

小麦与高冰草不对称体细胞杂种 F₅ 代部分株系的根尖细胞染色体分析

陈穗云 罗振 权太勇 陈永喆 夏光敏*

(山东大学生命科学学院, 山东 济南 250100)

摘要: 将普通小麦“济南 177”(*Triticum aestivum* cv. Jinan 177)原生质体(受体)和经紫外线照射的高冰草(*Agropyron elongatum*)原生质体(供体)用 PEG(聚乙二醇, polyethylene glycol)法诱导融合, 获得外形偏向小麦的不对称体细胞杂种及后代。经过田间繁育, 现已到 F₅ 代。对来源于同一个体细胞杂种克隆的不同株系(II-2, 8-1, II-I-8)的 F₅ 代的根尖细胞染色体进行核型分析, 并与其亲本比较, 结果表明, 杂种株系染色体的形态、数目在遗传上均趋于稳定。各杂种株系的染色体与亲本小麦“济南 177”之间有多处显著的不同, 杂种株系之间也存在差异, 推测高冰草的染色体小片段可能进入了受体小麦的染色体中。

关键词: 小麦; 高冰草; 体细胞杂种; 核型

中图分类号: Q943

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2003)03-0263-04

Chromosome of Root Tip Cells in F₅ Plants Derived from Asymmetric Somatic Hybrids between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum*

CHEN Sui-yun LUO Zhen QUAN Tai-yong CHEN Yong-zhe XIA Guang-min*

(School of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: Asymmetric somatic hybrids having wheat appearance were obtained from protoplast fusion of *Triticum aestivum* L. cv. Jinan 177 (as acceptor) and UV irradiated *Agropyron elongatum* (as donor) using PEG (polyethylene glycol) method. The karyotype analysis was made in root tip of F₅ of different lines (II-2, 8-1, II-I-8) from a somatic hybrid, and was compared with the parent wheat cultivar Jinan 177. The results indicated that the hybrids were basically stable in chromosome morphology and number. However, some differences in chromosome morphology were observed between the hybrids and the parent, as well as among the three hybrids, suggesting that small chromosome fragments from *Agropyron elongatum* were integrated into the chromosomes of the acceptor (wheat).

Key words: Wheat; *Agropyron elongatum*; Somatic hybrid; Karyotype

利用体细胞杂交是作物育种的一种新方法, 已取得很大进展^[1-4], 将普通小麦“济南 177”(*Triticum aestivum* L. cv. Jinan 177)原生质体与经紫外线照射的高冰草(*Agropyron elongatum*)原生质体由 PEG(聚乙二醇, polyethylene glycol)介导融合, 获得了世界上首例高度不对称的小麦属间可育体细胞杂种^[3,4], 经过几年的繁殖已到 F₅ 代。F₂-F₄ 代杂种表现出几种主要类型, 其中类型 I 为高秆大穗, 松散型; 类型

II 为直立矮秆, 多穗型。在杂种后代中表现出各种特性, 如矮秆、高秆、抗盐、抗病、优质等, 亟需对它们的遗传基础进行研究。本实验选取来源于同一个体细胞杂种克隆的 3 个分离后代株系 II-2(大穗, 株高 75 cm, 作为耐盐高产的品系已进行了两年的多点区试)、8-1(中穗, 株高 75 cm)和 II-I-8(多穗, 株高 50 cm、高蛋白含量, 具有新的麦谷蛋白亚基组合^[5], 并已克隆了该基因(待发表))的 F₅ 代的根尖细

收稿日期: 2003-05-21 接受日期: 2003-06-23

基金项目: 国家 863 项目(001AA241032); 国家自然科学基金(30070397)资助

* 通讯作者 Corresponding author

胞进行染色体的观察分析,为体细胞杂交育种提供理论依据。

1 材料和方法

材料 普通小麦“济南 177”(Triticum aestivum cv. Jinan 177)与高冰草(Agropyron elongatum)杂种 F₃ 代的 3 个株系(II-2, 8-1, II-I-8)的种子。

方法 种子萌发后低温同步化,经前低渗,酶解,后低渗,卡宝品红染色^[6],压片,NIKON ECLIPSE E600 显微镜镜检,数码相机拍照,计数(每种材料统计 500 个以上的分裂相)。选取分散良好的分裂相(每种材料 5 个细胞),测量,组型^[8-10]。数据用 SPSS 软件进行方差分析($F_{3,36,0.01}=4.38$)。

2 实验结果

2.1 根尖染色体数目分析

杂种 F₃ 代的根尖染色体数目见表 1,3 种不同株系的根尖细胞染色体平均为 40 条左右,大部分细胞的染色体数目都在 40 条以上。其中,II-I-8, II-2 染色体数目主要分布在 40-42 条之间,II-I-8 中 40-42 条的占 78.2%,II-2 中占 75.6%。8-1 染色体数目分布较分散,40-42 条之间的仅占 65.03%。

2.2 根尖染色体核型分析

各杂种的染色体核型与亲本小麦类似(图 1-4)。各杂种中染色体的臂比也与亲本基本相似,对各株系 F₃ 各细胞分裂相染色体的相对长度和臂比测量后得到的平均数见表 2,亲本小麦“济南 177”中,

表 1 杂种 F₃ 代根尖染色体数目分析

Table 1 Chromosome numbers in root tip of F₃ hybrid lines

株系 Lines	观察细胞数 No. of cells observed	平均染色体数 Mean chromosome no.	不同染色体数目(2n)的细胞数 No. of cells with different chromosome number											
			38		39		40		41		42		43	
			No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
II-I-8	605	40.76	58	9.6%	67	11.1%	102	16.9%	121	20%	250	41.3%	7	1.1%
8-1	504	39.87	82	6.3%	72	14.5%	104	20.6%	85	16.9%	142	28.2%	20	3.97%
II-2	542	40.82	39	7.2%	87	16.1%	95	17.5%	41	7.56%	274	50.6%	6	1.1%

表 2 各杂种和亲本的核型分析

Table 2 Karyotype analysis of parent wheat and hybrid lines

染色体 Chromosomes	济南 177 (亲本) Jinan 177 (parent)		II-2		II-I-8		8-1		F 值 F value	
	RL	AR	RL	AR	RL	AR	RL	AR	RL	AR
1A	4.3	1.82	4.22	1.84	4.12	1.45	4.09	1.77	0.97	4.38*
2A	5.82	1.17	5.84	1.20	5.68	1.19	5.68	1.32	0.45	2.98
3A	4.48	1.21	4.35	1.18	4.49	1.10	4.59	1.15	2.37	1.93
4A	5.12	1.07	5.08	1.14	4.95	1.18	5.00	1.17	1.56	2.83
5A	5.37	1.62	5.26	1.78	5.57	1.52	5.39	1.60	2.05	5.40*
6A	4.09	1.18	3.88	1.21	4.01	1.13	4.11	1.22	1.26	1.70
7A	5.49	1.34	5.29	1.45	5.16	1.27	5.44	1.24	1.56	7.64*
1B	5.38	1.42	5.35	1.43	5.15	1.36	5.05	1.41	3.79	1.00
2B	4.78	1.43	4.58	1.53	4.58	1.40	4.67	1.52	2.70	0.65
3B	6.09	1.43	6.03	1.39	6.00	1.45	6.28	1.29	1.31	3.94
4B	4.7	1.87	4.65	1.97	4.74	2.10	4.52	2.05	1.80	1.325
5B	5.20	2.14	5.66	1.90	5.51	1.90	5.71	1.72	4.84*	3.85
6B	5.50	1.08	5.69	1.15	5.72	1.59	5.65	1.05	0.63	16.53*
7B	4.66	1.24	4.84	1.23	4.88	1.28	4.76	1.22	2.50	0.61
1D	3.69	1.61	3.39	1.63	3.45	1.75	3.36	1.83	2.44	3.66
2D	4.98	1.61	4.91	1.59	4.97	1.65	4.72	1.56	1.10	0.50
3D	4.89	1.52	4.44	1.53	4.20	1.45	4.41	1.53	1.82	0.37
4D	4.39	1.79	4.13	1.94	3.94	1.72	4.06	1.86	0.56	2.06
5D	3.85	1.83	3.79	1.97	3.93	1.95	3.79	2.06	0.55	3.47
6D	3.70	1.08	3.41	1.13	3.27	1.12	3.35	1.29	4.51*	4.00
7D	5.3	1.22	5.08	1.27	5.18	1.23	5.09	1.29	2.38	1.04
核型公式 Karyotype formula	2n = 6x = 42 = 32m (4sat) + 10sm		2n = 6x = 42 = 30m (4sat) + 12sm		2n = 6x = 42 = 32m (4sat) + 10sm		2n = 6x = 42 = 30m (4sat) + 12sm			

RL: 相对长度 Relative length; AR: 臂比 Arm ratio (L/S); *: Significant difference; $F_{3,36,0.01}=4.383$

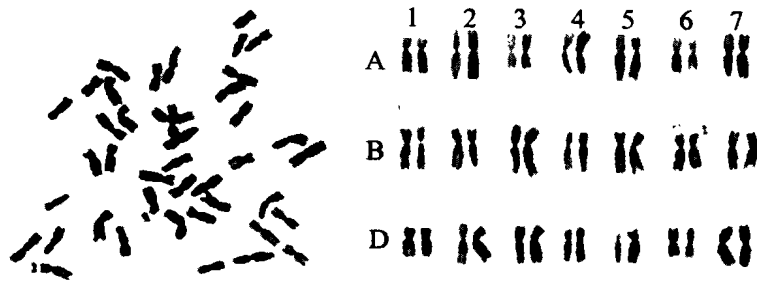


图 1 亲本小麦“济南 177”的根尖细胞染色体(×800)及核型
 Fig. 1 Root tip chromosomes (×800) and karyotype of parent wheat cv. Jinan177

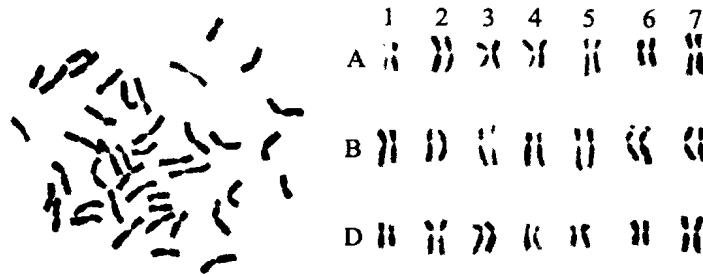


图 2 杂种株系 II-2 的根尖细胞染色体(×800)及核型
 Fig. 2 Root tip chromosomes (×800) and karyotype of somatic hybrid line II-2

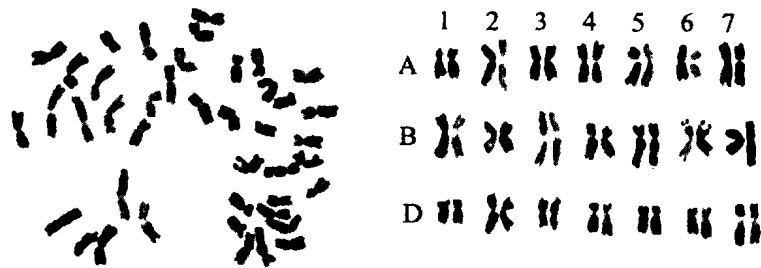


图 3 杂种株系 8-1 的根尖细胞染色体(×800)及核型
 Fig. 3 Root tip chromosomes (×800) and karyotype of somatic hybrid line 8-1

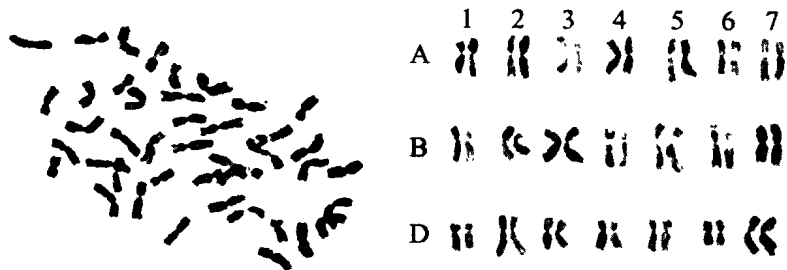


图 4 杂种株系 II-I-8 的根尖细胞染色体(×800)及核型
 Fig. 4 Root tip chromosomes (×800) and karyotype of somatic hybrid line II-I-8

1A、4B、5B、4D、5D 染色体为 sm (亚中部着丝粒)染色体;其余为中部着丝粒染色体。杂种 II-2 除了与以上亲本小麦相似的 sm 染色体外,5A 染色体臂比明显增加,染色体从 m (中部着丝粒)变为 sm,6B

臂比由亲本小麦的 1.08 上升为 1.5。杂种 II-I-8 的染色体组 4B、5B、4D、5D、1D 为 sm 染色体,其 1A 染色体臂比明显减小,由 sm 变为 m,1D 染色体臂比明显增加由 m 变为 sm;杂种 8-1 除了与亲本小

麦相似的 1A、4B、5B、4D、5D 以外, 1D 也变为 sm 染色体, 6D 染色体的臂比较亲本有较大幅度上升, 3 个杂种株系的 5B 和 6D 染色体相对长度均有大幅上升。

3 结语

3 个杂种株系的根尖染色体数目($2n$)多在 40–42 之间, 与亲本小麦一致, 在此前对这 3 个株系的花粉母细胞染色体进行观察分析也表明, 其花粉母细胞在减数分裂时基本正常, 88% 以上的花粉母细胞染色体数目(n)在 20–21 之间, 并且绝大多数染色体可以正常配对形成二价体, 只有个别杂种的花粉母细胞中存在减数分裂异常现象^[9]。杂种的形态表型基本稳定, 已遗传到第 5 代。表明杂种已基本稳定。

对杂种与亲本小麦的核型统计学分析表明, 杂种后代和亲本及杂种后代之间臂比和相对长度上存在多处显著差异(表 2 中用“*”标出)。在不对称原生质体融合过程中, 供体高冰草的原生质体经过紫外线照射后形成了大量的染色体小片段。体细胞杂种后代染色体组的这些较大差异可能是在原生质体融合过程中因高冰草小片段插入或重组引起的。这可能是其后代中出现多种与亲本小麦不同的农艺性状(株高、产量、品质、抗逆性等方面)及形态结构差异的遗传学基础。此外, 杂种后代中除了有供体(高冰草)的核物质外还有供体胞质基因的存在(正在进行的工作, 尚未发表), 因此来源于一个单细胞克隆的后代中会出现很多与亲本小麦明显不同的形态及表型的变化。体细胞杂种中有可能出现常规育种及染色体工程中不能出现的优良性状。本实验中的 3 个株系已各具有大穗、抗盐、高产、优质等优良性状, 并且在遗传上基本稳定, 目前杂种 II-I-8 的优质麦谷蛋白亚基基因已克隆, 并作为育种的种质在实践中应用。

参考文献

- [1] Waara S, Glimelius K. The potential of somatic hybridization in crop breeding [J]. *Euphytica*, 1995, 85:217–233.
- [2] Vasil V, Fred R, Vasil I K. Somatic hybrid in the Gramineae: *Triticum monococum* L. (Einkorn) + *Pennisetum americanum* (L.) K. Schum. (pearl millet) [J]. *J Plant Physiol*, 1988, 132:160–163.
- [3] Xia G M (夏光敏), Xiang F N (向凤宁), Zhou A F (周爱芬), et al. Asymmetric somatic hybrid plants regenerated between *Triticum aestivum* and *Psathyrostachys juncea* and between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum* [J]. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 1996, 41(15):1423–1426. (in Chinese)
- [4] Xia G M (夏光敏), Xiang F N (向凤宁), Zhou A F (周爱芬), et al. Fertile transgenic plants production from intergeneric somatic hybridization between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum* [J]. *Acta Bot Sin (植物学报)*, 1999, 41:349–352. (in Chinese)
- [5] Zhao T J (赵同金), Quan T Y (权太勇), Xia G M (夏光敏), et al. Glutenin and SDS sedimentation analysis of F_2 somatic hybrids between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum* [J]. *J Shandong Univ (Natur Sci) (山东大学学报(理学版))*, 2003, 38: 121–125. (in Chinese)
- [6] Li M X (李懋学), Zhang Z P (张赞平). *Crop Chromosomes and Research Technique* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1984. 63–66. (in Chinese)
- [7] Lü P (吕萍), Zhang Z L (张自立). The karyotype-band type and evolution of wheat with different ploidy [J]. *Acta Bot Sin (植物学报)*, 1984, 26(3):227–234. (in Chinese)
- [8] Sear E R. The aneuploidy of common wheat [J]. *Res Bull*, 1954, 572:1–59.
- [9] Sear E R. Wheat cytogenetics [J]. *Ann Rew Genet*, 1969, 3: 451–468.
- [10] Liu S B (刘树兵), Jia J Z (贾继增), Wang H G (王洪刚), et al. Identification of homoeology between the *Elytrigia elongatum* ($2n=14, EE$) and wheat chromosomes using biochemical and molecular markers [J]. *Acta Gene Sin (遗传学报)*, 1999, 26(1): 37–42. (in Chinese)
- [11] Zhao D (赵镛), Chen S Y (陈穗云), Xia G M (夏光敏). Studies on chromosomes of pollen mother cells in parts of F_2 plants derived from asymmetric somatic hybrid between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum* [J]. *J Shandong Univ (Natur Sci) (山东大学学报(理学版))*, 2002, 37:272–275. (in Chinese)