

杀配子染色体的研究进展

曲敏^{1,2}, 张延明, 闫玉清, 徐香玲, 李集浩*

(1. 哈尔滨师范大学生命科学院, 黑龙江哈尔滨 150080; 2. 哈尔滨商业大学食品工程学院生物系, 黑龙江哈尔滨 150076)

摘要 来源于山羊草属的杀配子染色体, 已被导入普通小麦中, 这些外源染色体可以选择性地引起缺少这些染色体的配子不育, 并且能够使其自身得以优先传递。杀配子染色体可诱导染色体畸变产生易位、缺失, 有利于构建物理图谱。阐述了杀配子染色体研究进展的有关内容。

关键词 小麦; 山羊草; 杀配子染色体; 易位系; 缺失系; 物理图谱

中图分类号 Q343.2+4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)12-03461-02

Endo 于1979年发现来自山羊草属(*Aegilops*)的某些种, 如柱穗山羊草(*Ae. cylindricum* Hbst, 2C)、离果山羊草(*Ae. triuncialis* L., 3C)、斯卑尔托山羊草(*Ae. speltoides* Tausch, 2S和6S)、高大山羊草(*Ae. longissima* Schweinf. & Mischl, 2S¹和4S¹)和沙轮山羊草(*Ae. sharonensis* Hg, 2S^{sh}和4S^{sh})等^[1], 单体附加到不同基因型普通小麦中, 具有完全或不完整的杀配子作用, 在不完全杀配子作用下, 可高频率诱导各种类型的染色体结构变异, 与各种人工诱变相比, 诱变率极高, 变异频率高达10%~12%。这些杀配子染色体(gametocidal chromosome)是经长期自然选择保留下来的, 有的与小麦有同祖关系, 在诱导染色体结构变异及麦类作物协同进化中有特殊的意义^[2]。Endo 将它称之为“活体诱导”, 以区别于外界条件的人工诱变, 并对杀配子染色体结构变异的特点及进化意义进行评述^[3]。杀配子染色体不仅可诱导普通小麦染色体结构变异, 而且对附加或代换到普通小麦中的外源染色体也具有同样的功能。这就为小麦的诱变育种开辟了一条新途径。利用杀配子染色体诱导染色体结构变异具有高效性、方向性和稳定性等特点^[4]。施芳等^[5]为了制备一套黑麦1R染色体缺失系, 以用于定位黑麦1R染色体上的控制重要农艺性状的基因, 把一条2C染色体导入小麦-黑麦1R二体附加系(21+1R), 并让这些个体(21+1R+2C, 2n=45)自交, 获得1R结构变异株, 创建了一套用于定位黑麦1R染色体上重要功能基因的遗传材料。笔者从利用杀配子染色体诱导染色体畸变和构建物理图谱两方面, 对杀配子染色体的研究进展进行了综述。

1 利用杀配子染色体诱导染色体畸变

向小麦中转入外源基因是提高小麦农艺性状和扩大基因组的重要手段, 特别是对于抗病而言^[6-7]。在有些情况下, 属间或种间不同基因组的染色体杂交在减数分裂时可以配对, 然而, 在大多数情况下, 减数分裂配对很少发生在亲缘关系远的物种之间, 这使得在这样的杂交中诱导转入外源染色体小片段变得困难。向小麦中导入外源片段的最常用方法之一就是离子辐射处理, 诱导染色体随机断裂和融合^[8]。第二种方法是诱导染色体部分同源重组^[9]。Endo等^[10]将杀配子染色体从*Aegilops*的某些种导入到普通小麦。当普通小

麦植株具杀配子染色单体时, 缺乏杀配子染色体的配子会被杀配子染色体诱导发生染色体断裂。Endo等对不同同祖群的杀配子染色体进行研究, 发现来自于不同同祖群(第2、3、4同祖群)的杀配子染色体, 其作用方式、特点各不相同。目前研究上应用较多的是来自柱穗山羊草的杀配子染色体2C和来自离果山羊草的杀配子染色体3C。这主要是因为它们的作用比较温和, 对后代的育性、结实率影响较小, 一般不使配子致死, 同时还可以高频诱导染色体的各种畸变, 如染色体缺失(deficiency)、易位(translocation)、双着丝粒染色体(dicentric)、等臂染色体(isobrachial)和环状染色体(ring chromosome)等。

大量研究已证明杀配子染色体诱导染色体畸变是有效的, 是创造小麦异源易位系的一个优良系统^[11-12]。目前已在普通小麦中国春整倍体^[10]、中国春-长穗偃麦草二体附加系^[11]、中国春-黑麦二体附加系^[13]、中国春-大麦二体附加系^[14]、大赖草^[15]、簇毛麦^[16]及中国春-黑麦1B/1R代换系^[17]中成功地诱导染色体易位与缺失。为了弄清杀配子染色体是如何有效地诱导外源染色体小片段导入到小麦中的, Misoudi-Nejad等^[18]选择黑麦(*Secale cereale* L)1R染色体随体(1R-Sat)作为导入的外源片段, 以普通小麦为背景, 将杀配子染色体3C和黑麦1R染色体相结合, 来了解3C诱导的1R小片段转移到小麦的效率。1R染色体的随体带有重要的农艺性状基因, 并且已定位在随体的有限区域, 这些基因包括种子贮存蛋白和抗病基因, 如抗病基因S31、Irr26、Yr9、Pn8分别对应小麦专有致病型的抗病毒种类——Puccinia graminis 秆锈病原体(the pathogen of stem rust), P. tritici-na 叶锈病(leaf rust), P. striiformis 条锈病(stripe rust), Blumeria 赤霉病(erysiphe), graminis 白粉病(powdery mildew)^[19]。同抗病位点紧密连锁, 有1个Sec-1位点, 编码黑麦贮存蛋白, 称为黑麦碱, 它对面包品质有消极影响。尽管那些病原体的每一个病毒致病型都已被记录, 但在许多区域, 1个或更多的抗性基因都是无效的。所以, 从农艺学的角度来看, 尝试从抗性位点中分离Sec-1位点很有意义。Sec-1位点接近锈病和白粉病抗性位点^[20], 因此, 尝试通过端部缺失来移动Sec-1必将会导致抗性基因的丢失。而通过杀配子系统向小麦中导入1R-Sat片段, 能成功得到只含有抗锈位点而没有Sec-1的小麦-黑麦易位。证明3C杀配子系统在转移黑麦染色体片段上显著有效。李红美等^[21]利用已选育的抗白粉病烟农15'中间偃麦草二体异附加系与含离果山羊草3C杀配子染色体的普通小麦, 农林26'异附加系杂交, 对F₁、F₂、F₃代的细胞遗传学

基金项目 国家自然科学基金项目(39870417); 黑龙江省自然科学基金项目(C200602)。

作者简介 曲敏(1966-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 博士, 副教授, 从事细胞遗传学研究。* 通讯作者, 博士生导师, 教授, E-mail: jilinlee2004@yahoo.com.cn。

收稿日期 2007-01-18

特点进行了观察,分析了3C 杀配子染色体在各世代的作用,结果发现, F_1 、 F_2 花粉母细胞减数分裂中期I 的单价体数和多价体数明显高于理论值,后期I、后期II 和四分体时期出现大量落后染色体、染色体桥和微核等现象,在 F_3 代中鉴定出2 株对白粉病表现免疫且染色体数目为42 的植株,染色体构型为21II 的材料,初步判断可能是含有中间偃麦草抗白粉病基因的易位系。推测这可能与杀配子染色体3C 诱发染色体结构变异的作用有关。陈全战等^[16] 利用离果山羊草3C 杀配子染色体的作用,成功地诱导出涉及簇毛麦染色体的易位系、端体、等臂染色体。孙仲平等^[22] 利用杀配子染色体2C 诱导中国春- 黑麦二体附加系染色体畸变,得到多株易位系。Endo 和Shi 等成功地诱导出小麦- 黑麦^[23]、小麦- 大麦^[14] 易位系。

2 利用杀配子染色体构建物理图谱

普通小麦是由AA、BB 和DD3 组染色体组成的,部分同源染色体和它的多倍性给遗传研究带来了挑战。普通小麦的基因组大,异源多倍性和种内酶切位点与片段长度多态性少,这使得在普通小麦中构建高密度的RFLP、SSR 等DNA 分子标记图谱成为相当艰巨的任务。采用分子遗传学方法构建物理图谱一般有2 种方法,一是用大的基因组文库构建重叠群,二是用稀有酶构建大范围限制性酶切图谱。这些方法对基因组内小范围的精细结构作图是有用的,但却不适合小麦基因组的物理作图。根据细胞遗传学方法构建的小麦细胞学图谱(或称染色体图谱),可以提供每条染色体缺失体的分带带型模式,缺失断裂点的位置和定位于每个缺失区间隔区的分子标记等有关信息。将已构建的小麦染色体图谱与遗传图谱比较,平行排列,在它们共有的标记之间画上连接,就可以绘制出一张细胞遗传阶梯图谱(cytogenetic ladder map,CLM)。到目前为止,构建的小麦细胞遗传阶梯图已提供了有关小麦基因组遗传组成的许多重要信息。在小麦中,沿着染色体长度的重组分布是极其不均衡的,大部分重组发生在约占小麦染色体臂50% 的远端区域,尤其集中在10% 的远端区域。重组的非随机分布通常是由于在每条染色体上平均存在1~2 个重组热点。重组热点周围的染色体区域通常也是染色体上的易断裂部位和基因富集区域。

普通小麦“中国春”的非整倍体系统,如单体系统(monosomics)、双端体系统(ditelosomics)、缺体- 四体系统 nullisomic-tetrasomics) 等,已由Sears 育成,这些非整倍体系统对于基因在染色体和染色体臂上的定位具有非常重要的意义。来自柱穗山羊草的杀配子染色体,以单体形式存在于小麦背景时,能够引起不携带这条染色体的配子染色体断裂,并由此产生染色体的缺失。由杀配子染色体引起的缺失往往属顶端缺失,其染色体断裂末端被端粒序列封口后,缺失系统在遗传上变得相当稳定。除极少数染色体区段外,缺失断裂点随机分布于各染色体上。使用这种方法,产生了一批小麦缺失系,并且已广泛应用到各种DNA 标记的物理图谱中,如:RFLPs、STSs 和ESTs 等^[24]。Endo^[25] 已制备出涵盖小麦21 条染色体两臂各区段的436 个缺失系统。缺失系统作图主要是依据整倍体与缺失系的图谱进行比较,根据特定RFLP 带在缺失系上的缺失位点,来确定与该分子标记相对应的染色

体缺失区段,从而将各RFLP 标记定位在特定染色体的缺失间隔区。利用已获得的涵盖小麦21 条染色体的不同缺失系,现已构建成了小麦1B 染色体和第2、3、4、5、6、7 同源群染色体的物理图谱,并确定了Phb 基因在5B 染色体上的物理距离。除1A 和1D 染色体外,平均每条染色体分布有10~15 个标记。许多以往因缺少多态性而未能标定到小麦遗传图上的探针也被用此法标定到物理图谱上^[26-27]。

但遗传连锁图谱存在一定的局限性。第一,减数分裂重组频率限制了分辨率,只能通过增加群体数量来进行控制;第二,只有多态标记才能被制图;第三,遗传距离不总是反映真实的物理距离。如水稻的变化范围在120~1 000 kb;小麦在高重组区域1 cM 等同于118 kb,但是在低重组区域等同于22 000 kb。Ali 等^[28] 依据杀配子染色体2C 诱导大麦7H 染色体产生畸变,绘制了一个在小麦遗传背景下的7H 染色体片段图。并且运用方法学将基于PCR 的大麦标记和SSRs、AFLPs 定位在7H 染色体上,这些标记都依赖于7H 染色体和小麦基因组之间的多态性。同时把用这种方法绘制的图谱称为GC 图谱(gametocidal chromosome mapping)。最终的GC 图包含50 个位点,分布横跨整个7H。7H 染色体的总长度约600 图距,在遗传图谱上相当于约187 cM。在GC 图谱上标记的距离表示为cG,1 cG 对应两标记间1% 的断裂频率(这是由于杀配子作用的)。cG 和cM 相对比,1 cM 约等同于3.5 cG。GC 图谱通过染色体重排来进行标记,即使在非多态标记的情况下,也同样适用,并且这种图谱相对容易得到。另外,在使用相同图谱的情况下,图谱具有累加功能,可直接把新的标记加上。GC 图谱对基于克隆而绘制的物理图谱计划是个补充,有关的大麦研究正在进行。同时,GC 图谱对于同物理图谱没有重叠的BAC 重叠区的钓选装配来说也是一个有力的工具。再者,带有外源亚染色体片段的GC 系是很好的载体,它可以形成特异性亚染色体片段DNA 标记和基因文库^[29-30]。

参考文献

- [1] BERND FRIEBE, PENG ZHANG, SHUHI NASUDA, et al. Characterization of a knock-out mutation at the Gc2 locus in wheat [J]. *Chromosome*, 2003, 111: 509 - 517.
- [2] ENDO T R. Gametocidal chromosome of three *Aegilops* species in common wheat [J]. *Can J Genet Cytol*, 1982, 24: 201 - 206.
- [3] ENDO T R. Induction of chromosomal structural changes by a chromosome of *Aegilops cylindrical* in common wheat [J]. *J Hered*, 1988, 79: 366 - 370.
- [4] ENDO T R. Gametocidal chromosome and their induction of chromosome mutations in wheat [J]. *Jpn J Genet*, 1990, 65: 135 - 152.
- [5] SHI FANG, LIU KUN FAN, ENDO T R, et al. Inducing rye 1R chromosome structural changes in common wheat cv. Chinese Spring by the gametocidal chromosome 2C of *Aegilops cylindrical* [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(5): 487 - 494.
- [6] GALE MD, MILLER T E. The introduction of alien genetic variation in wheat [C]// LUPTON FGH. *Wheat Breeding: Its Scientific Basis*. London: Chapman and Hill, 1987: 173 - 210.
- [7] FRIEBE B, JIANG J, RAUPP WJ, et al. Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status [J]. *Euphytica*, 1996, 91: 59 - 87.
- [8] SEARS E R. Use of radiation to transfer alien chromosome segments to wheat [J]. *Gen Sci*, 1993, 33: 897 - 901.
- [9] SEARS E R. Genetic control of chromosome pairing in wheat [J]. *Ann Rev Genet*, 1976, 10: 31 - 51.
- [10] ENDO T R, GILL B S. The deletion stocks of common wheat [J]. *J Hered*, 1996, 87: 295 - 307.
- [11] 李集临, 徐香玲, 徐萍, 等. 利用中国春- 山羊草2C 二体附加系与中

- 国春- 偃麦草5E 二体附加系杂交诱发染色体易位和缺失J]. 遗传学报,2003,30(4) :345 - 349.
- [12] 王献平, 初敬华, 张相歧. 小麦异源异位系的高效表达诱导和分子细胞遗传学鉴定J]. 遗传学报,2003,30(7) :619 - 624.
- [13] FRIEBE B, KYNAST R G, GILL B S. Gametocidal factor-induced structural rearrangements in rye chromosomes add to common wheat [J]. *Chromosome Res*, 2001, 8 :501 - 511.
- [14] FANG SH, ENDO T R. Production of wheat-barley disomic addition lines possessing an *Aegilops cylindrical* gametocidal chromosome [J]. *Genes Genet Syst*, 1997, 72 :243 - 248.
- [15] 袁建华, 陈佩度, 刘大均. 利用杀配子染色体创制普通小麦- 大赖草染色体异易位系J]. 中国科学: C 辑, 2003, 33(2) :110 - 116.
- [16] 陈全战, 元增军, 冯纬高, 等. 利用离果山羊草3C 染色体诱导簇毛麦4V 染色体结构变异J]. 遗传学报, 2002, 29(4) :355 - 358.
- [17] ENDO T R. Structural changes of rye chromosome 1R induced by a gametocidal chromosome [J]. *Jpn J Genet*, 1994, 69 :13 - 19.
- [18] MASOUDI-NEJAD A, NASUDAS, MINTOSH R A, et al. Transfer of rye chromosome segments to wheat by a gametocidal system [J]. *Chromosome Res*, 2002, 10 :349 - 357.
- [19] MINTOSH R A. Catalogue of gene symbols for wheat [C] // SINKARD A E. Proceedings of 9th International Wheat Genetic Symposium. Saskatoon: University Extension Press, University of Saskatchewan, 1998 :123 - 145.
- [20] LUKASZEWSKI A J. Manipulation of the 1RS.1BL translocation in wheat by induced homoeologous recombination [J]. *Genet*, 2000, 40 :216 - 225.
- [21] 李红美, 李兴锋, 高居荣, 等. 抗白粉病小麦- 中间偃麦草二体附加系与杀配子材料杂交后代的细胞遗传学研究J]. 西北植物学报, 2005, 25(4) :686 - 691.
- [22] 孙仲平, 王占斌, 徐香玲, 等. 利用杀配子染色体2C 诱导中国春- 黑麦二体附加系染色体畸变的研究J]. 遗传学报, 2004, 31(11) :1268 - 1274.
- [23] ENDO T R, KYAMAMOTO M, KIMUKAI Y. Structural changes of rye chromosome 1R induced by gametocidal chromosome [J]. *Japan J Genet*, 1994, 69 :13 - 19.
- [24] QI L L, ECHAIER B, CHAOS, et al. A chromosome Bn Map of 16,000 Expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat [J]. *Genetics*, 2004, 168 :701 - 712.
- [25] ENDO T R. Allocation of gametocidal chromosome of *Aegilops cylindrical* to wheat homoeologous group 2 [J]. *Cere Syst*, 1996, 71 :243 - 246.
- [26] GILL K S, GILL B S, ENDO T R. A chromosome region-specific mapping strategy reveals gene-rich telomeric ends in wheat [J]. *Chromosome Res*, 1993, 1 :374 - 381.
- [27] ENDO T R, GILL B S. The deletion stocks of common wheat [J]. *J Hered*, 1996, 87 :295 - 307.
- [28] ALI MASOUDI-NEJAD, SHUHEI NASUDA, MARIE THERESE B HOREAU, et al. An alternative to radiation hybrid mapping for large scale genome analysis in barley [J]. *Mil Genet Genomics*, 2005, 274(6) :589 - 594.
- [29] JANDA J, BARTOS J, SAFAR J, et al. Construction of a subgenomic BAC library specific for chromosomes 1D, 4D and 6D of hexaploid wheat [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 109(7) :1337 - 1345.
- [30] SAFAR J, BARTOS J, JANDA J, et al. Dissecting large and complex genomes: flow sorting and BAC cloning of individual chromosomes from bread wheat [J]. *Hered*, 2004, 39(6) :960 - 968.