

# 普通小麦 (*T. aestivum*) ph1b、ph2a、ph2b 基因系与黑麦 (*Secale cereale*) 的杂交及回交研究

叶兴国 樊路 韩敬花

(中国农业科学院作物育种栽培研究所, 北京, 100081)

## 提 要

利用中国春ph1b、ph2a、ph2b基因系及对照中国春分别与甘肃黑麦杂交, 结实率分别为94.0%、87.9%、93.8%和90.8%, 其F<sub>1</sub>减数分裂中期I染色体配对交叉数分别为9.748、2.968、5.000和1.376, ph1b、ph2a、ph2b基因诱导小麦与黑麦F<sub>1</sub>部分同源染色体配对顺序是ph1b>ph2b>ph2a。用中国春回交F<sub>1</sub>取得了成功, 回交结实率分别为1.06%、0.73%、2.52%和11.40%。利用ph1b、ph2b基因可以将黑麦中有益基因直接遗传转移给小麦, ph2a在导入黑麦有益基因方面不宜利用, 或其效果不及ph1b、ph2b, 回交结实率与染色体配对有关。

**关键词** ph基因系, 黑麦, 部分同源染色体配对, 染色体交叉数, 回交

普通小麦(AABBDD, 下称小麦)规则的减数分裂行为主要取决于Ph基因控制下的同源染色体配对, 当这些基因不存在的时候会引小麦与其近缘植物部分同源染色体间的配对以及小麦本身A、B、D组部分同源染色体间的配对, 这样就可能将外源有益基因以易位方式导入小麦, 或将小麦自身基因从一个染色体组易位到另一个染色体组<sup>[1]</sup>。基于这方面的目的, Wall等用EMS处理中国春(C.S)种子获得了ph1a基因系<sup>[12]</sup>, Sears用X射线处理C.S幼穗先后获得了ph1b基因系和ph2基因系<sup>[8,9]</sup>, 后来Sears等重新进行了这三个基因的定位工作, 确证ph1a和ph2属于Ph2位点的不同突变, 将它们重新定名为ph2a和ph2b基因<sup>[10]</sup>。

自从ph基因系问世以来, 国内外就ph1b基因作用研究较多<sup>[4,11]</sup>, ph2a、ph2b基因作用研究很少, 至于比较研究这三个基因诱导小麦与近缘植物的染色体配对水平、直接遗传转移外源有益基因给小麦可行性方面的研究更少。仅Sears在不同条件下比较研究了这三个基因诱导小麦与粘果山羊草(*Ae. kotschyi*, C<sup>u</sup>C<sup>u</sup>S<sup>v</sup>S<sup>v</sup>)染色体配对方面的作用, 区分为不同配对程度ph基因, 即ph1b>ph2a>ph2b<sup>[9]</sup>。同等条件下的平行研究还未见报道。Sharma等用C.S回交ph1b与一些山羊草种F<sub>1</sub>没有成功<sup>[11]</sup>, 而樊路等用C.S及ph1b回交ph1b与几个山羊草种F<sub>1</sub>首次成功, 从而确认了利用ph1b基因将这几个山羊草种中的有益基因直接转移给小麦的可行性<sup>[4]</sup>。迄今为止, 尚无ph1b与黑麦(RR)F<sub>1</sub>及ph2a、ph2b与近缘植物(包括黑麦)F<sub>1</sub>回交成功的报道。本文首次在相同条件下比较研

究了 ph1b、ph2a、ph2b 基因系与黑麦 F<sub>1</sub> 染色体配对水平，并对 F<sub>1</sub> 进行了回交。

## 材料与方 法

本研究所用 C.S 及其 ph1b、ph2a、ph2b 基因系由美国学者 Gill (堪萨斯州立大学) 和 Sears (密苏里大学) 提供，甘肃黑麦 (春性) 由中国农业科学院作物育种栽培研究所遗传系提供。以 C.S 及其 ph1b、ph2a、ph2b 基因系为母本分别与甘肃黑麦杂交，F<sub>1</sub> 种植在温室中，孕穗期用卡诺液 (6 份 95% 酒精：3 份氯仿：1 份冰醋酸) 固定幼穗 24 小时，然后换入 70% 酒精中低温 (4℃) 保存，1% 醋酸洋红压片观察 F<sub>1</sub> 减数分裂中期 I 染色体配对情况，调查每个花粉母细胞 (PMC) 中的单价体 (I)、棒状二价体 (II)、环状二价体 (II<sup>o</sup>)、三价体 (III)、四价体 (IV) 和五价体 (V)，计算染色体交叉数 (Xta)，根据 Driscoll 提出的方法估算 c 值<sup>[5]</sup>，每个组合统计分析 120 个 PMC。抽穗后用 C.S 对 F<sub>1</sub> 进行回交，剩余穗子套袋自交。为避免杂交、回交工作中人为因素的影响，全部去雄，授粉工作由一人独立完成。

## 结果与分析

### (一) 杂交结果及 F<sub>1</sub> 生活力

表 1 杂交结实率及出苗率

Table 1 Cross seed sets and rate of emergence

组 合 Combination	授粉小花数 No. of pollinated florets	结实粒数 No. of obtained seeds	结 实 率 Seed sets (%) t test		播种粒数 No. of planted seeds	出苗数 No. of seedlings	出 苗 率 Rate of emergence	
			%	against ck			%	t test against ck
中国春 × 黑麦 C.S * × rye (ck)	294	267	90.8	—	140	117	83.6	—
ph1b 基因系 × 黑麦 ph1b mutant × rye	348	327	94.0	1.524	101	74	73.3	3.029
ph2a 基因系 × 黑麦 ph2a mutant × rye	282	248	87.9	1.133	108	72	66.7	4.447
ph2b 基因系 × 黑麦 ph2b mutant × rye	320	300	93.8	1.402	89	65	73.0	3.037

t<sub>0.05</sub> = 1.960    t<sub>0.01</sub> = 2.576

\* C.S 表示中国春

\* C.S: abbreviation "Chinese Spring"

C.S 及其 ph1b、ph2a、ph2b 基因系与黑麦的杂交结果及  $F_1$  出苗情况列于表 1。从表 1 看出, ph1b、ph2a、ph2b 基因系及对照 C.S 与黑麦均具有良好的可交配性, 以 (C.S × 黑麦) 组合结实率为对照分别与其它三个组合结实率进行 t 测验, 表明杂交结实率之间没有显著或极显著差异。再次证明 5BL 上 Ph1 基因与 Krl 基因不属同一位点, Ph 位点的突变或缺失不影响 kr 基因的表达, 二类基因的作用独立; 互不干扰<sup>[3]</sup>。

$F_1$  出苗率分别为 73.3%、66.7%、73.0% 和 83.6%, 对照 (C.S × 黑麦)  $F_1$  出苗率最高, (ph2a × 黑麦) 出苗率最低, 对照  $F_1$  与另外三个  $F_1$  杂种出苗率间存在显著或极显著差异 (t 测验)。表明 C.S 与黑麦  $F_1$  杂种生活力最强, ph1b、ph2b 与黑麦  $F_1$  杂种生活力次之, ph2a 与黑麦  $F_1$  杂种生活力最弱, 可能是 Ph 位点的变异对其杂种生活力有一定影响<sup>[2]</sup>, 尤其 ph2a 基因对杂种生活力影响较大, 致使部分种子失去发芽、出苗能力。

## (二) $F_1$ 杂种细胞学观察

$F_1$  杂种减数分裂中期 I 细胞学观察结果列于表 2, 图 1 表明了 ph1b、ph2a、ph2b 基因诱导小麦与黑麦  $F_1$  染色体配对状况。从表 2 及图 1 可以看出, (ph1b × 黑麦)  $F_1$  染色体配对水平最高, 除二价体以外, 尚有一定数量的三价体、四价体和五价体, 配对染色体占染色体总数的 55.1%, 染色体交叉数为 9.748, c 值为 0.46, 这与吴兰佩、郑成木研究结果一致<sup>[2,6]</sup>。(ph2b × 黑麦)  $F_1$  染色体配对水平较高, 平均每个 PMC 中有较多二价体以及少量三价体和四价体, 没有观察到五价体, 配对染色体占染色体总数的 31.8%, 染色体交叉数为 5.000, c 值为 0.24。(ph2a × 黑麦)  $F_1$  染色体配对水平较低, 平均每个 PMC

表 2  $F_1$  杂种染色体配对情况

Table 2 Chromosome pairing configurations at meiotic metaphase I in  $F_1$  hybrids

组合 Combination	单价体 I Univa- lents	棒状二价体 II Rod biva- lents	环状二价体 II° Ring biva- lents	三价体 III Triva- lents	四价体 IV Quadri- valents	五价体 V Quingue- valents	染色体 交叉数 $X_{1a}$ Chiasma frequency	c 值 c value
中国春 × 黑麦 C.S × rye	25.499 20-28	1.108 0-4	0.117 0-1	0.017 0-1			1.376 0-4	0.07
ph1b 基因系 × 黑麦 ph1b mutant × rye	12.561 8-18	4.862 2-8	1.537 0-4	0.691 0-3	0.122 0-1	0.016 0-1	9.748 7-13	0.46
ph2a 基因系 × 黑麦 ph2a mutant × rye	22.687 15-26	2.556 0-6	0.087 0-1	0.119 0-1			2.968 1-7	0.14
ph2b 基因系 × 黑麦 ph2b mutant × rye	19.101 12-24	3.714 2-8	0.454 0-2	0.177 0-1	0.016 0-1		5.000 2-10	0.24

中只有 2.643 个二价体和 0.119 个三价体, 没有发现四价体和五价体, 染色体交叉数为 2.968,  $c$  值为 0.14, 配对染色体占染色体总数的 19.2%。对照 (C.S × 黑麦)F<sub>1</sub> 绝大多数 PMC 中有一个二价体, 少数 PMC 中有 2—4 个二价体, 部分 PMC 中无染色体配对, 不配对染色体占染色体总数的 91.1%。上述结果表明, ph1b、ph2a、ph2b 基因诱导小麦与黑麦 F<sub>1</sub> 染色体配对作用顺序是 ph1b > ph2b > ph2a, 即 ph1b 为高配对基因, ph2b 为中等配对基因, ph2a 为低配对基因, 甘肃黑麦对染色体配对无作用。

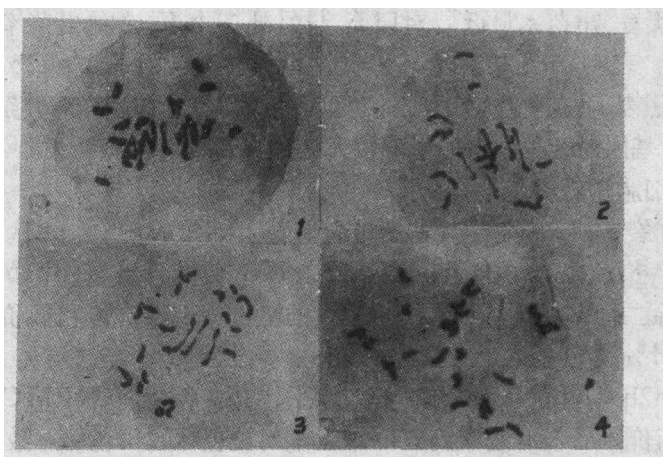


图1 F<sub>1</sub> 杂种减数分裂中期 I 染色体配对情况

Fig. 1 Configurations of chromosome pairing in F<sub>1</sub> hybrids at MI

1. (ph1b 基因系 × 黑麦) F<sub>1</sub>, 2n = 11I + 5II + 1III + 1IV  
(ph1b mutant × rye) F<sub>1</sub>
2. (ph2b 基因系 × 黑麦) F<sub>1</sub>, 2n = 16I + 6II  
(ph2b mutant × rye) F<sub>1</sub>
3. (ph2a 基因系 × 黑麦) F<sub>1</sub>, 2n = 22I + 3II  
(ph2a mutant × rye) F<sub>1</sub>
4. (中国春 × 黑麦) F<sub>1</sub>, 2n = 26I + 1II  
(C.S × rye) F<sub>1</sub>

### (三) F<sub>1</sub> 回交结果

表3 F<sub>1</sub> 杂种回交结实情况

Table 3 Seed sets of backcross of F<sub>1</sub> hybrids with C.S

F <sub>1</sub> 杂种 F <sub>1</sub> Hybrids	授粉穗数 No. of spikes pollinated	授粉小花数 No. of florets pollinated	结实粒数 No. of seeds obtained	结实率 (%) Seed sets (%)	t 测验 t test against ck
中国春 × 黑麦 C.S × rye (ck)	19	598	69	11.40	—
ph1b 基因系 × 黑麦 ph1b mutant × rye	29	1042	11	1.06	9.400
ph2a 基因系 × 黑麦 ph2a mutant × rye	42	1380	10	0.73	11.115
ph2b 基因系 × 黑麦 ph2b mutant × rye	20	715	18	2.52	6.472

\*  $t_{0.05} = 1.960$   $t_{0.01} = 2.576$

用 C.S 对  $F_1$  杂种进行回交, 结实率分别为 1.06%、0.73%、2.52% 和 11.40% (表 3), 表明四个组合  $F_1$  杂种回交结实难易程度不同。以 (C.S × 黑麦)  $F_1$  回交结实率为对照与其它三个组合  $F_1$  杂种回交结实率进行 t 测验, 存在着显著或极显著差异。ph 基因系与黑麦  $F_1$  杂种回交结实率均显著低于对照  $F_1$  回交结实率。认为  $F_1$  回交结实率与其  $F_1$  染色体配对水平有关,  $F_1$  染色体配对水平越高, 回交结实率越低,  $F_1$  染色体配对水平越低, 回交结实率越高。

## 讨 论

(一) 在这项研究中, 用 C.S 回交 ph1b、ph2a、ph2b 基因系与黑麦  $F_1$  杂种首次成功。ph1b 单倍体染色体交叉数 4.90<sup>[13]</sup>, 黑麦单倍体染色体交叉数 0.30<sup>[7]</sup>, 而 (ph1b × 黑麦)  $F_1$  染色体交叉数 9.748, 况且部分 PMC 中观察到了四价体或五价体, 由此可以认为 ph1b 基因能够诱导小麦染色体与黑麦染色体间的配对。(ph2b × 黑麦)  $F_1$  组合染色体配对水平较高, 个别 PMC 中观察到了四价体, 或许 ph2b 基因也能够诱导小麦染色体与黑麦染色体间的配对。(ph2a × 黑麦)  $F_1$  组合染色体配对水平低, 没有观察到四价体或五价体, 可能 ph2a 基因不能够诱导小麦染色体与黑麦染色体间的配对。综上所述, 利用 ph1b、ph2b 基因可以将黑麦中有益基因以易位方式直接转移给小麦, ph2a 基因可能在导入黑麦有益基因方面不宜利用, 或其效果不及 ph1b、ph2b。

由于 ph1b、ph2b 与黑麦  $F_1$  杂种回交结实较困难, 可以用 ph1b 或 ph2b 回交小麦与黑麦  $F_1$  杂种, 以诱导  $BC_1$  减数分裂期部分同源染色体配对、易位乃至交换, 然后再用标准品种回交的方法, 这样也可以将黑麦有益基因导入小麦。

(二) ph1b、ph2a、ph2b 基因诱导小麦与黑麦  $F_1$  染色体配对作用顺序是 ph1b > ph2b > ph2a, 即 ph1b 为高配对基因, ph2b 为中等配对基因, ph2a 为低配对基因, 这与前述 Sears 的结果不完全一致<sup>[9]</sup>。除所用材料、杂交方式以及环境条件不同外, 有二种可能性, 一种可能性是诱导作用 ph1b > ph2a > ph2b, 但小麦 - 黑麦  $F_1$  适合于 ph2b 基因的表达或不利于 ph2a 基因的表达, 使 ph2b 作用大于 ph2a; 另一种可能性是诱导作用 ph1b > ph2b > ph2a, 而粘果山羊草 - 小麦  $F_1$  适合于 ph2a 基因的表达或不利于 ph2b 基因的表达, 使 ph2a 作用大于 ph2b。

(三)  $F_1$  回交结实率与  $F_1$  染色体配对水平可能有关, 配对水平越高, 回交结实率越低<sup>[11]</sup>。ph1b、ph2b 与黑麦  $F_1$  杂种染色体配对水平高, 后期 I 染色体近均等分向二极, 产生含有较多染色体雌配子或不减数雌配子的机会要小, 而 C.S 与黑麦  $F_1$  杂种染色体配对水平低, 后期 I 染色体随机分向二极, 产生含有较多染色体雌配子或不减数雌配子机会相对要多, 配子染色体数目二极分化, 染色体数目多的雌配子成活并受精结实, 因此 ph 基因系  $F_1$  杂种回交结实率低, 对照  $F_1$  杂种回交结实率高。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 吴兰佩, 1986, 遗传, 8(1), 6—8.
- [ 2 ] 郑成木, 1985, 遗传, 7(2), 9—11.
- [ 3 ] 樊路等, 1988, 中国农业科学, 21(4), 22—25.
- [ 4 ] 樊路等, 1989, 中国科学B辑, 11, 1156—1160.
- [ 5 ] Driscoll, C. J., L. M. Bielig and N. L. Darvey, 1979, Genetics, 91, 755—767.
- [ 6 ] Lan-Pei Wu, Chen-Mu Zheng, Zhen-Ping Jia and Jian-Xian Yuan, 1989, Plant Breeding, 102, 281—285.
- [ 7 ] Schlegel, R. et al., 1987, Theor. Appl. Genet., 74, 820—826.
- [ 8 ] Sears, E. R., 1977, Can. J. Genet. Cytol., 19, 585—593.
- [ 9 ] Sears, E. R., 1982, Can. J. Genet. Cytol., 24, 715—719.
- [ 10 ] Sears E. R., 1984, 16th Stadler Genet. Symp., Columbia, Mo: 295—300.
- [ 11 ] Sharma, H. C. and B. S. Gill, 1986, Z. pflanzenzuchtg., 96, 1—7.
- [ 12 ] Wall, A. M. et al., 1971, Genet. Res., 18, 311—319.
- [ 13 ] Wan, R. C., C. H. Ling and E. G. Heyne, 1977, Theor. Appl. Genet., 51, 139—142.

Study on Crosses and Backcrosses of Common Wheat  
(*Triticum aestivum*) Mutants ph1b, ph2a, ph2b  
with Rye (*Secale cereale*)

Ye Xingguo Fan Lu Han Jinghua

(Institute of Crop Breeding and Cultivation, CAAS)

## Abstract

'Gan Su' rye was crossed with 'Chinese Spring' mutants ph1b, ph2a, ph2b and with 'Chinese Spring' as the control. The seed sets were 94.0%, 87.9%, 93.8% and 90.8%, respectively, indicating no significant difference among them. Chiasma frequencies of the  $F_1$  hybrids at meiotic metaphase I were 9.784, 2.968, 5.000 and 1.376, respectively. The order of the ability of inducing homoeologous pairing by the ph genes in wheat  $\times$  rye  $F_1$  hybrids at meiotic metaphase I is ph1b > ph2b > ph2a. Backcrosses of  $F_1$  hybrids to Chinese Spring were successful and the backcrosses seed sets were 1.06%, 0.73%, 2.52% and 11.40%, respectively, indicating there was significant difference between the ph derivatives and the control. So, direct genetic transfer of desirable genes from rye to wheat by ph1b, ph2b genes is available, but it is impossible by ph2a gene. Seed sets of backcrossing to the  $F_1$  hybrids are related to the homoeologous pairing at meiotic metaphase I.

**Key words** ph lines, *S. cereale*, Homoeologous pairing, Chiasma frequency, Backcross