

利用诱导部分同源配对 向小麦转移异源染色体节段

董安书

(农学系)

摘 要 从比较几种向小麦转移异源遗传物质的方法出发,讨论了利用诱导部分同源配对转移异源基因的优越性。对国内外诱导部分同源配对所采用的4种方法的具体步骤、研究成果及其优缺点进行了综述,并对进一步提高人工诱导异源易位系的水平提出了改进意见。

关键词 小麦, 5B单体, 异代换系, 缺体5B—四体5D, Ph突变体, 部分同源配对, 近端重组, 远端重组

小麦属及其近缘属植物有许多优良特性,向小麦转移这些特性,不但能提高它的抗逆性和适应性,而且也有助于改善它的籽粒品质,增进其增产潜力。尽管利用电离辐射和端着丝点并合也能使小麦和异染色体发生易位,但是由于染色体断裂和并合是随机发生的,电离辐射诱导对称性相互易位的可能性很小。易位染色体通过雄配子传递的频率通常很低,而端着丝点并合带来的异染色体节段较长,携带不良基因的机会较多。因而,使用这两种方法,经常会使育成的小麦品种不能产生令人满意的性状,特别是端着丝点并合所产生的易位,这类不良性状往往更加突出。

50年代,发现小麦分为7个部分同源群,它们在特定的遗传背景下有低频率的联会和交换。特别是发现5B染色体长臂上载有控制部分同源染色体配对的主效基因Ph,当5B染色体缺失时,能显著地提高部分同源染色体配对的频率。此后不久,拟斯卑尔脱山羊草(*Ae. speltoides*)和无芒山羊草(*Ae. mutica*)抑制Ph基因活性的功能也相继发现。所有这些发现,向人们提供了在异染色体和它们的小麦部分同源染色体之间诱导配对和重组的新的可能性。由于部分同源配对转移的异源节段补偿性较好,易位染色体通过雄配子传递的频率较高,因而成为向小麦转移异源基因的理想途径。通常采用的方法有4种:

1 利用5B染色体缺失或抑制Ph基因的作用诱导部分同源配对

5B缺体是雄性不育的。当它和二倍体异源物种杂交时,可得到含有27条染色体的杂种。由于此类杂种缺少5B染色体,因而为小麦染色体和异源染色体间的配对和交换提供了机会。但是,这类杂种不仅 F_1 育性很差,而且也经常影响到回交后代的育性难以恢复。因此,后来的许多类似研究多采用5B单体进行。Riley (1966)^[1]首先应用此法把

二角山羊草 (*Ae. bicornis*) 的早熟性转移到Holdfast小麦中。Joshi 和 Sinha (1978)^[2]把黑麦 (Russian Rey, $2n=14$) 抗三锈病的特性转入Pbc 591 春小麦中。不过, 在这个转移的 F_1 , 只得到3株28条染色体的杂种, 没有发现27条染色体。据细胞学观察, 有1株28条染色体的杂种不但有四价体, 也有很高的配对水平 (交叉频率为 9.3 ± 0.2)。这和另外2株28条染色体杂种的低配对水平 (交叉频率为 1.5 ± 0.1) 形成鲜明对照。据分析, 这可能是Ph基因的突变, 也可能是5B染色体的缺失和5A或5D染色体的重复所致。此后, 许喜堂和薛秀庄等 (1988)^[3]采用此法将奥地利黑麦 ($2n=14$) 的抗锈特性转移到中国春小麦上, 育成抗病品系M8003。

鉴于中国春小麦的农艺性状很差, Bhowal (1979) 设计了一种利用其它品种诱导部分同源重组的简易程序: 首先让受体品种给中国春5B单体授粉, 从 F_1 选出5B单体并使其与异源物种 (山羊草、偃麦草和黑麦等) 杂交。再从后代选出27条染色体的杂种, 然后用受体品种至少回交3代。经过自交后, 在42条染色体的后代中, 具有目标性状的植株就是小麦染色体和异染色体发生交换的重组体。

利用抑制Ph基因的作用, 也可促进部分同源染色体重组, 向小麦引入异染色体节段或基因。1968年Riley^[4]首先用中国春小麦—顶芒山羊草 (*Ae. compta*) 的单体附加系 (AABBDD + $1'_{2M}$) 与拟斯卑尔脱山羊草 (SS) 杂交。由于 F_1 (ABDS + $1'_{2M}$) Ph基因的活性被抑制, 使其中的2M染色体及它的小麦和拟斯卑尔脱山羊草部分同源染色体得以自由配对。经过用中国春小麦3次回交, 选得1株具有21个二价体的杂合抗病类型。再经过自交分离, 选出了纯合抗条锈病的栽培品种“Compair”。细胞分析证明, 该品种的抗病性是由2M染色体与2D染色体发生部分同源重组产生的。其后, Dvorak (1977)^[5]巧妙地把拟斯卑尔脱山羊草抑制Ph基因的作用与转移抗性基因结合起来。先把小麦与拟斯卑尔脱山羊草杂交, 然后再用亲本小麦回交4~5次, 成功地向小麦品种Manitou和Neeqawa转移了拟斯卑尔脱山羊草抗叶锈的特性, 1988年杨天章和张改生等^[6]发现, VE161雄性不育异代换系中, 有一对长穗偃麦草染色体不但引起小麦雄性不育性, 还有强烈促进小麦部分同源染色体联会配对的作用。因此, 在实践上, 该异代换系也可用于代替5B缺体或Ph抑制基因, 促进部分同源染色体之间发生易位, 向小麦引入异源染色体节段或基因。同时, 由于该材料是雄性不育的, 因之, 进行大量杂交更为方便。

利用拟斯卑尔脱山羊草抑制Ph活性, 转移其它异源物种的有利特性, 有显著的缺陷, 即它不但能使小麦和其它异源物种的染色体配对和重组, 同时也可使山羊草和小麦染色体配对和重组, 其结果必然使转移其它异源节段的效果受到干扰。利用VE161异代换系转移其它异源基因, 可能也有类似情况。

2 利用异代换系和缺体5B-四体5D或Ph突变体诱导部分同源配对

60年代对同祖和非同祖染色体缺体和四体补偿测量的研究, 发现了缺体5B-四体5D补偿系。70年代诱导Ph基因突变的研究, 获得了3种隐性突变体, 即位于3DS臂上的

Ph_{1A} 、 Ph_2 ^[79], 位于5BL臂上的 Ph_{1B} ^[89], 其中 Ph_{1B} 诱导部分同源配对的水平最高。由于缺体5B-四体5D补偿系和Ph突变体既无显性的Ph基因, 又有正常的生长发育和育性, 因而在转移异源片段中可作为父本使用。如果采用上述缺体植物诱导部分同源染色体配对, 需要先把异代换系转育成5B单体代换系, 然后使其与缺体5B-四体5D杂交, 以便产生一个缺5B的双单体状态。最后再用整倍体回交恢复5B染色体, 并根据染色体配对和抗性鉴定选出具有理想异源特性(如抗病性)的重组体(图1)。Sears (1973、1983)^[109、111]应用此法向中国春小麦转移载有抗叶锈基因(Lr24)的长穗偃麦草片段(*Agropyron elongatum*), 育成17种3D/3Ag易位系和12种7A/7Ag易位系, Kibirige-Sebuntya和Knott (1983)^[121]用同样的方法也获得12种7D/7e易位系。

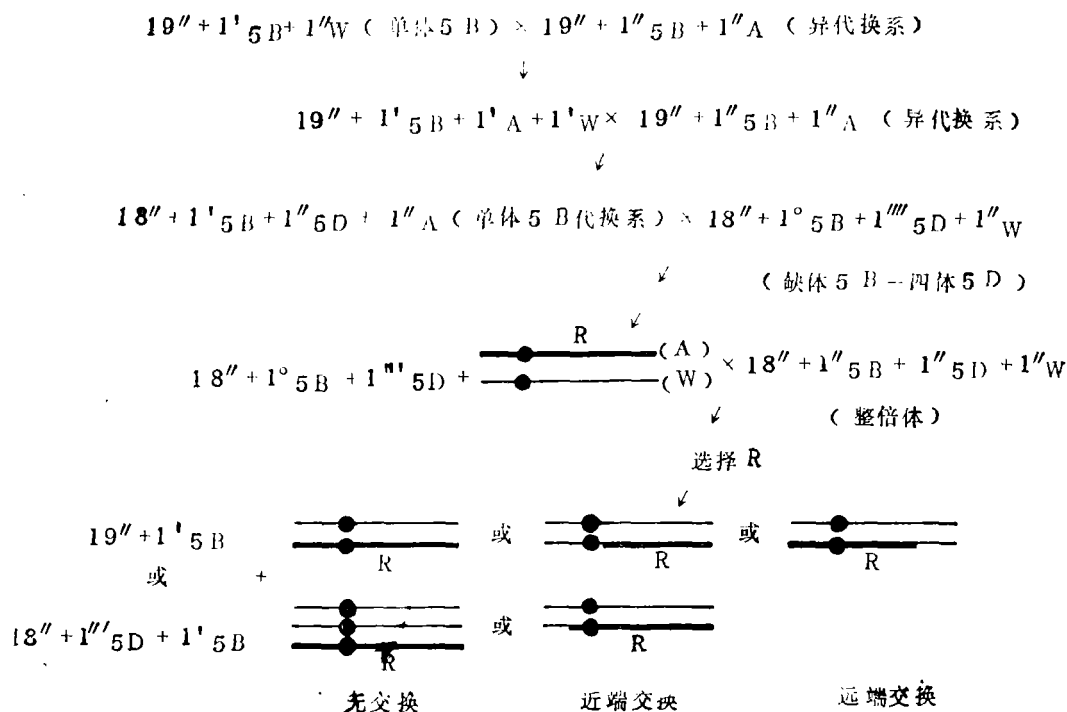


图1 利用代换系和缺体5B-四体5D诱导部分同源配对向小麦染色体转移异源片段

如果采用Ph突变体诱导部分同源配对, 可用5B单体直接和载有目的基因的异代换系杂交。 F_1 选择具有5B单体和两个部分同源单体的植株($19'' + 1' 5B + 1''w + 1''A$, 其中w代表小麦染色体, A代表异染色体, 下同)作母本与Ph突变体杂交, 并选出具有 Ph_{5B} 单体和两个部分同源单体的植株($19'' + 1' Ph_{5B} + 1''w + 1''A$), 使其在Ph基因抑制状态下配对和重组($19'' + 1' Ph_{5B} + 1''[w-A]$), 然后用整倍体小麦回交, 并经过自交即可从中选出具有理想异源特性的重组体。Liang和Wang等(1979)^[13]用此法成功地把中间偃麦草(*Agropyron intermedium*)抗小麦条纹花叶病毒(WSMV)的基因转入小麦, 育成B-b-37-1易位系。Kibirige-Sebuntya和Knott (1983)采用该法转移长穗偃麦草抗秆锈的基因也获得成功。

上述两种方法提供了用一个异源节段代换一个相应的小麦节段的极好机会。其共同优点是：（1）只要知道异代换系所代换的染色体和所载的有利基因，就能使转移异源节段的研究有目的有计划地进行；（2）这两种方法都能制造一个缺5B的双单体杂种，这使两个部分同源单体能够自由配对，避免与同源染色体竞争；（3）诱导的易位染色体通过雄配子传递的频率高，例如Sharma和Knott（1966）^[14]分析了357株电离辐射诱导的7D/7Ag易位后代，只有一株有正常的雄配子传递；而Sears（1973）^[10]分析了由部分同源产生的138株7D/7Ag易位后代，发现有8株有正常或比正常更高的雄配子传递。

此法的缺点是，绝大部分转移后代的易位染色体，都含有较长的异染色体节段。例如Sears（1983）所获得的17个3D/3Ag易位系，都能和3AgL有规律的配对，而与3DL配对的在0~70%的孢母细胞都有发生。这表明，即使与3DL有70%配对的易位染色体，也含有相当长的末端3AgL节段。

3 利用双端体代换系和Ph突变体诱导部分同源配对

利用载有期望基因（例如抗病基因R）的单体5B双端体代换系（这是异代换系或单体5B代换系中一对异染色体错分裂产物）与Ph突变体杂交，创造一个带有隐性Ph基因的部分同源双单体状态。再用整倍体小麦回交，也可从中选得具有理想异源特性的易位系（图2）。此法不但简便，而且由于使用了异源端体，具有下列突出的优点：（1）异源端体作为一种染色体标记，把转移异源节段和检验异源节段结合在一起进行，有助

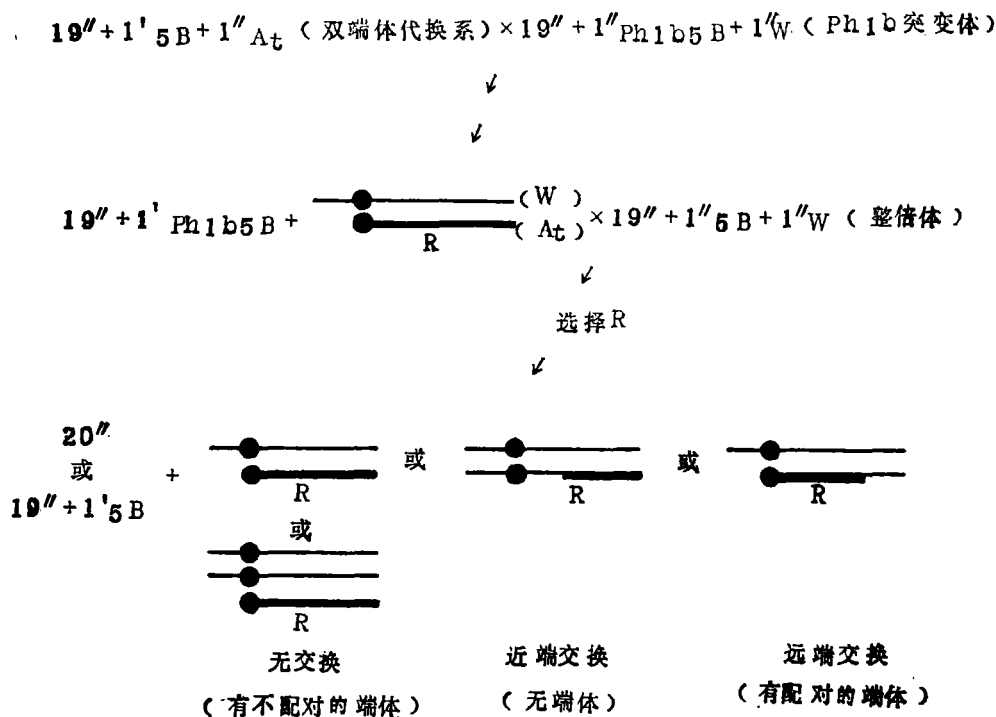


图2 利用双端体代换系和Ph突变体向小麦转移异源节段

于直接观察它和部分同源染色体配对的情况以及预测易位染色体发生的频率；（2）容易识别异源端体的重组体。使用异源端体的后代，非重组体植株有一个不配对的异源端体，近端重组体植株无异源端体，而远端重组体植株有一个配对的易位端体；（3）可增加远端交换重组体，为缩短异源节段提供素材。Scars (1983) 利用上述方法，向小麦染色体3D转移含有抗叶锈基因Lr24的长穗偃麦草染色体3Ag节段，不但直接识别出重组和非重组体，而且还发现有4个易位个体是由Lr24远端重组产生的。而用完整的3Ag代换系，没有得到任何这类远端重组体（表1）。

表1 3Ag和3AgL诱导转移结果的比较

	3Ag	3AgL
无交换株数	57	83
近端重组株数	17	3
远端重组株数	0	4
含3D染色体株数	17	7

4 创造一个中间易位染色体

4.1 通过同源配对使远端重组体与近端重组体结合

如果采用上述方法获得的重组体的异源节段较长，特别是目的基因不是位于一个染色体臂的末端时，诱导部分同源重组，向小麦转移这个基因，将会把它的远端全部异染色质同时都转移过来。尽管有利基因亦可存在于一个特别长的异源节段上，但是通常还是异源节段越短，伴随而来的有害基因越少。为了获得一个短异源节段的重组体，需要在染色体中间同时进行两次交换。因在双交换所得到的染色体中，除了两个亲本染色体共同具有的异源节段外，其余全是小麦染色体。交换相邻的染色体都可得到部分异源节段。问题是，这种双交换在同源染色体间很少发生，在部分同源染色间更不常见。但是，如果把载有目的基因（R）的近端和远端重组体结合在一起，也能获得与双交换同样的效果。这是因为，当这两种重组体结合时，其中共同具有目的基因（R）的一段异染色体节段就会通过同源重组产生一个较短异源节段的中间易位。如果把这两种重组体结合产生的F₁植株与异代换系杂交，后代可发现一种很少与异染色体配对的类型。让这种类型的植株与整倍体小麦杂交，即可在其后代找出与小麦染色体正常配对的中间易位类型（图3）。Scars (1983) [11] 采用上述方法，在两种重组体植株杂交产生的12个后代中，已鉴定出5个有中间易位的植株。

4.2 通过中间异源节段与小麦部分同源染色体配对，缩短中间异源节段

如果一个重组体的异染色体节段通过双交换仍然较长，还可进一步缩短，其方法是：先把这个中间易位系转育成5B单体，再使其与Ph突变体杂交。F₁在Ph基因被抑制的状态下，使这个中间易位染色体和它的小麦部分同源染色体配对和重组，其自交后代必然包括一个中间易位染色体异源节段的近端或远端部分被相应的小麦染色质取代所产生的重组体。如果让这些后代分别与双端体小麦和异源端体杂交，并观察其配对情况，就能检验出最短异源节段的中间易位染色体。再经过抗性鉴定和农艺性状的比较，又能进一步说明该异源节段的其它特征。Koebner和Shepherd (1986) [15] 利用上述方法已成功

地切除了IDL/IRS易位系中,位于IRS节段上的黑麦醇溶蛋白基因。Sears (1983) 也正在采用此法缩短3D/3Ag易位染色体中的3Ag节段。

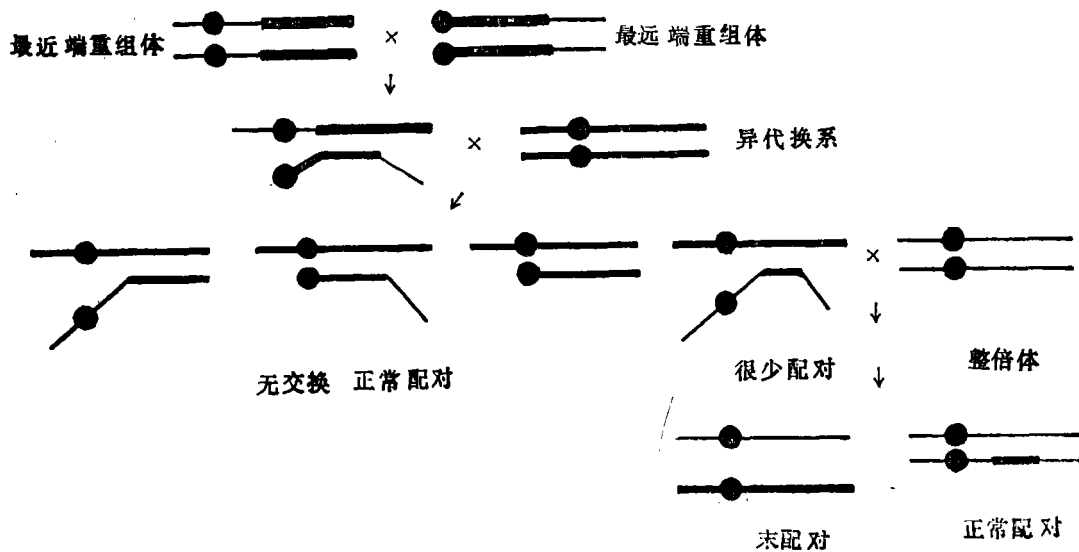


图3 通过同源配对诱导近端重组体与远端重组体结合转移中间异源节段

需要指出的是, 尽管异源节段的长短是决定易位染色体是否带有有害效应的关键因素, 但是, 一个易位系农艺性状的好坏, 通常还和遗传背景有密切的关系。过去进行的许多类似研究, 绝大部分都是在中国春小麦中进行的, 而中国春小麦的农艺性状很差, 自然不可能得到综合性状较好的易位系。因此, 提高单体系统, 缺体5B四体5D补偿系以及Ph突变体的农艺性状是当前提高人工创造易位系水平的当务之急。

参 考 文 献

- 1 Riley R. Cytogenetics and breeding. *Contemp Agric*, 1966 (12), 107-117
- 2 Joshi B C, Sinha. Introduction of alien variation into bread wheat. *Proc 5th Int Wheat Genet Symp*, New Delhi, India, 1978, 342-348
- 3 许喜堂, 薛秀庄等. M8003小麦品系的选育及其染色体带型的鉴定. *陕西农业科学*, 1988, (3), 1-2
- 4 Riley R. The basic and applied genetics of Chromosome Pairing, *Proc 3rd Int Wheat Genet Symp*, Canberra, Australia, 1968, 185-187
- 5 Dvorak J. Transfer of Leaf rust resistance from *Aegilops Species* to *Triticum aestivum* *Can J Genet Cytol*, 1977, 19, 133-141
- 6 杨天章, 张改生等. 小麦VE161雄性不育异代换系的染色体分析. *遗传学报*, 1988, (15) 4, 241-246
- 7 Wall A M, Riley R et al. Wheat mutants Permitting homoeologous chromosome pairing. *Genet Res* 1971, (18), 311-328
- 8 Sears E R. An induced mutant with homoeologous pairing in Common Wheat. *Can J Genet Cytol*, 1977, 19, 585-593
- 9 Sears E R. Mutation in wheat that raise the level of meiotic chromosome pairing 16th *Stadler Genet Symp*, Columbia, Missouri, 1984, 295-300
- 10 Sears E R. Agropyron-Wheat transfers induced by homoeologous pairing. *proc 4th Int Wheat Genet Symp*, Columbia, Missouri, 1973, 191-198

- 11 Sears E R. The transfer to wheat of interstitial segments of alien chromosomes. *Proc 6th Int Wheat Genet Symp*, Kyoto, Japan, 1983, 5-11
- 12 Kibirige-Sebunya, Knott D R. Transfer of stem rust resistance to wheat from an *Agropyron* chromosome having a gametocidal effect *Can J Genet Cytol* 1983, (25) 215-221
- 13 Liang G H, Wang R C et al. Registration of B-6-37-1 wheat germplasm. *Crop Sci* 1979, 19 (13), 421
- 14 Sharma D, Knott D R. The transfer of Leaf rust resistance from *Agropyron* to *Triticum* by irradiation. *Can J Genet Cytol*, 1966, 8, 137-143
- 15 Koeber R M D, Shepherd K W. Controlled introgression to wheat of genes from rye Chromosome arm IRS by induction of allosyndesis. 1. Isolation of recombinants *TAG* 1986, 73(2), 197-208

Alien Chromosome Segments Transferred to Wheat by Inducing Homoeologous Pairing

Dong Anshu

(Agronomy Department, Northwestern Agricultural University)

Abstract From Several methods transferring alien genetic materials to wheat compared with each other, the paper discussed some advantages of transferring alien gene through inducing homoeologous pairing and reviewed concrete procedures of our methods adopted in induction of homoeologous pairing at home and abroad, research results and their merits and shortcomings. Also, the ideas for the improvement of artificial induced alien translocation were suggested.

Key words wheat, mono-5B, alien substitution line, nulli-5B-tetra5D, ph-mutation, homoeologous pairing, proximal recombination, distal recombination