

## 小麦-黑麦代换系间杂交后代的SSR分析

丁海燕<sup>1</sup>, 张利敏<sup>2</sup>, 郑茂波<sup>3</sup>, 李集临<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>大庆师范学院, 黑龙江大庆 163712; <sup>2</sup>佳木斯大学, 黑龙江佳木斯 154002;

<sup>3</sup>哈尔滨学院, 哈尔滨 150086; <sup>4</sup>哈尔滨师范大学, 哈尔滨 150025)

**摘要:**为深入了解7个大穗型小麦品系的遗传基础及更好地利用其对小麦进行遗传改良,利用SSR技术,对从小麦-黑麦代换系5R/5A与6R/6A杂交后代中选育的大穗型品系08-4、08-5、08-6、08-7、08-8、08-9、08-12进行了分析。结果表明,使用位于黑麦染色体上的17个SSR引物,在15个引物位点上,7个品系带型同普通小麦的相似。从所用引物中筛选出引物Xgwm247-6RL,在08-4、08-8、08-12和黑麦中扩增出约168、178、190 bp的3条黑麦特异片段,证明了品系08-4、08-8、08-12中导入了黑麦6R染色体长臂的遗传物质。由于这些品系具有大穗、多小穗等优良性状,是有经济价值和利用价值的遗传材料。

**关键词:**小麦;黑麦;代换系;SSR

中图分类号:Q32

文献标志码:A

论文编号:2010-2497

### Analysis on the Offsprings from Crossing between Wheat-Rye Substitution Lines by SSR

Ding Haiyan<sup>1</sup>, Zhang Limin<sup>2</sup>, Zheng Maobo<sup>3</sup>, Li Jilin<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>Daqing Normal University, Daqing Heilongjiang 163712; <sup>2</sup>Jiamusi University, Jiamusi Heilongjiang 154002;

<sup>3</sup>Harbin University, Harbin 150086; <sup>4</sup>Harbin Normal University, Harbin 150025)

**Abstract:** In order to study their genetic component and use them better, seven lines, 08-4, 08-5, 08-6, 08-7, 08-8, 08-9, 08-12, with big ears which came from crossing between wheat-rye substitution line 5R/5A and 6R/6A were identified by SSR. The results were followed: 17 SSR primer pairs located on chromosomes of rye were used for SSR amplification. The specific DNA fragments of rye, 168bp, 178bp, 190 bp, can be amplified by pimer Xgwm247-6RL in the lines, 08-4, 08-8, 08-12. These results indicated that lines, 08-4, 08-8, 08-12, contained rye chromatin of 6R. Because they had big ears and multispikelets with more number of grains per ear, these lines had very important value in wheat breeding and genetics improvement.

**Key words:** wheat; rye; substitution line; SSR

### 0 引言

小麦异代换系在遗传上是稳定的,减数分裂形成21个有规则的二价体,正常可育,在生产上可以直接利用<sup>[1]</sup>,是小麦(*Triticum aestivum*)遗传改良的重要桥梁品种<sup>[1]</sup>。Katterman在小黑麦与小麦杂交的回交后代中获得小麦-黑麦异代换系即5R/5A<sup>[2]</sup>。人们已经育成小麦-黑麦(*Secale cereale*)、小麦-偃麦草(*Elytrigia*)<sup>[3]</sup>、小麦-燕麦(*Avena L.*)、小麦-山羊草(*Aegilops*)、小麦-旱麦草属(*Eremopyrum*)<sup>[4]</sup>、小麦-簇毛麦(*Haynaldia*

*villosa*)等多种异代换系。代换系对小麦的遗传稳定性与品质改良均有重要影响<sup>[5]</sup>。

SSR标记在小麦遗传育种研究中的应用广泛,构建小麦遗传连锁图谱、标记和定位目的基因、鉴定和区分品种、研究小麦遗传多样性及近缘种属关系、标记辅助选择育种、杂种鉴定及异源DNA的定位。Korzun V等<sup>[6]</sup>以34个小麦品种间染色体代换系为材料,利用45个小麦SSR标记鉴定,表明大部分代换系是正确的。王晶等<sup>[7]</sup>利用不对称体细胞杂交向小麦转移高冰草

基金项目:国家自然科学基金(No.39670417)。

第一作者简介:丁海燕,女,1973年出生,黑龙江省人,讲师,博士,从事遗传学教学和研究。通信地址:163712 黑龙江省大庆市让胡路区西宾西路,大庆师范学院生命科学学院, Tel: 0459-5510226, E-mail: dinghaiyan2004@126.com。

收稿日期:2010-08-24, 修回日期:2010-09-23。

(*Agropyron elongatum* (Host) *Nevishi*.)染色体小片段,SSR分析结果表明高冰草DNA分布于两杂种株系的2A,5B,6B和2D染色体上,与GISH分析的多位点小片段插入的结果相对应。

笔者对从小麦-黑麦代换系5R/5A与6R/6A杂交后代中选育的7个大穗型品系进行了SSR鉴定分析,以了解这些品系的遗传基础及更好地利用其对小麦进行遗传改良。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间与地点

田间取样试验于2008年7月在哈尔滨师范大学实验田完成;室内试验于2008—2009年在哈尔滨师范大学遗传实验室完成。

### 1.2 材料

母本为小麦-黑麦代换系5R/5A(2n=42),父本为小麦-黑麦代换系6R/6A(2n=42),由哈尔滨师范大学遗传实验室培育并鉴定<sup>[2]</sup>。5R/5A与6R/6A杂交后代材料:08-4、08-5、08-6、08-7、08-8、08-9、08-12共7个品系,由哈尔滨师范大学遗传实验室选育。中国春(*Triticum aestivum* cv. *Chinese Spring*)、黑麦(胜利黑麦)(*Secale* L.),由哈尔滨师范大学遗传实验室从黑龙江省农科院引进并保存。

### 1.3 DNA提取

取叶片放在液氮中研磨成粉末,采用CTAB法<sup>[8]</sup>提取小麦总DNA。

### 1.4 SSR分析

根据Saal等<sup>[9]</sup>和Khlestkina等<sup>[10]</sup>发表的黑麦微卫星引物序列和遗传图谱,选择位于黑麦5R、6R染色体上微卫星引物20对,引物的碱基序列、染色体位置、退火温度等信息参照文献[9-10],引物由大连宝生物公司合成。

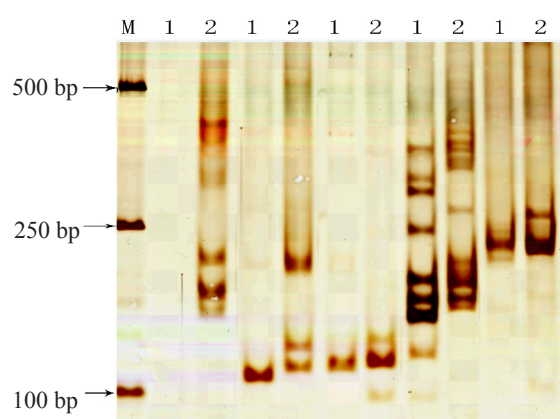
反应体系:50 mmol/L KCl,10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.3),1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,200 mmol/L 每种dNTP,250 nmol/L 引物1,250 nmol/L 引物2,1 U rTaq酶,50 ng模板DNA。

PCR程序:95℃,5 min;95℃,1 min;50℃(55℃,60℃)30 s;72℃,1 min,40个循环;72℃,10 min。扩增产物经6%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染<sup>[11]</sup>观察并照相。反应体系酶由大连宝生物公司提供。

## 2 结果与分析

### 2.1 多态性引物筛选

用黑麦、普通小麦对20对SSR引物进行筛选,得到有多态性且稳定性好的引物17对。部分多态性引物扩增见图1。



M: Marker; 1: 普通小麦中国春; 2: 黑麦; 引物从左向右依次为SCM138、SCM2、Xgwm114、Xgwm247、SCM304

图1 普通小麦与黑麦多态性SSR引物

### 2.2 SSR分析

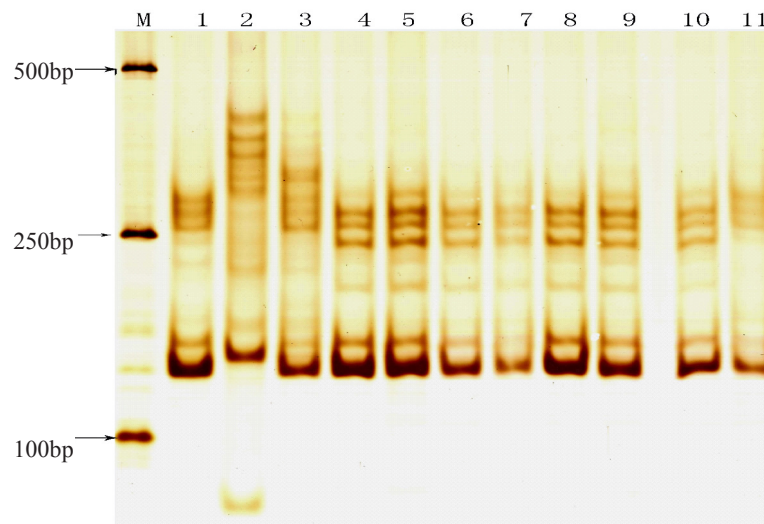
用筛选出的多态性引物分析,结果表明:第一类情况:在SCM138、SCM120、SCM101这3个引物位点,7个品系的扩增带型同普通小麦相似,没有扩增产物。第二类情况:有12对引物:SCM180、SCM304、SCM109、SCM2、Xgwm212、Xgwm205、Xgwm335、Xgwm538、Xgwm114、Xgwm131、Xgwm271、Xgwm391在7个品系的扩增带同普通小麦的带型相似(图2),上述2种情况表明在这15个引物位点上,7个品系同普通小麦的遗传结构相似。

从所用引物中筛选出引物Xgwm247-6RL,在08-4、08-8、08-12和黑麦中扩增出约168 bp、178 bp、190 bp的3条黑麦特异片段(图3中细箭头所示),该片段在普通小麦‘中国春’、08-5、08-6、08-7、08-9、5R/5A未出现,从而进一步证明了08-4、08-8、08-12中导入了黑麦6R染色体长臂的遗传物质。08-4、08-8、08-12也扩增出6R/6A所特有的片段,大约194 bp(图3中粗箭头所示)。

在引物Xgwm247-6RL位点,08-4、08-8、08-12的带型相同;08-5、08-6、08-7、08-9带型相同,而且同普通小麦的带型相似,没有出现黑麦的特异带。

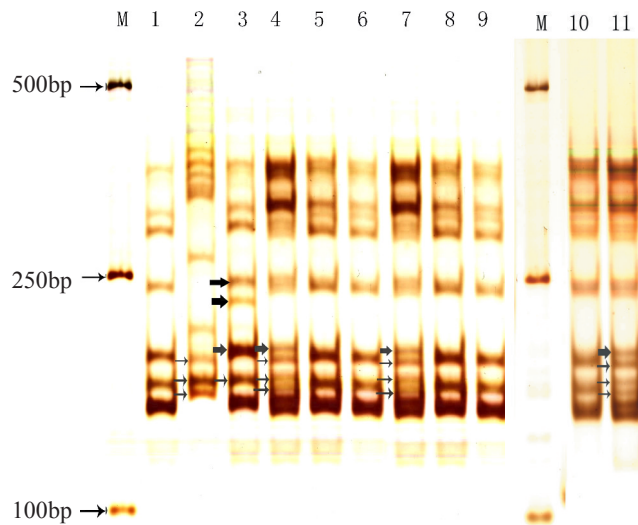
## 3 讨论

利用代换系作为桥梁选育易位系,这是利用黑麦优良基因资源的途径之一<sup>[12]</sup>,笔者利用2个不同的小麦-黑麦代换系5R/5A与6R/6A杂交,选出的品系有的兼具双亲的一些优良性状,有5R/5A亲本的穗较长的性状,又具有6R/6A亲本的生长势强、小穗数多、抗病性特征。笔者对这些品系的田间性状进行了分析,发现这7个品系的穗长、小穗数、穗粒数、单株有效穗数性状与对照的普通小麦和高亲比,有明显的优势,有关



M: Marker; 1: 中国春; 2: 黑麦; 3: 5R/5A; 4: 08-4; 5: 08-5; 6: 6R/6A; 7: 08-6; 8: 08-7; 9: 08-8; 10: 08-9; 11: 08-12

图2 引物Xgwm538-5RL的SSR分析



M: Marker; 1: 中国春; 2: 黑麦; 3: 6R/6A; 4: 08-4; 5: 08-5; 6: 08-6; 7: 08-8; 8: 08-7; 9: 5R/5A; 10: 08-9; 11: 08-12

图3 引物Xgwm247-6RL的SSR鉴定

这部分分析结果将另文发表。因此,这些品系在遗传研究和育种实践中都具有重要的利用价值。

近年来SSR技术已在小麦研究中广泛应用<sup>[13]</sup>,笔者采用SSR方法对7个品系进行鉴定,该法稳定,效果可靠。由于供试材料品系是小麦-黑麦代换系5R/5A与6R/6A杂交的高代材料,因此选取可能提供异源片段的位于黑麦5R、6R染色体上的SSR引物,从中筛选出17对多态性较好的引物。目前,黑麦特异引物的开发还较少,对分析鉴定小麦背景中的黑麦遗传物质是有局限性的,多种方法综合分析是必要的。SSR分析在品系08-5、08-6、08-7、08-9没有检测到黑麦遗传物质,笔者认为需要进一步采用GISH等方法分析这些品系。

### 参考文献

- [1] 李集临,徐香玲.细胞遗传学[M].北京:科学出版社.2006:204-225.
- [2] 李集临,王宁,郭东林,等.小麦-黑麦染色体代换的研究[J].植物研究,2002,22(2):220-224.
- [3] 王洪刚,李丹丹,刘树兵,等.抗白粉病小偃麦异代换系的细胞学和RAPD鉴定[J].西北植物学报,2003,23(2):280-284.
- [4] 张桂芳,刘建文,黄远樟,等.普通小麦与东方旱麦草异附加系和异代换系的选育与原位杂交检测[J].遗传学报,2000,27(01):50-55.
- [5] 王长有,吉万全,王秋英,等.SSR标记在小麦遗传育种中的应用研究进展[J].麦类作物学报,2004,24(1):70-74.
- [6] Korzun V, Borner A, Worland A J, et al. Application of microsatellite markers to distinguish inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Euphytica, 1997,95:149-155.

- 
- [7] 王晶,向凤宁,夏光敏,等.利用不对称体细胞杂交向小麦转移高冰草染色体小片段[J].中国科学C辑,2004,34(2):113-120.
- [8] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull,1987,19:11-15.
- [9] Bernhard Saal, Günter Wricke. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.) [J].Genome,1999,42: 964-972.
- [10] Elena K, Khlestkina, Ma Hla Myint Than, et al. Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags[J]. Theor Appl Genet,2004,109:725-732.
- [11] Brant J B, Gustavo C A, Peter M G. Fast and Sensitive Silver Staining of DNA in Polyacrylamide Gels[J].analytical biochemistry, 1991,196:80-83.
- [12] 李义文,唐顺学,赵铁汉,等.利用两个小麦异源二体代换系杂交创造易位系[J].科学通报,1999,44(10):1052-1055.
- [13] 朱振东,贾继增.小麦 SSR 标记的发展及应用[J].遗传,2003,25(3): 355-360.