

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2012.01378

寒地多年生小麦的选育与细胞遗传学分析

赵海滨^{1,2} 张延明^{1,2} 史春龙¹ 闫小丹¹ 田超¹ 厉永鹏¹ 李集临^{1,*}

¹ 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 / 黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150025; ² 黑龙江省农业科学院作物育种研究所, 黑龙江哈尔滨 150086

摘要: 通过杂交方法获得八倍体小偃麦与中间偃麦草杂种后代, 对该杂交后代进行了形态学观察和细胞遗传学分析。杂交当代结实率为 10%~39%; F_1 表现为两亲中间型, 多年生, 抗小麦多种病害, 生长的第 2 和第 3 年结少量种子, 结实率为 2%~3%; F_2 分离复杂, 出现八倍体小偃麦类型和中间偃麦草类型的多年生材料; F_3 和 F_4 代出现一些普通小麦类型的多年生小麦, 表现多分蘖、多小穗、抗病、抗寒。 F_1 根尖有丝分裂中发现 49 条染色体, 在减数分裂中期 I 形成 14~17 个二价体和 4~21 个单价体; 而 F_2 和 F_3 代减数分裂时形成 14~21 个二价体和 9~17 个单价体。杂种后代结实率逐代恢复。 F_1 植株已在田间自然条件下生长 5 年。从 F_4 代中获得了 4 个植株高大(140 cm)、分蘖丰富(60 个以上)、小穗多(25~30 个)的饲草型多年生小麦株系, 它们不仅具有良好的刈割再生能力, 而且兼抗多种病害, 抗寒性好, 草质与中间偃麦草相似。还获得了一些普通小麦类型的多年生株系, 有待进一步改良。这些结果为多年生小麦的遗传研究和利用提供了信息和材料基础。

关键词: 中间偃麦草; 多年生小麦; 形态特征; 细胞遗传学

Development and Cytogenetic Analysis of Perennial Wheat in Cold Region

ZHAO Hai-Bin^{1,2}, ZHANG Yan-Ming^{1,2}, SHI Chun-Long¹, YAN Xiao-Dan¹, TIAN Chao¹, LI Yong-Peng¹, and LI Ji-Lin^{1,*}

¹ Key Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang Province / College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China; ² Institute of Crop Breeding, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China

Abstract: The morphology of the progenies from octoploid *Trititrigia* × *Thinopyrum intermedium* and their chromosomal behaviours during meiosis were observed to provide theoretical and material bases for developing perennial wheat. The seed-setting rate of contemporary hybrid was 10–39%, and the F_1 plants showed an intermediate type of parents with perennial characteristic and resistance to multiple diseases. During the second and third growing year, the F_1 plants produced a small amount of seeds with setting rate of 2–3%. The F_2 plants separated complexly, which involved the types of *Trititrigia* and *Thinopyrum intermedium*. The F_3 and F_4 generations tended to produce some types of common wheat but with perennial characteristics, such as rich tillers, prolific spikelets, and resistances to diseases and coldness. In F_1 generation, 49 chromosomes were observed in root tip cells, which formed 14–17 bivalents and 4–21 univalents at metaphase of meiosis I. In F_2 and F_3 generations, the numbers of bivalent and univalent at meiosis were 14–21 and 9–17, respectively. Seed-setting rate of the perennial hybrids was recovered with the increase of generation, and the F_1 plants could survive in natural environment for five years. We have obtained four perennial wheat lines in forage type from the F_4 generation. These lines showed tall plant height (140 cm), abundant tillers (more than 60), rich spikelets (25–30), resistance to multiple diseases, tolerance to coldness, and high regenerative capability after harvest. Besides, some common wheat-type perennial lines were also attractive, which requires further improvement.

Keywords: *Thinopyrum intermedium*; Perennial wheat; Morphological characteristics; Cytogenetics

多年生作物对水分和养分利用效率高, 有发达的根系可拦截、保留和利用更多的降水, 防止水土流失, 改良土壤结构, 对表层土壤与肥料的保持能力强^[1]。一年生作物, 如玉米、水稻和小麦, 施用的

本研究由国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2011AA10010205), 黑龙江省博士后基金(LBH-Z10034), 黑龙江省高校科技创新团队研究计划, 哈尔滨师范大学科技创新团队研究计划(KJTD-2011-2)和哈尔滨师范大学青年学术骨干资助计划项目(KGB200918)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 李集临, E-mail: jilinlee2004@yahoo.com.cn, Tel: 0451-88060576

第一作者联系方式: E-mail: hbzha0617@sina.com, Tel: 0451-86668739

Received(收稿日期): 2011-09-02; Accepted(接受日期): 2012-04-16; Published online(网络出版日期): 2012-06-04.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20120604.1011.016.html>

氮肥只有 18%~49%被吸收,其余均流失或挥发,整体损失量是多年生作物的 30~50 倍^[2-3]。同时多年生作物对环境具有极强的适应性和抗逆性,可以在一年生作物生长极端不利的环境中发展种植。现代化农业正利用多年生植物来保持和改善农业生态系统^[4]。目前,多年生作物育种研究计划已在美国、澳大利亚、加拿大等国协作展开^[1]。

小麦因生育期不同可分为一年生小麦和多年生小麦。目前生产利用的多为一年生小麦,栽培的多年生小麦是由小麦与近缘多年生野生种、属杂交育成,表现为根系发达、生长繁茂、分蘖多、抗旱、抗寒、抗多种病害,有再生能力,播种一次多次收获,可作为粮食、饲料、水土保持及育种的原始材料^[5]。早在 20 世纪 30 年代许多作物育种家已致力于多年生小麦的选育工作^[6-9],前苏联齐津^[10]育成了部分双二倍体小偃麦($2n=8x=56$),得到多年生小麦品系 5 个,生育年限为 2~3 年,异花受粉,根系发达、抗病、抗倒伏。用多年生黑麦与之杂交,选育成三属双二倍体($2n=70$)用作精饲料。但由于产量低、生育期短、回交与选择不利而中断。Lammer 等^[11]和 Cox 等^[12]用小麦与小麦的多年生野生亲缘种杂交,在杂种后代中发现 610 个多年生品系,具有不同数目的外来染色质;细胞遗传学鉴定表明,长穗偃麦草(*Thinopyrum elongatum*) 4E 的短臂上有决定多年生生长特性的基因;多年生特性表现为割后再生性和存活力(抗旱、抗寒、抗热等),并且再生性基因与不同存活力基因联合作用导致多年生品系具有不同的多年生生长习性;在 3 个地区的实验结果表明,多年生性状可保持 6 年,产量可与一年生小麦持平,抗病虫害、品质好,并在美国不同地区试种。Cox 等^[13]对小麦与麦草杂交得到的 24 个多年生小麦品系进行了抗病性分析,其中 5 个品系(SS452、SS103、SS237、MT-2 和 PI550713)对 *Wheat streak mosaic virus* (WSMV)、*Cephalosporium gramineum* 和 *Tapesia yallundae* 有抗性,8 个品系在 21~25 对 WSMV 有抗性,13 个品系对 *C. gramineum* 有极强抗性,13 个品系对 *T. yallundae* 有很好抗性。Murphy 等^[14]分析了 4 个牧草型小麦近缘野生种的核型与表型,并以此为亲本通过传统杂交方法,选育适合美国西北太平洋少雨地区的多年生小麦。Bell 等^[15-16]认为多年小麦具有粮食生产和饲草生产双重用途,可成为粮食作物和牧草生产的良好选择,可以在干旱和雨量较多的地区轮换种植,是澳大利亚农牧生态系统持续发展的优良

材料。在我国,孙善澄课题组用普通小麦与偃麦草杂交,为山西地区选育了多年生小麦^[17]。

目前,已对多年生小麦进行了大量研究工作,育成多个品系,产量有的与一年生小麦持平,抗多种小麦病害,可用作粮食、饲草或粮饲兼用,有的在试种。由于多年生小麦的许多优点,如抗病、抗旱、抗寒,特别是根系发达,分蘖多,穗长大、多小穗和多年生等特性,使其在小麦遗传改良方面具有重要的利用价值。此外,我国北方畜牧业发达,需要大量饲草,多年生小麦类型多样,生长繁茂,生物产量大,有的株系很适合用作饲草或粮饲兼用。本研究室从 2006 年起开始从事多年生小麦的研究,获得多份八倍体小偃麦与中间偃麦草杂交后代,并分析杂种 F_1 染色体组构型,讨论了远缘杂交的结实率与 F_1 的表现^[18]。本研究在此基础上,开展了适于北方寒地多年生小麦的选育工作,获得饲草型或粮饲兼用型多年生小麦及在哈尔滨地区安全过冬的普通小麦类型的多年生小麦,对杂种各世代遗传构成及染色体行为进行了分析,为研究北方寒地多年生小麦的选育提供了理论基础和有用的材料。

1 材料与方法

1.1 杂交组合配制及杂种后代选育

八倍体小偃麦品种麦草 8 号、麦草 9 号(AA BBDDEE, $2n=8x=56$)引自山西省农业科学院;远中 2 号(AABBDDDE₁E₁ 或 AABBDDDE₂E₂, $2n=8x=56$)引自黑龙江省农业科学院;中间偃麦草 *Th. Intermedium* (E₁E₁E₂E₂StSt, $2n=6x=42$)引自中国农业科学院原品种资源研究所;匍支冰草 *Elytigia repens* (S₁S₁S₁S₁StSt, $2n=42$)由本实验室采集和保存。

2006 年以麦草 8 号、麦草 9 号、远中 2 号为母本,以中间偃麦草、匍支冰草为父本,配制 5 个杂交组合,分别是麦草 8 号×中间偃麦草、麦草 9 号×中间偃麦草、远中 2 号×中间偃麦草、麦草 8 号×匍支冰草和麦草 9 号×匍支冰草。采用常规法与捻穗法相结合进行杂交,每天 16:00~18:00 去雄,次日 6:00~7:00 或 16:00~17:00 用新鲜花粉授粉,重复授粉 2~3 次,连续 2~3 d。前 3 个组合由于两亲染色体组间有一定的亲缘关系,杂交当代结实率为 10%~39%,种子有一定的萌发力;后 2 个组合未结实^[18]。

在哈尔滨师范大学实验田进行杂交和田间选育。每年 3 月将杂交种子在培养皿中萌发后移植入花盆,4 月末移种到试验田,6 月下旬开始杂交,8 月

中、下旬收获, 杂种在入冬前检查植株是否有再生性。冬季 12 月至次年 3 月, 植株在 -15°C 至 -35°C 自然条件下无覆盖过冬, 检测与选择抗寒性和多年生特性。无再生能力、不抗寒、不能越冬的植株全部淘汰。通过检测田间自然发病率进行抗病性鉴定, 以当地推广品种龙麦 26 为对照。抗病性分为极强、强、中、弱 4 级。各世代、各年植株(F_1 植株已在田间生长 5 年)除少数切根移入温室外, 其余均在田间生长与过冬。田间保留各世代和各年材料, 连年采种, 扩大繁殖。

1.2 形态学观察

依据《小麦种质资源描述规范和数据标准》^[19]观察植株的形态特征, 如株高、分蘖数、穗长、小穗数、小花数、穗粒数、芒、千粒重, 以及抗病性、抗寒性、抗倒伏性、生育期等。

1.3 减数分裂观察和染色体制片

孕穗期, 于 9:00~11:00 或 16:00~18:00 选择各杂交组合 F_1 和 F_2 植株及 F_3 和 F_4 个别株系处于减数分裂中期的花药, 用卡诺固定液(乙醇 冰醋酸=3 1)固定 5~8 h, 转至 70%乙醇中保存。以谢夫试剂染色, 镜检。以液氮冷冻揭片, 气干 24 h 以上, 再用 Dammar 胶封片, 于 OLYMPUS BH-2 显微镜(Olympus, Japan)下观察, 并用显微成像系统照相。

杂交种子萌芽后, 转至 8°C 低温处理 48 h, 再经 23.5°C 处理 27.5 h。剪下根尖, 在 $1\sim4^{\circ}\text{C}$ 冰水混合液中处理 24 h, 于 $1\sim4^{\circ}\text{C}$ 条件下用卡诺固定液固定 24 h,

醋酸洋红染色 5~10 h, 45%冰醋酸下压片观察。

1.4 基因组原位杂交检测

选择 F_3 、 F_4 普通小麦类型和八倍体小偃麦类型性状表现好的植株, 进行基因组原位杂交检测。采用 CTAB 法^[20]提取四倍体长穗偃麦草($E_1E_1E_2E_2$)和普通小麦中国春的基因组 DNA, 紫外检测其纯度与浓度。四倍体长穗偃麦草总基因组 DNA 经超声波破碎处理 1.0~1.5 min, 300~500 bp 的破碎片段用于标记探针。中国春基因组 DNA 经 2.5 min、1.05 MPa 高压灭菌, 100~750 bp 的片段用于封阻。采用生物素缺口平移法(nick translocation)标记长穗偃麦草基因组 DNA。参照 Fukui 等^[21]的方法进行 GISH, 每张载片加 20 μL FITC-Avidin D 检测杂交信号, 温育洗涤后, 加 20 μL PI (含抗褪变剂)复染。用 LEICA DM6000B 显微镜(Leica, Germany)观察并照相。

2 结果与分析

2.1 杂交 F_1 植株形态表现、年度间育性及细胞学观察

2007—2011 年经哈尔滨冬季自然条件筛选, F_1 有 14 株表现抗旱、抗寒和多年生特性, 对白粉病、叶锈病和秆锈病免疫, 对照龙麦 26, 每年白粉病中度发生, 叶锈病轻度发生。其中有 6 株(1-1-5-1、1-1-5-6、1-1-9-2、1-1-9-4、1-1-9-8 和 1-1-11-9)在田间持续生长 5 年(表 1)。每年 8 月中、下旬从分蘖节

表 1 2011 年 F_1 植株形态与性状
Table 1 Morphological characters of F_1 plants in 2011

性状 Trait	麦草 8 号×中间偃麦草 Wheatgrass 8 × <i>Th. intermedium</i>	麦草 9 号×中间偃麦草 Wheatgrass 9 × <i>Th. intermedium</i>	远中 2 号×中间偃麦草 Yuanzhong 2 × <i>Th. intermedium</i>
株数 No. of plants	5	5	5
株高 Plant height (cm)	145.80±4.20	140.40±3.11	162±3.94
总分蘖数 No. of tillers	70±4.20	98±3.25	75±2.28
穗长 Spike length (cm)	21.01±1.39	25.02±1.51	21.89±2.27
小穗数 No. of spikelets	23.41±1.39	26.79±1.98	28.32±2.47
小花数 No. of florets	7.32±0.65	6.49±0.75	9.14±0.59
结实率 Seed-setting rate (%)	4.64	4.12	1.09
再生性 Regrowth habit	+	+	+
生长年限 No. of growth years	5	5	5
有无病害 Occurrence of disease	—	—	—
芒 Awn	—	—	—
抗寒性 Cold resistance	+	+	+
粒色 Grain color	Red	Red	Red

3 个杂交组合的株系编号分别为 1-1-5-6、1-1-9-4 和 1-1-11-9。+表示性状存在; —表示性状不存在。

Codes of the three cross combination lines were 1-1-5-6, 1-1-9-4, and 1-1-11-9, respectively. + and — indicate the presence and absence of the traits, respectively.

上生出再生苗，再生苗生长迅速、繁茂，可生长至 10 月末，至结冻期凋萎。次年 4 月初返青。F₁ 植株当年不结实，二年生植株结少量种子，三年生比二年生植株的结实率有较大提高，结实率随生长年限延长有所提高(表 2)。种子大小、形态为两亲中间型。

细胞学分析结果表明，母本麦草 8 号、麦草 9

号、远中 2 号均为八倍体小偃麦，根尖染色体数为 56 ($2n=56$)(图 1-A)，父本中间偃麦草根尖染色体数为 42 ($2n=42$)^[22,23]，F₁ 植株根尖细胞染色体数为 49 ($2n=49$)(图 1-B)，F₁ 植株花粉母细胞减数分裂行为不正常，形成 14~17 个二价体和 14~21 个单价体，后期出现染色体桥、染色体断片、微核等异常现象。

表 2 麦草 8 号×中间偃麦草(1-1-8-4)、麦草 9 号×中间偃麦草(1-1-9-1)和远中 2 号×中间偃麦草(1-1-10-1) F₁ 植株的结实特性
Table 2 Seed setting characteristics of F₁ plants from Wheatgrass 8 × *Th. intermedium* (1-1-8-4), Wheatgrass 9 × *Th. intermedium* (1-1-9-1), and Yuanzhong 2 × *Th. intermedium* (1-1-10-1)

F ₁ 植株 F ₁ plant	有效穗			有效小穗			实际结实数			结实率			发芽率			成苗率		
	Effective spikes			Effective spikelets			No. of seeds			Seed-setting rate (%)			Germination rate (%)			Budding rate (%)		
	2007	2008	2009	2007	2008	2009	2007	2008	2009	2007	2008	2009	2007	2008	2009	2007	2008	2009
1-1-8-4	17	42	73	306	714	1314	0	4	81	0	0.28	3.10	0	75	86	0	75	65
1-1-9-1	12	31	77	216	558	1386	0	3	32	0	0.25	2.30	0	100	81	0	67	59
1-1-10-1	15	36	61	270	595	1037	0	4	27	0	0.01	0.78	0	1.25	72	0	1.25	37

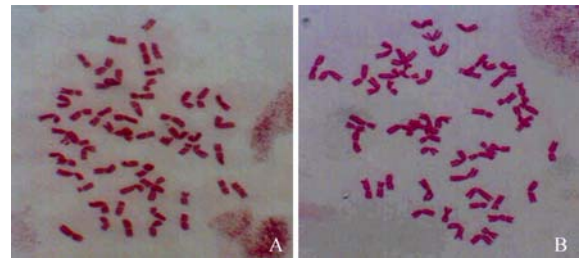


图 1 麦草 8 号($2n=56$, A)和多年生小麦 F₁ 植株根尖细胞的染色体数($2n=49$, B)
Fig. 1 Chromosome numbers in root tip cells of Wheatgrass 8 ($2n=56$, A) and perennial wheat F₁ plants ($2n=49$, B)

2.2 F₂ 的形态表现、结实率与细胞学观察

F₂ 的株高、穗型、成熟期、育性分离较大。性状多倾向中间偃麦草，表现为植株高大，生长繁茂，其中高者达 140 cm；分蘖多，一年生植株分蘖数多为 20 个左右，二年生植株分蘖数多为 40~50 个(图 2-A)，多者达 80 个；穗长可达 29 cm，小穗多者达 24 个，小花多者达 9 个(表 3)；花期 6 月下旬至 8 月初，

长达 1 个多月，多为异花授粉(套袋不结实)；根系发达，抗旱、抗寒，常形成株丛(图 2-B)。

2008—2011 年筛选出 6 个多年生株系(2-1-1-1、2-1-1-4、2-2-4-2、2-2-13-1、2-2-15-2 和 2-2-17-2)，抗病性极强，对白粉病、叶锈、秆锈免疫，对照品种龙麦 26 白粉病、叶锈病中度发生，秆锈病轻度发生。这些株系的 F₂ 植株高大、繁茂；茎秆有弹性，抗倒伏；分蘖多，三年生分蘖数多者达 270 个(2-1-1-4)，10 月末仍继续生长至结冻期(图 2-C)，第二年 4 月初返青(图 2-D)；根系发达。株系 2-1-1-4、2-2-13-1、2-2-15-2 和 2-2-17-2 是倾向牧草型的多年生小麦(图 2-B)。

F₂ 结实率恢复至 56%~58% (表 4)，种子大小不一，多数偏小。细胞学观察结果表明，F₂ 植株根尖细胞染色体数在 42~56 范围内变动，花粉母细胞减数分裂二价体数为 14~28，单价体数为 18~28，减数分裂行为不正常。

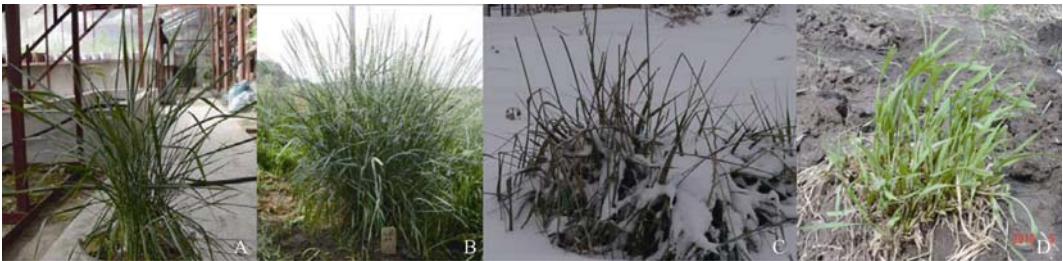


图 2 多年生小麦 F₂ 植株形态
Fig. 2 Morphology of F₂ plants of perennial wheat
A: 分蘖后期至拔节期; B: 开花期形成株丛; C: 多年生植株过冬形态; D: 第二年再生植株。
A: later tillering to jointing stage; B: clumps at anthesis stage; C: perennial plants in winter; D: regenerated plants in the second year.

表 3 2011 年 5 个多年生小麦株系的 F₂ 植株形态与性状
Table 3 Morphological traits of F₂ plants from five perennial wheat lines observed in 2011

性状 Trait	株系 Line				
	2-1-1-1	2-1-1-4	2-2-15-2	2-2-17-2	2-2-13-1
株数 No. of plants	5	5	5	5	5
株高 Plant height (cm)	112±6.87	144.67±5.16	97.46±7.13	141.67±7.67	113.45±6.87
总分蘖数 No. of tillers	55±4.34	270±4.46	60±3.23	74±4.03	110±4.46
穗长 Spike length (cm)	17.98±1.54	21.54±1.46	24.32±1.34	18.12±1.67	17.62±0.89
小穗数 No. of spikelets	18.24±1.36	21.36±1.58	19.36±1.57	18.69±0.78	16.41±1.21
小花数 No. of florets	5.47±0.32	8.83±0.45	9.16±0.43	6.92±0.15	4.77±0.95
再生性 Regrowth habit	+	+	+	+	+
生长年限 No. of growth years	3	3	3	3	3
有无病害 Occurrence of disease	—	—	—	—	—
芒 Awn	—	—	—	—	—
抗寒性 Cold resistance	+	+	+	+	+
粒色 Grain color	Red	Red	Red	Red	Red

株系 2-1-1-1、2-2-15-2 和 2-2-17-2 选自麦草 9 号×中间偃麦草杂交后代; 株系 2-1-1-4 选自麦草 8 号×中间偃麦草杂交后代; 株系 2-2-13-1 选自远中 2 号×中间偃麦草杂交后代。+表示性状存在; —表示性状不存在。

Lines 2-1-1-1, 2-2-15-2, and 2-2-17-2 were selected from the progenies of Wheatgrass 9 × *Th. intermedium*. Line 2-1-1-4 was selected from the progenies of Wheatgrass 8 × *Th. intermedium*. Line 2-2-13-1 was selected from the progenies of Yuanzhong 2 × *Th. intermedium*. + and — indicate the presence and absence of the traits, respectively.

表 4 2010 年 3 个多年生小麦株系 F₂ 植株的结实和成苗特性
Table 4 Characteristics of seed setting and budding in F₂ plants from three perennial wheat lines observed in 2010

株系 Line	结实数 Number of seeds	结实率 Seed-setting rate (%)	发芽率 Germination rate (%)	成苗率 Budding rate (%)
2-1-1-4	265	57	87	73
2-2-15-2	242	56	83	82
2-2-13-1	224	58	87	69

株系 2-1-1-4、2-2-15-2 和 2-2-13-1 分别选自麦草 8 号×中间偃麦草、麦草 9 号×中间偃麦草和远中 2 号×中间偃麦草杂交后代。

Lines 2-1-1-4, 2-2-15-2, and 2-2-13-1 were selected from the progenies of Wheatgrass 8 × *Th. intermedium*, Wheatgrass 9 × *Th. intermedium*, and Yuanzhong 2 × *Th. intermedium*, respectively.

2.3 F₃ 和 F₄ 代形态表现、结实率与细胞学特性

F₃ 和 F₄ 性状分离程度大于 F₂, 特别是穗型与株高分离较大, 出现普通小麦类型。穗型有长穗、分支穗、密穗、直立穗、弯曲穗、也有普通小麦穗型, 如巨头型、圆锥型、纺锤型(图 3-A), 小花多为多花类型, 多者达 7~9 个。多数小花可正常开放和吐蕾, 有正常的花粉粒, 也有花药不开裂、花粉粒发育不正常表现不育的。多数小穗紧贴穗轴, 成熟时于穗轴节上折断, 但有一部分小穗不紧贴穗轴, 且张开角度不同(图 3-A), 成熟时于小穗基部脱落。种子大小和形态变化较大, 小者比中间偃麦草的种子稍大一些, 大者和普通小麦种子相似, 形状有卵圆形、长卵圆形、长方形(图 3-B), 多数饱满有发芽力, 少数不饱满, 瘪粒, 无发芽力。叶长短、宽窄、叶面叶边缘有无刺毛, 差异较大。结实率随世代的提高而逐步恢复, 多数植株在 50% 以上, 个别植株可达 80% (表

5)。

从 F₃ 和 F₄ 代中选出 12 个多年生株系, 分别是 3-1-15-4、3-1-16-2、3-1-17-1、3-1-18-1、3-1-18-2、3-2-6-1、3-2-6-2、3-2-9-5、3-2-10-2、3-2-11-2、3-2-11-4 和 3-2-12-4。其植株表现抗旱, 抗倒伏, 对白粉病、叶锈、秆锈病免疫或高抗, 没有发现赤霉病, 而 2011 年对照品种龙麦 26 白粉病大发生, 叶锈、秆锈、赤霉病轻度发生。3-1-18-1、3-1-18-2、3-2-9-5、3-2-11-2 和 3-2-11-4 表现为小偃麦类型, 株高约 90 cm, 分蘖较多, 小穗排列稀疏, 种子包壳、脱粒难, 熟期晚。3-2-6-1 和 3-2-6-2 株系表现为普通小麦类型, 株高 80~90 cm, 穗型为巨头型或纺锤型, 小穗排列较密, 成熟时于小穗基部脱落, 粒卵圆型。3-1-15-4、3-1-16-2、3-1-17-1、3-2-10-2 和 3-2-12-4 株系表现为中间偃麦草型, 植株高大, 繁茂, 分蘖多, 再生力强, 具抗寒性(表 6)。

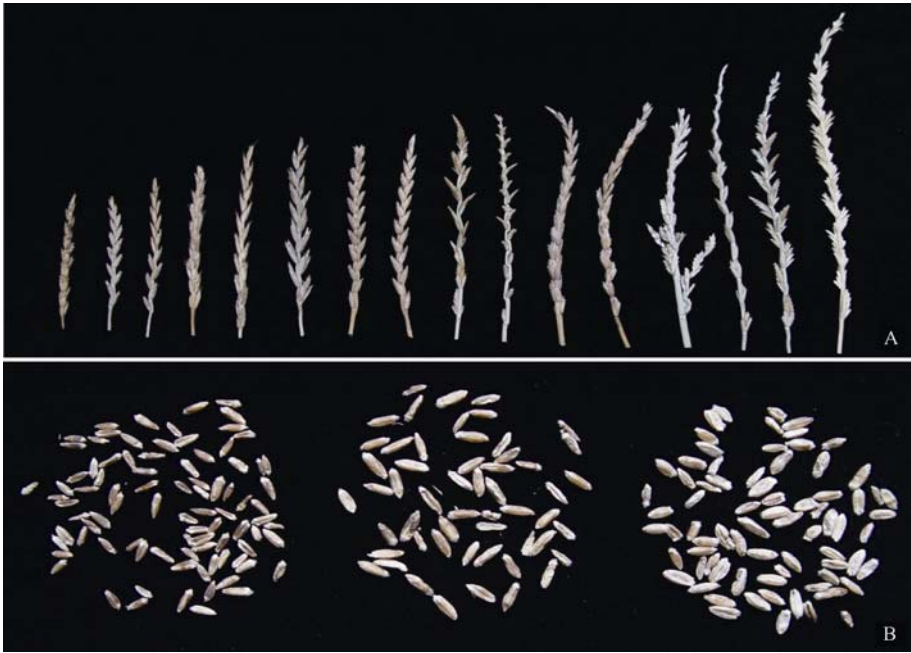


图 3 多年生小麦 F₃ 代的穗型(A)和籽粒(B)形态
Fig. 3 Morphology of spikes (A) and grains (B) of F₃ generation of perennial wheat

表 5 2011 年 4 个多年生小麦 F₃ 植株的结实和成苗特性
Table 5 Characteristics of seed setting and budding in F₃ plants of four perennial wheat lines observed in 2011

株系 Line	实际结实数 No. of seeds obtained	结实率 Seed-setting rate (%)	发芽率 Germination rate (%)	成苗率 Budding rage (%)
3-2-11-4	304	75	89	70
3-2-6-2	320	80	89	72
3-2-9-5	178	58	85	81
3-1-18-1	121	25	81	60

株系 3-2-11-4 选自麦草 8 号×中间偃麦草杂交后代，其他株系选自麦草 9 号×中间偃麦草杂交后代。
Line 3-2-11-4 was selected from the progenies of Wheatgrass 8 × *Th. intermedium*, and other lines were selected from the progenies of Wheatgrass 9 × *Th. intermedium*.

表 6 2011 年 4 个多年生小麦株系 F₃ 植株的形态与性状观察
Table 6 Morphological traits of F₃ plants from four perennial wheat lines observed in 2011

性状 Trait	株系 Line			
	3-1-18-1	3-2-6-2	3-2-9-5	3-2-11-4
株数 No. of plants	5	5	5	5
株高 Plant height (cm)	85.69±7.12	94.32±5.45	112±3.02	121.30±12.21
总分蘖数 No. of tillers	61±4.32	82±4.56	45±4.34	71±4.53
穗长 Spike length (cm)	16.10±1.21	15.43±1.21	16.02±1.54	17.36±3.10
小穗数 No. of spikelets	16.34±1.25	18.17±2.36	18.23±1.76	16.57±1.58
小花数 No. of florets	4.87±0.34	4.29±0.13	6.76±0.52	6.98±0.48
再生性 Regrowth habit	+	+	+	+
生长年限 No. of growth years	2	2	2	2
有无病害 Occurrence of disease	—	—	—	—
芒 Awn	—	—	—	—
抗寒性 Cold resistance	+	+	+	+
粒色 Grain color	Red	Red	Red	Red

株系 3-2-11-4 选自麦草 8 号×中间偃麦草杂交后代，其他株系选自麦草 9 号×中间偃麦草杂交后代。+表示性状存在；—表示性状不存在。
Line 3-2-11-4 was selected from the progenies of Wheatgrass 8 × *Th. intermedium*, and other lines were selected from the progenies of Wheatgrass 9 × *Th. intermedium*. + and — indicate the presence and absence of the traits, respectively.

F_3 和 F_4 花粉母细胞减数分裂过程中形成 14~21 个二价体, 多为 16、18、19 个, 而单价体为 9~17 个, 多为 13 个和 16 个。其中, 棒状二价体占二价体的 70% 左右, 有少数三价体和四价体(图 4-A, B); 棒状二价体多为部分同源染色体配对产生, 可能是偃麦草 E 组染色体对小麦的 *Ph* 基因有抑制作用, 从而引起有部分同源关系的染色体组间染色体配对。用四倍体长穗偃麦草基因组 DNA 作探针与杂种 F_3 植株(株系 3-1-1-2, 中间偃麦草类型)体细胞进行原位杂交(GISH), 观察到有 20 条染色体具 E 组染色体杂交信号(图 5-A), 3-2-6-1 株系(普通小麦类型)有 16 条染色体具 E 组杂交信号(图 5-B), 表明 F_3 的 E 组染色体基本没有丢失。环状二价体有 2~10 个, 多为 6 个和 7 个。棒状二价体不稳定, 造成 F_3 二价体数目变化较大。

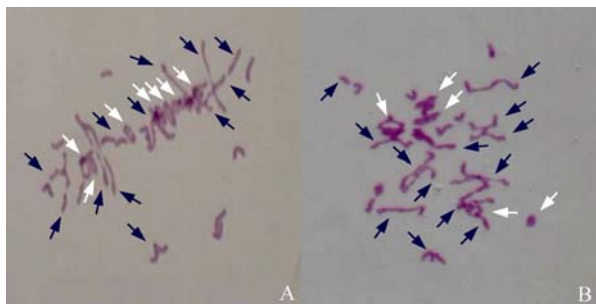


图 4 多年生小麦 F_3 和 F_4 植株减数分裂过程中的染色体行为
Fig. 4 Chromosome behaviors during meiosis in F_3 and F_4 plants of perennial wheat

A: 12 个棒状(蓝色箭头)和 7 个环状染色体(白色箭头); B: 13 个棒状(蓝色箭头)和 5 个环状染色体(白色箭头)。

A: twelve rod chromosomes (blue arrows) and seven ring chromosomes (white arrows); B: thirteen rod chromosomes (blue arrows) and five ring chromosomes (white arrows).

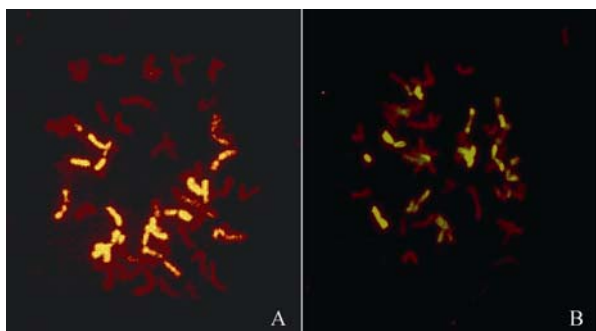


图 5 多年生小麦 E 组染色体 GISH 杂交信号

Fig. 5 GISH hybridization signals in E genome of perennial wheat

A: 20 条染色体有杂交信号; B: 16 条染色体有杂交信号。

A: twenty hybridization signals; B: sixteen hybridization signals.

2011 年从 F_4 代中选出 4 个株系 1-1-4、2-13-1、2-15-2、2-17-2, 植株表现高大繁茂, 株高 140 cm 左

右, 分蘖多达 60 个以上, 形成株丛, 穗长 25~30 cm, 小穗数 25~30 个, 结实率 70% 左右; 高抗小麦叶锈、秆锈、白粉病、赤霉病; 耐干旱, 抗倒伏, 再生能力强, 生物产量高, 远高于黑龙江省主要牧草——羊草; 抗寒性好, 在哈尔滨田间自然越冬, 草质与中间偃麦草相似, 可用作饲草。同时, 从 F_4 代中还选出普通小麦类型多年生株系 6-30 和 6-31, 纺锤型穗, 小穗排列紧密, 粒卵圆型, 但结实率低, 晚熟, 产量低, 需要进一步改良。

3 讨论

多年生小麦不仅可作为小麦遗传育种和品质改良的良好基础材料, 而且对保护农业生态环境、促进农业可持续发展具有积极作用, 是目前各国育种家关注热点之一^[24]。我国北方寒地由于生育期限限制, 春小麦产量不如冬小麦。试种冬小麦虽然可在某些年份获得成功, 但表现不稳定。如果育成抗寒的多年生小麦, 可在土壤瘠薄、盐碱地试种, 提高土地利用率, 扩大小麦的种植面积, 增加粮食产量。此外, 北方发展畜牧业需要大量的牧草, 多年生小麦的亲本有小麦野生近缘种牧草如中间偃麦草, 所以杂种后代会分离出一些适于作牧草的多年生小麦, 可增加牧草种类、提高牧草产量。因此, 在北方选育多年生小麦具有重要的理论与经济价值。

中间偃麦草蕴藏丰富的优良基因, 是普通小麦的三级基因源, 在小麦遗传改良中具有重要利用价值^[25-28]。中间偃麦草在哈尔滨地区种植, 田间表现植株高大, 分蘖多, 抗多种病害, 具有抗寒和多年生特性。本研究将带有 E 组染色体背景的八倍体小偃麦(AABBDEE)麦草 8 号、麦草 9 号、远中 2 号作为亲本同中间偃麦草($E_1E_1E_2E_2StSt$)杂交, 有利于提高杂种后代染色体配对的稳定性, 使杂种后代保持中间偃麦草抗病、抗寒和多年生等重要特性。其中麦草 8 号、麦草 9 号在哈尔滨表现穗大、抗病、有再生能力, 但不抗寒, 为一年生春麦。以其为母本与中间偃麦草杂交, F_1 植株表现高大繁茂分蘖多, 大穗多花、多小穗, 抗寒、抗多种病害, 具有再生能力和多年生特性。 F_2 、 F_3 分离复杂, 获得一些饲草型多年生小麦, 单株生产量大, 分蘖多达 80 个。 F_4 代中还分离出一些普通小麦类型的多年生小麦, 其再生性和抗寒性均较好。在哈尔滨地区, 冬季长达 5 个月, 最低气温可低至 -35°C , 为选育抗寒的多年生小麦提供了良好的自然条件。

在小麦的近缘野生种中, 偃麦草 E 基因组与小麦 ABD 基因组的遗传分化程度相对较小, 关系密切, 其中关系最近的为 D 组, 其次为 A 组, 相对较远的为 B 组。Zhang 等^[29]研究表明, 偃麦草 E 基因组与小麦 A、D 基因组的关系比小麦 B 基因组与 A、D 基因组的亲缘关系还要近, 由此推断, E 基因组与 A、D 基因组, 特别是与 D 基因组在遗传上具有较高的代偿功能。中间偃麦草的 St 组与 E 组的亲缘关系也较近, 因此杂交亲本间虽然有 6 个基因组(A、B、D、E₁、E₂ 和 St), 但都有亲缘关系, 可以杂交, F₁ 生长的第 2~4 年结少量种子, F₂ 以后结实率逐代恢复, 杂种生长繁茂、分离大, 后代出现一些好材料, 表明这样的多属杂交是可行的。

远缘杂交难以克服的问题是减数分裂异常, 遗传性不稳定, 野生性状难以削除, 如上述的普通小麦类型材料结实率低, 种子包壳, 脱粒难, 因此很难在短期内育成品种, 我们采取的措施是扩大种群, 收到的种子尽量播种, 利用哈尔滨的自然条件淘汰不抗寒、无再生能力的植株, 选择丰产性好的多年生植株间杂交或与强冬性冬麦 024、丰产的地方标准品种龙麦 26 杂交, 改良杂种的丰产性。而对于其他类型的多年生小麦如饲草型多年生小麦, 则扩繁后可直接利用。同时, 细胞遗传学信息表明, 性状的变化与染色体组的变化密切相关。如 F₄ 有 20 条 E 染色体的个体, 性状表现为中间偃麦草类型, 植株高大、繁茂、多分蘖、抗寒、有再生能力。F₄ 获得 8 株普通小麦类型植株, 均为 A、B、D 染色体组, 21 个二价体, 结实率正常, 性状为多花类型, 感染白粉病。育性随着世代的变化和二价体数的增加, 结实率有所提高。所以今后可从生产应用出发, 重点选择性状表现突出和染色体组稳定的材料, 进行选育和种质改良。

4 结论

八倍体小偃麦与中间偃麦草杂交当代结实率为 10%~39%, F₁ 代表现为两亲的中间型, 结实率为 2%~3%。F₂ 分离复杂, 出现八倍体小偃麦类型和中间偃麦草类型。随世代增加, 减数分裂中期形成的二价体数量逐渐增加, 而单价体数量逐渐减少, 从而植株结实率呈上升趋势。从 F₃ 和 F₄ 代获得 2 个具普通小麦类型的多年生株系, 表现多分蘖、多小穗、抗病、抗寒(在黑龙江哈尔滨可安全过冬)、有再生能力, 但尚需进行农艺学改良。还获得了一些牧草型多年生株系, 在哈尔滨地区种植, 植株高大, 分蘖

数可达 80 个, 生产量大, 刈割后具有良好的再生能力, 且可以安全过冬, 有望在生产中改良应用。

References

- [1] Glover J D, Reganold J P, Bell L W, Borevitz J, Brummer E C, Buckler E S, Cox C M, Cox T S, Crews T E, Culman S W, DeHaan L R, Eriksson D, Gill B S, Holland J, Hu F, Hulke B S, Ibrahim A M H, Jackson W, Jones S S, Murray S C, Paterson A H, Ploschuk E, Sacks E J, Snapp S, Tao D, Van Tassel D L. Increased food and ecosystem security via perennial grains. *Science*, 2010, 328: 1638–1639
- [2] Cassman K G, Dobermann A, Walters D. Agroecosystems, nitrogen-use efficiency, and nitrogen management. *AMBIO*, 2002, 31: 132–140
- [3] Randall G W, Mulla D. Nitrate nitrogen in surface waters as influenced by climatic conditions and agricultural practices. *J Environ Qual*, 2001, 30: 337–344
- [4] Jordan N, Boody G, Broussard W, Glover J D, Keeney D, McCown B H, McIsaac G, Muller M, Murray H, Neal J, Pansing C, Turner R E, Warner K, Wyse D. Sustainable development of the agricultural bio-economy. *Science*, 2007, 316: 1570–1571
- [5] Glover J D, Cox C M, Reganold J P. Future of farming: a return to roots? *Sci Am*, 2007, 297: 82–89
- [6] Peto F H. Hybridization of *Triticum* and *Agropyron*: II. Cytology of the male parents and F₁ generation. *Can J Res C Bot Sci*, 1936, 14: 203–214
- [7] Armstrong J M, Stevenson T M. The effects of continuous line selection in *Triticum-Agropyron* hybrids. *Empire J Exp Agric*, 1947, 15: 51–64
- [8] Perennial wheat in the U.S.S.R. *J Am Soc Agron*, 1936, 28: 1061–1062
- [9] Suneson C A, El Sharkaway A, Hall W E. Progress in 25 years of perennial wheat development. *Crop Sci*, 1963, 3: 437–438
- [10] Qi J H B, Li T-T(李特特), Liu Y-X(刘毓湘), Huang M-Y(黄慕玉). Perennial Wheat (多年生小麦). Beijing: Agriculture Press, 1982. pp 189–196 (in Chinese)
- [11] Lammer D, Cai X W, Arterburn M, Chatelain J, Murray T, Jones S. A single chromosome addition from perennial *Thinopyrum elongatum* confers a polycarpic, perennial habit to annual wheat. *J Exp Bot*, 2004, 55: 1715–1720
- [12] Cox T S, Glover J D, David L, Cox C M, Dehaan L R. Prospects for developing perennial grain crops. *Bioscience*, 2006, 56: 649–658
- [13] Cox C M, Murray T D, Jones S S. Perennial wheat germplasm lines resistant to eyespot, *Cephalosporium* stripe, and wheat streak mosaic. *Plant Dis*, 2002, 86: 1043–1048
- [14] Murphy K M, Carter A, Zemetra R S, Jones S S. Karyotype and ideogram analyses of four wheatgrass cultivars for use in perennial wheat breeding. *J Sustainable Agric*, 2007, 31: 137–149
- [15] Bell L W, Wade L J, Ewing M. Perennial wheat: a review of en-

- vironmental and agronomic prospects for development in Australia. *Crop & Past Sci*, 2010, 61: 679–690
- [16] Bell L W, Byrne F, Ewing M A, Wade L J. A preliminary whole-farm economic analysis of perennial wheat in an Australian dryland farming system. *Agric Syst*, 2008, 96: 166–174
- [17] Sun Y(孙玉), Sun S-C(孙善澄), Liu S-X(刘少翔), Yan G-Y(闫贵云), Guo Q(郭庆). Study on varieties breeding and selection of perennial wheat. *Seed (种子)*, 2011, 30(4): 21–26 (in Chinese with English abstract)
- [18] Yan X-D(闫小丹), Zhang Y-M(张延明), Li J-L(李集临). Octoploid Triticum with *Agropyron glaucum* F₁ hybrid Elytrigia genome structure. *Bull Bot Res(植物研究)*, 2010, 30(2): 197–201 (in Chinese with English abstract)
- [19] Li L-H(李立会), Li X-Q(李秀全). Descriptors and Date Standard for Wheat (小麦种质资源描述规范和数据标准). Beijing: China Agriculture Press, 2006 (in Chinese)
- [20] Sambrook J. Molecular Cloning. Long Island, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. pp 463–469
- [21] Fukui K, Ohmido N, Khush G S. Variability in rDNA loci in the genus *Oryza* detected through fluorescence in situ hybridization. *Theor Appl Genet*, 1994, 87: 893–899
- [22] Zhong G-C(钟冠昌), Mu S-M(穆素梅), Zhang Z-B(张正斌). Distant Hybridization in Triticeae Crops (麦类远缘杂交). Beijing: Science Press, 2002. pp 70–92 (in Chinese)
- [23] Chen Q. Detection of alien chromatin introgression from *Thinopyrum* into wheat using S genomic DNA as a probe: a landmark approach for *Thinopyrum* genome research. *Cytogenet Genome Res*, 2005, 109: 350–359
- [24] Cox T S, DeHaan L R, Tassel D L V, Cox C M. Progress in breeding perennial grains. *Crop Pasture Sci*, 2010, 61: 513–521
- [25] Sun S-C(孙善澄). The approach and methods of breeding new varieties and species from *Agrotriticum*. *Acta Agron Sin (作物学报)*, 1981, 7(1): 51–58 (in Chinese with English abstract)
- [26] Lü W-D(吕伟东), Xu P-B(徐鹏彬), Pu X(蒲训). Summary of the situation for applying genetic resources from *Elytrigia* in *Triticum aestivum* breeding. *Acta Pratacult Sin (草业学报)*, 2007, 16(6): 136–140 (in Chinese with English abstract)
- [27] Wang L-M(王黎明), Lin X-H(林小虎), Zhao F-T(赵逢涛), Wang H-G(王洪刚). Configuration of *Elytrigia intermedium* and its valuable genes transferred into wheat. *Grassland China (中国草地)*, 2005, 27(1): 57–63 (in Chinese with English abstract)
- [28] Dvork J. Homoeology between *Agropyron elongatum* chromosomes and *Triticum aestivum* chromosomes. *Can J Genet Cytol*, 1980, 22: 237–259
- [29] Zhang X Y, Dong Y S, Wang R R C. Characterization of genomes and chromosomes in partial amphiploid of the hybrid *Triticum aestivum* × *Thinopyrum ponticum* by in situ hybridization, isozyme analysis, and RAPD. *Genome*, 1996, 39: 1062–1071

欢迎订阅 2013 年《作物杂志》

《作物杂志》是中国作物学会和中国农业科学院作物科学研究所主办的农作物实用性技术类期刊, 1985 年创刊。刊登具有创新性、实用性强的有关农作物的文章; 快速报导农业新技术、新成果。

本刊曾荣获第三届/第四届全国优秀农业科技期刊奖、中国科协优秀科技期刊奖。连续入选全国中文核心期刊、中国科技核心期刊和中国农业核心期刊, 2005 年进入国家精品期刊库。

本刊信息量大、时效性强; 影响面广。栏目设置有专家论坛、专题综述、研究报告、种子科技与管理、栽培技术、植物保护等。读者对象为农业科研人员、农业院校师生、农业技术推广工作者, 种植业专业户、农业经营人员, 农业示范园区、农场等有关人员。

本刊为双月刊, 大 16 开本, 152 页。定价 15 元, 全年 90 元, 全国各地邮局均可订阅。漏订者请寄款至编辑部, 地址: 北京中关村南大街 12 号中国农科院作物所内, 收款人: 作物杂志编辑部, 邮编: 100081

本刊已正式开通网上在线投稿系统, 欢迎大家使用网上注册投稿, 在线投稿地址: <http://zwzz.cbpt.cnki.net/>

E-mail: zwzz304@mail.caas.net.cn 电话: 010-82108790 欢迎投稿 欢迎刊登广告