

奥地利黑麦染色体核型和 C-分带带型*

吴金华¹, 张西平², 吉万全¹, 王长有¹, 王秋英¹

(1 西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100; 2 河北农业大学 城乡建设学院, 河北 保定 071001)

[摘要] 以奥地利黑麦(*Secale cereale* L.)为试验材料,通过 Giemsa C-分带对其进行了细胞学鉴定、染色体核型与 C-带分析。结果表明,奥地利黑麦体细胞染色体为 14 条,花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体形成 7 个二价体,其核型公式为 $2n=2x=14=10m+2sm+2m$ (SAT)。通过 C-分带将奥地利黑麦 1R~7R 的 7 条染色体区分开来,其 C-带带型公式为 $2n=14=2C_+I_+T+2C^+T+4I_+T+2C_+I_+T^++2T+2ST$ 。奥地利黑麦除 2R 和 4R 长臂近端部约 1/4 处有带且 7R 无中间带外,其余带型与黑麦标准 C-分带带型基本一致。

[关键词] 奥地利黑麦; 染色体核型; C-分带; 带型分析

[中图分类号] Q 343.2⁺2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)01-0073-04

Karyotype and C-banding analysis of Austria rye (*Secale cereale* L.)

WU Jin-hua¹, ZHANG Xi-ping², JI Wan-quan¹, WANG Chang-you¹, WANG Qiu-ying¹

(1 College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Urban and Rural Construction, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: Cytological identification, chromosome karyotype and C-banding of Austria rye (*Secale cereale* L.) were analyzed in this paper in order to better identify the genetic germplasm of Austria rye. The results were as follows: the number of RTC of Austria rye was 14 and chromosome configuration of PMC was 7II; the karyotype formula was $2n=2x=14=10m+2sm+2m$ (SAT). Austria rye chromosomes were differentiated from 1R to 7R; and the band formula was $2n=14=2C_+I_+T+2C^+T+4I_+T+2C_+I_+T^++2T+2ST$. Most bandings were in agreement with the standard ones of *S. cereale* L. except for the bandings from the nearly terminal of long arms of 2R and 4R and 7R without middle bandings.

Key words: Austria rye (*Secale cereale* L.); chromosome karyotype; C-banding; band analysis

黑麦属(*Secale*)属于禾本科大麦族小麦亚族,染色体数 $2n=2x=14$,染色体组型为 RR,是最早、最广,也是最成功地用于改良小麦的近缘植物之一^[1-2]。它包括多年生二倍体野生种山地黑麦(*S. montanum* Grossh.)、安那脱利亚黑麦(*S. anatolicum* Boiss.)、非洲黑麦(*S. africanum* Sapf.)及一年生野生和栽培黑麦种瓦维洛夫黑麦(*S. vavilovii* Grossh.)、森林黑麦(*S. silvestre* Host.)和栽培黑麦(*S. cereale* L.)。生产上利用较多、经济价值较高的是一年生栽培黑麦。

黑麦可作为牧草,如冬牧 70 黑麦是各种家畜的饲料佳品^[3]。黑麦具有许多在小麦育种中有重要价值的基因,如抗锈病和抗白粉病基因,抗逆性(耐寒、耐旱、耐瘠薄、耐盐碱、耐干热风等)以及大穗、多穗等优良性状^[4-5]。目前,利用黑麦已经育成许多小麦-黑麦双二倍体(如六倍体小黑麦中新 83Q、中新 1881、OH1621 等)、异附加系(如中国春-帝国黑麦附加系以及中国春-澳大利亚南部黑麦附加系)、异代换系(如中国春-帝国黑麦代换系等)和易位系(如 1RS/1BL 易位系高加索、无芒 2 号、阿夫乐尔、山前

* [收稿日期] 2005-12-22

[基金项目] 国家科技攻关项目(2004BA525B03); 陕西省科技攻关项目(2005K03-G1-01)

[作者简介] 吴金华(1978-),女,山西朔州人,在读博士,主要从事染色体工程与农业生物技术研究。

[通讯作者] 吉万全(1963-),男,陕西合阳人,教授,博士生导师,主要从事小麦遗传育种研究。

麦等)。黑麦与小麦杂交育成的小黑麦已广泛用于粮食、饲料、啤酒新原料及酒精原料^[6]。

核型分析与染色体 C-分带可用于异源染色体鉴定、物种进化以及亲缘关系研究。陈瑞阳等^[7]认为,黑麦染色体的末端带、着丝点带和副缢痕带比较稳定,品种间和群体间的异染色质呈多态现象。因此,核型分析与 C-分带是一种很好的鉴定黑麦染色体和基因组的有效手段。

本研究通过染色体核型分析与 Giem sa C-分带对栽培黑麦品种奥地利黑麦进行研究,以期了解奥地利黑麦的遗传组成,为其在小麦遗传育种中的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

奥地利黑麦,由西北农林科技大学农学院小麦所生物室提供。

1.2 方法

1.2.1 细胞学观察 3月中下旬于田间取奥地利黑麦白色幼嫩根尖,冰冻 20~24 h,卡诺液(冰醋酸 95%乙醇体积比 1:3)固定 24 h,1%醋酸洋红染色,45%醋酸压片,显微镜下观察体细胞染色体并统计体细胞染色体数。4月上旬于田间取奥地利黑麦幼穗,卡诺液(冰醋酸 95%乙醇体积比 1:3)固定 24 h,1%醋酸洋红压片,显微镜下观察花粉母细胞减数分裂期染色体构型并照相。

1.2.2 核型分析 将奥地利黑麦种子于 22~25 恒温箱发芽,根长至 1.0~1.5 cm 时剪取根尖,放入冰壶冷冻约 18~20 h,卡诺液固定约 24 h,1%醋酸洋红染色,45%醋酸压片,镜检,选择分裂相好的细胞用于核型分析。核型分析参考李懋学等^[8]建议的统一标准。染色体相对长度及臂比计算方法如下:

染色体相对长度 = (染色体长度/染色体组总长度) × 100; 臂比 = 长臂/短臂。

着丝点位置的确定根据 1984 年第一届全国植物染色体学术讨论会通过,并于 1985 年正式公布的两点四区命名法^[9]。据此,着丝点位置共 6 种,即正中部着丝点(M)、中部着丝点区(m)、亚中部着丝点区(sm)、亚端部着丝点区(st)、端部着丝点区(t)和端部着丝点(T)。

1.2.3 C-分带 将分裂相好的细胞制片于-70 冷冻 3~5 min,45~50 45%醋酸中 5 min 饱和 Ba(OH)₂(5%)溶液 8~9 min 45~50 2 × SSC 中约 1 h 室温染色至适度 显微镜观察、照相。带型分析参考 Schlegel 等^[10]发表的黑麦标准 C-分带带纹模式。

C-带根据其分布位置主要有 5 种类型,即着丝点带(Centromeric band)、中间带(Intercalary band)、末端带(Telomere band)、次缢痕带(Secondary constriction band)和随体带(Satellite band)。这 5 种带纹分别以英文大写字母表示为 C, I, T, N 和 S。带型公式具体表示方法为:如果带只分布在短臂上则在字母的右上角划“+”号;如只分布在长臂上则在字母右下角划“+”号;如长短臂都有带则不加“+”号。

2 结果与分析

2.1 奥地利黑麦的细胞学行为

在所观察的 31 个细胞中奥地利黑麦的染色体数均为 14 条,其中有 1 对随体染色体(图 1),未发现超数染色体的现象。对奥地利黑麦植株的 37 个花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对情况进行观察发现,花粉母细胞中 14 条染色体均联会成 7 个二价体(图 2)。

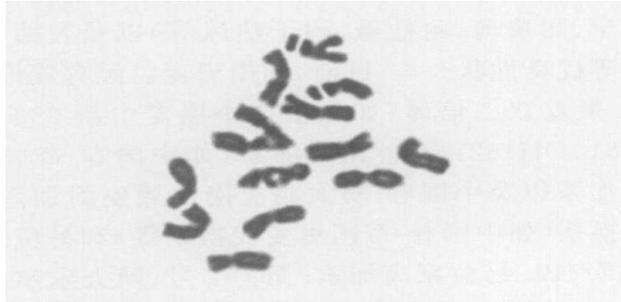


图 1 奥地利黑麦根尖体细胞染色体(2n=14)
Fig 1 Somatic chromosome of
Austria rye (2n=14)



图 2 奥地利黑麦花粉母细胞减数
分裂中期 I 染色体(2n=7II)
Fig 2 PMC meiotic chromosomes at M I
of "Austria rye" (2n=7II)

2.2 奥地利黑麦染色体核型分析

奥地利黑麦染色体的核型分析统计参数见表 1。由表 1 可见, 所有黑麦染色体可分为 3 组, 一组为带有随体的染色体 (SA T chromosome) (No. 1), 一组为中部着丝点区 (median centromere, m) 染色体 (No. 3, 4, 5, 6, 7), 还有一组为亚中部着丝点区染色体 (submedian centromere, sm) (No. 2), 其核型公式为 $2n = 2x = 14 = 10m + 2sm + 2m (SAT)$ 。

表 1 奥地利黑麦染色体核型分析参数

Table 1 Parameters of karyotype of "Austria rye" chromosome

染色体编号 Chromosome No.	相对长度 (RL)	臂比 (AR)	染色体类型 Karyotype
1	15.35	1.28	m*
2	14.88	2.05	sm
3	14.65	1.03	m
4	14.19	1.07	m
5	13.72	1.27	m
6	13.02	1.55	m
7	14.19	1.03	m

注: * 表示包括随体长度。

Note: * Indicates including the length of satellite

由表 1 的奥地利黑麦染色体核型分析统计参数可以得出奥地利黑麦染色体核型模式图 (图 3)。

2.3 奥地利黑麦染色体 C-分带

奥地利黑麦染色体 C-分带见图 4, 根据黑麦染色体 C-分带可将奥地利黑麦的 14 条 (7 对) 染色体区分开来 (图 5)。由图 5 可以看出, 1R 为随体染色体, 随体和端部都有明显的端带, 这与黑麦标准 C-分带中的 1R 带型相同。2R 短臂上端带明显大于长臂上的端带, 且长臂上靠近着丝点处及近端部约 1/4 处都有带; 而黑麦标准 C-分带近端部 1/4 处无带。3R 长短臂接近相等, 两端都有带且短臂上近着丝点处有带, 与黑麦标准 C-分带的结果一致。4R 短臂上的带较长臂上的带大, 且靠近长臂近端部约 1/4 处有带; 黑麦标准 C-分带中长臂上无近端带。5R 长臂上无端带只有近端带, 短臂上有明显的端带, 长臂上近着丝点处有带, 此结果与黑麦标准带型相符。6R 有端带, 而且 6R 长臂上还有丰富的中间带 (至少可见 2 条), 与黑麦标准带型相符。7R 是近中部着丝点染色体, 7R 长短臂都有端带, 长臂上的带比短臂上的带大而明显, 且 7R 无中间带。

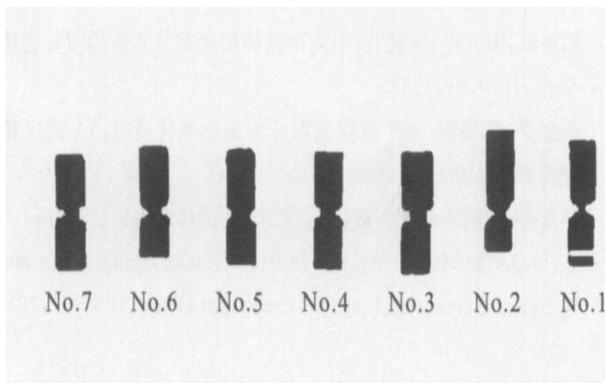


图 3 奥地利黑麦体细胞染色体核型模式图

Fig 3 Configuration of the somatic "Austria rye"



图 4 奥地利黑麦染色体 C-分带 (2n= 14)

Fig 4 Giesma C-banding of Austria rye chromosome in RTC (2n= 14)

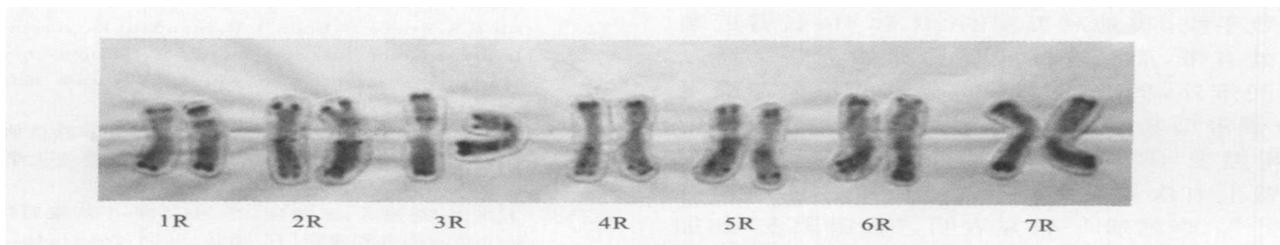


图 5 奥地利黑麦 Giesma C-分带核型

Fig 5 Giesma C-banded karyotype of Austria rye chromosomes

奥地利黑麦与黑麦标准 C-分带主要区别在于奥地利黑麦 2R 和 4R 长臂近端部约 1/4 处有带, 且

7R 无中间带, 据此可得到奥地利黑麦染色体标准 C-分带的带纹模式, 见图 6。

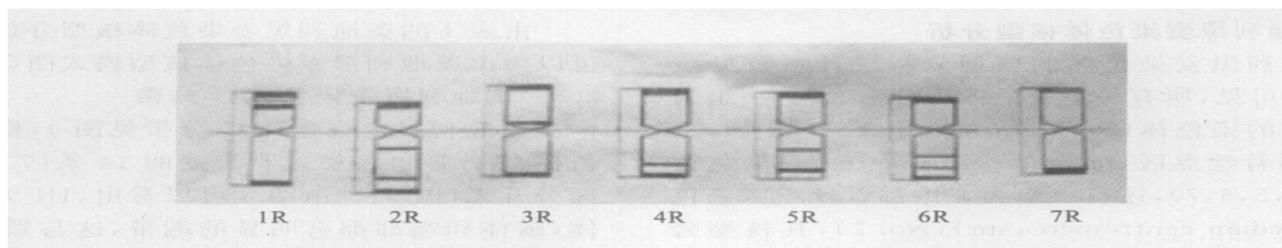


图 6 奥地利黑麦染色体标准 C-分带带纹模式图

Fig 6 Standard C-banding pattern of "Austria rye" chromosome

根据奥地利黑麦带纹模式图得到奥地利黑麦 C-带带型公式为: $2n = 14 = 2C_+ 1_+ T + 2C^+ T + 41_+ T + 2C_+ 1_+ T^+ + 2T + 2ST$ 。本研究中不存在着丝点带, 只有长臂或短臂的近着丝点带, 而李贵全^[9]研究的黑麦带型公式中具有着丝点带, 这主要是由于不同品种遗传背景的差异造成的。

3 讨论

C-显带技术最早于 1974 年用于鉴定小麦染色体, 现已成为鉴定小麦异源染色体体系的主要方法之一^[11-13]。大多数小麦亲缘种经过 C-分带后能产生与小麦明显不同的特征带^[14]。据此可以确定普通小麦中的外源染色体类型及外源目的基因的可能来源。

C-带显示着丝粒区域和端着丝粒染色体端部的异染色质, 它由高度重复序列的 DNA 组成, 不含结构基因, 变化较大, 与核型进化密切相关。

奥地利黑麦 C-分带及核型分析在很大程度上有助于进一步了解其遗传特性, 并为其向小麦中转移提供了重要的鉴定指标。李兴锋等^[15]研究表明, 奥地利黑麦对小麦白粉病表现出良好的抗性。

本研究结果表明, 奥地利黑麦同其他黑麦一样也具有丰富且稳定的端带, 明显区别于普通小麦丰富的中间带, 这成为普通小麦中奥地利黑麦染色体鉴定的有效手段。奥地利黑麦的 2R 和 4R 长臂近端部约 1/4 处有带, 而黑麦标准 C-分带中无带。所以除一些中间带外, 奥地利黑麦 C-分带的带型与黑麦标准 C-分带带型基本相符。与荆州黑麦 C-分带核型相比, 荆州黑麦 4R 染色体长臂无末端带, 1R 短臂及 6R 长臂上有次末端带, 1R 和 3R 染色体还具有着丝点带^[16]。李国珍^[17]研究表明, “甘肃黑麦”和加拿大黑麦“Kustro”在带型及染色体组型上无显著差异, 其全部染色体都具有着丝点带。黑麦的这些区别, 即异染色质的多态现象, 主要表现在不同品种不同品系甚至同源染色体之间, 这可能是由于遗传

背景不同引起的。

[参考文献]

- [1] Graybosch R A. Uneasy unions: quality effects of rye chromatin transfer to wheat[J]. *Journal of Cereal Science*, 2001, 33: 3-16
- [2] 周 阳, 何中虎, 张改生, 等. 1BL/1RS 易位系在我国小麦育种中的应用[J]. *作物学报*, 2004, 30(6): 531-535
- [3] 朱练峰, 江海东, 周 琴, 等. 不同前作对冬牧 70 黑麦产量和品质的影响[J]. *草业科学*, 2005, 22(10): 51-54
- [4] 张怀渝, 任正隆. 黑麦染色质诱导小麦群体数量性状变异及特殊株系的选育[J]. *四川农业大学学报*, 2001, 19(4): 415-418
- [5] 吴金华, 吉万全, 李凤珍. 黑麦在小麦改良中的应用研究进展[J]. *麦类作物学报*, 2005, 25(1): 115-119
- [6] 小黑麦 (triticale) [EB/OL]. [2006-11-20]. <http://www.chinacrops.org/18crops/08.htm>.
- [7] 陈瑞阳, 宋文芹, 徐悦凡. 黑麦染色体的带型及其应用[J]. *遗传学报*, 1979, 6(1): 35
- [8] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化研究[J]. *武汉植物学研究*, 1985, 3(4): 297-302
- [9] 李贵全. *细胞学研究基础*[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001.
- [10] Schlegel R, Melz G, Mettin D. Rye cytology, cytogenetics and genetics—Current status[J]. *Theor Appl Genet*, 1986, 72: 721-734
- [11] Friebe B, Gill B S. C-bang polymorphism and structural rearrangements detected in common wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Euphytica*, 1994, 78: 1-5
- [12] Endo T R, Gill B S. The deletion stocks of common wheat[J]. *Hered*, 1996, 87: 295-307.
- [13] Gill B S, Friebe B, Endo T R. Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Genome*, 1991, 34: 830-839
- [14] 陈佩度, 刘大钧, Gill B S. 染色体分带和非整倍体技术在小麦细胞遗传研究中的综合运用[J]. *南京农业大学学报*, 1986, 9(4): 1-8
- [15] 李兴锋, 刘树兵, 宋振巧, 等. 小黑麦-小偃麦后代 1RS·1BL 易位系的选育和鉴定[J]. *遗传*, 2004, 26(4): 481-485
- [16] 蔡习文. 荆州黑麦的染色体分析及 C 显带核型[J]. *华中农业大学学报*, 1994, 13(1): 90-92
- [17] 李国珍. 黑麦染色体组型分析[J]. *作物学报*, 1982, 8(2): 119-124