作物学报 ACTA AGRONOMICA SINICA 2021, 47(8): 1427–1436 http://zwxb.chinacrops.org/
ISSN 0496-3490; CN 11-1809/S; CODEN TSHPA9 E-mail: zwxb301@caas.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.01067

四倍体小麦与六倍体小麦杂种的染色体遗传特性

罗江陶[1] 郑建敏[1] 蒲宗君[1,*] 范超兰[2] 刘登才[2] 郝 明[2,*]

[1] 四川省农业科学院作物研究所 / 农业农村部西南地区小麦生物学与遗传育种重点实验室, 四川成都 610066; [2] 四川农业大学小麦研究所, 四川成都 611130

摘 要: 四倍体栽培小麦(*Triticum turgidum* L., AABB)和普通小麦(*Triticum aestivum* L., AABBDD)是两种目前主要的小麦栽培种。通过远缘杂交转移利用四倍体小麦(或六倍体小麦)基因是六倍体小麦(或四倍体小麦)遗传改良的重要方法。然而, 两者杂种 F_1 为基因组组成不平衡的五倍体, 其中 A 和 B 基因组染色体均为两套, 而 D 基因组染色体仅一套。亲本间的遗传差异, 包括核基因组和细胞质基因组, 可能影响五倍体杂种的染色体传递效率。本研究以多个不同遗传背景的四倍体小麦和六倍体小麦为亲本, 配置正反交五倍体杂种 F_1, 采用多色荧光原位杂交技术分析自交 F_2 代植株的染色体组成规律。结果表明, 杂交亲本的遗传背景对杂种 F_1 自交结实率影响显著; 不论是以四倍体小麦还是六倍体小麦做母本, AB 基因组染色体在 F_1 自交过程中相对稳定, F_2 后代的数目均接近 28 条(27.9 vs. 28.0); 以四倍体小麦为母本 F_2 平均保留的 D 基因组染色体数显著多于以六倍体小麦为母本的后代(7.0 vs. 2.9)。因此, 以四倍体小麦为最终目标后代时, 应优先以六倍体小麦为母本进行杂交组合的配置; 以六倍体小麦为最终目标后代时, 应优先以四倍体小麦为母本开始最初的杂交组合配置。

关键词: 四倍体小麦; 六倍体小麦; 染色体传递

Chromosome transmission in hybrids between tetraploid and hexaploid wheat

LUO Jiang-Tao[1], ZHENG Jian-Min[1], PU Zong-Jun[1,*], FAN Chao-Lan[2], LIU Deng-Cai[2], and HAO Ming[2,*]

[1] Crop Research Institute of Sichuan Academic of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Wheat Biology and Genetic Improvement on Southwestern China, Ministry of Agriculture and Rural Areas, Chengdu 610066, Sichuan, China; [2] Triticeae Research Institute of Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

Abstract: Tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L., AABB) and common wheat (*Triticum aestivum* L., AABBDD) are two main types of cultivated wheat. Transferring the genes from tetraploid wheat (or hexaploid wheat) into hexaploid wheat (or tetraploid wheat) by distant hybridization is an important method for wheat genetic improvement. However, the F_1 hybrid of tetraploid/hexaploid wheat was pentaploid with unbalanced genome composition, containing two sets of genomes A and B, and only one set of genome D. The genetic divergences from both nuclear and cytoplasmic genomes of the two parents may affect the chromosome transmission efficiency of pentaploid hybrids. In the present study, tetraploid or hexaploid wheats with different genetic backgrounds were used as female or male parents to generate pentaploid F_1s. The chromosome composition of F_2s were analyzed by multicolor fluorescence *in situ* hybridization. The results showed that the genetic background of parent lines has a significant effect on the self-setting rate of F_1s. The A and B genome chromosomes were relatively stable during F_1 self-process, and the mean total number of A and B chromosomes per F_2 individual was close to 28 in both AABB/AABBDD and AABBDD/AABB F2s (27.9 vs. 28.0). However, the average number of D chromosomes retained in F_2s with tetraploid wheat as female parent was significantly higher than that with hexaploid wheat as female parent (7.0 vs. 2.9). Therefore, when tetraploid wheat was the final target progeny, hexaploid wheat should be used as the primary female parent to generate F_1 hybrids; vice versa, tetraploid wheat

本研究由四川省科技计划项目(2016NYZ0012, 2017JY0077, 2018JY0627), 四川省财政创新能力提升工程项目(2016ZYPZ-016)和四川省育种攻关项目(2021YFYZ0002)资助。

This study was supported by the Science and Technology Planning Project of Sichuan Province (2016NYZ0012, 2017JY0077, 2018JY0627), the Financial Innovation Capacity Improvement Project of Sichuan Province (2016ZYPZ-016), and the Sichuan Provincial Breeding Research Project (2021YFYZ0002).

* 通信作者(Corresponding authors): 郝明, E-mail: haomingluo@foxmail.com; 蒲宗君, E-mail: pzjun68@163.com

第一作者联系方式: E-mail: jtluohao@163.com

Received (收稿日期): 2020-08-20; Accepted (接受日期): 2021-01-13; Published online (网络出版日期): 2021-02-19.

URL: https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20210219.1343.002.html

should be used.
Keywords: tetraploid wheat; hexaploid wheat; chromosome transmission

小麦是重要的粮食作物, 目前主要的栽培种包括六倍体小麦(*Triticum aestivum* L., AABBDD, 又称普通小麦)和四倍体小麦(*Triticum turgidum* L., AABB), 前者约占世界小麦年产出的 95%, 后者占 5%[1]。培育抗病虫、优质和高产的新品种是应对气候变化、不断增长的物质需求和人口持续扩增问题的关键, 其依赖于小麦群体的遗传多样性。约八千至一万年前, 普通小麦形成于栽培四倍体小麦和二倍体节节麦(*Aegilops tauschii*, DD)间的异源多倍化事件[2-4]。在普通小麦的起源过程中, 仅有少数四倍体小麦和节节麦居群参与, 产生了“进化瓶颈”。因此, 大量四倍体小麦的遗传多样性被排除在目前的普通小麦群体之外, 例如源自野生二粒小麦的广谱抗条锈病基因 *Yr15* [5-6]。同样, 由于物种形成后的独立进化, 额外基因组的加入(D 基因组)以及近现代育种过程中有意识地渗入近缘属种的遗传物质, 一些六倍体小麦中的优异基因(等位变异或性状)也不存在于四倍体小麦中。因此, 加强四倍体小麦和六倍体小麦间基因的交流, 是促进小麦遗传育种发展的重要方式。

虽然转基因技术发展进步快速, 但是受限于目前的政策以及技术本身对特定受体的依赖性, 杂交仍然是不同物种间转移基因的主要方法。由于倍性不同, 杂交转移四倍体小麦基因至六倍体小麦背景通常有两种途径。一种途径是模拟普通小麦形成过程, 将四倍体小麦和二倍体节节麦合成双二倍体(称为人工合成小麦), 再以其为桥梁亲本进行杂交转移。通过该方法, 一批导入了四倍体小麦优异基因的六倍体小麦新品种已经被审定并应用于生产[7-8]。另外一种途径是直接杂交。无论是单个位点还是大规模的群体数据分析均表明, 普通小麦可能通过“五倍体”桥梁, 在形成初期与四倍体野生二粒小麦间发生了基因交流[9-11]。通过人工直接杂交, 然后回交或顶交, 一批源于四倍体小麦的优异基因也已成功转入普通小麦。例如, 源于四倍体小麦的白粉病抗性基因 *Pm4*[12]、*Pm16*[13]、*Pm26*[14]、*Pm30*[15]、*Pm36*[16]、*Pm64*[17]以及高蛋白含量基因 *GPC1*[18]等。六倍体小麦向四倍体小麦转移基因也是采用直接杂交法。然而, 四倍体小麦和六倍体小麦间的细胞质、基因组倍性和遗传背景差异可能影响目标杂种后代的获得效率。

四倍体小麦与六倍体小麦杂种 F_1 为五倍体, 基因组组成为 AABBD。因此, 成单的 D 基因组染色体在减数分裂过程中的行为和随后配子传递频率是决定后代选择效率的关键因素。利用微卫星标记(SSR)、多样性阵列标记(Dart)和单核苷酸多态性标记(SNP)对四倍体/六倍体小麦杂种后代的鉴定发现, 亲本的遗传背景和杂交过程中的母本选择(四倍体做母本或六倍体做母本)对后代的染色体组成具有重要影响[19-23]。Martin 等[21]和 Padmanaban 等[24-25]还发现, 五倍体杂种(AABBD) D 基因组染色体与 A 和 B 基因组染色体间的传递存在相互影响, 保留大量 D 基因组染色体的品系往往含有更高比例的普通小麦的 A 和 B 基因组。不同于分子标记, 细胞学方法能更为直观和准确地鉴定染色体的结构和数量。Padmanaban 等[26]利用基因组原位杂交(GISH)技术, 鉴定了部分四倍体小麦和六倍体小麦杂种后代的 D 基因组染色体, 但仅用 D 基因组作为探针无法检测是否存在 A、B 基因组染色体的变异重组, 也不能有效鉴定染色体的拷贝数。用不同颜色荧光标记的混合寡序列为探针的多色荧光原位杂交技术, 能准确鉴定植株染色体数目、存在形式及结构变异[27-29]。本研究应用该技术, 对四倍体小麦和六倍体小麦杂种 F_2 代的 D 染色体保留情况进行了详细分析, 探讨四倍体小麦与六倍体小麦杂交时的亲本选配原则。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本实验利用 14 份六倍体普通小麦和 11 份四倍体小麦构建实验群体。普通小麦包括贵协 011-1、贵协 011-2、贵协 2 号、Li-50、Li-22、13L2071-2、13L2069、亲 2120 (Isidora 塞尔维亚小麦)、亲 2122 (KM 113-13MRS 捷克小麦)、亲 2142 (Queroinia 智利小麦)、亲 2147 (Slavan 乌克兰小麦)、WJN1428、川麦 608 和 P1561, 四倍体小麦包括 PI185192、PI113961、CITR14139、PI223171、PI34945、PI415152、PI352369、AS2255、PI190973、PI191808 和 PI94666。杂交组配参见表 1。PI 编号的材料由美国国家种质资源库(http://www.ars-grin.gov/)提供, AS2255、WJN1428 由四川农业大学小麦研究所提供, 贵协系列由贵州大学提供, 13L2071-2、13L2069 由中国农业科学院作物科学研究所提供。

2017 年在四川省农业科学院新都试验基地进行杂交, 采用传统的人工去雄和授粉。次年, 杂种 F_1 种植于相同基地, 抽穗后套袋自交, 获得的杂种 F_2 种子用于后续实验。去除基部不发育或发育不良小穗, 统计所有套袋 F_1 穗子的小穗总数和种子数, 计算单个小穗的自交结实率(以下简称自交结实率), 即自交结实率 = (结实种子数/总小穗数)×100%。

1.2　原位杂交分析

随机选取不同杂交组合的种子, 在垫有湿润滤纸的培养皿中发芽。待根尖长至 3~4 cm 的时候, 剪取根尖。根尖的处理和体细胞制片的方法与 Luo 等[30]一致。原位杂交的探针和方法与 Luo 等[30]相同, 探针包括 7 个寡核苷酸序列探针 Oligo-pSc119.2-1、Oligo-pAs1-1 、 Oligo-pAs1-3 、 Oligo-pAs1-4 、Oligo-pAs1-6、Oligo-AFA-3、Oligo-AFA-4 和一个简单重复序列探针$(AAC)_5$ [29,31]。探针由成都擎科生物科技有限公司合成(中国成都)。使用配备 CCD 镜头的奥林巴斯 BX63 荧光显微镜进行杂交信号检测并图像采集。

1.3　数据分析

Microsoft Excel 2007 用于统计分析。R3.6.2 及 R 包 ggplot2 用于画图[32]。

2　结果与分析

2.1　AABBD 五倍体杂种自交结实率分析

本实验共计获得 20 个杂交组合, 其中六倍体/四倍体(AABBDD/AABB) 12 个, 四倍体/六倍体(AABB/AABBDD) 8 个(表 1)。由于花期不遇, 没有获得相同四倍体与六倍体间的正反交 F_1。六倍体/四倍体 F_1 总自交结实率为 27.94% (817/2924), 而四倍体/六倍体为 40.57% (706/1740)。从分布看, 自交结实率低于 20%的四倍体/六倍体组合仅 14% (1/7),

表 1　各杂交组合 F_1 套袋自交结实率

Table 1　Self-crossing seed-setting rate of F_1 population of each hybrid combination

组配类型 Combination type	杂交组合 Cross combination	小穗数 Number of spikelets	结实数 Solid number	结实率 Seed-setting rate (%)
六倍体/四倍体 Hexaploid/tetraploid	**P1561/PI185192***	—	—	—
	13L2069/PI113961*	—	—	—
	亲 2142/PI415152 Qin 2142/PI415152	64	5	7.8
	亲 2122/PI34945 Qin 2122/PI34945	404	288	71.3
	亲 2120/PI223171 Qin 2120/PI223171	389	161	41.4
	亲 2120/CITR14139 Qin 2120/CITR14139	431	267	62.0
	贵协 2 号/PI185192 Guixie 2/PI185192	141	21	14.9
	贵协 011-2/PI190973 Guixie 011-2/PI190973	91	4	4.4
	Li-50/PI185192	302	4	1.3
	Li-50/PI113961	128	25	19.5
	Li-22/PI190973	634	18	2.8
	13L2071-2/PI190973	340	24	7.1
	总计 Total	2924	817	27.9
四倍体/六倍体 Tetraploid/hexaploid	**PI185192/WJN1428***	—	—	—
	PI94666/川麦 608 PI94666/Chuanmai 608	480	90	18.8
	PI352369/贵协 011-1 PI352369/Guixie 011-1	182	49	26.9
	PI191808/WJN1428	230	72	31.3
	PI185192/亲 2147 PI185192/Qin 2147	417	106	25.4
	PI185192/亲 2122 PI185192/Qin 2122	223	142	63.7
	CITR14139/WJN1428	125	184	147.2
	AS2255/亲 2120 AS2255/Qin 2120	83	63	75.9
	总计 Total	1740	706	40.6

*自交结实率没有统计; 加粗的杂交组合用于后续的细胞学分析。

* There is no statistics on the seed setting rate of self-delivery. The hybrid combination in bold was used for subsequent cytological analysis.

而六倍体/四倍体组合中高达 70% (7/10)。由于所有组合的亲本均不相同, 细胞质来源和核遗传背景差异均可能引起两种组配类型间的自交结实率差异。核遗传背景对 AABBD 的自交结实率有显著影响。这是因为在相同组配类型内, 不同杂交组合间的自交结实率变异幅度大(六倍体/四倍体为 1.32%~71.29%, 四倍体/六倍体为 18.75%~147.20%)。同时, 无论做母本还是父本, 同一材料与不同亲本杂种 F_1 间的自交结实率显著差异。例如, Li-50/PI185192 组合的自交结实率 1.32%显著低于 Li-50/PI113961 组合的 19.53% (u 检验, u=2.18>1.96); 贵协 2 号/PI185192 组合的自交结实率 14.89%则显著高于亲 Li-50/ PI185192 组合的 1.32% (u 检验, u=5.77>1.96)。

2.2 AABBD 杂种自交 F_2 后代染色体组成分析

多重寡核苷酸 FISH 技术能够稳定且准确地鉴定四倍体小麦和六倍体小麦亲本的所有染色体。染色体核型分析结果显示: 六倍体小麦亲本贵协 011-1 含有 1 对 3A/6D 相互易位染色体, 亲 2120 含有 1 对 5B/7B 相互易位染色体(图 1); 四倍体小麦亲本 AS2255 则含有 1 对 1A/7A 相互易位染色体。

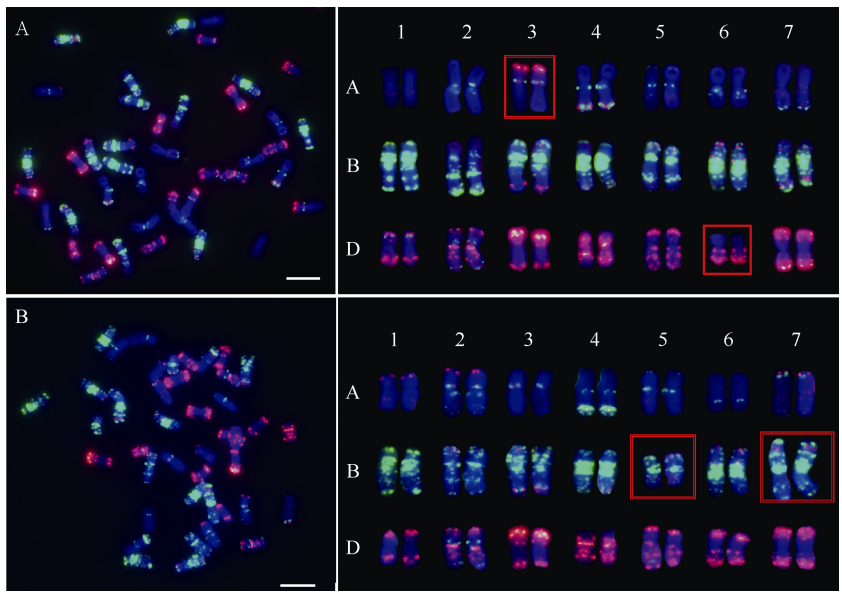


图 1 亲本贵协 011-1 (A)和亲 2120 (B)FISH 核型
Fig. 1 FISH karyotypes of parental lines Guixie 011-1 (A) and Qin 2120 (B)
红框指示相互易位染色体。Boxes in red indicate the reciprocal translocation chromosomes.

本实验共鉴定了 59 个 F_2 单株(37 个来源于 AABB/AABBDD, 22 个来源于 AABBDD/AABB)的染色体组成。所有单株平均染色体数为 33.5 条, 分布在 27.5~40.0 条之间(不完整染色体计数为 0.5) (图 2)。来源于 AABB/AABBDD 杂交组合的 F_2 单株的平均染色体数为 34.9 条, 其中含 36 条染色体的单株最多, 占 18.9% (7/37)。但是, 以六倍体小麦为母本 F_2 单株的平均染色体数为 30.8 条, 极显著少于以四倍体小麦为母本的材料(t-test, P=0.003), 且以含 30 条染色体的单株最多, 所占比例为 23.81% (5/22)。因此, 以四倍体小麦为母本的 AABBD 五倍体杂种自交能够保留更多的染色体。

根据 FISH 核型结果, 将所有单株的每条染色体划分至 A、B 和 D 基因组, 其中不完整的染色体(断裂染色体片段)计为 0.5, 易位染色体计为 0.5/0.5 (例如 1AS.1DL 染色体计为 0.5A 和 0.5D)。另外, 来自于 PI352369/贵协 011-1 的 6 个 F_2 单株含有 1 对(或 1 条)不能识别的较小染色体, 这对染色体没有计入后续分析。以四倍体小麦为母本的 F_2 单株平均含有 27.9 条 AB 基因组染色体, 以六倍体小麦为母本的 F_2 单株平均含有 28 条 AB 基因组染色体。但是, 以四倍体小麦为母本的 F_2 单株平均含有 7.0 条 D 基因组染色体, 极显著多于以六倍体小麦为母本 F_2 单株的 2.9 条(t-test, P=0.002) (图 2)。因此, D 基因组染色体的不同保留频率导致了 2 种杂交方法后代的染色体数差异。

就不同 D 基因组染色体的保留频率而言, 以四倍体小麦作为母本的 F_2 单株保留频率最高的是 7D (1.19 条/株), 其次为 5D (1.11 条/株); 最低的是 1D (0.84 条/株)和 4D (0.84 条/株)染色体(图 3)。以六倍

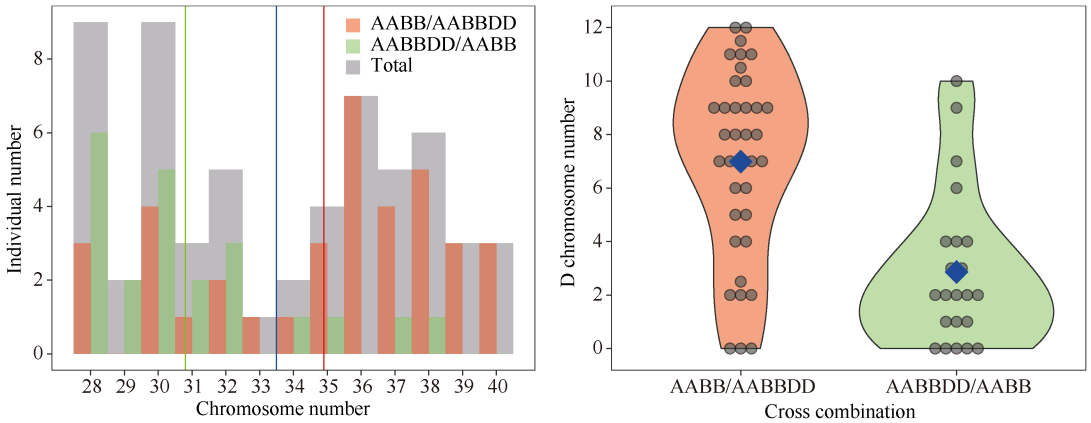


图 2　F_2 植株总染色体数(左)和 D 基因组染色体数(右)分布

Fig. 2　Distribution of total chromosome number (left) and D genome chromosome number (right) in F_2 plants

左边图中的红色、绿色和蓝色竖线分别代表以四倍体小麦为母本 F_2 单株的平均染色体数、以六倍体小麦为母本 F_2 单株的平均染色体数以及所有 F_2 单株的平均染色体数。右图中的蓝色菱形点代表平均值。

Line in red, green, and blue in the left graph indicates average chromosome number per line in AABB/AABBDD population, AABBDD/AABB population, and both of them, respectively. Diamonds in blue in the right graph represent the mean values.

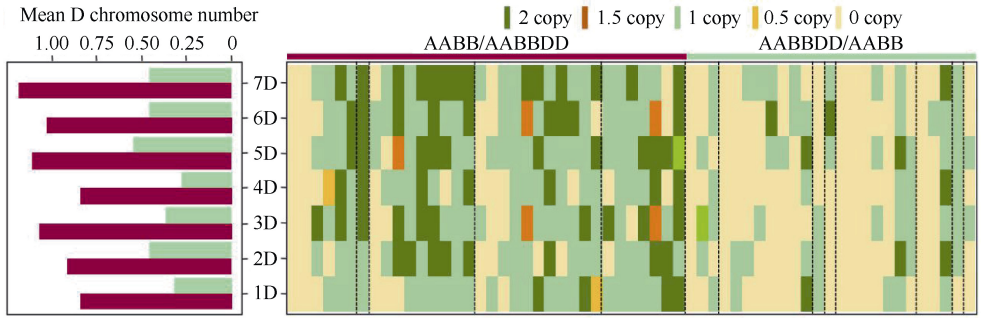


图 3　F_2 单株的 D 基因组染色体组成

Fig. 3　Mean number (left) and total number (right) of D chromosomes retained in F_2 hybrids

右图中的每一列代表一个单株，虚线分隔不同的杂交组合。

Each row represents an individual plant of F_2 population. Dotted lines are used to divide different hybrid combinations.

体为母本的 F_2 单株 D 染色体保留率最高的染色体是 5D (0.55 条/株)，其次为 2D、6D 和 7D，均为 0.45 条/株，保留率最低的是 4D (0.27 条/株)，其次为 1D (0.32 条/株)。综合来看，细胞质(四倍体小麦或六倍体)是影响不同 D 染色体保留频率的重要影响因素。同时，不同的染色体间具有一定的偏向性，即 5D 和 7D 染色体保留频率较高，而 1D 和 4D 染色体保留频率较低。

分析不同 D 基因组染色体的拷贝数(仅完整的染色体作为有效计数)发现：以四倍体小麦为母本的后代，1-7D 染色体保留 2 个拷贝的平均频率为 0.30，显著高于以六倍体小麦为母本后代的 0.06 (P 值为 0.0040)；相反，1-7D 染色体完全丢失(0 个拷贝)的平均频率极显著低于以六倍体小麦为母本的后代(0.27 vs. 0.64, P=8.09E-06) (图 4)。1-7D 染色体保留 1 个拷贝的平均频率在 AABB/AABBDD 和 AABBDD/AABB 间则没有差异(P 值为 0.0958)，分别为 0.30 和 0.44。在四倍体小麦为母本的后代中，出现 2 个拷贝频率最高的是 3D 染色体，其次为 5D、7D 和 6D；而在六倍体小麦为母本的后代中，出现 2 个拷贝频率最高的是 2D，其次为 5D 和 6D。

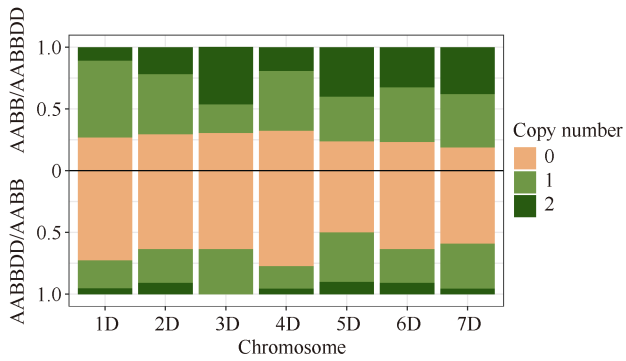


图 4　四倍体小麦(上)和六倍体小麦(下)细胞质杂种群体 D 染色体拷贝数频率分布

Fig. 4　The ratio of D chromosomes with different copy number variation in AABB/AABBDD (upper) and AABBDD/AABB population (bottom)

对每个单株的 D 基因组染色体覆盖度进行打分评价: 含1条完整染色体或1对或更多拷贝, 则对应染色体覆盖度打分为1; 含单个不完整染色体打分为0.5; 对应染色体缺失则打分为0。通常, 总分等于7的单株应含有一套完整的 D 基因组染色体; 而总分等于0的单株则缺失了全部 D 基因组染色体。以四倍体小麦为母本的后代平均得分为5.3分, 极显著高于以六倍体小麦为母本后代的2.4。所有59个 F_2中, 有16个单株覆盖度得分为7, 即含有至少1套完整 D 基因组染色体, 频率为27.11%; 其中来源于四倍体/六倍体组配类型的为14株(87.5%), 而来源于六倍体/四倍体组配类型的仅2株(12.5%)。这些含1套完整 D 基因组染色体的材料的自交后代或与六倍体小麦的杂交后代, 更容易恢复成基因组组成为 AABBDD 的普通小麦后代; 得分为0的植株则总共有7株(3株来源于 AABB/ AABBDD, 4株来源于 AABBDD/AABB)。

2.3 AB 基因组染色体变异以及染色体结构变异

59 个 F_2 植株中, 仅 9 个单株的 A 或 B 基因组染色体数目发生了变异(表 2 和图 4), 频率为 15.25%, 包括 3*1B+3*3B (M143-7)、1*1A (M145-4)、3*6B (M146-4、M158-4)、3*3B (M146-10)、1*4B (M147-1、M147-3、M147-7)、0*4B (M147-2), 表明 A 和 B 基因组染色体的传递受到了轻微的影响。

18 个单株存在染色体结构变异, 涉及 A、B 和 D 基因组(表 2 和图 5)。其中, 10 个单株含有的结构变异遗传自亲本, 包括 6DS.3AL (M147-1、M147-2、

表 2 F_2 杂种中的染色体变异

Table 2 Chromosomal variation in F_2 hybrids

组配类型 Combination type	杂交组合 Cross combination	材料编号 Material code	类型 Type
AABB/AABBDD	PI185192/亲 2122 PI185192/Qin 2122	M143-7	3*1B+3*3B
	PI185192/亲 2147 PI185192/Qin 2147	M145-4	1*1A
		M145-5	1*5DS-
		M145-10	1*7DS.7DL^{V}
	CITR14139/WJN1428	M146-4	3*6B
		M146-5	1*5DS-+1*3DS-5DL+1*6DS.6DL-
		M146-10	3*3B
	PI352369/贵协 011-1 PI352369/Guixie 011-1	M147-1	1*4AL.4AS-5DL.5DS+2*6DS.3AL+1*4B+2*?
		M147-2	0*4B+2*6DS.3AL+2*?
		M147-3	1*4B+2*6DS.3AL+1*3DS.3DL-+1*6DS
		M147-6	2*6DS.3AL+1*?
		M147-7	1*4B+1*?
		M147-9	1*6DS.3AL+1*?
		M147-11	1*6DS.3AL+1*?
	AS2255/亲 2120 AS2255/Qin 2120	M161-1	1*5BS.7BS+1*5BL.7BL
		M161-8	1*3DS-
AABBDD/AABB	P1561/PI85192	M149-7	1*2AS.2AL-6AL
	13L2069/PI113961	M154-2	1*2AS.2AL-6AL
	亲 2120/CITR14139 Qin 2120/CITR14139	M157-3	1*3DS^{V}.3DL
	亲 2120/PI223171 Qin 2120/PI223171	M158-2	1*5BS.7BS+1*5BL.7BL
		M158-3	1*5BS.7BS+1*5BL.7BL
		M158-4	3*6B+1*5BS.7BS+1*5BL.7BL
	亲 2142/PI415152 Qin 2142/PI415152	M160-1	1*3DS-3DS

^{V}: FISH 信号变异; 下画线: 遗传自亲本的结构变异; ?: 不能识别的染色体。

^{V}: FISH signal variation; Underline: structural variations are inherited from the parents; ?: unknown chromosome.

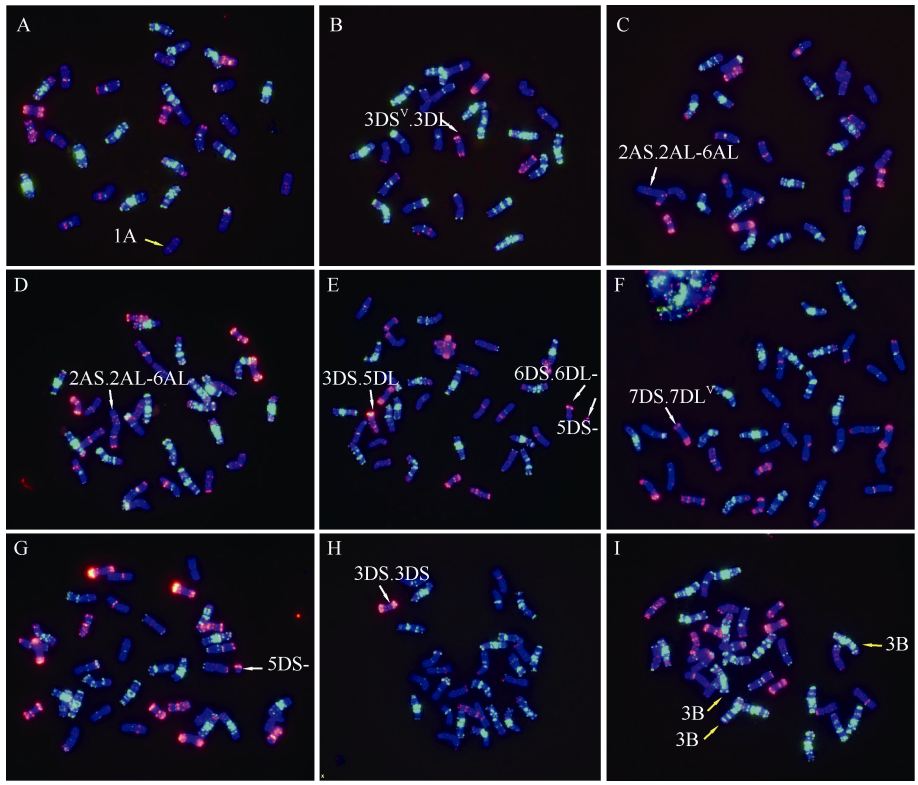


图 5　F_2 植株染色体变异示例图

Fig. 5　Examples of chromosome variations in F_2 population

白色箭头指示结构变异染色体; 黄色箭头指示 AB 基因组染色体数目变异。A: M145-4: 仅含 1 条 1A 染色体; B: M157-3: 3DS 端部红色信号缺失; C: M154-2: 含 1 个 2AS.2AL-6AL 重组染色体; D: M149-7: 含 1 个 2AS.2AL-6AL 重组染色体; E: M146-5: 含 1 个 3DS-5DL 重组染色体, 2 个 D 片段; F: M145-10: 7DL 端部红色信号缺失; G: M145-5: 含 1 个 D 片段; H: M160-1: 含 1 个 3DS-3DS 重组染色体; I: M146-10: 含 3 个 3B 染色体。

Arrows in white show the chromosomes with structural variation. Arrows in yellow show A or B chromosomes with copy number variation. A: M145-4 with single copy of 1A; B: M157-3 with a copy of 3D that showed a different 3DS karyotype; C: M154-2 with a 2AS.2AL-6AL translocation; D: M149-7 with a 2AS.2AL-6AL translocation; E: M146-5 with a copy of 3DS.5DL translocation, a copy of 6DS.6DL- and 5DS-chromosome fragment respectively; F: M145-10 with a copy of 7D that showed a different 7DL karyotype; G: M145-5 with a copy of 5DS-chromosome fragment; H: M160-1 with a copy of 3DS.3DS isochromosome; I: M146-10 with a three copy of 3B chromosomes.

M147-3、M147-6、M147-9 和 M147-11, 均遗传自亲本贵协 011-1)、5BS.7BS 和 5BL.7BL (M161-1、M158-2、M158-3 和 M158-4, 均遗传自亲本亲 2120)。另外 10 个单株(10/59=16.95%)具有 11 种新形成的结构变异染色体, 包括染色体片段 5DS-(M145-5, M146-5)、6DS.6DL-(M146-5)、3DS.3DL-(M147-3)、6DS (M147-3)、3DS-(M161-8), 断裂-融合形成的易位染色体 3DS-5DL (M146-5)、4AL.4AS-5DL.5DS (M147-1)、2AS.2AL-6AL (M149-7, M154-2)和等臂染色体 3DS.3DS (M160-1), 以及信号发生明显变化的 7D (M145-10)和 3D (M157-3)。这些新形成的染色体结构变异主要涉及 D 基因组染色体和少量 A 基因组染色体, 未检测到涉及 B 基因组的染色体结构变化。

3　讨论

通过种间杂交, 以同源重组(A 或 B 基因组)或易位(通常用于将六倍体小麦 D 基因组染色体上的基因转移到四倍体小麦背景)的形式, 转移对方的有益基因是四倍体小麦或六倍体小麦遗传改良的一种常用方法。例如, 四倍体小麦普遍对铝离子和钠离子耐受性较差, 而位于 4D 染色体长臂的 *TaALMT1* 和 *KNa1* 基因赋予了六倍体小麦优异的抗性[33]。前人通过 4DL 和 4BL 部分同源重组, 成功将这 2 个基因导入到四倍体小麦品种, 提高了其对铝离子和钠离子的耐受性[34-36]。通过同源重组的方式, 从四倍体小麦(或六倍体小麦)转移优异基因到六倍体小麦(或四倍体小麦)的例子就更多[37-38]。由于倍性不同, 杂交结实率、五倍体杂种育性以及 D 染色体传递效率是影响四倍体小麦/六倍体小麦杂交法基因转移效率的 3 个关键因素。早期的研究认为, 低倍性的物种作为母本通常不太成功, 可能导致杂种种子较差, 以及随后较低的发芽率和幼苗成活率[39-40]。虽然没

有详细统计，本研究中没有观察到四倍体或六倍体小麦做母本会显著影响杂交结实率，五倍体杂种 F_1 发芽比较正常。同时，亲本间的遗传背景对杂种 F_1 的自交结实率有强烈的影响。

五倍体 AABBD 杂种减数分裂过程中，成单的 D 基因组染色体行为是影响遗传改良效率的关键。如果最终目的是改良四倍体小麦，那么 D 基因组染色体需要尽快被消除掉。反之则需要快速将 D 基因组染色体恢复成完整的两套。Padmanaban 等[24]发现以四倍体小麦为母本的杂种 F_2，含有至少 1 套完整 D 基因组染色体的频率高于以六倍体作为母本的子代。本研究利用不同四倍体和六倍体作为母本，得到了相似的结果，即以四倍体为母本的 F_2 子代能保留更多的 D 基因组染色体。单价体在减数分裂中期 I 向后期 I 转换的过程中有两种移动方式：一种是单极锚定的纺锤丝牵引姐妹染色单体一起移动到一极；另外一种是从两极伸出的纺锤丝分别结合在姐妹染色单体的着丝点，牵引 2 个姐妹染色单体提前分开并各自移动到一极。通常两种分离移动方式的比例约各占一半，同时还包括一定频率的染色体断裂[41]。从 F_2 保留的 D 基因组染色体数目和拷贝数来看，以四倍体小麦作为母本 F_1 的 D 基因组染色体的分离模式可能更接近第 2 种：在减数分裂后期 I 至末期 I，D 染色体的姐妹染色单体提前分离移动到 2 个二分体子细胞中，成单的姐妹染色单体减 II 随机移动到两极的行为模式，则形成的配子含更多的 D 基因组染色体；这样的雌雄配子随机结合后，F_2 单株的总 D 染色体数目更多，且部分染色体为 2 个拷贝(图 2 和图 3)。而以六倍体小麦为母本的杂种 F_2 平均每个单株仅含有 2.9 条 D 染色体。其可能对应的减数分裂行为模式是成单的 D 基因组染色体在 F_1 减数分裂后期 I 的分离过程中，移动分离步调严重滞后于同源配对的 A 和 B 基因组染色体，进而形成微核被消除掉。这一推论需要详细观察 2 种杂种 F_1 的减数分裂过程予以证实。然而，无论杂种 F_1 的减数分裂过程是否如我们推测的一样，我们都可以得出以下建议：当以改良四倍体小麦为目标时，应以六倍体小麦为母本，再以四倍体小麦亲本回交或优良品种(系)杂交；当以改良六倍体小麦为目标时，优先以四倍体小麦为母本，再以六倍体小麦亲本回交或优良品种(系)杂交。

4 结论

虽然亲本间遗传背景会影响四倍体小麦和六倍体小麦杂种 F_1 的自交结实率，但相较于其他亲缘关系更远的远缘杂种 F_1 (如小麦-黑麦杂种)，四倍体/六倍体和六倍体/四倍体小麦杂种 F_1 结实率均相对较高，因此对远缘杂交育种的影响较小。但是，正反杂交后代的染色体传递是远缘杂交育种应该考虑的问题。根据 D 基因组染色体从 F_1 代 F_2 的传递规律，四倍体小麦与普通小麦杂交育种时，可以简单遵循以下原则进行杂交组合配置：以四倍体小麦为最终目标时，选择六倍体小麦作为母本进行杂交，能够在杂种后代中更快地丢掉 D 基因组染色体；以六倍体小麦为最终目标时，选择四倍体小麦作为母本杂交，回交或自交，能够更快的恢复杂种后代为六倍体基因组组成。

References

[1] Shewry P R, Hey S. Do “ancient” wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components? *J Cereal Sci*, 2015, 65: 236–243.

[2] Kihara H. Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of Triticum vulgare. *Agric Hort*, 1944, 19: 889–890.

[3] McFadden E S, Sears E R. The artifcial synthesis of *Triticum spelta*. *Rec Genet Soc Am*, 1944, 13: 26–27.

[4] Huang S X, Sirikhachornkit A, Su X J, Faris J D, Gill B, Haselkorn R, Gornicki P. Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum*/*Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploid wheat. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 8133–8138.

[5] Klymiuk V, Yaniv E, Huang L, Raats D, Fatiukha A, Chen S S, Feng L H, Frenkel Z, Krugman T, Lidzbarsky G, Chang W, Jääskeläinen M J, Schudoma C, Paulin L, Laine P, Bariana H, Sela H, Saleem K, Sørensen C K, Hovmøller M S, Distelfeld A, Chalhoub B, Dubcovsky J, Korol A B, Schulman A H, Fahima T. Cloning of the wheat *Yr15* resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family. *Nat Commun*, 2018, 9: 3735.

[6] He Y, Feng L H, Jiang Y, Zhang L Q, Yan J, Zhao G, Wang J R, Chen G Y, Wu B H, Liu D C, Huang L, Fahima T. Distribution and nucleotide diversity of *Yr15* in wild emmer populations and Chinese wheat germplasm. *Pathogens*, 2020, 9: 212.

[7] Li A L, Liu D C, Yang W Y, Kishii M, Mao L. Synthetic hexaploid wheat: yesterday, today, and tomorrow. *Engineering*, 2018, 4: 552–558.

[8] Hao M, Zhang L Q, Zhao L B, Dai S F, Li A L, Yang W Y, Xie D, Li Q C, Ning S Z, Yan Z H, Wu B H, Lan X J, Yuan Z W, Huang L, Wang J R, Zheng K, Chen W S, Yu M, Chen X J, Chen M P, Wei Y M, Zhang H G, Kishii M, Hawkesford M, Mao L, Zheng Y L and Liu D C. A breeding strategy targeting the secondary gene pool of bread wheat: introgression from a synthetic hexaploid wheat. *Theor Appl Genet*, 2019, 132: 2285–2294.

[9] Dvorak J, Akhunov E D, Akhunov A R, Deal K R, Luo M C. Molecular characterization of a diagnostic DNA marker for

domesticated tetraploid wheat provides evidence for gene flow from wild tetraploid wheat to hexaploid wheat. *Mol Biol Evol*, 2006, 23: 1386–1396.

[10] Cheng H, Liu J, Wen J, Nie X J, Xu L H, Chen N B, Li Z X, Wang Q L, Zheng Z Q, Li M, Cui L C, Bian J X, Wang Z H, Xu S B, Yang Q, Appels R, Han D J, Song W N, Sun Q X, Jiang Y. Frequent intra- and inter-species introgression shapes the landscape of genetic variation in bread wheat. *Genome Biol*, 2019, 20:136.

[11] He F, Pasam R, Shi F, Kant S, Keeble-Gagnere G, Kay P, Forrest K, Fritz A, Hucl P, Wiebe K, Knox R, Cuthbert R, Pozniak C, Akhunova A, Morrell P L, Davies J P, Webb S R, Spangenberg G, Hayes B, Daetwyler H, Tibbits J, Hayden M, Akhunov E. Exome sequencing highlights the role of wild-relative introgression in shaping the adaptive landscape of the wheat genome. *Nat Genet*, 2019, 51: 896–904.

[12] Briggle L W. Transfer of resistance to *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* from Khapli emmer and Yuma durum to hexaploid wheat. *Crop Sci*, 1966, 6: 459–461.

[13] Reader S M, Miller T E. The introduction into bread wheat of a major gene for resistance to powdery mildew from wild emmer wheat. *Euphytica*, 1991, 53: 57–60.

[14] Rong J K, Millet E, Manisterski J, Feldman M. A new powdery mildew resistancegene: Introgression from wild emmer into common wheat and RFLP-based mapping. *Euphytica*, 2000, 115: 121–126.

[15] Liu Z Y, Sun Q X, Ni Z F, Nevo E, Yang T. Molecular characterization of a novel powdery mildew resistance gene *Pm30* in wheat originating from wild emmer. *Euphytica*, 2002, 123: 21–29.

[16] 张连松, 华为, 关海英, 李根桥, 张宏涛, 解超杰, 杨作民, 孙其信, 刘志勇. 野生二粒小麦导入普通小麦的抗白粉病基因 *MlWE29* 分子标记定位. 作物学报, 2009, 35: 998–1005.
Zhang L S, Hua W, Guan H Y, Li G Q, Xie C J, Yang Z M, Sun Q X, Liu Z Y. Molecular mapping of powdery mildew resistance gene *MIWE29* in wheat originated from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*). *Acta Agron Sin*, 2009, 35: 998−1005 (in Chinese with English abstract).

[17] 解超杰, 倪中福, 孙其信, 杨作民, 刘保申, 魏艳玲. 利用小麦微卫星标记定位一个来自野生二粒小麦的抗白粉病基因. 遗传学报, 2001, 28: 1034–1039.
Xie C J, Ni Z F, Sun Q X, Yang Z M, Liu B K, Wei Y L. Molecular tagging of a major powdery mildew resistance gene *MlG* in wheat derived from wild emmer by using microsatellite maker. *Acta Genet Sin*, 2001, 28: 1034–1039 (in Chinese with English abstract)

[18] Mesfin A, Frohberg R C, Anderson J A. RFLP markers associated with high grain protein from *Triticum turgidum* L. *dicoccoides* introgressed into hard red spring wheat. *Crop Sci*, 1999, 39: 508–513.

[19] Lanning S P, Blake N K, Sherman J D, Talbert L E. Variable production of tetraploid and hexaploid progeny lines from spring wheat by durum wheat crosses. *Crop Sci*, 2008, 48: 199–202.

[20] Eberhard F S, Zhang P, Lehmensiek A, Hare R A, Simpfendorfer S, Sutherland M W. Chromosome composition of an F_2 *Triticum aestivum* × *T. turgidum* spp. *durum* cross analyzed by DArT markers and MCFISH. *Crop Pasture Sci*, 2010, 61: 619–624.

[21] Martin A, Simpfendorfer S, Hare R A, Eberhard F S, Sutherland M W. Retention of D genome chromosomes in pentaploid wheat crosses. *Heredity*, 2011, 107: 315–319.

[22] Kalous J R, Martin J M, Sherman J D, Heo H Y, Blake N K, Lanning S P, Eckhoff J L A, Chao S, Akhunov E, Talbert L E. Impact of the D genome and quantitative trait loci on quantitative traits in a spring durum by spring bread wheat cross. *Theor Appl Genet*, 2015, 128: 1799–1811.

[23] Ren R S, Ray R, Li P F, Xu J H, Zhang M, Liu G, Yao X F, Kilian A, Yang X P. Construction of a high-density DArTseq SNP-based genetic map and identification of genomic regions with segregation distortion in agenetic population derived from a cross between feral and cultivated-type watermelon. *Mol Genet Genomics*, 2015, 290: 1457–1470.

[24] Padmanaban S, Sutherland M W, Knight N L, Martin A. Genome inheritance in populations derived from hexaploid/tetraploid and tetraploid/hexaploid wheat crosses. *Mol Breed*, 2017, 37: 48.

[25] Padmanaban S, Zhang P, Hare R A, Sutherland M W, Martin A. Pentaploid wheat hybrids: applications, characterisation, and challenges. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 358.

[26] Padmanaban S, Zhang P, Sutherland M W, Knight N L, Martin A. A cytological and molecular analysis of D-genome chromosome retention following F_2-F_6 generations of hexaploid × tetraploid wheat crosses. *Crop Pasture Sci*, 2018, 69: 121–130.

[27] Schwarzacher T, Leitch A R, Bennett M D, Heslop-Harrison J S. *In situ* localization of parental genomes in a wide hybrid. *Ann Bot-London*, 1989, 64: 315–324.

[28] Lim K B, Ramanna M, Jacobsen E, van Tuyl J. Evaluation of BC_2 progenies derived from 3*x*-2*x* and 3*x*-4*x* crosses of *Lilium* hybrids: a GISH analysis. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 568–574.

[29] Huang X Y, Zhu M Q, Zhuang L F, Zhang S Y, Wang J J, Chen X Y, Wang D R, Chen J Y, Bao Y G, Guo J, Zhang J L, Feng Y G, Chu C G, Du P, Qi Z J, Wang H G, Chen P D. Structural chromosome rearrangements and polymorphisms identified in Chinese wheat cultivars by high-resolution multiplex oligonucleotide FISH. *Theor Appl Genet*, 2018, 131: 1967–1986.

[30] Luo J T, Zhao L B, Zheng J M, Li Y Z, Zhang L Q, Liu D C, Pu Z J, Hao M. Karyotype mosaicism in early generation synthetic hexaploid wheats. *Genome*, 2020, 63: 329–336.

[31] Du P, Zhuang L F, Wang Y Z, Yuan L, Wang Q, Wang D R, Dawadondup, Tan L J, Shen J, Xu H B, Zhao H, Chu C G, Qi Z J. Development of oligonucleotides and multiplex probes for quick and accurate identification of wheat and *Thinopyrum bessarabicum* chromosomes. *Genome*, 2017, 60: 93–103.

[32] Wickham H. Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. New York, NY: Springer-Verlag, 2016.

[33] Delhaize E, James R A, Ryan P R. Aluminium tolerance of root hairs underlies genotypic differences in Rhizosheath size of wheat (*Triticum aestivum*) grown on acid soil. *New Phytol*, 2012, 195: 609–619.

[34] Dvořák J, Gorham J. Methodology of gene transfer by homoeologous recombination into *Triticum turgidum*: transfer of K^+/Na^+ discrimination from *Triticum aestivum*. *Genome*, 1992, 35: 639–646.

[35] Luo M C, Dubcovsky J, Goyal S, Dvořáket J. Engineering of interstitial foreign chromosome segments containing the K^+/Na^+ selectivity gene *Kna1* by sequential homoeologous recombination

in durum wheat. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 1180−1184.

[36] Han C, Zhang P, Ryan P R, Rathjen T M, Yan Z H, Delhaize E. Introgression of genes from bread wheat enhances the Aluminium tolerance of durum wheat. *Theor Appl Genet*, 2016, 129: 729–739.

[37] Liu J, Huang L, Wang C Q, Liu Y X, Yan Z H, Wang Z Z, Xiang L, Zhong X Y, Gong F Y, Zheng Y L, Liu D C, Wu B H. Genome-wide association study reveals novel genomic regions associated with high grain protein content in wheat lines derived from wild emmer wheat. *Front Plant Sci,* 2019, 10: 464.

[38] Xiang L, Huang L, Gong F Y, Liu J, Wang Y F, Jin Y R, He Y, He J S, Jiang Q T, Zheng Y L, Liu D C, Wu B H. Enriching LMW-GS alleles and strengthening gluten properties of common wheat through wide hybridization with wild emmer. *3 Biotech,* 2019, 9: 355.

[39] Kihara H. Wheat Studies: Retrospect and Prospects (Developments in Crop Science). Tokyo: Kodansha Ltd, 1982.

[40] Sharma H C, Gill B S. Current status of wide hybridization in wheat. *Euphytica*, 1983, 32: 17–31.

[41] Friebe B, Zhang P, Linc G, Gill B S. Robertsonian translocations in wheat arise by centric misdivision of univalents at anaphase I and rejoining of broken centromeres during interkinesis of meiosis II. *Cytogenet Genome Res*, 2005, 109: 293–297.