

大麦 DNA 导入小麦引起叶耳颜色变异的遗传学初步观察

李友勇 茹振刚 王巧玲

(河南职业技术师范学院, 新乡 453003)

摘 要 将二棱大麦(叶舌、叶耳红色) DNA 通过花粉管途径导入小麦品种“百农 3217”(叶舌、叶耳无色), 获得叶耳、叶舌颜色红色的变异植株。观察其后代(T_2 、 T_3), 以及“百农 3217 \times 叶耳红色 T_4 株”杂交的 F_2 。结果表明, 变异植株的叶舌、叶耳红色性状表现单基因显性遗传, 同时也发现, 普通小麦叶舌、叶耳红色性状遗传非一对基因控制(导入处理产生的红色 无色= 3 : 1 是叶舌叶耳遗传的一个特例), 颜色深浅还有数量基因的累加效应, 并且一定环境条件(稀植、低温)可诱导叶舌、叶耳红色表现。

关键词 转基因 小麦 叶耳颜色 遗传

近些年来, 利用花粉管途径, 将外源 DNA 直接导入受体, 从而获得转基因植物的例子逐渐在增多^[1~5, 13, 15], 在小麦中也有成功报道^[6, 7, 14]。作者于 1989 年用大麦 DNA 处理小麦, 在后代中出现有叶舌叶耳红色(为了简略, 以下只提叶耳)的可见变异。普通小麦品种中本身也有叶耳红色(或紫色)性状。为了证明外源 DNA 导入引起变异的真实性, 以及弄清该叶耳变异的遗传特性, 我们进行了一系列观察和研究, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 原始材料

原始供体为二棱黑颖大麦, 叶耳红色。受体为“百农 3217”, 叶耳无色。大麦 DNA 提取、对受体处理方法以及处理第一代 T_1 的表现详见参考文献 [8, 9]。

1.2 处理后代田间种植

1.2.1 T_1 单株收获, 秋播成 T_2 株系, 株距 13cm, 点播。次年小麦起身至抽穗期间调查叶舌叶耳色分离。

T_2 株系按单株收获, 在各株行中随机选择单株, 种成 T_3 株系, 调查 T_3 株系叶耳、叶舌颜

色分离。

1. 2. 2 为了了解导入基因的遗传特点, 1994 年还做 2 个杂交组合: 一个为组合 A: 百农 3217 × T₄ 红叶耳株, 另一个为组合 B: 百农 3217 × A 069, 其亲本为:

百农 3217: 受体原始品种, 叶耳无色;

T₄ 红叶耳株: T₃ 中叶舌不分离的株行, 说明叶耳颜色基因纯合, 选取单株种植的株系, 即 T₄;

A 069: 普通小麦品种, 叶耳红色。

杂种 F₁ 1994 年秋播, 1995 年表现叶耳全为红色, 1995 年秋播 F₁ 单株生成 F₂ 株系, 1996 年调查两组合叶耳分离。

2 结果与分析

2. 1 小麦叶耳颜色的田间表现

据观察, 小麦叶耳色在田间表现有两种情况:

一种是非遗传的浅红色。在拔节至抽穗前, 在密度低或边行或每行的行边植株, 叶耳易表现浅红色; 尤其在拔节后(3、4 月份) 的低温寒潮后, 叶耳红色加深。而在密度较大的行间, 则不表现红色。选择边行的浅红色植株种植, 后代仍是该表现特点, 红色不会积累加深。因此, 我们认为这是一种条件诱导的遗传性状, 或者是花青素暂时积累的非遗传因素表现。

第二种情况是遗传型叶耳红色。这种颜色表现在起身后, 不因密度、边行等因素而改变。颜色有浅红、红, 甚至是紫色。这种颜色的深浅不同, 说明控制叶耳红色基因显性遗传中带有数量效应。

2. 2 T₂ 叶耳色分离

T₂ 叶耳色分离比

见表 1。从表 1 中可看出, 分离比例更趋向于 4 : 1。按 3 : 1 理论比率做卡方检验, 集合卡方值 $\chi^2 = 4.58$, 达显著水平。但若测定个别样本卡方值, 则都不达显著水平, 如卡方值最大为 1 号株, $\chi^2 = 2.56$ 。

表 1 T₂ 叶耳色分离比率

株 号	1	2	3	4	5	6	7	8
分离比 (红 白)	40 7	42 14	31 10	40 9	41 8	36 7	33 10	30 9
\sum 红 白=	293	74	= 3.96	1				

2. 3 T₃ 株系分离比

T₃ 株系叶耳色分离比率见表 2。若把表 2 中分离株系归类, 可得到全红() 分离 全白($\sqrt{}$) = 20 : 51 : 16 的株系分离(这个数据是把红色有 2 株和 1 株的株系仍按 0 株记, 因为在种植的无色叶耳株行中常常有 1~2 株是红色的, 这可能是天然杂交的结果。而有 1 株白色叶耳株的就归类在分离株系中, 因一旦红色中出现无色叶耳, 肯定属于分离型)。

T₃ 分离株系卡方检验:

按 3 : 1 理论比率 $\chi^2 = 2.026$

按 1 : 2 : 1 理论比率 $\chi^2 = 2.664$

按 4 : 1 检验 $\chi^2 = 0.14$

T₃ 分离株系中, 红色 白色= 1240 371= 3. 34 1 卡方检验:

按 3 1 理论比率 $\chi^2 = 3. 33$

按 4 1 检验 $\chi^2 = 9. 23^{* *}$

T₃ 株系分离比和 T₂ 单株分离比检验结果是一致的。但检验 T₃ 分离株系中个体分离比率, 则远离 4 1, 符合 3 1, 显然, 这个结果是由于有较大群体的缘故。这个结果说明, 基因转化引起的红叶耳变异属单基因遗传。

表 2 T₃ 株系叶耳色分离比率(红 白)

A6-1	A6-2	A6-3	A6-4	A6-5	A6-6	A6-7	A6-8
21 6	19 18	31 0	19 6	35 0	√ 2 25	26 5	√ 0 32
21 10	29 1	√ 1 27	√ 1 25	32 3	20 8	√ 0 35	33 3
34 0	21 13	29 3	27 7	21 8	28 1	37 0	√ 0 25
10 12	√ 1 31	√ 1 22	32 2	30 0	30 0	6 25	20 9
√ 1 29	35 5	21 14	37 3	32 0	20 8	17 11	27 11
29 0	38 7	19 10	23 6	35 0	√ 0 36	14 14	√ 0 30
22 6	√ 1 29	33 2	√ 1 26	16 8	40 9	20 3	26 0
36 0	33 0	30 3	22 5	25 3	24 2	23 6	36 0
28 5	15 9	32 0	36 0	√ 2 27	27 3	√ 0 33	
25 6	29 0	34 2	30 2		29 7	6 21	
√ 0 30	33 0	35 6	18 7		25 9	31 0	
		28 8	30 0				
			31 0				
			20 10				
全红 分离 全白= 20 51 16							
44 个分离株系合计 红 白= 1240 371= 3. 34 1							

2. 4 两个杂交组合 F₂ 表现

2. 4. 1 两组合 F₂ 分离比率(见表 3) 组合 A 为 217 76= 2. 85 1, 按 3 1 理论比率检验, $\chi^2 = 0. 138$ 。即符合 3 1 比率, 而组合 B 为 1 1 的分离比率, 不为 3 1 分离比率。从该结果我们可看出, 小麦叶耳红色与非红色遗传非单一基因作用。对小麦叶耳颜色遗传的研究, 最早是木原均, 他的结论是叶耳色 F₂ 是 3 1 分离^[0], 即叶耳色受单显性质量性状基因控制。后来还有人注意到, 叶耳色有复等位的特点, 表现出紫/ 绿/ 无色表现型^[1]。本研究初步观察分析表明, 叶耳色遗传受一对以上的不完全显性基因控制。因为组合 B F₂ 红色与非红色的 1 1 分离, 说明它不是一对基因作用, 也不是两对、三对的重叠基因作用。而最大可能是有抑制红色表现的互作基因存在。小麦是三个物种合成的异源六倍体物种, 多数形态性状基因都有三对, 如粒色。组合 A 的 3 1 只是组合 B 的一种特例, 即是在其它基因皆处于对红色基因不发生作用的状态下的一种表现。事实上, 组合 A 双亲是同一品种, 仅有由于导入而引起的变异差异。而

组合 B 则不同, 双亲遗传背景差异较大。

2. 4. 2 两组合 F₂ 其它性状表现

在“百农 3217 × A069”组合中, 共种植 12 个小区, 24 行, 植株性状出现较大幅度分离, 有高、矮分离, 蜡质层变薄使叶色偏黄(百农 3217 蜡质较厚, 拔节前后呈灰色), 甚至不少株系中出现有不育株。而在“百农 3217 × T₄ 红叶舌株”组合中, 植株长相仍同“百农 3217”, 株高、叶色、穗型、芒性等与原品种一致。这说明, T₄ 红叶耳后代, 是导入基因后代的典型特点, 即总体上与受体一致, 个别性状出现变异。

表 3 组合 A、B F₂ 叶耳色分离比率

组 合	A		B	
分离比	20	4	46	12
	21	11	39	32
	13	8	41	37
	22	2	40	31
	19	2	31	35
	30	7	31	34
	13	4	33	28
	15	14	38	33
	19	9	28	44
	15	8	17	28
	30	7	17	40
			31	38
总和	217	76	392	392
比例	2.85	1	1	1
3 1 理论比率	219.75	73.25		
卡方检验	$\chi^2 = 0.138$			

3 讨论

3. 1 大麦 DNA 导入引起变异的特点

大麦 DNA 处理后代 T₂、T₃ 分离, 以及组合 A 的分离, 表明这是一单显性基因遗传。这说明外源 DNA 导入后引起的变异是单位点变异。这一结果与外源 DNA 导入其它作物引起的变异特性是一致的^[9, 5]。在表现型上, 本试验研究的外源 DNA 导入引起的叶耳色变异与普通小麦原有的叶耳色变异没有差异, 但处理后代的分离以及杂交组合 A 的分离, 说明导入处理引起的叶耳色变异确与外源 DNA 导入处理有关, 即试验的红叶耳确由大麦 DNA 导入而引起。至于导入引起红叶耳变异基因的细胞学基础, 推测有两种可能, 一种是确属大麦红叶耳基因 Pau^[12]的导入, 另一种可能是新产生的红叶耳性状是原小麦红叶耳基因位点的诱发表达。这些导入基因位点的鉴定工作, 有待今后进一步深入研究。

3. 2 小麦叶耳色变异遗传机制

小麦叶耳色变异的遗传基础, 在本试验结果中反映出来的是一对显性主基因遗传, 显性基因控制的红色有累加效应; 除此之外还有互作基因存在, 互作基因的存在状态以及作用方式也有待今后进一步深入研究。

参 考 文 献

1 倪德祥, 邓志龙. 转基因植物及其应用现状. 上海农学院学报, 1993, 9(1): 91 ~ 96

2 陈启锋, 等. 论 DNA 直接导入植物——一项育种新途径的建立与评述. 福建农学院学报(自然科学版), 1993, 22(1): 1 ~ 11

3 周光宇, 黄骏麒, 陈善葆, 等. 农业分子育种: 授粉后外源 DNA 导入植物的技术. 中国农业科学, 1988, 21

(3): 1 ~ 6

- 4 许勇, 周长久, 王福钧, 等. 外源 DNA 注射茄子子房后代性状的变异. 园艺学报, 1991, 18(1): 49 ~ 54
- 5 雷勃均, 尹光初, 卢翠华, 等. 外源 DNA 直接导入大豆的研究. 大豆科学, 1991, 10(1): 58 ~ 62
- 6 张建国, 曲士台, 王奎良, 等. 动态导入外源 DNA 对小麦 H₀、H₁ 代粒色的影响. 山东农业科学, 1991(1): 10 ~ 12
- 7 闫新甫, 刘文轩, 王胜军, 等. 大麦 DNA 导入小麦诱导抗白粉病变异的研究. 华北农学报, 1992, 7(2): 40 ~ 45
- 8 李友勇, 茹振刚, 姬美明, 等. 外源 DNA 处理小麦引起性状变异研究. 河南职技师院学报, 1992, 20(3): 34 ~ 39
- 9 李友勇, 姜德明, 荆瑞俊, 等. 一种快速提取植物 DNA 的良好材料与方法. 生物技术, 1994, 4(6): 40 ~ 42
- 10 汪呈因等编. 作物育种学. 北京: 国立编译馆, 1964, 289
- 11 董一中, 褚圻. 小麦细胞遗传学. 北京: 农业出版社, 1983, 179
- 12 金 RC 编, 褚圻等译. 作物遗传学手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1980, 103 ~ 105
- 13 A de la Pena, et al. Transgenic rye plants obtained by injecting DNA into young floral tillers. Nature, 1987, 325: 274 ~ 276
- 14 Hess D. Investigations on the intra- and interspecific transfer of anthocyanic genes using pollen as vectors. Z pflanzenphysiol, Bd. 98, 1980, 321 ~ 327

Preliminary Observation on Inheritance of Auricle and Ligule Colour Variance of Wheat by Introduction of Barley DNA

Li Youyong Ru Zhengang Wang Qiaoling

(Henan Vocation Technical Teachers' College, Xinxiang 453003)

Abstract Variant plants with red ligule and auricle were obtained by introduction of two-rowed barley DNA into a common wheat Bainong 3217 with colourless ligule and auricle. The result showed that red character of ligule and auricle presented single gene heredity by observing the segregation of ligule and auricle colour in the generation of T₂, T₃ and F₂ of Bainong 3217 × red auricle T₄. It was also found that red auricle and ligule heredity in wheat (*T. aestivum*) is controlled by more than one pair of gene. The additive effect of quantitative gene had influence on the shade of the colour, and some environment facts such as thickness of sowing, low temperature could induce red auricle and ligule. The ratio of 3 : 1 of red to colourlessness in ligule and auricle of wheat is a special case on the inheritance.

Key words: Transfer gene; Wheat; Ligulate colour; Heredity