

TH INOPYRUM BESSARABICUM 和 TH INO-
PYRUM ELONGATUM 的基因组关系研究*

英 加 陈佩度 刘大钧

(南京农业大学农业部细胞遗传重点开放实验室 南京 210095)

提 要 对 2 个八倍体 C. S-*Thinopyrum bessarabicum* (AABBDDJJ, $2n=8x=56$) 和 Goshawk (GHK)-*Thinopyrum elongatum* (AABBDDEE, $2n=8x=56$) 的根尖细胞染色体进行 C-分带, 从中分检出 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 的各自染色体进行核型分析, 结果表明: *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 的大多数染色体都具有端带, 但 *Th. bessarabicum* 的端带更强, 很少有中间带; 而 *Th. elongatum* 的染色体除 E_1 外其它染色体的端带较弱, 而且带纹较丰富, 有较多的中间带。对 C. S-*Th. bessarabicum* 和 GHK-*Th. elongatum* 进行有性杂交, 其杂交种 F_1 的 PMC 染色体在 MI 的平均配对构型为 $15.50\text{ I} + 5.03\text{ II} + 14.20\text{ III} + 0.40\text{ IIII} + 0.21\text{ V}$, 其中 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 染色体平均配对成 2.5 个二价体, 由 C-分带显示大多数 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 染色体呈单价体状态。因此推断, *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 两物种的染色体应属不同的染色体组。

关键词 普通小麦, *Thinopyrum bessarabicum*, *Thinopyrum elongatum*, C-分带

中图分类号: Q 943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-470X (2000) 04-0261-05

STUDIES ON GENOMIC RELATIONSHIPS BETWEEN
TH. BESSARABICUM AND TH. ELONGATUM

Ying Jia Chen Peidu Liu Dajun

(Key Laboratory of Crop Cytogenetics, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University Nanjing 210095)

Abstract Chromosomes of two octoploids C. S-*Thinopyrum bessarabicum* (AABBDDJJ, $2n=8x=56$) and GHK-*Thinopyrum elongatum* (AABBDDEE, $2n=8x=56$) were C-banded and karyotypes were analyzed with metaphase chromosomes, respectively. The results showed that terminal C-banding were observed in both chromosomes of *Th. bessarabicum* and *Th. elongatum*, but the J genome of *Th. bessarabicum* had prominent terminal C-bands, which not present in that of *Th. elongatum* except chromosome E_1 . On the other hand, the chromosomes of *Th. elongatum* showed several interstitial C-bands, while *Th. bessarabicum* did not. The chromosome pairing in octoploid hybrid between C. S-*Th. bessarabicum* and GHK-*Th. elongatum* was analyzed and octoploid hybrid showed a mean pairing of $15.50\text{ I} + 5.03\text{ II} +$

收稿日: 1999-08-14, 修回日: 1999-10-20。第一作者: 男, 1966年生, 助理研究员(博士), 从事植物细胞遗传研究。

* 麦氏基金资助项目。

14. 20 ⑩+ 0. 40 Ⅲ+ 0. 21 V with 2. 5 bivalents paired by chromosomes of *Th. bessarabicum* and *Th. elongatum*. Based on C-banding patterns, most chromosomes of *Th. bessarabicum* and *Th. elongatum* showed univalents. Therefore, it can be concluded that they have no very close relationship and should have different genomes.

Key words *Triticum aestivum*, *Thinopyrum bessarabicum*, *Thinopyrum elongatum*, C-banding

Th. bessarabicum 和 *Th. elongatum* 是类麦属(*Thinopyrum*) 的 2 个二倍体物种, 其基因组 J 和 E 是构成 *Thinopyrum* 多倍体物种的 2 个基本染色体组^[1]。按照 Love^[2] 的小麦族基因组分类系统, J 基因组被归入 *Thinopyrum bessarabicum* (Savul & Rayss) A. Love = *Agropyron bessarabicum* Savul & Rayss; *Elytrigia bessarabicum* (Savul & Rayss) Duborik。E 基因组被归入 *Thinopyrum elongatum* (Host) D. R. Dewey = *Agropyron elongatum* (Host) Beauv; *Lophopyrum elongatum* (Host) A. Lost; *Elytrigia elongata* (Host) Nevski。现在越来越多的学者采用 *Th. bessarabicum* ($2n = 2x = 14$; JJ) 和 *Th. elongatum* ($2n = 2x = 14$; EE) 命名。但在 E 和 J 2 个基因组的亲缘关系方面存在较大分歧。Dvorak^[3], McGuire^[4], Wang^[5] 通过对 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 之间互相有性杂交, 观察杂种 F_1 代花粉母细胞染色体的配对情况, 认为 J 组和 E 组的亲缘关系是如此之近, 可将它们划分为一个共同的染色体组, 即应将 J 改为 E^b。同样, Cauderon 等^[6] 和 Heneen 等^[7] 通过 E 和 J 组的核型分析和基因组分析, 得出 E 和 J 基因组关系极近的结论。然而, Jauhar^[8] 认为 E 和 J 基因组关系不是很近, 两物种应归为不同的基因组。同样, Endo 和 Gill^[9] 通过对 J 组和 E 组染色体 C-分带表明 J 组和 E 组是 2 个不同的染色体组。

笔者从 E 和 J 基因组染色体 C-分带的核型, C-S-*Th. bessarabicum* 和 GHK-*Th. elongatum* 之间正反交及杂种 F_1 花粉母细胞染色体在减数分裂中期 I 的配对构型, 讨论了 J 基因组和 E 基因组的亲缘关系。

1 材料与方法

C-S-*Thinopyrum bessarabicum* (AABBDDJJ, $2n = 8x = 56$) 和 GHK-*Thinopyrum elongatum* (AABBDDEE, $2n = 8x = 56$) 由国际小麦玉米改良中心 (CMMYT) Dr. M. Ujeb-Kazi 提供。

1.1 细胞遗传学方法

根尖和花粉母细胞染色体 C-分带方法参照 Gill 和 Friebe^[10] 的程序。

种子在垫有湿润滤纸的培养皿中发芽, 当根长约 1~2 cm 时, 剪取两条种子根, 在 0℃ 冰水中预处理 22~24 h。预处理过的根尖吸掉所附的水份, 在卡诺氏固定液 (3 份 95% 乙醇: 1 份冰醋酸) 中固定 2~7 d, 然后在 45% 醋酸中直接压片, 在相差显微镜下进行染色体计数, 观察。

在 45% 醋酸中压的片子, 置 -70℃ 超低温冰箱中 30 min 以上, 经冷冻揭片后在无水乙醇中过夜, 取出, 气干; 然后在 60℃ 0.2 mol/L HCl 中处理 2.5 min, 用蒸馏水冲洗后, 在饱和 Ba(OH)₂ 溶液中处理 7 min, 用流水冲载片几分钟, 再放入 60℃ 的 2×SSC 溶液中 60 min, 将载玻片直接从 2×SSC 溶液转入 2 份 Na₂HPO₄ (1/15 mol/L) · 1 份 KH₂PO₄

(1/15 mol/L) 缓冲液稀释的 Fisher Giesma 染液中染色至适度。用蒸馏水冲洗后, 气干, 滴二甲苯, 盖片后观察照相。

花粉母细胞减数分裂分析: 取处于减数分裂中期 I 的花药, 直接用卡诺氏固定液固定 1~2 d, 其染色体分带程序同上。

1.2 有性杂交方法

2个八倍体进行正、反有性杂交, 统计结实率, 分析杂种F₁花粉母细胞染色体配对情况。

2 试验结果

2.1 *Th. bessarabicum* 染色体C-分带的核型分析

对 C. S-*Th. bessarabicum* 八倍体进行C-分带, 从中分检出 *Th. bessarabicum* 的7条染色体(图版 I 1), 然后对其进行核型分析, 其染色体分带带型描述如下:

J₁: 短臂和长臂各具有强端带。J₂: 短臂具有强端带。J₃: 短臂具有强端带弱着丝粒带。J₄: 短臂具有强端带, 近着丝粒带, 长臂上有强端带。J₅: 短臂和长臂各具有强端带和近端带。J₆: 短臂具有强端带, 弱近端带和弱中间带。J₇: 短臂具有较强端带, 弱近端带和弱中间带, 长臂具有弱近端带。

2.2 *Th. elongatum* 染色体C-分带的核型分析

对 GHK-*Th. elongatum* 八倍体进行染色体C-分带, 从中分检出 7 条 *Th. elongatum* 染色体进行核型分析(图版 I 2), 其染色体分带带型如下:

E₁: 短臂具有强端带、强近端带和强着丝粒带, 长臂具有强端带, 强近着丝粒带。E₂: 短臂具有弱端带、弱近端带和弱近着丝粒带, 长臂具有弱端带。E₃: 短臂具弱端带, 弱近着丝粒带。E₄: 短臂具有强端带, 长臂具有弱端带, 弱近端带和弱近着丝粒带。E₅: 短臂具有弱着丝粒带, 长臂具弱端带。E₆: 短臂具有弱中间带, 弱近着丝粒带, 长臂具有弱端带。E₇: 短臂具有强端带, 较强近着丝粒带, 长臂具弱近着丝粒带。

由于染色体C-分带可显示组成型异染色质在染色体上的分布及染色体结构变异, 根据C-分带带型不仅可识别特定染色体, 而且可研究物种进化及不同基因组之间的关系。

从图版 I 1, 2 可明显地看到, 两物种的大多数染色体都具有端带, 但 *Th. bessarabium* 的端带更强, 很少有中间带; 而 *Th. elongatum* 的染色体除 E₁ 外其它染色体的端带较弱, 而且带纹较丰富, 有较多的中间带, 由此推测, *Th. elongatum* 和 *Th. bessarabicum* 具有两个明显不同的染色体组。

2.3 2个双倍体之间的正反杂交结实情况

2个双二倍体之间的正反杂交, 没有明显的不亲和性, 以 C. S-*Th. bessarabicum* 作母本, GHK-*Th. elongatum* 作父本, 其杂交结实率为 45.6%, 反交结实率为 40.6% (表 1)。

表 1 2个双倍体之间的正反杂交结实情况

Table 1 Receptical crosses between two amphiploids

组 合 Combination	授粉小花数 No. of florets pollinated	获得种子数 Seeds obtained	结实率 (%) Seed set
C. S- <i>Th. bessarabicum</i> × GHK- <i>Th. elongatum</i>	90	41	45.6
GHK- <i>Th. elongatum</i> × C. S- <i>Th. bessarabicum</i>	69	28	40.6

2 4 2 个双倍体亲本及其杂种的花粉母细胞染色体在减数分裂中期 I 的配对构型分析

我们以 2 个双倍体亲本作对照,对 C. *S-Th. bessarabicum* × GHK-*Th. elongatum* 杂种染色体在减数分裂中期 I 的配对构型进行了分析。2 个双倍体亲本 C. *S-Th. bessarabicum* 和 GHK-*Th. elongatum* 染色体在减数分裂中期 I 通常都能形成环状二价体,而且在减数分裂后期 I 两套配子染色体能均等分离,其中 C. *S-Th. bessarabicum* PMC 染色体在 M I 的平均配对构型为 3.10 I + 6.20 II + 20.25 III,有 40 个 PMC 染色体配对成 28 II (图版 I 3),占观察细胞总数 53 的 76%;GHK-*Th. elongatum* PMC 染色体在 M I 的平均配对构型为 2.81 I + 4.65 II + 21.95 III,有 45 个 PMC 染色体配对成 28 II (图版 I 4),占观察细胞总数 51 的 80% (表 2)。相比较而言,GHK-*Th. elongatum* 双倍体比 C. *S-Th. bessarabicum* 双倍体更稳定。

表 2 2 个双倍体及其杂种 F₁ 的 PMC 染色体配对构型
Table 2 Mean chromosome pairing configuration of PMC of two amphiploids and hybrid

亲本及杂种 Parents and hybrid	观察细胞数 Cell no. observed	2n	I	II			III	V
				II Rod	III Ring	合计 Total		
C. <i>S-Th. bessarabicum</i>	53	56	3.10	6.20	20.25	26.45		
GHK- <i>Th. elongatum</i>	51	56	2.81	4.65	21.95	26.60		
C. <i>S-Th. bessarabicum</i> × GHK- <i>Th. elongatum</i>	62	56	15.50	5.03	14.20	19.23	0.40	0.21

杂种 C. *S-Th. bessarabicum* × GHK-*Th. elongatum* 的 PMC 染色体在 M I 的平均配对构型为 15.50 I + 5.03 II + 14.20 III + 0.40 IV + 0.21 V,其中棒状和环状二价体的总和为 19.23,而在 C. *S-Th. bessarabicum* 和 GHK-*Th. elongatum* 二价体的总和分别达到 26.45 和 26.60。在所观察的 62 个杂种花粉母细胞中平均有 15.5 个单价体,对不同 PMC 染色体进行 C-分带后 (图版 I 5, 6) 呈单价体状态的染色体大都为 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 染色体,少数单价体为普通小麦染色体,这可能是由于导入 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 染色体而影响了小麦染色体正常配对所致。*Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 的染色体在所观察的 62 个杂种 PMC 中平均能配对成 2.5 个二价体,所配对成的二价体大都为棒状二价体。从以上杂种花粉母细胞染色体的配对分析不难看出 J 组染色体和 E 组染色体很难配对成二价体,即使配对成二价体,也以棒状二价体居多。因此 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 应属于不同的染色体组,即使起源于同一染色体组,二者已高度分化。

3 讨论

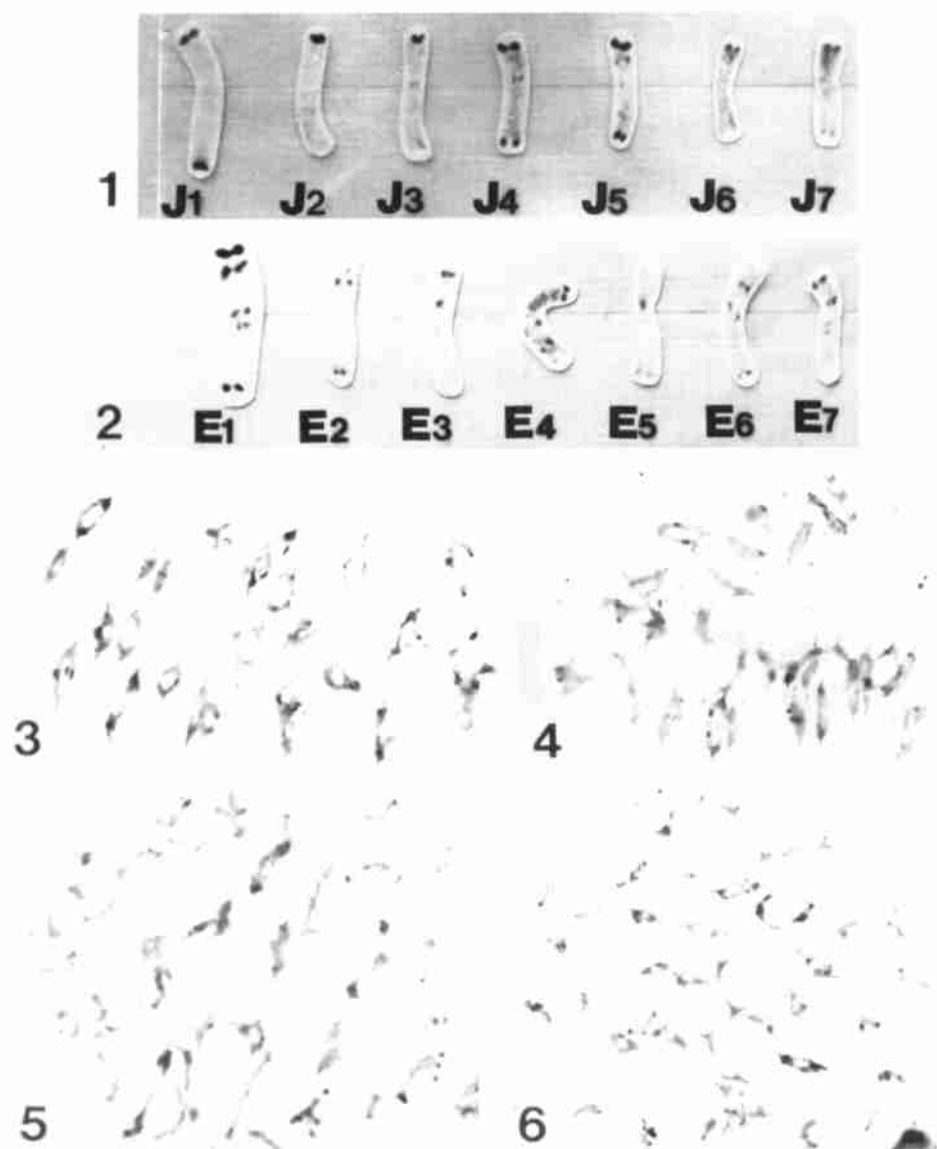
通常评估两物种基因组亲缘关系较为可靠的方法是研究两物种不同倍性杂种 F₁ 染色体在减数分裂中期 I 的配对构型。其次有染色体组核型分析^[11]、染色体分带带型分析^[9, 12]和用特异探针进行原位杂交^[13, 14]等。笔者利用 2 个双二倍体 C. *S-Th. bessarabicum* 和 GHK-*Th. elongatum* 进行有性杂交,杂种 F₁ 的花粉母细胞在减数分裂中期 I 的配对构型,在所观察的 62 个杂种细胞中,*Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 染色体平均只配

对成 2.5 个二价体, 大多数染色体呈单价体状态, 未发现两外源物种与小麦染色体配对的情况。另外, 从组成型异染色质在两物种染色体上的分布情况看, 两物种之间有明显的差异。同样, Endo 和 Gill^[9]通过对 J 组和 E 组染色体的 C-分带表明, J 组和 E 组是 2 个不同的染色体组。而 Jauhar^[8]认为, 假如 E 和 J 基因组亲缘关系非常近, 以致于归入一个基因组, 则 *Thinopyrum* 中的多倍体都为同源多倍体, 而同源多倍体就存在减数分裂染色体配对不规则、分裂不稳定、形成多交叉结、育性低和适应性差等特点, 但事实上 *Thinopyrum* 中的多倍体物种并非如此。另外, 从两物种不同倍性杂种 F₁ 染色体配对情况等方面估计了两物种的亲缘关系。例如, 观察了 *Th. bessarabicum* 和 *Th. elongatum* 的杂种 JE、杂种加倍以后的双二倍体 JJEE, 以及杂种回交后的三倍体 JJE 的花粉母细胞染色体配对情况和交叉结形成的频率之后, 认为 J 组和 E 组不应划分为同一个基因组, 两者的亲缘关系最近只能达到部分同源关系。

染色体 C-分带可显示组成型异染色质在染色体上的分布。因而, 利用 C-分带带型不仅可识别特定染色体, 用于检测导入普通小麦中的外源染色体, 而且可研究多倍体物种中各个染色体之间的相似形。Endo^[9]等利用 C-分带研究了组成型异染色质在 *Elymus* 和 *Agropyron* 12 个二倍体物种染色体上的分布, 通过 C-分带揭示了 Ju、C、E 和 J 基因组明显不同, 曾认为 J 和 E 基因组相同的观点未能通过 C-分带支持。

参 考 文 献

- 1 Dewey D R. The genome system of classification as a guide to intergenetic hybridization with the perennial Triticeae. In: Proceeding of the 16th Stadler Genetics Symposium. 1984 210~ 279
- 2 Love A. Conspectus of the Triticeae. *Feddes Repert*, 1984, **95**: 425~ 521
- 3 Dvorak J. Chromosome differentiation in polyploid species of *Elytrigia*, with special reference to the evolution of diploid-like chromosome pairing in polyploid species. *Can J Genet Cytol*, 1981, **23**: 287~ 303
- 4 McGuire P E. Chromosome pairing in triploid and tetraploid hybrids in *Elytrigia* (Triticeae: Poaceae). *Can J Genet Cytol*, 1984, **26**: 519~ 522
- 5 Wang P R-C. Genome analysis of *Thinopyrum bessarabicum* and *Thinopyrum elongatum*. *Can J Genet Cytol*, 1985, **27**: 722~ 728
- 6 Cauderon Y, Saigne B. New interspecific and intergenetic hybrids involving *Agropyron*. *W heat Inf Serv*, 1961, **12**: 12~ 13
- 7 Heneen W K, Runemark H. Chromosomal polymorphism in isolated populations of *Elymus* (*Agropyron*) in the Aegean. I. *Elymus striatulus* sp. nov. *Bot Acta*, 1972, **125**: 419~ 429
- 8 Jauhar P P A. reassessment of genome relationships between *Thinopyrum bessarabicum* and *Th. elongatum* of the Triticeae. *Genom e*, 1988, **30**: 903~ 914
- 9 Endo T R, Gill B S. The heterochromatin distribution and genome evolution in diploid species of *Elymus* and *Agropyron*. *Can J Genet Cytol*, 1984, **26**: 669~ 678
- 10 Gill B S, Friebe B, Endo T R. Standard karyotype and nomenclature system for the description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). *Genom e* 1991, **34**: 830~ 839
- 11 Hsiao C, Wang R R-C, Dewey D R. Karyotype analysis and genome relationships of 22 diploid species in the tribe Triticeae. *Can J Genet Cytol*, 1986, **28**: 109~ 120
- 12 Gill B S, Kimber G. Giemsa C-banding and the evolution of wheat. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, **71**: 4 086~ 4 090
- 13 Lapitan N L V, Gill B S, Sears R G. Genomic and phylogenetic relationships among rye and perennial species in the Triticeae. *Crop Sci*, 1987, **27**: 682~ 687
- 14 Rayburn A L, Gill B S. Molecular analysis of the D-genome of the Triticeae. *Theor Appl Genet*, 1987, **73**: 385~ 388



1. *Thinopyrum bessarabicum* 染色体 C-分带的核型; 2. *Thinopyrum elongatum* 染色体 C-分带的核型; 3. *C. S-Th. bessarabicum* 八倍体 PMC 在减数分裂中期 I 的配对构型; 4. *GHK-Th. elongatum* 八倍体 PMC 在 MI 的配对构型; 5. *C. S-Th. bessarabicum* × *GHK-Th. elongatum* 杂种染色体在 MI 的配对构型; 6. *GHK-Th. elongatum* × *C. S-Th. bessarabicum* 杂种染色体在 MI 的配对构型

1. RTC Chromosome banding of *Th. bessarabicum*; 2. RTC chromosome banding of *Th. elongatum*; 3. Meiotic configuration at MI of *C. S-Th. bessarabicum*; 4. Meiotic configuration at MI of *GHK-Th. elongatum*; 5. Meiotic configuration at MI of *C. S-Th. bessarabicum* × *GHK-Th. elongatum*; 6. Meiotic configuration at MI of *GHK-Th. elongatum* × *C. S-Th. bessarabicum*