

小偃麦与中间偃麦草杂交不亲和性和不育性的探讨

李春宇¹, 周璇¹, 闫小丹¹, 赵海滨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 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:远缘杂交遇到的关键问题是可交配性和不育性,为深入了解远缘杂交的可交配性和不育性,探讨了小偃麦与中间偃麦草杂交当代的可交配性和 $F_1 \sim F_4$ 的不育性表现。小偃麦与中间偃麦草杂交当代的结实率为10%~39%, F_1 当年不结实,二至五年生结少量种子,结实率有逐年恢复的倾向; $F_2 \sim F_5$ 分离世代不同类型结实率不同,普通小麦类型、小偃麦类型结实率可达70%~100%,中间偃麦草类型40%~50%,种子饱满度逐代改进。

关键词:远缘杂交;小偃麦;中间偃麦草;不育性

中图分类号:S512.9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)05-0001-06

远缘杂交可将一些野生小麦近缘种、属的抗病、抗旱、高蛋白和特异经济性状导入普通小麦,对小麦的品种改良有重要意义。但远缘杂交表现的不可交配性与不育性是远缘杂交的最大障碍,原因是双亲的亲缘关系远、染色体数与染色体组不同、花器结构、生理有差异^[1]。有人认为小麦可交配性与 Kr 基因有关,显性的 Kr 基因抑制小麦与黑麦杂交,而隐性的 kr 基因促进小麦与黑麦杂交^[2]。有人认为与染色体联会有关系的 Ph 基因与育性有关,显性的 Ph 基因抑制非同源染色体间的联会,而隐性的 ph 基因,促进非同源染色体间的联会。利用隐性的 ph 基因有可能克服远缘杂交的不育性^[3]。由于小麦属多数种间有同祖关系,可以杂交,但要克服不育性,需要根据不同杂交组合采取不同措施。该研究利用八倍体小偃麦与中间偃麦草杂交选育具有抗寒能力的多年生小麦材料,并从杂交当代和 $F_1 \sim F_4$ 的种子形态、根苗生长表现,探讨远缘杂交不亲和性和不育性,为进一步开展远缘杂交工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以异源八倍体小偃麦(AABBDDDEE, $2n =$

$8x = 56$)麦草8号、麦草9号、远中2号和中间偃麦草(*Thinopyrum intermedium* E1E1E2E2StSt, $2n = 6x = 42$)为杂交亲本^[4],杂种后代 $F_1 \sim F_5$ 为供试材料,均由哈尔滨师范大学遗传学教研室提供。

1.2 方法

1.2.1 形态学检测 田间观察杂种不同世代、不同类型植株的生长情况、育性、结实率及其种子饱满度;室内检测种子发芽率、发芽势以及幼苗发育等情况。

1.2.2 细胞学观察 检测根尖染色体数、花粉母细胞染色体行为。方法同常规。

2 结果与分析

2.1 小偃麦与中间偃麦草杂交当代的结实率

由表1可知,异源八倍体小偃麦麦草8号、麦草9号及远中2号分别与中间偃麦草(E1E1E2E2StSt)杂交,杂交当代结实率分别为31.49%、39.28%和10.41%,出苗率分别为53.75%、80.30%和65.00%。

由于A、B、D染色体组间有部分同源关系,E与D染色体组间、E与St染色体组间亦有部分同源关系^[5],可以杂交,其结实率为10.41%~39.28%,表明杂交亲合力较低。

2.2 杂种 F_1 的育性表现

杂种 F_1 第一年不结实,表现完全不育。形态学表现 F_1 可正常吐蕊,但大多花药内无花粉粒。减数分裂行为不正常,中期I形成13~18个二价体,11~17个单价体(见图1)。

收稿日期:2014-01-07

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(2011AA10010205);黑龙江省教育厅科学技术研究资助项目(12531198)

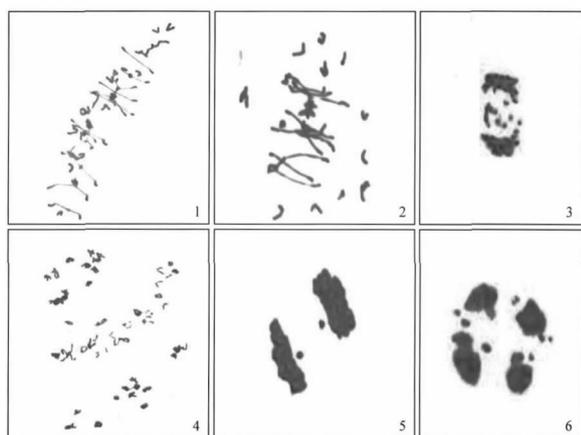
第一作者简介:李春宇(1984-),男,黑龙江省北安市人,在读硕士,从事细胞遗传学研究。E-mail: zggq19840204@163.com。

通讯作者:张延明(1977-),男,博士,副教授,从事分子细胞遗传学研究。E-mail: blueright@163.com。

表 1 杂交当代结实率与出苗率统计^[4]

Table 1 Statistics of seed-setting rate and budding rate in hybrid contemporary

杂交组合 Hybridized combination	杂交小花数 Number of spikes	结实粒数 Number of seed-setting	结实率/% Seed-setting rate	出苗数 Number of buds	出苗率/% Budding rate
麦草 8号×中间偃麦草 Maicao 8× <i>Th. intermedium</i>	254	80	31.49	43	53.75
麦草 9号×中间偃麦草 Maicao 9× <i>Th. intermedium</i>	168	66	39.28	53	80.30
远中 2号×中间偃麦草 Yuanzhong 2× <i>Th. intermedium</i>	192	20	10.41	13	65.00

图 1 减数分裂行为不正常^[4]

1,2:F₁代植株减数分裂 I 中期出现大量棒状二价体和单价体;3,4,5,6:减数分裂 I 后期出现大量落后染色体

Fig. 1 Abnormal meiotic behavior

1,2:The emergence of a large number of rod like bivalents and univalents in metaphase of meiosis I;3,4,5,6:The emergence of a large number of lagging chromosomes in anaphase of meiosis I

F₁为多年生,生长的第 2 年,平均每株结 3~4 粒种子,结实率为 0.01%~0.28%,发芽率为 75%~100%。F₁植株生长第 3 年,结 27~81 粒种子,结实率 0.78%~3.10%,发芽率为 72%~86%,呈逐年递增态势,其发芽率和成苗率也随之升高(见表 2)。

由此可见,多年生材料的结实率逐年增加,发芽率也随之增加。

2.3 F₂~F₃ 植株个体发育中的死苗现象

远缘杂交的不育性不仅表现在不结实、不育上,而且表现在所结种子不发芽,发芽的种子在苗期死亡或成活不到结实期等现象。

杂交材料每代均有种子不发芽、死苗现象。分析可能有三方面原因:

(1)种子不发芽。从图 2 看出,各培养皿中均有一些不发芽的种子,有的外观正常,有胚和胚乳,但不发芽;有的种子无胚或胚乳发育不良,种子干瘪,种子易感染杂菌(见图 3),不出苗或苗期死亡。这也是远缘杂交不育性表现之一,可能是双亲的染色体组不协调造成的种子发育不良。

表 2 F₁代植株的结实率、发芽率和成苗率^[6]Table 2 Seed-setting rate, germination rate and budding rate of F₁ generation

F ₁ 株号 Number of the F ₁ generation	实际结实数 Number of seeds			结实率/% Seed-setting rate			发芽率/% Germination rate			成苗率/% Budding rate		
	第 1 年 The 1 st year	第 2 年 The 2 nd year	第 3 年 The 3 rd year	第 1 年 The 1 st year	第 2 年 The 2 nd year	第 3 年 The 3 rd year	第 1 年 The 1 st year	第 2 年 The 2 nd year	第 3 年 The 3 rd year	第 1 年 The 1 st year	第 2 年 The 2 nd year	第 3 年 The 3 rd year
1-1-8-4	0	4	81	0	0.28	3.10	0	75.0	86.0	0	75.0	65.0
1-1-9-1	0	3	32	0	0.25	2.30	0	100.0	81.0	0	67.0	59.0
1-1-10-1	0	4	27	0	0.01	0.78	0	1.25	72.0	0	1.25	37.0

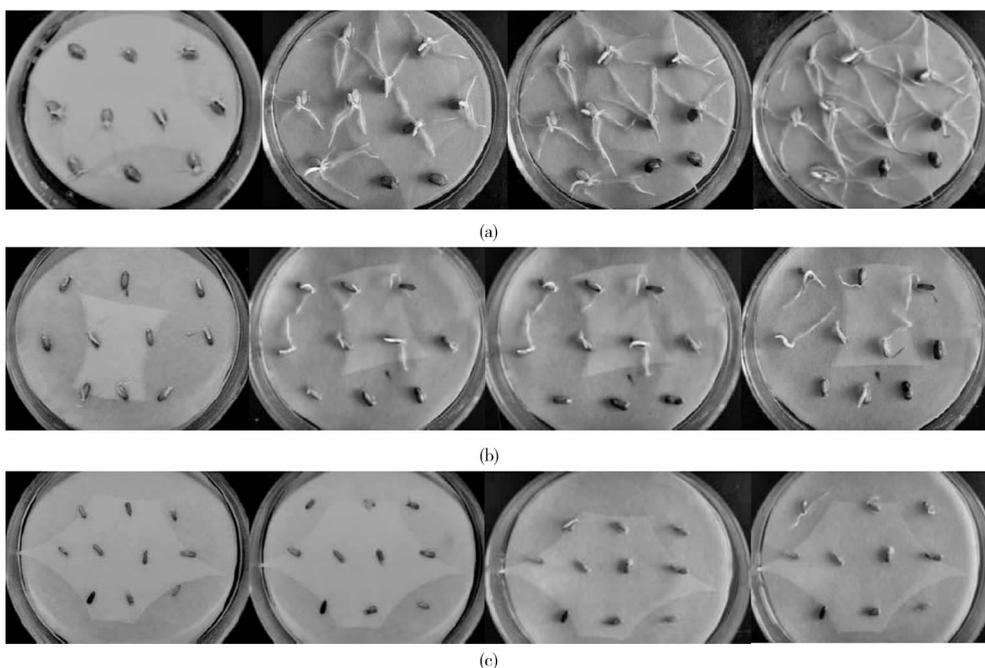


图2 杂种后代种子不发芽和死苗现象

(a)卵圆型(普通小麦类型)5-4-12-13 在 48、72、96 和 120 h 时的胚根生长状况;(b)中间型(小偃麦型)5-4-12-13 在 48、72、96 和 120 h 时的胚根生长状况;(c)细长型(中间偃麦草型)5-4-12-13 在 48、72、96 和 120 h 时的胚根生长状况

Fig. 2 No germination and seedling death phenomenon of hybrid seeds

(a)The radicle growth of oval type(common wheat type)5-4-12-13 in 48,72,96 and 120 h;(b)The radicle growth of intermediate type(*Trititrigia*)5-4-12-13 in 48,72,96 and 120 h;(c)The radicle growth of slender type(*Thinopyrum intermedium*)5-4-12-13 in 48,72,96 and 120 h

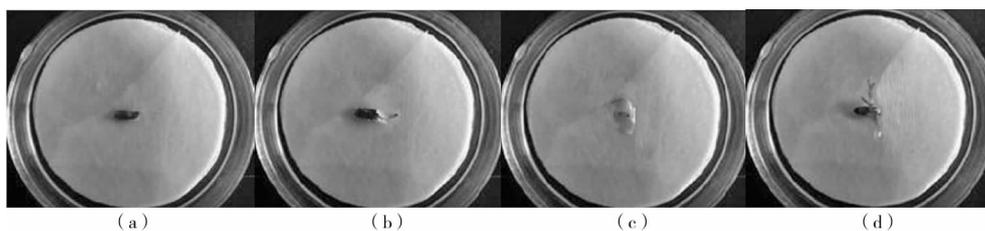


图3 种子瘦瘪、出芽不正常

(a)无胚;(b)胚发育不良;(c)正常但迟迟不出苗;(d)感染病菌

Fig. 3 Seed shrunken, not normal budding

(a)No embryo;(b)Embryo dysplasia;(c)Normal, but no emergence;(d)Bacteria infection

(2)根系发育不正常。普通小麦(如中国春、小偃麦)在种子萌发时同时长出 3 条胚根,且 3 条胚根同步生长(见图 4-a、4-b),根系发育正常,生长迅速、茁壮;中间偃麦草则先长主根,生长一段时间后,再出侧根(见图 4-c),生长缓慢,苗弱及个体死苗现象比较常见。在杂种后代中,初生根既有如普通小麦同出 3 条胚根(见图 4-a)发育较正常的,也有像中间偃麦草先出一条主根,且根系发育缓慢的现象(见图 2-b、2-c),均常伴有个体死苗现象。

(3)不同类型种子与发芽率的关系。普通小麦卵圆型种子饱满度较好,发芽率较高,卵圆型材料在整个幼苗时期生长都比较迅速,长势良好(见图 5-a),在相同的自然环境条件下,具有较大的生长优势,死苗率较低;小偃麦类型种子,长卵圆型不饱满,生长速度较慢,各时期都相对滞后,幼苗瘦弱(见图 5-b),死苗率为 20%~40%;中间偃麦草种子长方形,瘦长,生长速度非常慢,长势差(见图 5-c),死苗率高,均为 50%以上(见表 3)。

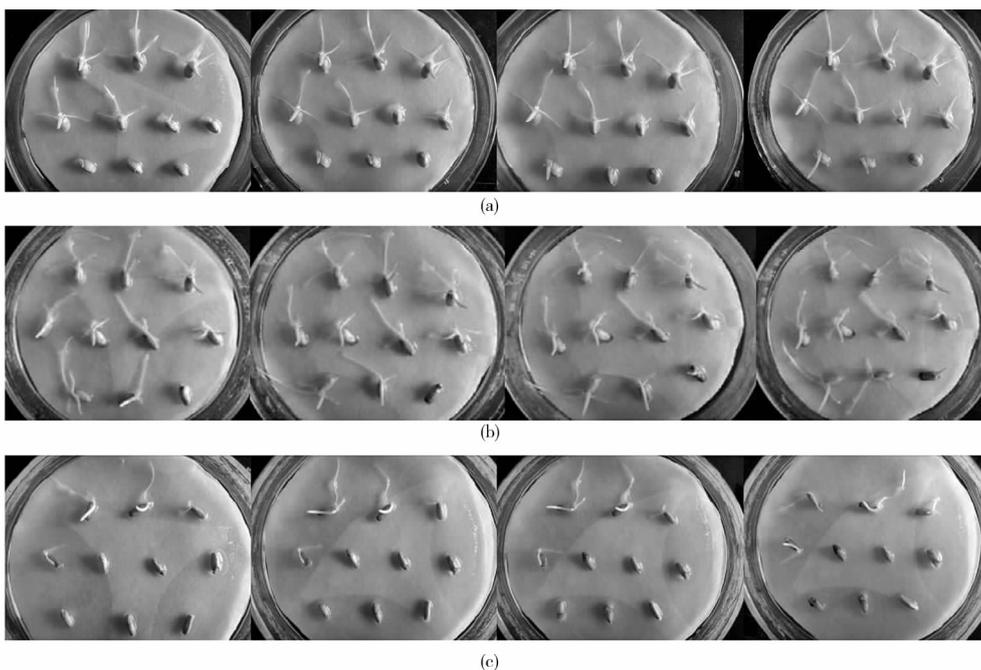


图4 中国春、小偃麦(麦草9号)和中间偃麦草的不发芽和死苗现象
 (a)中国春在48、72、96和120h时的胚根生长状况;(b)小偃麦(麦草9号)在48、72、96和120h时的胚根生长状况;
 (c)中间偃麦草在48、72、96和120h时的胚根生长状况

Fig. 4 No germination and seedling death of Chinese spring, *Trititrigia*(Maicao 9) and *Thinopyrum intermedium*

(a)The radicle growth of China spring in 48,72,96 and 120 h;(b)The radicle growth of *Trititrigia*(Maicao 9) in 48, 72,96 and 120 h;(c)The radicle growth of *Thinopyrum intermedium* in 48,72,96 and 120 h

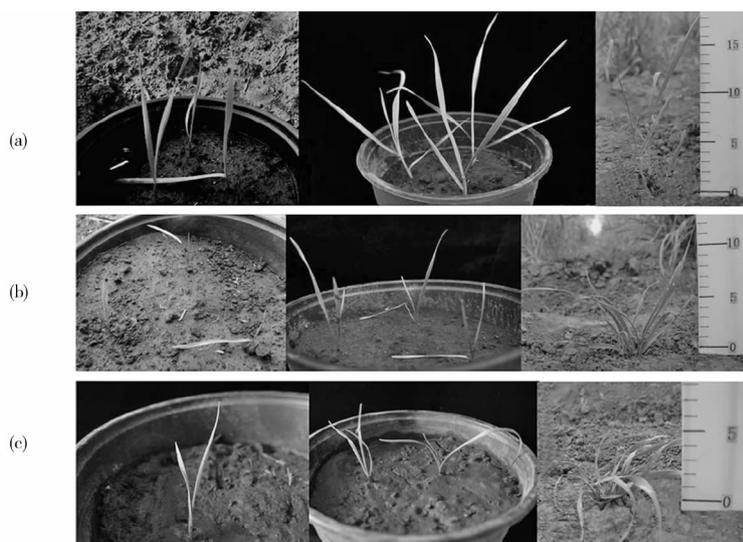


图5 不同类型种子与发芽情况

(a)卵圆形(普通小麦类型)材料5-3-20-24的2叶期、3叶期和分蘖期;(b)中间型(小偃麦型)材料5-4-0-8的2叶期、3叶期和分蘖期;(c)细长型(中间偃麦草型)材料5-4-14-15的2叶期、3叶期和分蘖期

Fig. 5 Germination conditions of different types of seeds

(a)2 leaf,3 leaf and tillering stages of oval type(common wheat type)5-3-20-24;(b)2 leaf,3 leaf and tillering stages of intermediate type(*Trititrigia*)5-4-0-8;(c)2 leaf,3 leaf and tillering stages of slender type(*Thinopyrum intermedium*)5-4-14-15

表 3 F₅ 不同类型和形态种子的发芽率Table 3 Germination rate of different types and seed morphology in F₅

编号 No.	种子形态类型 Seed morphology (types)	种子颜色 Seed color	种子数/粒 Seed number	饱满度 Plumpness	出芽数/粒 Germination number	发芽率/% Germination rate
5-4-12-13	卵圆形(普通小麦类型)	黄褐	10	饱满	8	80
	中间型(小偃麦型)	黄褐	10	半饱满	8	80
	细长型(中间偃麦草型)	褐	10	干瘪	4	40
5-4-0-8	中间型(小偃麦型)	黄褐	10	半饱满	7	70
	细长型(中间偃麦草型)	褐	10	干瘪	4	40
4-3-25-28	卵圆形(普通小麦类型)	黄褐	10	饱满	10	100
	中间型(小偃麦型)	褐	10	半饱满	6	60
	细长型(中间偃麦草型)	褐	10	干瘪	3	30
5-3-20-24	卵圆形(普通小麦类型)	黄褐	10	饱满	10	100
	中间型(小偃麦型)	黄褐	10	半饱满	6	60
	细长型(中间偃麦草型)	褐	10	干瘪	1	10
4-3-17-19	中间型(小偃麦型)	蓝	10	干瘪	1	10
	细长型(中间偃麦草型)	褐	10	干瘪	0	0
5-3-0-16	卵圆形(普通小麦型)	蓝	10	饱满	10	100
	中间型(小偃麦型)	黄褐	10	半饱满	6	60
	细长型(中间偃麦草型)	黄褐	10	干瘪	2	20
5-6-30-31	卵圆形(普通小麦型)	黄褐	10	饱满	10	100
	中间型(小偃麦型)	褐	10	半饱满	7	70
	细长型(中间偃麦草型)	褐	10	干瘪	7	70
5-5-16	中间型(小偃麦型)	黄褐	10	半饱满	6	60
	细长型(中间偃麦草型)	褐	10	干瘪	5	50
5-5-10	卵圆形(普通小麦型)	黄褐	10	饱满	9	90
	中间型(小偃麦型)	褐	10	半饱满	7	70

2.4 染色体组与不育的关系

检测杂种不同类型的育性与染色体数的关系结果表明,普通小麦类型染色体数为 42 或 44(附加一对中间偃麦草染色体),育性表现较好,结实率多在 90% 以上。小偃麦类型染色体数为 49~

56, 有不育现象,结实率不如前者,为 50%~70%。中间偃麦草类型,植株高大,种子瘦、干瘪,染色体数为 49~58,结实率较低,在 50% 左右(见图 6)。

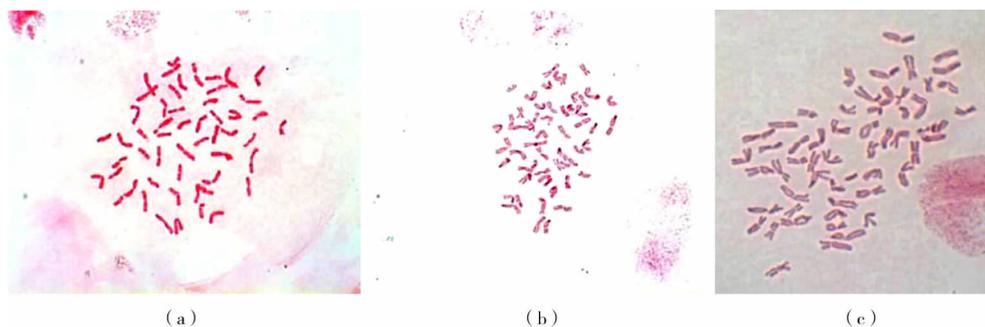


图 6 几个多年生材料的根尖细胞染色体数目

(a)4-3-17-19,52 条染色体;(b)5-4-12-13,54 条染色体;(c)3-1-18-2,56 条染色体

Fig. 6 The chromosomes number of root tip cell in several perennial materials

(a)4-3-17-19 has 52 chromosomes;(b)5-4-12-13 has 54 chromosomes;(c)3-1-18-2 has 56 chromosomes

3 结论与讨论

小麦亚族大约有 15 个属, 325 种, 涉及 23 个染色体组, 小麦亚族中几乎所有的属均有与小麦杂交成功的种^[7]。小偃麦(AABBDEE)麦草 8 号、麦草 9 号与中间偃麦草(E1E1E2E2StSt)杂交, 涉及 A, B, D, E 和 St 5 个染色体组, A, B, D 染色体间有部分同源关系, D 与 E, E 与 St 亦有部分同源关系, 因此可以杂交, 结实率为 10%~39%。F₁ 为多年生, 当年不结实, 第 2、3、4、5 年生结少量种子(3.0%左右)。F₂~F₅ 为分离世代, 不同类型育性表现不同。普通小麦类型育性表现良好, 结实率在 90%以上, 种子发芽率及幼苗成活率最高; 小偃麦类型, 育性较差, 结实率为 50%~70%, 种子不饱满, 发芽率和幼苗成活率较低; 中间偃麦草类型, 育性最差, 结实率为 50%左右, 发芽率及幼苗成活率最低。分离世代不同类型与染色体组构型有关, AABBDD 染色体组多为普通类型, 一年生, 结实率高。AABBDEE 染色体组多为小偃麦类型, 有再生能力且抗寒, 多为多年生, 结实率较低, 种子不饱满。AAEStSt 或 AABBEStSt 染色体组多为中间偃麦草类型, 植株高大, 有再生能力且抗寒, 为多年生麦草, 种子

瘦长, 结实率、成苗率均低。此外, 小麦属间杂交育性与染色体配对有关, 二价体数量高、单价体数量低, 结实率高, 反之二价体数量低、单价体数量高, 结实率低。小麦属间杂交, 染色体配对有个调整过程, 因此可采取延长生育期、扩大繁殖方法克服远缘杂交的不育性, 同时做好细胞学检测工作, 以提高后代的结实率。

参考文献:

- [1] 木原均. 小麦的研究[M]. 东京: 养贤堂版, 1933: 436-442.
- [2] Lapitan L V, Sears R G, Gill B S. Translocation and other karyotypic structural changes in wheat×rye hybrids regenerated from tissue culture[J]. TAG, 1984, 68: 547-554.
- [3] 李集临, 曲敏, 张延明. 小麦染色体工程[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 66.
- [4] 闫小丹, 张延明, 李集临. 八倍体小偃麦与天蓝偃麦草杂交 F₁ 染色体组构型[J]. 植物研究, 2010, 30(2): 1-5.
- [5] Zhang X Y, Dong Y S, Wang R R C. Characterization of genomes and chromosomes in partial amphiploids of the hybrid *Triticum aestivum* × *Thinopyrum ponticum* by in situ hybridization, isozyme analysis, and RAPD[J]. Genome, 1996, 39: 1062-1071.
- [6] 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学分析[J]. 作物学报, 2012, 38(8): 1378-1386.
- [7] 董玉琛. 小麦野生近缘植物的研究和利用[C]//董玉琛论文选集, 北京: 中国农业出版社, 2010: 348-353.

Discussion of Incompatibility and Sterility on Hybridization Between *Trititrigia* and *Thinopyrum intermedium*

LI Chun-yu¹, ZHOU Xuan¹, YAN Xiao-dan¹, ZHAO Hai-bin², LI Ji-lin¹, ZHANG Yan-ming¹

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

Abstract: The key problem which distant hybridization encountered is crossability and sterility, for the insight of that, the contemporary crossability and sterility expression of F₁~F₄ of *Trititrigia* and *Thinopyrum intermedium* hybridization were discussed. Seed setting rate of contemporary hybrids for *Trititrigia* and *Thinopyrum intermedium* hybrids was 10%~39%, F₁ was sterility in the same year, and with a small amount seed for biennial to 5-year-old, seed setting rate had a tendency to gradually restore. The different types of hybrid had different seed setting rate for F₂~F₅ segregative generation, the seed setting rate of the type common wheat and *Trititrigia* could reach 70%~100%, that of *Thinopyrum intermedium* was 40%~50%, seed plumpness was gradually improved.

Key words: distant hybridization; *Trititrigia*; *Thinopyrum intermedium*; sterility