

小麦抗条锈新种质的创制

III 小麦抗条锈新种质细胞遗传学初步鉴定*

宋运贤^{1,2}, 李春莲¹, 陈耀锋¹, 任惠莉¹,
亢福仁³, 韩德俊¹, 郭东伟¹, 李振岐⁴

(1 西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨陵 712100; 2 淮北煤炭师范学院 生物系, 安徽 淮北 23500;
3 榆林学院, 陕西 榆林, 719000; 4 西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 从六倍体小黑麦和普通小麦杂交后代中选育了9个具不同抗条锈特性的新种质, 对其细胞学和主要性状特点进行了初步鉴定。结果表明, 抗条锈新种质材料的田间表现无不良的农艺性状; 细胞学初步鉴定表明, WT341为小麦-黑麦代换系, 其余8个材料为小麦-黑麦易位系, 并且这一易位不同于1B/1R易位。

[关键词] 普通小麦; 六倍体小黑麦; 新种质; 抗条锈; 细胞遗传学

[中图分类号] S512.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)05-0009-05

用染色体易位技术把近缘种的有益性状转移到栽培小麦中, 创制带有外源小片段易位的易位系以及对其进行细胞、分子鉴定, 是小麦遗传学家和育种学家关注和研究的重点领域^[1-8]。前文报道^[7,8]了利用远缘杂交创制了一批田间农艺性状表现良好, 对条锈病流行小种具不同抗性的普通小麦优良抗条锈新种质, 及将外缘抗条锈基因导入普通小麦的细胞遗传学基础研究。本研究在此基础上利用优良抗条锈株系与中国春杂交, 通过F₁减数分裂中期I PMC(花粉母细胞)染色体配对分析, 并结合优良抗条锈株系体细胞染色体数目鉴定、优良抗条锈株系自身PMC染色体配对分析以及田间抗病性鉴定, 对9个抗条锈新种质进行了初步鉴定, 以期能够从中鉴定出一批有价值的小片段易位系, 为以后进一步的研究和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为西北农林科技大学细胞工程实验室创制的9个具不同抗条锈特性的新种质WT252, WT343, WT341, WT212, WT3, WT20, WT257, WT207, WT372, 以中国春作对照。

1.2 试验方法

根尖细胞有丝分裂制片采用醋酸洋红染色, 体

积分数45%醋酸压片。将种子消毒后在室温条件下用水浸泡24h左右(种子露白), 均匀置于铺有吸水纸的培养皿中, 腹沟向下, 在20~24℃下培养12h, 转移至1~4℃冰箱中处理12h, 再移到培养箱中, 如此反复, 直至根长达到1.5~2.0cm, 取根尖放于0~4℃冰水混合物中预处理36h, 然后用3:1(体积分数95%乙醇:冰乙酸)的卡诺固定液固定24h, 在体积分数70%的乙醇中保存24h, 用体积分数1.5%的醋酸洋红染色12h, 体积分数45%的冰乙酸压片观察。记录各材料染色体数目及其随体的数目。

大田种植抗条锈新种质, 抗条锈新种质×中国春F₁代。翌年04-10左右, 当旗叶与倒二叶叶耳间距为3~6cm时, 于上午7:00~9:00取幼穗, 用卡诺氏固定液II(体积分数95%乙醇:三氯甲烷:冰乙酸=6:3:1)固定幼穗, 1周后置体积分数70%酒精中于冰箱中保存, 取雄蕊花药用铁矾-苏木精染色压片。

2 结果与分析

2.1 小麦抗条锈新种质根尖细胞染色体研究

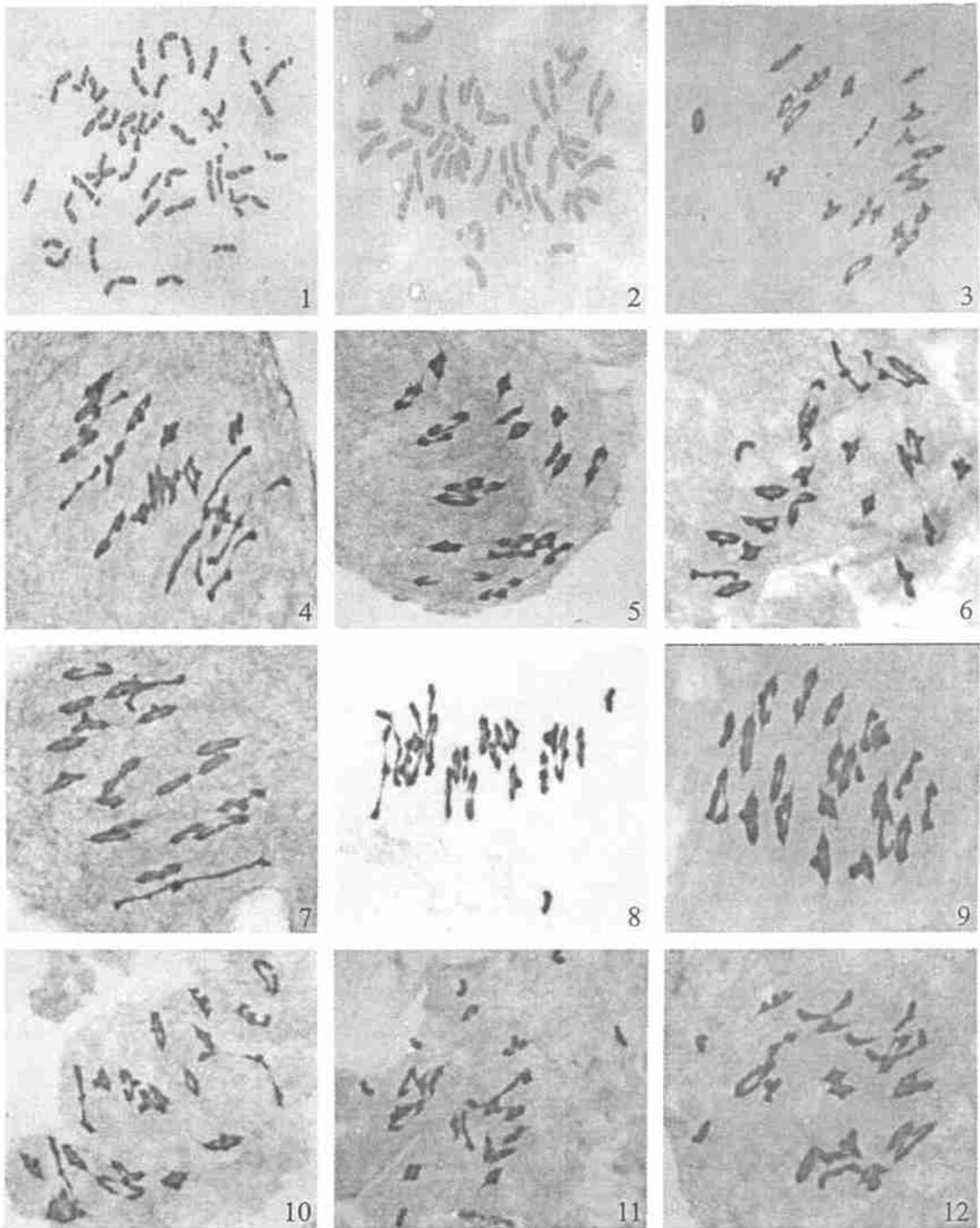
对9个具不同抗条锈特性新种质优良株系的根尖做染色体压片, 结果(图版-1, 2, 表1)表明, 9个抗条锈新种质优良株系的体细胞数目均有不同程度变

* [收稿日期] 2003-03-31

[基金项目] 国家973项目(G2000016202); 国家863项目(2001AA241037)

[作者简介] 宋运贤(1976-), 男, 江苏宿迁人, 硕士, 主要从事农业生物技术研究。

异, 其变异范围为 38~ 43, 42 条染色体出现的频率 为 80.00% ~ 90.63%。



图版 1~ 12 小麦抗条锈新种质细胞遗传学初步鉴定

1. WT3(42 条染色体; 4 个随体); 2. WT341 × CS(42 条染色体; 4 个随体); 3. 中国春(21); 4. WT207(20 + 2); 5. WT212(21);
6. SCV-3-4-103(19 + 1 + 1^{'''}); 7. WT207(19 + 1^{'''}); 8. WT212 × CS(20 + 2); 9. WT372 × CS(19 + 1 + 1^{'''}); 10. WT207 × CS(21);
11. WT372 × CS(18 + 6); 12. WT372 × CS(20 + 2)

Plates 1- 12 Cytogenetic identification of wheat new gemplasm with strip rust resistance

1. WT3(42 chromosome and 4 satellite); 2. WT341 × CS(42 chromosome and 4 satellite); 3. CS(21); 4. WT207(20 + 2); 5. WT212(21);
6. SCV-3-4-103(19 + 1 + 1^{'''}); 7. WT207(19 + 1^{'''}); 8. WT212 × CS(20 + 2); 9. WT372 × CS(19 + 1 + 1^{'''}); 10. WT207 × CS(21);
11. WT372 × CS(18 + 6); 12. WT372 × CS(20 + 2)

根据全国第一届植物染色体学术讨论会达成的共识, 统计 30 个以上细胞, 其中 85% 以上的细胞具恒定一致的染色体数, 即可认为是该植物的染色体数目。据此可以判定 W T 252, W T 341, W T 343, W T 20, W T 257, W T 207, W T 3 等 7 个株系染色体数目为 42, 基本上已经稳定。而 W T 212, W T 372 需作进一步的观察和鉴定。对 9 个抗条锈新种质优良株

系根尖体细胞染色体的随体观察表明, 虽观察的细胞不是每个都有 4 个随体, 但在相当一部分细胞中都出现了 4 个随体, 由于以 IBL/IR5 易位系为基础的洛类抗原体细胞中只有 1 对随体, 而在本研究中出现了两对随体, 结合抗病性鉴定, 有理由相信, 试验研究的抗条锈新种质是不同于 IBL/IR5 易位的抗条锈新抗原。

表 1 普通小麦抗条锈新种质优良株系的根尖细胞染色体数目

Table 1 Chromosome number of new wheat gemplasm with rust resistance

株系 Trains	统计细胞数 No. of cells observed	42 条染色体 细胞数 No. of 42 chromosome	非 42 条染色体 细胞数 No. of non 42 chromosome	变异范围 Rang of chromo- some number	42 条染色体 出现频率/% Frequency of 42 chromosome	随体变异 Rang of satellite
W T 252	39	34	5	38~ 42	87. 18	0~ 4
W T 343	33	30	3	41~ 42	90. 91	0~ 4
W T 341	45	40	5	38~ 43	88. 89	0~ 4
W T 212	30	24	6	38~ 42	80. 00	0~ 4
W T 20	32	29	3	39~ 42	90. 63	0~ 4
W T 257	31	18	3	41~ 42	90. 32	0~ 4
W T 207	31	27	4	40~ 43	87. 10	0~ 4
W T 3	35	30	5	41~ 42	85. 71	0~ 4
W T 372	31	25	6	40~ 42	80. 65	0~ 4

2.2 普通小麦抗条锈新种质 PMC 染色体的配对行为

试验观察记录了 9 个抗条锈优良株系减数分裂中期 I PMC 染色体的配对行为, 结果(表 2, 图版 3~ 7)表明, 9 个抗条锈新种质优良株系每个细胞平均有单价体 0.27 条, 二价体 20.86 对, 其中环状二

价体 17.41 对, 棒状二价体 3.45 对, 多价体 0.006 个, 异常构型率为 11.97%, 远远高于对照中国春 3.03% 的异常构型率。其中单价体频率出现最高的为 W T 207, 达到 0.39 条, 其异常构型率也是最高, 达 19.35%; 其次为 W T 372 和 W T 212; 异常构型率最低的为 W T 252(7.89%)。

表 2 普通小麦抗条锈新种质优良株系 PMC 减数分裂中期 I 的染色体构型

Table 2 Chromosome configuration of PMCM I for new wheat gemplasm with rust resistance

株系 Trains	观察细胞总数 No. of cells observed	染色体构型 Chromosome configuration					21 细胞数 NO. of 21 cell	20 + 2 细胞数 No. of 20 + 2 cell	19 + 4 细胞数 No. of 19 + 4 cell	异常构型率/% Frequency of abnormal cells
		I	Ring II	Rod II	III	IV				
W T 252	38	0.21	17.55	3.32	-	-	35	2	1	7.89
W T 343	34	0.18	17.00	3.91	-	-	31	3	0	8.82
W T 341	30	0.26	18.10	2.71	-	0.03	27	2	1	10.00
W T 212	31	0.34	17.34	3.44	0.03	-	27	3	1	12.90
W T 20	24	0.25	17.21	3.67	-	-	21	3	0	12.50
W T 257	32	0.25	17.00	3.88	-	-	29	2	1	9.38
W T 207	31	0.39	17.16	3.65	-	-	25	6	0	19.35
W T 3	32	0.19	16.59	4.28	-	-	29	3	0	9.38
W T 372	32	0.38	17.34	3.47	-	-	26	6	0	18.75
CS(CK)	33	0.06	18.76	2.21	-	-	32	1	0	3.03

2.3 小麦抗条锈新种质与中国春杂交 F₁ 减数分裂中期 I PMC 染色体的配对行为

9 个抗条锈优良株系与中国春杂交, 试验观察了杂交后代 F₁ 减数分裂中期 I PMC 染色体的配对行为, 结果(表 3, 图版 8~ 12)表明, F₁ 每个细胞平均有单价体 1.26 条, 二价体 20.14 对, 其中环状二价体 16.61 对, 棒状二价体 3.51 对, 多价体

0.131 个, 异常构型率 53.97%。其中 W T 341 × CS 异常构型率为 100%, 结合抗病性鉴定和根尖染色体数目, 可以初步断定该材料为小麦-黑麦代换系。其余 8 个材料异常构型率在 0~ 100%, 结合抗病性鉴定及根尖染色体数目, 可以初步断定为小麦-黑麦易位系。其中 W T 343, W T 372 和 W T 20 3 个材料与中国春杂交 F₁ PMC 的染色体异常构型率较高, 为

62.50%~96.88%,表明这3个材料的易位片段较大,其余则相对较小。WT212和WT32个材料只出现2个游离单价体,表明该材料涉及易位的为1对染色体;WT252,WT20和WT2573个材料除了有上述2个游离单价体外,还出现另外4个游离单价体和一定频率的多价体,表明这3个材料的易位可能涉及2对染色体的易位;WT343,WT3722个材

料除了出现正常的21,还出现了一定频率的20+2,19+4,18+6,表明这2个材料易位涉及到的染色体有3对;WT207比较特别,没有出现19+4,但出现了18+6,其遗传基础较为复杂。另外,在WT341×CS的所有观察细胞中,都有1个小黑点染色体,怀疑为B染色体,但还有待于进一步证实。

表3 小麦抗条锈新种质与中国春杂交F₁PMC减数分裂中期I的染色体构型

Table 3 Chromosome configuration in PMCM I for new gemplasm × CS

杂交组合 Crossing	观察细胞 总数 No. of cells observed	染色体构型 Chromosome configuration					21 细胞数 No. of 21	20+2 细胞数 No. of 20+2	19+4 细胞数 No. of 19+4	18+6 细胞数 No. of 18+6	异常构型率/% Frequency of abnor- mal cell
		I	Ring II	Rod II	III	IV					
WT252×CS	34	1.11	16.37	3.43	0.03	-	18	13	3	0	45.71
WT343×CS	25	1.90	16.07	3.73	0.17	-	2	21	1	1	83.33
WT341×CS	23	2.58	15.07	4.26	0.26	-	0	16	6	1	100.00
WT212×CS	30	0.72	16.69	3.97	-	-	18	12	0	0	40.00
WT20×CS	24	1.39	16.45	3.55	0.19	-	9	13	2	0	62.50
WT257×CS	32	0.91	16.47	4.03	0.03	-	22	6	4	0	34.38
WT207×CS	30	0.87	16.50	4.07	-	-	19	10	0	1	36.67
WT3×CS	22	0.97	16.94	3.19	0.26	-	15	7	0	0	31.82
WT372×CS	32	2.09	16.75	2.66	0.35	0.03	2	13	5	1	96.88
CS×CS(CK)	33	0.06	18.76	2.21	-	-	32	1	0	0	3.03

2.4 抗条锈新种质优良株系的农艺性状

试验对9个抗条锈新种质优良株系的株高、穗长、小穗数、有效小穗数、每株成穗数等农艺性状进行田间统计,结果(表4)表明,9个材料平均株高79.97 cm,最高达86.4 cm,最低为73.6 cm,与生产上的栽培品种接近;平均穗长7.34 cm,每株成穗数

平均为8.81株,小穗数平均20.11穗,有效小穗数17.69穗。综合考察9个抗条锈新种质优良株系的农艺性状,与栽培品种相比,没有严重不良的农艺性状,这就为新的抗条锈种质和基因的直接利用提供了可能。

表4 普通小麦抗条锈新种质优良株系的农艺性状

Table 4 Agronomic character of new wheat strains with rust resistance

株系 Train	株高/cm Height	穗长/cm Spike length	每株成穗数 No. of spike per plant	小穗数 No. of florets per spike	有效小穗数 No. of valid florets per spike	结实率/% Frequency of seed set
WT252	76.73	6.91	8.1	18.9	16.7	88.36
WT343	86.4	6.63	9.2	19.4	16.3	84.02
WT341	79.3	7.24	10.0	20.5	18.1	88.29
WT212	77.3	6.6	10.2	19.4	17.9	92.27
WT20	80.4	7.92	9.2	20.2	17.3	85.64
WT257	79.1	7.73	7.3	20.9	18.0	86.12
WT207	84.6	7.49	9.6	21.0	19.3	91.90
WT3	82.3	7.29	7.3	20.8	18.4	88.46
WT372	73.6	8.29	8.4	19.9	17.2	86.43

3 讨论

在小麦远缘杂交中,利用选育的优良株系与中国春杂交,通过杂种减数分裂中期I花粉母细胞染色体配对分析,并结合优良株系体细胞数目鉴定、优良株系自身花粉母细胞染色体配对分析以及结合田间某些特定性状的鉴定,可以初步判断所选的优良

株系是代换系、附加系还是易位系。陕西省农科院生物技术研究室用此方法鉴定了普通小麦与黑麦杂交培育出的陕麦8003为异源易位系,并且易位染色体可能涉及2对^[7]。本试验利用该方法对所选出的9个抗条锈生理小种优良株系进行了初步鉴定,可以初步判定WT341为小麦-黑麦代换系,其余为小麦-黑麦易位系。并且WT212,WT3涉及的易位为1对

染色体,WT252,WT20,WT257 3个材料涉及2对染色体的易位。WT343,WT372和WT207 3个材料涉及的易位较多,背景较为复杂。

利用减数分裂染色体配对,分析鉴定所选株系的染色体变异类型,不可避免的有其缺陷性,如无法准确判定变异涉及到的染色体以及易位变异时易位

片段的大小,但此方法操作方便,省时省力,在初期可以初步筛选真正有价值的育种材料。因此,笔者认为,初期可以利用此法对所选株系进行初筛,但要精确的鉴定必须结合染色体分带、原位杂交、分子定位及分子标记。本研究给出的仅仅是初步结果,需要在以后的工作中作进一步研究。

[参考文献]

- [1] 薛秀庄,吉万全,赵会贤,等. 小麦染色体工程与育种[M]. 石家庄:河北科学技术出版社,1993
- [2] 李懋学,张赞平. 作物染色体及其研究技术[M]. 北京:中国农业出版社,1996
- [3] 钟少斌,姚景侠. 普通小麦IB/4A染色体相互易位的细胞学研究[J]. 江苏农业学报,1994,10(4): 1- 5
- [4] 任正隆,张怀琼. 一个改良的染色体C带技术[J]. 四川农业大学学报,1995,13(1): 1- 5
- [5] 钟少斌,姚景侠. IB/1R易位系——“84059-4-2”的细胞学鉴定[J]. 作物学报,1991,17(5): 321- 326
- [6] Sun G L, Fahim A T, Korol A B. Identification of molecular markers linked to the Yr15 stripe rust resistance gene of wheat originated in wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*) [J]. Theor Appl Genet, 1997, 45: 622- 628
- [7] 陈耀锋,宋运贤,李振岐,等. 小麦抗条锈新种质的创制 I: 外缘抗条锈基因的导入[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(4): 19- 22
- [8] 陈耀锋,宋运贤,李春莲,等. 小麦抗条锈新种质的创制 II: 六倍体小黑麦与普通小麦杂交的细胞遗传学研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(5): 1- 4

Development of wheat new gemplasm with stripe rust resistance III Cytogenetic identification of wheat new gemplasm with stripe rust resistance

SONG Yun-xian^{1,2}, LI Chun-lan¹, CHEN Yao-feng¹, REN Hui-li¹, KANG Fu-ren³,
HAN De-jun¹, GUO Dong-wei¹, LI Zhen-qi⁴

(1 College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agricultural and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Department of Biology, Huaibei Coal Industry Teachers College, Huaibei, Anhui 235000, China;

3 Yulin College, Yulin, Shaanxi 719000, China; 4 College of Plant Protection, Northwest Sci-Tech University

of Agricultural and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Cytogenetic identification and main agronomic character of wheat new gemplasm with stripe rust resistance were conducted at this experiment. The result showed that all the new gemplasm have no bad agronomic character. WT341 is substitution line and other eight lines are translocation lines. Furthermore, this translocation is different from the IB/1R translocation.

Key words: *T. aestivum*; hexaploid triticale; new gemplasm; stripe rust resistance; cytogenetics