

# 柱穗山羊草 *Ae.cylindrica* Host) Y127 的远缘杂交研究

张海泉 (河北经贸大学生物科学与工程学院, 河北石家庄 050061)

**摘要** 用柱穗山羊草分别与普通小麦、硬粒小麦和粗山羊草杂交, 虽然可以获得一部分种子, 但结实率非常低。远缘杂交后, 有一部分可以正常获得种子, 有一部分有乳无胚, 有一部分有胚无乳; 以普通小麦为母本与柱穗山羊草杂交, 获得的杂交种 F1 代分蘖率极高, 5 株 F1 苗, 分别有 303、122、213、406 和 341 个有效分蘖, 还有 8 个无效分蘖, 平均为 277 个有效分蘖; 植株性状出现中亲遗传或超亲遗传, 杂交种回交或自交, 结实率非常低, 只有 1% 和 0.1%。

**关键词** 柱穗山羊草; 粗山羊草; 硬粒小麦; 普通小麦; 远缘杂交

中图分类号 S603.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)02-00336-03

柱穗山羊草组 (*Cylindropyrum*) 柱穗山羊草 (*Ae. cylindrica* Host, CD, 2n=x=14) 自花授粉, 穗细长呈圆筒形, 分蘖较多, 成熟时小穗逐节脱落。分布在法国南部、意大利、南斯拉夫、匈牙利、罗马尼亚、保加利亚、阿尔巴尼亚、希腊、俄罗斯南部、阿富汗、伊朗、伊拉克北部、土耳其和叙利亚。

在中国农业科学院品种资源所保存的的粗山羊草中,

有 1 份材料 Y127 的穗型和生物学特征与粗山羊草类似, 是作为粗山羊草资源引进和保存的。笔者对柱穗山羊 Y127 的远缘杂交进行了研究。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 柱穗山羊草 Y127, 8 份粗山羊草, 普通小麦和 4 份硬粒小麦, 由中国农科院品种资源所提供, 材料见表 1。

表 1 试验所用的材料

材料	名称								
普通小麦	中国春	早穗 30	济南 17	莱州 953	955159	陕 229			
粗山羊草	Y2272	Y170	Y206	Y189	Y212	Y2270	Y207	Y192	
硬粒小麦	DR269	DR341	DR43	DR440					
柱穗山羊草	Y127								

## 1.2 方法

**1.2.1 柱穗山羊草的鉴定。**用细胞学及形态鉴定相结合的方法鉴定 Y127 种属。根尖细胞有丝分裂观察方法: 取种子置于 25℃ 发芽, 待露白时将其转移至 4℃ 处理 24 h, 然后放在 25℃, 待根长约 1~2 cm 时取根尖; 或在温暖的傍晚将田间生长的材料浇水, 第 2 天 9:00~10:00 取根尖。所取根尖用冰水处理 24 h, 用 3:1 固定液 (95% 乙醇: 冰醋酸) 固定 6 h 以上; 用浓度为 45% 的冰醋酸解析; 席夫试剂染色, 用浓度为 45% 的冰醋酸压片, 低倍显微镜检镜, 计数, 高倍显微镜观察, 照像。

**1.2.2 杂交。**粗山羊草与 Y127 进行正反交, 用普通小麦、硬粒小麦作母本分别与 Y127 杂交。

## 2 结果与分析

**2.1 柱穗山羊草 *Ae.cylindrica* Host) Y127 的鉴定结果** Y127 在田间的表现与粗山羊草不同, 对 Y127 进行了形态学及细胞学鉴定, 发现 Y127 具有 28 条染色体 (图 1)。专家根据 Y127 在田间表现及染色体组情况进行综合分析, 认为 Y127 是山羊草属 (*Aegilops* L.) 柱穗山羊草组 (*Cylindropyrum*) 柱穗山羊草 *Ae.cylindrica* Host, 染色体组是 CD, 2n=x=14)。

**2.2 Y127 与粗山羊草正反杂交结果** Y127 与粗山羊草正反杂交, 都可以形成胚。但与不同的粗山羊草材料杂交后, 胚乳形成的情况不同。以 Y127 为母本与粗山羊草正交, 授粉后种子膨大, 绝大多数杂交组合没有胚乳, 在 20 天后种

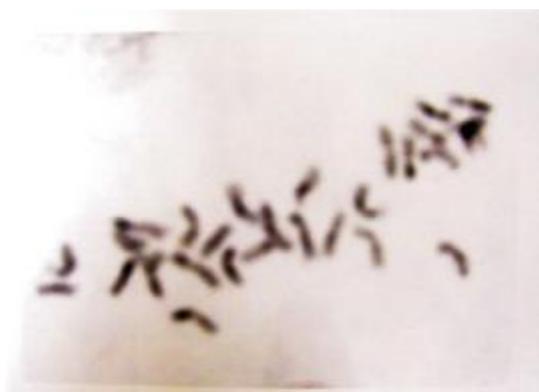


图 1 柱穗山羊草 Y127 根尖有丝分裂

子逐渐干瘪; 结实率低于以粗山羊草为母本的反交, 5 个杂交组合只有 1 个组合获得 1 粒杂交种子。反交试验绝大部分可以形成胚乳, 杂交的 3 个组合, 有 2 个组合获得杂交种子, 结实率很高, 其中 Y212×Y127 组合的结实率高达 25% (表 2)。

表 2 柱穗山羊草 *Ae.cylindrica* Host) Y127 与粗山羊草杂交结实情况

杂交组合	授粉穗数	授粉小花数	结实数	结实率//%
Y127×Y2272	3	42	1	2.38
Y127×Y170	3	50	0	0
Y127×Y206	3	42	0	0
Y127×Y2270	3	54	0	0
Y127×Y207	3	36	0	0
Y189×Y127	3	30	1	3.33
Y212×Y127	3	36	9	25.00
Y192×Y127	1	14	0	0
合计	22	304	11	3.62

**2.3 普通小麦与柱穗山羊草 (*Ae.cylindrica* Host) Y127 杂交结果** 普通小麦与柱穗山羊草 Y127 杂交, 授粉后种子膨大, 检测种子发现, 可以形成胚乳。检测胚的形成情况, 发现有一部分没有胚, 因此不能发芽, 另一部分能够形成正常的

基金项目 科技部 973 项目“小麦重要新基因的发掘与有效利用研究资助”(G1998010205); 河北省科技厅河北省科学技术研究与发展指导计划“微卫星标记小麦野生资源抗病基因及抗病基因的利用”(No.05225510)。

作者简介 张海泉 (1964-), 男, 辽宁锦州人, 博士, 副研究员, 从事分子生物学研究。

收稿日期 2006-10-13

胚,可以获得种子(表 3)。从表 3 可以看出,虽然染色体组不相同,染色体倍数不一致,但 Y127 与普通小麦杂交的结实率还是非常高的,平均为 47.12%,发芽数占结实数的比率为 31.22%。在各杂交组合中,C.S.×Y127 组合的结实率最高,为 64.94%;结实率最低的组合是 SW10×Y127,为 23.64%。授粉后成胚的比率最高的是莱州 953×Y127 组合,其发芽率(成胚率)为 48.00%;最低的是春麦 SW10 与柱穗山羊草 Y127 的杂交组合,只有 17.24%。

表 3 普通小麦与 Y127 直接杂交结实情况

杂交组合	授粉小花数	结实数 (结实率//%)	发芽数 (发芽率//%)
C.S.×Y127	174	113 (64.94)	21 (18.58)
SW10×Y127	368	87 (23.64)	15 (17.24)
早穗 30×Y127	86	54 (62.79)	22 (40.74)
济南 17×Y127	88	51 (57.95)	19 (37.25)
莱州 953×Y127	82	50 (60.98)	24 (48.00)
955159×Y127	86	51 (59.30)	23 (45.10)
陕 229×Y127	88	52 (59.09)	19 (36.54)
合计	972	458 (47.12)	143 (31.22)

2.4 硬粒小麦与 Y127 杂交结果 硬粒小麦与 Y127 杂交,授粉种子正常膨大,也可以获得种子,但绝大多数杂交种子不能发芽。检查收获后的种子发现,DR269×Y127 可以形成胚但无胚乳;DR341×Y127 和 DR440×Y127 组合一部分形成胚乳但没有胚,另一部分没有胚乳但生成了胚;DR43×Y127 组合形成胚和胚乳,正常结实(表 4)。

表 4 硬粒小麦与 Y127 杂交结果

杂交组合	授粉小花数	种子个数	备注
DR269×Y127	116	68	无胚乳
DR341×Y127	72	40	有乳无胚 23 个,有胚无乳 17 个
DR43×Y127	28	24	正常
DR440×Y127	270	183	有胚乳 122 个,无胚乳 61 个

2.5 中国春小麦与 Y127 杂交 F1 代表现 中国春小麦与 Y127 杂交的 F<sub>1</sub> 代的外部形态(图 2)介于中国春×Y127 之间。亲本中国春无芒,Y127 有芒,杂种 F<sub>1</sub> 出现分化,有一部分有芒,有一部分无芒,其中有芒率为 39.77%;穗部较长,超出双亲的穗长,平均穗长为 13.75 cm;穗型与双亲都不同,比中国春细,比 Y127 粗,属于中亲类型(图 4);F<sub>1</sub> 代穗部护颖和外颖坚硬,硬度比亲本 Y127 还高;分蘖极多,5 株 F<sub>1</sub> 代苗,分别有 303、122、213、406 和 341 个有效分蘖,还有 8 个无效分蘖,平均为 277 个有效分蘖。杂种苗丛生直立,茎秆坚硬,类似中国春小麦,与父本 Y127 丛生匍匐不同(图 3)。

2.5.1 中国春/Y127 杂交组合的自交和回交(表 6)。套袋回



图 2 中国春小麦与柱穗山羊草 Y127 杂交 F<sub>1</sub> 代(右数 1 和 2)



图 3 C.S.×柱穗山羊草 Y127 F<sub>1</sub> 代苗



图 4 柱穗山羊草 Y127、中国春小麦及它们的后代 F<sub>1</sub> 代穗部

交,每个小穗留 2 朵小花,捻抖授粉。从表 6 可以看出,回交的结实率非常低,有 2 个回交组合甚至没有结实。在获得种子所用的回交亲本,都是春麦品种,用不同的回交亲本,结实率也不相同,结实率相差极大。其中 C.S./Y127//PI29 组合结实率最高,为 4.17%,用冬麦品种陕 229 回交不结实。平均回交结实率为 1.00%。

表 5 中国春×Y127 杂交种表现型

	平均穗长//cm	分蘖个	护颖和外颖	穗部粗度	植株形态
中国春小麦	8.50	3-5	软	最粗	直立,茎秆坚硬
柱穗山羊草 Y127	11.50	7-15	较硬	最细	丛生匍匐,茎秆柔软
中国春×Y127 杂种	13.75	122~406	非常坚硬	中间	丛生直立,茎秆坚硬

表 6 中国春×Y127 回交情况统计

回交组合	回交穗数	回交小花数	收获种子数	结实率//%
C.S./Y127//C.S.	325	9 406	86	0.91
C.S./Y127//辽春 10	37	1 094	16	1.46
C.S./Y127//早穗 30	6	90	0	0
C.S./Y127//PI29	7	168	7	4.17
C.S./Y127//SW10	4	136	4	2.94
C.S./Y127//陕 229	14	418	0	0
合计	392	11 312	113	1.00

2.5.2 中国春/Y127 杂交组合 F<sub>1</sub> 代自交。中国春/Y127 杂交后代 F<sub>1</sub> 套袋自交,F<sub>1</sub> 代花药正常发育,能够散粉,但结实率非常低。统计 606 个穗,27 270 朵小花,只得到 28 粒种子,自交结实率为 0.1%。自交种子籽粒饱满,粒型较大,超

过双亲。有芒穗数为 241,有芒率为 39.77%,平均穗长为 13.75 cm。

### 3 结论与讨论

前人经过研究认为,远缘杂交可以获得杂种<sup>[1-4]</sup>。董玉琛等用波斯小麦(PS5)( $2n=28, AABB$ )和硬粒小麦(DR147)( $2n=28, AABB$ )与山羊草( $2n=14, DD$ )杂交,其F<sub>1</sub>代染色体可以自然加倍,形成双二倍体( $2n=42, AABBDD$ )<sup>[6]</sup>。董玉琛认为有2种可能,第1种,在减数分裂时有时不发生第1次分裂,只发生第2次分裂,形成可育的配子;第2种,在减数分裂时染色体不对等分离,产生败育和可育的配子。李锁平、刘大钧在节节麦×硬粒小麦——簇毛麦双二倍体杂种中也报道过同样的现象<sup>[6]</sup>。冯海生在对栽培2粒小麦( $2n=28, AABB$ )和大赖草( $2n=28, JJNN$ )的杂交研究中发现,F<sub>1</sub>代自交可育,且后代出现了与母本类型的植株。认为是在减数分裂过程中,28个单价体移向赤道板,2个物种的染色体不联会,在后期I各自移向2极,然后再进行第2次分裂,形成n(小麦染色体)-n(赖草染色体)型的染色体分配,最后形成体积均等的4分体,发育成可育配子<sup>[7]</sup>。温度等外界环境也可以影响远缘杂交的结实率。李集临对宽叶吊兰减数分裂进行观察,认为在低温影响下,染色体的行为不正常,出现染色体桥、落后染色体、不均等分裂、染色体断片和染色体数目的变化等现象;中期I亦有偏极分裂现象,即染色体分布于细胞的一极,移向一极的染色体,有时在细胞的一侧,沿同一方向分裂2次,形成4个成直线排列的子细胞;有时形成1个具有双倍染色体与1个没有染色体的子细胞,双倍染色体的细胞能分裂,并可能形成多倍体<sup>[8]</sup>。齐津在黄花烟草(*Nicotiana rustica*)×粉蓝烟草(*N. glauca*)和粉蓝烟草×花烟草(*N. alata*)中发现,杂种减数分裂时,由于遇到温度骤变而产生双二倍体和倍半二倍体<sup>[9]</sup>。

粗山羊草、硬粒小麦和普通小麦与柱穗山羊草Y127杂交,可以获得种子,但有一部分种子发育不正常,出现有胚无乳或有乳无胚的现象,说明染色体组的不同使种子发育受到影响。普通小麦与Y127的后代的一些农艺性状有的是中亲遗传,有的是超亲遗传。例如,分蘖数极多,5株平均分蘖个数为277个,穗长也比双亲长,平均穗长为13.75 cm,护颖和外颖的坚硬度超过双亲,直立丛生,茎秆坚硬。

中国春小麦×柱穗山羊草Y127杂种F<sub>1</sub>代用不同的亲本回交,其结实率不同,可能与所用的材料和自然环境有关。杂种F<sub>1</sub>代可以形成花药,能够正常散粉,但花粉质量不高。无论是自交还是回交,结实率极低,只有1%和0.1%,回交和自交后代F<sub>2</sub>、BC<sub>1</sub>自交,育性还是没有提高,虽然花

药发育正常,但无花粉或花粉败育。可能是因为柱穗山羊草染色体组是CD,无论与普通小麦还是与硬粒小麦、粗山羊草杂交,染色体都不能正常同源配对。回交的结实率高低与所用的回交亲本有直接关系,这可能与回交亲本花粉活力强弱有关。回交亲本花粉活力弱,花粉管不能伸进胚囊中,精子不能与卵子和极核结合,卵子和极核发育不正常及远缘杂交生理不协调<sup>[2,5]</sup>等诸多因素有关。远缘杂交由于亲缘关系较远,染色体差异较大,造成花粉败育。因为柱穗山羊草Y127的染色体组是CCDD,与普通小麦中国春(AABBDD)杂交后的F<sub>1</sub>代,只有D染色体组能够同源配对,其余不能配对,所以减数分裂后期I和末期I时,染色体不能均衡分配到2极,绝大多数不能形成正常的卵子和精子,就会出现结实率降低的现象。根据雄性不育亲缘关系假说:遗传结构的变异引起个体间生理生化代谢上的差异,与个体间亲缘关系的远近呈正相关。亲本间亲缘关系越远,杂交后的生理不协调程度也越大,当这种不协调达到一定程度,就会导致植株代谢水平下降,合成能力减弱,分解大于合成,使花粉中的生活物质(如蛋白质、核酸)减少,最终导致花粉的败育。柱穗山羊草与中国春小麦杂交的F<sub>1</sub>代自交结实率极低的一个主要原因是花粉败育。

由于硬粒小麦和Y127都是四倍体,两者染色体数目相同,杂交形成胚的比例较高,但获得的种子情况各不相同。有的组合不能形成胚乳(DR269×Y127);有的组合形成胚乳但无胚及有胚无乳(DR341×Y127);有的组合有乳有胚和有胚无乳(DR440×Y127)。原因还有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] 刘大钧. 硬粒小麦——簇毛麦双二倍体[J]. 作物学报, 1986, 12(3): 155-162.
- [2] 许树军, 董玉琛. 波斯小麦×节节麦杂种F<sub>1</sub>直接形成双二倍体的细胞遗传学研究[J]. 作物学报, 1989, 15(3): 251-259.
- [3] MAAN S S, SASAKUMA T. Fertility of amphihaploids in triticeinae[J]. The Journal of Heredity, 1977, 68: 87-94.
- [4] ISLAM A K M R, SHEPHERD K W. Meiotic restitution in wheat-Barley hybrids[J]. Chromosoma (Berl.), 1980, 79: 363-372.
- [5] 董玉琛, 许树军, 周荣华, 等. 小麦属间杂种染色体自然加倍种质的发现与利用[M]//胡含, 王恒立. 植物细胞工程与育种. 北京: 北京工业大学出版社, 1990: 171-177.
- [6] 李锁平, 刘大钧. 节节麦×硬粒小麦——簇毛麦双二倍体杂种F<sub>1</sub>可孕配子形成途径的细胞学分析[J]. 遗传学报, 1993, 20(1): 68-73.
- [7] 冯海生. 小麦远缘杂交中原始类型的产生[J]. 麦类作物学报, 2000, 20(S): 59-61.
- [8] 李集临. 低温对于宽叶吊兰减数分裂的影响[J]. 植物学报, 1965, 13(3): 185-197.
- [9] 齐津. 远缘杂交是进化的因素和创造植物新种、类型和品种的极重要方法[M]//杜比宁. 植物育种的遗传学原理. 北京: 科学出版社, 1974: 78-98.