

六倍体小黑麦和八倍体小偃麦杂交 F₂ 的细胞学特性

张保民, 张立琳, 李小军, 茹振钢*

(河南科技学院 小麦中心, 河南省高等学校作物分子育种重点开放实验室, 河南 新乡 453003)

摘要: 以八倍体小偃麦(远中 1 号、远中 3 号和远中 5 号)与六倍体小黑麦杂交, 对 F₂ 的形态学及细胞学特性进行了研究, 以期创造小麦—偃麦草—黑麦异位新种质奠定基础。结果表明, 3 个组合 F₂ 自交结实率分别为 28.11%、41.11%、39.92%。不同组合根尖细胞染色体数目变化分别有 8、12、29 种类型, 组合间染色体数目分别在 46~58、49~60、34~64 条变异。花粉母细胞减数分裂染色体行为异常, 组合间平均每个细胞单价体数基本相当, 分别为 10.45、11.60 和 11.69。组合远中 1 号/兰考小黑麦和远中 3 号/兰考小黑麦中具多价体的细胞频率非常相近, 分别为 40.7% 和 39.2%, 明显高于远中 5 号/兰考小黑麦组合中的频率(33.0%)。3 个组合均出现较低频率的染色体桥, 分别为 6%、3%、3%。在二分孢子和四分孢子中普遍观察到微核。研究结果为揭示小麦—偃麦草—黑麦属间杂种染色体遗传特征提供了依据。

关键词: 小麦; 黑麦; 中间偃麦草; 细胞学

中图分类号: S512.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)07-0007-05

Cytological Characteristics of F₂ Hybrids Derived from Triticale (2n=6x=42) × Trititrigia (2n=8x=56)

ZHANG Bao-min, ZHANG Li-lin, LI Xiao-jun, RU Zhen-gang*

(Center of Wheat Breeding, Henan Institute of Science and Technology/Key Discipline Open Laboratory on
Crop Molecular Breeding of Henan Institute, Xinxiang 453003, China)

Abstract: In the present study, three octoploid trititrigia lines (Yuanzhong 1, Yuanzhong 3 and Yuanzhong 5) were crossed with hexaploid triticale (Lankaoxiaohemai), and the morphological and cytological performances of their F₂ hybrids were investigated, with the purpose of laying a foundation for the development of wheat-*Thinopyrum-Secale* chromosome translocations. The results showed that the self-fertility rate of F₂ hybrids derived from the three crosses were 28.11%, 41.11% and 39.92%, respectively. Eight, twelve and twenty-nine chromosomal variations were observed among the three crosses, respectively. The numbers of chromosomes in root tip cells varied from 46 to 58, 49 to 60 and 34 to 64, respectively. Abnormal behaviors of chromosome were observed in meiosis of pollen mother cells. The average numbers of univalent chromosome in a cell were nearly same among the three crosses (10.45, 11.60 and 11.69, respectively). The frequencies of multivalent cells in the crosses Yuanzhong 1/Lankaoxiaohemai and Yuanzhong 3/Lankaoxiaohemai were 40.7% and 39.2% separately, which were higher than that (33.0%) in the cross Yuanzhong 5/Lankaoxiaohemai. Low-frequency chromosome-bridges (6%, 3% and 3%, respectively) were also found in the three F₂ hybrids. Dyads and tetrads with micronucleus were observed generally. The results provide a basis for revealing the genetic feature of chromosomes in wheat-*Thinopyrum-Secale* hybrid.

Key words: wheat; triticale; *Thinopyrum intermedium*; cytology

收稿日期: 2012-03-19

基金项目: 国家科技支撑计划(2011BAD07B02); 河南省重大科技专项(081100110500)

作者简介: 张保民(1980-), 男, 河南许昌人, 在读硕士研究生, 研究方向: 小麦遗传育种。E-mail: xlbm0709@126.com

* 通讯作者: 茹振钢(1958-), 男, 河南沁阳人, 教授, 主要从事作物遗传育种研究。E-mail: rzgh58@sohu.com

由于持续的人为选择,小麦^[1]和玉米^[2]等作物的遗传多样性不断降低。小麦野生近缘植物被认为携带大量有益基因,是现代小麦品种高产、优质、抗逆育种的丰富基因源^[3]。黑麦(*Secale cereale* L., $2n=14$)和中间偃麦草(*Thinopyrum intermedium*, $2n=42$)不仅对小麦锈病和白粉病等主要病害具有很强的抗性,而且具有耐旱、耐寒和抗逆等优良特性,因此可以作为多种优异外源基因供体用于小麦遗传改良。

中间偃麦草与小麦杂交成功已为小麦育种提供了许多重要的遗传材料。例如, Cauderon 等^[4]、孙善澄^[5]和王洪刚等^[6]利用中间偃麦草与小麦杂交分别育成了八倍体小偃麦。Han 等^[7]对八倍体小偃麦远中 1 号、远中 2 号、远中 3 号、远中 4 号和远中 5 号的染色体组构成特征进行了分析。牟金叶等^[8]利用八倍体小偃麦远中 2 号与普通小麦杂交,选育出 2 个稳定的小麦—中间偃麦草的小片段易位系 H9626922 和 H96278。辛志勇等^[9]以远中 4 号和远中 5 号为基础选育出高抗黄矮病的 Z1—Z6 ($2n=44$) 异附加系及其他易位系抗病新种质。高优 503 和新曙光 6 号等都是利用染色体工程手段创育的具有中间偃麦草血缘的优良小麦品种。同样,黑麦也是小麦重要的抗病和抗逆基因来源。例如,黑麦与小麦杂交育成的 1BL/1RS 易位系种质对世界范围内的小麦增产和抗病性提高产生了重要影响^[10]。据统计,20 世纪 80 年代后,我国育成品种和主栽品种中近 40% 的品种携带有 1BL/1RS 易位^[11]。因此,进一步向小麦导入中间偃麦草和黑麦的优异基因对小麦育种具有重要意义。

已有学者对小麦—偃麦草—簇毛麦^[12]、小麦—滨麦—偃麦草^[13]和小麦—冰草^[14]等属间杂种的 F_1 或 F_2 细胞学特性进行了报道。余春江等^[15]也对小麦—黑麦—中间偃麦草 F_1 及其花粉植株的细胞学进行了研究,发现 F_1 的减数分裂行为极其复杂。但目前关于小麦—黑麦—中间偃麦草衍生 F_2 的细胞学特性鲜见报道。本研究以八倍体小偃麦(远中 1 号、远中 3 号和远中 5 号)与六倍体小黑麦杂交,对杂交 F_2 的形态学、染色体变异类型及频率进行分析,以期创造小麦—偃麦草—黑麦异位新种质奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究以小偃麦中间类型(远中 1 号、远中 3 号和远中 5 号, $2n=56$)与兰考小黑麦($2n=42$, AAB-

BRR)杂交衍生的 F_2 植株为材料,其中远中 1 号、远中 3 号和远中 5 号由山西省农业科学院孙善澄先生惠赠,兰考小黑麦由河南天民种业有限公司沈天民先生惠赠。

1.2 细胞学观察及形态学统计

根尖染色体制片:取生长旺盛的根尖在 $1\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰水中处理 24 h,以卡诺固定液 I (95%乙醇:冰醋酸=3:1)固定 2 d,然后转入 70%乙醇,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用,45%醋酸压片,OLYMPUS-BX51 相差显微镜观察照相。花粉母细胞减数分裂制片:取适宜时期(旗叶倒二叶约 12 cm)的幼穗,以卡诺固定液 II (乙醇:三氯甲烷:醋酸=6:3:1)固定 2 d,然后转入 70%乙醇, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用,45%醋酸压片,以 OLYMPUS-BX51 相差显微镜观察照相。 F_2 植株形态学性状采用常规法调查统计。

2 结果与分析

2.1 小黑麦和小偃麦杂交 F_2 植株主要农艺性状及自交结实率

分别取远中 1 号/兰考小黑麦、远中 3 号/兰考小黑麦和远中 5 号/兰考小黑麦杂交 F_2 30、137、836 株统计主要农艺性状(表 1)。3 个组合 F_2 植株主要形态学性状呈现严重分离,与组合远中 3 号/兰考小黑麦和远中 5 号/兰考小黑麦相比较,组合远中 1 号/兰考小黑麦在株高、穗长、小穗数和有效分蘖等性状上的变异程度相对较小。3 个组合平均株高分别为 100.20、105.46、98.34 cm,平均穗长分别为 19.37、19.55、17.48 cm,平均小穗数分别为 27.30、25.85、25.75 个,平均分蘖数分别为 14.87、15.49、12.82 个。它们的自交结实率分别为 28.11%、41.11%、39.92%。

表 1 小黑麦和小偃麦杂交 F_2 主要农艺性状及结实率

组合	株高/ cm	穗长/ cm	小穗 数/个	分蘖 数/个	自交结 实率/%
远中 1 号/兰考小黑麦	100.20	19.37	27.30	14.87	28.11
远中 3 号/兰考小黑麦	105.46	19.55	25.85	15.49	41.11
远中 5 号/兰考小黑麦	98.34	17.48	25.75	12.82	39.92
平均	101.33	18.80	26.30	14.39	36.38

2.2 小黑麦和小偃麦杂交 F_2 根尖细胞染色体数目

3 个组合 F_2 植株根尖细胞染色体数目分别有 8、12、29 种类型,组合间不同植株染色体数目分别在 46~58、49~60、34~64 条变异(表 2),图 1 为 3 个组合根尖细胞染色体数变异频率。其中杂交组合远中

1/兰考小黑麦的 F₂ 中以 2n=50(图 2A)的植株数最多,频率为 24.0%,而组合远中 3 号/兰考小黑麦和远中 5 号/兰考小黑麦 F₂ 中均以 2n=52(图 2B)的植株数最多,分别占观察植株总数的 12.9%和 11.9%。

表 2 小黑麦和小偃麦杂交 F₂ 根尖细胞染色体数目

组合	观察株数/株	染色体变异数/种	染色体数/条
远中 1 号/兰考小黑麦	25	8	46,48,50,52,54,55,56,58
远中 3 号/兰考小黑麦	92	12	49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60
远中 5 号/兰考小黑麦	478	29	34,36,38,39,40,41,42,43,44,45、46,47,48,49,50、51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64
平均	198.33	15.33	50.84

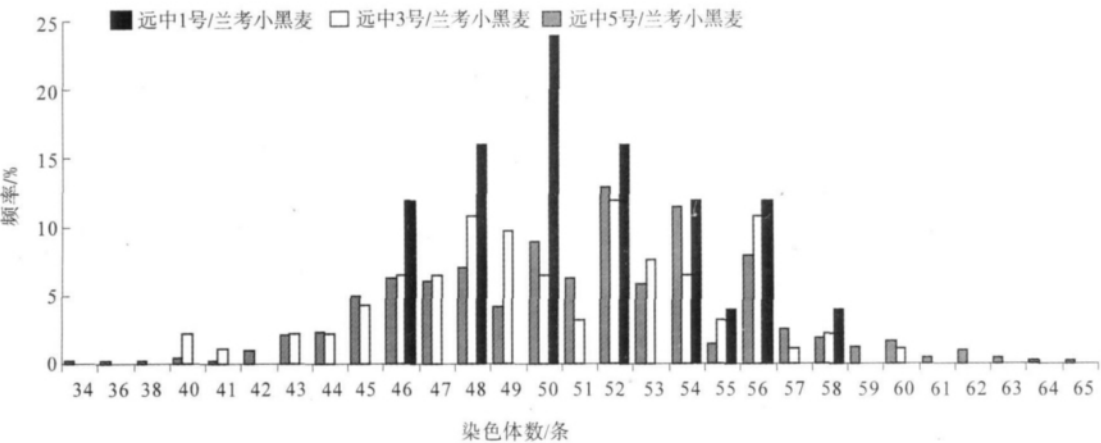


图 1 小黑麦和小偃麦杂交 F₂ 植株染色体数变异频率

2.3 小黑麦和小偃麦杂交 F₂ 花粉母细胞减数分裂情况

小黑麦和小偃麦杂交 F₂ 花粉母细胞减数分裂出现多种染色体异常行为(表 3)。3 个杂交组合 F₂ 植株均出现较高频率的单价体,平均每个细胞单价体数基本相当,分别为 10.45、11.60、11.69。远中 1 号/兰考小黑麦和远中 3 号/兰考小黑麦组合中具多价体的细胞频率非常相近,分别为 40.7%、39.2%,明显高于远中 5 号/兰考小黑麦组合中的多价体细胞频率(33.0%)。组合远中 1 号/兰考小黑麦和远中 5 号/兰考小黑麦

中均观察到三价体(图 2C)、四价体(图 2D)和六价体(图 2E),频率分别为 0.20、0.22、0.04 和 0.23、0.09、0.02,而组合远中 3 号/兰考小黑麦中只出现了三价体和四价体,频率分别为 0.35 和 0.07。这 3 个组合花粉母细胞减数分裂中期 I(PMC MI)平均染色体构型分别为 10.45I+18.93II+0.2III+IV0.22+VI0.04、11.60I+17.82II+0.35III+0.07IV和 11.69I+18.26II+0.23III+0.09IV+0.02VI(表 3)。它们的相对紊乱系数也非常相近,分别为 0.32、0.36、0.35。

3 个组合均出现较低频率的染色体桥(图 2F),

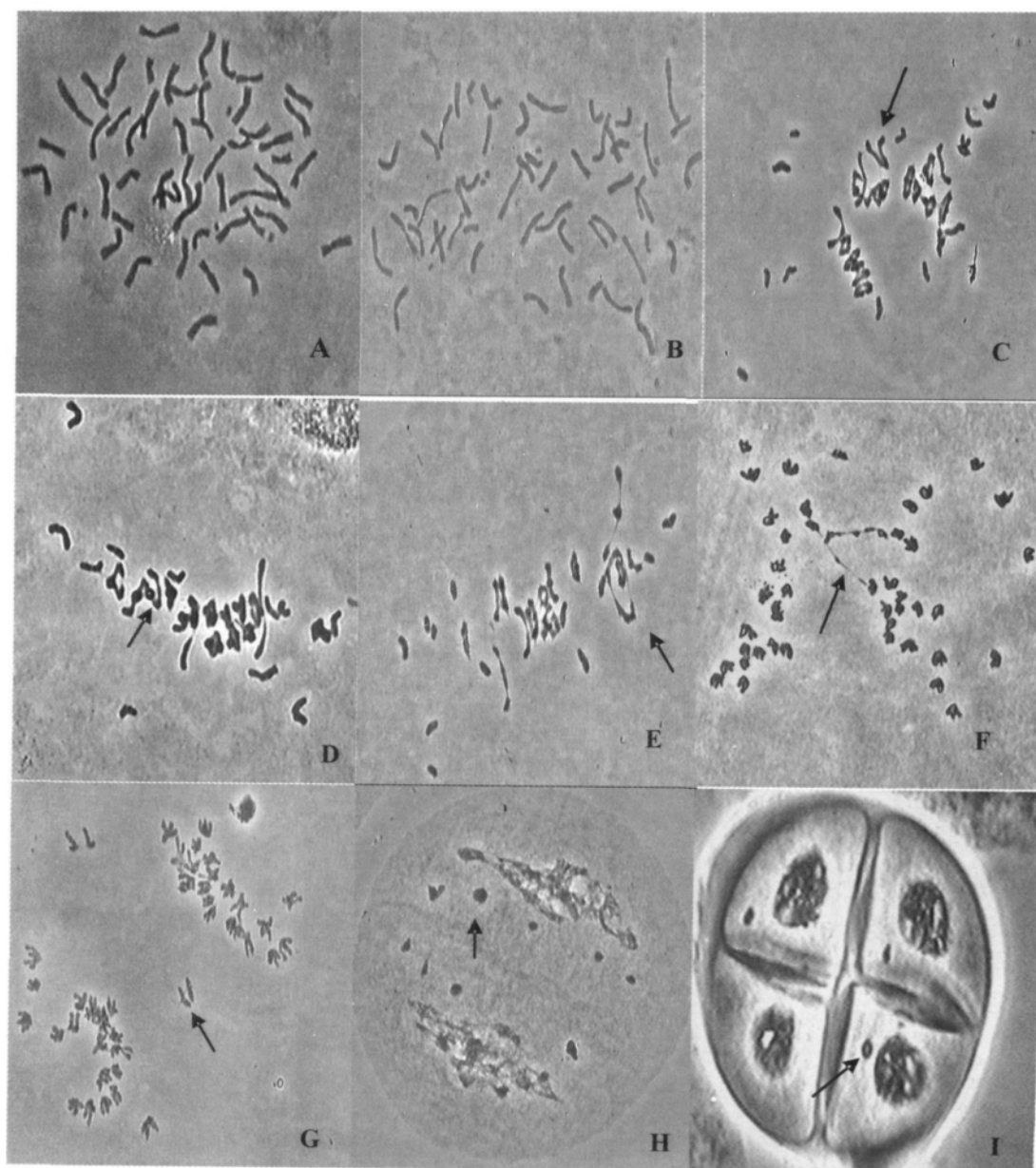
表 3 F₂ 植株 PMC MI 染色体构型

组合	细胞数/个			染色体数目/条						具染色体桥细胞/个	具微核二分体/个	具微核四分体/个
	中期	末期 I	末期 II	I	II ring	II rod	III	IV	VI			
远中 1 号/兰考小黑麦	253	1 396	1 458	10.45 (3~18)	10.87 (2~18)	8.06 (1~21)	0.20 (0~4)	0.22 (0~2)	0.04 (0~1)	98	438	338
远中 3 号/兰考小黑麦	278	780	804	11.60 (4~26)	9.65 (2~17)	8.17 (1~16)	0.35 (0~3)	0.07 (0~1)		31	224	556
远中 5 号/兰考小黑麦	421	1 400	2 235	11.69 (4~22)	11.39 (1~19)	6.87 (1~17)	0.23 (0~2)	0.09 (0~1)	0.02 (0~1)	70	742	546
平均	371.33	1 192	1 499	11.25	10.64	7.70	0.26	0.13	0.02	66.33	468	496.67

注: I. 单价体; II ring. 环状二价体; II rod. 棒状二价体; III. 三价体; IV. 四价体; VI. 六价体。

其中组合远中 1 号/兰考小黑麦出现染色体桥的频率(6%)高于另外 2 个组合(均为 3%)。在后期 I 一些细胞还出现了落后染色体(图 2G)。在二分孢

子中,组合远中 5 号/兰考小黑麦的微核(图 2H)频率最高,达到 53%;而在四分孢子中以组合远中 3 号/兰考小黑麦的微核(图 2I)频率最高,达到 69%。



A 和 B 分别为根尖细胞染色体 ($2n=50$ 和 52); C. 中期三价体; D. 中期四价体; E. 中期六价体;
F. 后期染色体桥; G. 后期落后染色体; H. 二分体微核; I. 四分体微核

图 2 F_2 部分植株根尖细胞染色体数目及花粉母细胞减数分裂过程

3 讨论

目前,利用近缘植物携带的优良基因进行小麦遗传改良是育种的重要途径。但近缘植物与小麦直接杂交结实率很低。Gupta 等^[16]利用中间偃麦草与 3 个小黑麦杂交,发现 F_1 结实率分别只有 2.6%、1.6%、2.3%。武计萍等^[17]将八倍体小偃麦草与羊草直接杂交,其杂种自交结实率仅为 1.23%。目前,小麦远缘杂交中选用 1 个或几个属的杂种稳定型作亲本是提高杂种结实性的有效途径。袁文业等^[12]利用 16 个六倍体的小簇麦与八倍体的小偃麦杂交,平均杂交结实率高达 20.5%。本

研究利用八倍体小偃麦中间型远中 1 号、远中 3 号和远中 5 号分别与六倍体小黑麦杂交, F_2 结实率分别达到了 28.11%、41.11%、39.92%,很大程度上提高了三属杂种的结实率。

将 F_2 植株花粉母细胞染色体变异情况与小麦—黑麦—中间偃麦草杂种 F_1 植株^[15]进行比较发现,两者均存在一定频率的单价体、三价体和四价体,但不同类型总体变异频率存在差异。 F_2 平均每个细胞单价体(11.25)和三价体(0.26)均明显低于 F_1 (19.76 和 0.68); F_2 平均每个细胞二价体(18.34)和四价体(0.13)均明显高于 F_1 (13.45 和 0.05); F_1 出现少量的五价体(0.01),而 F_2 出现少

量的六价体(0.03)。另外,本研究中组合远中1号/兰考小黑麦 F_2 植株的主要形态学性状变异小于另外2个组合,其根尖细胞染色体数目变异类型也明显较少,这可能与该组合分析样本数较少有关。

通过不同来源染色体组间染色体配对和交换,可以将不同物种的有利基因重组到小麦的遗传背景中,获得综合性状优良的新种质^[18]。Tang等^[19]在小麦—黑麦—偃麦草—燕麦的杂交后代中筛选出高抗锈病、白粉病和根腐病的小麦新种质。陈法棣等^[20]利用小麦—大赖草异附加系与小麦—簇毛麦易位系相互杂交,选育出兼抗小麦白粉病和赤霉病的新种质。Ferrari等^[21]对利用六倍体小黑麦和八倍体小偃麦杂交衍生的具有抗旱、耐寒及抗病等优良特性的优异种质进行了细胞学鉴定,发现小麦与其他属间杂交的衍生后代中染色体遗传行为极为复杂。本研究中 F_2 植株出现较高频率的多价体,表明小麦、黑麦或中间偃麦草染色体间由于存在部分同源性而发生配对。另外,偃麦草染色体上含有促进部分同源染色体配对的基因,可能也在染色体联会中产生重要作用。目前,已在杂交后代中选择出对白粉病和条锈病表现免疫且农艺性状较为理想的中间种质,其可作为向普通小麦导入中间偃麦草或黑麦优异基因的桥梁材料。

参考文献:

- [1] Tian Q Z, Zhou R H, Jia J Z. Genetic diversity trend of common wheat (*Triticum turgidum* L.) in China revealed with AFLP markers[J]. Genet Resour Crop Evol, 2005, 52: 325-331.
- [2] Reif J C, Hamrit S, Heckenberger M, et al. Trends in genetic diversity among European maize cultivars and their parental components during the past 50 years[J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 838-845.
- [3] 董玉琛, 郑殿升. 中国小麦遗传资源[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [4] Cauderon Y, Saigne B, Dange M. The resistance to wheat rusts of *Agropyron intermedium* and its use in wheat improvement[C]//Sears E R, Sears L M S. Proceeding of the fourth international wheat genetics symposium. Missouri: University of Missouri, 1973: 401-407.
- [5] 孙善澄. 小麦与偃麦草远缘杂交的研究[J]. 华北农学报, 1987, 2(1): 7-12.
- [6] 王洪刚, 刘树兵, 李兴锋, 等. 六个八倍体小偃麦的选育和鉴定[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(4): 6-10.
- [7] Han F, Liu B, Fedak G, et al. Genomic constitution and variation in five partial amphiploids of wheat-*Thinopyrum intermedium* as revealed by GISH, multicolor GISH and seed storage protein analysis[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 1070-1076.
- [8] 牟金叶, 李集临, 王献平, 等. 异源细胞质小麦—中间偃麦草易位系的培育与荧光原位杂交鉴定[J]. 科学通报, 2000, 45(3): 297-300.
- [9] 辛志勇, 徐惠君, 陈孝, 等. 应用生物技术向小麦导入黄矮病抗性的研究[J]. 中国科学(B辑), 1991, 41(1): 36-42.
- [10] Lukaszewski A J. Manipulation of the 1RS/1BL translocation in wheat by induced homoeologous recombination[J]. Crop Sci, 2000, 40: 216-225.
- [11] 周阳, 何中虎, 张改生, 等. 1BL/1RS 易位系在我国小麦育种中的应用[J]. 作物学报, 2004, 30(6): 531-535.
- [12] 袁文业, 孙善澄, 张美荣. 小麦—偃麦草—簇毛麦三属杂交后代形态学、细胞学和育性研究[J]. 作物学报, 1994, 20(4): 504-507.
- [13] 邵斌, 李兴锋, 王秀芹, 等. 小麦—滨麦—偃麦草三属杂种的创制及其遗传分析[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2007, 38(1): 75-80.
- [14] 王敬昌, 刘伟华, 程雪佼, 等. 中国春—柱穗山羊草杀配子染色体 2C 附加系与小麦—冰草附加系杂交 F_2 的细胞学特性[J]. 中国农业科学, 2008, 41(7): 1894-1899.
- [15] 俞春江, 贾旭, 胡适全, 等. 小麦—黑麦—中间偃麦草三属杂种 F_1 及花粉植株的细胞遗传学研究[J]. 遗传学报, 1994, 21(6): 447-452.
- [16] Gupta P K, Fedak G. Intergeneric hybrids between \times *Triticosecale* cv. Welsh ($2n=42$) and three genotypes of *Agropyron intermedium* ($2n=42$)[J]. Can J Genet Cytol, 1986, 28: 176-179.
- [17] 武计萍, 许钢垣, 仇松英. 小麦—天蓝偃麦草—羊草三属杂种回交世代几个主要性状的遗传表现[J]. 华北农学报, 1997, 12(1): 12-16.
- [18] 李兴锋, 王洪刚. 小黑麦 \times 小滨麦三属杂种 F_1 小孢子发生和雄配子体发育的细胞学特点研究[J]. 西北植物学报, 2002, 22(4): 766-770.
- [19] Tang S X, Zhuang J J, Wen Y X, et al. Identification of introgressed segments conferring disease resistance in a tetrageneric hybrid of *Triticum*, *Secale*, *Thinopyrum* and *Avena*[J]. Genome, 1997, 40: 99-103.
- [20] 陈法棣, 陈佩度, 王苏玲, 等. 普通小麦—大赖草—簇毛麦异附加、易位系的选育和鉴定[J]. 植物学报, 2001, 43(4): 359-363.
- [21] Ferrari M R, Greizerstein E J, Pacapelo H A, et al. The genomic composition of Tricepiro, a synthetic forage crop[J]. Genome, 2005, 48: 154-159.