);收获的种子次年4月初田间播种可自然出苗,出苗期较普通型小麦晚。收获期植株地表生物量产量高,株系5Q10L1-18-1茎秆干重可达 $1.7\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ 。筛选的10个品系植株均表现抗旱、抗寒,对白粉病、叶锈、秆锈、条锈病免疫。10品系植株随生长年限的增加结实率趋于稳定。

10个株系中,株系11LF3 1-1-4分蘖最多,2a均在52个以上,结实率最高,2a均在85%以上(见图5)。

2.3 细胞学检测

细胞学鉴定结果表明,株系8LF21-1-4的个别植株染色体数有41条(图7A),10个株系的其他植株根尖体细胞染色体数为42,如株系11LF31-1-4有42条染色体(图7B);株系15LF2 1-18-1有42条染色体(图7C);株系5Q10L1-18-1有42条染色体(图7D)。表明10株系遗传趋于稳定。

3 结论与讨论

本研究分析鉴定的10份寒地多年生麦草新种质其染色体数虽然都为42,但植株再生性分为有地下根茎和无地下茎(如株系8LF2 1-1-4和11LF3 1-1-4)两类,穗型不同于亲本中间偃麦草,结实率则明显高于亲本中间偃麦草,表明寒地多年生麦草的染色体组遗传构成与中间偃麦草不同。二者之间的遗传差异,使寒地多年生麦草新种质在保持中间偃麦草抗病、抗寒和多年生等重要特性的同时,兼具多花多粒,发芽率和结实率高等特点。因此,需进一步分析寒地多年生麦草染色体组构成,这将对探讨寒地多年生麦的草再生性、抗寒性和多年生特性具有重要价值。

多年生作物的育种目标是将其多种优良性状结合起来,如稳定的再生能力,可持续的优质高产特性,以及对生物和非生物胁迫的适应性等。目前,多年生作物育种主要采用二种方法:一是直接驯化多年生野生物种;二是将一年生作物同相关多年生物种进行杂交育种,即远缘杂交^[16]。中间偃麦草不仅是普通小麦遗传改良的重要基因源,

同时也是牧草育种的重要种质资源,国内外育种家已开展了针对中间偃麦草的选育工作^[17-18]。本研究利用八倍体小偃麦与中间偃麦草杂交,借助我国东北哈尔滨地区的气候特点连续多年对杂种后代进行自然筛选和人工选育,使得普通小麦(ABD)同中间偃麦草(JsJSt)染色体组产生重组,创制了适于寒地生态环境生长的多年生麦草新种质,为北方寒地牧草新种质的选育提供了新的途径。

Bell等^[19-20]认为多年生麦草或小麦具有粮食生产和饲草生产双重用途,是粮食作物和牧草生产的良好选择,可轮换种植在干旱和雨量较多的地区,是澳大利亚农牧生态系统持续发展的优良材料。本研究分析鉴定的寒地多年生麦草新种质,生育期长,植株高大,分蘖多,易形成株丛,具有良好的抗病和抗逆性,能够在-30℃条件下安全越冬。一次种植可多年生生长,良好的再生性使其可频繁刈割,较好的结实率和生物产量使其可作为粮饲兼用型牧草,在我国北方低产田和贫瘠土地上种植。同时,其发达的根系和很好的适应性,也使其可用于防沙、护坡和固土,适种于坡地,水库等地区。因此,寒地多年生麦草的生产应用前景和生态作用潜力巨大。

参考文献:

- [1] 李聪,王赞,李蕾蕾.牧草良种繁育与种子生产技术[M].北京:化学工业出版社,2008.
- [2] 李志勇,王宗礼.牧草种质资源描述规范和数据标准[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [3] Lewandowski I, Scurlock J M O, Lindvall E, et al. The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe [J]. Biomass and Bioenergy, 2003, 25(4): 335-361.
- [4] 李洪杰,朱至清.多年生农作物与环境保护[J].华中农业大学学报,2004,34(10): 11-15.
- [5] Godfray H C J, Beddington J R, Crute I R, et al. Food Security: The challenge of feeding 9 billion people[J]. Science, 2010, 327: 812.
- [6] Jordan N, Boody G, Broussard W, et al. Sustainable development of the agricultural bio-economy [J]. Science, 2007, 316: 1570-1571.
- [7] Tilman D, Socolow L, Foley J, et al. Beneficial biofuels the food, energy, and environment trilemma [J]. Science, 2009, 325(5938): 270-271.
- [8] Cox T S, Glover J D, Van Tassel D L, et al. Prospects for developing perennial grain crops [J]. BioScience, 2006(56):

649-659.

- [9] Glover J D, Reganold J P, Bell L W, et al. Increased food and ecosystem security via perennial grains[J]. Science, 2010, 328: 1638-1639.
- [10] Paine L K, Peterson T L, Undersander D J, et al. Some ecological and socio-economic considerations for biomass energy crop production[J]. Biomass and Bioenergy, 1996, 10(4): 231-242.
- [11] Tester M, Langridge P. Breeding technologies to increase crop production in a changing world[J]. Science, 2010: 818-822.
- [12] Xu Y, Crouch J H. Marker-assisted selection in plant breeding from publications to practice[J]. Crop Science, 2008, 48: 391-407.
- [13] 赵海滨, 张延明, 史春龙, 等. 寒地多年生小麦的选育与细胞遗传分析[J]. 作物学报, 2012, 38(8): 1378-1386.
- [14] 靳嵩, 周璇, 李政宏, 等. 多年生小麦杂种 F₅ 代分子细胞遗传学鉴定[J]. 生物技术通报, 2014 (3): 65-72.
- [15] 李志勇, 王宗礼. 牧草种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [16] 田超, 靳嵩, 李集临, 等. 多年生作物的研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(18): 16-20.
- [17] Zhang X F, Sallamb A, Gao L L, et al. Establishment and optimization of genomic selection to accelerate the domestication and improvement of intermediate Wheatgrass[J]. Plant genome, 2015, 9 (1). doi: 10. 3835/plantgenome2015.07.0059.
- [18] Kantarski T, Larson Steve L, Zhang XF, et al. Development of the first consensus genetic map of intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*) using genotyping-by-sequencing[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2017, 130(1): 137-150.
- [19] Bell L W, Byrne F, Ewing M, et al. A preliminary whole-farm economic analysis of perennial wheat in an Australian dryland farming system[J]. Agricultural Systems, 2008, 96: 166-174.
- [20] Bell L W, Wade L J, Ewing M A. Perennial wheat: a review of environmental and agronomic prospects for development in Australia[J]. Crop and Pasture Science, 2010, 61: 679-690.

Cytological Detection and Morphological Analysis of the New Germplasm on Cold-hardness Perennial Wheatgrass

CHEN Ping¹, HE Li¹, SHANG Chen², LI Ji-kai², ZHANG Hai-ling², LI Ji-lin¹, ZHANG Yan-ming¹

(1. College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Key Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang 150025; 2. Prataculture Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: To enrich the northern cold pasture varieties, breeding the advantages of planting grass in the northern cold areas, the ten new germplasms of cold-hardness perennial wheatgrass which selected from hybrid offsprings of *Trititrigia* and *Thinopyrum intermedium* with the climatic characteristics of Harbin located in northeast of China were analyzed and detected by the cytological and morphological method in the research. The results showed that the natural growth periods of the 10 materials were all more than 3 years, and all of them had cold-resistance and perennial characteristics, even in winter of Harbin with low temperature under $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ they are safe. The roots were developed, in addition to 8LF2 1-1-4 and 11LF3 1-1-4, the other lines had underground rhizomes. The plants were in lush growth, there were 5 lines with tiller numbers more than 40 and 2 lines with spike lengths more than 24 cm. The average seed setting rate of 11LF3 1-1-4 and 11LF4 1-18-1 was above 80%, which was much higher than parental *Th. intermedium*. The germination rate of the 10 seeds was between 60%~90% and the stem dry weight of 5Q10L1-18-1 was up to $1.7\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$. The somatic cell chromosomes of them were all 42, which showed genetic stability, and the resistance of drought, cold, disease and other characteristics were also presented. It is provided theoretical and material foundation for forage grass breeding in the northern cold land.

Keywords: cold area; perennial wheatgrass; *Thinopyrum intermedium*; regrowth

(该文作者还有范铭丽、李双双, 单位同第一作者)