

1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦小片段易位系的鉴定

李俊¹, 朱欣果^{1,2}, 万洪深¹, 王琴¹, 唐宗祥², 符书兰², 杨足君³, 杨漫宇¹, 杨武云¹

1. 四川省农业科学院作物研究所, 农业部西南地区小麦生物学与遗传育种重点实验室, 成都 610066;
2. 四川农业大学农学院, 四川农业大学植物遗传育种省级重点实验室, 温江 611130;
3. 电子科技大学生命科学与技术学院, 成都 610054

摘要: 黑麦(*Secale cereale* L., RR)是改良普通小麦(*Triticum aestivum* L., AABBDD)的重要基因资源, 将黑麦优异基因转移到普通小麦中, 是小麦品种改良的有效途径之一。文章将四川地方品种蓬安白麦子(*T. aestivum* L., AABBDD)与秦岭黑麦(*S. cereale* cv. Qinling, RR)杂交, 染色体自动加倍获得八倍体小黑麦 CD-13(AABBDDRR); 通过顺序 FISH 和 GISH 分析, 发现该八倍体小黑麦 1RS 端部与 7DS 的端部发生相互易位, 是一个携带 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦小片段易位染色体的八倍体小黑麦。利用八倍体小黑麦 CD-13 与四川推广小麦品种川麦 42 杂交、连续自交, 获得包含 60 个株系的 F₅ 群体; 对 F₅ 群体的 58 个株系进行 GISH 和 FISH 分析发现, 其中 13 个株系含有 1RS-7DS.7DL 小片段易位染色体。在这 13 个株系中, 株系 811 染色体数目为 2n=6x=42, 是稳定的 1RS-7DS.7DL 小片段易位系; 并且 1RS 特异分子标记和醇溶蛋白分析表明, 1RS-7DS.7DL 易位染色体 1RS 小片段的断裂点位于分子标记 IB267-IAG95 之间, 不包含编码黑麦碱蛋白的 *Sec-1* 位点; 同时 1RS-7DS.7DL 小片段易位系的千粒重与川麦 42 相当, 远远高于八倍体小黑麦 CD-13, 对千粒重无负作用。因此, 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦小片段易位系可作为进一步深入研究 1RS 小片段上的优异基因及其遗传效应的重要材料。

关键词: 小麦; 黑麦; 1RS-7DS.7DL; 小片段易位

Identification of the 1RS-7DS.7DL wheat-rye small segment translocation lines

Jun Li¹, Xinguo Zhu^{1,2}, Hongshen Wan¹, Qin Wang¹, Zongxiang Tang², Shulan Fu², Zujun Yang³, Manyu Yang¹, Wuyun Yang¹

1. Key Laboratory of Biology and Genetic Breeding in Wheat (Southwest) of Ministry of Agriculture, Crop Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China;
2. Key Laboratory of Plant Breeding and Genetics, College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China;
3. School of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054, China

收稿日期: 2014-10-19; 修回日期: 2015-03-06

基金项目: 国家科技支撑计划项目(编号: 2013BAD01B02-7), 四川省科技计划项目(编号: 2011NZ0098-16, 2014TD0014)和四川省财政基因工程项目(编号: 2011QNJJ-007)资助

作者简介: 李俊, 博士, 副研究员, 研究方向: 小麦资源创制与遗传育种。Tel: 028-84504259; E-mail: lijunchd@126.com

朱欣果, 硕士, 研究方向: 作物推广。E-mail: zhuxingguo5299@126.com

李俊和朱欣果为并列第一作者。

通讯作者: 杨武云, 博士, 研究员, 研究方向: 小麦遗传育种。E-mail: yangwuyun@126.com

DOI: 10.16288/j.ycz.14-358

网络出版时间: 2015-3-26 10:12:13

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150326.1012.004.html>

Abstract: Rye (*Secale cereale* L., RR) is a valuable genetic resource for the improvement of common wheat (*Triticum aestivum* L., AABBDD). Transferring alien rye genes into wheat by distant hybridization and automatic chromosome doubling is an important and efficient method to boost agronomic traits, disease resistance and widening the gene pool in wheat. In this study, an octoploid triticale CD-13 (AABBDDRR) was obtained via automatic chromosome doubling by crossing landrace Penganbaimaizi (*T. aestivum* L., AABBDD) and rye “Qinling rye” (*S. cereale* cv. Qinling, RR). GISH and FISH analyses indicated that CD-13 contained a 1RS-7DS.7DL wheat-rye small segment translocation chromosome. In order to transfer the 1RS-7DS small segment translocation into hexaploid wheat, 58 lines of the F_5 inbred population from the cross CD-13 x Chuanmai 42 were screened for rye chromosome segments by GISH and FISH analyses. The results showed that 13 lines contained the 1RS-7DS.7DL small segment translocation chromosome by reciprocal translocation between 1RS and 7DS. These translocation lines carrying 1RS small rye alien segment were tested for the translocation breakpoints and the presence of a storage protein locus *Sec-1*. The *Sec-1* locus was absent in the line 811, a stable 1RS-7DS.7DL small segment translocation line. The translocation breakpoint of 1RS-7DS.7DL of this line was located in the interval of IB267-1AG95 around the telomere of 1RS chromosome. Thousand-kernel weight of the line 811 was much higher than the parent CD-13, but not significantly different from Chuanmai 42. This indicated that 1RS-7DS.7DL small segment translocation had no negative effect on thousand-kernel weight in the genetic background of Chuanmai 42. The line with 1RS-7DS.7DL translocation chromosomes can be used as a new genetic material for further studies of valuable genes and their genetic effect on 1RS small segment.

Keywords: wheat; rye; 1RS-7DS.7DL; small segment translocation

黑麦(*Secale cereale* L., $2n=2x=14$, RR)携带大量抗病、抗逆、高产等优良基因^[1-6],是普通小麦(*Triticum aestivum* L., $2n=6x=42$, AABBDD)遗传改良的重要基因资源。通过小麦-黑麦远缘杂交,一些黑麦的染色体或染色体片段已被导入普通小麦,特别是黑麦 1R 染色体短臂(1RS)的导入,为普通小麦的改良做出了巨大贡献^[7-13]。黑麦 1RS 携带抗虫、抗条锈病、叶锈病、秆锈病、白粉病以及提高产量和环境适应性的基因^[14-21],过去几十年来一直被育种家广泛应用。截至目前,鉴定出的小麦-黑麦易位系超过 16 个^[8,22,23],其中,常用的小麦-黑麦易位系主要是 1RS.1AL、1RS.1BL、1RS.1DL^[9,15,20,23-25],其中利用 1RS.1BL 易位系育成的高产、抗病的推广品种最多^[9,26]。

然而,由于 1RS.1BL 易位系白粉病、条锈病抗性的逐渐丧失,及其 *Sec-1*(黑麦碱)基因会显著降低小麦品质^[27,28],从而限制了 1RS 导入系在小麦改良中的应用。近年来,研究者已利用不同来源的 1RS 创制了新的抗病易位系,一定程度上解决了抗病性丧失的问题^[29,30];通过各种手段,也获得了一批黑麦碱基因缺失的小麦-1RS 易位系。Lukaszewski^[31,32]和 Anugrahwati 等^[33]通过各种 1RS.1BL 易位系间部分同源重组和遗传操作,获得了黑麦碱基因缺失的

1RS-1BS.1BL 小片段改良重组体。Masoudi-Nejad 等^[34]利用杀配子系统成功将小片段 1RS 易位到小麦 2A、2D、3D、5D 和 7D 染色体,并产生了 *Sec-1* 位点缺失的 1RS-5DL.5DS、1RS-3DL.3DS 和 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦非部分同源小片段易位染色体,其 1RS 小片段来源于黑麦 Imperial。目前,由于受遗传补偿效应的影响,育种应用效果较好的小麦-黑麦易位通常发生在部分同源群间,而非部分同源易位在小麦育种上应用的相关报道很少。

本研究利用四川地方品种蓬安白麦子(*T. aestivum* L., AABBDD)与秦岭黑麦(*S. cereale* cv. Qinling, RR)杂交、染色体自动加倍获得 1 份八倍体小黑麦 CD-13(AABBDDRR)。通过顺序荧光原位杂交(Fluorescence *in situ* hybridization, FISH)和基因组原位杂交(Genomic *in situ* hybridization, GISH)分析,发现该八倍体小黑麦 1RS 端部与 7DS 的端部发生相互易位,产生了 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦非部分同源小片段易位染色体。本研究利用八倍体小黑麦 CD-13 与四川推广品种川麦 42 杂交并自交,将 1RS-7DS 小麦-黑麦小片段易位成功转入到小麦品种川麦 42 中。利用 GISH、FISH 技术和分子标记技术鉴定 CD-13/川麦 42 F_5 群体中的 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦

小片段易位染色体,通过对 F_5 中含有 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦小片段易位染色体株系千粒重的分析,初步探讨该非部分同源小片段易位对千粒重的影响,为进一步利用 1RS-7DS.7DL 易位染色体进行普通小麦遗传改良奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

八倍体小黑麦 CD-13 是 1993-1995 年由蓬安白麦与秦岭黑麦杂交,自动加倍和结实后获得。本研究以八倍体小黑麦 CD-13 为母本,川麦 42 为父本,杂交后再连续自交至 F_5 代,获得包括 60 个株系的 F_5 群体;对其中 58 个发芽正常的株系(每个系 10 粒种子)分别进行 GISH 和 FISH 分析。

1.2 方法

1.2.1 原位杂交

采用 GISH 和 FISH 的方法对所有材料的根尖细胞中期染色体进行分析鉴定。根尖细胞中期染色体的制备、探针标记方法和原位杂交程序按照 Han 等^[35]描述的方法。GISH 分析中,用秦岭黑麦基因组 DNA 作探针。此外,用重复序列 *pTa-535*^[36]和 *pSc119.2*^[37]为探针进行 FISH 分析。八倍体小黑麦 CD-13 采用顺序 FISH 和 GISH 分析方法,先进行 FISH,褪色后再进行 GISH。

1.2.2 1RS 染色体分子标记分析

采用 CTAB 方法,提取八倍体小黑麦 CD-13、蓬安白麦、秦岭黑麦、川麦 42 及 F_5 代的 58 个株系的幼嫩叶片 DNA。利用黑麦 1RS 特异分子标记及编码黑麦碱的 *Sec-1* 位点的标记 *SEC-1* 和 *SEC-1b*^[38-42],检测携带 1RS 染色体臂或片段的株系及其亲本八倍体小黑麦 CD-13 和川麦 42,分析 1RS-7DS.7DL 中小片段易位的断裂点。分子标记由宝生物公司(Takara Biotechnology (Dalian) Co., Ltd)合成,标记序列见表 1。黑麦 1RS 特异分子标记的 PCR 反应体系及程序参照 Lei 等^[38]的方法,特异标记 *SEC-1* 和 *SEC-1b* 的 PCR 反应体系及程序分别参照 Masoudi-Nejad^[34]和张立平等^[41]的方法。

1.2.3 醇溶蛋白的酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A-PAGE)分析

采用 1986 年 ISTA 颁布的酸性聚丙烯酰胺凝胶

表 1 黑麦 1RS 染色体上的特异分子标记

序号	标记	序列(5'→3')	参考文献
1	IB267	F:GCAAGTAAGCAGCTTGATTAGC R:AATGGATGTCCCGGTGAGTGG	[39]
2	IAG95	F:CTCTGTGGATAGTTACTTGATCGA R:CCTAGAACATGCATGGCTGTTACA	[39]
3	P6M12-P	F:GTACTAGTATCCAGAGGTCACAAG R:CAGACAAACAGAGTACGGGC	[39]
4	ORA012	F:GCACTGTGGTGCAGTGTGAGTT R:GAAGTCCACACCTCTTGA	[40]
5	SEC-1	F:CTATTAGTTCGAAAAGCTTATGA R:GCATATGACTCAAATTATTTTTT	[34]
6	NOR	F:GCATGTAGCGACTAACTCATC R:CCCAGTTTCCATGTCGC	[41]
7	ORA001	F:TCCGCTCTTCGTGCTCCC R:GCATCCCTCTTTCTGCTTCATC	[40]
8	ORA003	F:GG AAATGCCAACGCGGATCAC R:GCCTGCTCTATGCCGACAC	[40]
9	ORA004	F:TTGAATGGCTCCAAAGGAAC R:TTACGGACGCATTTGTCT	[40]
10	ORA006	F:CATGGGATCGCTCTCGAAGAAC R:TCGAAGCCCAAGCAATATCACAC	[40]
11	ORA007	F:CGCATCGACAAGCTCGTAACC R:TGTGCCCAATCACGTATTCATC	[40]
12	SEC-1b	F:GTTTGTGGGGAATTATTTG R:TCCTCATCTTTGTCTCGCC	[42]

电泳(pH3.2)标准程序检测供试材料的黑麦碱蛋白,在此基础上凝胶溶液和染色液的比例略有改动。凝胶溶液配置比例为:10%的丙烯酰胺,0.4%的亚甲基丙烯酰胺,6%的尿素,0.1%抗坏血酸和 0.004%硫酸亚铁;染色液配置比例为:10%的三氯乙酸和 4%考马斯亮蓝 R-250。

1.2.4 千粒重测定

2012、2013 两年在成都种植 CD-13/川麦 42 群体及其亲本 CD-13、川麦 42、蓬安白麦、秦岭黑麦。按照随机区组设计,2 次重复,每个株系种植 1 行,行长 1.5 cm,行距 20 cm,采用免耕、条沟点播、细土盖种栽培方式。通过定苗使不同株系的基本苗数一致,播前和苗期进行化学除草,中后期施药防治蚜虫,收获后测千粒重。

2 结果与分析

2.1 八倍体小黑麦 CD-13 中的小片段易位鉴定

采用顺序 FISH(图 1A)和 GISH(图 1B)的方法分析八倍体小黑麦 CD-13,以 *pTa-535*^[36]和 *pSc119.2*^[37]为探针进行 FISH 分析;以秦岭黑麦基因组 DNA 为

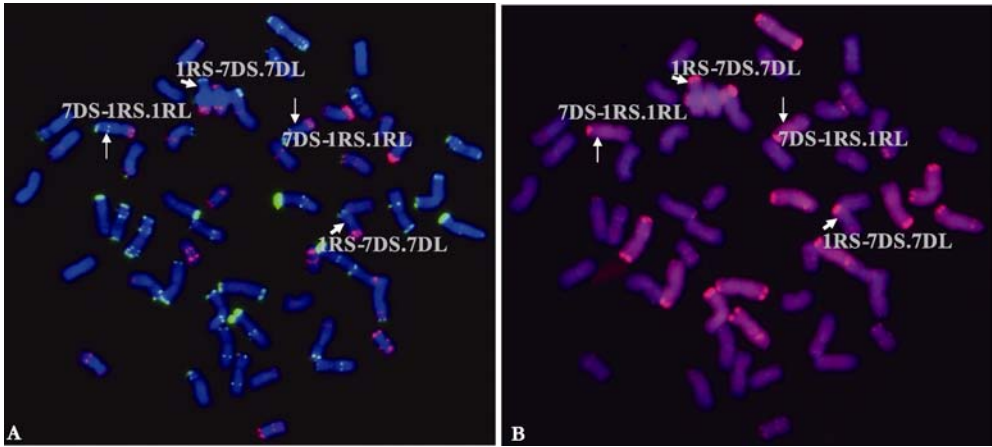


图 1 八倍体小黑麦 CD-13 根尖中期细胞的 FISH(A)和 GISH(B)分析
A : 以 *pTa-535*(红)和 *pSc119.2*(绿)为探针进行 FISH 分析; B : 以秦岭黑麦基因组 DNA(红)为探针进行 GISH 分析。短箭头所指为 1RS-7DS.7DL 易位染色体,长箭头所指为 7DS-1RS.1RL 易位染色体。

探针,中国春基因组 DNA 为封阻进行 GISH 分析。结果表明,八倍体小黑麦 CD-13 染色体数目为 56,包括 42 条小麦染色体和 14 条黑麦染色体(图 1);其中,2 对染色体发生小麦-黑麦染色体易位。八倍体小黑麦 CD-13 中的 1RS 端部与 7DS 的端部位置发生相互易位,即 7D 染色体上 7DS 端部与 1RS 端部易位(1RS-7DS.7DL),1R 染色体上 1RS 端部与 7DS 端部易位(7DS-1RS.1RL)(图 1)。

2.2 小片段易位的遗传转育

选取八倍体小黑麦 CD-13 与川麦 42 杂交 F_5 代群体中的 58 个发芽正常的株系用于 GISH 和 FISH 分析。结果发现,22 个株系含有黑麦染色质(表 2),所占比例为 37.9%;其中,10 个株系染色体数目为 42,1 个株系染色体数目为 41,4 个株系染色体数目为 43,6 个株系染色体数目为 44,1 个株系染色体数目为 45。

含有黑麦染色质的 22 个株系中,7 个株系含有整条黑麦染色体,2 个株系含有 1 对 1RS.wheat?(未知小麦染色体)易位染色体,13 个株系含有 1RS-7DS.7DL 易位染色体,所占比例分别为 12.07%、3.45%、22.41%。含有整条黑麦染色体的 7 个株系中,1 个株系含有 1 对 4R 染色体,1 个株系含有 1 对 6R 染色体,1 个株系含有 1 条 6R 染色体,1 个株系含有 1 对 7R 染色体,1 个株系含有 1 对 4R 染色体和 1 条 7R 染色体,1 个株系含有 1 条 1RL 染色体臂和 1 条 7R 染色体,1 个株系含有 1 条未知黑麦染色体。

对于 7 个含有黑麦整条染色体和 2 个含有 1RS.wheat? 染色体的株系将进一步鉴定后再做详细分析。

表 2 八倍体小黑麦 CD-13/川麦 42 F_5 群体中含有黑麦染色质的株系

编号	染色体数目	含黑麦染色质的类型
765	42	1 条 1RS-7DS.7DL
766	42	1 对 1RS.wheat?
769	42	1 对 1RS-7DS.7DL, 1 对 7DS-1RS.1RL
770	41	1 条 1RS-7DS.7DL, 1 条 1RS.wheat?
772	42	1 对 1RS.wheat?
774	44	1 对 1RS-7DS.7DL, 1 对 7DS-1RS.1RL
775	42	1 条 1RS-7DS.7DL, 1 对 7DS-1RS.1RL
776	44	1 对 4R
777	43	1 对 1RS-7DS.7DL, 1 条 7DS-1RS.1RL
780	42	1 对 6R
782	44	1 对 1RS-7DS.7DL, 1 对 7DS-1RS.1RL
787	42	1 对 1RS-7DS.7DL, 1 对 7DS-1RS.1RL
799	42	1 条 1RS-7DS.7DL
800	43	1 条 1RS-7DS.7DL, 1 条 7DS-1RS.1RL
801	44	1 对 7R
807	43	1 条未知黑麦染色体
811	42	1 对 1RS-7DS.7DL
812	43	1 条 6R
816	44	1 对 1RS-7DS.7DL, 1 对 7DS-1RS.1RL
817	42	1 对 1RS-7DS.7DL, 1 对 7DS-1RS.1RL
818	45	1 对 4R, 1 条 7R
821	44	1 条 1RL, 1 条 7R

含有 1RS-7DS.7DL 易位染色体的 13 个株系中, 6 个株系含有 1 对 1RS-7DS.7DL 染色体和 1 对 7DS-1RS.1RL 染色体(图 2A); 1 个株系含有 1 对 1RS-7DS.7DL 染色体(图 2B); 2 个株系仅含有 1 条 1RS-7DS.7DL 染色体(图 2C 和 2D); 1 个株系含有 1 对 1RS-7DS.7DL 染色体和 1 条 7DS-1RS.1RL 染色体; 1 个株系含有 1 条 1RS-7DS.7DL 染色体和 1 对 7DS-1RS.1RL 染色体; 1 个株系含有 1 条 1RS-7DS.7DL 染色体和 1 条 7DS-1RS.1RL 染色体; 1 个株系含有 1 条 1RS-7DS.7DL 染色体和 1 条 1RS.wheat? 易位染色体。以上携带 1RS-7DS.7DL 小片段易位染色体的株系中, 3 个株系仅含 1RS-7DS.7DL 易位染色体, 其中 765(图 2C)和 799(图 2D)株系染色体数目为 42, 含 1 条 1RS-7DS.7DL 易位染色体; 编号为 811 的株系染色体数目为 42(图 2B), 含 1 对 1RS-7DS.7DL 易位染色体, 是纯合的 1RS-7DS.7DL 易位系。由此表明, 八倍体小黑麦

CD-13 携带的 1RS-DS.7DL 小片段易位染色体被成功转入六倍体普通小麦中, 并且能够稳定遗传。

2.3 1RS-7DS.7DL 易位染色体中 1RS 断裂点分析

利用 A-PAGE 对 CD-13/川麦 42 F_5 群体中含有 1RS 染色体臂或片段的 15 个株系及亲本进行醇溶蛋白分析, 发现 F_5 群体中 765、799 和 811 株系及亲本蓬安白麦子、川麦 42 不含 区域的黑麦碱蛋白的 3 条带, 秦岭黑麦、CD-13 及其他 12 个株系均含有黑麦碱蛋白的 3 条带(图 3, 表 3)。由此表明, 765、799 和 811 株系黑麦碱蛋白缺失。

进一步利用黑麦 1RS 染色体上的特异分子标记及编码黑麦碱的 *Sec-1* 位点的特异标记, 对含有 1RS 染色体臂或片段的 15 个株系及亲本进行基因型分析。结果发现, 对分子标记 IB267, 15 个系均有 250 bp 条带, 蓬安白麦子和川麦 42 则无扩增产物(图 4, 表 3); 编码黑麦碱的 *Sec-1* 位点的 SEC-1 和 SEC-1b 标记以

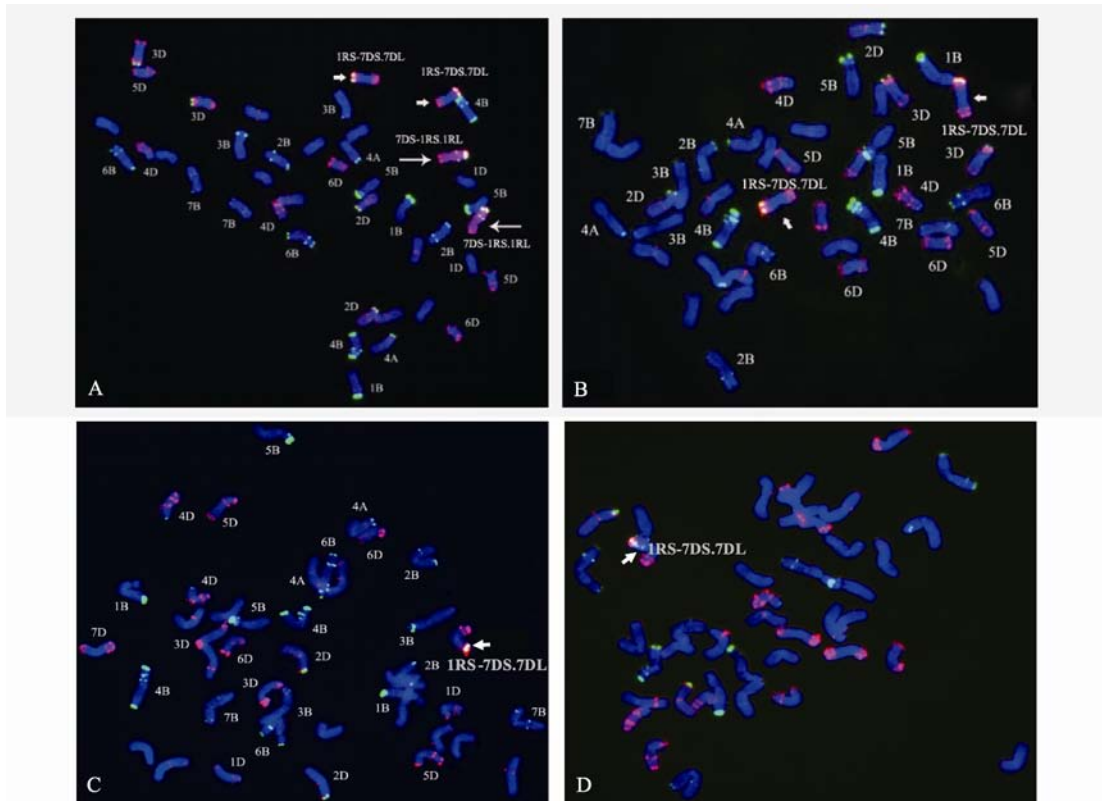


图 2 八倍体小黑麦 CD-13/川麦 42 F_5 代中的染色体易位

以秦岭黑麦基因组 DNA(红)、*pTa-535*(红)和 *pSc119.2*(绿)为探针进行原位杂交, 染色体用 DAPI 染色(蓝)。箭头示易位染色体, 短箭头所指为 1RS-7DS.7DL, 长箭头所指为 7DS-1RS.1RL。A: 株系 769, $2n=42$, 含 1 对 1RS-7DS.7DL 和 1 对 7DS-1RS.1RL 易位染色体; B: 株系 811, $2n=42$, 含 1 对 1RS-7DS.7DL 易位染色体; C: 株系 765, $2n=42$, 含 1 条 1RS-7DS.7DL 易位染色体; D: 株系 799, $2n=42$, 含 1 条 1RS-7DS.7DL 易位染色体。

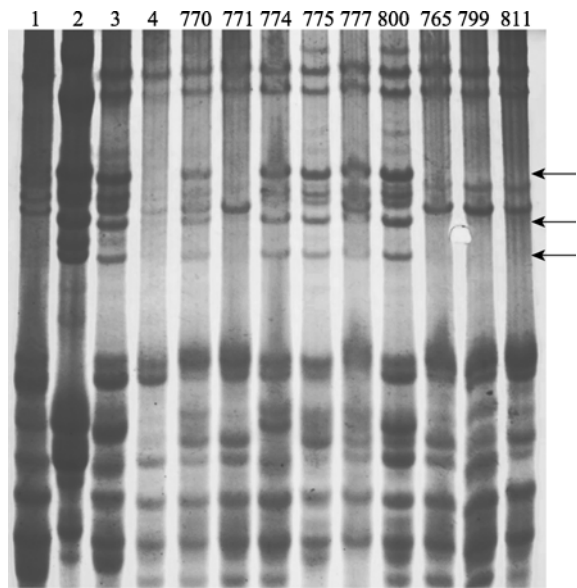


图3 CD-13/川麦 42 F5 群体中部分株系及亲本的醇溶蛋白 A-PAGE 分析
1: 蓬安白麦子; 2: 秦岭黑麦; 3: CD-13; 4: 川麦 42。

及 IAG95 等 9 个分子标记,仅 765、799 和 811 及亲本蓬安白麦子、川麦 42 无扩增带,其他 12 个系和

亲本秦岭黑麦、八倍体小黑麦 CD-13 均有扩增带(图 4,表 3)。由此表明,765、799 和 811 与蓬安白麦子和川麦 42 一样,编码黑麦碱蛋白的 *Sec-1* 位点缺失,且 1RS-7DS.7DL 染色体中小片段易位的断裂点在 1RS 染色体端部标记 IB267-IAG95 之间(图 5)。

2.4 小片段易位对千粒重的影响

2012、2013 两年千粒重分析发现,CD-13、秦岭黑麦和蓬安白麦子千粒重较低,分别为 23.2 g、23.9 g、27.3 g,川麦 42 千粒重较高,为 48.0 g;13 个携带 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦小片段易位染色体的株系平均千粒重变幅在 37.0-51.5 之间(表 4),均高于 CD-13。含有 1 对 1RS-7DS.7DL 染色体的纯合易位系 811 平均千粒重为 47.8 g,远远高于 CD-13,与川麦 42 千粒重差异不显著;仅含有 1 条 1RS-7DS.7DL 染色体的 2 个株系 765 和 799 平均千粒重分别为 48.3 g、51.5 g,比川麦 42 分别增加 0.3 g、3.5 g;而既含有 1RS-7DS.7DL 染色体,又含有 7DS-1RS.1RL 染色体的株系千粒重普遍较低(表 4)。由此表明,1RS-7DS 小麦-黑麦非部分同源小片段易位对千粒重无负作用。

表 3 含有 1RS 染色体片段的 15 个株系及其亲本的 DNA 标记和 SEC1 蛋白检测

株系	DNA 标记									蛋白标记			
	IB267	IAG95	P6M12-P	ORA012	NOR	ORA001	ORA003	ORA004	ORA006	ORA007	SEC-1	SEC-1b	A-PAGE
765	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
766	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
769	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
770	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
772	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
774	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
775	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
777	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
782	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
787	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
799	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
800	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
811	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
816	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
817	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
蓬安白麦子	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
秦岭黑麦	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CD-13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
川麦 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注: +表示有扩增产物;-表示无扩增产物。

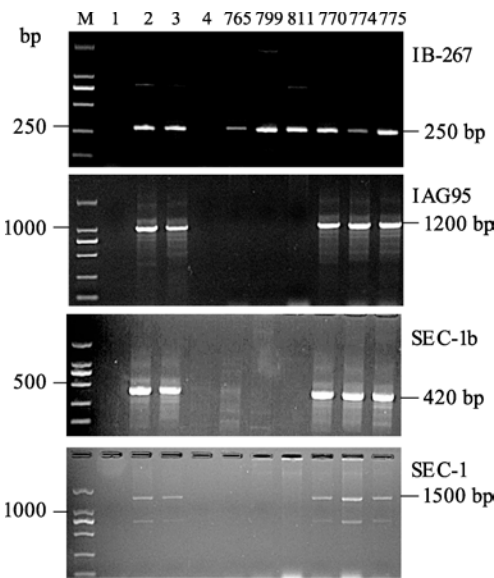


图 4 CD-13/川麦 42 F5 群体中部分株系 1RS 染色体及编码黑麦碱 Sec-1 位点的特异标记 PCR 扩增产物分析
1: 蓬安白麦子; 2: 秦岭黑麦; 3: CD-13; 4: 川麦 42。

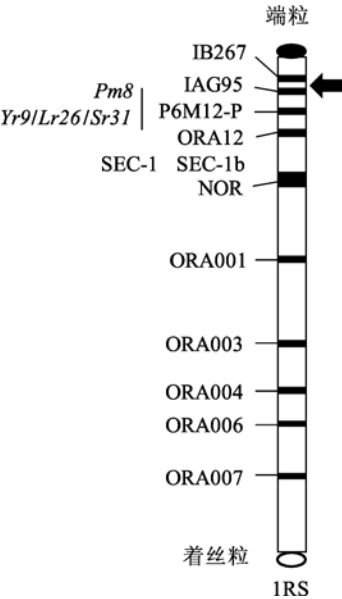


图 5 1RS-7DS.7DL 小片段易位染色体在 1RS 染色体上的断裂点
标记在 1RS 染色体臂上的位置根据前人的图谱^[34,38,39]。染色体左边为标记, 右边箭头所示为断裂点的位置。

3 讨论

目前, 黑麦的许多抗病、抗逆、高产和广适等

表 4 含有 1RS-7DS.7DL 小片段易位染色体株系的千粒重比较

株系	易位类型	2012 年	2013 年	比川麦	
				平均	42 增加率(%)
765	1 条 1RS-7DS.7DL	47.0	49.5	48.3	0.6
769	1 对 1RS-7DS.7DL	37.3	39.1	38.2	-20.4
	1 对 7DS-1RS.1RL				
770	1 条 1RS-7DS.7DL	46.0	47.7	46.9	-2.3
	1 对 1RS.wheat?				
774	1 对 1RS-7DS.7DL	45.1	46.7	45.9	-4.4
	1 对 7DS-1RS.1RL				
775	1 条 1RS-7DS.7D	40.7	43.5	42.1	-12.3
	1 对 7DS-1RS.1RL				
777	1 对 1RS-7DS.7DL	35.8	38.6	37.2	-22.5
	1 条 7DS-1RS.1RL				
782	1 对 1RS-7DS.7DL	36.4	37.5	37.0	-22.9
	1 对 7DS-1RS.1RL				
787	1 对 1RS-7DS.7DL	40.3	42.8	41.6	-13.3
	1 对 7DS-1RS.1RL				
799	1 条 1RS-7DS.7DL	48.8	54.2	51.5	7.3
800	1 条 1RS-7DS.7DL	45.4	47.3	46.4	-3.3
	1 条 7DS-1RS.1RL				
811	1 对 1RS-7DS.7DL	46.6	48.9	47.8	-0.4
816	1 对 1RS-7DS.7DL	35.7	38.3	37.0	-23.0
	1 对 7DS-1RS.1RL				
817	1 对 1RS-7DS.7DL	47.5	53.1	50.3	4.8
	1 对 7DS-1RS.1RL				
CD-13	1 对 1RS-7DS.7DL	22.7	23.6	23.2	-51.7
	1 对 7DS-1RS.1RL				
川麦 42	-	46.5	49.4	48.0	-
秦岭黑麦	-	23.2	24.5	23.9	-50.2
蓬安白麦子	-	26.4	28.2	27.3	-43.1

优异基因已转移到栽培小麦中, 育成的携带小麦-黑麦易位的小麦品种已大面积推广和育种应用^[7-13]。但是, 已鉴定出的小麦-黑麦易位类型中, 有关 1RS-7DS 易位类型的报道较少。亢增军等^[43,44]利用染色体 C 带和 FISH 技术鉴定六倍体普通小麦矮孟牛种质资源时, 发现矮孟牛 II、IV、V、VI 型携带一种新型的 1RS.7DS 和 1BL.7DL 复杂易位, 这种复杂易位是在普通小麦杂交过程中, 1RS.1BL 易位染色体与小麦 7D 染色体发生相互易位产生的, 其 1RS 来源于黑麦 Petkus, 易位类型为着丝粒断裂的易位。Masoudi-Nejad 等^[34]利用杀配子系统将 1RS 小片段导入了小麦 7D 染色体, 创制了不含黑麦碱基因的 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦小片段易位系, 其 1RS 小片段来源于黑麦 Imperial。本研究 1RS-7DS.7DL 易位染色体也不含

黑麦碱基因,其断裂点在 1RS 染色体臂端部 IB267-IAG95 标记区间;该易位染色体中的 1RS 小片段来源于秦岭黑麦,与前人创制的 1RS-7DS.7DL 小麦-黑麦小片段易位系以及我国目前广泛使用的 1RS 及 1RS.1BL 易位系的来源均不同。

本研究获得的八倍体小黑麦 CD-13 结实率 90% 以上,育性较好,穗子长,穗粒数多,但千粒重低;经多年白粉病和条锈病鉴定发现,高抗白粉病、成株期高抗条锈病,其抗病基因的来源与位置正在深入研究。2012 和 2013 年连续两年对 CD-13/川麦 42 F₅ 群体及其亲本进行千粒重测定,发现纯合易位系 811 平均千粒重为 47.8 g,远远高于 CD-13,与川麦 42 千粒重差异不显著;仅含有 1 条 1RS-7DS.7DL 染色体的 2 个株系(765 和 799)平均千粒重比川麦 42 分别增加 0.3 g 和 3.5 g;而既含有 1RS-7DS.7DL 染色体,又含 7DS-1RS.1RL 染色体的株系千粒重普遍较低,可能是受 7DS-1RS.1RL 染色体的影响。前人研究表明 1RS 染色体携带大量提高产量、产量构成因子及环境适应性的基因^[15,18],其端部大约 15% 的片段也携带大量与生根能力和根的形态学性状相关的基因^[45]。本研究创制的纯合 1RS-7DS.7DL 易位系(811)中的 1RS 端部小片段对千粒重无负作用,但其是否也携带可提高产量,增加根生物产量等基因,需进一步研究证明。

参考文献

- [1] Zeller FJ, Fuchs E. Cytology and disease resistance of a 1A/1R and some 1B/1R wheat-rye translocation cultivars. *Z Pflanzenzücht*, 1983, 90: 285–296. [\[DOI\]](#)
- [2] Carver BF, Rayburn AL. Comparison of related wheat stocks possessing 1B or 1RS. 1BL chromosomes: agronomic performance. *Crop Sci*, 1994, 34(6): 1505–1510. [\[DOI\]](#)
- [3] McIntosh RA, Friebe B, Jiang J, The D, Gill BS. Cytogenetical studies in wheat XVI. Chromosome location of a new gene for resistance to leaf rust in a Japanese wheat-rye translocation line. *Euphytica*, 1995, 82(2): 141–147. [\[DOI\]](#)
- [4] Wang CM, Zheng Q, Li LH, Niu YC, Wang HB, Li B, Zhang XT, Xu YF, An DG. Molecular cytogenetic characterization of a new T2BL•1RS wheat-rye chromosome translocation line resistant to stripe rust and powdery mildew. *Plant Dis*, 2009, 93(2): 124–129. [\[DOI\]](#)
- [5] Tang ZX, Ross K, Ren ZL, Yang ZJ, Zhang HY, Chikmawati T, Miftahudin, Gustafson JP. Wealth of wild species: role in plant genome elucidation and improvement: *Secale*. In: Kole C, ed. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Cereals*. Heidelberg: Springer, 2011: 367–395. [\[DOI\]](#)
- [6] An DG, Zheng Q, Zhou YL, Ma PT, Lv ZL, Li LH, Li B, Luo QL, Xu HX, Xu YF. Molecular cytogenetic characterization of a new wheat-rye 4R chromosome translocation line resistant to powdery mildew. *Chrom Res*, 2013, 21(4): 419–432. [\[DOI\]](#)
- [7] Friebe B, Hatchett JH, Sears RG, Gill BS. Transfer of Hessian fly resistance from ‘Chaupon’ rye to hexaploid wheat via a 2BS/2RL wheat-rye chromosome translocation. *Theor Appl Genet*, 1990, 79(3): 385–389. [\[DOI\]](#)
- [8] Jiang JM, Friebe B, Gill BS. Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica*, 1994, 73(3): 199–212. [\[DOI\]](#)
- [9] Rabinovich SV. Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivars of *Triticum aestivum* L.. *Euphytica*, 1998, 100(1–3): 323–340. [\[DOI\]](#)
- [10] Ribeiro-Carvalho C, Guedes-Pinto H, Heslop-Harrison JS, Schwarzacher T. Introgression of rye chromatin on chromosome 2D in the Portuguese wheat landrace ‘Barbela’. *Genome*, 2001, 44(6): 1122–1128. [\[DOI\]](#)
- [11] 王虹, 白杨, 李集临, 张延明. 小麦-黑麦小片段易位系的分子细胞遗传学分析. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(2): 383–388. [\[DOI\]](#)
- [12] 符书兰, 唐宗祥, 张怀琼, 杨足君, 任正隆. 含有抗白粉病基因的黑麦染色体小片段向小麦的转移. *遗传*, 2006, 28(11): 1396–1400. [\[DOI\]](#)
- [13] 李方安, 唐宗祥, 符书兰. 新型小麦-黑麦 6R 附加系的创制及其白粉病抗性基因向小麦中的渗进. *麦类作物学报*, 2014, 34(1): 34–38. [\[DOI\]](#)
- [14] Heun M, Friebe B, Bushuk W. Chromosomal location of the powdery mildew resistance gene of Amigo wheat. *Phytopathology*, 1990, 80(10): 1129–1133. [\[DOI\]](#)
- [15] Villarreal RL, Rajaram S, Mujeeb-Kazi A, Toro ED. The effect of chromosome 1B/1R translocation on the yield potential of certain spring wheats (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breed*, 1991, 106(1): 77–81. [\[DOI\]](#)
- [16] Friebe B, Heun M, Tuleen N, Zeller FJ, Gill BS. Cytogenetically monitored transfer of powdery mildew resistance from rye into wheat. *Crop Sci*, 1994, 34(3): 621–625. [\[DOI\]](#)
- [17] Porter DR, Webster JA, Friebe B. Inheritance of greenbug biotype G resistance in wheat. *Crop Sci*, 1994, 34(3): 625–628. [\[DOI\]](#)
- [18] Schlegel R, Meinel A. A quantitative trait locus (QTL) on chromosome arm 1RS of rye and its effect on yield performance of hexaploid wheat. *Cereal Res Commun*, 1994, 22(1–2): 7–13. [\[DOI\]](#)
- [19] Friebe B, Jiang J, Raupp WJ, McIntosh RA, Gill BS. Characterization of wheat-alien translocations conferring

- resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica*, 1996, 91(1): 59–87. [\[DOI\]](#)
- [20] Hsam SLK, Mohler V, Hartl L, Wenzel G, Zeller FJ. Mapping of powdery mildew and leaf rust resistance genes on the wheat-rye translocated chromosome T1BL•1RS using molecular and biochemical markers. *Plant Breed*, 2000, 119(1): 87–89. [\[DOI\]](#)
- [21] Mago R, Miah H, Lawrence GJ, Wellings CR, Spielmeier W, Bariana HS, McIntosh RA, Pryor AJ, Ellis JG. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1. *Theor Appl Genet*, 2005, 112(1): 41–50. [\[DOI\]](#)
- [22] Lukaszewski AJ. Frequency of 1RS.1AL and 1RS.1BL translocations in United States wheats. *Crop Sci*, 1990, 30(5): 1151–1153. [\[DOI\]](#)
- [23] Yediyay FE, Baloch FS, Kilian B, Özkan H. Testing of rye-specific markers located on 1RS chromosome and distribution of 1AL.RS and 1BL.RS translocations in Turkish wheat (*Triticum aestivum* L., *T. durum* Desf.) varieties and landraces. *Genet Resour Crop Evol*, 2010, 57(1): 119–129. [\[DOI\]](#)
- [24] Weng Y, Azhaguvel P, Devkota RN, Rudd JC. PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breed*, 2007, 126(5): 482–486. [\[DOI\]](#)
- [25] Rogowsky PM, Guidet FLY, Langridge P, Shepherd KW, Koebner RMD. Isolation and characterization of wheat-rye recombinants involving chromosome arm 1DS of wheat. *Theor Appl Genet*, 1991, 82(5): 537–544. [\[DOI\]](#)
- [26] 周阳, 何中虎, 张改生, 夏兰琴, 陈新民, 高永超, 井赵斌, 于广军. 1BL/1RS 易位系在我国小麦育种中的应用. *作物学报*, 2004, 30(6): 531–535. [\[DOI\]](#)
- [27] Wieser H, Kieffer R, Lelley T. The influence of 1B/1R chromosome translocation on gluten protein composition and technological properties of bread wheat. *Sci Food Agric*, 2000, 80(11): 1640–1647. [\[DOI\]](#)
- [28] Graybosch RA. Uneasy unions: Quality effects of rye chromatin transfers to wheat. *J Cereal Sci*, 2001, 33(1): 3–16. [\[DOI\]](#)
- [29] Ren TH, Yang ZJ, Yan BJ, Zhang HQ, Fu SL, Ren ZL. Development and characterization of a new 1BL.1RS translocation line with resistance to stripe rust and powdery mildew of wheat. *Euphytica*, 2009, 169(2): 207–213. [\[DOI\]](#)
- [30] 安调过, 红星, 许云峰. 小麦远缘杂交种质资源创新. *中国生态农业学报*, 2011, 19(5): 1011–1019. [\[DOI\]](#)
- [31] Lukaszewski AJ. Breeding behavior of the cytogenetically engineered wheat-rye translocation chromosomes 1RS.1BL. *Crop Sci*, 2001, 41(4): 1062–1065. [\[DOI\]](#)
- [32] Lukaszewski AJ. Registration of six germplasms of bread wheat having variations of cytogenetically engineered wheat-rye translocation 1RS.1BL. *Crop Sci*, 2003, 43(3): 1137–1138. [\[DOI\]](#)
- [33] Anugrahwati DR, Shepherd KW, Verlin DC, Zhang P, Mirzaghaderi G, Walker E, Francki MG, Dundas IS. Isolation of wheat-rye 1RS recombinants that break the linkage between the stem rust resistance gene *SrR* and *secalin*. *Genome*, 2008, 51(5): 341–349. [\[DOI\]](#)
- [34] Masoudi-Nejad A, Nasuda S, McIntosh RA, Endo TR. Transfer of rye chromosome segments to wheat by a gametocidal system. *Chrom Res*, 2002, 10(5): 349–357. [\[DOI\]](#)
- [35] Han FP, Gao Z, Yu WC, Birchler JA. Minichromosome analysis of chromosome pairing, disjunction, and sister chromatid cohesion in maize. *Plant Cell*, 2007, 19(12): 3853–3863. [\[DOI\]](#)
- [36] Komuro S, Endo R, Shikata K, Kato A. Genomic and chromosomal distribution patterns of various repeated DNA sequences in wheat revealed by a fluorescence in situ hybridization procedure. *Genome*, 2013, 56(3): 131–137. [\[DOI\]](#)
- [37] Bedbrook JR, Jones J, O'Dell M, Thompson RD, Flavell RB. A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species. *Cell*, 1980, 19(2): 545–560. [\[DOI\]](#)
- [38] Lei MP, Li GR, Liu C, Yang ZJ. Characterization of wheat-*Secale africanum* introgression lines reveals evolutionary aspects of chromosome 1R in rye. *Genome*, 2012, 55(10): 765–774. [\[DOI\]](#)
- [39] Mago R, Spielmeier W, Lawrence G, Lagudah E, Ellis J, Pryor A. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines. *Theor Appl Genet*, 2002, 104(8): 1317–1324. [\[DOI\]](#)
- [40] Bartoš J, Paux E, Kofler R, Havráňková M, Kopecký D, Suchánková P, Šafář J, Šimková H, Town CD, Lelley T, Feuillet C, Doležal J. A first survey of the rye (*Secale cereale*) genome composition through BAC end sequencing of the short arm of chromosome 1R. *BMC Plant Biol*, 2008, 8(1): 95. [\[DOI\]](#)
- [41] Koebner RMD. Generation of PCR-based markers for the detection of rye chromatin in a wheat background. *Theor Appl Genet*, 1995, 90(5): 740–745. [\[DOI\]](#)
- [42] 张立平, 何中虎, 陆美琴, 庞斌双, 张学勇, 夏兰琴, Ellison F. 用 *Glu-B3*、*Gli-B1* 和 *SEC-1b* 复合引物 PCR 检测普通小麦 1BL/1RS 易位系. *中国农业科学*, 2003, 36(12): 1566–1570. [\[DOI\]](#)
- [43] Qi ZJ, Chen PD, Liu DJ, Li QQ. A new secondary reciprocal translocation discovered in Chinese wheat. *Euphytica*, 2004, 137(3): 333–338. [\[DOI\]](#)
- [44] 亢增军, 刘大钧, 陈佩度, 李晴祺. 冬小麦种质“矮孟牛”的分子细胞遗传学研究. *植物学报*, 2001, 43(5): 469–474. [\[DOI\]](#)
- [45] Sharma S, Bhat PR, Ehdaie B, Close TJ, Lukaszewski AJ, Waines JG. Integrated genetic map and genetic analysis of a region associated with root traits on the short arm of rye chromosome 1 in bread wheat. *Theor Appl Genet*, 2009, 119(5): 783–793. [\[DOI\]](#)