

# 莫迦小麦 1BS 染色体片段对 K 型小麦 雄性不育系的影响

宋喜悦, 胡银岗, 余 玲, 马翎健, 李宏斌, 何蓓如

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 【目的】拓宽 K 型杂交小麦保持系资源, 克服 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系的缺陷。【方法】对来自莫迦小麦的 1BS 染色体片段进行细胞学鉴定, 并研究将莫迦小麦 1BS 染色体片段导入 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系后, 对其育性、单倍体频率及恢复性的影响。【结果】K Tm3314A 含有莫迦小麦的 1BS 染色体, 为非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系, 该类型小麦雄性不育系具有稳定的温敏遗传特性, 单倍体频率为 0, 其平均自交结实率 (79.4%) 较 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K D<sub>3</sub>3314A (62.7%) 提高 16.7%, 且有效恢复系 (自交结实率大于 70%) 出现的频率高。【结论】莫迦小麦的 1BS 染色体片段引入 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系后, 使 K 型小麦雄性不育系具有稳定的温敏遗传特性, 其本身和 F<sub>1</sub> 代均不产生单倍体, 育性更易恢复, 恢复源广泛。

**[关键词]** 莫迦小麦; 1BS 染色体; K 型小麦雄性不育系; 恢复性

**[中图分类号]** S512.103.51

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2009)01-0105-05

## Effect on wheat CMS lines of *Ae. Kotschyi* cytoplasm by *T. macha* var. *sub* 1BS chromosomal segment transferred

SONG Xi-yue, HU Yin-gang, YU Ling, MA Ling-jian, LI Hong-bin, HE Pei-ru

(College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 12100, China)

**Abstract:** 【Objective】Using heterosis is one of the important ways to improve wheat yield. The study was done to enlarge the maintainer resources of K-type hybrid wheat, and overcome the disadvantages of 1B/1R K-type male sterile line. 【Method】K Tm3314A, which is a K-type non 1B/1R male sterile line developed from Tm3314 carrying 1BS of *T. macha*, was Preliminary identified by cytological observation, and haploid percent and fertility-restoring observation was conducted. 【Result】K-type CMS line K Tm3314A had 1BS chromosome from *T. macha* var. *sub*, which was no-1B/1R male sterile wheat line, and had stable photo-temperature sensitivity, no haploid produced, fertility-restoring improved by 16.7 percent, and effective restoring lines (restoring degree was more than 70%) increased. 【Conclusion】It is easily restored in fertility, produces no haploids in reproduction, and has high temperature-sensitivity, thus it is helpful in wheat hybrid breeding.

**Key words:** *T. macha* var. *sub*; 1BS chromosome; K-type wheat male sterile line; restorability

现有 K 型小麦雄性不育系的保持系, 绝大部分为 1B/1R 易位系, 而 1B/1R 类型小麦一般品质不佳、易穗发芽、诱导 K 型小麦不育系产生频率不等

的单倍体, 且由于条锈病生理小种的变迁, 大部分 1B/1R 类型小麦已丧失抗锈性, 这使 K 型小麦不育系的保持系资源日趋匮乏, 使选育更高产、优质、抗

\* [收稿日期] 2008-01-16

[基金项目] 国家“863”计划项目(2001AA241043)

[作者简介] 宋喜悦(1968—), 男, 内蒙古赤峰人, 副教授, 博士, 主要从事两系杂交小麦研究。E-mail: songxiyue@126.com

[通信作者] 何蓓如(1944—), 男, 陕西陇县人, 教授, 博士生导师, 主要从事两系杂交小麦研究。

病杂交小麦的难度增加。因此选育非 1B/1R 类型 K 型小麦不育系,对于 K 型杂交小麦的生产应用具有十分重要的意义。

Mukai 等<sup>[1]</sup>、何蓓如<sup>[2-3]</sup>根据斯卑尔脱小麦 T 型恢复基因  $Rf_3$  和 K 型不育基因  $rfv_1$  在 1B 染色体短臂上紧密连锁,发明了一种选育非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系和保持系的染色体转移方法,利用此法转育而成非 1B/1R 类型 K 型不育系。宋喜悦等<sup>[4]</sup>研究认为,来自斯卑尔脱小麦的 K 型主效不育基因是具有温敏特性的雄性不育基因,具有育性转换的特性。

莫迦小麦 (*Triticum macha* var. sub) 为 AABBDD 的六倍体小麦,即可恢复 T 型不育又能保持 K 型不育,因而具有 T 型恢复基因和 K 型不育基因<sup>[5]</sup>。宋喜悦等<sup>[6]</sup>研究认为,莫迦小麦的 T 型恢复基因与 K 型不育基因在 1BS 染色体紧密连锁,以莫迦小麦基因组中的 T 型恢复基因为标记,将 K 型不育基因导入到 T 型细胞质的普通小麦  $D_23314$  中,选育出具有 K 型不育基因的材料 Tm3314,进而转育成非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K Tm3314A。为拓宽 K 型杂交小麦的保持系资源,克服 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系的缺陷,本研究以非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K Tm3314A 及其保持系 Tm3314、遗传型相似的 1B/1R 类型 K 型雄性不育系 K  $D_23314A$  及其保持系  $D_23314$  为材料,对来自莫迦小麦的 1BS 染色体进行细胞学初步鉴定,从育性变化、单倍体频率及恢复性方面,研究莫迦小麦的 1BS 染色体对 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系的影响,以期为非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系的选育提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

K Tm3314A 为非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系, Tm3314 为其同型保持系; K  $D_23314A$ 、K119A 为 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系,  $D_23314$ 、119 为其同型保持系; 品种(系)13-21、X891、温麦 6 号、早优 504、F941 和 9062 为对 K 型小麦雄性不育系具有不同恢复力的恢复系。以上材料均由西北农林科技大学两系杂交小麦课题组提供。

### 1.2 根尖染色体制片

将 Tm3314 和  $D_23314$  种子分别消毒,用冷水浸泡 24 h 后,均匀置于铺有吸水纸的培养皿中,在 25℃ 恒温下发芽,当根长至 1~2 cm 时,剪取根尖于冰

水中预处理 24 h,然后用卡诺固定液固定 2~3 d,用改良品红染色、压片,在光学显微镜下观察照相。

### 1.3 育性试验

2003-05 以 Tm3314 为父本,与 K  $D_23314A$  杂交,获得 K  $D_23314A$ /Tm3314 杂种  $F_1$ ,当年秋季播种 K  $D_23314A$ 、(K  $D_23314A$ /Tm3314)  $F_1$  和 K Tm3314A。

2004-05 对以上材料进行剪穗试验,在抽穗期每株任选 1~2 穗套袋自交,从基部 2~3 节间剪去其他穗茎,当日适量施肥灌水,促进休眠芽萌发,再生出分蘖,5 月下旬再生分蘖抽穗后套袋自交,6 月份进行育性调查。

对 K Tm3314A 再生分蘖穗分单株收获,选 3 株自交结实率大于 30% 的单株,分别编号为 K Tm3314A-1、K Tm3314A-2 和 K Tm3314A-3。2004-10 将以上自交种子分株系秋播。2005 年在小麦抽穗期对 3 个株系进行剪穗试验,6 月对正季分蘖穗及剪穗再生分蘖穗的育性进行调查。

### 1.4 单倍体发生频率的调查

对 K Tm3314A 和 K  $D_23314A$  群体的单倍体频率进行调查:

$$\text{单倍体频率}/\% = \frac{\text{单倍体株数}}{\text{总株数}} \times 100\%。$$

### 1.5 恢复性的调查

为了观察导入莫迦小麦 1BS 染色体片段对 K 型小麦雄性不育系恢复性的影响,2003-05,以 6 个已知对 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系具有不同恢复力的品种(系)为父本,分别与 K Tm3314A 和 K  $D_23314A$  进行测交,当年秋播 12 个  $F_1$  组合。2004 年小麦抽穗后对每个组合随机套袋 10 穗,灌浆后期进行育性调查,估算自交结实率:

$$\text{自交结实率}/\% = \frac{\text{有效小穗基部两朵小花的结实数}}{(\text{有效小穗数} \times 2)} \times 100\%。$$

## 2 结果与分析

### 2.1 莫迦小麦 1BS 染色体的细胞学鉴定

K Tm3314A 的保持系 Tm3314,是以莫迦小麦 T 型主效恢复基因  $Rf_3$  与其 K 型主效不育基因  $rfv_1$  在 1BS 染色体紧密连锁的事实为基础,利用莫迦小麦基因组中 T 型主效恢复基因  $Rf_3$  作为筛选标记选育而成。

对 Tm3314 和  $D_23314$  的根尖体细胞染色体进行镜检(图 1)发现,1B/1R 易位系  $D_23314$  的根尖细胞内只含有 2 个随体染色体,而 Tm3314 则含有 4

个随体染色体。说明 Tm3314 含有来自莫迦小麦 1B 染色体短臂片段, K Tm3314A 为含有莫迦小麦

1B 染色体短臂片段的 K 型小麦雄性不育系。

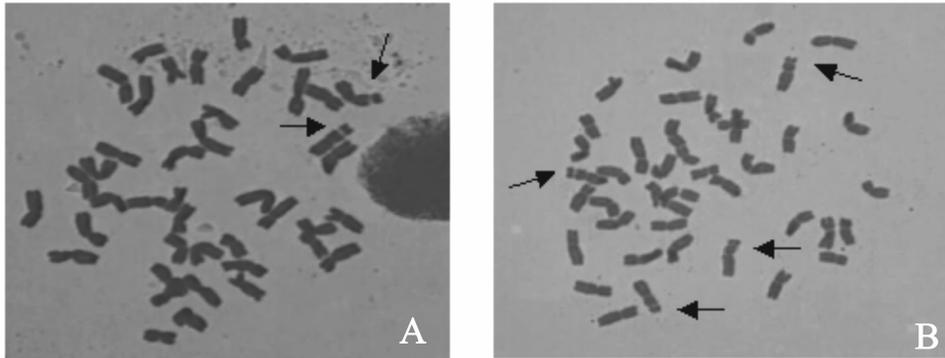


图 1 莫迦小麦 1BS 染色体的细胞学鉴定结果( $\times 100$ )

A.  $D_23314$  的体细胞染色体; B. Tm3314 的体细胞染色体; 箭头示随体染色体。

Fig. 1 Cytological characteristics of *T. macha* var. sub( $\times 100$ )

A. Chromosomes of  $D_23314$  somatic cell; B. Chromosomes of Tm3314 somatic cell; Arow represent satellite chromosomes

## 2.2 莫迦小麦 1BS 染色体对 K 型小麦雄性不育系育性的影响

从表 1 可以看出,所有材料的正季秋播分蘖穗均不结实,其套袋自交结实率为 0; K  $D_23314A$  的剪穗再生分蘖穗仍不结实,而 (K  $D_23314A$ /Tm3314) $F_1$  和 K Tm3314A 的剪穗再生分蘖穗则自交结实,自交结实率分别为 15.2% 和 26.4%。表明 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K  $D_23314A$  对主要气象因子日长和气温均不敏感,为稳定的非敏感型不育系;而含有莫迦小麦 1B 染色体短臂片段的 K 型小麦雄性不育系 K Tm3314A 对主要气象因子日长和气温均敏感,在一定条件下可由不育转换为可育。说明来源于莫迦小麦的 K 型小麦雄性不育基因具有光、温敏感特性。

表 1 不同类型 K 型小麦雄性不育系的自交结实率

Table 1 Selfed seeds rate of different K-type male sterile lines %

不育系 Sterile line	正季分蘖 Normal tiller	再生分蘖 Regenerating tiller	%
K $D_23314A$	0	0	
(K $D_23314A$ /Tm3314) $F_1$	0	15.2	
K Tm3314A	0	26.4	

从表 2 可以看出, K Tm3314A-1、K Tm3314A-2 和 K Tm3314A-3 3 个株系所有单株的正季分蘖穗套袋自交仍不结实,而再生分蘖穗则自交结实,其自交结实率分别为 36.5%, 31.1% 和 24.9%, 表明 K Tm3314A 对光温敏感的育性转换特性是可以稳定遗传的。

表 2 非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K Tm3314A 3 个株系的平均自交结实率

Table 2 Seed setting rate of 3 K-type non-1B/1R sterile lines %

不育株系 Sterile line	正季分蘖 Normal tiller	再生分蘖 Regenerating tiller	%
K Tm3314A-1	0	36.5	
K Tm3314A-2	0	31.1	
K Tm3314A-3	0	24.9	

## 2.3 莫迦小麦 1BS 染色体对 K 型小麦雄性不育系单倍体频率的影响

将 1B/1R 易位系导入 K 型细胞质中,产生不育的同时还诱导产生一定频率的单倍体。笔者经多年观察发现, 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K  $D_23314A$  有少数单倍体产生,而非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K Tm3314A 未见有单倍体产生。2003 年扩大调查群体(表 3)发现, K Tm3314A 群体未发现有单倍体产生,而 K  $D_23314A$  群体则有 2.1% 的单倍体。说明将莫迦小麦的 1B 染色体短臂导入 K 型小麦雄性不育系后,可以解决 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系产生单倍体的问题。

表 3 两种类型 K 型小麦雄性不育系的单倍体频率

Table 3 Haploid frequency of two types of wheat K-type CMS lines

不育系 Sterile line	调查株数 No. of plants	单倍体株数 No. of haploids	单倍体频率/% Haploid frequency
K $D_23314A$	1 143	24	2.1
K Tm3314A	1 615	0	0

## 2.4 莫迦小麦 1BS 染色体对 K 型小麦雄性不育系恢复性的影响

由表 4 可见,6 个品种(系)对 K D<sub>2</sub>3314A 均具有不同恢复度,其 F<sub>1</sub> 的自交结实率为 42.0%~80.9%,而 6 个品种(系)的杂交组合中自交结实率大于 70%的仅仅占 33%,恢复能力变化较大;而 K

Tm3314A 的恢复度较 K D<sub>2</sub>3314A 平均高 16.7% ( $P < 0.01$ ),并且有效恢复系(杂交组合的自交结实率大于 70%)出现频率提高,表明莫迦小麦 1BS 染色体片段导入后,使非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系较 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系更具易恢复性。

表 4 2 种类型 K 型小麦雄性不育系与 6 个材料杂交 F<sub>1</sub> 的自交结实率

Table 4 Seed setting rate of hybrid of two sterile lines with 6 wheat materials

不育系 Sterile line	13-21	X891	温麦 6 号 Wenmai 6	早优 504 Zaoyou 504	F941	9062	平均值 Mean
K D <sub>2</sub> 3314A	75.7	50.2	58.6	80.9	42.0	68.9	62.7
K Tm3314A	85.5	73.8	75.2	83.0	74.6	84.1	79.4

## 3 讨论

### 3.1 1B/1R 类型和非 1B/1R 类型小麦的随体染色体

一般情况下,异源染色体片段很难与小麦染色体之间发生交换重组。Koebner 等<sup>[7]</sup>认为,黑麦 1RS 和小麦 1BS 染色体的异源联会重组频率仅为 0.4%。Graybosch<sup>[8]</sup>认为,外源染色体片段一旦稳定结合到小麦染色体上,该片段将不会在 *Ph1* 基因存在条件下与小麦染色体发生重组,而将作为一个整体进行遗传。王小利等<sup>[9]</sup>研究发现,1BL/1RS 在减数分裂双线期和终变期始终以“棒状二价体”形式出现,说明 1RS 与 1BS 之间没有产生交叉,很难发生易位。Tm3314 是以莫迦小麦的 T 型主效恢复基因 *Rf<sub>3</sub>* 与其 K 型主效不育基因 *rfv<sub>1</sub>* 在 1BS 染色体紧密连锁为基础,利用莫迦小麦基因组中的 T 型主效恢复基因 *Rf<sub>3</sub>* 作为筛选标记选育而成。本研究对 Tm3314 和 D<sub>2</sub>3314 的根尖体细胞染色体镜检发现,1B/1R 易位系 D<sub>2</sub>3314 的根尖体细胞内只含有 2 个随体染色体,而 Tm3314 则含有 4 个随体染色体。说明莫迦小麦的 1B 短臂替换了 1B/1R 易位系的 1R 短臂,作为一个整体遗传给了 Tm3314。

### 3.2 导入莫迦小麦 1BS 染色体对 K 型小麦雄性不育系育性的影响

傅大雄等<sup>[10]</sup>培育的 KM 型光温敏不育系为 1B 核型的不育系,在四川重庆正季秋播的短日照、低温条件下表现为雄性不育,而在青海西宁夏播的长日照、高温条件下自交可育,认为长日照、高温能提高 K 型异质小麦的结实率。何蓓如<sup>[3]</sup>将斯卑尔脱小麦 1B 染色体短臂上的温敏基因导入普通小麦,培育了 YS 型小麦温敏雄性不育系,其正季播种雄性不育性稳定,特定气候条件下育性转换明显。本研究结果表明,K Tm3314A 具有光温敏感的育性转换特性,

其对光温敏感的育性转换特性是可以稳定遗传的。

### 3.3 导入莫迦小麦 1BS 染色体对 K 型小麦雄性不育系单倍体频率及恢复性的影响

Mukai 等<sup>[11]</sup>研究认为,异源细胞质诱导的小麦单倍体是未受精卵细胞孤雌生殖产生的,受细胞质及来自黑麦 1RS 上控制孤雌生殖 *Ptg* 基因的双重控制。张改生<sup>[12]</sup>研究认为,1B/1R 类型小麦雄性不育系有产生单倍体的内在遗传因素,是 1B/1R 易位染色体与异源细胞质互作产生雄性不育后所带有的一种细胞质效应,其单倍体频率的高低与 1BL/1RS 易位片段的大小直接相关。与 T 型不育系相比,1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系既易保持又易恢复,但恢复力高的材料较少。Mukai 等<sup>[13]</sup>通过对中国春端体进行分析,确定在斯卑尔脱小麦 1BS 上有 1 个与 K 型细胞质互作产生雄性不育的 *rfv<sub>1</sub>* 隐性不育基因,其显性恢复基因 *Rfv<sub>1</sub>* 位于中国春小麦 1BS 上。1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系表现不育的原因是,不育系核内正常 1BS 被 1RS 所代换,致使 *Rfv<sub>1</sub>* 基因丢失,而 1RS 片段上并不带有 *Rfv<sub>1</sub>* 基因。

傅大雄等<sup>[10]</sup>培育的 KM 型光温敏不育系丢掉了 1B/1R 易位染色体,从根本上解决了 K 型细胞质与 1RS 互作诱导产生单倍体的问题,作为 1B 核型的不育系,KM 型光温敏不育系摆脱了易位染色体对育性的影响,其恢复源广泛。宋喜悦等<sup>[14]</sup>研究发现,非 1B/1R 类型 K 型不育系本身不产生单倍体,其杂交种 F<sub>1</sub> 极少产生或不产生单倍体,非 1B/1R 类型 K 型小麦不育系比 1B/1R 类型 K 型小麦不育系更易恢复。本试验对含有莫迦小麦 1B 染色体短臂片段非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系 K Tm3314A 与含有 1R 染色体短臂片段的 1B/1R 类型小麦雄性不育系 K D<sub>2</sub>3314A 进行了比较,结果表明,莫迦小麦的 1B 染色体短臂导入 K 型小麦雄性

不育系后,不仅克服了K型小麦雄性不育系产生单倍体的缺点,而且更易于恢复,更有利于选育出恢复度好的杂交组合。

## 4 结 论

具有莫迦小麦K型不育基因的非1B/1R类型K型小麦雄性不育系K Tm3314A,具有稳定的温敏遗传特性,该类型小麦雄性不育系不产生单倍体,育性更易恢复,恢复源广泛。

## [参考文献]

- [1] Mukai Y, Tsunewaki K. Basic studies on hybrid wheat breeding. VIII. A new male sterility fertility restoration system in common wheat utilizing the cytoplasm of *Aegilops kotschy* and *Ae. Variabilis* [J]. Theor Appl Genet, 1979, 54(4): 153-160.
- [2] 何蓓如. 一种选育小麦雄性不育保持系和不育系的方法: 中国, ZL94116837. X [P]. 1998-12-25.  
He P R. A method of screening wheat maintainer line and male sterile line; China, ZL94116837. X [P]. 1998-12-25. (in Chinese)
- [3] 何蓓如. 一种选育适应中国黄淮麦区的小麦温敏不育系的方法: 中国, ZL00105488. 0 [P]. 2004-03-10.  
He P R. A method of screening thermo-sensitive male sterile wheat line adapting Huang-Huai(the valleys of Huanghe river and Huaihe river) winter wheat production area; China, ZL00105488. 0 [P]. 2004-03-10. (in Chinese)
- [4] 宋喜悦, 何蓓如, 马翎健, 等. 小麦温敏不育系 A3314 温敏不育性的遗传研究 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(6): 1095-1099.  
Song X Y, He P R, Ma L J, et al. Genetic studying of thermo-sensitive male sterility on thermo-sensitive male sterile wheat line A3314 [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(6): 1095-1099. (in Chinese)
- [5] Kihara H, Tsunewaki K. Basic studies on hybrid wheat breeding, carried out at the National Institute of Genetics [J]. Seiken Zihon, 1966, 18: 55-63.
- [6] 宋喜悦, 董普辉, 胡银岗, 等. 莫迦小麦 (*Triticum macha*) 的 T 型恢复基因  $Rf_3$  和 K 型不育基因  $rfv_1$  的连锁关系 [J]. 作物学报, 2008, 34(10): 1757-1761.  
Song X Y, Dong P H, Hu Y G, et al. Linkage of T-type restorer gene  $Rf_3$  and K-type male sterile gene  $rfv_1$  in *Triticum macha* [J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(10): 1757-1761. (in

Chinese)

- [7] Koeber R M D, Shepherd K W. Controlled introgression to wheat of genes from rye chromosome arm 1RS by induction of allosyndesis. I. Isolation of recombinants [J]. Theor Appl Genet, 1986, 73(2): 197-208.
- [8] Graybosch R A. Uneasy unions: Quality effects of rye chromatin to wheat [J]. Journal of Cereal Science, 2001, 33: 3-16.
- [9] 王小利, 张改生, 刘宏伟, 等. 几类异质 1B/1R 易位型小麦雄性不育系细胞学特征的研究 [J]. 西北植物学报, 1999, 19(4): 642-647.  
Wang X L, Zhang G S, Liu H W, et al. Studies on cytological characteristic of several male sterile lines of alloplasmic 1B/1R wheat [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 1999, 19(4): 642-647. (in Chinese)
- [10] 傅大雄, 阮仁武. KM 型核质互作小麦光温敏雄性不育的发现与两系杂交小麦的拓建 [J]. 西南农业学报, 1993, 9(1): 117-118.  
Fu D X, Ruan R W. Discovery of photo and temperature sensitive character of KM-type male sterile of wheat and breeding of two-line hybrid wheat [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 1993, 9(1): 117-118. (in Chinese)
- [11] Mukai Y, Tsunewaki K. Genetic diversity of the cytoplasm in *Triticum* and *Aegilops*: IV. Distribution of the haploid-inducing cytoplasm [J]. Theor Appl Genet, 1976, 48: 9-16.
- [12] 张改生. 粘、易型 1B/1R 小麦雄性不育系产生单倍体的遗传机理及育性恢复性能的研究 [J]. 遗传学报, 1992, 1(3): 266-277.  
Zhang G S. Studies of genetic mechanism of haploid induced by male sterile lines of 1B/1R wheat with *Ae. kotschy*, *Ae. variabilis* cytoplasm and its performance of fertility restoration [J]. Acta Genetica Sinica, 1992, 1(3): 266-277. (in Chinese)
- [13] Mukai Y, Endo T R. Physical mapping of a fertility restoring gene against *Aegilops kotschy* cytoplasm in wheat [J]. Jpn J Genet, 1992, 67: 199-207.
- [14] 宋喜悦, 方鹏, 马翎健, 等. 非 1B/1R 类型和 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系比较研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2002, 30(1): 1-4.  
Song X Y, Fang P, Ma L J, et al. A comparison of wheat CMS lines of *Ae. kotschy* cytoplasm of No 1B/1R type and 1B/1R type [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 2002, 30(1): 1-4. (in Chinese)