

中国春小麦(6x) × 苏联球茎大麦(4x) 属间杂交的研究初报*

汪丽泉 朱汉如 梁竹青 郑毅仁

(浙江农业大学)

管启良 袁妙葆

(杭州大学生物系)

提 要

本试验选用抗病性较强的球茎大麦($2n=28$)为父本,以普通小麦($2n=42$)为母本,进行属间杂交,授粉24小时后,在母本柱头上滴赤霉酸,促使幼胚生长,以中国春单体5B为母本杂交,获得了少量结实的杂交种子;以中国春为母本的,则结合离体培养杂种幼胚,以获得属间杂种。杂种自花不育,而以中国春单体5B与之回交,获得三株回交一代杂种(B_1F_1)。杂种 F_1 与 B_1F_1 代的植株性状有明显的杂种优势;二者穗部形态结构基本相似,均为穗形细长、有芒似父本,而小穗之多花性则似母本; F_1 和 B_1F_1 与其父本球茎大麦一样对赤霉病和白粉病等严重的小麦病害具有抗性。观察其染色体数, F_1 在24~30之间,而 B_1F_1 染色体数在45~49之间(其中大多数终变期细胞有20~21个配对的二价体,3~7个单价体)。 B_1F_1 代自交与回交均有部分结实。预计经过继续自交和回交,可能在后代中获得抗病的小麦异附加系。

引 言

小麦是我国南方重要的冬季粮食作物。由于小麦在南方高温多雨条件下成熟,容易感染赤霉病、白粉病等严重病害,影响产量和品质。为了增强小麦的抗病性,本试验选用了抗病性较强的球茎大麦(*Hordeum bulbosum*)与普通小麦(*Triticum aestivum*)品种中国春进行杂交,获得了属间杂种。目的是试图将球茎大麦的抗病基因导入普通小麦,以育成抗病的优良小麦新品种。

从1904年开始国外就有人从事大、小麦属间杂交试验(Farrer, 1904; Pridhaw, 1914; Waterhouse, 1930; Gordon和Raw, 1932; Ahokas, 1970)^[2],但都没有确凿成功的报道;直到Kruse(1973)^[5]采用植物激素赤霉酸处理母本柱头和幼胚离体培养的方法,才获得属间杂种植株,但杂种自交不育,用秋水仙素处理加倍亦不成功。

* 本试验亲本材料中国春单体5B小麦种子由中国农业科学院作物所提供;球茎大麦种子由中国科学院遗传研究所提供,均此致谢。

Islam等(1975)^[2]采用Kruse的技术,得到二棱大麦(*H. distichon*)×中国春的属间杂种,杂交结实率为5.8~15.9%,但未选育出理想的后代。以后Islam等(1978)^[8]改以小麦为母本与大麦杂交,创造了具小麦细胞质,在小麦正常染色体组中附加个别大麦染色体的6个异附加系。此外,英国剑桥植物育种研究所Barclay(1975)^[1]、Snape和Simpson(1978)^[8]先后报道用二倍体普通小麦品种与球茎大麦杂交,获得的杂种均为植株形态似母本小麦,染色体数为21的单倍体,而未得到真正的小麦与球茎大麦的属间杂种。

国内进行大麦与小麦远缘杂交的单位,有北京市怀柔县北房公社小辛庄大队科技组^[9]、南开大学生物系^[10]、河北省沧州地区农科所、江苏省盐城地区农科所、贵州农学院农学系等,有的得到属间杂种的幼苗,有的得到属间杂种分离的后代,但没有以球茎大麦为亲本。中国科学院遗传所正在开展普通小麦与球茎大麦的杂交研究工作。

本文是将几年来所获属间杂种(F_1)和回交一代(B_1F_1)的植株性状,染色体变化和杂种育性、抗病性作一报道。

材料与 方法

本试验于1978~1981年在杭州浙江农业大学农作物试验场进行。用普通小麦品种中国春($2n=6x=42$)和单体5B($2n=41$)两种材料为母本,用苏联球茎大麦($2n=4x=28$)为父本进行杂交。将亲本种子分别播种于盆钵和网室的田间苗床上,待其自然通过春化阶段后,先后移入温室(20°C 左右)内加光(每天见光24小时),以调节两亲本的花期。母本于开花前2~3天人工去雄,2~3天后授以大量球茎大麦的新鲜花粉1~2次,授粉后24小时在母本柱头上滴以75 ppm的赤霉素,每天一次,共2~3次,促使结实的幼胚发育,授粉后约半个月左右,如发现结实的颖果开始转黄并停止生长,此时即将麦穗采下,用10%漂白粉溶液消毒20分钟,然后按无菌操作程序将有胚而缺胚乳的颖果上的幼胚剥离下来,接种于装有Morrison培养基^[7]的试管中,置于 $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ 条件下培养。当幼苗长出1~2片叶、并发出根后,将试管移入 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中越冬(每周从冰箱中取出见光一次)。九月下旬气温下降后,将试管中的杂种幼苗取出,移栽于盆钵中,精细培育管理,促其迅速成活,健壮生长。

本试验以中国春单体5B为母本的,其杂交结实的颖果能正常灌浆成熟的,则未给予幼胚离体培养,待种子成熟后进行单收单藏。1980年用中国春单体5B小麦为父本与属间杂种(F_1)进行回交,获得回交一代杂种(B_1F_1)的种子。将获得的 F_1 或 B_1F_1 种子于当年10月中旬单粒播种于消过毒的细砂盆中发芽,发芽后,多次进行薄层培土和淡施少量腐熟人尿,促其迅速生长,待长出2~3个分蘖后,用0.1~0.05%秋水仙素加2%二甲基亚砷等量混合液处理杂种 F_1 幼苗1~3昼夜,促使染色体加倍,然后洗净移入装有营养土的盆钵中,加强培育管理。次年春暖时将杂种植株分成两半,一半种于田间苗床,一半留种盆中,精细管理,促使多长分蘖,孕穗期剥取其幼穗,用Carnoy氏液固定,醋酸洋红染色、压片、镜检花粉母细胞,选取适当图像,拍摄染色体照片。

为了继续进行回交和自交,在 B_1F_1 植株抽穗时,将其部分麦穗套袋自交,其余的麦穗分别用球茎大麦和中国春5B小麦进行回交,授粉1~2次。最后,计算其自交和回

交的结实率。

试验结果

(一) 杂交结实率与幼胚离体培养结果

用中国春单体5B小麦为母本与苏联球茎大麦在温室与网室共杂交68穗, 获得杂交种子35粒, 杂交结实率为2.03%(表1)。但35粒杂交种子中只有14粒具胚, 且其胚乳均不饱满。当年秋播后, 仅2株成长为植株, 其余或未出苗, 或中途夭亡, 成株率为5.7%。在温室另用24穗中国春为母本杂交的, 有11粒颖果的子房膨大, 杂交结实率为1.99%。这批结实的颖果约过半月左右即见转黄, 立即将幼胚剥下, 进行离体培养, 获得杂种幼苗2株, 其中1株不久转白死亡, 仅1株发根后, 置于冰箱中越冬, 占接种胚数的9.1%。

表1 中国春小麦 × 苏联球茎大麦
属间杂交的结实率和胚培成株率

母本	杂交穗数	授粉小花数	结实数	结实率(%)	胚培粒数	成株数	成株率(%)
中国春单体5B	68	1722	35	2.03	—	2	5.7
中国春小麦	24	522	11	1.99	11	1	9.1

(二) 属间杂种 F_1 和 B_1F_1 的自交和回交结实率

1979年获得中国春单体5B小麦 × 苏联球茎大麦属间杂种幼苗2株, 经过精细培育, 分蘖后共抽23个麦穗, 将其中7个麦穗套袋自交, 16个麦穗分别用父、母本回交。从表2可知属间杂种 F_1 自交完全不育, 因其雄蕊是完全不裂药的; 用秋水仙素处理加倍也未获得成功。用中国春单体5B小麦回交, 获得回交一代(B_1F_1)种子6粒, 占回交结实率的0.59%。其种子外形与 F_1 种子相似, 都比双亲的种子为大(表3), 呈暗灰褐色, 如扭曲长橄榄形(图版I.5)。这6粒种子中, 1粒早期停止发育, 1粒无胚, 1粒发育不良, 只有3粒发育正常。1980年将3粒正常的种子种下后, 均能正常发芽、生长成株, 共抽出59个麦穗, 观察到59个麦穗中绝大多数是不裂药的, 只有穗中部个别小花的花粉是能育的。将这59个麦穗分别进行自交和回交, 其中温室自交13穗约890朵小花; 回交22穗约1400朵小花, 各得结实种子3粒, 自交结实率为0.33%; 回交结实率为0.21%。在田间自交9穗, 回交15穗(表2), 自交结实38粒, 结实率为5.93%; 回交结实55粒, 结实率为5.89%。共获得发育程度不同的自交种子41粒与回交种子58粒。

表2 (中国春单体5B小麦 × 苏联球茎大麦) F_1 和 B_1F_1 的自交和回交结实率

组合	杂交穗数	授粉小花数	结实数	结实率(%)	成株数
F_1 自交	7	711	0	0	0
F_1 × 中国春单体5B	16	1017	6	0.59	3
B_1F_1 自交(田间)	9	640	38	5.93	—
B_1F_1 × 中国春单体5B等(田间)	15	934	55	5.89	—

(三) 属间杂种 F_1 和 B_1F_1 的植株性状

对属间杂种 F_1 和 B_1F_1 以及两亲本的植株性状作了比较(表3), 杂种 F_1 和 B_1F_1 的茎高、穗长、每穗小穗数和籽粒大小均有明显的杂种优势; 二者穗部形态结构基本相同, 均为穗形细长、有芒似父本(图版I.4), 而小穗之多花性则如母本(图版I.6); 唯芒较父本为短, B_1F_1 又较 F_1 为短(表3); B_1F_1 的旗叶特长, 明显超过两亲和 F_1 。此外, 经过田间和温室的观察, 发现 F_1 和 B_1F_1 与其父本球茎大麦一样对赤霉病和白粉病

具有抗性。

表3 中国春5B小麦×苏联球茎大麦属间杂种 F_1 和 B_1F_1 的植株性状与两亲的比较

亲本与后代	茎高 (厘米)	穗长 (厘米)	每穗平均 小穗数	粒长 (毫米)	芒长 (厘米)	旗叶长度 (厘米)
中国春单体5B(♀)	78.5	6.5	17	5.9	0	31.0
苏联球茎大麦(♂)	77.1	10.5	22(×3)	6.7	3.0	36.1
F_1	90.1	13.8	26	7.4	1.5	31.5
B_1F_1	109.1	13.5	32	7.5	0.8	42.7

(四)属间杂种 F_1 和 B_1F_1 的染色体观察

对属间杂种 F_1 和 B_1F_1 的染色体构型和数目进行了观察。观察了杂种 F_1 的109个中期I细胞,其染色体数目分布在24~30条(一个二价体算作二条染色体)之间,其中以中国春单体5B小麦为母本的 F_1 的85个细胞中,有20个细胞有28条染色体,24个细胞有27条,25个细胞有26条,10个细胞有25条,6个细胞有24条;表明少则有一组7条染色体,多则有11条染色体消失了;其中期I的染色体构型有 $16I + 5I$, $21I + 2I$ 和 $18I + 2I + 1W$ 等。也有全部是单价体的(图版I.7)。

从回交一代(B_1F_1)的观察,其染色体数目分布在45~49条之间,其56个终变期细胞中大多数有20个或21个配对的二价体和3~7条没有配对的单价体,这些单价体有的以单个状态存在;有的与其它染色体相粘连;有的很小,似乎是尚未完全消失的染色体残余(图版I.8,图版I.9)。本组合中之母本中国春小麦为六倍体 $2n = 42$ (图版I.1);中国春单体5B小麦为 $2n = 41$ (图版I.3);父本苏联球茎大麦为四倍体 $2n = 28$ (图版I.2)。从理论上分析,本组合属间杂种 F_1 的染色体数应为 $2n = 35$ (其中21条来自母体,14条来自父本);如加倍成功,其染色体数应为 $2n = 70$,而实际观察到的均少于35条,说明不但染色体没有加倍成功,而且其中部分染色体已经消失。根据加拿大Kasha和Kao(1970)[6]和丹麦Jensen(1975)[4]等的报道,利用球茎大麦杂交可诱导大麦单倍体;英国剑桥植物育种研究所(1975~1978)[1,8]有关利用球茎大麦杂交诱导小麦单倍体的报道,都说明球茎大麦的染色体在杂交过程中有全部消失的特点;但从本试验中国春小麦×苏联球茎大麦所获属间杂种的外部形态与内部细胞染色体数目的变化来看,球茎大麦的染色体并未完全消失,而杂种外部形态亦兼具两亲的性状,说明本试验杂交获得的是真正的属间杂种。

再从以中国春单体5B小麦为父本与属间杂种 F_1 进行回交所获杂交一代(B_1F_1)的染色体情况来看,是中国春单体5B小麦雄配子中的ABD染色体组与杂种 F_1 雌配子中相应的染色体组配对,构成20个或21个二价体;剩下的3~7条单价染色体似应为没有消失的球茎大麦染色体。

讨 论

(一)关于中国春小麦×苏联球茎大麦杂交后代的抗病性问题

球茎大麦是大麦属(*Hordeum*)一个抗病性较强的多年生野生种。经过浙江省农

科院麦病组在杭州接种检定, 球茎大麦对小麦丛矮病是免疫的, 对大麦黄花叶病是高抗的; 在杭州栽培数年, 未发现赤霉病, 是麦类作物抗病育种较好的抗原。本试验以球茎大麦为父本与普通小麦品种中国春杂交, 发现其杂种 F_1 和以中国春单体5B小麦回交获得的回交一代(B_1F_1)在高温多湿温室条件下培育的植株, 与其父本球茎大麦一样不感染一般普通小麦品种在温室中严重感染的白粉病; 在田间也未发现有赤霉病等严重病害。关于杂种后代的抗病性方面, 今后尚需继续接种检定, 加强抗病性的研究。

(二)关于中国春单体5B小麦与苏联球茎大麦杂交后代体内球茎大麦染色体的消失和保留问题

中国春单体5B小麦($2n=41$)的大孢子母细胞经减数分裂可产生 $n=20$ 和 $n=21$ 两种雌配子, 而苏联球茎大麦($2n=28$)的花粉母细胞只能产生 $n=14$ 一种雄配子, 两者杂交所产生的杂种 F_1 , 其染色体应为 $2n=35$ 和 $2n=34$ 两种, 据1980年对本组合的杂种 F_1 花粉母细胞中期I的观察, 在85个细胞中染色体数都不足34和35条, 而是占其中23.5%的细胞有28条, 占28.2%的细胞有27条, 占29.4%的细胞有26条, 其余18.9%的细胞只有25或24条; 表明其中有7~11条染色体已经消失; 在存留的24~28条染色体中, 二价体数目最多的有5个, 少的1~2个, 个别细胞有1个三价体; 这些情况可能是5B染色体缺失后诱发的部分非同源染色体配对的结果。至于杂种体内已消失的7~11条染色体究竟是小麦的还是球茎大麦的? 从回交一代(B_1F_1)的终变期细胞有20~2¹个配对二价体的情况来看, 充分证明杂种 F_1 细胞内所消失的是球茎大麦的染色体; 剩下的3~7条单价体是保留下来的球茎大麦染色体。从后期I的分离情况来看, 二价体趋向两极时, 球茎大麦染色体尚能随着到达两极, 但分离不均等, 有的球茎大麦染色体在后期I着丝点过早分裂染色单体, 形成25~28, 24~26, 25~29等(图版I.10)不均等分离; 部分后期I细胞出现染色体落后和染色体桥, 以及二分孢子和四分孢子, 有数目不等的小核, 说明球茎大麦染色体有可能被排除于子核之外。由于回交一代(B_1F_1)植株尚能产生有功能的配子, 因此自交可部分结实。至于球茎大麦染色体在后代能否继续保留或不完全被排除, 尚需在后代继续观察, 如能继续少量保留, 预计通过继续自交和回交, 可能获得个别球茎大麦染色体附加于小麦染色体组的杂种后代, 即为小麦异附加系。

参 考 文 献

- [1] Barclay, I.R.: 1975. High frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum*) by chromosome elimination. *Nature*, 256: 410~411.
- [2] Islam, A.K.M.R. et al; 1975. Addition of individual barley chromosomes to wheat. *Barley Genet.* III: 260~270.
- [3] Islam, A.K.M.R. et al; 1978. Production and characterization of wheat-barley addition lines. *Wheat Genet.* V: 365~371.
- [4] Jensen, C.J.: 1975. Barley monoloids and doubled monoloids: Techniques and Experience. *Barley Genet.* III: 316~345.
- [5] Kruse, A.: 1973. *Hordeum* x *Triticum* hybrids. *Hereditas* 73: 157~161.
- [6] Kasha, K.J. and K.N. Kao.: 1970. High frequency of haploid production in barley. *Nature*, 225: 874~876.
- [7] Morrison, J.W. et al; 1959. Cytogenetic studies in the genus *Hordeum* II. interspecific and intergeneric cross. *Can. J. Plant Sci.* 39: 375~383.
- [8] Snape, J.W. and E. Simpson: 1978. Crossability of wheat with *Hordeum bulbosum*. *Plant Breeding Institute, annual report, 1978, Cambridge, England.* p. 132~133.
- [9] 北京市怀柔县北房公社小辛庄大队科技组: 1977, 关于大小麦新品系培育情况介绍, 农作物远缘杂交育种, 中国科学技术情报研究所, 67~69页
- [10] 周之杭等: 1979, 大麦和小麦杂种胚的离体培养及杂种幼苗的形态和染色体观察, 遗传学报, (3): 343~348.

后 附 图 版 I 说 明

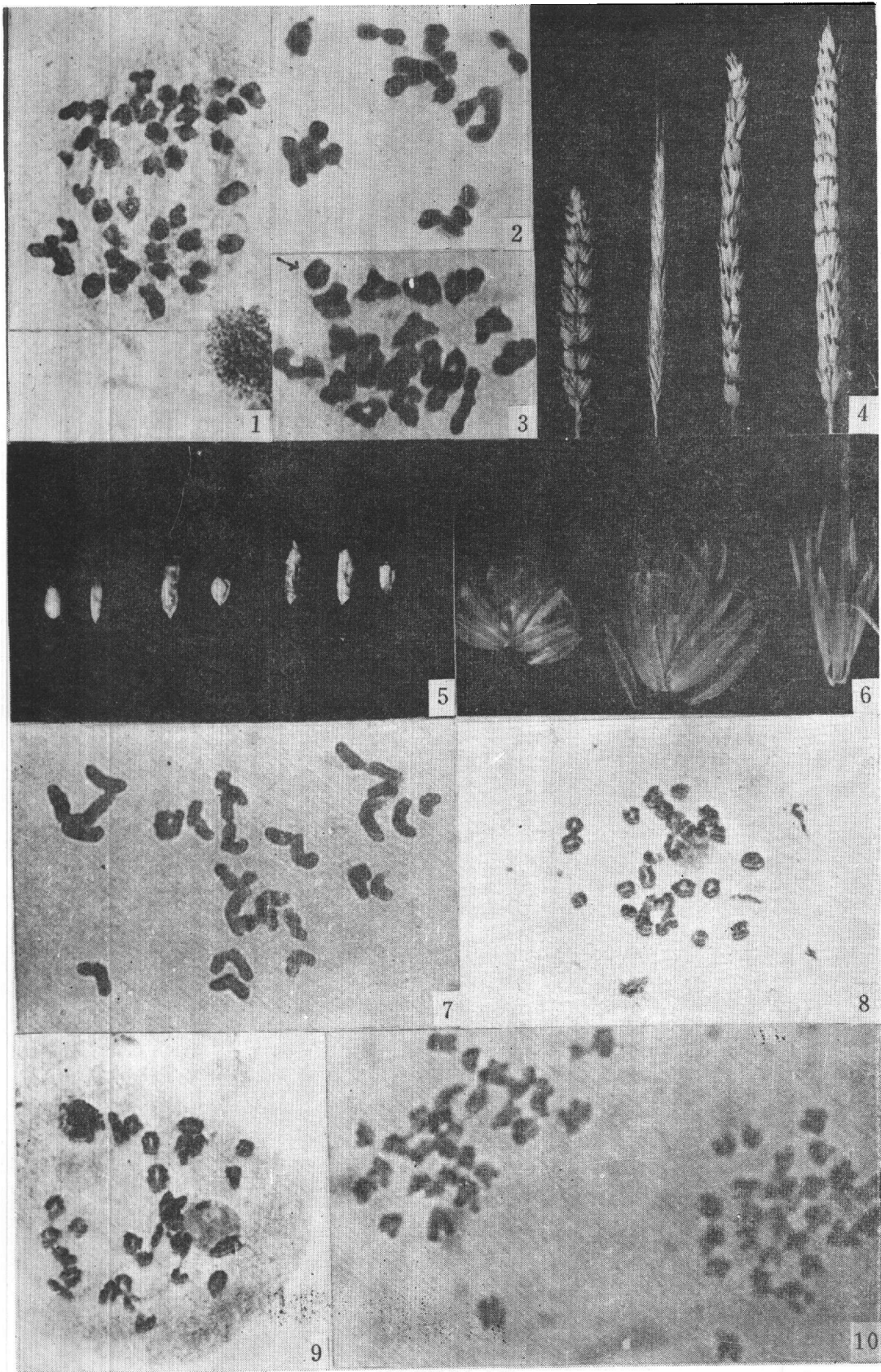
1. 母本中国春小麦花粉母细胞后期 I 染色体 21—21 分离, 共 42 条染色体。
2. 父本苏联球茎大麦中期 I 14 个二价体, 共 28 条染色体。
3. 母本中国春单体 5B 小麦中期 I $20\text{I} + 1\text{I}$, 共 41 条染色体 (箭头示单价体)。
4. 亲本及其杂种后代的穗型。自左至右为:
母本中国春小麦, 父本苏联球茎大麦, 杂种 F_1 , 杂种 B_1F_1 。
5. 亲本及其杂种后代的籽粒, 自左至右为:
第 1 粒母本中国春小麦, 第 2 粒父本苏联球茎大麦, 第 3—4 粒杂种 F_1 , 第 5—7 粒杂种 B_1F_1 。
6. 亲本及其杂种 F_1 的小穗结构: 左为母本中国春小麦, 中为杂种 F_1 , 右为父本苏联球茎大麦的三联小穗。
7. 杂种 F_1 花粉母细胞中期 I 28 条染色体, 已消失 7 条染色体。
8. 杂种 B_1F_1 花粉母细胞终变期, 示 21 个二价体和 6—7 个单价体。
9. 杂种 B_1F_1 终变期 21 个二价体和 7 个单价体 (有的单价体之间有粘连)。
10. 杂种 B_1F_1 后期 I 29—25 不均等分离 (因后期 I 单价体的两条染色单体过早分离, 而使染色体数目增加)。

A PRELIMINARY STUDY ON INTERGENERIC CROSSES BETWEEN
Wheat variety AR. CHINESE SPRING (6x)
AND HORDEUM BULBOSUM (4x)

Wang Liquan Zhu Hanru Liang Shuqing Zheng Yiren
(*Zhejiang Agricultural University*)
Guan Qiliang, Yuan Miaobao
(*Biological Department, Hangzhou University*)

ABSTRACT

Some intergeneric hybrids between *wheat variety* Chinese spring ($2n=6x=42$) and *H. bulbosum* ($2n=4x=28$) were obtained by dripping GA_3 to the wheat stigmas one day after pollination and then by culturing the young embryos in vitro 12-16 days later. It was found that the hybrids were self-sterile, while in backcross with monosomic 5B of Chinese spring as the male parent, three B_1F_1 plants were obtained. The morphological characters of F_1 and B_1F_1 manifested an apparent hybrid vigor. Both the shape and structure of spikes of B_1F_1 were similar to those of F_1 , the long and awned spikes were like the male parent, and the polyanthous spikelets like the female parent. The awns of F_1 and B_1F_1 were shorter than those of their male parent. The flag leaves of B_1F_1 were longer than those of F_1 and their parents evidently. Furthermore, both of F_1 and B_1F_1 showed resistance to *Fusarium* spp. and *Erysiphe graminis* as their male parent. There were 24-30 chromosomes in a number of pollen mother cells of F_1 at metaphase I, while there were 45-49 chromosomes (20-21 pairing disomes and 3-7 monosomes) in most pollen mother cells of B_1F_1 at diakinesis. when B_1F_1 was self or backcrossed to either parent, a partial fertility was obtained. It is expected that an alienaddition line of wheat may be obtained by selfing and backcrossing through generations.



图版说明见100页