

八倍体小偃麦和硬粒小麦杂交后代的染色体组成分析

李亚莉¹ 董艳辉¹ 侯丽媛¹ 聂园军² 任永康³ 王育川¹ 吴新明⁴

(¹山西省农业科学院生物技术研究中心,太原 030031; ²山西省农业科学院农业资源与经济研究所,太原 030006;

³山西省农业科学院作物科学研究所,太原 030031; ⁴新疆生产建设兵团第六师农业科学研究所,五家渠 831300)

摘要:在小麦育种工作中,因长穗偃麦草、中间偃麦草和四倍体硬粒小麦等小麦近缘种属含有许多重要的功能基因,育种家经常应用远缘杂交创制小麦育种中间材料。本研究应用 FISH、GISH、Mc-GISH 技术检测了八倍体小偃麦和四倍体硬粒小麦杂交的后代材料,结果表明:山农 20 和四倍体硬粒小麦的杂交后代中,D 组染色体显著优先于十倍体长穗偃麦草染色体传递到子代中;中 3 和中 4 与四倍体硬粒小麦的杂交后代中,D 组和中间偃麦草染色体从 1~14 条随机传递到子代中;所有材料中仅从山农 20 和四倍体硬粒小麦的杂交后代中筛选出 3 份稳定的代换系,对其中的 2576-1 代换系进一步分析证明,是十倍体长穗偃麦草染色体代换了 1D 染色体并确定该材料抗条锈病,可以作为育种材料,也为异源新种质的创制奠定了基础。

关键词:八倍体小偃麦;硬粒小麦;染色体变异; GISH ; FISH ; Mc-GISH

小麦作为全球的主要粮食,是种植范围最广的作物之一,但小麦品种遗传基础狭窄、遗传差异小,严重制约了小麦产量和品质的进一步提高。小麦近缘属种中具有许多改良小麦所需的优良基因,通过远缘杂交或其他手段将这些优良基因导入普通小麦,着力挖掘和利用小麦野生近缘种属的重要基因,是拓宽中国小麦育成品种的遗传基础和进行小麦遗传改良的重要途径^[1-3]。

十倍体长穗偃麦草(*Thinopyrum ponticum*)是小麦族近缘多年生物种,具有生长繁茂、多花多实,抗条锈病、叶锈病、黑穗病和白粉病,抗寒冷、耐干旱等优良性状^[4-7];中间偃麦草(*Thinopyrum intermedium*)具有许多可供小麦育种利用的优良农艺性状,如耐寒、耐旱、抗真菌病和病毒病等^[8-10];硬粒小麦(*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*, AABB)是栽培的四倍体小麦,是加工通心粉的优质专用小麦,富含赖氨酸和类胡萝卜素,具有较高的营养品质和加工品质,在欧洲许多国家及美洲、北非和中东地区很受欢迎^[11-13]。本研究通过八倍体小偃麦和四倍体硬粒小麦杂交,创制同时含有偃麦草和硬粒小麦优异基因片段的育种中间材料,

为小麦育种实践和生产提供更丰富的遗传资源;同时结合 FISH、GISH、Mc-GISH 技术分析,筛选后代材料,为深入研究外源染色体在小麦背景中的传递机制提供细胞学遗传依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 试验材料为八倍体小偃麦和四倍体硬粒小麦的杂交后代。其中,八倍体小偃麦有山农 20 (十倍体长穗偃麦草和小麦的杂交后代)、中 3 和中 4 (中间偃麦草和小麦的杂交后代),试验材料由中国科学院遗传与发育生物学研究所韩方普研究员提供。

1.2 试验方法

1.2.1 中期染色体的制备 根尖细胞中期染色体的制备、探针标记方法以及原位杂交程序均按照 Han 等^[14]的方法进行。每份材料分别选取约 20 粒籽粒饱满的种子,将挑选好的种子置于垫有湿滤纸的培养皿中发芽,待根长到 2~3cm 时,剪取生长旺盛的根尖放在 37℃ 的果胶酶和纤维素酶混合溶液中消化 50min,然后用 70% 的酒精洗 2 次,捣碎,离心,再用 100% 的乙酸溶解,滴片。

1.2.2 原位杂交技术 植物总 DNA 的提取采用 CTAB 法^[15],利用微量紫外分光光度计检测样品 DNA 浓度,并统一稀释至终浓度为 100ng/μL。原位杂交

基金项目:山西省青年基金(201701D221208);山西省科技成果转化引导专项项目(201804D131066)

通信作者:吴新明

程序按照 Han 等^[14] 的方法进行,在 GISH 分析中,提取中间偃麦草的基因组 DNA,用 fluorescein-12-dUTP 标记,小麦的着丝粒逆转录转座子用 Texas red-5-dCTP 标记,用中国春基因组 DNA 作封阻;在 FISH 分析中,pAs1 探针的信号标记,pSc119.2 探针的信号标记;在 Mc-GISH 分析中,提取长穗(中间)偃麦草的基因组 DNA,用 fluorescein-12-dUTP 标记,B 基因组作封阻。细胞学镜检采用 OLYMPUSBX60 荧光显微镜观察,用 Photo-metrics SenSys CCD 成像。

2 结果与分析

2.1 山农 20 和四倍体硬粒小麦杂交后代材料的

细胞学特征 远缘杂交可以将近缘种属中的优异基因导入普通小麦中,应用 Mc-GISH 的基因组原位杂交技术检测,统计分析小麦染色体 A 组、B 组和 D 组的染色体数目及十倍体长穗偃麦草染色体的数目。由图 1 可知,在被检测的后代材料中,未发现 A 组和 B 组(28 条染色体)的后代材料,染色体数量稳定在 40~44 之间的材料较多;所有材料中均含有 D 组染色体 10~14 条,十倍体长穗偃麦草染色体 0~14 条,D 组大部分材料染色体优先稳定在 12~14 条,而十倍体长穗偃麦草染色体则 0~14 条不等,可见小麦 D 组染色体优先传递到后代籽粒中。

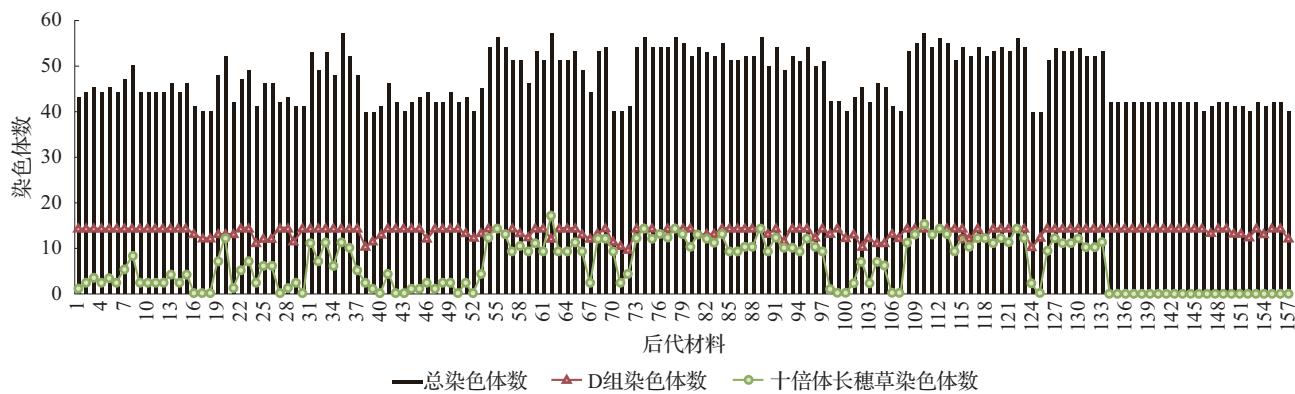
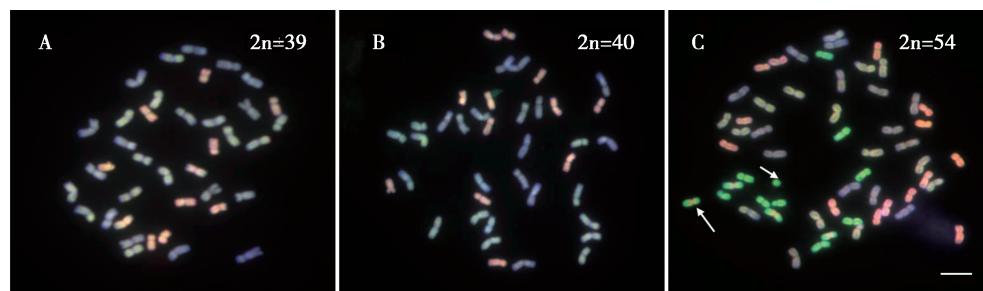


图 1 小麦 D 组染色体和十倍体长穗偃麦草染色体在总染色体数中的变化规律

进一步分析发现,山农 20 和四倍体硬粒小麦杂交后代材料 2572、2578 号个体中没有发现十倍体长穗偃麦草染色体(图 2A、B);在后代材料 2591

号个体中发现了多条附加十倍体长穗偃麦草染色体(图 2C),且箭头所指处有染色体断裂和易位的现象。



A~C: 山农 20 和四倍体硬粒小麦杂交后代材料 2572、2578、2591 号个体体细胞染色体分布模式,其中,黄绿色代表小麦 A 组染色体,蓝色代表小麦 B 组染色体,红色代表小麦 D 组染色体,绿色代表十倍体长穗偃麦草染色体,Bar=10μm

图 2 杂交后代材料根尖中期细胞染色体的 Mc-GISH 分析

2.2 中 3、中 4 和四倍体硬粒小麦杂交后代材料的细胞学特征

材料创制过程中,将中 3、中 4 和四倍体硬粒小麦杂交创制育种中间材料,使其集合多个

属的优异基因。由图 3 所示,在被检测的后代材料中,发现少数 A 组、B 组(含 28 条染色体)的后代材料;大部分被检测的材料均含有 D 组染色体 1~14

条,中间偃麦草染色体1~14条,没有发现小麦D组染色体较中间偃麦草染色体优先传递的规律,即小

麦D组染色体和中间偃麦草染色体随机进入后代籽粒中。

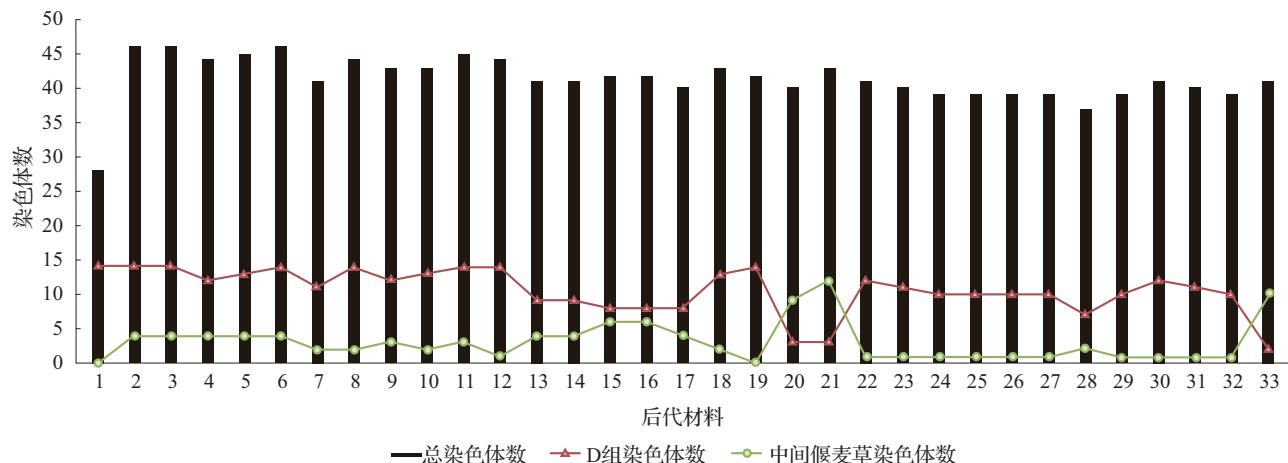
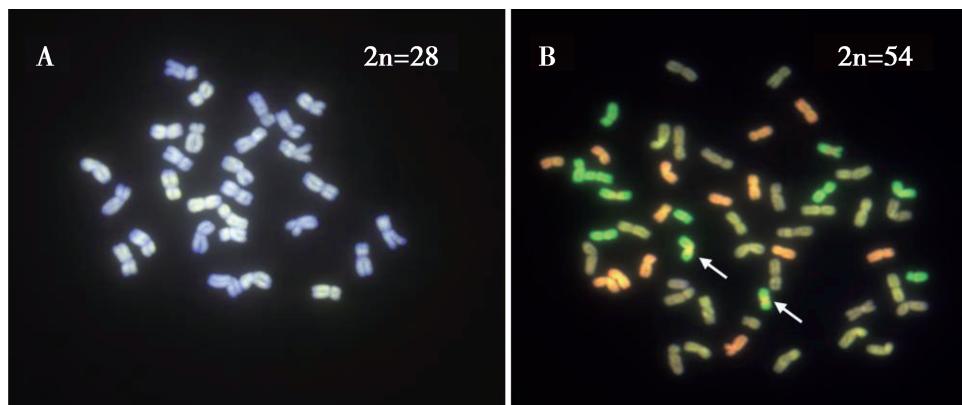


图3 小麦D组染色体和中间偃麦草染色体在总染色体数中的变化规律

进一步分析发现,中3、中4和四倍体硬粒小麦杂交后代材料2469号个体中只有小麦A、B组染色体,共28条(图4A);在后代材料2478号个体中

发现了12条附加中间偃麦草染色体(图4B),且箭头所指处有染色体易位的现象。



A~B:中3、中4和四倍体硬粒小麦杂交后代材料2469、2478号个体体细胞染色体分布模式,其中,黄绿色代表小麦A组染色体,蓝色代表小麦B组染色体,红色代表小麦D组染色体,绿色代表中间偃麦草染色体,Bar=10μm

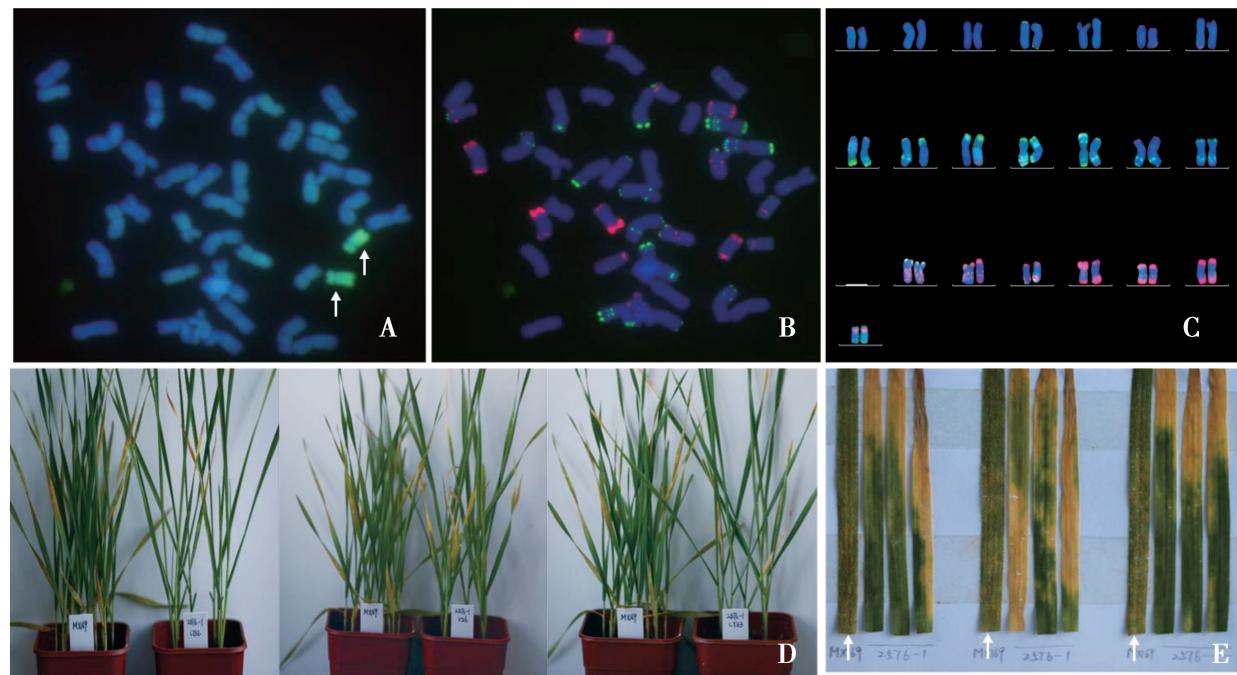
图4 杂交后代材料的根尖中期细胞染色体的GISH和Mc-GISH分析

2.3 2576-1代换系抗条锈病鉴定结果 从约190份后代材料中筛选出3份稳定的代换系,应用GISH技术对其中的2576-1代换系分析发现,个体染色体总数为42条,其中有2条十倍体长穗偃麦草染色体(图5A箭头所示);应用FISH技术检测并对染色体进行核型分析发现,有2条十倍体长穗偃麦草染色体代换了小麦的1D染色体(图5C);图5D、E是对新代换系2576-1抗条锈病检测结果,图5E中的箭头所示是用生理小种M169侵染后,2576-1代换系出现坏死而未发现菌斑,表明该代换系具有抗条锈病的特性。下一步还将继续开展其他的抗病性检

测,明确该材料在育种中的应用价值。

3 结论与讨论

在小麦远缘杂交育种研究中,为了明确远缘杂交后代外源染色体的传递率,从而有效提高其选择率,从单条外源染色体到多条或整套外源染色体在小麦背景中的传递研究不断增多^[16~18]。其中,在小麦的远缘杂交育种中,由于偃麦草属和硬粒小麦的染色体传递率较高,育种家经常应用不同种属之间的非等倍体杂交创制附加系、代换系等育种中间材料,将近缘种属的优异基因导入普通小麦中^[19~21]。



A: 2576-1 代换系个体体细胞染色体分布模式, 绿色是十倍体长穗偃麦草染色体; B-C: 2576-1 代换系个体体细胞染色体核型分型图, pAs1 探针的信号是红色, pSc119.2 探针的信号是绿色; D-E: 2576-1 代换系待检测苗、抗性检测结果

图 5 2576-1 代换系的染色体核型分析和抗性检测

本研究中,应用原位杂交技术检测八倍体小偃麦和硬粒小麦杂交后代材料染色体的组成情况。山农 20 和四倍体硬粒小麦杂交后代籽粒较大,染色体数量稳定在 40~44 之间的材料较多,小麦 D 组染色体组优先传递;而中 3、中 4 和四倍体硬粒小麦的杂交后代中,结实率不高,后代籽粒皱缩、偏小,小麦 D 组和中间偃麦草的染色体随机进入杂交后代中;在所有的后代材料中筛选出 3 份单株性状、籽粒性状好,染色体稳定在 40~44 之间的代换系,并对其中的 2576-1 代换系进行抗病性检测,初步鉴定为抗条锈病,下一步将进行其他抗性检测以明确该材料的育种价值。

参考文献

- [1] 郝晨阳,王兰芬,张学勇,游光霞,董玉琛,贾继增,刘旭尚,励武,刘三才,曹永生. 我国育成小麦品种的遗传多样性演变. 中国科学 C 编辑:生命科学,2005,35 (5): 408~415
- [2] Huang X Q, Bomer A, Roder M S. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 699~707
- [3] 盖红梅,王兰芬,游光霞,郝晨阳,董玉琛,张学勇. 基于 SSR 标记的小麦骨干亲本育种重要性研究. 中国农业科学,2009,42 (5): 1503~1511
- [4] 李振声,容珊,陈漱阳,穆素梅,钟冠昌. 小麦远缘杂交. 北京:中国农业科技出版社,1985: 125~127
- [5] Han F P, Li J L. Partial amphiploids from *Triticum durum* \times *Thinopyrum intermedium* and *Tdurum* \times tetraploid *Th. elongatum*-wheat. *Information Service*, 1995, 80: 32~37
- [6] 何孟元,卜秀玲,邹明谦. 向普通小麦导入中间偃麦草优良品质基因的研究. 北京:中国农业出版社,1996: 326~330
- [7] Fu S L, Lv Z L, Qi B, Guo X, Li J, Liu B, Han F P. Molecular cytogenetic characterization of wheat-*Thinopyrum elongatum* addition, substitution and translocation lines with a novel source of resistance to wheat fusarium head blight. *Journal of Genetics and Genomics*, 2012, 39: 103~110
- [8] Nemeth C, Yang C Y, Kasprzak P, Hubbart S, Scholefield D, Mehra S, Skipper E, King I, King J. Generation of amphidiploids from hybrids of wheat and related species from the genera *Aegilops*, *Secale*, *Thinopyrum*, and *Triticum* as a source of genetic variation for wheat improvement. *Genome*, 2015, 58: 71~79
- [9] 张相歧,陈大伟,卜秀玲,何孟元,郝水. 小冰麦异附加系中天兰冰草染色体的变异. 遗传学报,1991,18 (4): 344~351
- [10] 李集临,孙善澄. 普通小麦与天蓝偃麦草杂交中间型遗传的研究. 遗传学报,1980,7 (2): 157~165
- [11] 姬虎太,王敏,曹勇,李晓丽,姜兰芳,马小飞. 硬粒小麦与野生二粒小麦籽粒铁、锌、硒元素质量分数的相关性分析. 西北农业学报,2018,27 (6): 772~778
- [12] 张福彦,尚晓丽,吴培培,宋双,陈锋,崔党群. 硬粒小麦品种 Lpx-B1 位点等位变异的分子鉴定及其脂肪氧化酶活性. 作物学报,2014,40 (8): 1364~1370
- [13] 高双成,王世华,史国安,孔祥生,李友军. 硬粒小麦品种 Langdon 低分子量谷蛋白亚基新基因的克隆. 河南农业科学,2013,42 (8):

不同种源苦参种子质量标准指标及硬实破除方法研究

崔芬芬 陈亮 曹亚萍 王勇飞 贺嘉欣 贾孟君 乔永刚 宋芸
(山西农业大学生命科学学院, 太谷 030801)

摘要:对来自 16 个不同种源的苦参种子净度、千粒重、生活力、含水量、硬实率以及不同处理下发芽率等质量标准指标进行研究,结果表明:不同种源的苦参种子净度均在 92% 以上;千粒重除安徽亳州外,其他种源均在 40g 以上;含水量均不超过 12%;硬实率均在 85% 以上;综合生活力、未处理种子、发芽率 2 个指标发现山西长治西河底、河北安国、内蒙古赤峰的苦参种子种质较好;经破除硬实处理的种子发芽率显著高于未处理,不同种源最优处理不同,其中 6 个种源苦参种子的 3 种处理之间没有显著差异,3 个种源浓硫酸处理下发芽率显著高于其他处理,4 个种源摩擦处理发芽率显著高于其他处理,还有 3 个种源浓硫酸与摩擦处理之间差异性不显著,但显著高于热水处理。

关键词:苦参;种源;质量标准指标;硬实性;破除硬实;发芽率

苦参(*Sophora flavescens* Ait.)为豆科槐属(*Sophora*)多年生落叶亚灌木或草本植物^[1],传统中药以其干燥根入药,具有清热、燥湿、杀虫、利尿等功效^[2-3]。随着苦参及其生物碱的开发利用,苦参药材的需求量急剧增加,人们毫无节制、没有保护的采挖,造成野生资源及分布逐渐减少,传统产区的资源已接近枯竭^[4],采用苦参野生转家种的栽培模式具有十分广阔的前景^[5]。然而苦参粗放的人工种植方式使得栽培区的种子来源渠道多种多样,种子混乱

基金项目:山西省科技攻关项目(20140312001-2);山西省高等学校教学改革项目(J2015028,J2017031)

通信作者:宋芸

情况十分严重,这就对苦参的产量和质量造成非常严重的影响^[6]。由于苦参种子具有硬实性,在播种时极易出现种子发芽率低、发芽缓慢等现象^[7],所以在生产中播种前要对种子进行处理,从而提高其发芽率。本研究通过对 16 个不同种源的苦参种子的净度、千粒重、生活力等主要质量标准指标和硬实破除后的苦参种子萌发特性进行比较研究,确定了优质的种质资源及栽培中的破除种子硬实性的方法,为今后人工栽培选择优质种源提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 2017 年 11 月采收全国 9 个省区苦参产量较高的当年新种,共计 16 份,分别来自辽宁

8-11

- [14] Han F P, Lamb J C, Birchler J A. High frequency of centromere inactivation resulting in stable dicentric chromosomes of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103 (9): 3238-3243
- [15] 张晓祥,王玲,寿路路. 一种快速提取小麦基因组 DNA 的改良 CTAB 方法. *中国农学通报*, 2012, 28 (36): 46-49
- [16] 任正隆, Lelley T, Robbelin G. 小麦和黑麦染色体在小黑麦 × 小麦杂种的不同世代群体中的传递. *遗传学报*, 1991, 18 (2): 161-167
- [17] 赵春华,樊小莉,王维莲,张玮,韩洁,陈梅,纪军,崔法,李俊明. 小麦候选骨干亲本农 9204 遗传构成及其传递率. *作物学报*,

2015, 41 (4): 574-584

- [18] 张悦,林志珊,曹保久,郭义强,王美蛟,叶兴国,辛志勇,徐琼芳,郭世华. 2Ai-2 染色体在小麦部分同源染色体代换背景中的遗传. *作物学报*, 2009, 35 (3): 424-431
- [19] 胡易冰,刘明芳. 对小麦近缘植物优异基因发掘和小麦遗传改良的分析. *吉林农业*, 2018 (23): 67-72
- [20] 符书兰,唐宗祥,任正隆. 小麦 - 黑麦附加系的创制及 5R 抗白粉病新基因的发现. *遗传*, 2011, 33 (11): 1258-1262
- [21] 韩冉,宫文萍,宋健民,李豪圣,李根英,刘爱峰,曹新有,程敦公,赵振东,刘成,刘建军. 小麦 - 近缘物种染色体耐盐性鉴定及分子标记筛选. *麦类作物报*, 2017, 37 (3): 301-306

(收稿日期: 2018-12-24)