

# 基因组荧光原位杂交区分百合回交一代的不同基因组\*

周树军

(山东农业大学林学院, 泰安 271018)

**摘要:** 利用东方百合 (Oriental Lily) 基因组 DNA 作荧光原位杂交的探针, 用鲑鱼精子 DNA 或亚洲百合 (Asiatic Lily) 基因组 DNA 作封阻 DNA, 对东方百合和亚洲百合杂种的回交一代 ( $BC_1$ ) 的中期染色体进行了荧光染色。该方法将东方百合和亚洲百合的两个基因组在其回交一代中清楚地区分开来。表明基因组荧光原位杂交技术既能有效地鉴定杂交的成败, 又能科学地分析基因组之间染色体的交换和重组。

**关键词:** 百合; 亚洲百合; 东方百合; 基因组荧光原位杂交; 核型

**中图分类号:** S 68    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0513-353X (2003) 04-0485-02

## 1 目的、材料与方法

东方百合 (Oriental Lily) 和亚洲百合 (Asiatic Lily) 是百合属 (*Lilium*) 中两大重要的品种类群。东方百合源于百合属具叶柄组 (*Archelirion*), 叶片宽大、暗绿, 叶柄明显, 茎硬, 花大、香味浓郁、多为粉色和白色; 亚洲百合源于百合属卷瓣组 (*Sinomartagon*), 叶窄、无柄, 茎较软, 但花朵朝上、花色丰富 (橙、黄、白、粉、红、紫和血红等)。这两个品种群形态特点互补, 对杂交培育新品种具有重要意义。作者采用基因组荧光原位杂交技术检测这两组百合回交一代, 以期减少育种工作的盲目性。

原始植物材料为亚洲百合和东方百合的回交一代 ( $BC_1$ ), 其编号为 002685-1 (OAA) 和 012075-1 (AOA)。是利用东方百合 (O) 和亚洲百合 (A) 杂种后代 OA 与亚洲百合 (A) 回交并通过胚培技术获得的, 所有植物材料均保存于 Wageningen 大学国际植物所实验室的培养室和温室。染色体制片根据周树军等<sup>[1]</sup>的方法。基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法<sup>[2]</sup>。原位杂交流程除探针标记外基本采用周树军等<sup>[3,4]</sup>的方法。作为探针的东方百合总基因组 DNA 被标记前用超声波处理为 1 ~ 10 kb 的片段, 然后用德国 Boehringer Mannheim 生产的含有 digoxigenin-11-dUTP 的缺口平移试剂盒进行标记; 作为封阻 DNA 的鲑鱼精子 DNA 或亚洲百合总基因组 DNA 在使用前用超声波处理为 500 ~ 600 bp 的片段。

## 2 结果与讨论

基因组荧光原位杂交的结果见插页 3 图版, A、B。根据该结果绘制了东方百合和亚洲百合的核型模式图 (插页 3 图版, C)。从上述结果可以看出东方百合和亚洲百合核型的外部特征基本相似, 如染色体的大小和类型相似, 大部分染色体为端部或近端部着丝点染色体; 区别较大之处在于东方百合的 2 号染色体着丝点近中部, 而亚洲百合的 2 号染色体着丝点近端部。从荧光原位杂交的结果和核型模式图也不难发现东方百合和亚洲百合染色体结构存在明显的差异, 不仅用荧光原位杂交的技术可以区分二者在其回交一代中的染色体, 而且它们的荧光 DAPI 带也有明显的不同, 东方百合的荧光 DAPI 带明显在一些染色体的着丝点区域 (图版 A 中白色箭头所指部位), 而亚洲百合的荧光 DAPI 带是在一些染色体的长臂和短臂中 (图版 A 中红色箭头所指部位)。我们同时注意到 DAPI 带在亚洲百合基因组中存在较大的变异, 在两条第 3 号和两条第 9 号染色体上各有一条有 DAPI 带, 而另一条染色体

收稿日期: 2003-03-09; 修回日期: 2003-04-25

\* 作者应邀为荷兰 Wageningen 大学国际植物所客座科学家期间的部分工作。

没有明显相应的 DAPI 带, 这是因为该回交后代中的两个亚洲百合基因组不是来源于同一品种。荧光 DAPI 带反映的是染色体中 AT 含量较高的区域, DAPI 带位置的不同反映了二者基因组染色体上高 AT 区域位置的不同, 这表明东方百合和亚洲百合的基因组的确存在较大的差异; 而且只有当存在较大差异时, 用杂交或回交的两个基因组中的一个基因组 DNA 作探针, 用鲱鱼精子 DNA 作封阻 DNA 进行荧光原位杂交时才能较清楚区分二者的染色体。通常在对杂种或回交后代进行基因组的荧光原位杂交时, 用二者中的一个基因组 DNA 作探针, 用另一个基因组作封阻 DNA, 如果用第 3 个外源基因组 DNA 作封阻 DNA, 效果会差一些。本试验所以选择第 3 个外源基因组 (鲱鱼精子 DNA) 作封阻 DNA 的原因是借鉴本实验室对 *Lilium longiflorum* 和 *L. rubellum* 杂交或回交后代中荧光原位杂交的工作<sup>[5]</sup>。作者对东方百合和亚洲百合的另一回交后代 012075-1 (AOA) 做了一个不同封阻 DNA 荧光原位杂交的初步对比试验, 结果与理论分析完全一致, 用东方百合基因组 DNA 作探针, 用亚洲百合 DNA 作封阻 DNA 的荧光原位杂交信号明显优于用东方百合基因组 DNA 作探针、用鲱鱼精子 DNA 作封阻 DNA 的, 而且可以检测到较小的染色体交换片段。这是因为鲱鱼精子 DNA 为第 3 个外源基因组作封阻 DNA, 不仅不能封阻所有的亚洲百合的非特异性和特异性 DNA, 而且还会封阻一些东方百合的特异性 DNA; 如果用亚洲百合基因组 DNA 作封阻 DNA, 它能封阻所有的亚洲百合的 DNA, 但不会封阻东方百合的特异性 DNA。

根据以上荧光原位杂交结果和分析, 我们认为荧光原位杂交技术不仅可以避免一些杂交育种工作的盲目性, 又能对回交后代中的染色体互换或重组进行科学的分析。

#### 参考文献:

- 1 周树军, 汪劲武. 10 种菊属植物的细胞学研究. 武汉植物学研究, 1997, 15 (4): 289 ~ 292
- 2 Clark M S 著. 植物分子生物学实验手册. 顾红雅, 瞿礼嘉译. 北京: 高等教育出版社, 1998. 1 ~ 7
- 3 周树军. 荧光原位杂交检测野生六出花染色体的命运. 园艺学报, 2002, 29 (30): 255 ~ 257
- 4 Zhou S J, De Jeu M J, Visser R G F, et al. Characterisation of distant *Alstroemeria* hybrids: application of highly repetitive DNA sequences from *A. ligtu* ssp. *ligtu*. Ann. Appl. Biol., 2003, 142: 277 ~ 283
- 5 Lim K B, Chung J D, Van Kronenburg B C E, et al. Introgression of *Lilium rubellum* Baker chromosomes into *L. longiflorum* Thunb.: a genome painting study of the F<sub>2</sub> hybrid, BC<sub>1</sub> and BC<sub>2</sub> progenies. Chromosome Research, 2000, 8: 119 ~ 125

## Discrimination of the Genomes in BC<sub>1</sub> Progeny of Asiatic Lily and Oriental Lily Using GISH

Zhou Shujun

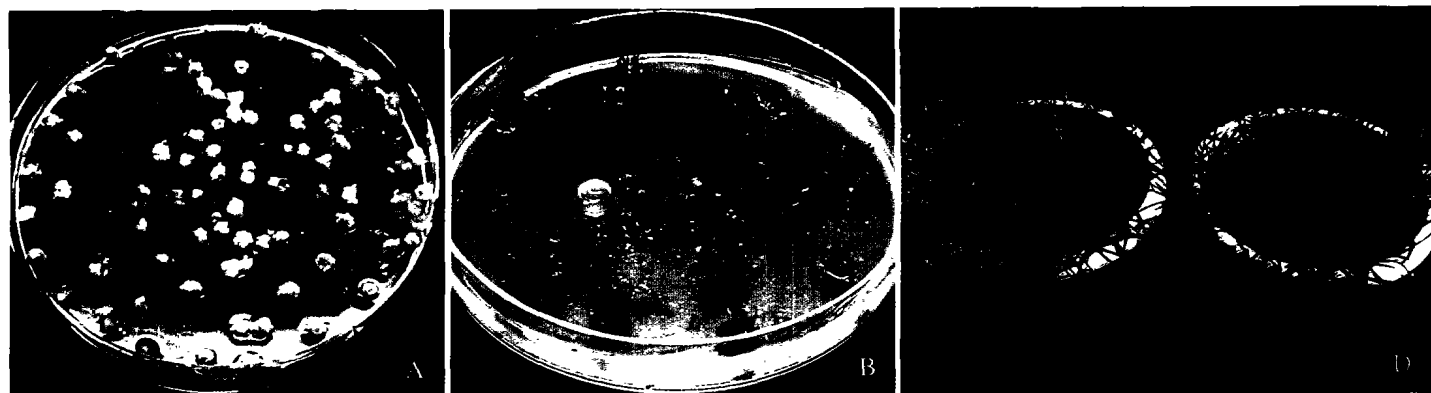
(College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

**Abstract:** Genomic in situ hybridization (GISH) was used to discriminate the different genomes in the BC<sub>1</sub> progeny of Oriental lily and Asiatic lily. We used genomic DNA of Oriental Lily as probe and HS sperm DNA or genomic DNA of Asiatic Lily as block DNA for chromosome painting in the present paper. The result clearly showed the difference between the two genomes of Oriental Lily and Asiatic Lily in their BC<sub>1</sub>. This confirmed that GISH could be used not only to identify the successfulness of the cross between Oriental Lily and Asiatic Lily but also to analyze the chromosome crossover or recombination between the two different genomes.

**Key words:** Asiatic Lily; Oriental Lily; Genomic in situ hybridization (GISH); Karyotype

# 卢少云等：狗牙根的组织培养及其矮化变异体研究初报

Lu Shaoyun, et al. Preliminary Study on Tissue Culture of Bermudagrass and Its Dwarf Somaclonal Variant



图版说明：A. 狗牙根的愈伤组织；B. 狗牙根的再生植株；C. 狗牙根‘Tifeagle’；D. 狗牙根‘Tifeagle’的变异体TV4。

Explanation of plates: A. The embryogenic calli of bermudagrass; B. Regenerated plantlets of bermudagrass; C. Bermudagrass cultivar ‘Tifeagle’; D. Its dwarf somaclonal variant TV4.

# 周树军：基因组荧光原位杂交区分百合回交一代的不同基因组

Zhou Shujun. Discrimination of the Genomes in BC<sub>1</sub> Progeny of Asiatic Lily and Oriental Lily Using GISH



图版说明：A,B: 东方百合和亚洲百合回交一代002685-1基因组原位杂交结果(白色和红色数字分别注明了东方百合和亚洲百合的染色体，A中白色和红色箭头分别表明了东方百合和亚洲百合染色体的DAPI带)，C: 东方百合(a)和亚洲百合(b)核型模式图(东方百合中着丝点区的白点与A中白箭头所指相对应，亚洲百合中染色体臂中的白线与A中红箭头所指相对应)。

Explanation of plates: A and B: Genomic in situ hybridization on the BC<sub>1</sub> metaphase of Oriental Lily and Asiatic Lily. The chromosomes of Oriental Lily were marked with white numbers, the ones of Asiatic Lily with red numbers. DAPI bands of Oriental Lily were indicated with white arrows, the ones of Asiatic Lily with red arrows in A. C: The karyotypes (The white dots at the centromere regions in the Oriental Lily karyotype correspond to DAPI bands indicated by white arrows in A, the white lines within the chromosome arms in the Asiatic Lily karyotype to DAPI bands indicates by red arrows in A).

