

普通小麦与硬粒小麦正反杂交差异研究

相志国¹, 赵献林^{1*}, 康明辉¹, 赵永英¹, 王爱玲²

(1. 河南省农业科学院 小麦研究中心, 河南省小麦生物学重点实验室/小麦国家工程实验室/
农业部黄淮中部小麦生物学与遗传育种重点实验室, 河南 郑州 450002; 2. 河南省农业科学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 硬粒小麦具有小穗多花、耐旱等优异性状, 为了评估将此性状导入普通小麦中的难易程度, 对硬粒小麦与 3 份普通小麦进行正反杂交, 统计杂交结实率以及 F_1 发芽率和结实率。结果表明, 反交的结实率较高(51.19%); 正交的发芽率较高(86.67%), 而反交组合石家庄 11 号×周麦 22 发芽率为 0。发芽率高低除了与细胞质有关外, 也受普通小麦基因型差异的影响。

关键词: 普通小麦; 硬粒小麦; 远缘杂交; 结实率; 发芽率

中图分类号: S512 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)09-0014-04

A Difference Study on Reciprocal Crosses of Common Wheat with Durum Wheat

XIANG Zhi-guo¹, ZHAO Xian-lin^{1*}, KANG Ming-hui¹, ZHAO Yong-ying¹, WANG Ai-ling²

(1. Wheat Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences/Henan Key Laboratory of Wheat Biology/National Engineering Laboratory for Wheat/Key Laboratory of Wheat Biology and Genetic Breeding in Central Huang-huai Region, Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450002, China;
2. Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Durum wheat contains some useful traits such as multi-floret, etc. In order to evaluate the degree of difficulty for transferring such excellent trait to common wheat, the reciprocal crosses were made between one durum wheat and three common wheat genotypes. The seed setting rate of hybridization and the germination rate and setting rate of hybrids were studied. The result showed that the seed setting rate of hybridization was higher when durum wheat was used as female parent (51.19% in average). The seed germination rate of hybrids was higher when durum wheat was used as male parent (86.67%), while the germination rate of the cross Shijiazhuang 11×Zhoumai 22 was zero. In addition to the cytoplasm difference between common wheat and durum wheat, the genotype diversity of common wheat played an important role in the germination rate of hybrids.

Key words: common wheat; durum wheat; distant hybridization; seed setting rate; germination rate

小麦是我国重要的粮食作物之一。小麦生产对于发展国民经济, 提高人民生活水平具有重大意义。但由于人类长期对小麦品种定向选择以及集约化品种的选育推广, 小麦原先积累的优良变异受到侵蚀, 遗传基础变窄, 这不仅限制了小麦产量的提高和品质

的改良, 而且使得小麦对于生物和环境胁迫变得愈加脆弱, 影响了小麦的安全生产和效益提高。因此, 拓宽小麦遗传基础、增加品种的遗传多样性, 是提高小麦产量和育种水平的重要途径^[1]。近缘物种遗传多样性丰富, 含有许多小麦可以利用的优良基因。通过

收稿日期: 2013-04-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271726); 国家“948”项目(2011-63)

作者简介: 相志国(1977-), 男, 山西运城人, 助理研究员, 博士, 主要从事小麦细胞工程育种研究。

E-mail: xiangzhuying@gmail.com

* 通讯作者: 赵献林(1957-), 男, 河南泌阳人, 研究员, 博士, 主要从事小麦育种研究。E-mail: zhaoxianlin@yahoo.com.cn

远缘杂交从普通小麦的近缘种属转移优良野生基因是卓有成效的途径,例如,著名的小麦 1RS/1BL 易位系、偃麦草小偃系列和簇毛麦 *pm21* 等优异基因的引入,使小麦品种改良取得了革命性的进展^[2]。然而,目前导入小麦并加以利用的近缘植物优异基因还很有限。加强小麦与其近缘植物的杂交、鉴定和利用研究,对小麦生产和育种意义重大。

硬粒小麦(*Triticum durum* Desf, AABB, 2n=28)为异源四倍体,是小麦属中四倍体栽培种之一。与普通小麦相比,硬粒小麦的显著特点是籽粒蛋白质含量高、硬度好、品质优,是制作通心粉和意大利面条的专用小麦。在农艺性状上其小穗多花,结实性好,耐旱、耐瘠薄性相对较好,这些可以作为优异性状通过远缘杂交向普通小麦转移^[3]。

为了评估将硬粒小麦具有的多小花、耐旱等优异性状转入到普通小麦中的难易程度,本研究利用3份不同普通小麦品种与1份硬粒小麦进行正反交,统计杂交结实率及F₁的发芽率和结实率,旨在为创制来源于硬粒小麦的新型多小花、耐旱等种质资源提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

硬粒小麦(1份):石家庄11号是石家庄市农林科学研究院与意大利国家能源环境和新技术委员会(ENEA)合作研究选育的优质专用硬粒小麦新品种。

普通小麦(3份):周麦22是周口市农业科学院选育的一个小麦品种;中国春(CS)和开县罗汉麦(KL)均是四川省地方小麦品种类群。

1.2 方法

1.2.1 普通小麦与硬粒小麦的杂交 正交组合:以3个普通小麦材料为母本、硬粒小麦石家庄11号为父本杂交获得的3个组合。反交组合:以硬粒小麦石家庄11号为母本、3份普通小麦为父本杂交获得的3个组合。每个组合杂交穗数为10~20个。

采用常规人工杂交方法,母本选取开花前2~3 d的嫩穗剪颖去雄,套袋隔离,用父本新鲜花粉足量授粉,重复2次,待植株成熟后,剪取杂交穗,统计6个组合的结实率。

1.2.2 杂交结实率统计 杂交植株成熟后,人工收获,统计结实粒数,计算结实率。

结实率=结实粒数/授粉小花数×100%。

1.2.3 F₁种子的发芽率统计 杂交种子用无菌水冲洗3次,然后置于培养皿中在室温下浸种24 h;

将浸种后的种子放在垫有2层滤纸的培养皿内,置于23.5℃温箱中发芽;待种子萌发后记数,计算发芽率。其中,种子根和芽均完成正常萌发计为发芽种子,只有根或芽1个完成萌发的种子不计入发芽种子数。

发芽率=发芽的种子数/检测的种子总数×100%

1.2.4 杂种结实率统计 把杂种种子种于田间,在自然环境下生长、授粉。成熟前选择4~10个单株调查结实情况。自交结实率=每小穗基部2朵小花结实粒数/每小穗基部2朵小花数目之和×100%,试验数据采用Excel进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 普通小麦与硬粒小麦正反交组合的结实率

在本试验中,硬粒小麦与普通小麦的6个正反交组合均获得了种子,但不同组合间的结实率有差异,3个正交组合的结实率平均为18.37%,反交组合平均为51.19%,反交组合的结实率极显著高于正交组合(表1)。在以3份普通小麦为母本、硬粒小麦为父本的3个正交组合中,结实率最高的组合为KL×石家庄11号,在授粉的10个穗子中得到58粒种子,平均为5.8粒/穗,结实率为20.71%;结实率最低的组合为周麦22×石家庄11号,在授粉的20个穗子中得到81粒种子,平均为4粒/穗,结实率为16.20%。在硬粒小麦为母本、普通小麦为父本的3个反交组合中却获得高达45.00%~55.00%的结实率,其中最高的组合为石家庄11号×KL,在授粉的10个穗子中得到154粒种子,平均为15.4粒/穗,结实率为55.00%;结实率最低的组合为石家庄11号×周麦22,在授粉的15个穗子中得到189粒种子,平均为12.6粒/穗,结实率为45.00%。

从获得种子的外观判断,正交组合的种子相对比较饱满,而反交组合多数发育不正常,畸形、小而皱瘪。特别是石家庄11号×周麦22组合,一些种子只有种皮,而无内含胚乳或胚的发育。

2.2 普通小麦与硬粒小麦正反交杂种后代的发芽率

为了研究不同组合杂种的发芽率,在种子完成生理后熟的播种季节,每个组合随机选取30粒种子在室内进行了发芽试验。结果表明,不同杂交组合其杂种发芽率有很大差异(表2),但整体而言,正交组合的平均发芽率(86.67%)极显著高于反交组合(30.00%)。正交组合的发芽率在76.67%~93.33%,其中KL×石家庄11号组合发芽率最低(76.67%),测

试的 30 粒种子有 23 粒发芽, 剩余未发芽的 7 粒种子中, 5 粒只有根的萌发而没有芽的萌发, 2 粒芽与根均

未萌发; CS×石家庄 11 号组合发芽率最高, 达 93.33%, 在 30 粒种子中有 28 粒发芽。

表 1 普通小麦与硬粒小麦正反杂交的结实率

杂交组合	杂交穗数/穗	授粉小花数/朵	杂交结实数/粒	杂交结实率/%	正反交平均结实率/%
CS×石家庄 11 号	10	280	51	18.21	18.37B
KL×石家庄 11 号	10	280	58	20.71	
周麦 22×石家庄 11 号	20	500	81	16.20	
石家庄 11 号×CS	10	280	150	53.57	51.19A
石家庄 11 号×KL	10	280	154	55.00	
石家庄 11 号×周 22	15	420	189	45.00	

表 2 普通小麦与硬粒小麦正反杂交所获杂种的发芽率

杂交组合	试验种子总数/粒	发芽种子数/粒	仅有芽或根萌发种子数/粒	杂种发芽率/%	正反交杂种平均发芽率/%
CS×石家庄 11 号	30	28	1	93.33	86.67A
周麦 22×石家庄 11 号	30	27	0	90.00	
KL×石家庄 11 号	30	23	5	76.67	
石家庄 11 号×CS	30	16	0	53.33	30.00B
石家庄 11 号×KL	30	11	0	36.67	
石家庄 11 号×周麦 22	30	0	2	0	

反交组合的发芽率相对较低, 介于 0~53.33%。其中石家庄 11 号×周麦 22 的发芽率最低, 在 30 粒种子中没有种子能完成正常的萌发, 只有 2 粒种子完成芽的萌发, 而种子根未能完成萌发; 组合石家庄 11 号×CS 的发芽率最高, 在 30 粒种子中有 16 粒发芽, 发芽率为 53.33%; 组合石家庄 11 号×KL 的发芽率居中, 在 30 粒种子中有 11 粒发芽, 发芽率为 36.67%。

2.3 普通小麦与硬粒小麦正反交杂种后代的结实率

对 5 个杂交组合田间自然授粉环境下 4~10 个单株进行结实情况调查(石家庄 11 号×周麦 22 组合由于杂交种子不能发芽, 未能统计结实率), 结果见表 3。表 3 表明, 基因型间存在显著差异, 而同一组合正反交杂交种结实率没有显著差异。组合周麦 22×石家庄 11 号在 5 个组合中的结实率最低, 为 6.69%~28.00%, 平均为 20.10%, 显著低于其他组合。KL×石家庄 11 号的结实率最高, 为 37.27%~50.00%, 平均为 43.81%, 其余组合介于两者之间。

表 3 普通小麦与硬粒小麦正反交杂种后代的结实率

杂交组合	调查小花数/朵	结实粒数/粒	杂种结实率/%
周麦 22×石家庄 11 号	4 690	906	20.10c
CS×石家庄 11 号	3 452	1 061	30.40b
石家庄 11 号×CS	2 890	990	33.88b
石家庄 11 号×KL	2 274	861	38.18ab
KL×石家庄 11 号	2 614	1 136	43.81a

3 讨论

在目前的小麦品种和育种材料中, 由于人为的定向改良, 遗传基础逐渐趋于一致, 导致遗传多样性的贫乏和丧失。普通小麦和硬粒小麦种间杂交, 属于远缘杂交范畴。小麦种间杂交, 虽然杂交后代存在不育、夭亡及疯狂分离等不良现象, 但对克服小麦遗传基础的单一性和贫乏性, 丰富育种种质具有重要作用^[4]。

在四倍体小麦遗传物质向普通小麦转移过程中存在 2 种方式, 一种是与小麦品种直接杂交, 另一种是通过与节节麦杂交获得人工合成小麦, 再与小麦品种杂交获得转移。目前在后一种利用方式中已育成了一些小麦品种, 如川麦 42^[5]。本研究主要采用第一种直接杂交的方式, 在正反杂交过程中结实率明显不同, 普遍表现为正交结实率低于反交结实率, 即六倍体普通小麦为母本的组合低于四倍体硬粒小麦为母本的组合。这与赵凤梧等^[3]在石 4185 与硬粒小麦的正反杂交中结实率具有相同的趋势, 也与孔令让等^[6]和李常保等^[7]在小麦和节节麦正反杂交中的结果相一致, 造成这种差异的原因除了细胞质不同外, 更可能是由不同的物种柱头接受外来花粉的能力不同造成的。不同物种柱头呼吸酶的活性、pH 值、柱头分泌的生理活性物质、花粉管的长度和柱头渗透压的差异等生理、生化状况的不同, 导致外来花粉萌发和花粉管生长受阻, 受精作用的强度不同。在本研究中硬粒小麦接受外来花粉能力要强于

六倍体普通小麦。

在杂交种发芽率中正反交存在较大差异,正交发芽率远远高于反交发芽率,说明细胞质不同起了重要作用。反交组合所获得种子大多瘦瘪,可能是杂交后花粉只刺激引起子房的膨大发育,形成种皮,而内部胚乳和胚没有发育或只发育到中期而停滞,而正交组合种子比较正常,这与前人的研究^[3,6-7]具有相同的趋势。推测高倍体的胚囊比低倍体的对雄配子的容忍度大,这可能是反交组合发芽率低的主要原因。除了细胞质原因外,基因型间也存在较大差异,在反交组合中,最高发芽率可达 53.33%,而最低的发芽率为 0,这表明 CS 与周麦 22 间基因型的不同是造成发芽率高低的又一个重要原因。在本研究中硬粒小麦与周麦 22 正反交发芽率间存在巨大差异,正交发芽率可高达 90% 以上,与正常小麦发芽无异,而反交组合甚至低到所得种子均不能发芽,这种发芽率间的巨大差异为小麦种子萌发相关功能基因的发掘提供了良好的研究体系。硬粒小麦与周麦 22 反交组合所得种子完全不能正常发芽,这可能是在受精后,由于胚乳败育、解体,胚和胚乳不协调,杂交种胚得不到足够的营养而使其发育受阻,也可能是由于远缘杂交授粉后胚致死而不能发芽,这种胚致死现象在很多物种的远缘杂交中都已发现,如 Tikhenko 等^[8-9]最近发现,在黑麦中存在胚致死基因,该基因位于 6R 染色体上,小麦中 6A 染色体上也存在相应的致死基因,远缘杂交后这 2 个基因互补形成 Dobzhansky-Müller model,导致杂交种胚致死,使杂交种不能萌发。本研究中,周麦 22 与硬粒小麦间可能也存在这种胚致死互作基因。这需要进行杂交种组织切片和幼胚人工组织培养,以确定导致该组合不能发芽的原因。

四、六倍体小麦杂交形成的杂交种 F_1 染色体数

应为 $2n=35$,基因组组成为 AABBDD,在减数分裂中可形成部分可育配子,但频率高低与基因型有关。为了尽快将硬粒小麦遗传物质转移到普通小麦中,可采用普通小麦品种进行回交 2~4 次,结合细胞学和田间农艺性状鉴定,以快速获得染色体稳定的硬粒小麦导入系。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 钟冠昌,穆素梅,张正斌. 麦类远缘杂交[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [3] 赵凤梧,李慧敏,刘冬成,等. 普通小麦与硬粒小麦种间杂交培育抗干热风新种质研究[J]. 河北农业科学, 2005,9(3):15-21.
- [4] 陈军营,冯林剑,舒文涛,等. 小麦及其近缘种间杂交的不亲和性及其 F_1 籽粒性状研究[J]. 河南农业科学, 2006(12):16-19.
- [5] 张颢,杨武云,邹裕春. 源于 CIMMYT 人工合成种的小麦新品种川麦 42 的选育与研究[J]. 西南农业学报, 2007,20(2):199-202.
- [6] 孔令让,董玉琛. 普通小麦与粗山羊草正、反交的育性研究[J]. 西北植物学报,2000,20(4): 519-523.
- [7] 李常保,刘艳华,桂长青,等. 普通小麦与粗山羊草正反交育性机理的胚胎学研究[J]. 作物学报,2002,28(2): 170-174.
- [8] Tikhenko N, Rutten T, Voylovkov A, *et al.* Analysis of hybrid lethality in F_1 wheat-rye hybrid embryos[J]. Euphytica, 2008,159(3):367-375.
- [9] Tikhenko N, Tsvetkova N, Voylovkov A V, *et al.* Embryo lethality in wheat \times rye hybrids-mode of inheritance and the identification of a complementary gene in wheat[J]. Euphytica, 2010,176(2):191-198.