

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2022.08.006

秋季野生麦苗穗发芽抗性研究及分子标记检测

肖磊, 张希太, 董策, 谢淑芹, 蔺桂芬

邯郸市农业科学院 生物技术研究室, 河北 邯郸 056001

摘要: 为获得小麦高抗穗发芽种质资源, 秋季冬小麦播种耕地前(9月30日), 从夏茬为冬小麦的大田中收集并集中移栽刚出土不久的野生麦苗, 获得了118个野生麦苗系。经穗发芽抗性测定, 78.80%的野生麦苗系达到了高抗级别, 19.50%的野生麦苗系的穗发芽率为0。综合考虑农艺性状, 选出ZZX21, ZZX46, ZZX63和ZZX106 4种高抗穗发芽种质资源系, 经连续15 d的模拟穗发芽测试, 其相对穗发芽指数仅为0.039, 0和0, 达到了超高抗穗发芽水平。通过连续测定4个高抗穗发芽种质系种子的发芽率, 发现从种子生理成熟开始至发芽率达到80.00%以上所需时间通常为40~60 d, 其成熟种子具有强休眠特性和较长的休眠期。利用与小麦抗穗发芽基因紧密相关的Vp1B3和TaDFRBb分子标记, 检测4个抗穗发芽种质系的基因组DNA, 均未检测出阳性条带, 说明其抗穗发芽基因是和Vp1B3, TaDFRBb标记基因不同的新类型, 为小麦抗穗发芽育种提供了宝贵的新种质资源。

关键词: 野生麦苗; 抗穗发芽; 分子标记检测

中图分类号: S326

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2022)08-0048-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study of the Pre-Harvest Sprouting Resistance in Wild Seedling Lines of Wheat Derived in Autumn and Detection with Molecular Markers

XIAO Lei, ZHANG Xitai, DONG Ce, XIE Shuqin, LIN Guifen

The Biotechnology Research Laboratory, Handan Academy of Agricultural Sciences, Handan Hebei 056001, China

Abstract: In order to obtain wheat germplasm resources with high resistance to pre-harvest sprouting (PHS), 118 wild seedling lines were obtained from the field with winter wheat as summer crop before sowing winter crop in Autumn (Sept. 30). The results of pre-harvest sprouting resistance testing showed

收稿日期: 2021-04-13

基金项目: 河北省重点研发计划项目(21326324D); 邯郸市种质资源创新与分子辅助育种重点实验室建设项目(20312904011)。

作者简介: 肖磊, 硕士, 副研究员, 主要从事小麦遗传育种与种质资源创新的研究。

通信作者: 蔺桂芬, 研究员。

that 78.80% of the wild seedling lines had high resistance to pre-harvest sprouting. The pre-harvest sprouting rate of 19.50% of the lines were 0. Four lines ZZX21, ZZX46, ZZX63 and ZZX106 with good comprehensive agronomic characters and high resistance to pre-harvest sprouting were selected as germplasm of high resistance to pre-harvest sprouting. The results of simulated pre-harvest sprouting test for 15 days showed that the relative pre-harvest sprouting index of ZZX21, ZZX46, ZZX63 and ZZX106 were only 0, 0.039, 0 and 0, respectively, which reached to the highest level of resistance to pre-harvest sprouting. Successively investigation of seed germination of those four germplasm lines during seed development indicated that the time required from the physiological maturity of seeds to germination rate above 80.00% was 40-60 days. The mature seeds had strong dormancy characteristics and long period time of dormancy. Vp1B3 and TaDFRBb molecular markers closely related to the pre-harvest sprouting resistance genes did not detect the positive bands from the genomic DNA of four germplasm lines with high pre-harvest sprouting resistance. The results showed that the pre-harvest sprouting resistance genes in those lines are different from Vp1B3 and TaDFRBb marker genes. This can provide new valuable germplasm resources for breeding of resistance to wheat pre-harvest sprouting.

Key words: wild seedling of wheat; resistance to pre-harvest sprouting; molecular marker detection

小麦穗发芽是严重的气候灾害, 是小麦生产致命性的威胁. 穗发芽灾害不发则已, 一发则损失惨重. 据联合国粮农组织统计, 全世界每年因穗发芽损失 20.00% 的小麦产量, 几乎相当于我国小麦的年产量^[1]. 我国黄淮麦区、长江中下游麦区曾多次发生过大面积穗发芽, 西南冬麦区及东北春麦区穗发芽灾害也频繁发生. 我国有 85.00% 的麦区都存在穗发芽隐患^[2]. 小麦穗发芽后不仅产量降低, 最主要的是品质严重变劣, 甚至不能食(饲)用. 连续阴雨和潮湿的气候是穗发芽灾害发生的外因, 小麦品种穗发芽抗性差才是内因. 因气候环境难以控制, 所以培育推广抗穗发芽的小麦品种是关键. 小麦高抗穗发芽种质资源的严重匮乏是抗穗发芽育种取得突破的主要阻碍, 也是目前亟待解决的问题.

小麦的抗穗发芽育种一直是我国农业科研的重要领域, 科研工作者对现有的大量小麦品种资源进行了抗穗发芽筛选鉴定, 选出了一些抗性相对较好的品种作为小麦抗穗发芽育种种质资源加以利用; 通过对现有材料的研究, 发现了一些抗性与生理以及抗性与种皮颜色、颖壳结构等的关系^[3-8], 但受现有小麦品种资源遗传背景的限制并没有从根本上找到高抗穗发芽的抗源基因.

国家小麦工程技术研究中心克隆了能抑制小麦穗发芽的“反义硫氧还蛋白基因”并获得了转基因小麦材料. 经穗发芽抗性鉴定, 转基因小麦种子比非转基因对照的萌动时间明显延长, 对穗发芽有较强的抑制作用^[9-10]. 但该材料是转基因作物, 特别是目前国家严格限制在粮食作物上应用转基因的形势下, 该材料在小麦抗穗发芽育种上的应用受到限制; 四川农业大学利用远缘杂交技术率先将“节节麦”的高抗穗发芽基因引入小麦, 创制出了小麦高抗穗发芽材料 RSP^[11-14], 为小麦抗穗发芽育种提供了宝贵的种质资源.

在“一年两熟”种植模式的黄淮麦区, 小麦收获后种植大秋作物, 秋季 9 月底 10 月初大秋作物收获后, 冬小麦播种耕地前, 大田中往往生长有少量的刚出土不久的野生麦苗, 这些野生麦苗是由小麦收获时因粗放操作遗落于大田中的麦粒, 麦穗在土壤中经过了充沛降雨的夏季出土而成, 其种子应该具有很强的休眠特性和抗穗发芽能力, 于是我们通过收集并集中移栽的方式, 对秋后野生麦苗的穗发芽抗性、种子的休眠特性、相关抗穗发芽基因的分子标记检测进行了研究, 旨在为小麦抗穗发芽育种提供具有极强穗发芽抗性的种质资源.

1 材料与方法

1.1 野生麦苗的收集与集中移栽

当年的 9 月底 10 月初, 秋收后冬小麦播种耕地前, 对计划收集地域范围内的农田进行普查, 将发现的野生麦苗(图 1)进行根部带土团移栽入观察圃, 行距 20 cm, 株距 10 cm, 并进行编号, 记录收集地点、移栽时间等. 本试验野生麦苗的收集地为河北省成安县商城镇赵横城村的部分农田, 集中移栽地为河北省成安县商城镇赵横城村北邯郸市农业科学院生物技术研究室试验田. 将野生麦苗集中移栽入观察圃后, 立即浇水保证移栽苗的成活. 并对观察圃加强管理, 使移栽成活后的野生麦苗生长茁壮.



图 1 9 月底 10 月初生长于大田中的野生麦苗

1.2 集中移栽的野生麦苗植株农艺性状调查

调查指标主要有: ① 株高, ② 抗倒性: [1 级]不倒伏; [2 级]轻微倒伏, 植株倾斜角度 $A < 30^\circ$; [3 级]中等倒伏, $30^\circ \leq A < 45^\circ$; [4 级]较重倒伏, $45^\circ \leq A < 60^\circ$; [5 级]严重倒伏, $A \geq 60^\circ$ 以上. ③ 抗病性: 在大田中主要目测调查白粉病、锈病、叶枯病、赤霉病 4 种病害. [1 等]无病(没有 4 种病害发生); [2 等]轻微发病(有 4 种病害的 1 种或几种发生但较轻); [3 等]发病较重(4 种病害的 1 种或几种严重发生). ④ 越冬抗冻性: [1 级]无冻害; [2 级]叶尖受冻发黄; [3 级]叶片冻死一半; [4 级]叶片全枯; [5 级]植株或大部分冻死. ⑤ 分蘖倍数, ⑥ 有效分蘖率, ⑦ 穗粒数, ⑧ 千粒质量等.

1.3 集中移栽野生麦苗麦穗的相对穗发芽指数测定

穗发芽抗性测定参照中华人民共和国农业行业标准《小麦抗穗发芽性检测方法》(NY/T 1739-2009)^[15]进行. 在小麦蜡熟后期, 从田间采取野生单株和对照“泰山 1 号”植株的主茎穗各 10 穗, 从穗下茎 15~20 cm 处剪取. 将剪取的每单株的 10 个麦穗随机分成 2 组, 每组 5 穗. 先用自来水浸泡 4 h, 然后用 0.10% 的次氯酸钠溶液消毒 5 min, 再用无菌水反复冲洗. 将麦穗插在泡沫塑料板上, 放在人工气候箱中, 每天模拟降雨喷水 2 次, 温度为 22 °C, 相对湿度为 100.00%, 培养 96 h 后立即放在 60 °C 的烘箱中烘干. 然后手工剥粒调查统计每组麦穗的发芽粒数(以种子籽粒胚部种皮破裂为发芽标准)和总粒数.

计算穗发芽率(X)

$$X = N_{\text{发芽}} / N_{\text{总}} \times 100\%$$

相对穗发芽指数(I)

$$I = X_1 / X_2$$

式中, $N_{\text{发芽}}$ 为试验穗发芽粒数, $N_{\text{总}}$ 为试验穗总粒数, X_1 为待测样品的穗发芽率, X_2 为对照品种的穗发芽率.

进一步对抗穗发芽级别进行评价($I=0$ 为极抗, $I<0.05$ 为高抗, $0.05\leq I<0.20$ 为抗, $0.20\leq I<0.40$ 为中抗, $0.40\leq I<0.60$ 为感, $I\geq 0.60$ 为高感)。

1.4 野生麦苗抗穗发芽种质系的入选标准

根据试验情况, 把同时符合相对穗发芽指数 $I<0.05$, 株高 $H\leq 75$ cm, 抗倒性为[1 级], 抗病性为[1 等], 越冬抗冻性为[1 级], 分蘖倍数 $R\geq 20$, 有效分蘖率 $ER\geq 80.00\%$, 穗粒数 $N\geq 35$ 粒, 千粒质量 $W\geq 45$ g 几项标准的野生麦苗作为种质资源利用, 其余的淘汰。

1.5 野生麦苗抗穗发芽种质系穗发芽抗性测定

将符合本文 1.4 标准入选的野生麦苗抗穗发芽单株全部种子按株系种植, 行距 20 cm, 株距 10 cm, 单穴单粒播种。次年在小麦蜡熟后期, 对入选的野生麦苗抗穗发芽种质系进行穗发芽抗性鉴定。对麦穗的处理方法和培养条件与本文 1.3 部分相同, 不同的是: 培养时间为 15 d。从开始培养每间隔 24 h 调查统计 1 次各种质系麦穗籽粒的发芽数量, 以籽粒生出种根或长出麦芽为发芽标准。每天调查后去除已经生根、发芽的麦粒, 剩下未发芽的籽粒继续培养直到 15 d 试验结束。计算出每天的穗生根发芽率并制作“时间—穗生根发芽率”曲线。

1.6 野生麦苗抗穗发芽种质系种子的休眠期测定

从小麦蜡熟后期开始, 在 25 °C 的室温下, 对各个野生麦苗种质系的种子, 每间隔 3 d 进行 1 次发芽试验, 96 h 后调查发芽率, 当种质系种子的发芽率达到 80.00% 以上时可认为种子休眠期结束, 即种质系种子发芽率达到 80.00% 以前的时间为该种质系种子的最长休眠期。

1.7 抗穗发芽基因相关 STS 分子标记检测

Vp1B3(F: 5'TGCTCCTTTCCCAATTGG3'; R: 5'ACCCTCCTGCAGCTCATTG3')是内蒙古农牧大学杨燕等^[16]开发的与小麦某些抗穗发芽基因紧密相关的 STS 分子标记, 利用 Vp1B3 在抗穗发芽小麦品种中能扩增出 845 bp 和 569 bp 两种片段类型, 而在感穗发芽品种中仅扩增出 652 bp 的片段类型。TaDFRBb(F: 5'GAAATGCGGGGTGACTAGGACTCT3v; R: 5'TATTTCCGTGGCTATTGATTGTTTC3')是我国开发的与小麦红皮基因紧密相关的抗穗发芽分子标记, 在红皮抗穗发芽小麦品种中能扩增出 534bp 的 A 型片段和 526 bp 的 B 型片段^[17-19]。

采用 CTAB 法提取抗穗发芽种质系的基因组 DNA, Vp1B3 和 TaDFRBb 引物由上海生工合成。构建 25 μ L 的 PCR 反应体系[10 \times Buffer 2.50 μ L+dNTP Mix(2.50 mmol/L)2 μ L+上、下游引物(20 μ mol/L)各 0.50 μ L+Taq 酶(5U/ μ L)0.25 μ L+模板 DNA 1 μ L+ddH₂O 18.25 μ L]。

PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min \rightarrow 94 °C 变性 1 min \rightarrow 退火 1 min(Vp1B3 60 °C; TaDFRBb 59 °C \rightarrow 72 °C 延伸 1 min(以前做 35 次循环) \rightarrow 72 °C 延伸 10 min, PCR 反应结束。用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 反应产物, EB 染色后用凝胶成像拍照。

2 试验结果与分析

2.1 秋后野生麦苗收集移栽统计

由表 1 知, 当年的 9 月底 10 月初生长于田间的野生麦苗, 根部带土移栽很容易成活, 只要移栽后及时浇水, 移栽成活率为 100.00%。

表 1 野生麦苗收集移栽统计表

移栽时间	地点	收集数量/株	成活率/%
2015 年 9 月 30 日	河北成安县商城镇赵横城村	118	100.00

2.2 野生麦苗植株主要农艺性状调查结果

通过对稳定遗传的 118 个野生麦苗单株的主要农艺性状指标进行调查,结果显示(表 2),野生麦苗植株都比较高,有 65.30%的野生麦苗单株的株高在 100 cm 以上,有 79.70%的野生麦苗单株的株高在 80 cm 以上,20.40%的野生麦苗单株的株高低于 80 cm,只有 6.80%的野生麦苗单株的株高不高于 75 cm. 野生麦苗单株的抗倒性大部分较差,有 65.30%的野生麦苗单株发生中等及以上倒伏,21.20%的野生麦苗单株倒伏较轻,只有 13.60%的野生麦苗单株不发生倒伏. 野生麦苗植株的抗病性(白粉病、锈病、叶枯病、赤霉病)普遍较好,在大田环境中 80.50%的野生麦苗植株无病害发生,只有 19.50%的野生麦苗植株轻微发病. 野生麦苗植株的越冬抗冻性都较好,越冬冻害没有高于[2 级]的单株,55.90%的野生麦苗植株越冬冻害为[1 级]. 野生麦苗植株的分蘖倍数和有效分蘖率都较高,100.00%的野生麦苗植株的分蘖倍数都大于 20 倍,且有效分蘖率都不低于 80.00%. 野生麦苗单株的穗粒数较多,100.00%的野生麦苗单株穗粒数都不低于 35 粒,但是野生麦苗单株的千粒质量较小,在行距 20 cm,株距 10 cm,单穴单粒种植的情况下,78.80%的野生麦苗单株的千粒质量低于 45 g,只有 21.20%的野生麦苗单株的千粒质量不低于 45 g.

表 2 稳定遗传的野生麦苗系主要农艺性状调查统计表

农艺性状指标	野生麦苗系号	占百分比/%	
株高(H)/cm	$H \leq 75$	21,46,53,63,68,96,106,116	6.80
	$75 < H \leq 80$	1,5~7,12,14,24~26,49,66,72,73,87,111,117	13.60
	$80 < H \leq 100$	2~4,15~20,29,30,33~35,97~99	14.40
		8~11,13,22,23,27,28,31,32,36~45,47,48,50~52,54~62,	
	$H > 100$	64,65,67,69~71,74~86,88~95,100~105,107~110,112~115,118	65.30
抗倒性(严重度, 普遍率)	[1 级]	1,5,6,21,25,33,35,46,53,63,68,72,87,96,106,116	13.60
	[2 级]	2~4,7,12,14~20,24,26,29,30,34,49,66,73,97~99,111,117	21.20
	[3 级]及以上	8~11,13,22,23,27,28,31,32,36~45,47,48,50~52,54~62,64,65,67,69~71,74~86,88~95,100~105,107~110,112~115,118	65.30
抗病性	[1 等]	1~33,38~71,86~112,116	80.50
	[2 等]	34~37,72~85,113~115,117,118	19.50
	[3 等]	无	0.00
越冬抗冻性	[1 级]	9~26,40~46,49~56,57~71,84~101,106,116	55.90
	[2 级]	1~8,27~39,47,48,55,56,72~83,102~105,107~115,117,118	44.10
	[3 级]及以上	无	0.00
分蘖倍数(R)	$R \leq 10$	无	0.00
	$10 < R < 20$	无	0.00
	$R \geq 20$	1~118	100.00

续表 2

农艺性状指标		野生麦苗系号	占比/%
有效分蘖率/%	<80	无	0.00
	≥80	1~118	100.00
穗粒数/粒	<35	无	0.00
	≥35	1~118	100.00
千粒质量/g	<45	1~8,27~45,47,48,50~62,64,65,67~105,107~116,118	78.80
	≥45	8~26,46,49,63,66,106,117	21.20

2.3 野生麦苗株系相对穗发芽指数的测定

分析表 3 对 118 个稳定遗传野生麦苗单株(系)的穗发芽抗性测定数据可知,野生麦苗的穗发芽抗性普遍较好,有 19.50% 的野生麦苗单株的相对穗发芽指数为 0,有 78.80% 的野生麦苗单株的穗发芽抗性都能达到高抗水平,只有 17.80% 和 3.40% 野生麦苗单株的穗发芽抗性为抗和中抗。

表 3 集中移栽的野生麦苗各单株穗发芽抗性的测定结果统计表

相对穗发芽指数(<i>I</i>)	穗发芽抗性级别	野生麦苗系号	占比/%
0	极抗(HR)	1,5~7,12,14,21,24~26,46,49,53,63,66,68,72,73,87,96,106,111,117	19.50
0< <i>I</i> <0.05	高抗(HR)	9~11,13,22,23,27,28,31~45,50~52,54~62,64,65,67,69,70,71,74~86,88~95,97~99,107~110,118	59.30
0.05≤ <i>I</i> <0.20	抗(R)	2~4,15~20,29,30,100~105,112~115	17.80
0.20≤ <i>I</i> <0.40	中抗(MR)	8,116,47,48	3.40
0.40≤ <i>I</i> <0.60	感(S)	无	0
<i>I</i> ≥0.60	高感(HS)	无	0

注:对照“泰山 1 号”的穗发芽率为 63.80%。

2.4 野生麦苗抗穗发芽种质系的筛选结果

根据本试验制定的野生麦苗抗穗发芽种质系的人选标准,符合条件的野生麦苗抗穗发芽种质系集合{野生麦苗抗穗发芽种质系}={相对穗发芽指数 $I < 0.05$ } ∩ {株高 $H \leq 75$ cm} ∩ {抗倒性为[1 级]} ∩ {抗病性为[1 等]} ∩ {越冬抗冻性为[1 级]} ∩ {分蘖倍数 $R \geq 20$ } ∩ {有效分蘖率 $ER \geq 80.00\%$ } ∩ {穗粒数 $N \geq 35$ 粒} ∩ {千粒质量 $W \geq 45$ g}={21,46,63,106},图 2 为穗发芽试验照片。

2.5 野生麦苗抗穗发芽种质系的穗发芽抗性测定结果(培养 15 d)

由表 4 和图 3 可知,4 个野生麦苗抗穗发芽种质系进行 1~15 d 的模拟穗发芽试验时,对照“泰山 1 号”(CK)第 2 d 就开始在穗上发芽,第 3 d 时穗发芽的粒数最多,第 6 d 时能发芽的麦粒全部在穗上发芽,累计穗发芽粒数为 376 粒,穗发芽率达到了 96.91%,最后只剩下 12 粒由于种子质量的原因未能发芽.抗穗发芽种质系 ZZX21,ZZX63,ZZX106 经 15 d 的模拟穗发芽试验穗发芽率皆为 0,而且所有的麦粒状况良好均未发生霉烂.ZZX46 在模拟穗发芽试验的第 5~12 d 中,每天有少量的麦粒在穗上生根或发芽,第 12 d 时累计穗发芽粒数最多为 15 粒,穗发芽率为 3.79%,模拟试验 15 d 时未发芽的麦粒状况良好均未发生霉烂.经 15 d 模拟穗发芽试验,ZZX21,ZZX46,ZZX63,ZZX106 4 个野生麦苗抗穗发芽种质系的相对穗发芽指数分别为 0,0.039,0,0,均小于 0.05 达到高抗级别。



图 2 野生麦苗抗穗发芽种质系的穗发芽试验照片(96 h)

表 4 野生麦苗抗穗发芽种质系(ZZX)每天累计穗发芽率统计表(培养 1~15 d)

天数	每天穗发芽的粒数/粒					累计穗发芽粒数/粒					累计穗发芽率/%				
	21	46	63	106	CK	21	46	63	106	CK	21	46	63	106	CK
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	50	0	0	0	0	50	0	0	0	0	12.89
3	0	0	0	0	103	0	0	0	0	153	0	0	0	0	39.43
4	0	0	0	0	95	0	0	0	0	248	0	0	0	0	63.92
5	0	1	0	0	92	0	1	0	0	340	0	0.25	0	0	87.63
6	0	3	0	0	36	0	4	0	0	376	0	1.01	0	0	96.91
7	0	5	0	0	0	0	9	0	0	376	0	2.27	0	0	96.91
8	0	2	0	0	0	0	11	0	0	376	0	2.78	0	0	96.91
9	0	1	0	0	0	0	12	0	0	376	0	3.03	0	0	96.91
10	0	1	0	0	0	0	13	0	0	376	0	3.28	0	0	96.91
11	0	1	0	0	0	0	14	0	0	376	0	3.54	0	0	96.91
12	0	1	0	0	0	0	15	0	0	376	0	3.79	0	0	96.91
13	0	0	0	0	0	0	15	0	0	376	0	3.79	0	0	96.91
14	0	0	0	0	0	0	15	0	0	376	0	3.79	0	0	96.91
15	0	0	0	0	0	0	15	0	0	376	0	3.79	0	0	96.91
参试粒数	463	396	436	386	388	模拟试验 15 d 相对穗发芽指数					0	0.039	0	0	1

2.6 野生麦苗抗穗发芽种质系种子的休眠期测定结果

由表 5 和图 4 可知, 抗穗发芽种质系 ZZX21 和 ZZX46 从种子生理成熟(蜡熟期)6 月 1 日开始到 7 月 16 日和 7 月 10 日时种子发芽率才达到 80.00% 以上, 休眠时间分别为 46 d 和 40 d. 抗穗发芽种质系 ZZX63 和 ZZX106 从种子生理成熟(蜡熟期)6 月 1 日开始到 7 月 31 日时种子发芽率才达到 80.00% 以上, 休眠时间为 61 d. 抗穗发芽种质系 ZZX21, ZZX46, ZZX63, ZZX106 种子都有较长的种子休眠期, 在大田种子生理成熟后, 对连续阴雨的气候环境引起的小麦穗发芽有很好的抗性. 其最长休眠期通常能在 40~60 d 结束, 不影响 10 月初的冬小麦大田播种出苗.

表 5 野生麦苗抗穗发芽种质系(ZZX)种子不同时期的发芽率统计表

日期	发芽率/%				时间	发芽率/%			
	21	46	63	106		21	46	63	106
6 月 1 日	0.00	0.00	0.00	0.00	7 月 19 日	93.40	100.00	53.24	62.38
6 月 4 日	0.00	0.00	0.00	0.00	7 月 22 日	99.60	99.80	59.39	68.26
6 月 7 日	0.00	0.00	0.00	0.00	7 月 25 日	100.00	98.90	68.66	76.68
6 月 10 日	0.00	0.76	0.00	0.00	7 月 28 日	100.00	100.00	76.44	78.22
6 月 13 日	0.00	2.67	0.00	0.00	7 月 31 日	100.00	100.00	81.26	83.66
6 月 16 日	0.00	2.96	0.00	0.00	8 月 3 日	98.90	100.00	89.38	88.74
6 月 19 日	0.00	3.80	0.00	0.00	8 月 6 日	98.40	99.70	93.86	96.33
6 月 22 日	5.60	8.86	0.00	0.00	8 月 9 日	100.00	100.00	100.00	100.00
6 月 25 日	23.20	18.35	0.00	0.00	8 月 12 日	99.80	99.80	100.00	100.00
6 月 28 日	25.30	29.62	0.00	0.00	8 月 15 日	98.90	100.00	99.88	100.00
7 月 1 日	38.80	40.25	3.38	0.00	8 月 18 日	100.00	100.00	99.68	99.50
7 月 4 日	46.70	58.60	6.54	2.36	8 月 21 日	100.00	100.00	100.00	100.00
7 月 7 日	66.70	73.50	16.22	18.66	8 月 24 日	100.00	99.50	100.00	100.00
7 月 10 日	69.40	83.20	28.23	30.56	8 月 27 日	100.00	100.00	99.50	99.70
7 月 13 日	73.90	89.60	41.68	36.44	8 月 30 日	99.50	100.00	100.00	100.00
7 月 16 日	82.10	98.40	46.76	42.26					

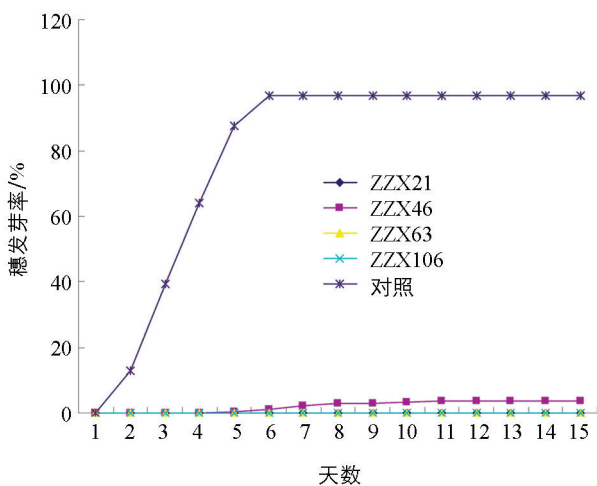


图 3 野生麦苗抗穗发芽种质系模拟穗发芽试验 1~15 d 的穗发芽率

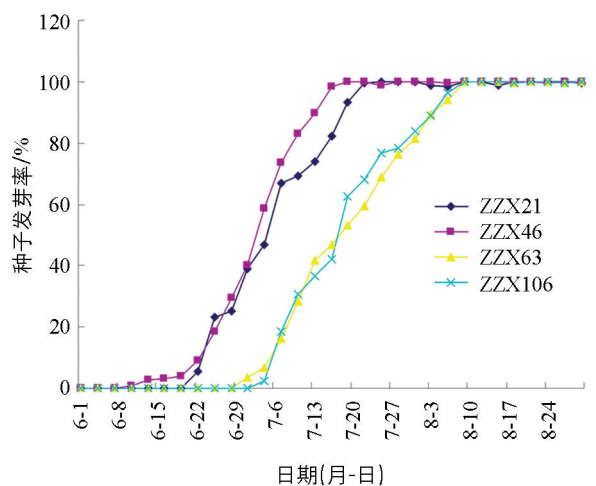
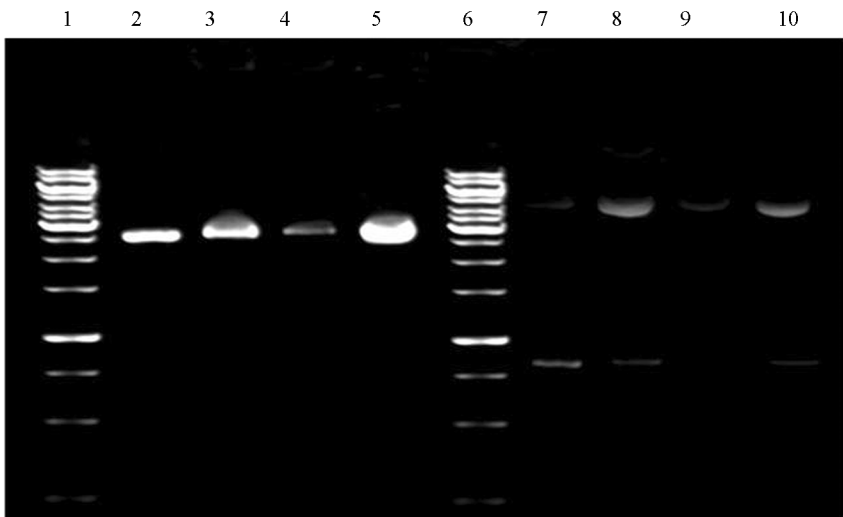


图 4 不同时期野生麦苗抗穗发芽种质系的种子发芽率曲线

2.7 抗穗发芽基因相关 STS 分子标记检测结果

由图 5 抗穗发芽分子标记检测结果可知,在抗穗发芽种质系 ZZX21,ZZX46,ZZX63,ZZX106 基因组 DNA 中未检测出 Vp1B3 和 TaDFRBb 的阳性条带,这说明野生麦苗抗穗发芽种质系的相关抗穗发芽基因不属于和 Vp1B3 或 TaDFRBb 紧密连锁的已知抗穗发芽基因。



1~5 泳道为 Vp1B3 分子标记检测结果;6~10 泳道为 TaDFRBb 分子标记检测结果;1,6 泳道为 100 bp plus DNA ladder(100,200,300,400,500,600,700,800,900,1 000,1 500,2 000,3 000,5 000);2,7 泳道为抗穗发芽种质系 ZZX21 基因组 DNA;3,8 泳道为抗穗发芽种质系 ZZX46 基因组 DNA;4,9 泳道为抗穗发芽种质系 ZZX63 基因组 DNA;5,10 泳道为抗穗发芽种质系 ZZX106 基因组 DNA。

图 5 抗穗发芽基因相关分子标记检测结果

3 讨论

① “一年两熟”制的黄淮麦区,秋后 9 月底 10 月初,冬小麦播种耕地前,大田中刚出土不久的野生麦苗,具有很强的抗穗发芽能力,通过集中移栽,相对穗发芽指数测定,有 78.80%的秋后野生麦苗穗发芽抗性达到高抗水平,19.50%的秋后野生麦苗相对穗发芽指数为 0,穗发芽抗性达到极抗水平。

② 本研究通过集中移栽、综合农艺性状调查、模拟穗发芽试验等选出了 4 个野生麦苗抗穗发芽种质系 ZZX21,ZZX46,ZZX63,ZZX106,其相对穗发芽指数分别为 0,0.039,0,0,均达到了极抗穗发芽水平。其种子的休眠期较长但不影响 10 月初的冬小麦播种出苗。

③ Vp1B3 和 TaDFRBb 是当前开发最成功也是应用较广泛的小麦抗穗发芽基因分子标记。通过这两种分子标记检测发现,ZZX21,ZZX46,ZZX63,ZZX106 种质系的抗穗发芽基因不属于与 Vp1B3 或 TaDFRBb 紧密连锁的抗穗发芽基因,而是新的基因类型。

④ 小麦的穗发芽抗性是由多基因控制的数量性状,在这些控制基因中有个别主效基因起着主导作用^[20]。能够抑制 α -淀粉酶活性的基因(如 α -淀粉酶抑制蛋白基因等)对小麦穗发芽抗性起着主效基因的主导作用,因为在小麦穗发芽过程中 α -淀粉酶对淀粉的水解起着关键的作用。张海峰等^[21]的研究表明, α -淀粉酶的动态变化与穗发芽率的变化完全一致,呈极显著正相关。因此采取各种手段抑制小麦种子内源 α -淀粉酶的活性是解决小麦穗发芽问题的关键。

⑤ 秋后出土的野生麦苗是由当年 5 至 6 月份小麦收获时因粗放操作遗落于大田中的部分麦粒(穗)在土壤中经过了充沛降雨的夏季,直到 9 月底 10 月初才出土成苗,其种子具有很强的休眠特性和抗穗发芽能力。这充分说明了在自然界小麦生产庞大而复杂的群体中存在着抗穗发芽基因型。通过对秋后野生麦苗的

收集与集中移栽,可以选出高抗穗发芽且综合农艺性状较好的抗穗发芽种质资源系,为小麦抗穗发芽育种提供了宝贵的新种质资源。

参考文献:

- [1] 李志岗. 转基因小麦抗穗发芽特性的分子鉴定、遗传分析与抗性机理研究 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2004.
- [2] 尹钧, 李永春. 我国小麦转基因研究的现状及发展趋势 [J]. 中国农业信息, 2009(6): 13-17.
- [3] 于春泉, 阮仁武, 余国东, 等. 小麦抗穗发芽种质筛选与新品系的抗穗发芽性鉴定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2010, 32(4): 36-40.
- [4] 薛香, 茹振钢, 郜庆炉. 黄淮地区小麦品种(系)抗穗发芽性的研究 [J]. 麦类作物学报, 1999, 19(3): 8-10.
- [5] 昌小平. 对冬小麦品种穗发芽抗性的初步研究 [J]. 作物品种资源, 1997(4): 34-35.
- [6] 张海峰, ZEMETRA R S, LIU C T. 冬小麦穗发芽抗性及其鉴定方法的研究 [J]. 作物学报, 1989, 15(2): 116-122.
- [7] 张海峰, 卢荣禾, 王建龙. 冬小麦穗发芽抗性及其遗传研究 [J]. 西北植物学报, 1992, 12(2): 95-103.
- [8] 李世平, 许钢垣, 王美玲, 等. 山西省冬小麦品种资源对穗发芽的抗性鉴定研究 [J]. 山西小麦通讯, 1995(4): 30-33.
- [9] 尹钧, 任江萍, 李志岗, 等. 转基因抗穗发芽小麦的获得 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(S1): 67-71, 85.
- [10] 任江萍, 郭建军, 王新国, 等. 转反义 *trxs* 基因小麦株系 01TY18 遗传分析及抗穗发芽特性 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(8): 1549-1553.
- [11] 兰秀锦, 郑有良, 刘登才, 等. 节节麦抗穗发芽基因的染色体定位及其抗性机理 [J]. 中国农业科学, 2002, 35(1): 12-15.
- [12] 刘登才, 兰秀锦, 杨足君, 等. 远缘杂交不需幼胚培养的节节麦基因型 [J]. 植物学报, 2002, 44(6): 708-713.
- [13] 兰秀锦, 颜济. 中国四倍体地方小麦品种矮兰麦与中国产节节麦的双二倍体及其在育种上的利用 [J]. 四川农业大学学报, 1992, 10(4): 581-585.
- [14] 兰秀锦. 小麦新材料 RSP 的人工合成及其穗发芽抗性研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2005.
- [15] 中华人民共和国农业部. 小麦抗穗发芽性检测方法: NY/T 1739-2009 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [16] 杨燕, 张春利, 陈新民, 等. 穗发芽率和发芽指数及 STS 标记 *Vp1B3* 在小麦抗穗发芽基因型鉴定中的应用 [J]. 麦类作物学报, 2007, 27(4): 577-582.
- [17] 王瑜, 王晓丽, 孙晓燕, 等. 分子标记 *Tamyb10D* 和 *TaDFR-B* 的有效性验证及对小麦抗穗发芽基因型的筛选 [J]. 华北农学报, 2016, 31(1): 63-70.
- [18] 王翠, 朱展望, 佟汉文, 等. 小麦穗发芽抗性相关基因 *Tamyb10-D1* 特异性分子标记开发 [J]. 分子植物育种, 2020, 18(9): 2942-2947.
- [19] 黄义文, 代旭冉, 刘宏伟, 等. 小麦抗穗发芽基因挖掘及分子育种进展 [J]. 麦类作物学报, 2021, 41(2): 147-156.
- [20] 原亚萍, 陈孝, 肖世和. 小麦穗发芽的研究进展 [J]. 麦类作物学报, 2003, 23(3): 136-139.
- [21] 张海峰, 卢荣禾. 小麦穗发芽抗性机理与遗传研究 [J]. 作物学报, 1993, 19(6): 523-530.

责任编辑 周仁惠