

17-22

第20卷 第1期
1992年2月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol.20 No.1
Feb. 1992

外源细胞质诱导小麦单倍体的 机理与应用研究^{*}

I. 影响 Ptg 基因表达的核遗传因素

刘庆法 杨天章[✓] 张晓琴 张文俊

(西北农业大学农学系, 陕西杨陵·712100)

S512.103.2

摘 要 运用具粘果山羊草细胞质的小麦雄性不育系对影响 Ptg 基因表达的遗传因素进行了研究。结果表明, 粘果山羊草细胞质与 Ptg 基因互作产生单倍体是受雌配子体基因型控制的, 只要雌配子体带有 Ptg 基因即有发育成单倍体的潜力; 父母本基因型与单倍体频率有密切关系, 但父本是否具有 Ptg 基因与诱导频率无关。

关键词 小麦, 外源细胞质, 粘果山羊草, 单倍体, 遗传

中图分类号 S335.4, Q943, Q756

木原均和常胁等人在研究外源细胞质效应时发现, 尾状山羊草(*Aegilops caudata*)、粘果山羊草(*Ae. kotschyi*)等 7 种外源细胞质与某些特定类型的小麦细胞核互作可以诱导大量单倍体^[1,2]。Tsunewaki, Mukai, Panoyotov 和杨天章等人对外源细胞质诱导小麦单倍体的遗传机理和胚胎学做了大量研究, 认为这种单倍体是通过孤雌生殖产生的、受细胞核和细胞质的双重控制^[2-5]。小麦 1B/1RS 易位系或(1B)1R 代换系的 1R 短臂上有一个控制孤雌生殖的显性基因 Ptg, 当该基因与粘果山羊草细胞质互作时即可产生单倍体^[4,6]。胚胎学研究证明, 这种单倍体主要来自未受精卵细胞的直接发育、有些情况下则来自助细胞^[6]。鉴于外源细胞质诱导小麦单倍体现象在小麦遗传、进化等理论问题的研究以及小麦杂种优势利用和单倍体育种上的重要意义, 自 1989 年起我们对粘果山羊草细胞质诱导小麦单倍体的遗传机理进行了研究, 现将有关结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 父母本基因型对单倍体频率的影响

用 130 个来源不同的 1B/1RS 易位系和正常品系(不具 1RS)对若干具粘果山羊草细胞质的雄性不育系(即 K 型不育系)进行测交, 并调查测交后代的单倍体频率。

1.2 其他核基因对单倍体频率的影响

调查 5 个 1B/1R 易位染色体来源相同(即 Ptg 基因来源相同)的 K 型不育系单倍体

文稿收到日期: 1991-01-16

* 国家自然科学基金资助项目。

频率,并用两个基本不产生单倍体的不育系 K8222A 和 K149A 与两正常品系 T6-3 和陕农 17 分别杂交,对其 F_2 代中的不育株(具一对 1B/1RS 易位染色体)进行测交,研究分离世代中其他核基因的分离对 Ptg 基因表达的影响。

1.3 1B/1RS 杂合体产生的单倍体的染色体组成

用常规醋酸洋红压片,根据根尖细胞的染色体数和随体数分析 K83(21)35A、K77(2)A 与 T6-3 和陕农 17 F_2 代胚的倍性和染色体组成,并据此分析单倍体的起源及其产生机制。

2 结果与分析

2.1 父、母本基因型对单倍体频率的影响

在田间对 130 个来源不同的 1B/1R 易位系和正常品系与 8 个来源不同的 K 型不育系的测交后代中单倍体频率进行了调查,结果见表 1。根据我们以前的研究,K 型不育系产生的单倍体种子均发育良好,在发芽率和出苗率上与正常二倍体种子无明显差异(未发表),因而田间调查数据与镜检结果同样有效。

从表 1 可以看出,具秣果山羊细胞质的 1B/1R 易位系普遍可以产生一定频率的单倍体,最高平均频率可以达 28.72%,最低为 0,平均为 4.53%。其中组合 K77(2)A R1 为 100%(7/7)、K77(2)A $\times$ 82246-1-13 达 55.56%。若对表 1 中不育系本身的单倍体频率 CK 和测交组合平均单倍体频率进行成对比较,不难发现,单倍体频率低的不育系测交后代中单倍体频率一般也很低,如 K8222A、K149A 等;单倍体频率高的不育系测交后代中单倍体频率有时较高,如 K83(21)35A,有时却较低如 K83(37)65A,由此看来,K 型不育系本身产生单倍体的频率表明了特定核背景下产生单倍体的潜力,但测交组合中单倍体频率的高低还受父本基因型的影响。

表 1 K 型不育系(CK)及其测交后代的单倍体频率

不育系	CK ¹⁾ 1%)	测交 组合数	总株数	单 倍 体		差异显著性 ²⁾
				株数	频率(%)	
K83(21)35A	26.34	6	397	114	28.72	a
KE12A	11.67	2	78	11	14.10	b
K77(2)A	10.42	44	954	80	8.39	c
K48-1A	16.13	10	533	41	7.69	d
K 西安 9 号 A	1.09	5	164	6	3.66	e
K149A	0.36	112	3547	56	1.58	f
K8222A	0.19	24	1063	2	0.19	g
K83(37)65A	16.48	2	110	0	0.00	g

注 1) CK 代表以相应保持系作父本时单倍体的频率;

2) 差异显著性是按成对比较分析后、参用多重比较的表示方法表示的(下表同)。

用 2007 等 4 个基因型不同的材料作父本分别与 K149A、K7859A 和 K 西安 9 号 A 三个来源不同的不育系测交时,后代的平均单倍体频率因父本的基因型而异,差异有时

达极显著水平(表 2), 说明父本基因型对单倍体频率也可以产生明显影响。

表 2 父本基因型对单倍体频率的影响

父 本	总株数	单 倍 体		差异显著性
		株数	频率(%)	
C332	111	3	2.70	a
2007	396	11	2.78	a
T6-3	2360	159	6.74	b
2423	190	15	7.89	c

在上述分析中没有考虑父本是否带有 Ptg 基因。表 3 列出了 1B/1R 纯合易位系(具一对 Ptg 基因)、正常品系(无 Ptg 基因)和 1B/1R 易位系与正常品系的杂种 F₁(具一个 Ptg 基因)作父本时的单倍体频率。由表 3 可以看出, 父本的 Ptg 基因数目与诱导频率无明显关系, 说明 Ptg 基因不能通过父本起作用。

表 3 父本 Ptg 基因数目与单倍体频率的关系

父 本		组合数	总株数	单 倍 体		差异显著性
染色体组成	Ptg 数			株数	频率(%)	
1B·1B	0	10	1321	73	5.53	a
1B·1B/1R	1	17	779	41	5.26	a
1B·1R·1B/1R	2	14	632	33	5.22	a

2.2 Ptg 基因在半合状态下的作用

Tsunewaki 等人的研究表明, 1RS 上有一个控制孤雌生殖的基因 Ptg, 并且在 1B·1R 或 1B·1B/1R 杂合状态下仍然可以诱导单倍体。因此, 他们认为该基因是显性遗传的^[6]。Mukai 等的研究表明, 在上述杂合状态下产生的所有单倍体都具有一条 1R 或 1B/1R 易位染色体, 即所有单倍体植株本身都具有 Ptg 基因。为了探讨这种杂合状态下产生单倍体的规律, 本研究调查了 K83(21)35A、K77(2)A 与具正常 1B 染色体的 T6-3 和陕农 17 F₂ 代单倍体的频率, 并根据随体数研究了所产生的单倍体的染色体组成, 其结果与 Tsunewaki 等人的结果完全一致(见表 4)。

表 4 1B/1R·1B 杂合体测交后代的单倍体

组 合	总株数	单 倍 体		染色体组成
		株数	频率(%)	
K83(21)35A·T6-3	361	11	3.05	1B/1R
K83(21)35A·陕农 17	337	13	3.86	1B/1R
K77(2)A×T6-3	211	3	1.42	1B·1R
K77(2)A·陕农 17	414	5	1.21	1B/1R

从表 4 可以看出, 在杂合状态下产生的单倍体全部具有 1B/1R 染色体, 说明杂合状态下产生的两种卵细胞中只有携带 1B/1RS 染色体即带有 Ptg 基因的雌配子才能发育成单倍体胚。亦即一个卵细胞是否能发育成单倍体胚取决于它本身是否带有 Ptg 基

因。

从表 1 可知, K77(2)A 和 K83(21)35A 本身产生单倍体的频率分别为 10.42% 和 26.34%, 而在本试验中其杂种 F_1 的平均单倍体频率仅分别为 1.315% 和 3.46%。如果 $1B \cdot 1B / 1R$ 杂合状态下产生的两种染色体构成不同的配子是等数的, 则应有一半卵子带有 $1B / 1R$, 其单倍体频率亦应为其相应不育系的一半。但事实上杂合状态下单倍体的频率要低得多。造成这种差异的原因可能有两个。其一, 杂种 F_1 除了 *Ptg* 基因数目与原不育系不同外, 其他核基因也发生了变化, 这种遗传背景的改变对 *Ptg* 基因的表达会产生影响。其二, 据 A.L.Rayburn 研究, 在 $1B / 1R \cdot 1B$ 杂合状态下易位染色体的传递率远比正常 $1B$ 的传递率低^[7]。因而在杂合状态下产生的卵细胞中带有易位染色体的卵细胞低于 50%。这样就造成了杂合状态下单倍体频率远低于其相应不育系的一半。

2.3 其他核基因对 *Ptg* 基因表达的影响

K77(2)A, K83(21)35A, K83(37)65A, K48-1A 和 K80(6)A 均是 $1RS$ 来自 73(36) 的 $1B / 1R$ 易位系。这 5 个不育系都能产生一定频率的单倍体, 说明它们均带有 *Ptg* 基因且来源相同。表 5 是这 5 个不育系产生单倍体的频率。本试验中所用的诱导亲本均为其相应保持系, 并且选不育系的大分蘖穗在其中部开第一朵小花后的第 3 d 上午 10 时授粉, 因而可以认为授粉时各种不育系的生理状态是一样的。

表 5 具粘果山羊细胞质的 73(36)后代的单倍体频率

不育系	总株数	单 倍 体	
		株数	频率(%)
K83(21)35A	94	33	26.34
K80(6)A	39	9	23.08
K83(37)65A	91	15	16.48
K48-1A	62	10	16.13
K77(2)A	96	10	10.42

从表 5 可以看出, 虽然上述 5 个不育系的 *Ptg* 基因来源相同, 但由于各自所处的核背景不同, 产生单倍体的频率也明显不同。这说明核内其他基因对 *Ptg* 基因的表达有明显影响。

为了证明上述结论, 又调查了 K8222A $\times$ 陕农 17, K8222A $\times$ T6-3, K149A $\times$ 陕农 17 和 K149A $\times$ T6-3 F_2 代不育株($1B / 1R$ 纯合)测交后代单倍体频率(表 6)。K8222A 和 K149A 来源不同但都能产生很低频率的单倍体, 分别为 0.19% 和 0.36%; T6-3 和陕农 17 均不具 *Ptg* 基因。从表 6 可以看出, 在 4 个组合的 F_2 代中均出现了能产生较高频率单倍体的植株。这说明 K8222A 和 K149A 本身具有正常的 *Ptg* 基因, 但由于受核内其他基因的影响未能充分表现出来。

关于其他基因是如何影响 *Ptg* 基因表达的, 还需要做进一步深入研究。就上述情况而言, 可能是在 K8222A 和 K149A 的核中有抑制 *Ptg* 基因表达的基因, 但在 T6-3 和陕农 17 中没有这种抑制基因, 由于基因重组使 F_2 代中某些植株有 *Ptg* 基因但没有抑制

基因、因而产生较多单倍体;也可能是在 T6-3 和陕农 17 中有促进 Ptg 基因表达的因素,由于基因重组使这些基因与 Ptg 共存于某些 F_2 植株,由于基因互作而使其 Ptg 基因表达得特别强烈,从而产生较高频率的单倍体。也就是说 F_2 代较高频率单倍体植株的出现是由于去除了抑制基因或加入了修饰基因造成的。无论哪一种情况都说明核内其他基因对 Ptg 基因的表达有影响。因而,核背景的改变可以使单倍体频率发生明显改变。

表 6 两个 $A \times R F_2$ 代不育株测交后代的单倍体频率

株系来源	株系数	总株数	单倍体株数	株系单倍体频率(%)	
				平均	最高
K8222A $\times$ 陕农 17	13	387	17	4.37	9.32
K8222A $\times$ T6-3	15	462	9	1.95	8.12
K149A $\times$ 陕农 17	13	441	14	3.17	6.61
K149A $\times$ T6-3	9	537	27	5.03	8.77

3 讨 论

关于外源细胞质诱导小麦单倍体的研究, Tsunewaki, Mukai 和 Panoyotov 等已作过较多报道^[3-6]、国内杨天章等人也做过一些研究^[1]。K 型细胞质与 1B/1RS 互作诱导大量单倍体的事实在国内外已引起广泛兴趣。一方面,对外源细胞质诱导单倍体的机理已从遗传学和胚胎学方面做过大量研究。Mukai 认为这种单倍体是由卵细胞或助细胞未经受精发育而来的^[4]。我们对 K 型不育系在未传粉情况下卵细胞的发育动态进行了研究,发现 K 型不育系的卵细胞在未传粉情况下也可以发生卵裂,从而形成单倍体原胚。因而认为 K 型细胞质诱导小麦单倍体的胚胎学机理在于它与 Ptg 基因互作促进了卵细胞在未传粉情况下提早进行卵裂形成了单倍性原胚;此时与之授粉就能诱导胚乳的发育和原胚的分化,从而形成单倍体种子。关于这方面的详细研究结果将另文报道。另一方面就是这种途径产生的单倍体和如何在小麦单倍体育种中应用的问题。这方面 Tsunewaki 自 1979 年起就开始研究,至今未见成功的报道^[6]。解决这一问题的关键在于 Ptg 基因和不育基因 rfv_1 连锁在 1RS 上、而且在任何情况下只有携带 Ptg 基因的卵细胞才能形成单倍体胚,这种胚也就必然带有 rfv_1 基因而不携带相应的恢复基因 Rfv_1 、因而这种单倍体加倍后产生的二倍体植株本身是不育的,所以无法用于单倍体育种。为了得到既能产生单倍体又能使产生的单倍体加倍后可育的材料,其难度是很大的。这方面我们也做了一些研究,其结果将在本系列报道的第二部分发表。如果这种单倍体能够成功地用于小麦单倍体育种,对提高小麦的育种水平、缩短育种时间将有重要意义。

参 考 文 献

- 1 木原均著;杨天章,刘庆法译 小麦研究的回顾与展望 北京 农业出版社,1989:218~225

- 2 杨天章, 刘庆法, 张改生. 粘果山羊草细胞质诱导小麦单倍体的研究. 西北植物学报, 1989; 9(2): 63~69
- 3 Mukai Y. Genetic studies of the wheat haploids induced by alien cytoplasms. *Mem Ooka Kyoiku Univ Ser III*, 1981; 30:31~35
- 4 Mukai Y, Yakanish S. Genetic mechanism of pathenogenesis in common wheat with alien cytoplasms. *Jap J Genet*, 1983; 58(6):665~671
- 5 Panoyotov I. New cytoplasmic male sterility sources in common wheat; their genetic and breeding consideration. *Theoretic and Applied Genetics*, 1980; 56:153~160
- 6 Tsunewaki K. Genetic diversity of the cytoplasm in *Triticum* and *Aegilops*. Tokyo: Japan Society for The Promotion of Science, 1981; 251~265
- 7 Rayburn A L, Morahingweg D W. Inheritance of a 1B-1R wheat-rye translocation chromosome in wheat. *Crop Sci*, 1988; 28(4):709~711

Studies on The Mechanism and Application of Wheat Haploids Induced by Alien Cytoplasms

I. Genetic Factors Effecting Ptg Gene Expression in *Aegilops kotschy* Cytoplasm

Liu Qingfa Yang Tianzhang Zhang Xiaoqin Zhang Wenjun

(Agronomy Department of the Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstracts The genetic factors effecting Ptg gene expression in *Aegilops kotschy* cytoplasm was studied with some MS lines having *Ae. kotschy* cytoplasm in common wheat. The results showed that the haploid induction was controlled by the megaspore-genotype, but no correlation between haploid frequencies and the genotype of the plant on which the megaspores were carried. As long as a megaspore carries the Ptg gene, it will have the ability to develop into a haploid embryo. The haploid frequencies were effected not only by the female, but also by the male parent. It has no correlation with the haploid frequencies whether a male parent used carried the Ptg gene(s) or not.

Key words wheat, cytoplasm, *Aegilops kotschy*, haploids