

DOI: 10.3724/SP.J.1011.2011.01011

小麦远缘杂交种质资源创新*

安调过 许红星 许云峰

(中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心 石家庄 050022)

摘要 小麦近缘种是改良小麦的一个重要基因库,具有许多栽培小麦所不具备的优良特性。我们通过远缘杂交、染色体工程的方法创制了一大批不同类型的材料,经基因组原位杂交 GISH、多色 FISH 和特异分子标记鉴定,抗条锈病、白粉病、叶锈病鉴定,品质、营养性状以及产量性状鉴定,共选育出 10 类可为育种家利用的抗病、优质、富含微量营养元素、氮高效、丰产性状优良的远缘杂交新种质和新不育系种质;开发了 414 对黑麦基因组专化的 EST 引物,31 个黑麦染色体(臂)专化的 EST 分子标记,可应用于分子标记辅助育种,或追踪检测小麦背景中的黑麦染色体或染色体片段;进行了抗病新基因的遗传分析和分子标记定位工作。利用新种质,选育出了一批表现突出的抗病、营养高效的小麦-黑麦、小麦-冰草远缘杂交新品系。

关键词 黑麦 冰草 新种质 远缘杂交 小麦

中图分类号: S326 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2011)05-1011-09

Enhancement of wheat distant hybridization germplasm

AN Diao-Guo, XU Hong-Xing, XU Yun-Feng

(Center for Agricultural Resources Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050022, China)

Abstract The related species of Triticinae are important and valuable gene resources for molecular improvement of wheat (*Triticum aestivum* L.). These species have a number of distinct characteristics that common wheat varieties simply do not have. Through distant hybridization and chromosome engineering in the past years, a number of new germplasms, including wheat ("Xiaoyan 6")-rye ("German white") addition, substitution and translocation lines, have been developed and characterized. The sequential genome *in situ* hybridization (GISH) and multi-color fluorescence *in situ* hybridization (FISH), specific molecular markers, combining with disease resistance evaluation and nutrition, quality and yield identification had screened 10 kinds of new wide hybrid germplasms, including sterile lines. The screened germplasms were highly resistant to stripe rust, leaf rust and powdery mildew. Some hybrid germplasms were also of high quality, enriched Zn and Fe, high nutrient efficiency and desirable agronomic traits. These traits made the germplasms new and valuable for effective wheat breeding. Also 414 new EST (expressed sequence tag) markers specific to rye genome and 31 new markers specific to rye chromosome arms had been developed. These molecular markers could be used in marker-assisted selection breeding or to rapidly detect corresponding rye chromosomes or chromosome segments introgressed into wheat background. The identification and mapping of new resistant genes derived from wheat relatives were ongoing. Some new advanced lines of wheat-rye and wheat-*Agropyron cristatum* were being developed for release as new cultivars.

Key words Rye, *Agropyron cristatum*, New germplasm, Distant hybridization, Wheat

(Received Mar. 25, 2011; accepted Jul. 7, 2011)

作物种质资源,又称作物品种资源、遗传资源、基因资源。它蕴藏在作物各类品种、品系、类型、野生种和近缘植物中,是改良农作物的基因来源,也是培育作物高产、抗病、抗逆、营养高效、优质

新品种的物质基础^[1]。

当前在我国小麦主产区,小麦高产、稳产的主要限制因子是品种的综合抗病性差,其中白粉病、条锈病的危害较大,是影响小麦高产、稳产的关键。

* 国家自然科学基金项目(30471079, 30940046)、国家科技支撑计划项目(2001BA511B, 2006BAD13B02)和国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2006AA10Z1D4, 2011AA100103)资助

安调过(1965~),女,博士,研究员,研究方向为小麦种质创新、优异基因的发掘和聚合育种。E-mail: andiaoguo@163.com

收稿日期: 2011-03-25 接受日期: 2011-07-07

究其原因主要是由于抗病基因资源单一,尤其是随着来自黑麦 1RS 上抗病基因在我国大部分地区相继丧失抗病性,导致小麦白粉病、条锈病在全国范围内多次流行。目前含其他抗白粉病、条锈病基因及供大面积推广应用的抗病品种较少^[2];参加国家及各省区域试验的小麦品种(系)的抗病性现状也不容乐观^[3],所以小麦生产随时都面临着白粉病、条锈病等流行的危险。因此,小麦育种急需创造新的抗病种质,增加抗病基因的多样性,以尽快改变抗源单一的不利局面。

另一方面,目前粮食生产普遍存在的问题是肥料投入过大,尤其是氮肥投入过大,导致粮食生产成本增加以及生态环境污染。培育氮高效的小麦品种是提高氮素利用效率,降低氮素对环境污染的重要途径^[4]。因此,创制鉴定氮高效的小麦新种质,可为培育氮高效小麦品种奠定物质基础。

由于主要粮食作物中微量营养元素缺乏导致的人类微量营养元素缺乏症(隐性饥饿),已经成为全世界普遍存在和关注的重要问题。发掘籽粒富含微量营养元素铁(Fe)、锌(Zn)的小麦种质资源,可为旨在提高微量营养元素的小麦生物强化育种奠定种质基础^[5]。

小麦的近缘种是一个巨大的、弥足珍贵的基因资源库,蕴藏着非常丰富的遗传变异,具有许多栽培小麦所不具备的优良特性,如抗病、抗逆、耐瘠薄,高营养、高蛋白和大穗多花多粒等^[6-7]。因此,应用远缘杂交、染色体工程的方法,将近缘种中的优良基因导入普通小麦基因组中,利用细胞分子生物学鉴定技术发掘、标记和利用近缘种染色体上潜在的抗病基因、营养高效基因、适应性和丰产性的基因,创制远缘杂交新种质基因资源,可进一步拓宽小麦的遗传基础,提高其生产潜力,培育出多抗、营养高效、广适、稳产型的小麦新品种,以保障我国的粮食安全。

1 小麦种质资源创新

1.1 小麦-黑麦种质资源

1992~1994年,在钟冠昌、穆素梅两位先生的指导下,作者开展了小麦近缘种抗病性鉴定筛选工作,获得了对条锈病和白粉病免疫或近免疫的黑麦品种“德国白”(Secale cereale L. cv. German white, 2n=14, RR);随后陆续选育出了14种7个部分同源群的“小偃6号”缺体系列。为了将黑麦“德国白”的抗病性导入优质、早熟的新一代骨干亲本“小偃6号”中,自1995年始,陆续将“小偃6号”(或“小偃6号”缺体)与黑麦品种“德国白”进行远缘杂交,通过幼胚拯救、

半浸根法的秋水仙素染色体加倍^[8],再以“小偃6号”(或“小偃6号”缺体)回交或连续自交,在每个世代苗期及成株期鉴定对条锈病的抗性,并自然诱发或人工接种鉴定对白粉病的抗性,通过细胞学鉴定,基因组原位杂交 GISH、多色 FISH 和特异分子标记等技术鉴定,创制出了一批高抗条锈病、白粉病,品质或产量性状优良的小麦-黑麦附加系、异代换系和易位系新种质^[9-10]以及新不育系种质,并在此基础上选育出了抗病、高产的小麦-黑麦远缘杂交新品系。

1.1.1 高抗条锈病、优质的 T1BL 1RS 易位系新种质 WR9502-14

WR9502-14 为一个新型小麦-黑麦 T1BL 1RS 易位系,苗期和成株期均高抗条锈病当前流行菌系,显著特点是品质优于亲本“小偃6号”及优质对照品种“高优503”。

具体选育过程:从“小偃6号”与黑麦品种“德国白”杂交后代中,筛选出了细胞学稳定(2n=42)、综合农艺性状良好的8个株系。由中国农业科学院植物保护研究所对8个株系进行了抗病性鉴定。结果表明除14-51外,其余7个株系(包括WR9502-14-6)均高抗至近免疫条锈病混合菌系(30号、31号、32号和水源致病类型4),反应型/严重度/普遍率为0;~1/5/10。温室苗期分别接种鉴定对条锈菌生理小种CY30、CY31、CY32的抗性,均表现为0级;水源致病类型4为0;级。

在 Adelaide 大学植物科学系,利用 Squash Blot 的方法(method for the detection of the rye telomere)检测黑麦染色质,结果表明包括 WR9502-14-6 株系在内的7个小麦-黑麦材料,全显示含有黑麦染色体或染色体片段(表1)。进一步以黑麦基因组为探针的原位杂交 GISH 的结果显示,WR9502-14 为一个含有黑麦染色体片段的稳定的易位系(图略)。

表 1 Squash Blot 检测黑麦染色质的结果

Table 1 Squash Blot experimental results of rye chromatin					
编号	ID	种质材料	Germplasm material	结果	Result
1		Angas CK		-	
2		6R(6D) CK		+	
7		高优 503	Gaoyou 503	-	
8		小偃 6 号	Xiaoyan 6	-	
9		藁城 8901	Gaocheng 8901	-	
14		WR9502-14 (1)		+	
15		WR9502-14 (2)		+	
16		WR9502-14-2		+	
17		WR9502-14-3		+	
18		WR9502-14-4		+	
19		WR9502-14-6		+	
20		WR9502-14-7		+	
32		Wylash sp-2		-	

在南澳大利亚科学与发展研究院(SARDI)谷物品质实验室,分析 WR9502-14 的高分子量麦谷蛋白亚基组成为(1, 14+15, 2+12),与亲本“小偃 6 号”的组成相同。聚丙烯酰胺不溶蛋白质的含量(SDS-insoluble protein, %)与面团强度(dough strength)呈正相关,据此可以预测小麦的加工品质。利用在早代样品比较少时就可进行品质分析的微量、快速的新方法(Turbidity

Assay)对 WR9502-14 的蛋白质进行测定,结果筛选出株系 WR9502-14-6 的品质(%UP=36.60%)达到甚至超过了对照“小偃 6 号”(35.51%)和“高优 503”(36.04%)(表 2)。保留抗病、品质优良的株系 WR9502-14-6 作为优质种质材料 WR9502-14。田间农艺性状的调查表明,种质材料 WR9502-14 株高 75 cm 左右,穗子方型,综合农艺性状良好,熟相好。

表 2 Turbidity-聚丙烯酰胺不溶蛋白质的含量
Table 2 Turbidity-SDS-insoluble protein

编号 ID	种质材料 Germplasm material	Soluble fraction		Insoluble fraction		Total OD	%UP
		Raw OD	OD-blank	Raw OD	OD-blank		
5	高优 503 Gaoyou 503	0.322	0.268	0.205	0.151	0.419	36.04
6	小偃 6 号 Xiaoyan 6	0.399	0.345	0.244	0.190	0.535	35.51
7	藁城 8901 Gaocheng 8901	0.309	0.255	0.233	0.179	0.434	41.24
12	WR9502-14 (1)	0.348	0.294	0.189	0.135	0.429	31.47
13	WR9502-14 (2)	0.434	0.380	0.170	0.116	0.496	23.39
14	WR9502-14-2	0.368	0.314	0.196	0.142	0.456	31.14
15	WR9502-14-3	0.382	0.328	0.219	0.165	0.493	33.47
16	WR9502-14-4	0.397	0.343	0.221	0.167	0.510	32.75
17	WR9502-14-6	0.352	0.298	0.226	0.172	0.470	36.60
18	WR9502-14-7	0.365	0.311	0.201	0.147	0.458	32.10
28	QC1-Halberd	0.370	0.316	0.103	0.049	0.365	13.42
29	QC2-Glenlea	0.199	0.145	0.171	0.117	0.262	32.87
30	QC3-Kukri	0.246	0.192	0.148	0.094	0.286	44.66

1.1.2 高抗条锈病、白粉病的 T1BL 1RS 易位系新种质 WR9504-5

WR9504 为一个新型小麦-黑麦 T1BL 1RS 易位系,高抗条锈病和白粉病,携带有未知的抗条锈病及抗白粉病的新基因或基因组合,显著特点是群体性好。

具体选育过程:从“小偃 6 号”与黑麦品种“德国白”杂交后代中选育出的 WR9504,由中国农业科学院植物保护研究所进行的苗期分小种抗病性鉴定的结果表明,该种质免疫至近免疫条锈病生理小种 CY26,免疫 CY31,近免疫至高抗 CY32,中感 CY28 和 CY30(表 3)。条锈病成株期抗性鉴定结果表明,WR9504 免疫条锈病的混合小种(CY32 号、CY31 号、

CY30 号、CY29 号、Su-4、Su-6、Su-11、Su-12); 免疫 CY31 和 CY32(表 4)。

表 3 WR9504 苗期条锈病抗性鉴定
Table 3 Stripe rust resistance in WR9504 at the seedling stage

种质材料 Germplasm material	条锈病生理小种 Physiological races of stripe rust				
	CY26	CY28	CY30	CY31	CY32
WR9504-10	0;	2+	3-	0	2
WR9504-5	0	2+	3-	0	0;
德国白 German white	0	0	0	0	0
铭贤 169 Mingxian 169(CK)	4	4	4	4	4

0: 免疫 Immune; 0+: 近免疫 Almost immune; 1: 高抗 High resistant; 2: 中抗 Middle resistant; 3: 中感 Middle susceptible; 4: 高感 High susceptible. 下同 The same below.

表 4 WR9504 条锈病和白粉病成株期抗性鉴定
Table 4 Stripe rust and powdery mildew resistance in WR9504 at the adult plant stage

种质材料 Germplasm material	条锈病混合圃 Mixed races of stripe rust			CY32 圃 CY32 race of stripe rust			CY31 圃 CY31 race of stripe rust			白粉病混合圃 Mixed isolates of powdery mildew
	反应型 Infection type	严重程度 Severity	普遍率 Incidence	反应型 Infection type	严重程度 Severity	普遍率 Incidence	反应型 Infection type	严重程度 Severity	普遍率 Incidence	
WR9504-10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
WR9504-5				0	0	0	0	0	0	4
德国白 German white	0	0	0	0	0	0	0;	0	0	0

白粉病鉴定采用 0-9 级分级法 Powdery mildew resistance evaluation was conducted by using 9-grade method. 下同 The same below.

在中国科学院栾城农业生态系统试验站病圃自然诱发鉴定和在中国农业科学院植物保护研究所人工接种的成株期白粉病的抗性鉴定结果表明, WR9504 的两个株系高抗至免疫白粉病的混合菌系(表 4)。

按照基因对基因关系的原理, 选用具有不同毒性基因组合的 26 个国内外条锈菌系和 21 个白粉病菌系, 根据所鉴定材料对不同毒性谱菌系的反应型, 并参考系谱, 分析推导可能具有的抗条锈和抗白粉病基因。结果表明, WR9504 具有未知的抗条锈病和抗白粉病的新基因或基因组合(表略)。

其中 WR9504-5 株高 75~80 cm, 分蘖力很强, 熟相好, 成熟中等, 显著特点群体性好。基因组原位杂交 GISH 和两组探针的 pAs1/pSc119.2 双色荧光原位杂交 FISH 鉴定表明, WR9504 为一个 T1BL 1RS 易位系(图略)。

1.1.3 高抗条锈病、白粉病且高产的 T1BL 1RS 易位系新种质/品系 WR9603

WR9603 为一个新型小麦-黑麦 T1BL 1RS 易位系, 其突出特点由于外源黑麦 1RS 染色体的导入, 丰产性好, 配合力高, 高抗条锈病和白粉病, 综合抗病性优良, 目前已经广泛应用于各个遗传育种单位的小麦育种。利用该种质选育出的小麦-黑麦远缘杂交新品系 WR9603-3, 综合抗病性和产量表现突出(图 1A), 比区试对照品种“石 4185”增产 9% 以上。

具体选育过程: 1996 年进行“小偃 6 号”与黑麦品种“德国白”的远缘杂交, 之后从其杂交后代中选育出的 WR9603, 在中国科学院栾城农业生态系统试验站病圃连续两年全生育期的抗病性鉴定表明, WR9603 高抗至免疫条锈病的混合小种(CY30、CY31、CY32 和水源类型)(图 1B)。由中国农业科学院植物保护研究所进行的苗期分小种抗病性鉴定结果表明, WR9603 免疫至近免疫条锈病生理小种 CY26(0-0; 级), 免疫 CY28、CY30 和 CY31(0 级), 高抗 CY32(2 级)。田间自然诱发鉴定结果表明, WR9603 成株期对白粉病混合菌系表现高抗。按照基因对基因关系的原理, 选用具有不同毒性基因组合的 26 个国内外条锈菌系和 21 个白粉病菌系, 推导 WR9603 具有未知的抗条锈病和抗白粉病的新基因或基因组合(表略)。

基因组原位杂交 GISH 鉴定, 黑麦染色体片段上有明显的次缢痕, 为一个含有黑麦 1RS 染色体片段的易位系(图 2)。进一步以 1RS 和 1BS 特异性引物的 PCR 证实 WR9603 为一个 T1BL.1RS 易位系(图 3)。WR9603 株型紧凑, 穗层整齐, 分蘖力强, 丰产性好(图 1A), 配合力好。产量比较试验结果为 $8\ 400\ \text{kg}\ \text{hm}^{-2}$, 新品系 WR9603-3 比对照品种“石 4185”增产 9% 以上。



图 1 WR9603 丰产性和成株期抗病性鉴定(A)和黑麦品种“德国白”、WR9603 和感病对照品种“铭贤 169”对条锈病的抗性(B)

Fig. 1 High yield and disease resistance at adult stages of WR9603 (A) and resistance to strip rust of rye “German white”, WR9603 and the control variety “Mingxian 169” (B)

图 A 中白色箭头表示抗病情况 The white arrowhead in figure A shows disease resistance. 图 B 中从左到右为“德国白”、WR9603 和“铭贤 169” In figure B, from left to right are “German white”, WR9603 and “Mingxian 169”.

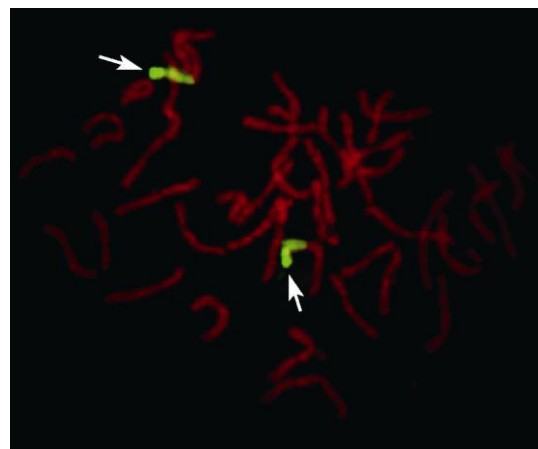


图 2 WR9603 GISH 鉴定结果

Fig. 2 GISH identification result of WR9603

白色箭头示黑麦 1R 染色体的两个短臂 The arrowheads show two short arms of 1R rye chromosomes.

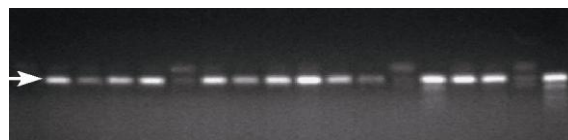


图 3 WR9603 特异 PCR 扩增结果

Fig. 3 Specific PCR amplification results of WR9603

箭头示 111 bp 的特异性扩增片段 The arrowhead shows 111 bp specific amplification fragment.

1.1.4 高抗条锈病、白粉病的 T2BL 1RS 易位系新种质 WR04-G32

WR04-G32 为一个新型小麦-黑麦 T2BL 1RS 易位系, 其突出特点是高抗条锈病和白粉病当前流行菌系, 综合抗病性优良。遗传学稳定、丰产性状优良, 是可以应用于小麦育种的种质资源。

具体选育过程: 对“小偃 6 号”与黑麦品种“德国白”的杂交后代, 经过每个世代人工接种鉴定对条锈病的抗性, 自然诱发鉴定对白粉病的抗性, 获得了小麦-黑麦材料 WR04-32, 苗期免疫或高抗条锈病

表 5 WR04-32 对 28 个条锈菌小种的苗期抗病性鉴定

Table 5 Infection types on seedlings of wheat and wheat-rye genotypes produced by 28 races or isolates of stripe rust

小种 Race/isolate	Virulence to <i>Yr</i> genes	种质材料 Germplasm material		
		WR04-32	德国白 German white	铭贤 169 Mingxian 169
61009	3, A, AD	0	0	4
78028	6, 7, 8, A	0	0	4
58893	27, SD	0	0	4
75078	2, 3, 4, 8, 10, 26, 27, A, Alba, CV, SD, Su	0	0	4
60105	1, 27, Alba, CV, SD	0	0	4
59791	Alba, SD	0	0	4
82517	1, 2, 3, Alba, CV, SD	0	0	4
78080	2, 3, 4, 6, A, Alba, CV, Gaby, SD, Su	0	0	4
86094	6, 7, 8, 9, A, Gaby	0	0	4
72107	1, 8, 10, 27, SU	0	0	4
74187	6, 27, A, Su	0	0	4
86036	SD	0	0	4
76088	6, 7, 8, 27	0	0	4
76093	1, 6, 7, 8, 27, Gaby	0	0	4
86106	1, 6, 7, Alba, Gaby, SD	0	0	4
68009	1, 2, 6, 7, Alba	0	0	4
86107	6, 7, 8, 9, A, Alba, Gaby, SD	0	0	4
82061	2, 3, 4, 6, Alba, Gab, SD, SpP, Su	0	0	4
80551	1, 2, 3, 6, 8, 9, 27, SD, Su	0	0	4
85019	1, 3, 4, 6, 8, Albas, Gaby, AD	0	0	4
PE92	6, 7, 8, 27, A, Gaby	0	0	4
CYR26	1, 3, 6, 7, A	0	0	4
CYR27	1, 2, 3, 6, 8, 27, A, Alba, SpP	0	0	4
CYR29	1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 17, 27, A, Alba, CV, Gaby, SD	0	0	4
CYRSu-1	1, 6, 7, 8, Su	0	0	4
CYR30	1, 2, 3, 4, 8, 9, 17, A, Slba, CV, Gaby, SD	0	0	4
CYR31	1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, A, Alba, CV, Gaby, Su, SD	0	0	4
CYR32	1, 2, 3, 6, 7, 9, 17, 27, A, Alba, CV, SpP, Su	1	0	4

表 6 不同小麦基因型对条锈病和白粉病混合菌系的苗期抗病性鉴定

Table 6 Infection types on seedlings of wheat and wheat-rye genotypes to isolates mixtures of powdery mildew and stripe rust

品种/基因型 Cultivar/genotype	反应型 Infection type	
	白粉 Powdery mildew	条锈 Stripe rust
小偃 6 号 Xiaoyan 6	4	4
德国白 German white	0	0
铭贤 169 Mingxian 169	4	4
WR04-32	0	1
石 4185 Shi 4185	4	4

的 28 个生理小种(表 5); 对条锈病和白粉病的混合菌系也表现优异的抗性(表 6)。

利用本研究组开发的黑麦 1RS 染色体特异的 EST-STS 标记鉴定结果表明, WR04-32 具有 1RS 染色体易位片段。进一步利用连续基因组原位杂交 GISH 和以 pSc119.2 和 pHvG38 (或 pAs1) 作探针的

多色荧光原位杂交 FISH, 证实 WR04-32 为一个小麦-黑麦 T2BL 1RS 易位系(图略)。

1.1.5 高抗白粉病的 2R(2D)异代换系新种质 WR02-145

WR02-145 为一个新型小麦-黑麦 2R(2D)异代换系, 其突出特点是成株期对白粉病表现免疫至近免疫。

具体选育过程: 将“小偃 6 号”缺体和黑麦“德国白”杂交、回交及自交, 经每个世代自然诱发鉴定对白粉病的抗性, 获得了 4 个高抗白粉病的小麦-黑麦材料 WR02-145。经基因组原位杂交 GISH 和特异 PCR 鉴定, 这 4 个材料均是 2R(2D)二体异代换系(图略)。

4 个 2R(2D)异代换系结实率较高, 偏晚熟, 其他农艺性状较好。经中国农业科学院植物保护研究所白粉病研究组鉴定, WR02-145 对白粉病具有良好抗性, 尤其是成株期对白粉病重要毒株表现免疫至

近免疫。

另外, 2009 年又从“小偃 6 号”与黑麦品种“德国白”的杂交后代中, 选育鉴定出了不同于 WR02-145 的两个 2R(2D) 异代换系 WR55-1 和 WR91-1。抗病性及其他重要性状的鉴定工作正在陆续开展。

1.1.6 高抗白粉病的 4R 异附加系新种质 WR49 和 1R 异附加系新种质 WR35

高抗白粉病 4R 异附加系新种质 WR49: WR49 为一个高抗白粉病优势菌系和强毒力菌系的稳定的小麦-黑麦 4R 异附加系新种质, 其抗性方式不同于来自黑麦其他品种的 4 个已知的抗白粉基因。目前尚未见有关 4R 异附加系抗白粉病的报道。

具体选育过程: 对“小偃 6 号”与黑麦品种“德国

白”杂交后代, 经每个世代自然诱发鉴定对白粉病的抗性, 获得了小麦-黑麦材料 WR49。2009 年经 GISH、FISH 鉴定为 4R 二体异附加系(图略)。采用目前生产上流行的白粉病优势菌系 E09 及强毒力菌系 E21、E20、E18、E11 和 4 个来自不同地区白粉病的单孢分离菌系, 对 4R 附加系 WR49、亲本“小偃 6 号”和“德国白”黑麦分别进行苗期抗白粉病鉴定, 以品种“铭贤 169”和“辉县红”作为感病对照, 结果表明“德国白”表现全免疫, “小偃 6 号”、“铭贤 169”和“辉县红”表现全感, 而 WR49 除对 E18 表现高抗(2 级)外, 对其他菌系均表现免疫。WR49 的抗性方式不同于来自黑麦其他品种的抗白粉基因 *Pm8*(1RS)、*Pm17*(1RS)、*Pm7*(2RL) 和 *Pm20*(6RL), 见表 7 和图 4。

表 7 小麦 4R 附加系 WR49 苗期对白粉病菌系的抗性鉴定
Table 7 Powdery mildew resistance in 4R addition line WR49 at the seedling stage

菌系 Isolate	菌系来源 Resource of isolate	德国白 German white	<i>Pm</i> ² WR49	<i>Pm</i> ⁷ (1RS)	<i>Pm</i> ⁸ (1RS)	<i>Pm</i> ¹⁷ (2RL)	<i>Pm</i> ²⁰ (6RL)
E09	CAAS, IPP	R	R	S	S	S	R
E11	CAAS, IPP	R	S	S	S	S	R
E18	CAAS, IPP	R	MR	S	S	S	R
E20	CAAS, IPP	R	R	S	S	S	R
Bgt2	郑州 Zhengzhou	R	R	S	R	S	R
Bgt5	昆明 Kunming	R	R	S	S	MR	R
Bgt12	北京 Beijing	R	R	S	S	MR	R
Bgt32	南京 Nanjing	R	R	S	S	S	R

Bgt: 小麦白粉病菌的单孢分离物 Single spore isolate of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*; CAAS, IPP: 中国农业科学院植物保护研究所 Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences. R: 抗病 Resistant; S: 感病 Sensitive; MR: 中等抗病 Moderate resistant.



图 4 4R 附加系 WR49 苗期抗白粉病的鉴定结果

Fig. 4 Resistance of 4R addition line WR49 to powdery mildew at seedling stage

从左到右为“铭贤 169”、“辉县红”、“小偃 6 号”、“德国白”和 WR49
From left to right are “Mingxian 169”, “Huixianhong”, “Xiaoyan 6”, “German white” and WR49.

高抗白粉病 1R 异附加系新种质 WR35: 对“小偃 6 号”与黑麦品种“德国白”杂交后代, 经过每个世代自然诱发鉴定对白粉病的抗性, 获得了小麦-黑麦材料 WR35。2009 年经 GISH、FISH 鉴定为 1R

二体异附加系(图略)。抗病性鉴定结果表明, WR35 高抗目前生产上流行的白粉病优势菌系 E09。

另外, 2009 年从“小偃 6 号”与黑麦品种“德国白”的杂交后代中, 选育鉴定出了 2RS 端体附加系 WR56 和 4RS 端体附加系 137, 其抗病性及其他重要性状的鉴定工作正在陆续开展。

1.1.7 新型雄性不育系新种质小麦-黑麦 WR9501

WR9501 为一个新型的小麦-黑麦雄性不育系, 遗传学稳定, 显著特点是转育不育系的遗传力非常强, 经 5 年 5 代转育获得了 6 个表型性状完全表现核亲本农艺性状的抗病、高产、优质不同类型的不育系系列。

具体选育过程: 2002 年从“小偃 6 号”和黑麦“德国白”杂交后代中, 选育出不育性稳定、综合农艺性状良好的小麦-黑麦新型雄性不育系 WR9501(图 5A), 细胞学鉴定染色体为 $2n=42$ (图 5B), 遗传学稳定。

进一步利用不育系 WR9501 转育新的不育系, 经 5 年 5 代转育获得了 6 个表型性状完全表现核亲本农艺性状的抗病、高产、优质不同类型的不育系系列, 包括“兰考 906”、“科农 9204”、“石 4185”、“鲁源 471”、“01 中 88”和“高优 503”等不育系(图 5C, 5D)。



图5 小麦-黑麦雄性不育系 WR9501(A)及其系列(C, D)和染色体组成(B)
Fig. 5 Wheat-rye male sterile line WR9501 (A) and it's series (C, D) and chromosome composition (B)

不育系 WR9501 综合农艺性状优良, 转育材料的遗传力强, 易于转育, 这是该不育系最重要的特性, 也是优良雄性不育系应具备的基本条件。利用不同来源的材料进行广泛的侧交, 选育出了恢复系; 并利用已建立的 F₂ 群体的部分材料进行了育性分离验证, 为进一步分子标记定位不育基因奠定了基础。

1.1.8 抗白粉病和叶锈病、富含微量营养元素、丰产的小黑麦种质资源

对 360 份小黑麦材料的 10 个产量相关性状进行了系统的调查; 鉴定了苗期对目前生产上流行的白粉病优势菌系 E09 的抗病性, 结果有 268 份免疫, 2 份高抗, 1 份中抗; 苗期对生产上流行的叶锈病优势菌系 PHT 抗性鉴定, 结果共鉴定 341 份, 有 3 份免疫, 13 份近免疫, 9 份中抗。条锈病鉴定工作正在进行。

对其中丰产性状优良的 14 份小黑麦材料, 分别筛选鉴定出了 7 份和 4 份 Zn、Fe 微量营养元素含量显著高于生产上主栽品种的小黑麦材料。其中, R2-94 表现出极显著高的籽粒 Zn 和 Fe 含量。小黑麦材料具有较高的 Zn 和 Fe 含量, 说明将外源的有益基因导入普通小麦, 在提高其籽粒 Fe、Zn 微量营养元素含量方面具有很大的潜力, 可直接应用于小麦的生物强化育种。

为了充分利用这一批小黑麦种质资源的优良性

状, 目前已经和生产上的主栽品种杂交, 配置了 245 个组合, 并进行了回交, 以广泛应用于小麦育种。

1.2 小麦-冰草种质资源

从远缘杂交后代中, 鉴定筛选出具有高效利用土壤养分(氮)、产量性状优良的种质材料, 可为发掘出氮高效的基因/QTL 和营养遗传育种及相关研究提供新的种质基因资源。

氮高效小麦-冰草 (*Agropyron cristatum* L. Gaertn., P genome) 易位系新种质/品系“普冰 WAS31”是一个含有冰草 P 染色体小片段的易位系(图略), 为一个在低氮条件下表现突出的氮高效型小麦-冰草的远缘杂交新品系; 大穗大粒, 籽粒商品性好。

具体选育过程: 中国农业科学院李立会博士将普通小麦“Fukuho”和冰草通过远缘杂交、染色体工程的方法, 选育出了一大批小麦-冰草的后代材料。本研究组在此基础上, 通过低氮胁迫和正常供氮两个处理、3 个重复的大田比较试验和苗期水培试验, 调查 10 个产量相关性状, 5 个氮素生理性状和 8 个苗期水培性状, 从小麦-冰草后代中, 优选鉴定出了氮高效的小麦新品系“普冰 WAS31”。

在低氮条件下“普冰 WAS31”籽粒产量较区试对照品种“石 4185”平均增产 21.81%, 在高氮处理下较“石 4185”平均增产 5.87%。在大区产量比较试验, “普冰 WAS31”比对照“石 4185”增产 5% 以上。田间农艺性状

的调查表明, WAS31 株高 80 cm 左右, 分蘖能力强。

1.3 多属杂交种质资源

抗病、丰产的 3 属小麦-黑麦-冰草新种质 WRAS 和小麦-黑麦-簇毛麦新种质 WRVS。通过多属杂交和细胞分子生物学鉴定, 创制综合多属优良特性, 综合性状优良, 多抗、高产等目标性状突出的种质材料, 以拓宽普通小麦的遗传基础, 丰富小麦育种的种质资源。

通过将小麦-黑麦、小麦-冰草、小麦-簇毛麦的代换系、易位系相互杂交, 每个世代对条锈病、白粉病和叶锈病的鉴定, 产量性状的鉴定, 最后经细胞分子生物学鉴定, 获得两类 3 属杂交的种质材料 WRAS 和 WRVS 系列。

亲本组合: 小麦-黑麦-冰草 3 属杂交 F_6 代材料 77 份 → WRAS 26

小麦-黑麦-簇毛麦 3 属杂交 F_6 代材料 98 份 → WRVS 48

WRAS: 抗白粉病、条锈病, 株型紧凑, 粒大, 穗粒数多; WRVS: 抗白粉病、叶锈病, 株高中等, 秆强, 有效穗数多。

2 小麦近缘物种——黑麦染色体特异 EST 分子标记的开发与应用

31 个来源于小麦和黑麦 EST 序列的黑麦染色体特异的分子标记, 可以用来快速、准确地追踪检测鉴定除 6RS 外的所有 13 个黑麦染色体(臂)。

具体开发过程: 根据比较基因组学的原理, 利用黑麦、小麦不同同源群的 EST 序列为模板设计引物, 通过大量 PCR 扩增, 共筛选了 1 191 对 EST-SSR 和 EST-STS 引物, 获得了 414 对黑麦染色体组特异的引物和 31 对黑麦 1R-7R 染色体特异的引物; 并将 31 对标记定位到了除 6RS 外的 13 个黑麦染色体的长臂或短臂上。

为了检测新开发 EST 标记的实用性, 进一步利用这些黑麦染色体(臂)特异的标记检测, 鉴定了本研究组自己创制的部分“小偃 6 号”和黑麦“德国白”

的后代材料, 结果发现, 新开发的分子标记的检测结果与原位杂交 FISH 鉴定的结果一致。因此, 这些黑麦染色体(长/短臂)特异的标记可以用于普通小麦背景中黑麦染色体或染色体片段(臂)的检测鉴定(图 6)。

3 小麦抗病新基因的鉴定

对本研究组创制、收集和保存的部分远缘杂交的后代材料, 通过苗期抗病性鉴定, 获得了 2 份高抗白粉病 E09、E18、E20 和 E23 等 9 个菌系的小麦-冰草的后代材料 X2939 和 D104, 1 份小麦-黑麦的后代材料 WR80, 1 份小麦-中间偃麦草的后代材料 WE99。

针对白粉病菌系 E09 的抗病性遗传学分析表明, WE99 携带有单个隐性抗白粉基因; 小麦-黑麦杂交后代 WR80、小麦-冰草杂交后代 X2939 和 D104, 与感病对照“铭贤 169”杂交的 F_1 代对白粉病菌系 E09 均表现高抗, 因此, 它们可能携带显性的抗白粉病基因。对这些远缘杂交后代材料的抗谱分析表明, 它们携带有不同于现有已知基因的抗白粉病新基因, 目前已分别与感病对照“铭贤 169”杂交, 构建了 F_2 群体, 正在进行这些抗白粉病新基因的定位和分子标记工作。

4 展望

纵观我国小麦的育种史, 现阶段小麦生产存在的主要问题是产量徘徊不前, 品质和抗性的发展现状也不容乐观, 究其原因, 主要是亲本材料的遗传基础狭窄, 如国内育成的小麦品种有数百上千个, 但大多由 20 多个骨干亲本衍生而来^[11]。遗传基础狭窄, 遗传多样性的丢失不仅限制了产量和品质的进一步改良, 而且增加了小麦对病虫害和逆境胁迫的脆弱性, 使得小麦生产潜伏着严重危机, 作物育种很难有大的突破, 因此, 亟待改变作物种质材料的创新和育种的取材策略。实践证明, 拓宽作物遗传基础, 增加品种的遗传多样性需依靠开发利用小麦近缘种资源、农家品种和引进外来种。

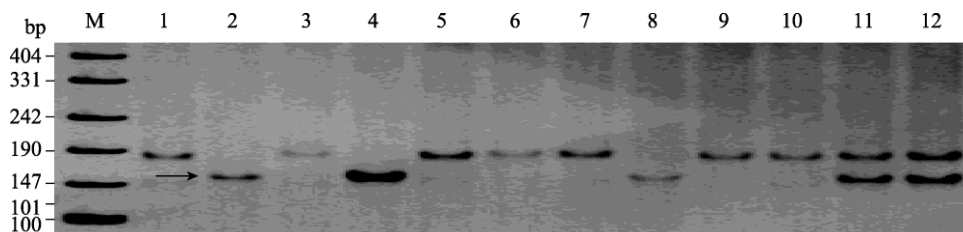


图 6 黑麦 4RS 染色体的特异标记 KSUM62

Fig. 6 Specific marker KSUM62 of 4RS chromosome of rye
箭头示 160 bp 的特异性扩增片段 The arrowhead shows 160 bp specific amplification fragment.

小麦近缘种是一个非常巨大的、弥足珍贵的基因资源库。过去50年的育种实践已经证明,远缘杂交通过将外源有益基因导入普通小麦,在提高小麦的产量、品质,增强小麦对病害和抗逆能力方面显示了巨大的应用潜力^[12]。

作物育种的成效取决于选材是否恰当和方法是否正确,其中材料起着决定性的作用^[11],即培育优良的小麦新品种,必须有过硬的种质材料。近年来虽然育成了不少新种质,但大多数种质材料单一性状突出,其他重要的综合性状较差。创造的种质材料因是缺点较多的“偏才”,在育种中的利用受到了限制。因此,小麦遗传改良与种质资源创新既要注重目标性状,又要兼顾产量等其他重要性状,这样选育出的种质材料,育种家才好利用。

从发展过程来看,种质资源的研究经历了收集、保存、评价和利用,到目前强调种质资源创新、优异基因发掘和利用,将来更要重视遗传背景清楚及具有简单可靠、快速检测的新型分子标记,尤其是功能标记的突破性种质基因资源的研究^[13-16]。

需要强调的是种质资源的创新也要针对不同时期的育种目标。目前粮食安全、水土资源安全、市场的需求都要求在有限的耕地上,使用尽可能少的农药、化肥及有限的水资源,通过遗传改良的生物技术选育突破性作物品种,以实现资源节约、环境友好前提下,粮食持续稳定增产的总目标。作物种质资源工作也应注重抗病、水分和养分高效种质资源的创新;另外,面对目前气候变化的不确定性,极端气候(高温/寒/旱)事件频发的趋势,还应注重耐高温、耐寒种质材料的培育,以挖掘作物自身的抗逆能力,拓宽作物品种的适应区域。

目前我国作物育种人员较多,种质资源的需求量大,资源交流也越来越频繁,注重建立规范完善、可操作的种质资源交流、利用和保护机制,加强对基础性、前沿性、公益性种质资源研究的投入,鼓励从事种质资源研究的工作者潜心做好作物育种基础材料的创新,可为进一步提高作物产量、保障粮食安全做出重要贡献。

参考文献

- [1] 董玉琛, 郑殿升. 中国小麦遗传资源[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [2] 何中虎. 第六届全国小麦遗传育种学术研讨会论文集[M]. 扬州. 2010年3月
- [3] 王西成. 2009-2010年度国家冬小麦品种试验总结[M]. 银川. 2010年9月
- [4] 李振声, 朱兆良, 章申. 挖掘生物高效利用土壤养分潜力, 保持土壤环境良性循环[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2004
- [5] Xu Y F, An D G, Li H J, et al. Breeding wheat for enhanced micronutrients[J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 2011, 91(2): 231-237
- [6] 董玉琛, 郑殿升. 中国作物及其野生近缘植物——粮食作物卷[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006
- [7] 钟冠昌, 穆素梅, 张正斌. 麦类远缘杂交[M]. 北京: 科学出版社, 2003
- [8] 安调过, 钟冠昌, 李俊明, 等. 半浸根法加倍小麦远缘杂交幼胚再生植株染色体[J]. *作物学报*, 2003, 29(6): 955-957
- [9] An D G, Li L H, Li J M, et al. Introgression of resistance to powdery mildew conferred by chromosome 2R by crossing wheat nullisomic 2D with rye[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2006, 48(7): 838-847
- [10] Wang C M, Zheng Q, Li L H, et al. Molecular cytogenetic characterization of a new T2BL 1RS wheat-rye chromosome translocation line resistant to stripe rust and powdery mildew[J]. *Plant Disease*, 2009, 93(2): 124-129
- [11] 庄巧生. 中国小麦品种改良及系谱分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003
- [12] 李家洋. 李振声论文选集[M]. 北京: 科学出版社, 2007
- [13] Lee T G, Hong M J, Johnson J W, et al. Development and functional assessment of EST-derived 2RL-specific markers for 2BS.2RL translocations[J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 119(4): 663-673
- [14] Zhuang L F, Sun L, Li A X, et al. Identification and development of diagnostic markers for a powdery mildew resistance gene on chromosome 2R of Chinese rye cultivar Jingzhouheimai[J]. *Molecular Breeding*, 2010, 27(4): 455-465
- [15] Wu J, Yang X M, Wang H, et al. The introgression of chromosome 6P specifying for increased numbers of florets and kernels from *Agropyron cristatum* into wheat[J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 114(1): 13-20
- [16] 尹冬冬, 安调过, 李立会, 等. 分子标记技术在黑麦研究中的应用[J]. *中国生态农业学报*, 2011, 19(2): 477-483