陆地棉×索马里棉异源六倍体杂种的细胞遗传学和纤维特性

何鉴星 姜茹琴 张欣雪 梁正兰

(中国科学院遗传研究所, 北京 100101. Email: cottonlab.ig@yeah.net)

摘要 陆地棉×索马里棉 F_2 杂种及后代, 经花粉母细胞(PMC)压片观察, 染色体数 $2n = 6x = 78$, 是一个新的异源六倍体, 染色体组为 $2[(AD)_1E_2]$, PMC 减数分裂中期Ⅰ平均染色体构型为 0.15Ⅰ + 38.72Ⅱ + 0.11Ⅲ + 0.02Ⅳ, 形成 39 个二价体的细胞数占 85.09%, 具有多价体的细胞数占 11.84%, 表明 E_2 染色体与 $(AD)_1$ 之间存在染色体交换, 但频率较低. 六倍体育性正常, 可天然自交结实, 子代仍是异源六倍体, 并且形态特征和遗传上都是稳定的, 棉纤维浅棕色, 经 HVI900 测试, 具有高强纤维品质特性, 纤维强度比陆地棉品种提高了 42%, 可能是改良棉花纤维强度的重要种质资源.

关键词 陆地棉 索马里棉 异源六倍体 种间杂种 细胞遗传学 高强纤维

棉属野生种索马里棉(*Gossypium somalense*)原产于非洲东北部干旱地带, 小灌木, 高 1.5 m 左右, 种子坚硬, 密被高强的棕色纤维[1, 2], 属于 E_2 染色体组($2n = 2x = 26$)[3, 4]. 具有抗旱、抗棉铃虫和红铃虫等特性. 项时康等人[5]发现索马里棉种子虽有腺体但没有棉酚, 可能是低酚棉育种的珍贵资源. 棉花育种者通过种间杂交渐渗外源种质改良陆地棉已经取得了很多成功的实例. 美国育种家 Culp 等人[6~8]利用 Beasley[9]的三交种材料渐渗亚洲棉(*G.arboreum*)×瑟伯氏棉(*G.thurberi*)提高纤维强力的基因, 克服了皮棉产量与纤维强度的负相关, 育成一系列高强纤维 PD 种质和品种. 梁正兰等人[10]利用海岛棉(*G.barbadense*)×瑟伯氏棉×陆地棉(*G.hirsutum*)三元杂种育成了陆地棉高产新品种"石远 321", 在黄河流域大面积种植. 然而对于索马里棉这个野生种, 尽管它具有许多独特的优良性状, 但它的细胞遗传学和种质资源利用研究却很少, 仅知道它属于 E 染色体组. 原因是这个种与棉属其他染色体组的种亲缘关系较远[4], 杂交难以成功, 特别是与陆地棉的杂交, 杂种胚细长, 杂种在开花前死亡, 所以很难获得成熟杂种植株. 直到最近, 我们实验室首次报道通过激素处理和胚培养获得了陆地棉×索马里棉的杂种以及利用该杂种选育出了长绒和抗棉铃虫的资源[11]. 本文报道了陆地棉×索马里棉异源六倍体的细胞遗传学、亲缘关系、形态学和高强纤维特性, 并讨论了索马里棉潜在的有益农艺性状的利用价值.

1 材料与方法

(ⅰ) 材料来源. 陆地棉(*G. hirsutum* L)栽培品种"86-1"作母本, 野生种索马里棉作父本杂交, 用植物激素 GA_3(50 mg/L), NAA(40 mg/L)水溶液处理杂交铃, 用修改的怀特培养基(1934)培养杂种胚, 在培养基内加入 10 mg/L 秋水仙碱溶液进行染色体加倍处理. 从"86-1"×索马里棉组合得到 3 个 F_1 植株, 其中编号为 1-10F_1 和 2-9F_1 的两株为可育, 这两株的形态特征、育性基本相同, 另一株畸形, 不现蕾[11]. 本文进行研究的材料来自于 1-10F_1 的自交后代, 即 1-10F_2, F_3 及后代. "石远 321"、"石远 345"是最近育成的陆地棉型优良品种, 用作回交亲本和参考对照.

(ⅱ) 细胞遗传学方法. 幼蕾花瓣与花萼等长时, 取幼蕾固定于卡诺氏液 (5 份 95%乙醇：2 份乙酸)12~24 h, 标准的铁-醋酸洋红染色制片, Olympus 显微镜观察, 照相. 统计花粉母细胞(PMC)中期Ⅰ染色体构型.

(ⅲ) 纤维品质测试. 从盆栽的 1-10F_2 和大田的 1-10F_3 六倍体植株及回交产生的五倍体植株 BC_1 收集籽棉, 手工剥取纤维, 送农业部棉花品质监督检验测试中心, 用 HVI900 系统测试 2.5%跨长(棉纤维长度)、整齐度、强度、伸长率、马克隆值(micronaire reading).

2 结果

2.1 陆地棉×索马里棉 F_2 和 F_3 花粉母细胞减数分裂染色体行为

陆地棉"86-1"×索马里棉 F_1(编号 1-10F_1)天然自交结实种子 1991 年种于花盆, 产生 F_2 代(1-10F_2), F_2 代也能天然自交结实产生子代植株. 1994 年春季 3~4 月对温室盆栽的 3 株 1-10F_2 花粉母细胞进行细胞学检查, 发现这 3 株是异源六倍体(图 1), 染色体数 $2n = 6x = 78$, 染色体组 $2[(AD)_1E_2]$, PMC 中期Ⅰ染色体构型为 0.4Ⅰ + 38.1Ⅱ + 0.26Ⅲ + 0.15Ⅳ, 形成 39 个二价体的细胞数占 65%, 这批材料取材时温室白天最高温度超过 40℃, 夜间温度较低. 鉴于取材时温室温度的异常, 1996, 1998 年棉花正常生长季节(6~9 月份)再次取材观察 PMC 中期Ⅰ染色体构型, 发现 1-10F_2 盆栽株和 1-10F_3 大田株仍然是异源六倍体, 但是形成单价体和多价体的频率比 1994 年春季温室株降低了, 具有 39 个二价体的正常 PMC 数显著增加, 达到 85%. F_2 室外盆栽株与 F_3 大田株 PMC 染色体构型没有明显差异(表 1), PMC 染色体配对基本正常, 中期Ⅰ具有多价体的细胞数 F_2 为 13.10%, F_3 为 9.64%, 表明 E_2 与 $(AD)_1$ 之间存在染色体交换, 但频率较低.

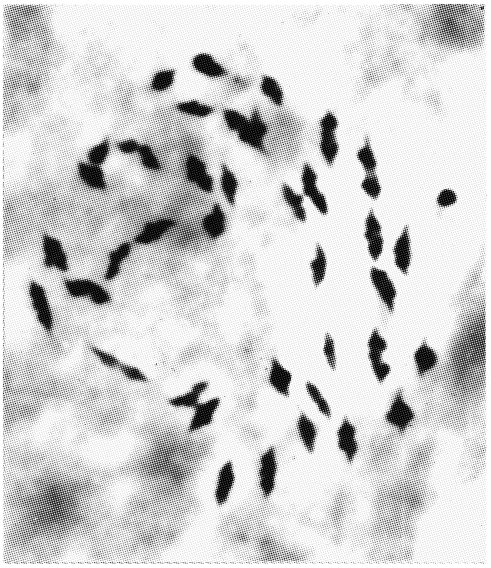

图 1　陆地棉"86-1"×索马里棉六倍体 F_2 PMC 中期Ⅰ染色体
示 39 个二价体($2n = 6x = 78$)

表 1　(陆地棉×索马里棉)F_2 和 F_3 花粉母细胞减数分裂中期Ⅰ染色体构型

染色体构型				F_2		F_3	
Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	PMC 数	百分比/%	PMC 数	百分比/%
	39			123	84.83	71	85.54
2	38			3	2.07	4	4.82
1	37	1		14	9.66	6	7.23
	37		1	3	2.07	1	1.20
	36	2		2	1.38	1	1.20
平均染色体构型				0.14Ⅰ + 38.70Ⅱ + 0.12Ⅲ + 0.02Ⅳ		0.17Ⅰ + 38.75Ⅱ + 0.10Ⅲ + 0.01Ⅳ	

由于异源六倍体染色体配对基本正常, 因此预期可以形成正常的配子, 表 2 表示四分孢

子期各种多分孢子的分布.

从表 2 可以看出 85%(133 个)的四分孢子具有正常的 4 个孢子. 六倍体四分孢子期发育是正常的, 小孢子的发育也是正常的, 花粉正常且可育(图 2). 上述观察结果表明异源六倍体染色体配对基本正常, 能形成正常四分孢子(85%)和花粉, 因此, 该六倍体完全可育, 能自交结实并保持稳定就不足为奇了.

表 2 异源六倍体 F_2"四分孢子"期各种四分孢子的分布

孢子数 a)	"四分孢子"数
3	1
4	133
5	3
6	3
7	1
8	12
9	1
>10	1
总数	155

a) 一个花粉母细胞形成的小孢子数

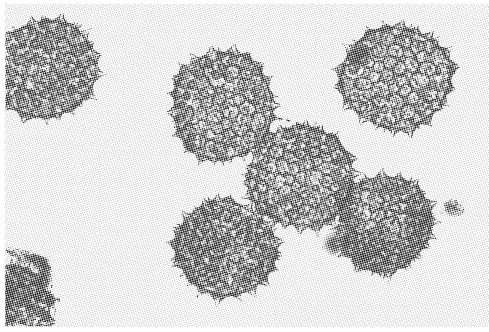

图 2 陆地棉"86-1" × 索马里棉六倍体 F_2 花粉正常可育

陆地棉 × 索马里棉异源六倍体杂种形成多价体和单价体的频率明显低于前人从其他异源六倍体杂种所获得的数据[12~14], 这些数据的比较总结于表 3.

表 3 人工合成的异源六倍体种的染色体配对

杂种	染色体构型				多价体总数	来源
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ		
2[(AD)A] a)	1.02	23.90	0.72	5.36	7.15	文献[12~14]
2[(AD)B] a)	2.19	36.17	0.38	0.51	0.91	文献[12~14]
2[(AD)C] a)	1.95	36.62	0.24	0.55	0.75	文献[12~14]
2[(AD)D] a)	1.04	30.69	0.38	3.56	4.02	文献[12~14]
$2[(AD)_1E_1]$	1.16	38.06	0.13	0.06	0.19	文献[12~14]
2[(AD)F]	0.91	34.82	0.23	1.64	2.00	文献[12]
$2[(AD)_1E_2]$ b)	0.15	38.72	0.11	0.02	0.13	本文表 1

a) 多个结果的平均数, b) F_2 和 F_3 的平均数

从表 3 的比较中发现, $2[(AD)_1E_2]$六倍体形成二价体的频率是目前合成的六倍体中最高的一个, 而形成单价体和多价体的频率则是最低的. 这说明索马里棉与 $(AD)_1$ 染色体组的亲缘关系较远.

2.2 陆地棉 × 索马里棉 F_2 杂种及后代形态特征

F_2 形态特征与 1-10F_1 基本相似, 介于陆地棉与索马里棉之间, 多数性状倾向于野生父本索马里棉. F_2 及以后世代形态特征没有明显的区别, 现在已经种植到了 F_8 代, 仍然保持 F_2 代的特征. 株高 70~80 cm, 茎秆及分枝比陆地棉细, 多年盆栽植株, 株高可达 150 cm, 与索马里棉相当; 叶 3~5 裂, 较厚, 表面粗糙, 裂片基部皱缩, 边缘不规则波状, 像破烂叶, 叶色墨绿; 花冠比陆地棉小, 花瓣黄色, 无基斑或仅具痕迹基斑, 花瓣边缘呈波状(见本期封面); 铃

圆形，表面粗糙，腺点多而明显，3~4 室，每室 1~4 粒种子，种子大小约为陆地棉的 1/2，种壳坚硬，密被绿色短绒，纤维浅棕色(图 3)，牢固附着在种子表面，拉力极强. 开花不需要严格的短日照，在北京夏季长日照能自然开花结实，但秋季更易成铃.

2.3 异源六倍体的纤维品质

从盆栽六倍体(1-10F_2)、田间种植的六倍体(1-10F_3)及回交的五倍体植株(BC_1)收集棉纤维(图 3)样品，经 HVI900 测试，结果见表 4. 六倍体的 2.5%跨长、整齐度、马克隆值与陆地棉品种相当，纤维强度比当前陆地棉品种(参考对照“石远 321”)提高了 42%. 五倍体纤维强度提高了 58%. 用陆地棉回交五倍体产生了非整倍体，其中 1 株具 31 个染色体的非整倍体(BC_2)具有高强纤维品质特性. 说明来自六倍体和五倍体的高强纤维可能是改良陆地棉的有用资源.

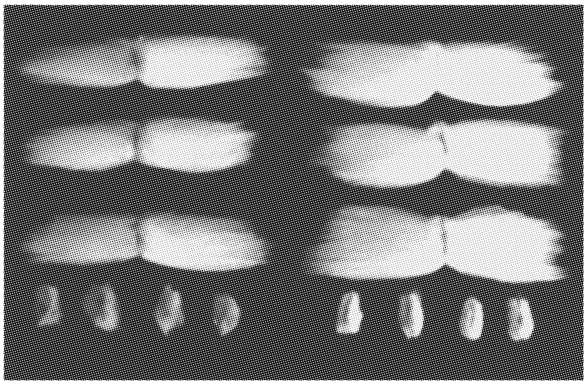

图 3 纤维和种子

左示陆地棉“86-1”×索马里棉六倍体 F_2，右示陆地棉“石远 321”

表 4 异源六倍体及五倍体纤维特性

材料	2.5%跨长/mm	整齐度/%	强度/cN·tex^{-1}	伸长率/%	马克隆值
六倍体 1-10F_2[a)]	29.7	46.5	26.8	9.7	5.0
六倍体 1-10F_3[b)]	29.4	46.5	29.7	10.0	4.9
五倍体	32.6	49.1	33.1	10.9	4.1
陆地棉“石远 321”	28.8	46.7	20.9	5.8	4.7

a) 1-10F_2 为盆栽株, b) 1-10F_3 为田间株

2.4 异源六倍体的农艺性状

异源六倍体 F_2，F_3，F_4 之间农艺性状没有明显的差异(表 5)，铃重小于 1 g，约为陆地棉品种的 20%，主要是由于每铃种子数太少，仅为陆地棉的 1/5. 衣分比陆地棉低 25%左右，不孕籽占 1/3，子指比陆地棉稍低，衣指为陆地棉的 2/3.

表 5 异源六倍体的农艺性状

材料	铃重/g	衣分/%	子指/g[c)]	衣指/g[d)]	平均每铃种子数	不孕籽率/%
1-10F_2[a)]	0.84	30.94	8.48	3.80	6.16	34.27
1-10F_3[b)]	0.89	29.46	9.26	3.87	6.79	33.63
1-10F_4[b)]	0.87	29.41	9.63	4.01	6.36	33.41

a) 1-10F_2 为室外盆栽, b) F_3 和 F_4 为田间种植, c) 每 100 粒棉籽的克数, d) 每 100 粒种子的棉纤维克数

2.5 异源六倍体的回交

异源六倍体用陆地棉回交，植物激素处理，可以得到 BC_1 杂种. 陆地棉作母本回交时，结实率很低(表 6)，授粉后 20 d 以前的棉铃和胚珠生长正常，解剖胚珠发现绝大多数胚珠具有鱼雷期胚，说明回交受精基本正常. 20 d 后幼胚发育迟缓，胚细长，子叶不分化，停止生长，因此，棉铃成熟时，绝大多数种子仅有死亡的幼胚或细长的小胚，只有极少数棉铃具有 1 或 2 个饱

满种子，这些种子中的一部分可正常萌发长成具有极强杂种优势的杂种植株(BC_1)，大田正常播种，当年秋季可长到 2~3 m 高，茎秆粗壮，直径达 5 cm，叶片大而厚，暗绿色，浅黄花瓣，无基斑．花粉母细胞染色体检查证实这些植株为五倍体($2n = 5x = 65$)，可天然自交结实．异源六倍体作母本，陆地棉作父本回交时，结实率比正交高(表 6)，约 1/3 的回交种子可萌发长成杂种植株，杂种植株形态特征与正交的相同，也是五倍体．

表 6 异源六倍体回交结果

组合	花数	成铃	种子数	大种子数	结实率/%	平均每铃大种子数	杂种植株 a)
“石远 321”×六倍体	350	332	5 700	113	1.98	0.32	12
“石远 345”×六倍体	107	95	2 133	12	0.56	0.11	2
六倍体×“石远 321”	125	68	497	316	63.58	2.53	62

a) 全部为五倍体植株

3 结论和讨论

3.1 异源六倍体的育性及稳定性

异源六倍体减数分裂基本正常，是棉属合成的异源六倍体中形成二价体频率最高的一个，形成正常四分孢子占绝对多数，约占 85%．花粉育性正常，天然自交可正常结实并稳定繁殖子代，自交后代仍然是异源六倍体，保持了染色体组和形态特征的稳定性．六倍体形态学上既能与陆地棉区分，又不同于索马里棉，因此这个六倍体杂种形成了一个独立的、可识别的自我繁殖单位(self-reproducing unit)，换言之，是一个人工合成新物种(异源多倍体)．

3.2 异源六倍体的来源及与 1-10F_1 的比较

异源六倍体由 1-10F_1 天然自交产生，它们的形态特征基本相同，但它们之间仍有 3 点区别：(ⅰ) 1-10F_1 根尖为三倍体[11]，F_2 及后代为六倍体；(ⅱ) 光周期反应，1-10F_1[11]和索马里棉[15]开花要求严格的短日照，六倍体不需要；(ⅲ) 1-10F_1 的花大于陆地棉[11]，六倍体花小于陆地棉．鉴于 1-10F_1 也可天然自交结实，并且是用秋水仙素处理的杂种胚发育而来，我们推测 1-10F_1 根尖虽然为三倍体，但植株可能为六倍体与三倍体的嵌合体，三倍体细胞不能形成正常配子产生后代，而六倍体细胞形成正常配子产生六倍体子代．因此，F_2 及后代是六倍体．

3.3 异源六倍体高强纤维的利用价值

除了 Muramoto[16]报道过 *G.hirsutum*×*G.sturtianum* 六倍体的纤维特性外，至今还未有其他人报道棉属异源六倍体具有高强的纤维品质．部分原因可能是：(ⅰ) 获得栽培棉与二倍体野生棉的异源六倍体十分困难；(ⅱ) 杂种育性低，难以收集足够可供品质分析的纤维样品．实验表明陆地棉×索马里棉六倍体具有特高强的纤维品质特性，这种高强品质还可遗传给五倍体和衍生的非整倍体及附加系，说明索马里棉具有提高纤维强度的潜力，是棉花纤维品质改良的重要种质资源．此外，索马里棉所特有的种子无棉酚[5]，植株有棉酚特性，可能是发展新型无棉酚种子的有益性状．

目前我们计划，创制附加系和易位系将索马里棉高强纤维的潜力及控制棉酚的有关基因渐渗到陆地棉，部分工作现已展开，并已初步鉴定了几个单体附加系，具有高强纤维的附加系正在鉴定当中．此外，是否能将这个高强纤维的六倍体种驯化成一个生产高强纤维棉花的异

源多倍体栽培种还有待进一步研究. 实验数据表明六倍体和五倍体的纤维品质是优良的, 衣分和衣指已接近陆地棉.

致谢 本工作为中国科学院重大项目(批准号: KZ 951-A1-101)和生物科学青年特别支持基金(批准号: STZ-00-32)资助项目.

参 考 文 献

1 Knight R L, D Sc(Lond). The distribution of wild species of *Gossypium* in the Sudan. Cotton Grow Rev, 1949, 26: 278~285

2 Saunders J H. The wild species of *Gossypium*, Ⅱ —— the C and E genomes. Cotton Grow Rev, 1959, 36: 166~178

3 Douwes H. The cytological relationships of *Gossypium areysianum* Deflens. Journal of Genetics, 1953, 51: 611~624

4 Phillips L L. The cytology and phylogenetics of the diploid species of *Gossypium*. Amer J Bot, 1966, 53(4): 328~335

5 **项时康, 杨伟华. 棉属植物种子中棉酚及其旋光体的研究. 中国农业科学**, 1993, 26(6): 31~35

6 Culp T W, Green C C. Performance of obsolete and current cultivars and Pee Dee germplasm lines of cotton. Crop Sci, 1992, 32: 35~41

7 Culp T W, Harrell D C. Breeding methods for improving yield and fiber quality of upland cotton *(Gossypium hirsutum* L). Crop Sci, 1973, 13: 686~689

8 Green C C, Culp T W. Simultaneous improvement of yield, fiber quality and yarn strength in upland cotton. Crop Sci, 1990, 30: 65~69

9 Beasley J O. The production of polyploids in *Gossypium*. J Heredity, 1940, 31: 39~48

10 **梁正兰, 姜茹琴, 钟文南. 三元杂种(海岛棉-色伯氏棉-陆地棉)的研究及新品种选育. 作物学报**, 1996, 22(6): 673~680

11 **姜茹琴, 梁正兰, 钟文南. 陆地棉×索马里棉(*G. somalense*)杂种的研究和利用. 科学通报**, 1996, 41(1): 60~64

12 Phillips L L, Strickland M A. The cytology of a hybrid between *Gossypium hirsutum* and *Glongicalyx*. Can J Genet Cytol, 1966, 8: 91~95

13 USDA. Genetics and cytology of cotton 1956~1967. Southern Cooperative Series Bulletin, 1968, 139: 18~20

14 Brown M S, Menzel M Y. Polygenomic hybrids in *Gossypium*. Ⅰ. Cytology of hexaploids, pentaploids and hexaploid combinations. Genetics, 1952, 37: 242~263

15 Mauney J R, Phillips L L. Influence of daylength and night temperature on flowering of *Gossypium*. Bot Gaz, 1963, 124(4): 278~283

16 Muramoto H. Hexaploid cotton: some plant and fiber properties. Crop Sci, 1969, 9: 27~29

(2000-02-16 **收稿**, 2000-06-02 **收修改稿**)