

小麦细胞质雄性不育系的分子细胞遗传学检测^{*}

王小利, 张改生, 刘宏伟, 王军卫, 陈新宏

(西北农林科技大学 陕西省作物杂种优势研究与利用重点实验室, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 利用C-分带和A PAGE 技术, 对不同核型的具有粘果、易变、偏凸和二角山羊草细胞质的小麦雄性不育系进行了分子细胞遗传学标记检测。A PAGE 分析发现, 新不育系 5-1A 和 7-21A 与 1BL/1RS 易位型不育系 77(2)、8222、偃师 9 号、83(37)65、80(6) 同样均含有 1RS 醇溶蛋白标记位点 Gld1B3。同时根尖染色体 C-分带显示 5-1A 和 7-21A 也含有 1RS 端带。证明了 Gld1B3 位点和 1RS 端带可作为 1BL/1RS 易位型不育系分子细胞遗传学标记。

[关键词] 小麦; 雄性不育; 1BL/1RS 易位染色体; 醇溶蛋白; C-分带

[中图分类号] S512 101; S512 103 51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2003)04-0011-04

目前, 国内外已培育出大量不同细胞质源的小麦雄性不育系, 其中具有偏凸山羊草 (*Ae. ventricosa*)、粘果山羊草 (*Ae. kotschy*)、易变山羊草 (*Ae. variabilis*)、二角山羊草 (*Ae. bicornis*) 细胞质的 1BL/1RS 易位型雄性不育系, 具有易保持、易恢复, 且种子饱满的突出特点, 特别是其保持系 (1BL/1RS 易位系) 和恢复系资源都分布在普通小麦的推广品种 (系) 内, 农艺性状优良, 常规育种中所培育出的最新优良品种 (系) 能以自然恢复系的形式应用于杂种小麦, 为其组配强优势组合和优化制种创造了极有利条件, 被认为是最具有应用价值的一类不育系。偏粘易二角型 1BL/1RS 易位型雄性不育系之所以不育, 就在于不育系核内正常 1BS 被黑麦 1RS 所代换, 而其恢复基因 Rfv1 随 1BS 被代换而丢失, 使其在表现不育的同时给不育系本身的应用带来一些负面效应。如绝大多数 1BL/1RS 易位型雄性不育系及其 F₁ 都产生一定频率的单倍体; 育性恢复性变异较大; 部分不育系育性表现不稳等, 从而制约着 1BL/1RS 易位型雄性不育系大面积应用于生产^[1~3]。近年来, 为了克服这些缺点, 本课题在栽培普通小麦品种内成功培育出稳定的偏粘易二角型不育系 7-21A 与 5-1A, 不仅克服了不育系及其 F₁ 产生单倍体的缺点, 同时亦大大提高了不育系的

易恢复性。本研究旨在利用 C-分带和酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (A PAGE) 技术, 对不同核型的具有粘果、易变、偏凸和二角山羊草细胞质的小麦雄性不育系进行分子细胞遗传学标记检测, 以期为杂种优势利用中更广泛地采用这几类细胞质不育系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 不育系 具有粘果山羊草 (*Ae. kotschy*)、易变山羊草 (*Ae. variabilis*)、偏凸山羊草 (*Ae. ventricosa*) 和二角山羊草 (*Ae. Bicornis*) 细胞质不育系的保持系 5-1、7-21、77(2)、8222、偃师 9 号、83(37)65、80(6)。

1.1.2 测试品种 (系) 与偏粘易二角型不育系 5-1A 和 7-21A 杂交不育的普通小麦品种 (系) 小偃 137、01-10-294、9905、99Y2。

1.1.3 对照材料 中国春小麦、黑麦和 1BL/1RS 易位系山前、高加索。

1.2 试验方法

1.2.1 A PAGE 分析 采用国际种子检验协会 (ISTA) 于 1986 年颁布的 A PAGE (ph3 2) 标准程

* [收稿日期] 2002-09-28

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30170567); 国家杨凌农业生物技术育种中心项目 (1999B9)

[作者简介] 王小利 (1967), 女, 陕西华县人, 副教授, 在读博士, 主要从事小麦雄性不育及分子细胞遗传学研究。E-mail: mwwangx1@163.net

序,电泳分析醇溶蛋白位点 Gld1B3。电泳仪采用北京六一仪器厂生产的 DYY-10 型三恒型电泳仪, DYY-III28B 型夹心式电泳槽。

1.2.2 染色体制片 将种子消毒后用水浸泡 12 h, 置于铺有吸水纸的培养皿中(25 °C), 当根长至 1~2 cm 时取根尖于冰水中预处理 22~24 h, 然后用卡诺固定液(体积分数 95% 乙醇:冰乙酸=3:1)固定 2~3 d, 体积分数 45% 冰乙酸压片。液氮冷冻揭片后, 放入 45 °C 的体积分数 45% 冰乙酸 3 min, 然后气干。

1.2.3 染色体 C-分带 染色体 C-分带参照 Endo 的改良方法^[4], 即将干燥的制片依次在 45~50 °C 的体积分数 45% 冰乙酸、5% Ba(OH)₂ 和 2×SSC 溶液中处理 3~5 min, 2~2.5 min 和 5~15 min, 用 Giemsa 染色液(pH 6.8)染色显带。

2 结果与分析

2.1 A PAGE 分析

对粘、易、偏、二角型不育系的保持系 5-1、7-21 和已知的 1BL/1RS 易位型雄性不育系的保持系 77(2), 8222, 偃师 9 号, 83(37)65, 80(6) 以及粘、易、偏、二角型不育系 5-1 杂交 F₁ 表现不育的小麦品种(系)小偃 137, 01-10-294, 9905, 99Y2 进行 A-PAGE 分析发现, 在醇溶蛋白图谱的 γ 区, 所有检测材料与黑麦、山前、高加索一样, 均含有黑麦 1RS 的醇溶蛋白标记位点 Gld1B3(图版 1 箭头所示), 由于对照品种中国春本身是这 4 种细胞质不育系的恢复系, 因而不含有黑麦 1RS 的醇溶蛋白标记位点 Gld1B3。所以, 可以证明 5-1、7-21 和所有检测材料均是 1BL/1RS 易位系或含有 1RS 染色体片段。

2.2 染色体 C-分带

为了进一步证实 5-1 和 7-21 含有的 1RS 染色体的片段的大小, 将其根尖染色体做 C-分带, 并用黑麦作对照, 发现 5-1 和 7-21 都是含有 1B 染色体的长臂和 1R 染色体的短臂端带(图版 2~4), 并且 1RS 的随体因为小麦背景的核仁组织者(NOR)对黑麦的 NOR 的排斥而造成 1RS 随体不能表达或丢失^[5], 所以, 1BL/1RS 易位系中看到的 1RS 端带是不包括随体的短臂。由于 1RS 染色体有明显的端

带, 很容易在小麦核背景中被辨认出来, 为 1BL/1RS 易位染色体的鉴定提供了细胞学证据。

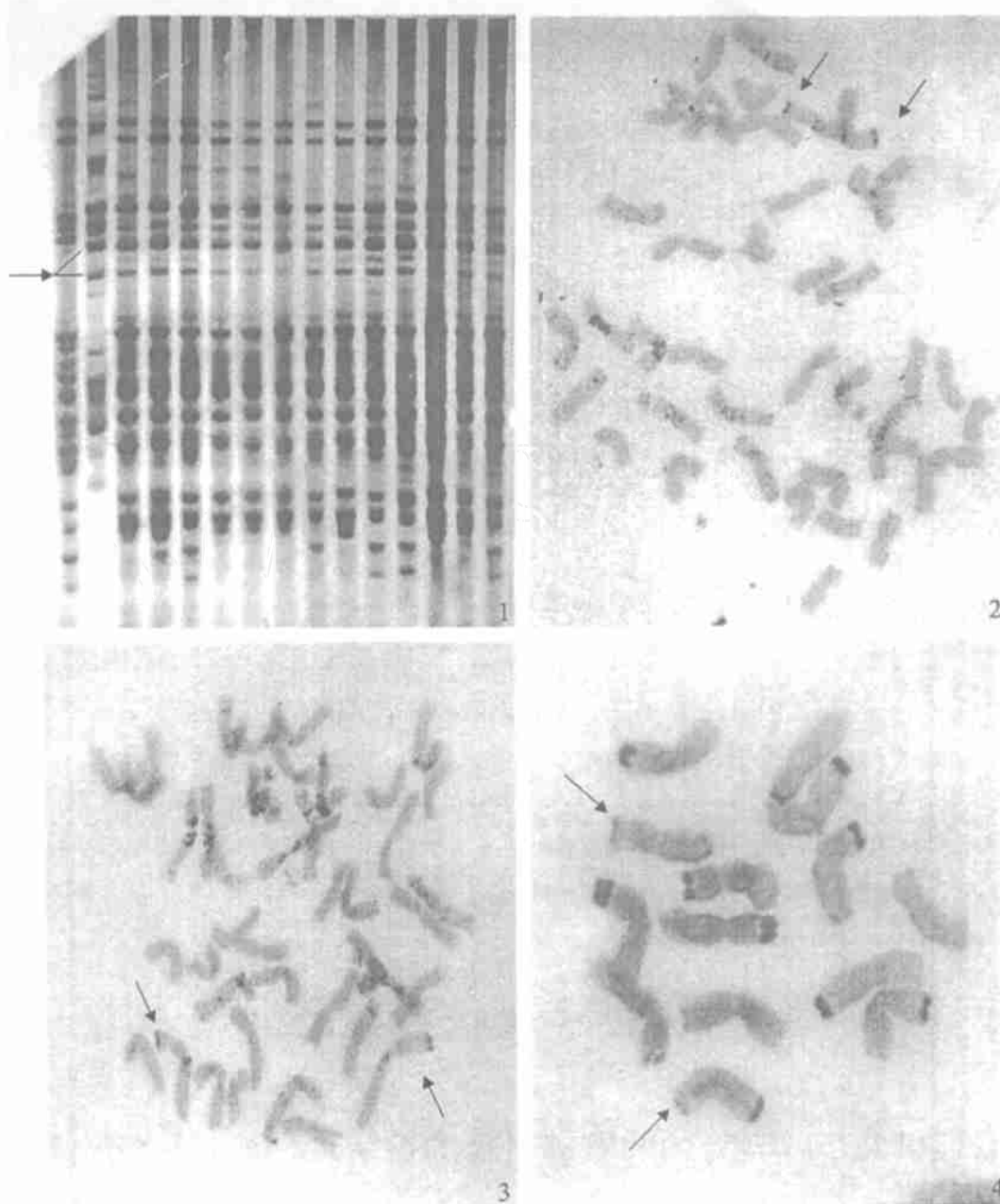
3 讨论

3.1 A PAGE 分析和 C-分带技术在鉴定小麦 1BL/1RS 易位系中的应用

小麦醇溶蛋白图谱根据其 A PAGE 分为 α 、 β 、 γ 和 ω 区。目前, 已知 α 和 β 醇溶蛋白基因串联排列在小麦第六同源群染色体的短臂末端, 分别被命名为 Gli-A₂, Gli-B₂, Gli-D₂。 γ 和 ω 醇溶蛋白基因位点紧密连接在一起, 是一类复基因家族, 位于小麦第一同源群染色体的短臂末端, 分别被命名为 Gli-A₁, Gli-B₁, Gli-D₁^[6]。1986 年, ISTA 颁布了酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(A PAGE)的标准程序, Sozinov 等^[7]将 Gld1B3 组醇溶蛋白位点定为小麦背景中黑麦 1RS 的标记位点, 由于 Gld1B3 组位点位于醇溶蛋白图谱的 γ 区, 容易识别, 为 1BL/1RS 易位染色体提供了一种有效的鉴定方法^[5], 本研究也证明了这一点。同时由于 1BL/1RS 易位染色体有明显的端带, 易于鉴别, 为小麦 1BL/1RS 易位系提供了特定的细胞学标记。

3.2 粘、易、偏、二角山羊草细胞质的小麦雄性不育系的改良

由于 1BL/1RS 易位型小麦雄性不育系恢复基因 Rfv1 也位于 1BS 染色体的末端, 利用 A PAGE 技术, 可以对大量的小麦优良品种(系)进行筛选, 作为粘、易、偏、二角型不育系的共同保持系, 结合 C-分带技术可有目的地进行 1BL/1RS 易位型不育系的选育和改良, 以克服 1BL/1RS 易位型雄性不育系在产生雄性不育的同时带来一些负面影响, 即不育系及其 F₁ 都产生一定频率的单倍体及育性恢复性变异较大等现象。实践证明, 7-21 与 5-1 不仅克服了不育系及其 F₁ 产生单倍体的缺点, 同时亦大大提高了不育系的易恢复性, 所以 1BL/1RS 易位型不育系是可以通过改良核内遗传组成提高其生产应用价值。也可利用 A PAGE 技术, 对小麦优良保持系进行筛选, 将不含 Gld1B3 位点的保持系转育成非 1BL/1RS 不育系。



图版 1 醇溶蛋白电泳图谱, 从左到右依次为中国春、黑麦、山前、高加索、77(2)、8222、偃师 9 号、83(37) 65、80(6)、5-1、7-21、小偃 137、01-10-294、9905、99Y₂; 图版 2 5-1 的染色体 C-分带, 示 1BL/1RS 易位染色体; 图版 3 7-21 的染色体 C-分带, 示 1BL/1RS 易位染色体; 图版 4 黑麦的的染色体 C-分带, 示 1R 染色体。

Plate 1 Electrophoretogram of gliadin, from left to right is CS, Rye, Shanqian, Gaojiasuo, 77(2), 8222, Yanshi 9, 83(37) 65, 80(6), 5-1, 7-21, Xiaoyan 137, 10-294, 9905, 99Y₂ Plate 2 The root chromosomes C-banding of 5-1 Plate 3 The root chromosomes C-banding of 7-21 Plate 4 The root chromosomes C-banding of Rye

[参考文献]

- [1] 张改生 偏型、粘型和易型小麦雄性不育系的初步研究[J]. 作物学报, 1989, 15(1): 1- 10
- [2] 张改生 几类异质 1B/1R 小麦雄性不育系稳定性与育性恢复性研究[J]. 中国农业科学, 1996, 29(5): 41- 45

- [3] Mukai Y. Interactions of *Aegilops kotschy* and *Ae. varabilis* cytoplasm with homologous group 1 chromosomes in common wheat[J]. Wheat Genetics Sym, 1983, 6: 517- 527.
- [4] Mukai Y, Endo T R. Physical mapping of a fertility-restoring gene against *Aegilops kotschy* cytoplasm in wheat[J]. Japanese Journal of Genetics, 1992, 67(3): 199- 207.
- [5] 魏育明, 郑有良, 周荣华, 等. 应用荧光原位杂交和 RFLP 标记检测多穗小麦新种质 10-A 中的黑麦染色质[J]. 植物学报, 1999, 41(7): 722- 725.
- [6] 赵文明. 种子蛋白质工程[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1995.
- [7] Sozinov A A, Novosolskaya A Y, Lushnikova A A, et al. Cytological and biochemical analysis of bread wheat variants with 1B/1R substitutions and translocations in Karyotype[J]. Tsitologiya i Genetika, 1987, 21: 256- 261.

Molecular cytogenetics detection of 1BL/1RS male sterile wheat with alloplasmic cytoplasm

WANG Xiao-li, ZHANG Gai-sheng, LIU Hong-wei, WANG Jun-wei, CHEN Xin-hong

(Key Laboratory of Crop Heterosis, Shaanxi Province, Northwest Sci-Tech University of

Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Seven male sterile wheat varieties with *Aegilops kotschy*, *Ae. Variabilis*, *Ae. ventricosa*, *Ae. bicornis* cytoplasm were detected by PAGE and C-banding. PAGE analysis indicated that new male sterile wheat 5-1A and 7-21A possessed the same gliadin marker Gld1B3 of 1RS translocation chromosome as other male sterile wheat, such as 77(2), 8222, Yanshi 9, 83(37) 65, 80(6). The C-banding of 5-1A and 7-21A were detected that they possessed terminal banding of 1RS chromosome. These results suggested that Gld1B3 and terminal C-banding of 1RS chromosome could be molecular cytogenetics marker of 1BL/1RS male sterile wheat.

Key words: wheat; male sterility; 1BL/1RS translocation chromosome; gliadin; C-banding

欢迎订阅 2004 年《西北农林科技大学学报(社会科学版)》

《西北农林科技大学学报(社会科学版)》是由教育部主管、西北农林科技大学主办的人文社会科学综合性学术期刊。本刊以马克思列宁主义、毛泽东思想、邓小平理论和江泽民同志“三个代表”重要思想为指导,坚持解放思想,实事求是,倡导理论创新和学术创新,为社会主义现代化建设和社会主义文化事业发展服务。

本刊主要栏目有“三农”问题研究、农业史研究、可持续发展研究、西部大开发、经济与管理学、哲学、政治与法学、社会学、语言文学等。读者对象为从事社会科学研究和农林科技研究人员、高校师生及管理人员。

《西北农林科技大学学报(社会科学版)》为双月刊,国际标准开本,140 页,国内外公开发行。全国各地邮局均可订阅,邮发代号: 52-254,也可直接与本刊编辑部联系订阅。每册定价 6 元,全年 36 元。

联系地址: 陕西杨陵西北农林科技大学西农校区 34 号信箱

联系电话: 029-7092606 邮政编码: 712100 E-mail: xuebao2606@vip.sina.com