普通小麦-华山新麦草二体附加植株减数分裂中期染色体行为及形态学分析

武 军[1],赵继新[1],陈新宏[1],刘淑会[1],杨群慧[1],
刘文献[2,3],魏芳琴[1],董 剑[1],朱建楚[1]

(1 西北农林科技大学 农学院,陕西 杨凌 712100;2 中国科学院植物研究所光合作用与环境分子生理学重点实验室,北京 100093;
3 中国科学院研究生院,北京 100059)

[摘 要] 为了进一步建立一套完整的普通小麦-华山新麦草异附加系,对普通小麦-华山新麦草衍生后代中,染色体数目 $2n=44$ 的 39 个附加 2 条华山新麦草染色体植株的花粉母细胞减数分裂中期 Ⅰ(PMC M Ⅰ)染色体行为进行了 GISH 检测,获得了 2 条华山新麦草染色体能够配对的 18 个小麦-华山新麦草二体附加植株;并对这 18 个二体附加植株进行形态学比较,将其划分为 7 类。说明这 7 类二体附加植株所附加的华山新麦草染色体是不同的,初步推测在这 7 类二体附加植株附加的华山新麦草染色体应是华山新麦草 7 个同源群的不同染色体。

[关键词] 普通小麦;华山新麦草;染色体行为;GISH;形态学
[中图分类号] S512.103.51 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2007)09-0045-04

PMC M I chromosome behavior and morphology analysis on disomic additional plants derived from wheat- Psathyrostachys huashanica

WU Jun[1],ZHAO Ji-xin[1],CHEN Xin-hong[1],LIU Shu-hui[1],YANG Qun-hui[1],
LIU Wen-xian[2,3],WEI Fang-qin[1],DONG Jian[1],ZHU Jian-chu[1]

(1 *College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*; 2 *Reseach Center for Molecular and Developmental Biology, Key Laboratory of Photosynthesis and Environmental Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100093, *China*; 3 *China Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*)

Abstract: In order to establish a set of common wheat-*Psathyrostachys huashanica* alien addition lines, the GISH analysis of the 39 plants ($2n=44$) derived from wheat-*P. huashanica* were carried out. The results showed that eighteen wheat-*P. huashanica* alien addition lines, in which two *P. huashanica* chromosome were paired, have been obtained. These 18 additional plants were compared, and divided into seven categories. These results indicated that seven additional categories of plants attached to the *P. huashanica* chromosome were different. Initial speculation in this category added seven additional plants *P. huashanica* chromosome was the different chromosome of seven homology group.

Key words: common wheat (*T. aestivum* L.); *Psathyrostachys huashanica*; chromosome behavior; GISH; morphology analysis

---

[收稿日期] 2007-03-05
[基金项目] 西北农林科技大学科研专项基金项目(01140506);教育部新世纪人材支持计划项目(NCET-06-0862);陕西省科技攻关项目(K01-G1-01)
[作者简介] 武 军(1970-),男,陕西南郑人,助现研究员,博士,主要从事小麦远缘杂交育种研究。
[通讯作者] 陈新宏(1966-),男,陕西周至人,副研究员,博士后,主要从事小麦远缘杂交育种研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

小麦近缘植物长期生活在自然环境中,经受了各种恶劣环境条件的考验,具有大量普通小麦所不具备或在人工栽培条件下已经丧失的优异基因和一些特有性状[1-2]。将小麦近缘植物中的优异基因引入普通小麦,是增加小麦遗传多样性和改良小麦品种的重要途径,并已取得了巨大成功。如黑麦、偃麦草、簇毛麦等小麦近缘植物优异基因的引入,使小麦品种改良取得了革命性的进展。虽然小麦近缘植物存在着极为丰富的遗传多样性和可供改良小麦的优异基因,但是目前导入普通小麦并加以利用的近缘植物优异基因还是很小的一部分。因而,加强小麦与其近缘植物的杂交、鉴定和利用研究,必将为小麦生产和育种带来更大的进展。

华山新麦草(*Psathyrostachys huashanica* Keng,2*n* = 14,NN)是禾本科旱熟禾亚科小麦族新麦草属多年生草本植物,是我国华山特有种,其具有耐旱、抗寒、耐瘠、早熟、抗病等多种优异的生物学特性[3-6]。目前,对华山新麦草的形态学及其与普通小麦杂交后代细胞遗传学特征已有一些研究[7-10],但均为个别材料研究,并未从建立整套小麦-华山新麦草出发进行研究。

外源基因的有效转移与利用,在很大程度上依赖于对导入小麦背景中的外源染色体或染色体片段的准确鉴定[11]。当前,外源遗传物质的鉴定主要有 5 种方法,即形态标记鉴定、细胞学鉴定(包括染色体计数、核型分析和分带带型分析等)、生化标记鉴定(包括同工酶和蛋白质分析等)、原位杂交和分子标记鉴定[12]。为了建立一套普通小麦-华山新麦草的异附加系,本课题组曾利用普通小麦-华山新麦草 BC1F2 到 BC1F5 的 315 个植株,进行了细胞学检测和根尖细胞染色体的染色体组原位杂交(GISH)分析,获得了染色体数目 2*n* = 44 的 39 个附加 2 条华山新麦草染色体植株。

本研究对普通小麦-华山新麦草衍生后代中染色体数目2*n* = 44 的 39 个附加 2 条华山新麦草染色体植株的花粉母细胞减数分裂中期染色体行为进行了 GISH 检测,并对 2 条附加染色体能够配对的二体附加植株进行了形态学比较,以期为进一步建立一套完整的小麦-华山新麦草异附加系奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材 料

普通小麦-华山新麦草衍生后代染色体数目 2*n* = 44 的 39 个二体附加植株,由原中国科学院西北植物研究所提供。

1.2 方 法

1.2.1 染色体组原位杂交(GISH) (1)幼穗处理:取幼穗用卡诺氏固定液(*V*(无水乙醇):*V*(冰醋酸):*V*(氯仿) = 6:3:1)固定。在 4 ℃冰箱保存备用。(2)染色体制片:将固定好的幼穗用体积分数 45 %醋酸压片,液氮冷冻后揭片备用。(3)探针标记:用 Dig-Nick-Translation Mix (Roche, Germany) 试剂盒标记基因组 DNA,详细标记方法见试剂盒产品说明书(20 μL 体系中,Dig-Nick-Translation Mix 4 μL,基因组 DNA 1 mg,加 ddH_2O 至 20 μL)。探针标记完毕后加入 1.0 μL 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0),65 ℃水浴中 10 min,终止反应。(4)原位杂交(GISH):参照 Han 等[13]的方法。所用探针为经缺口转移法标记的华山新麦草基因组 DNA,探针与封阻 DNA 用量比为 1:50。探针杂交信号用荧光素(FITC)检测。经 PI 复染后,在 450～490 nm 波长下观察,杂交信号呈黄绿色,小麦染色体呈红棕色。用 Nikon Eclipse E600 (日本)显微镜在 Spot 系统下照相。

1.2.2 形态学比较 对两条附加染色体能够配对的二体附加植株进行株高、芒长、穗型、旗叶及其他性状的比较归类。

2 结果与分析

2.1 普通小麦-华山新麦草衍生后代中附加 2 条华山新麦草染色体植株的 GISH 检测

对普通小麦-华山新麦草衍生后代中染色体数目 2*n* = 44 的 39 个附加 2 条华山新麦草染色体植株的花粉母细胞减数分裂中期 Ⅰ(PMC M Ⅰ)染色体行为进行 GISH 检测,结果表明,18 个植株的两条华山新麦草染色体能够配对(图 1A),占总株数的 46.2 %;其余 21 个植株的 2 条华山新麦草染色体不能配对(图 1B)。说明 2 条华山新麦草染色体能够配对的 18 个植株两条外源染色体是同源的,其余 21 个植株的 2 条华山新麦草染色体是非同源的。

2.2 外源染色体能够配对的二体附加植株的表型分析

在附加 2 条华山新麦草染色体植株花粉母细胞减数分裂中期 Ⅰ染色体行为 GISH 检测的基础上,对两条华山新麦草染色体能够配对的 18 个二体附加植株进行了形态学比较,可以将这 18 个植株划分为 7 类(图 2)。表 1 是这 7 类植株在表现型上的主要差异(表 1 类型的序号与图 2 的植株类型序号是

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

一一对应的)。由表 1 和图 2 可以看出,不同类型植株间的差异非常明显,主要表现在:第 1 类植株矮小,颖长大,子粒瘪,结实性差;第 2 类植株无芒,穗棒状;第 3 类植株旗叶扭曲,茎秆细弱;第 4 类植株颖壳浅褐,穗细;第 5 类植株穗大,茎秆粗壮,分蘖成穗多;第 6 类植株小穗排列松散,旗叶宽长,粒色发黄;第 7 类植株顶芒,籽粒浅红。

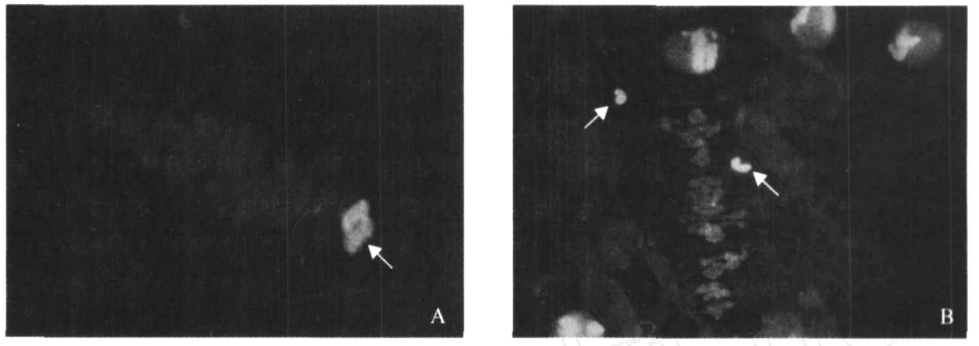

图 1　普通小麦-华山新麦草衍生后代中附加 2 条华山新麦草染色体植株 PMC M Ⅰ染色体行为的 GISH 分析

A. 两条华山新麦草染色体能够配对;B. 2 条华山新麦草染色体不能配对;箭头所指为华山新麦草染色体

Fig. 1　GISH analysis on PMC M Ⅰ chromosome behavior of disomic additional plants derived from wheat- *Psathyrostachys huashanica*.

A. Two *P. huashanica* chromosome is pairing; B. No pairing; Arrows indicate the *P. huashanica* chromosome

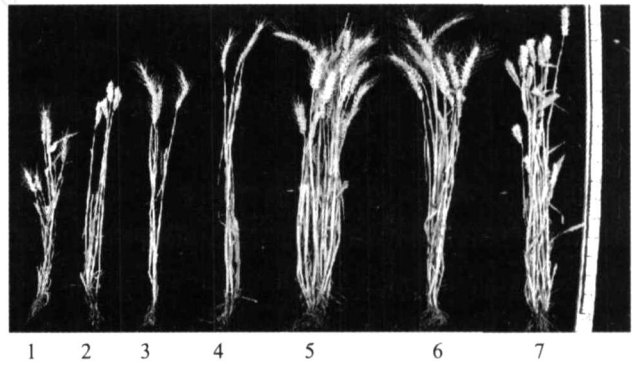

图 2　普通小麦-华山新麦草二体附加植株的单株表现

Fig. 2　Performance on seven types of the additional plants derived from wheat- *Psathyrostachys huashanica*

表 1　外源染色体能够配对的普通小麦-华山新麦草二体附加植株在表型上的差异

Table 1　Difference in phenotypes of the additional plants derived from wheat- *Psathyrostachys huashanica*

植株类型 Plant types	株数 Plant number	主要特征 Major character				
		株高/cm Plant height	芒长/cm Awn length	穗型 Spike morphology	旗叶 Flag leaf	其他 Other
1	5	50～55	2.5～3.0	纺锤形 Spindle	宽短 Broad & short	子粒瘪、结实性差 Seed shrunken, fecundity poor
2	2	58～60	0	棒状 Club	窄长 Narrow & long	-
3	3	65～70	2.0～2.5	纺锤形 Spindle	扭曲 Tortility	茎秆细弱 Stem slim & fragile
4	3	78～82	1.5～2.0	纺锤形 Spindle	窄长 Narrow & long	颖壳浅褐、穗细 Glume sandy beige, spike thin
5	3	80～83	1.5～2.0	长方形 Rectangle	宽短 Broad & short	穗大、茎秆粗壮 Super-spike, stem thick & strong
6	1	81	2.0～2.5	纺锤形 Spindle	宽长 Broad & long	小穗排列松散 Spikelet relax
7	1	86	0.5	长方形 Sectangle	宽短 Broad & short	籽粒浅红 Seed shallow red

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

从理论上讲,由于本研究中的华山新麦草为二倍体,同时小麦染色体来源相同,因而单株间的差异应该是由所附加的华山新麦草染色体差异引起的。所以,可初步推测在这 7 类二体附加植株中,所附加的华山新麦草染色体应是华山新麦草 7 个同源群的不同染色体。

3 讨 论

小麦异附加系是利用染色体工程方法,将携带外源基因的染色体,转移到小麦遗传背景中而培育的一种非整倍体材料,其中二体异附加系是研究和利用价值最高的一种,它是进一步创造异代换系和易位系的重要桥梁材料,是探讨小麦与其近缘植物亲缘关系、进行基因定位等遗传研究的基础材料,在小麦遗传改良和遗传研究中具有重要的利用价值[12]。在普通小麦-华山新麦草附加系的研究方面,马翎健等[9]在普通小麦与华山新麦草杂交后代 H9802-6 中检测出一个异附加系;赵继新等[10]在普通小麦-华山新麦草衍生后代中,检测出 H9015-17-1-9 和 H9017-14-16-5 2 个异附加系,并对其进行了分子细胞遗传学分析。本研究获得的 7 类普通小麦-华山新麦草二体附加植株,为建立一套普通小麦-华山新麦草异附加系奠定了基础,为进一步利用华山新麦草中的优异基因对普通小麦进行改良具有实践意义。

在外源物质鉴定方面,由于基因组原位杂交(GISH)可以明确地识别异源染色体,与其他外源检测方法相比具有非常直观的特性,因而在小麦与其近缘种属杂交后代的外源检测中,常用 GISH 技术来鉴定外源染色质[13-14]。同时,利用原位杂交能够准确地观察减数分裂中期外源染色体行为[15]。本研究利用 GISH 技术从普通小麦-华山新麦草衍生后代中染色体数目 $2n = 44$ 的 39 个附加 2 条华山新麦草染色体植株中,筛选出两条华山新麦草染色体能够配对的 18 个植株,并通过形态学比较将其划分为 7 类,因而初步推测,在这 7 类二体附加植株所附加的华山新麦草染色体应是华山新麦草 7 个同源群的不同染色体,但对于这 7 类二体附加植株所附加的华山新麦草染色体与小麦染色体的部分同源群关系,尚需要通过生化标记和分子标记等技术进行确定。

[参考文献]

[1] Dong Y S, Zhou R H, Xu S J, et al. Desirable characteristics in perennial triticeae collected in China for wheat improvement [J]. Hereditas, 1992, 116: 175-178.

[2] Dewey D R. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial triticeae [C]// Gustafeson J P. Gene manipulation in plant improvement. New York: Plenum Press, 1984: 209-279.

[3] Sun G L, Yen C. Intermeiocyte connections and cytomixis intergeneric hybrids Ⅲ Roegneriaisukusheinsis ×Psathyrostachys huashanica[J]. Wheat Information Service, 1994, 79: 24-27.

[4] 井金学,傅 杰,袁红旭,等. 三个小麦野生近缘种抗条锈性传递的初步研究[J]. 植物病理学报, 1999, 29(2): 147-150.

[5] 王美南,商鸿生. 华山新麦草对小麦全蚀病菌的抗病性研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2000, 28(6): 69-71.

[6] 曹张军,王献平,王美南,等. 小麦背景中来自华山新麦草的抗条锈病基因的遗传学分析和分子标记[J]. 遗传学报, 2005, 32(7): 738-743.

[7] 傅 杰,王美南,赵继新,等. 抗全蚀病小麦-华山新麦草中间材料 H8911 的细胞遗传学研究与利用[J]. 西北植物学报, 2003, 23(12): 2157-2162.

[8] 侯文胜. 普通小麦-华山新麦草异代换系的选育及细胞遗传学研究[J]. 西北植物学报, 1997, 17(3): 368-373.

[9] 马翎健,姚路畅,胡银岗,等. 普通小麦与华山新麦草、簇毛麦杂交后代染色体形态观察[J]. 长江大学学报:自然科学版, 2006, 3(2): 173-175.

[10] 赵继新,陈新宏,王小利,等. 普通小麦-华山新麦草异附加系的分子细胞遗传学研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2004, 32(11): 105-108.

[11] Zhang X Y. Production and utilization of wheat alien translocation lines[J]. Hereditas, 1991, 13(5): 39-44.

[12] 钟冠昌,穆素梅,张正斌,等. 麦类远缘杂交[M]. 北京:科学出版社, 2002.

[13] Han F P, Liu B, Fedak Z, et al. Genomic constitution and variation in partial amphiploids of wheat-Thinopyrum intermedium as revealed by GISH, multicolor GISH and seed storage protein analysis[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 1070-1076.

[14] Jia J Z, Zhou R H. Identifying the alien chromosomes in wheat-Leymus multicaulis derivatives using GISH and RFLP techniques [J]. Euphytica, 2002, 127(2): 201-207.

[15] Caudrado A, Vitellozzi F, Jouve N, et al. Fluorescence in situ hybridization with multiple repeated DNA probes applied to the wheat-rye chromosome pairing [J]. Theor Appl Genet, 1997, 94: 347-355.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net