



非洲黑麦与小麦遗传育种

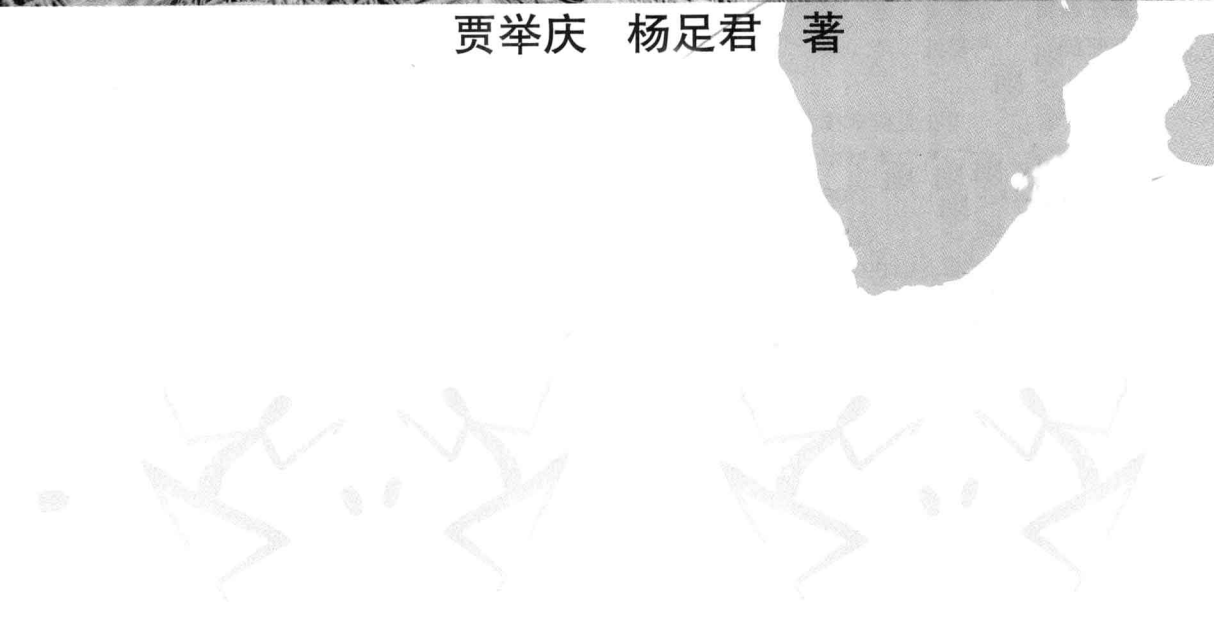
贾举庆 杨足君 著

中国农业科学技术出版社



非洲黑麦与小麦遗传育种

贾举庆 杨足君 著



中国农业科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

非洲黑麦与小麦遗传育种 / 贾举庆, 杨足君著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2012. 6

ISBN 978 - 7 - 5116 - 0912 - 0

I. ①非… II. ①贾… ②杨… III. ①黑麦—遗传育种—研究

IV. ①S512. 103. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 111162 号

责任编辑 张孝安 赵 赟

责任校对 贾晓红 范 潇

出 版 者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82109708(编辑室) (010)82109704(发行部)

(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82109708

网 址 [http://www. castp. cn](http://www.castp.cn)

经 销 者 各地新华书店

印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 787mm × 1092mm 1/16

印 张 10. 625

字 数 200 千字

版 次 2012 年 6 月第 1 版 2012 年 6 月第 1 次印刷

定 价 30. 00 元

— 版权所有 · 翻印必究 —

前言

PREFACE

小麦是世界上最重要的农作物之一,在农业生产中占有举足轻重的地位。随着对小麦研究的逐渐深入,改良小麦已取得了重大突破。但如同其他大多数作物一样,小麦在现代农业体系下,其遗传多样性丢失极为严重,限制了小麦产量的大幅度提高和品质的进一步改良。野生近缘植物中存在着栽培小麦种内基因库所短缺的非常有用的宝贵基因资源,是小麦遗传改良的巨大基因库。因此,为提高小麦的遗传多样性,丰富小麦育种的遗传基础,迫切需要向栽培小麦导入外源优异基因。

非洲黑麦(*Secale africanum* Stapf.)是禾本科(Poaceae)、小麦族(Triticeae)、黑麦属(*Secale*)植物,是黑麦属的重要物种。在普通小麦的野生基因源中,非洲黑麦属于第三级基因源,具有矮秆和对多种病害具有优异的抗性的特点,因而开展这一珍贵资源中优异基因的研究与发掘,对遗传改良小麦具有重要意义。基于多年从事非洲黑麦这一珍贵野生资源在小麦遗传育种中的利用研究,我们将取得的一些结果进行总结而编著了这本书。出版这本书旨在对从事野生资源在小麦育种中利用的同行们能有所启发与帮助。

本书共分六章,第一章由杨足君和贾举庆撰写,第二章至第六章由贾举庆撰写。第一章介绍了小麦族植物在小麦遗传育种中的利用;第二章从细胞分子生物学角度介绍了非洲黑麦的系统进化;第三章介绍了非洲黑麦基因组特异标记的开发;第四章介绍了非洲黑麦—小麦染色体工程育种的工作;第五章介绍了非洲黑麦—小麦渐渗系的筛选及鉴定;第六章介绍了对一高抗条锈病的非洲黑麦—小麦渐渗系进行抗性基因的分子作图。通过六章内容的介绍,为更好地利用野生资源遗传改良小麦及其他作物提供了思路和方法。

本书由国家自然科学基金(30871518)、山西农业大学博士基金(XB2010009)和山西农业大学科技创新基金资助,在此表示衷心的感谢。由于本书涉及多学科领域,加之作者水平有限,因此书中难免有不足之处,敬请各位专家、学者、同行批评指正。

贾举庆

2012年3月

目 录

CONTENTS

第一章 小麦族植物在小麦遗传育种中的利用 / 1

第一节 小麦族植物基因资源 / 3

第二节 小麦族植物抗病基因在小麦育种中的利用 / 5

一、簇毛麦属抗病基因向小麦中转移研究 / 5

二、偃麦草属抗病基因向小麦中转移的研究 / 7

三、山羊草属抗病基因向小麦中转移研究 / 9

四、黑麦属抗病基因向小麦中转移研究 / 11

五、赖草属抗病基因向小麦中转移研究 / 14

六、新麦属抗条锈病基因向小麦中转移研究 / 14

第二章 非洲黑麦的系统进化 / 23

第一节 黑麦属植物分类及系统进化 / 25

一、分类简史 / 25

二、系统演化 / 28

第二节 非洲黑麦的系统进化 / 30

一、吉姆萨 C 分带 / 30

二、GISH 和 FISH 分析 / 32

三、SSR 分子标记分析 / 35

四、基于 *PDHA1* 基因内含子序列的黑麦系统发育 / 39

第三章 非洲黑麦基因组特异标记的建立 / 47

第一节 基于 RAPD 标记的非洲黑麦基因组特异性标记的建立 / 49

一、P13 和 O5 标记的建立 / 50

二、D15 标记的建立 / 57

三、H11 标记的建立 / 61

四、M04 标记的建立 / 64

第二节 基于 ISSR 标记的非洲黑麦基因组特异性标记的建立 / 67

一、实验材料 / 68

二、实验方法 / 68

三、实验结果与分析 / 69

第三节 基于功能基因内含子的非洲黑麦基因组特异标记的建立 / 72

一、实验材料 / 73

二、实验方法 / 74

三、实验结果与分析 / 74

第四章 非洲黑麦—小麦染色体工程育种 / 81

第一节 黑麦与小麦远缘杂交研究进展 / 83

一、黑麦与小麦可杂交性 / 83

二、利用途径 / 84

第二节 小麦—非洲黑麦双二倍体的鉴定 / 89

一、实验材料 / 89

二、实验方法 / 89

三、结果与分析 / 90

第三节 小麦—非洲黑麦双二倍体遗传及表观遗传学研究 / 91

一、实验材料 / 95

二、实验方法 / 95

三、实验结果与分析 / 98

第五章 小麦—非洲黑麦渐渗系的筛选与鉴定 / 117

第一节 外源遗传物质的鉴定方法 / 119

一、形态学标记 / 119

二、细胞学标记 / 119

三、原位杂交 / 120

四、生化标记 / 122

五、分子标记 / 122

第二节 小麦—非洲黑麦渐渗系的筛选及鉴定	/ 124
一、实验材料	/ 124
二、实验方法	/ 124
三、实验结果与分析	/ 126
第六章 小麦—非洲黑麦渐渗系抗条锈基因分子作图	/ 141
第一节 黑麦抗条锈基因的分子定位研究进展	/ 143
第二节 小麦—非洲黑麦渐渗系抗条锈基因分子作图	/ 144
一、实验材料	/ 144
二、实验方法	/ 144
三、实验结果与分析	/ 147

内容简介

SUMMARY

本书主要围绕小麦族黑麦属植物中的非洲黑麦开展了一系列研究:综合运用细胞分子生物的手段研究了非洲黑麦的系统进化;开发了基于非洲黑麦基因组的特异基因组标记和单染色体标记;研究了非洲黑麦—小麦远缘杂交育种中出现的遗传与表观遗传现象;创制和鉴定了一批具有优异抗条锈病的非洲黑麦—小麦渐渗系材料;对一个非洲黑麦—小麦小片段渐渗系中的抗条锈基因进行了分子定位,为利用非洲黑麦这一优异基因资源提供了材料、理论和方法。

本书可作为从事利用野生资源进行作物遗传改良的专业人员和科研人员的参考书。

第一章

小麦族植物在小麦遗传育种中的利用



小麦是世界上最重要农作物之一,也是我国仅次于水稻的主要粮食作物,在农业生产中占有举足轻重的地位。关于小麦的研究,近百年来,国内外众多科学工作者在不同层次、不同方向上进行了大量的工作。从19世纪起科研工作者就开始对小麦进行遗传学方面研究;20世纪初,小麦细胞遗传学研究有了较大的进展;到20世纪80年代,掀起了小麦染色体工程遗传研究的热潮,并促进了世界小麦育种的发展;20世纪末开始了小麦基因组的分子遗传学研究;进入21世纪后,随着科学技术的快速发展,小麦基因组测序和功能基因组学不断深入,使得全面认识了解小麦,进而改良小麦取得了重大突破(张正斌,2001)。

但如同其他大多数作物一样,小麦在现代农业体系下,其遗传多样性丢失极为严重,这不仅使小麦对生物性和非生物性的环境胁迫变得十分脆弱,而且也限制了小麦产量的大幅度提高和品质的进一步改良。野生近缘植物中存在着栽培小麦种内基因库所短缺的非常有用的宝贵基因资源,是小麦遗传改良的巨大基因库。因此,为提高小麦的遗传多样性,丰富小麦育种的遗传基础,迫切需要向栽培小麦导入外源优异基因。

第一节

小麦族植物基因资源

小麦族(*Triticeae*)植物包括小麦属(*Triticum*)、山羊草属(*Aegilops*)、黑麦属(*Secale*)、冰草属(*Agropyrum*)、簇毛麦属(*Dasypyrum*)、大麦属(*Hordeum*)、偃麦草属(*Elyrigia*)和赖草属(*Elymus*)等25个属,具有24个基本染色体组(A-W,Z)和两个尚未确定的染色体组X和Y,表现出遗传变异的多样性(Miller,1988)。

这些物种具有许多普通小麦缺乏的优良农艺性状,如抗病虫害、抗旱、抗寒、耐盐碱、高蛋白含量等,是小麦改良研究中可以利用的宝贵基因资源库。从育种学角度出发,每一种作物的野生资源可以划分为三级基因库(图1-1)(Harlan,1971)。小麦一级基因库是具有同源基因组的种,包括普通小麦的地方品种(*T. aestivum*, AABBDD),野生和栽培的圆锥小麦(*T. urgidum*, AABB),普通小麦A组和D组的供体种—栽培一粒小麦(*T. Monococcum* L., AA),野生一粒小麦(*T. boeoticum*, AA),乌拉尔图小麦(*T. urartu*, AA)和粗山羊草(*Ae. squarrosa* L., DD)。小麦的二级基因库由于小麦共有一个染色体组的小麦属和山羊草属的多倍体种以及与B染色体组

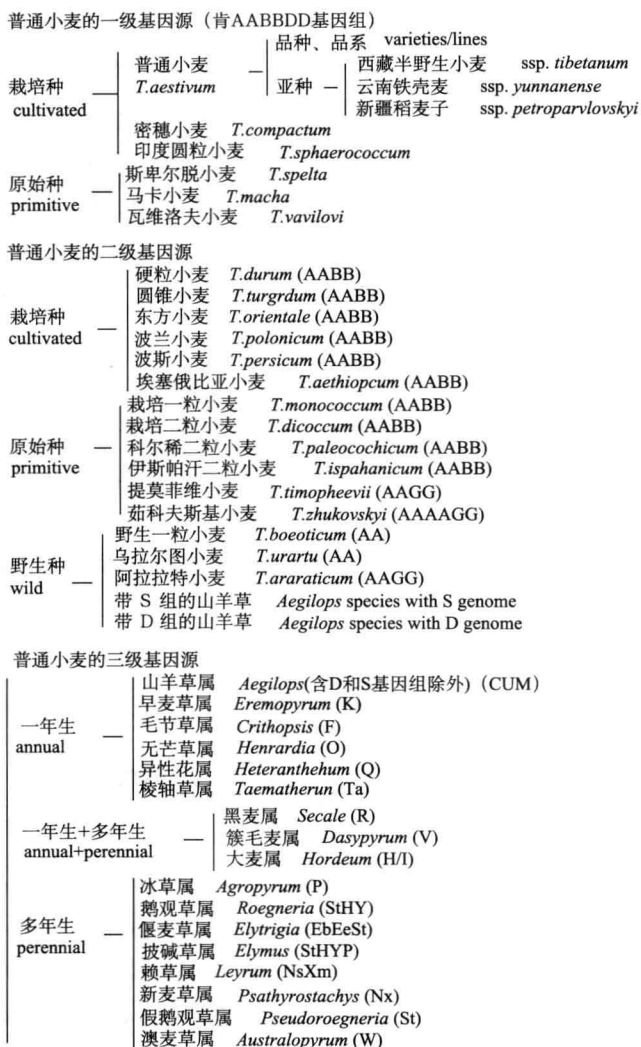


图 1-1 小麦族植物的基因源

亲缘关系较近的 sitopsis 群中的某些物种。例如,野生和栽培的提莫非维小麦 (*T. timopheevii*, AAGG),阿拉拉特小麦 (*T. araraticum*, AAGG) 等。小麦的三级基因库是指含有小麦异源染色体组的二倍体和多倍体种,包括大麦属、黑麦属、偃麦草属、簇毛麦属等整个小麦族。这些物种除了有一二级基因库所包含的抗病基因外,还有小麦种内缺乏的一些重要病害,例如:赤霉病、锈病等。尽管这些物种与小麦的亲缘关系较远,但是其染色体组在遗传结构上与小麦染色体组有着部

分同源关系。因此,将这类外源基因导入小麦是完全可能的,且能拓宽小麦遗传基础。

第二节

小麦族植物抗病基因在小麦育种中的利用

研究表明,小麦的近缘种属植物蕴藏着一些独特的性状,如抗虫、抗旱、耐盐碱和抗病等,因此可为改良小麦的抗病、抗逆等提供珍贵的基因库。随着小麦远缘杂交和染色体工程的深入开展,小麦近缘种属的大量有益基因导入小麦中,获得了一大批优良的中间材料。其中,随着外源染色体或染色体片段的导入,一些抗病基因也随之被引入到小麦的遗传背景中,如许多抗条锈病基因是来自小麦近缘种属(李振岐和曾士迈,2002)。这些外源抗病基因的引入,为小麦提供了更广泛的抗源,大大丰富了普通小麦的抗病遗传基础。

一、簇毛麦属抗病基因向小麦中转移研究

(一)簇毛麦属抗条锈病基因向小麦中转移研究

簇毛麦属包括两个种,分别为分布于地中海沿海、内陆以及西亚的黑海地区的二倍体一年生簇毛麦(*Dasypyrum villosum*)和分布于北非和希腊的四倍体多年生(*D. breviaristatum* 4 $\times$)。近年来,又在美国一些地区发现了二倍体多年生簇毛麦(*D. breviaristatum* 2 $\times$)。簇毛麦携带许多重要的农业性状抗性基因,其中抗病基因已被广泛认识和研究,如研究认为二倍体一年生簇毛麦对小麦秆锈病和叶锈病有明显的抗性(Hyde,1953),对全蚀病有较强的抗性(Laursen *et al.*,1973),对白粉病免疫(刘大钧,1983),抗眼斑病和大麦黄矮病(BYDV)(De Pace *et al.*,1990)。

将簇毛麦有益基因向小麦中的转移始于1947年,McFedden和Sears合成了野生二粒小麦(*T. dicoccoides*)与簇毛麦的双二倍体,并在此基础上创制了以中国春为背景的6个附加系(McFedden and Sears,1947)。随后,国内外科研工作者对簇毛麦中有益基因向小麦转移开展了大量的工作。其中将簇毛麦中的抗条锈病基因向小麦的转入也做了相当多的工作。虽然在已正式命名的抗条锈病基因中还没发



现来自于簇毛麦的,但在已创制的材料中发现有来自于簇毛麦的抗条锈病基因。

蒋华仁等(1992)报道了由硬粒小麦品种 Joric-69 与簇毛麦的杂交后染色体自然加倍获得双二倍体。并分别用二粒小麦和中国春小麦与四倍体簇毛麦合成八倍体和十倍体小簇麦。杨足君等从 1996 年起利用这 2 个人工合成双二倍体作为转移多年生簇毛麦基因资源的供体,开展了多年生簇毛麦优异基因向小麦中渗入的工作。研究发现,中国春—多年生簇毛麦双二倍体与感条锈病四川小麦品种绵阳 11 和川育 12 杂交回交培育的后代材料,通过多年多点条锈病人工接种和自然鉴定,特别是在 2002 年四川省新的条锈病小种条中 32、杂 III、杂 IV 等混合菌种大流行的情况下,筛选到了 20 余份接近稳定的抗病渐渗系,表明多年生簇毛麦的抗条锈病性能够稳定传递。原位杂交分析发现多数抗条锈病新材料为小麦—多年生簇毛麦大片段易位和代换系,有 2 份材料中有多年生簇毛麦染色质小片段的渗入小麦染色体的端部(杨足君,2005)。

Swarn-Lata 等(1994)用硬粒小麦—簇毛麦合成的双二倍体与 7 个小麦品种相互杂交,从 3 个品种中获得了杂种,正反交杂种植株均抗条锈病。

马渐新等(1997)用原位杂交和 RFLP 鉴定了贵农 21、22 为 6V(6A)代换系。随后张庆勤等用二倍体一年生簇毛麦与春性迟熟的硬粒小麦 Sanwne20 杂交,获得了小麦品系贵农 21、22,贵农 21、22 表现抗白粉病、条锈病和面粉达到三级面包小麦标准(张庆勤等,1999)。

(二)簇毛麦属抗白粉病基因向小麦中转移研究

南京农业大学在进行了簇毛麦抗白粉病基因向小麦中的转移工作(刘大钧,1994),培育了一系列小麦—簇毛麦的附加系和代换系,并用扬麦 5 号与小麦—簇毛麦 6V 代换系杂交,结合辐射,在后代中选育了一批对白粉病免疫的新材料,其中 6VS/6AL 易位系的含有抗白粉病新基因 *Pm21*,表现了对白粉病的优良抗性(齐莉莉 *et al.*, 1997)。并开展了对该基因的分子标记研究(Qi *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 1995)。陈孝等利用组织培养技术向普通小麦导入簇毛麦抗白粉病基因(陈孝等, 1996),利用 Giemsa-C 带技术、同工酶和 RAPD 分析,从而获得了鉴定为 6V(6D)的 94G22-1、94G25 异代换系(陈孝等, 1996; 尚立民等, 1997; Shi *et al.*, 1998)。等位基因测试表明,6V(6D)代换系的抗白粉病基因仍为 *Pm21*(Shi *et al.*, 1998)。王秋英等(1999)用缺体回交法从硬粒小麦—簇毛麦双二倍体中转育了抗白粉病的 6V(6D)代换系。

二、偃麦草属抗病基因向小麦中转移的研究

(一) 偃麦草属抗条锈病基因向小麦中转移研究

偃麦草属 (*Elystrigia desvaux*) 自然分布极广,遍及欧亚,在北美和世界其他温带的许多地区已有分布,为多年生牧草。偃麦草属染色体倍数有 $2\times$ 、 $4\times$ 、 $6\times$ 和 $10\times$ 四种类型,因此根据染色体组成很难定义偃麦草属,因为它是由染色体组成尚不明确的复合多倍体组成的。关于偃麦草属与小麦属的杂交,国内外试验证明,全部偃麦草属中可与普通小麦杂交的种有 4 个,它们是长穗偃麦草 [*Lophopyrum elongatum* (Host) A. Love = *Agropyrum elongatum* (Host) Nevski. , 染色体组为 E^eE^e], 中间偃麦草 [*Thinopyrum intermedium* (Host) Nevski.]、茸毛偃麦草 [*E. trichophora* (Link) Nevski] 和灯心偃麦草 [*E. juncea* L. Desv.)]。其中,研究最多的为长穗偃麦草和中间偃麦草。

偃麦草属物种是小麦的重要的抗锈资源,现已正式命名的抗叶锈病基因 *Lr19*、*Lr24* 和 *Lr29* 和抗秆锈基因 *Sr24*、*Sr25* 和 *Se26* 都是由长穗偃麦草通过易位转移到普通小麦中的。虽然至今还没有正式命名的来自于长穗偃麦草的抗条锈病基因,但国内外创制大量的易位系材料证明长穗偃麦草携带有抗条锈病基因。

马渐新等(1999)对一套小麦—长穗偃麦草二体代换系进行了条锈病抗性鉴定、抗性遗传和生化分析。结果表明,长穗偃麦草携带有新的抗小麦条锈病基因,位于 3E 染色体上,在小麦背景中呈显性遗传,定名为 *YrE*。

刘爱峰等(2007)利用十倍体长穗偃麦草 ($2n = 70$, $StStStStE^eE^eE^bE^xE^x$) 与普通小麦品种鲁麦 5 号和济南 13 复合杂交(长穗偃麦草/鲁麦 5 号//济南 13),从其杂种后代中筛选鉴定出抗病种质系山农 87074 及其若干衍生系。山农 87074-519 是一个附加了 1 对长穗偃麦草 *St* 基因组染色体的双体异附加系。它对条锈病免疫,暂命名为 *YrSt*。

殷学贵等(2006)从小麦与十倍体长穗偃麦草 (*Thinopyrum ponticum* Host) 杂交后代材料中筛选出材料 A-3,抗性检测发现 A-3 对条锈病免疫,A-3 对条中 31 号和 32 号的抗性由一显一隐 2 对基因控制,定名为 *YrTp1* 和 *YrTp2*,分别位于 2BS 和 7BS。

杨足君等(2006)对中国春—长穗偃麦草双二倍体和七个长穗偃麦草的中国春



单体附加系进行抗条锈病鉴定发现,双二倍体和 $7E^e$ 对条锈病免疫,又用代换系 $DS7E^e(7D)$ 、 $DS7E^e(7B)$ 和 $DS7E^e(7A)$,进一步证明长穗偃麦草的 $7E^e$ 染色体上携带抗条锈病基因。

中间偃麦草染色体组成表示为 $E^1E^1E^2E^2XX = E^eE^eE^bE^bS'S'$ 或为 JJJ^*J^*SS ,是偃麦草属中最先同小麦杂交成功,并为小麦育种提供许多有益基因的物种之一,因此对中间偃麦草的研究比较深入,创制出一批优良的抗条锈病材料。

国内较早开展中间偃麦草与小麦远缘杂交的是山西省农业科学院的孙善澄等人。他们培育出“中1”——“中5”五个八倍体小偃麦。经抗性鉴定,这五个双二倍体都抗条锈病(孙善澄,1981)。以上述5个八倍体小偃麦为抗病育种新抗源,全国不少单位用它与普通小麦回交选出优良新品种、新品系和新类型。例如:薛秀庄等(1996)利用“中4”和农艺性状优良的普通小麦杂交获得了对条锈免疫小麦品种陕麦8007。对其抗条锈病基因染色体定位分析认为,其抗条锈病性基因分别由染色体2B和6B上的2对互补基因控制。张忠军等(1994)从“中4”与感条锈病普通小麦铭贤169的杂交回交后代中选出了含一对中间偃麦草染色体的3个抗条锈病的二体附加系“A1”、“A2”和“A3”。对以上3个附加系组织病理学观察发现,它们的组织学抗病机制不完全相同,“A2”所附加的染色体不同于“A1”和“A3”所附加的染色体,即“中4”至少有2个染色体与抗条锈病性有关,其中一条染色体控制不被条锈病菌侵入,而另一条染色体限制条锈病菌丝的扩展。西北农林科技大学农学院利用“中4”与阿勃缺体杂交,选出材料N9025-3-3-2-1-1,细胞学鉴定表明该材料为小麦—中间偃麦草异代换—易位系,含有38条小麦染色体,2条中间偃麦草染色体和2条小麦—中间偃麦草易位染色体,在小麦染色体端部易位了中间偃麦草染色体(王长有等,2002)。甘肃省农业科学院植物保护研究所利用“中5”与小麦S394和咸农4号杂交(中5/S394//咸农4号)创制了中梁22。经抗性鉴定,中梁22苗期及成株期均对混合条锈病菌免疫,其抗锈性居国内领先水平,经系谱和分子标记检测证明,中梁22的抗性基因来自于中间偃麦草,命名为 *YrZhong22*,经中国春单体定位,将 *YrZhong22* 定位在5B染色体长臂上(杨敏娜,2008)。胡利君(2011)在小麦—茸毛偃麦草部分双二倍体与小麦杂交后代中筛选一个高抗条锈病的材料AS1667,经细胞分子标记鉴定为1St(1D)代换系。胡利君(2011)在小麦—彭提卡偃麦草(部分)双二倍体杂于小麦杂交后代材料中筛选到一个高抗条锈病的材料X005,经细胞分子标记鉴定为6J^{*}(6B)代换系。