

文章编号:1000-5471(2011)03-0172-06

提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦远缘杂交 亲本与后代核型分析^①

盛中飞, 刘利青, 张素勤, 耿广东, 张庆勤

贵州大学 农学院, 贵阳 550025

摘要: 为了探索提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦远缘杂交后代的真实性, 该试验对其及杂交后代 TP2 稳定株系进行了核型分析. 结果表明: 母本提莫菲维小麦的染色体数目为 28, 核型为“2A”类型; 父本葡萄牙野燕麦的染色体数目为 42, 核型为“2B”类型; TP2 株系的染色体数目为 42, 核型为“2B”类型. TP2 株系染色体相对长度分布在 2.59~7.19 之间, 染色体长度比为 2.78, 臂比在 1.00~2.11 之间, 包括等臂染色体(M)、中着丝粒(m)染色体和近中着丝粒染色体(sm), 在第 6 和第 17 号染色体上发现 2 对随体, 其核型公式为: $2n=6x=42=6M+24m(2SAT)+12sm(2SAT)$. 在 TP2 株系中具有 4 对与父本一致, 而母本中不存在的染色体.

关键词: 提莫菲维小麦; 野燕麦; 远缘杂交; 核型

中图分类号: S512.1

文献标志码: A

通过远缘杂交能有效地把外源有益遗传物质转移到普通小麦中, 同时在创造育种材料中获得了巨大的成功^[1]. 小麦的远缘杂交研究开展得比较早, 在 20 世纪初就有小麦与黑麦属间杂交的研究报道. 随着杂交技术的改进和组织培养、胚拯救等技术的应用, 使得小麦远缘杂交的范围不断扩大. 迄今为止, 已有山羊草属、黑麦属、大麦属、披碱草属、赖草属、偃麦草属、冰草属、簇毛麦属、早麦草属、鹅观草属和新麦草属等与小麦杂交成功的报道^[2]. 然而, 目前国内外关于提莫菲维小麦与野燕麦远缘杂交方面的文献却鲜有报道.

贵州大学张庆勤^[3]将小麦与野燕麦直接属间远缘杂交已经获得成功, 并且得到了一批普通小麦型的杂种后代, 其综合性状优良, 具有良好的利用价值. 本研究拟对提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦远缘杂交后代的稳定株系进行染色体核型分析, 以鉴定该远缘杂交后代的真实性, 了解其染色体核型特点, 为该新种质的遗传研究和合理开发利用提供细胞学依据.

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验材料为贵州大学农学院张庆勤教授提供的提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦杂交后代 TP2 稳定株系

① 收稿日期: 2010-01-13

基金项目: 贵州省农业攻关资助项目(黔科合 NY 字[2006]3002B 和[2008]3017, 黔科合带帽字[2009]5002); 贵州省优秀科技教育人才省长基金资助项目(黔省专合字(2007)19); 教育部春晖计划资助项目(15001D-3).

作者简介: 盛中飞(1984-), 男, 山东苍山人, 硕士研究生, 主要从事小麦遗传育种研究.

通信作者: 张素勤, 教授.

的种子,该株系为普通小麦型.

1.2 方 法

取籽粒饱满的种子放在洁净的垫有灭菌滤纸的培养皿中发芽,待种子胚部微微露出白色时,放置于2℃冰箱中20 h,第2天再放入25℃温箱中3~4 h,如此反复几次,待根从胚部长出少许后放入25℃温箱中发芽24 h,然后剪取根尖,冰水处理24 h.接着将根尖转入1%的 α -溴萘溶液中预处理3 h后,置于卡诺氏固定液中37℃固定7 d,再用1%的醋酸洋红染色解离2 h,进行常规压片.制好的切片在OLMPUS BX40显微镜下观察,选择分裂相好的切片用数码摄像系统拍摄染色体图像,选择50个染色体分散相好的有丝分裂中期细胞进行染色体计数,核型分析时取5个细胞的平均值.染色体分类按Levan等^[4]的命名法,核型分析按李懋学等^[5]建议的统一标准进行,核型分类按Stebbins^[6]的方法进行.核型模式图制作按照乔永刚等^[7]所述方法进行绘制.

2 结果与分析

2.1 提莫菲维小麦核型分析

母本提莫菲维小麦的染色体数目为 $2n=28$ (图1),其中有2对随体染色体.提莫菲维小麦的染色体相对长度分布(总长)在3.70~5.80之间(表1),染色体长度比(最长染色体与最短染色体的比值)为1.568.

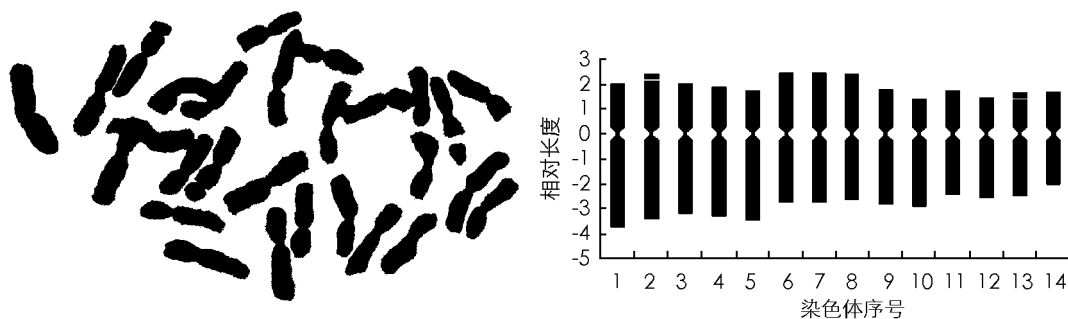


图1 提莫菲维小麦染色体及核型模式图

表1 提莫菲维小麦核型分析参数

染色体序号	相对长度			臂 比	类 型
	长 臂	短 臂	总 长		
1	3.76	2.03	5.80	1.85	sm
2	3.40	2.12	5.51	1.60	m*
3	3.18	2.03	5.21	1.57	m
4	3.29	1.88	5.18	1.75	sm
5	3.47	1.69	5.16	2.05	sm
6	2.73	2.41	5.14	1.14	m
7	2.72	2.40	5.12	1.13	m
8	2.64	2.39	5.02	1.10	m
9	2.83	1.74	4.57	1.63	m
10	2.89	1.42	4.31	2.04	sm
11	2.44	1.71	4.14	1.43	m
12	2.56	1.46	4.02	1.76	sm
13	2.45	1.34	3.79	1.83	sm*
14	2.03	1.67	3.70	1.22	m

注: * 为随体染色体,染色体随体不计长度.下同.

2.2 葡萄牙野燕麦核型分析

父本葡萄牙野燕麦的染色体数目为 $2n=42$ (图 2), 其中有 3 对随体染色体. 葡萄牙野燕麦的染色体相对长度(总长)分布在 2.25~7.18 之间(表 2), 大于母本染色体相对长度(总长)的分布范围; 葡萄牙野燕麦的染色体长度比为 3.191, 远大于母本提莫菲维小麦的长度比.

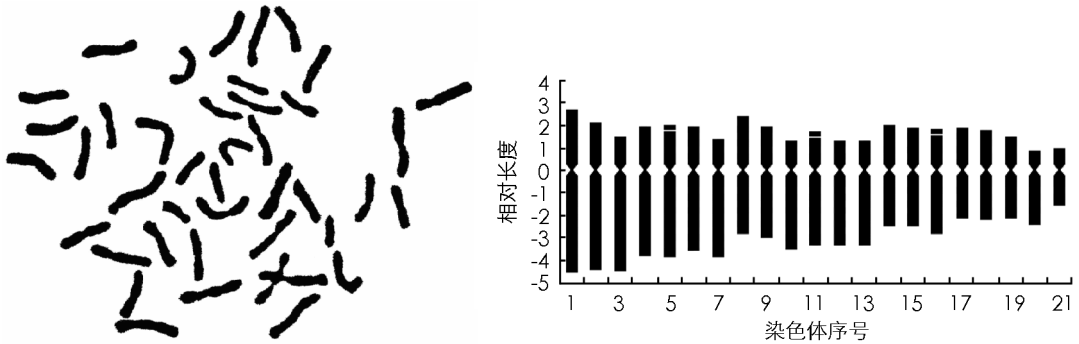


图 2 葡萄牙野燕麦染色体及核型模式图

表 2 葡萄牙野燕麦核型分析参数

染色体序号	相对长度			臂 比	类 型
	长 臂	短 臂	总 长		
1	4.48	2.70	7.18	1.66	m
2	4.41	2.11	6.51	2.09	sm
3	4.45	1.47	5.92	3.03	st
4	3.79	1.92	5.71	1.98	sm
5	3.86	1.68	5.54	2.30	sm*
6	3.55	1.92	5.47	1.85	sm
7	3.84	1.37	5.21	2.79	sm
8	2.77	2.39	5.16	1.16	m
9	3.01	1.92	4.93	1.57	m
10	3.48	1.28	4.76	2.72	sm
11	3.34	1.42	4.76	2.35	sm*
12	3.36	1.35	4.71	2.49	sm
13	3.32	1.30	4.62	2.55	sm
14	2.46	1.99	4.45	1.24	m
15	2.46	1.89	4.36	1.30	m
16	2.77	1.54	4.31	1.80	sm*
17	2.13	1.89	4.03	1.13	m
18	2.20	1.73	3.93	1.27	m
19	2.16	1.47	3.62	1.47	m
20	1.73	0.83	2.56	2.09	sm
21	1.33	0.92	2.25	1.44	m

2.3 TP2 核型分析

TP2 株系染色体图片及核型模式见图 3, 其核型分析参数见表 3. TP2 株系的全套染色体长度相差较大, 相对长度(总长)分布在 2.59~7.19 之间, 基本介于父、母本染色体长度范围之间; TP2 株系染色体长度比为 2.776, 远大于母本的染色体长度比, 而接近于父本的染色体长度比. TP2 株系的臂比分布在

1.00~2.11之间,其全部染色体分别为等臂染色体(M)、中着丝粒染色体(m)和近中着丝粒染色体(sm);并且在所观察的根尖细胞中都发现两对随体,分别位于第6号和第17号染色体。

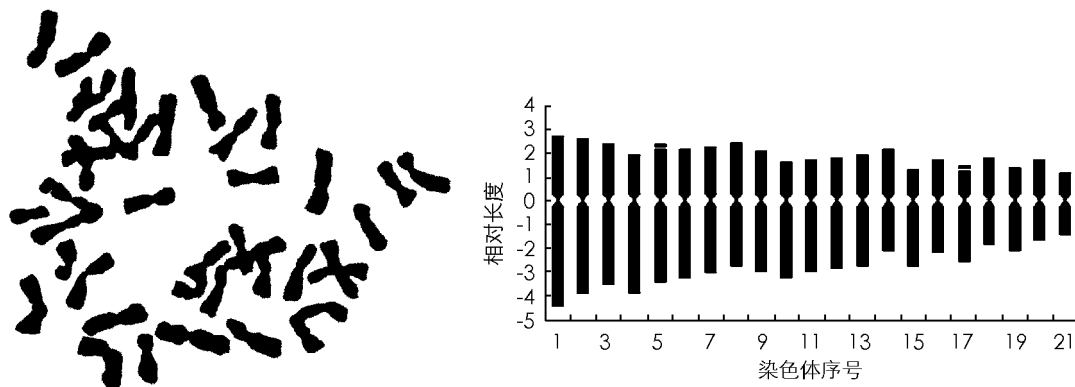


图3 TP2株系染色体及核型模式图

表3 TP2株系染色体核型分析参数

染色体序号	相对长度			臂比	类型
	长臂	短臂	总长		
1	4.47	2.72	7.19	1.64	m
2	3.89	2.59	6.48	1.50	m
3	3.56	2.40	5.96	1.49	m
4	3.89	1.94	5.83	2.01	sm
5	3.43	2.14	5.57	1.61	m
6	3.24	2.14	5.38	1.52	m*
7	3.05	2.27	5.31	1.34	m
8	2.72	2.46	5.18	1.11	m
9	2.98	2.07	5.06	1.44	m
10	3.24	1.62	4.86	2.00	sm
11	2.98	1.69	4.67	1.77	sm
12	2.85	1.81	4.67	1.57	m
13	2.72	1.94	4.67	1.40	m
14	2.14	2.14	4.28	1.00	M
15	2.72	1.30	4.02	2.10	sm
16	2.20	1.69	3.89	1.31	m
17	2.59	1.23	3.82	2.11	sm*
18	1.81	1.81	3.63	1.00	M
19	2.14	1.43	3.56	1.50	m
20	1.69	1.69	3.37	1.00	M
21	1.43	1.17	2.59	1.22	sm

依据小麦的染色体基数 $x=7$, 则 TP2 株系的核型公式为: $2n=6x=42=6M+24m(2SAT)+12sm(2SAT)$, 染色体组型为“2B”类型(表4), 是一种新的小麦核型^[8]。母本提莫菲维小麦核型是“2A”类型, 父本葡萄牙野燕麦的核型为“2B”类型, 二者成功远缘杂交产生了与父本核型相同、进化程度较高的“2B”类型

的普通小麦型小麦新种质。

表 4 亲本和后代的核型组成

材 料	核型公式	染色体长度比	臂比大于 2 的染色体比	类型
提莫菲维小麦	$2n=6x=28=16m(2SAT)+12sm(2SAT)$	1.568	0.143	2A
葡萄牙野燕麦	$2n=6x=42=16m+24sm(6SAT)+2st$	3.191	0.429	2B
TP2	$2n=6x=42=6M+24m(2SAT)+12sm(2SAT)$	2.776	0.143	2B

3 讨论与结论

从实验结果看,无论是染色体长度范围还是臂比范围,父本葡萄牙野燕麦都最大,后代 TP2 株系居中,母本提莫菲维小麦最小.后代的染色体长度基本都包含在父本的范围之内,而母本的染色体长度却包含在后代的范围之内,由此我们可以推断,在母本染色体长度范围之外的后代染色体中应该存在着与父本一致的染色体.根据染色体的形状、长度、臂比和随体情况分析,发现 TP2 株系中存在 4 对染色体(第 1, 9, 16, 19 号染色体)与父本染色体(第 1, 9, 18, 19 号)一致,且这些染色体在母本中并不存在.由此证明葡萄牙野燕麦的遗传物质进入了杂交后代 TP2 株系,TP2 株系确实是来源于提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦远缘杂交,为真实的杂种后代.

提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦杂交后代 TP2 株系染色体组的最长染色体长度远大于母本最长染色体,和父本最长染色体基本保持一致.所以 TP2 株系染色体长度比,要远大于母本的染色体长度比,而接近于父本的染色体长度比.正是由于后代 TP2 株系遗传了父本的最长染色体,使得其染色体长度比较大,核型表现为“2B”类型,而有别于母本“2A”类型.但是,对于决定核型类型的另一个因素——臂比大于 2 的染色体比而言,TP2 株系与母本接近而远小于父本.这是因为 TP2 株系的染色体是以母本染色体为基础,遗传了父本部分染色体以及重组的染色体的缘故.

具有 42 条染色体的普通小麦是生物进化过程中自然形成的六倍体,它来源于 2 个不同的亲缘属——小麦属(*Triticum*)和山羊草属(*Aegilops*),并由这 2 个属内具有不同染色体的种,经 2 次远缘杂交、2 次染色体自然加倍,得到异源六倍体斯卑尔脱小麦,再由它进一步分化得到了现在的普通小麦^[8].陈瑞阳等^[9]对小麦属进行的核型分析,发现小麦属的核型全部为 2A,而提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦杂交后代 TP2 株系的核型却为 2B,由此可以看出,人工创造的六倍体普通小麦和自然形成的六倍体普通小麦存在一定的差异,且 TP2 株系比自然形成的六倍体普通小麦在进化上存在先进性,在小麦进化史上向前迈进了一步.在提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦杂交后代的 Glu-D1 位点上出现了被世界上公认的 5+10 优质亚基,并且其出现频率高达 50%^[10],这种小麦新种质是当前小麦品种改良的宝贵资源.目前,我们正在采用分带、基因组原位杂交(GISH)等技术对提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦杂交后代做进一步深入的研究.

参考文献:

- [1] GUSTAFSON J P, DERA A R. Alien Gene Manipulation and Expression in Wheat [J]. *Genome*, 1989, 31: 134-136.
- [2] 李兴锋. 小麦三属杂种的分子细胞遗传学研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2003: 7-8.
- [3] 张庆勤. 小麦与野燕麦远缘杂交研究 [J]. *山地农业生物学报*, 1999, 18(2): 188-189.
- [4] LEVAN A, FREDGA K, SANDBERG A A. Nomenclature for Centromere Position in Chromosome [J]. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201-220.
- [5] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题 [J]. *武汉植物学研究*, 1985, 3(4): 297-302.
- [6] STEBBINS G L. *Chromosome Evolution in High Plants* [M]. London: Edward Arnold LTD, 1971: 87-90.
- [7] 乔永刚, 宋 芸. 利用 EXCLE 制作核型模式图 [J]. *农业网络信息*, 2006, 10: 97-98.

- [8] 蔡 旭. 植物遗传育种学 [M]. 北京: 科学出版社, 1988: 614—615.
- [9] 陈瑞阳, 宋文芹, 安祝平. 小麦属核型分析和 B、G 染色体组及 4A 染色体的起源 [J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 303—311.
- [10] 张素勤, 李 鹏, 耿广东, 等. 提莫菲维小麦与葡萄牙野燕麦远缘杂交后代的高分子量麦谷蛋白亚基组成分析 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2008, 33(4): 396—398.

Karyotype Analysis of the Parents and Progeny from the Wide Cross *T. timopheevii* × *Avena Fatua* L. Var. Portugal

SHENG Zhong-fei, LIU Li-qing,
ZHANG Su-qin, GENG Guang-dong, ZHANG Qing-qin

Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: The karyotype of stable TP2 line from the wide cross *T. timopheevii* × *Avena Fatua* L. Var. Portugal was analyzed in order to understand its characteristics in the present study. The results showed that the number of female parent's chromosomes was 28, belonged to type "2A"; male parent and the TP2 line's chromosomes were 42, belonged to type "2B"; chromosome relative length was in the range of 2.59—7.19, chromosome length ratio was 2.78, and arm ratio ranged from 1.00 to 2.11. Medium point (M), metacentric (m) and submetacentric (sm) chromosomes were included in the TP2 line. Two pairs of satellites were found on the chromosomes 6 and 17, respectively. Its karyotype formula was $2n=6x=42=6M+24m(2SAT)+12sm(2SAT)$. Four pairs of chromosomes, which were consistent with those in *Avena Fatua* L. Var. Portugal, but absent in *T. timopheevii* existed in the TP2 line.

Key words: *T. timopheevii*; *Avena Fatua* L. Var.; wide cross; karyotype

责任编辑 夏 娟