

# 1B / 1R 易位系——“84059-4-2”的 细胞学鉴定

钟少斌 姚景侠

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理研究所)

## 提 要

利用C-分带和N-分带对普通小麦选系“84059-4-2”的根尖细胞染色体进行分析,发现其中的1B染色体发生了变异。经带型比较,确定该变异染色体由小麦的1B和黑麦的1R易位而来,它包括1B长臂及其着丝粒和1R短臂。在中国春双端二体1B与“84059-4-2”的杂种F<sub>1</sub>植株中,发现95.83%的花粉母细胞出现一个异型二价体和一个游离的短臂端体,未观察到异型三价体的形成,说明该选系中的1B短臂确实被黑麦染色体所代换,与分带分析结果相一致。“84059-4-2”的花粉母细胞配对正常,农艺性状较好,并对白粉病表现高抗,具有一定的育种利用价值。

**关键词** 普通小麦, 黑麦, 染色体, 易位, C-分带, N-分带

通过远缘杂交,已经创造了许多具有潜在育种价值的外源变异材料,确定这些材料的遗传组成将给遗传育种家们提供很有用的信息,使其得到更充分的利用。由于分带技术在小麦及其近缘种属中的成功应用,使染色体及其外源变异的鉴定得以快速简便地进行。Gill和Kimber<sup>[6]</sup>, Jewell<sup>[8]</sup>, Seal<sup>[14]</sup>, 徐杰等<sup>[1]</sup>, Merker<sup>[10]</sup>, Lukaszewski和Gustafson<sup>[9]</sup>, Cai和Liu<sup>[3]</sup>等利用C-分带或N-分带揭示了许多小麦染色体间或小麦与其近缘种属间的染色体易位,证明了分带技术用于鉴定染色体变异是一种行之有效的手段。本研究主要利用C-分带技术鉴定普通小麦中的1B/1R易位染色体,并用双端二体对分带分析结果进行了测验。

## 材 料 和 方 法

### (一) 试验材料

试验材料包括本所刚选育的品系“84059-4-2”和中国春双端二体1A, 1B(简称DDT 1A, 1B)。“84059-4-2”选自杂交组合(M<sub>2</sub>A × 扬麦3号)F<sub>1</sub> × (矮变1号 × 盘江2号)F<sub>1</sub>, 其中M<sub>2</sub>A为六倍体小黑麦;中国春双端二体1A, 1B引自北京农业大学农学系遗传教研室,本所繁殖保存。在杂交之前,对其进行了细胞学鉴定,证明所用材料确属DDT 1A和DDT 1B。

### (二) 细胞学研究方法

本研究采用了两种C-分带方法,称为方法I和方法II,分别用于小麦和黑麦染色体的完全识别。方法I与Endo<sup>[5]</sup>的改良C-分带基本相同,方法II的步骤与方法I相似,但在

45% 醋酸, 5% Ba(OH)<sub>2</sub> 和 2×SSC 中的处理条件变为 60℃ 7—10 分钟, 60℃ 7—10 分钟和 60℃ 10—15 分钟。N-分带法与 Endo<sup>[4]</sup> 描述的相同。在检测“84059-4-2”中的染色体变异时, 以中国春的 C-带带型和 N-带带型为鉴定小麦染色体的对照。黑麦染色体的鉴定则以荷兰会议所确定的模式带型<sup>[15]</sup> 为标准。采用醋酸洋红压片法观察花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对构型。

## 结 果

### (一) “84059-4-2”选系的性状表现

“84059-4-2”为白穗、长芒、红粒, 株高 100 厘米左右, 穗形为纺锤形, 顶端小穗排列较稀, 粒形为椭圆形, 品质中等, 千粒重 32 克左右。该品系对春化和光照反应不敏感, 在南京地区不经春化和光照处理, 由 8 月下旬播种, 11 月上旬就可以抽穗开花。经 1987—1988 年度国际冬小麦白粉病鉴定圃 (IWWPMN) 用白粉病生理小种 #7-11 和 #7-12 接种鉴定, 表现高抗。

### (二) 体细胞分带分析

根据我们的研究, 方法 I 能很好的识别普通小麦的 21 对染色体<sup>[2]</sup>, 然而, 当用于黑麦染色体时, 尽管显示了与小麦不同的端带, 但由于缺少足够的中间带和近端带, 使某些黑麦染色体之间的区分很困难。而把方法 I 的处理条件改变, 即采用方法 II 则更利于黑麦染色体的鉴定, 但对小麦染色体的显带又不如方法 I 好。为此在研究涉及这两个物种染色体的易位时, 我们把方法 I 和方法 II 结合起来, 以克服单独使用一种方法所带来的不足 (关于方法 I 和方法 II 在两个物种染色体上产生不同显带效果的比较研究将于另文报道)。

用方法 I 对选系“84059-4-2”的根尖细胞染色体进行显带处理, 发现它缺少一对正常的 1B 染色体, 而出现一对短臂显示明显端带的异常染色体 (图 1、2), 经分析发现, 该异常染色体的短臂端带与黑麦相同, 而长臂带型则与 1B 长臂非常相似 (图 3a), 由此可以推断, “84059-4-2”中的 1B 短臂已被含端带的黑麦染色体片段所代换。由于方法 I 很难使黑麦染色体显示区分性的近端带, 为了确定异常染色体中黑麦染色体片段的性质, 对“84059-4-2”进行了方法 II 的显带分析, 结果表明, 其中异常染色体长臂所显示的带型虽不如方法 I 清楚, 但短臂却显示了典型的 1R 短臂特征带型: 不仅具有很明显的端带而且在核仁形成区附近有一明显的近端带 (图 3b)。结合两种方法的分析结果, 可以确定, “84059-4-2”中的异常染色体由 1R 短臂和 1B 易位而来。用方法 I 处理 1R 染色体时, 着丝粒区不显带 (图 3a), 而该易位染色体的着丝粒带很明显, 可以认为易位染色体的着丝粒由 1B 所提供。

N-分带可以区分普通小麦的 16 对染色体<sup>[4]</sup>, 其中包括 1B, 但对黑麦染色体一般不显带。我们对“84059-4-2”进行 N-分带后, 结果表明, 易位染色体的着丝粒及其长臂均显示了正常 1B 染色体相应部分的 N-带带型, 而黑麦染色体区段不显带 (图 3c), 由此证明了 1B 染色体的长臂和它的着丝粒参与了易位染色体的组成, 与 C-分带分析结果相一致。

### (三) 双端二体测验

为了进一步证实分带分析所得的结论, 我们利用中国春双端二体 1A 和 1B (DDT 1A 和

DDT 1B)与“84059-4-2”分别进行了杂交,并分析了杂种 F<sub>1</sub>花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对构型,观察结果如表 1 所示。

表 1 “中国春” DDT 1A, DDT 1B 与普通小麦选系“84059-4-2”的 F<sub>1</sub> 植株花粉母细胞减数分裂中期 I 配对构型

Table 1 Meiotic pairing at MI in plants from the crosses of “84059-4-2” with DDT 1A or DDT 1B

F <sub>1</sub> 杂种 Hybrid	观察株数 No. of plants	观察花粉母细胞数 No. of PMCs observed	具各种构型的细胞数 (%) No. (Percentage) of PMCs with different pairing configurations		
			异型三价体 tt '''	异型二价体 + 1 端体 t ''+t'	2 个端体 t'+t'
DDT 1A × “84059-4-2” (2n = 41 + t + t')	4	80	37 (46.25%)	42 (52.5%)	1 (1.25%)
DDT 1B × “84059-4-2” (2n = 41 + t + t')	5	96	0	92 (95.83%)	4 (4.17%)

从表 1 可以看出,在与 DDT 1B 的杂种 F<sub>1</sub> 植株中,有 95.83% 的花粉母细胞配成一个异型二价体和一个游离的短臂端体(图 4),没有观察到异型三价体的出现,说明该选系中的 1B 短臂确实被黑麦染色体所代替,从而证明了分带分析所得的结论是正确的。

在与 DDT 1A 的 F<sub>1</sub> 杂种中,出现异型三价体的细胞(图 5)占 46.25%,而出现异型二价体和一个游离短臂端体的细胞占 52.5%。这表明,中国春 1A 短臂与“84059-4-2”的 1A 表现较明显的脱配对现象。Sallee 和 Kimber<sup>[13]</sup> 推测,小麦不同染色体组的染色体配对强度的差异与它们的长度有关,而 1A 短臂在 A 组的所有染色体臂中最短的,这可能是 (DDT 1A × 84059-4-2) 杂种中 1AS 配对失败频率较高的一种原因,但仅仅由于长度的影响似乎不致引起如此高频率的不配对现象,这有可能与所观察细胞中期 I 的时期有关,也可能还涉及到染色体之间的分化。在 DDT 1A 和 DDT 1B 与“84059-4-2”的两个杂种中,除了 1BS 不配对,1AS 有较高频率的不配对外,其它染色体或染色体臂没有明显的不配对现象,由此看来,可以排除由于基因互作而引起配对减少的推断<sup>[12]</sup>。当然,我们还不能完全

表 2 普通小麦选系“84059-4-2”PMC 减数分裂中期 I 染色体配对情况

Table 2 Meiotic pairing at MI in the line “84059-4-2”

植株数 No. of plants	观察细胞数 No. of PMCs observed	单价体数 No. of univalent	二价体数 No. of bivalent		
			棒状 Rod	环状 Ring	总数 Total
5	105	M 0.11	2.97	17.97	20.94
		R 0—2 (5.7%)*	0—8 (89.5%)	13—21 (100%)	20—21

M = 平均数 mean. R = 变异幅度 range

注: \* 指具有该种构型的细胞占细胞总数的百分率

Note: \* indicates percentage of PMCs with each configuration in total cells observed

排除“84059-4-2”的1AS中由于含有较小的不能为分带所识别的黑麦染色体片段而使其与中国春1AS的配对显著减少的可能。

#### (四) 花粉母细胞染色体配对

观察“84059-4-2”自交的5株105个细胞(表2),有94.3%的细胞配对成21个二价体(图6),只有5.7%的细胞出现了单价体。平均每个细胞有0.11个单价体,2.97个棒状二体,没有发现多价体的出现。在田间种植过程中也未发现性状的分离现象,说明“84059-4-2”在细胞学和形态上均已达到稳定状态。

## 讨 论

1. 我们在研究中发现,不同物种染色体所要求的显带条件不一定相同,即使用同一种方法能显示带纹的不同物种,其显示最清晰区分性带纹的条件也有差异。所以在本研究中,为使小麦染色体和黑麦染色体都能显示最清晰的带纹,我们在显带条件上进行了某些改良,探索出了方法I和方法II这两种C-分带方法。利用这两种方法相结合以及与N-分带相结合,不仅准确的鉴定出了易位所涉及的小麦和黑麦染色体,而且还确定了易位片段的大小和易位断点的位置。根据这一研究结果,我们认为,在鉴定异源染色体代换和易位中,首先要弄清楚所要鉴定物种其染色体显带的最合适显带条件,然后用最合适的条件进行分带,把所得结果进行比较,就能较准确的判断异源染色体代换,易位和其它结构变异的情况。当然由于目前植物染色体显带技术不象人类和动物那样好,某些染色体的带纹还很不丰富,因而还不能对所有异源染色体的代换和易位进行鉴定,但是我们相信,随着分带技术和原位杂交等技术的发展,易位染色体的鉴定工作将更加深入细致。

2. 在分带的基础上,有目的的选择一些与易位有关的双端二体与鉴定材料进行杂交;然后观察F<sub>1</sub>代花粉母细胞减数分裂的配对情况,这不仅可以准确的验证分带分析的结果,而且还可以获得分带所难以得到的信息。本研究利用两个双端二体进行测验的结果就充分说明了这一点。这种分带技术和非整倍体方法的结合应用,不仅适合于小麦-黑麦染色体代换和易位的鉴定,也适合其它小麦远缘杂种的鉴定。

3. 本文所报道的“84059-4-2”选系仅仅是我们选育的1B/1R易位系中的一个,其它还有一些农艺性状不同的1B/1R易位系;在欧洲和世界其它国家的小黑麦杂种中,也出现大量1B/1R易位或代换<sup>[11,16]</sup>,而且这些品种多表现抗病;利用1B/1R易位系和代换系做杂交亲本所得到的后代衍生系也往往含有1B/1R代换或易位<sup>[10,11,16]</sup>。这可能是1R本身含有有利基因和人工选择双重作用的结果,因为,据报道,黑麦1R染色体上含有抗白粉病,抗锈病基因,因而在人工选择下1R或其短臂片段很易保存下来。本研究所鉴定的“84059-4-2”选系对白粉病表现高抗,很可能其中含有的抗性基因也来自1R。1R或其短臂能在小麦品种中普遍存在还可能与它小麦遗传背景中不易被排除有关<sup>[7]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] 徐杰等,1988,江苏农业学报,第四卷增刊,78—81。
- [2] 钟少斌等,1989,遗传学报,6,415—419。
- [3] Cai, X.W. and D.J.Liu, 1989, Theor. Appl. Genet., 77, 81—83。
- [4] Endo, T.R. and B.S.Gill, 1984, Chromosoma, 89, 361—369。

- [ 5 ] Endo, T.R., 1986, *Jpn. J. Genet.*, 61, 89—93.
- [ 6 ] Gill, B.S. and G.Kimber, 1977, *Crop Science*, 17, 264—266.
- [ 7 ] Gustafson, J.P. and M.D. Bennett, 1976, *Crop Science*, 16, 688—693.
- [ 8 ] Jewell, D.C., 1978, *Proc. 5th Int. Wheat Genet. Symp.*, New Delhi, India, pp. 1208—1212.
- [ 9 ] Lukaszewski, A.J. and J.P. Gustafson, 1983, *Theor. Appl. Genet.*, 64, 239—248.
- [ 10 ] Merker, A., 1982, *Cereal Res. Commun.*, 10 (1—2), 105—107.
- [ 11 ] Mettin, D. et al., 1973, *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia, Mo, USA, pp. 179—184.
- [ 12 ] Riley, R. and C.N. Law, 1965, *Adv. Genet.*, 13, 57—114.
- [ 13 ] Sallee, P.J. and G.Kimber, 1978, *Proc. 5th Int. Wheat Genet. Symp.*, New Delhi, India, pp. 408—419.
- [ 14 ] Seal, A.G., 1982, *Theor. Appl. Genet.*, 63, 39—47.
- [ 15 ] Sybenga, J., 1983, *Z. Pflanzenzuchtg.*, 90, 297—304.
- [ 16 ] Zeller, F. J., 1973, *Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp.*, Columbia, Mo, USA, pp. 209—221.

## Cytological Identification of 1B/1R Translocations in a Bread Wheat Line

Zhong Shaobin

Yao Jingxia

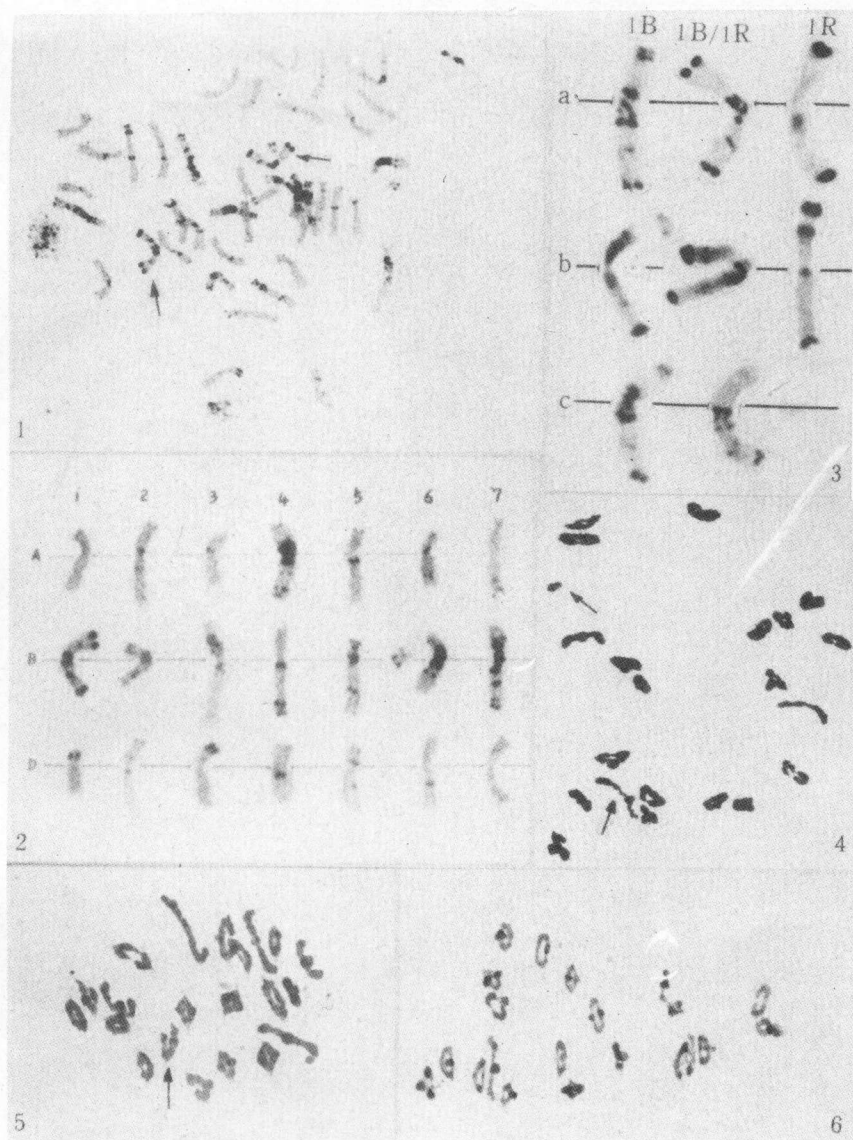
(*Institute of Agrobiological Genetics and Physiology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, 210014 Nanjing*)

### Abstract

Two C-banding methods (called Method I and Method II), which can differentiate all chromosomes of *T.aestivum* and *S.cereale* respectively, were used to analyze the somatic chromosomes of a bread wheat line, “84059-4-2”. When Method I was used, it was found that the short arm of 1B was substituted by a segment of rye chromosome which was identified to be 1RS with Method II. N-banding was also used, the long arm and its centromere of the changed chromosome in “84059-4-2” showed N-banding pattern similar to that of corresponding portion in normal 1B, but no bands were observed in the short arm. All these results suggested that “84059-4-2” contained 1B/1R translocations consisting of 1BL with its centromere and 1RS.

The C.S. double ditelosomic lines 1A and 1B (DDT 1A and DDT 1B) were used to cross with “84059-4-2” and the pairing configurations at MI of PMCs in the hybrids were analyzed. 46.25% of the PMCs in  $F_1$  of (DDT 1A  $\times$  84059-4-2) had a heteromorphic trivalent. No heteromorphic trivalent but a heteromorphic bivalent and a 1BS-telosomic univalent were observed in 95.83% of the PMCs of the  $F_1$  hybrid between DDT 1B and “84059-4-2”. This indicated that 1BS of “84059-4-2” was absent, replaced by the arm of the rye chromosome, which further confirmed the conclusion drawn from the banding analysis.

**Key words** Common wheat, Rye, Chromosome, Translocation, C-banding, N-banding, Double ditelosomic



图版说明

1. “84059-4-2” 的 C-分带染色体(方法 I), 示一对易位变异染色体; 2. “84059-4-2” 的 C-带核型(方法 I), 示变异的 1B 染色体; 3. 不同分带条件处理的 1B, 1B/1R 和 1R. a. 用 C-分带方法 I, b. 用 C-分带方法 II, c. 用 N-分带; 4. (DDT1B × 84059-4-2)F<sub>1</sub> 花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对构型. 示一个异型二价体和一个游离端体; 5. (DDT1A × 84059-4-2)F<sub>1</sub> 花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对构型. 示一个异型三价体; 6. “84059-4-2” 的花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对构型. 示 21 个二价体.

Explanation of Plate

1. C-banded chromosomes of “84059-4-2” with Method I, showing a pair of translocations; 2. C-banded karyotype of “84059-4-2”, showing the changed 1B; 3. Banded 1B, 1B/1R and 1R with different methods. a. with C-banding Method I, b. with C-banding Method II, c. with N-banding; 4. Meiotic pairing at MI in (DDT 1B × 84059-4-2)F<sub>1</sub>, a heteromorphic bivalent and a 1BS-telosomic univalent indicated; 5. Meiotic pairing at MI in (DDT 1A × 84059-4-2)F<sub>1</sub>, a heteromorphic trivalent showed; 6. Meiotic pairing at MI of “84059-4-2”, showing 21 "