

普通小麦-大麦异附加系的分子生物学技术鉴定^{*}

陈新宏, 刘淑会, 赵继新, 武军, 李璋, 阎正禄

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 用植物染色体C-分带和小麦种子HMW-GS电泳技术, 对普通小麦-大麦异附加系进行了鉴定。结果表明, 异附加系WB9905和WB9912含有大麦的5H染色体, 异附加系WB9906含有大麦的2H染色体。小麦种子HMW-GS电泳结果表明, 异附加系WB9905、WB9912和易位系WB9917含有大麦HMW-GS的特征带。

[关键词] 普通小麦; 大麦; 异附加系; C-分带; HMW-GS

[中图分类号] S512.101; S512.103 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2003)06-0005-04

大麦(*Hordeum disticum*)具有早熟、耐旱、抗盐碱、抗黄矮病、抗穗发芽、赖氨酸含量高、适宜晚播、受干热风影响小等性状, 这些优良性状若导入小麦, 将丰富小麦遗传基础, 对小麦育种具有重要意义。但大麦和小麦分别属于大麦族的不同亚族即大麦亚族(Hordeinae)和小麦亚族(Triticinae), 亲缘关系较远, 杂交不易成功。为将这些优良特性导入小麦, Kruse^[1]等首次用栽培大麦与六倍体小麦杂交, 成功获得了大小麦杂种; 之后 Islam 等^[2]创制出具小麦细胞质的小大麦杂种, 在小麦正常染色体组中附加了个别大麦染色体的6个异附加系。国内于1980年前后开展大小麦杂交研究工作, 周之杭^[3]、汪丽泉^[4]、陈朱希昭^[5]、陈孝^[6]、朱至清^[7]、蒋继明等^[8]均获得了大小麦杂种, 但尚未见获得异附加系的报道。

李璋、刘翠云等^[9,10]从1982年开始研究小、大麦杂交工作, 以普通小麦为母本与栽培大麦杂交, 成功地获得了大小麦杂种植株及其回交种子, 通过连续多年套袋自交、测交、细胞学鉴定和定向选择, 已从回交后代群体中筛选出了部分具有大麦特征的异附加系。本研究利用染色体C-分带技术对近年得到的普通小麦-大麦异附加系、易位系进行进一步鉴定, 同时利用SDS-PAGE电泳技术对这些普通小麦-大麦异附加系、易位系的高分子量谷蛋白亚基(HMW-GS)进行分析, 利用大麦高分子量谷蛋白亚基特征带进行染色体基因定位, 以期小麦远缘杂交育种提供大麦新种质。

1 材料和方法

1.1 材料

用普通小麦(*Triticum aestivum*)品种7182-0-11-1作母本, 和6个栽培二棱大麦(*Hordeum disticum*, 2n=14)品种杂交, 对杂种幼胚培养获得的F₁植株, 再用普通小麦昌农82、中国春、小偃107等回交2次, 获得回交种子。回交后代自交, 并从回交后代广泛的分离群体中结合结实率、早熟性、抗病性等大麦性状进行选择, 从而得到大量遗传稳定的大小麦异附加系WB9901~WB9914和易位系WB9915~WB9918。

1.2 方法

染色体制片 将种子消毒后用水浸泡12 h, 置于铺有吸水纸的培养皿中(25℃), 当根长至1~2 cm时取根尖于冰水中预处理22~24 h, 然后用乙醇:冰乙酸(体积比=3:1)的卡诺固定液固定2~3 d, 体积分数45%冰乙酸压片。液氮冷冻揭片后, 放入45~50℃的体积分数45%冰乙酸3 min, 然后在空气中干燥。

染色体C-分带 染色体C-分带参照Endo^[11]的方法, 并作了改良, 即将干燥的制片依次在45~50℃体积分数45%的冰乙酸、50 mg/L Ba(OH)₂溶液和2×SSC溶液中分别处理3~5 min, 2~2.5 min和5~15 min, 用Giemsa染色液(pH 6.8)染色显带, OL YMPUS BX60显微镜观察、照相。

小麦种子HMW-GS电泳分析 用国际上通用

* [收稿日期] 2002-12-18

[基金项目] 国家863计划项目(2001AA241037); 农业部农业结构调整重大技术研究专项(2002-02-01A); 杨凌生物技术育种中心项目(1999-5)

[作者简介] 陈新宏(1966-), 男, 陕西周至人, 副研究员, 博士, 主要从事小麦远缘杂交及遗传育种工作。

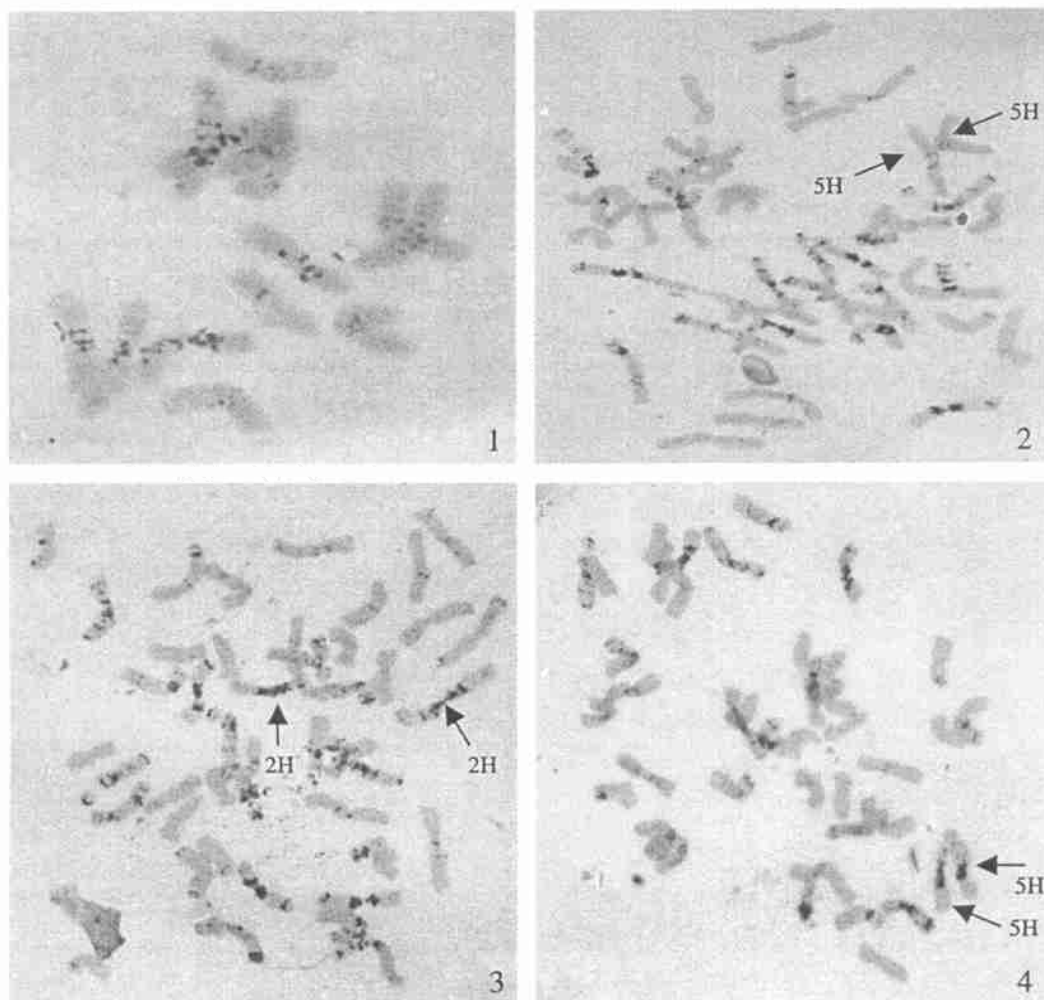
的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法^[12]。分离胶质量浓度 100 mg/L (pH 8.8), 浓缩胶质量浓度 25 mg/L (pH 6.8), 胶厚 1.5 mm。电泳仪采用北京六一仪器厂生产的 DYY-10 型三恒电泳仪, DYY-III28B 型夹心式电泳槽。

2 结果与分析

2.1 染色体 C-分带

栽培大麦不同品种间 C-分带的共同特征是均

显示着丝点带而不显示端带(图版 I-1), 这与普通小麦 C-分带主要显示中间带、近端带和着丝点带+中间带或端带、近端带等带型较易区分。通过比较普通小麦-大麦异附加系 WB9905, WB9906, WB9912 和大麦的 C-分带带型(图版 I-2, 3, 4), 发现这 3 个材料均含有 2 条大麦的染色体, 其中 WB9905, WB9912 含大麦的 5H 染色体, WB9906 含大麦的 2H 染色体。



图版 I 大麦及其异附加系的根尖染色体 C-分带

1 大麦根尖染色体 C-分带, $2n=14$; 2 大麦异附加系 WB9905 根尖染色体 C-分带, $2n=44$, 示大麦 5H 染色体; 3 大麦异附加系 WB9906 根尖染色体 C-分带, $2n=44$, 示大麦 2H 染色体; 4 大麦异附加系 WB9912 根尖染色体 C-分带, $2n=44$, 示大麦 5H 染色体

Plate I The root chromosomes C-banding of wheat-barley and its alien additional lines

1 The root chromosomes C-banding of barley, $2n=14$; 2 The root chromosomes C-banding of WB9905 with 5H chromosomes, $2n=44$; 3 The root chromosomes C-banding of WB9906 with 2H chromosomes, $2n=44$; 4 The root chromosomes C-banding of WB9912 with 5H chromosomes, $2n=44$

2.2 种子 HMW-GS 电泳

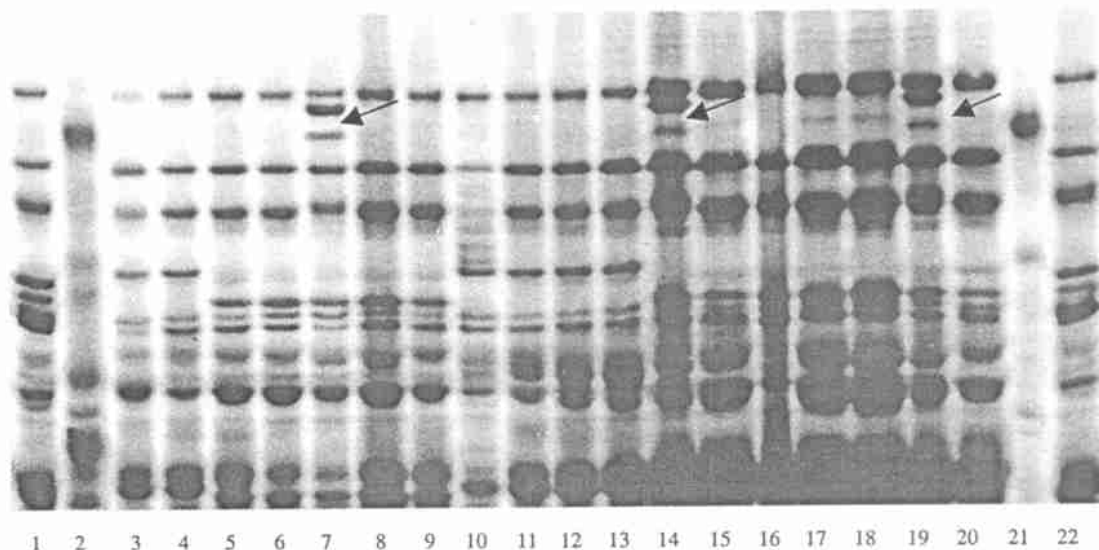
高分子量谷蛋白(HMW-GS)是在小麦籽粒灌

浆过程中形成的 1 组贮藏蛋白质。HMW-GS 的合成受位于第一部分同源群染色体 1A, 1B 和 1D 长臂

上的基因所控制, 通常把这3个基因位点分别称作 Glu-A1, Glu-B1 和 Glu-D1 位点 (统称 Glu-1 位点), 其可用于鉴别第一同源群的染色体组。

为了弄清普通小麦-大麦异附加系、易位系中, 是否具有大麦第一同源群的染色体或染色体片段, 以及大麦是否具有高分子量谷蛋白亚基 (HMW-GS), 本试验将一系列小麦-大麦异附加系、易位系的种子进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (图版 II), 从图版 II 可以看出, 大麦种子含有 1 条明显的 HMW-

GS 谱带, 说明大麦与小麦第一同源群染色体有部分同源关系的染色体也具有 HMW-GS。目前, 已知决定大麦高分子量谷蛋白亚基的基因位于大麦 5H 染色体上^[13], 附加系 WB9905, WB9912 与易位系 WB9917 也含有大麦 HMW-GS 的特征带, 说明这几个材料中已含有大麦的染色体。而根据大麦与小麦染色体的部分同源关系, 可推断 WB9905, WB9912 应为普通小麦-大麦 5H 附加系, WB9917 应具有大麦 5H 染色体片段。



图版 II HMW-GS SDS-PAGE 电泳图谱

1, 22 CS; 2, 21 大麦; 3~16 大麦异附加系 WB9901~14; 17~20 大麦易位系 WB9915~18

Plate II The HMW-GS SDS-PAGE electrophoretogram

1, 22 CS; 2, 21 Barley; 3-16 Alien additional lines WB9901~14; 17-20 Translocation lines WB9915~18

3 讨论

虽然大麦与小麦分别属于大麦族的不同亚族, 亲缘关系较远, 但其形态差异并不是很明显, 所以在形态上很难将普通小麦-大麦异附加系、易位系与亲本区别开来。但可以利用细胞学标记即染色体核型 (染色体数目、大小、随体、着丝点位置等) 和染色体带型将普通小麦中的大麦染色体鉴定出来。由于大麦染色体组含有 2 对随体, 且大麦染色体 C-分带均显示着丝点带而不显示端带, 而普通小麦主要显示中间带、近端带和着丝点带+中间带或端带、近端带等带型, 因此普通小麦中的异源大麦染色体较易识别, 这为普通小麦-大麦异附加系的细胞学鉴定提供了特定标记。同时, 由于小麦染色体的 C-分带也含有较丰富的着丝点带, 又使得普通小麦-大麦易位系的鉴定比较困难, 这就需要借助于原位杂交技术和

分子标记。

利用种子贮藏蛋白进行外源染色体鉴定是生化标记的一种有效方法, 在品种鉴定中, 醇溶蛋白和高分子量谷蛋白 (HMW-GS) 的应用最广, 但由于这两种蛋白的基因位点均位于小麦第一同源群的染色体上, 在鉴定外源染色体上有一定的局限性。本研究利用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分析出大麦仅含有 1 条高分子量谷蛋白亚基特征带, 即为大麦 5H 染色体的特征带, 因而可以利用这一特征带, 鉴定出小麦核背景中含有大麦高分子量谷蛋白亚基特征带的染色体。HMW-GS 与小麦品质关系密切, 用染色体工程和种子贮藏蛋白凝胶电泳技术相结合, 有目的地将小麦近缘植物中带有 HMW-GS 的染色体或染色体片段导入小麦, 对改良小麦的加工品质具有重要的理论和实践意义。

[参考文献]

- [1] Kruse A. *H. ordeum* × *H. riticum* [J]. *Heredity*, 1973, 73: 157- 188
- [2] Islam A K M, Shepherd K W, Sparrow D H B. Isolation and characterization of euplasmic wheat-barley. Chromosome additional lines[J]. *Heredity*, 1981, 46(2): 161- 174
- [3] 周之杭 大麦和小麦杂种胚的离体培养及杂种幼苗的形态和染色体观察[J]. *遗传学报*, 1979, 6(3): 343- 348
- [4] 汪丽泉 中国春小麦×苏联球茎大麦属间杂交的研究初报[J]. *作物学报*, 1982, 8(2): 95- 101
- [5] 陈朱希昭 栽培大麦×普通小麦杂种发育的胚胎学观察[J]. *遗传学报*, 1984, 11(5): 368- 373
- [6] 陈 孝 栽培大麦×普通小麦杂种及其再生植株[J]. *作物学报*, 1984, 10(1): 65- 68
- [7] 朱至清 大麦和普通小麦杂种再生植株的形态和染色体变化[J]. *遗传学报*, 1985, 12(6): 430- 433
- [8] 蒋继明, 刘大钧 普通小麦与野生大麦的属间杂交[J]. *作物学报*, 1990, 16(4): 324- 328
- [9] 李 璋, 刘翠云 普通小麦×栽培大麦杂种植株及回交后代的产生和鉴定[J]. *遗传学报*, 1987, 14(3): 188- 192
- [10] 刘翠云, 李 璋, 阎正禄 普通小麦×大麦杂种后代细胞遗传学研究[J]. *西北植物学报*, 1997, 17(4): 499- 504
- [11] Endo T R, Gill B S. Somatic karyotype, heterochromatin distribution and nature of chromosome differentiation in common wheat[J]. *Can J Genet Cytol*, 1984, 26: 669- 678
- [12] 李子先, 刘东旭 植物细胞遗传学的研究方法与技术[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1991. 25- 45
- [13] 张正斌 小麦遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.

Molecular cytogenetics identification of wheat-barley alien additional lines

CHEN Xin-hong, LIU Shu-hui, ZHAO Ji-xin, WU Jun, LI Zhang, YAN Zheng-lu

(College of Agronomy, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: A series of wheat-barley alien additional lines were identified by C-banding and SDS-PAGE. C-banding analysis indicated that the alien additional lines of WB9905, WB9912 had the 5H chromosomes of barley, the alien additional lines of WB9906 included the 2H chromosomes. SDS-PAGE showed that the alien additional lines of WB9905, WB9912 and the alien translocation lines of WB9917 had the HMW-GS marker of barley.

Key words: wheat; barley; alien additional lines; C-banding; HMW-GS