

抗 BYDV 小麦—中间偃麦草易位系 α -淀粉酶 2 同工酶的研究*

陈孝¹ 辛志勇¹ 肖世和¹ 林志珊¹
钱幼婷² 徐惠君¹ 杜丽璞¹

(¹中国农业科学院作物育种栽培研究所, 北京, 100081; ²中国农业科学院植物保护研究所, 北京, 100094)

提 要 对抗大麦黄矮病毒病的普通小麦—中间偃麦草易位系 F94631 和 F94885-2 进行抗性和 α -淀粉酶 2 同工酶电泳图谱的研究, 证明抗性基因和控制 α -淀粉酶 2 形成的结构基因 α -Amy-Ag²2 (α -Amy-X2) 均位于中间偃麦草第 7 组染色体 (7Ai-1 或 7X) 长臂上。这两个基因都呈显性遗传。 α -Amy-X2 控制形成二条 α -淀粉酶 2 特异酶带, 可认为是 7Ai-1 长臂的生化标记。经 BYDV 抗性和 α -淀粉酶 2 遗传分析, 推断这两个基因位点相距为约 29.4 个遗传单位。

关键词 中间偃麦草; 大麦黄矮病毒病 (BYDV); α -淀粉酶 2; 易位系; 重组率

中间偃麦草 (*Thinopyrum intermedium* 或 *Agropyron intermedium*, $2n = 6x = 42$, $E_1E_1E_2E_2XX$ 或 $E_1E_1E_2E_2NN$)^[3] 含有抗大麦黄矮病毒病 (BYDV) 基因^[1, 4]。由普通小麦 Vilmorin27 ($2n = 6x = 42$, AABBDD) 与中间偃麦草杂交育成的部分双二倍体 TAF46 ($2n = 8x = 56$) 和二体异附加系 L_1 ($2n = 44$, 21 对小麦染色体加一对中间偃麦草染色体 7Ai-1) 都含有 7Ai-1 染色体, 该染色体短臂上有一个紫芽鞘基因, 长臂上有一个抗 BYDV 基因^[1, 4], 所以它们都抗 BYDV。Forster 报道^[5], 在 7Ai-1 长臂上有一个 α -淀粉酶 2 的结构基因 α -Amy-Ag²2。辛志勇等^[1] 已成功地将 7Ai-1 长臂上的抗 BYDV 基因导入到普通小麦遗传背景中, 选育出绿芽鞘, $2n = 42 = 21 II$ 的抗 BYDV 普通小麦—中间偃麦草易位系 TC 系列和 5395 等。本试验对上述抗病易位系的 α -淀粉酶 2 的电泳图谱及其抗性表达的遗传特点进行研究, 并探究这两个基因位点间的关系。

1 材料和方法

1.1 供试材料

- 1) 二体异附加系 L_1 及其亲本 Vilmorin27, *Th. intermedium* 和部分双二倍体 TAF46。
- 2) 抗病易位系 TC5 (Sunstar//Millewa/ L_1) 和 5395 (CSph \times 2/ L_1 //CSN5BT5D) 的衍生系 F94631、F94885-2 (中 8601 \times 2//中 7902/5395) 及它们的普通小麦亲本 Millewa, Sunstar, 中 8601, 中 7902 和 C. S.。
- 3) F94885-2 与感病普通小麦中 8601 杂交 F_1 、 F_2 及 BC_1 。

* 国家“863”项目资助。

收稿日期: 1996-10-08, 收到修改稿日期: 1997-04-17

1.2 试验方法

种子在湿润滤纸上萌动发芽后 7 天(苗高 5~7 cm),取半粒种子的胚乳,用含有 GA3(1×10^{-5} M)的乙酸钠(10 mM, pH4.8)+氯化钙(10 mM)溶液提取 α -淀粉酶 2,并在 70℃ 水浴锅中对 β -淀粉酶进行钝化处理。等电点聚焦电泳在“LKB”多用电泳仪上进行,两性电解质选用两种 pH 梯度(pH4~6 和 pH5~6)。凝胶宽度为 23.5 cm 或 10.5 cm 的聚丙烯酰胺凝胶。具体操作程序参照 Gale^[6]。带有绿苗的半粒种子 4 月 3 日移栽网室地里,4 月 19 日用饲毒蚜(二叉蚜,病毒为 GPV 株系)接种,6 月 15 日观察记载每株的抗病性。

2 结果与分析

2.1 L_1 及其双亲的 α -淀粉酶 2 电泳分析

图 1 是 L_1 及其双亲的 α -淀粉酶 2 在 pH4~6,宽 23.5 cm 凝胶上的电泳图谱。在 pH5~5.6 范围内,中间偃麦草、TAF46 和 L_1 有二条共同酶带,而普通小麦 Vilmorin27 和部分双二倍体无芒中 4 没有这两条酶带。说明控制这两条酶带形成的结构基因位于中间偃麦草的 7Ai-1 染色体上, α -淀粉酶 2 可作为 7Ai-1 染色体的生化标记。无芒中 4 虽然也含有 7 对中间偃麦草染色体,也抗 BYDV,但它不含有 7Ai-1 染色体,其抗性基因也不位于 7Ai-1 染色体上,此结果与 Larkin 报道^[6]无芒中 4 的抗 BYDV 基因位于中间偃麦草第 2 部分同源群的 2Ai-2 染色体的结论是吻合的。

2.2 抗病易位系及其双亲的 α -淀粉酶 2 电泳分析

图 2 是抗病易位系 F94631 及其双亲的 α -淀粉酶 2 在 pH4~6,宽 10.5 cm 凝胶上的电泳图谱。F94631 同 L_1 和中间偃麦草一样,共有二条特异带,而普通小麦亲本 Millewa, Sunatar 没有。说明含有 α -淀粉酶 2 结构基因和抗 BYDV 基因的 7Ai-1 染色体长臂(或片断)已导入到 F94631。F94885-2 的 α -淀粉酶 2 电泳分析是在 pH5~6,宽 10.5 cm 的凝胶上进行的(图 3),结果与 F94631 一样,显示两条 α -淀粉酶 2 特异带。这两条特异带在 F94885-2 \times 中 8601 的 F_1 代也能显现,说明这两条酶带呈显性遗传。

2.3 抗病易位系的 BYDV 抗性和 α -淀粉酶 2 特异带的遗传特点

F94885-2 与感病小麦品种中 8601 杂交 F_1 抗 BYDV。 F_2 代 106 株中抗病株 81,感病株 25, χ^2 测定抗:感比符合 3:1(表 1)。回交 BC_1 102 株,抗病株 48,感病株 54, χ^2 测定抗:感比符合 1:1。说明 F94885-2 所携带的抗 BYDV 基因是显性单基因,与辛志勇^[1], Banks^[4] 的报道是一致的。

表 1 (F94885-2 \times 中 8601) F_2 、 BC_1 抗性分离的 χ^2 测定

Table 1 χ^2 -test for resistance segregation in F_2 and BC_1 from(F94885-2 \times Zhong8601)

世代 Generation	总株数 Total	抗病株 Resistant	感病株 Susceptible	χ^2	$\chi^2_{.05}$
F_2	106	81	25	0.0502	3.84
BC_1	102	48	54	0.2450	3.84

F94885-2 与中 8601 杂交 F_1 在 α -淀粉酶 2 电泳图谱中能显现两条 7Ai-1 的特异带。 F_2 代 106 株中 73 株显现,33 株缺失, χ^2 测定显现:缺失比符合 3:1(表 2)。 BC_1 代 102 株中,有 50 株显现,52 株缺失, χ^2 测定显现:缺失比符合 1:1。说明这两条特异带由同一个 α -淀粉酶 2 结

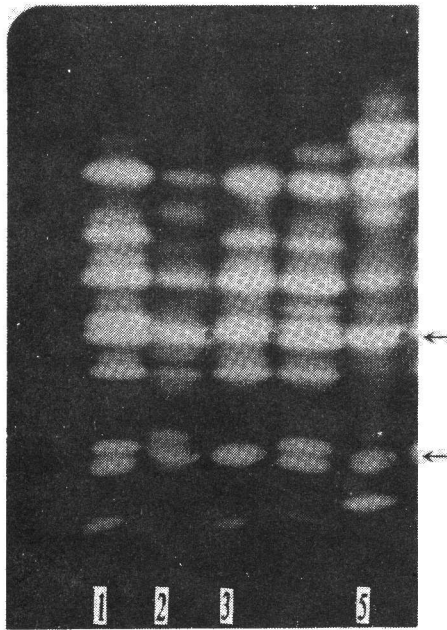


图1 L₁及其双亲α-淀粉酶2等电点聚焦电泳图谱(pH4~6)

Fig.1 Grain α-Amy2 zymogram of L₁ and its parents (PAGEF, pH4~6)

1. Vilmorin 27 2. TAF46 3. L₁
4. Zhong4 awnless 5. *Th. intermedium*

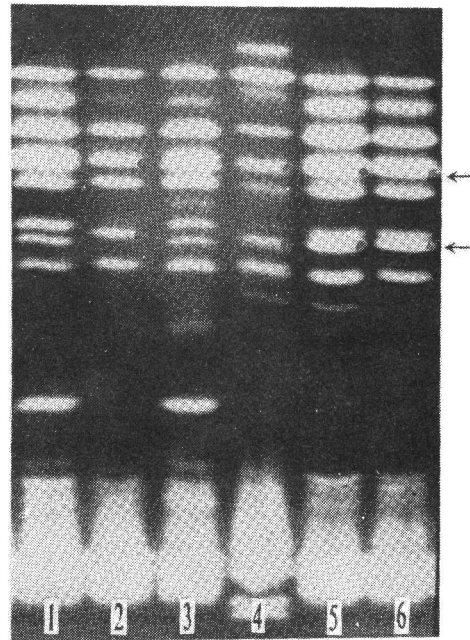


图2 F94631及其双亲籽粒α-淀粉酶2等电点聚焦电泳图谱(pH4~6)

Fig.2 Grain α-Amy2 zymogram of L₁ and its parents (PAGEF, pH4~6)

1. Sunstar 2. L₁ 3. Millewa
4. *Th. intermedium* 5~6. F94631

表2 (F94885-2×中8601)F₂、BC₁ α-淀粉酶2特异带分离的χ²测定

Table 2 χ²-test for segregation of α-Amy 2 special bands in F₂ and BC₁ from (F94885-2×Zhong8601).

世代	总株数	显现	缺失	χ ²	χ ² _{0.05}
Generation	Total	Present	Absent		
F ₂	106	73	33	1.8110	3.84
BC ₁	102	50	52	0.0098	3.84

构基因控制,该基因的遗传符合孟德尔分离定律,显现型为显性,缺失型为隐性。

2.4 F94885-2抗性基因位点与α-淀粉酶2结构基因位点间的连锁关系

F94885-2含有的抗性基因与α-淀粉酶2结构基因位于7Ai-1染色体长臂上,根据F94885-2×中8601杂种F₁同中8601测交后代,推知F₁的配子类型为:抗病+特异带34株,抗病+缺失型14株,感病+特异带16株,感病+缺失型38株。重组型配子占总配子数的29.4%,重组率(交换值)为29.4%,说明这两个基因位点在7Ai-1染色体长臂上,相距为29.4个遗传单位。

3 讨论

3.1 中间偃麦草 7Ai-1 染色体长臂上有 α -淀粉酶 2 结构基因, 它能控制形成两条酶带, 这两条酶带在不同的 pH 梯度(4~6 或 5~6)和不同的凝胶宽度(10.5 cm 或 23.5 cm)的等电点聚焦电泳图谱中均能稳定表达, 它们的等电点约在 pH5~5.6 范围内。这两条特异酶带可作为 7Ai-1 染色体长臂的生化标记。

3.2 中间偃麦草的染色体组为 $E_1E_1E_2E_2XX$, 其中 X 染色体组是未知的, 附加系 L_1 的外源染色体属于哪一组呢? Forster^[6]对长穗偃麦草(*Th. elongatum*)、脆轴偃麦草(*Th. junceum*)、中间偃麦草(*Th. intermedium*)、TAF46 和 L_1 的酸性 α -淀粉酶的测定, 发现 TAF46 和 L_1 缺少 7E 染色体组的特征带, 认为 TAF46 和 L_1 含有的 7Ai-1 染色体为 7X。Friebe^[8]通过染色体 C-一分带, 进一步证明了 7Ai-1 染色体来自 X 染色体组。Banks^[3]也发现 7E 与 7Ai-1 染色体在 PMC 减数分裂中期不配对。张学勇^[2]用基因组原位杂交表明 TAF46 含有 4 对 E 组, 3 对 St 组染色体, BYDV 的抗性基因位于第 7 部分同源群, 并证实 7St 就是 7Ai-1, 即 7X。为此, 按照同工酶基因符号命名的法规, 我们把位于 7X 长臂上的 α -淀粉酶 2 的结构基因命名为 α -Amy-X2, 这比 Forster^[5]所命名的 α -Amy-Ag² 更明确。

3.3 F94631、F94885-2 是 TC5 和 5395 的衍生系, Banks^[4]用 7Ai-1 长臂上的相关探针 psr690、psr129 和 csIH81-1 对 TC5 和 5395 进行 RFLP 分析, 均能显现杂交带, 但是这些探针位点和抗性基因位点是怎样连锁尚不清楚。本研究证明 α -Amy-X2 基因位点与抗性基因位点在 7X 长臂上相距约 29.4 个遗传单位。

3.4 Banks^[4]发现杂合抗病易位系 TC5 和 5395 等的基因组 DNA 用 psr129 探针杂交时, 7D 带的强度比 7A 和 7B 减弱, 当用纯合抗病易位系杂交时, 7D 的带消失, 故推测这些抗病易位系可能发生在 7D-7X 之间。参照 Gale^[6] α -淀粉酶 2 的电泳图谱, 发现本试验中, 抗病易位系缺少 9D、13D 和 16D 酶带, 这也意味着 7D-7X 染色体之间发生了易位。

3.5 据 McIntosh 报道^[9], 至 1993 年, 命名的抗 BYDV 基因仅 1 个, 为 Bdv1, 它位于耐病品种 Anza 的 7D 染色体上, 它对 BYDV 的 MAV-Mex 株系具有耐病性, 并认为该基因可能来源于巴西的小麦品种弗朗塔那(Frontana)^[10]。我们和澳大利亚分别用 BYDV 的 GPV 株系和 PAV 株系检测, Anza 均不抗这两种株系。而本研究供试的品系对 GPV 和 GAV 株系均表现优良的抗性, 故暂把来源于 L_1 的抗病基因命名为 Bdv 2。

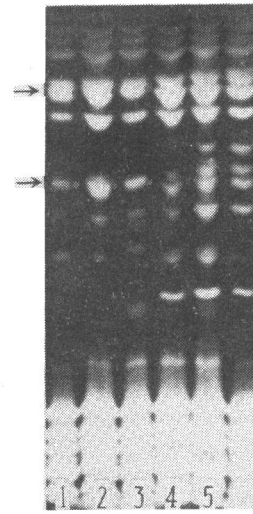


图 3 易位系 F94885-2 及其双亲, (F94885-2×Zhong8601) F₁ 的籽粒 α -淀粉酶 2 等电点聚焦电泳图谱(pH5~6)

Fig. 3 Grain α -Amy2 zymogram of F94885-2, its parents and (F94885-2×Zhong8601)F₁(PAGEF, pH5~6)
1. (F94885-2×Zhong8601) F₁
2. F94885-2 3. L_1 4. Zhong 8601 5. Zhong7902 6. C. S.

参 考 文 献

- 1 辛志勇、徐惠君、陈 孝等, 1991, 中国科学(B辑), 1, 36~42

- 2 张学勇, A. Koul, R. Petroski, 等, 1995, 中国的遗传学研究(1991~1994), 中国遗传学会编, p. 94
- 3 Cauderon, Y., 1958, *Annales de l'Amélioration des Plantes* 8, 389~567
- 4 Banks, P. M., P. J. Larkin, H. S. Bariana, et al., 1995, *Genome*, 38, 395~405
- 5 Forster, B. P., S. M. Reader, S. A. Forsyth, et al., 1987, *Genet. Res. Camb.*, 50, 91~97
- 6 Gale, M. D., C. N. Law, A. J. Choiecki, et al., 1983, *Theor. Appl. Genet.*, 64, 309~316
- 7 Larkin, P. J., P. M. Banks, E. S. Lagudah, et al., 1995, *Genome*, 38, 385~394
- 8 Friebe, B., Y. Mukai, B. S. Gill, et al., 1992, *Theor. Appl. Genet.*, 84, 899~905
- 9 McIntosh, R. A., G. E. Hart, and M. D. Gale, 1993, *Proc. of the 8th inter. Wheat Gene, Sym.*, p. 1396
- 10 Singh, R. P., P. A. Burnett, M. Albarran, et al., 1993, *Crop Science*, 33, 231~234

Study of the α -Amylase 2 Isozymes of Wheat/*Th. intermedium* Translocation Lines with BYDV Resistance

Chen Xiao¹ Xin Zhiyong¹ Xiao Shihe¹ Lin Zhishan¹
Qian Youting² Xu Huijun¹ Du Lipu¹

¹ Institute of Crop Breeding and Cultivation, CAAS, Beijing, 100081;

² Institute of Plant Protection, CAAS, Beijing, 100094)

Abstract Two wheat/*Th. intermedium* translocation lines F94631 and F94885-2 with resistant barley yellow dwarf virus (BYDV) resistance were studied on BYDV resistance and α -Amy 2 zymogram. The results showed that the BYDV resistance gene and the α -Amy-X2 (α -Amy-Agⁱ2) gene which controls the α -Amy 2 isozymes are both located on the long arm of 7X (7Ai-1) chromosome. Both shown dominant inheritance. Two special α -Amy 2 bands controlled by α -Amy-X2 may be used as biochemistry markers of long arm of 7X. From the analysis of BYDV resistance and α -Amy 2, the loci distance between the BYDV resistance gene and α -Amy-X2 is about 29.4 genetic units.

Key words *Thinopyrum intermedium*; Barley yellow dwarf virus (BYDV); α -Amy 2; Translocation line; Recombination frequency