

# 小麦核不育 × 中国春3C 二体附加系后代 (F<sub>1</sub>)的细胞学分析

王鹏科

(西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 以小麦核不育 × 中国春3C 二体附加系杂种F<sub>1</sub> 和小麦核不育 × 普通小麦4E 单体附加系杂种F<sub>1</sub> 代作为材料, 利用细胞学方法研究了花粉母细胞减数分裂期(中期 I 和后期 I)的染色体及二分体、四分体时期的小核。结果表明, 小麦核不育 × 中国春3C 二体附加系杂种F<sub>1</sub> 代在花粉母细胞减数分裂中期 I 出现了3个单价体的染色体构型, 后期 I 出现了2个或2个以上的落后染色体, 二分体、四分体时期出现了2个或2个以上的小核, 在不同的小麦核不育背景中出现的频率各不相同, 说明3C 染色体在小麦核不育背景中具有诱导染色体断裂的作用, 但在不同的小麦核不育背景中诱导染色体断裂的作用各不相同; 在小麦核不育 × 普通小麦4E 单体附加系杂种F<sub>1</sub> 代花粉母细胞减数分裂中期 I、后期 I、二分体和四分体时期也观察到了同样的结果, 说明4E 染色体同样具有诱导染色体断裂的作用; 3C 或4E 染色体诱导染色体断裂可能是在花粉母细胞减数分裂的多个时期。

**[关键词]** 小麦核不育; 杀配子染色体; 细胞学分析

**[中图分类号]** S512.103.53

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2006)11-0068-05

Endo 等<sup>[1-2]</sup> 研究发现, 离果山羊草 (*Aegilops triuncialis* L. (2n= 28, C<sup>u</sup>C<sup>u</sup>CC 或UUCC)) 与普通小麦的杂种, 以普通小麦为轮回父本杂交, 其后代仍表现育性下降, 而且总保留一个来自母本的近端着丝粒染色体; 进一步研究证明, 位于该条离果山羊草染色体上的1个或几个基因, 能够选择性地引起缺少该条外源单体的普通小麦不育, 被称为杀配子染色体。由于杀配子染色体能够诱发不含有自己配子的染色体断裂, 因此小麦染色体重组、外源基因导入和杂交小麦生产等方面具有重要作用。苑泽宁等<sup>[3]</sup>、施芳等<sup>[4]</sup>和孙仲平等<sup>[5]</sup>利用杀配子染色体培育出小麦-黑麦易位系; 李集临等<sup>[6]</sup>和袁建华等<sup>[7]</sup>也分别利用杀配子染色体创造出小麦-偃麦草、小麦-大赖草易位系; King 等<sup>[8]</sup>和郭长虹等<sup>[9]</sup>利用杀配子染色体进行杂种小麦生产; 王鹏科等<sup>[10]</sup>研究了杀配子染色体(基因)与小麦核不育的连锁、选择和连锁体的杂种优势利用途径。本研究利用细胞学方法, 观察了小麦核不育 × 中国春3C 二体附加系杂种F<sub>1</sub> 代和小麦核不育 × 普通小麦4E 单体附加系杂种F<sub>1</sub> 代花粉母细胞减数分裂期(中期 I 和后期 I)染色体及二分体、四分体时期小核变化情况, 旨在探讨

杀配子染色体对小麦核不育的作用, 以及杀配子染色体(基因)与小麦核不育的连锁途径, 以为利用杀配子染色体建立杂种小麦生产利用途径提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

所用材料为小麦核不育系0105W, 0121W, 01R-411(S)与中国春3C 二体附加系杂交F<sub>1</sub> 代, 分别为02F<sub>1</sub>-01, 02F<sub>1</sub>-02, 02F<sub>1</sub>-03; 小麦核不育系01R-411(S)与普通小麦4E 单体附加系0117L 杂交F<sub>1</sub> 代02F<sub>1</sub>-04。小麦核不育系和0117L 均为陕西省植物遗传工程育种重点实验室创制并保存, 中国春3C 二体附加系来源于陕西省植物遗传工程育种重点实验室。

### 1.2 方法

取适龄材料幼穗, 固定于卡诺 II 固定液[V(乙醇) V(三氯甲烷) V(冰乙酸)= 6 3 1]中, 24 h 后品红染色压片, 显微镜下观察花粉母细胞减数分裂中期 I、后期 I 染色体构型以及二分体、四分体时期带小核的细胞数。

\* [收稿日期] 2005-11-10

[基金项目] 西北农林科技大学科研专项(04ZM 037); 西北农林科技大学植物遗传育种专项(05YZ006-2)

[作者简介] 王鹏科(1963-), 男, 陕西岐山人, 副研究员, 主要从事作物遗传育种研究。

## 2 结果与分析

### 2.1 F<sub>1</sub> 植株花粉母细胞减数分裂中期 I 的染色体构型

普通小麦花粉母细胞减数分裂中期 I 的染色体构型为  $2n = 21 II$ , 而小麦核不育 × 中国春 3C 二体附加系杂种 F<sub>1</sub> 植株和小麦核不育 × 普通小麦 4E 单体附加系杂种 F<sub>1</sub> 植株花粉母细胞减数分裂中期 I 的染色体构型均含有 1 个或多个单价体 (图版 I-A),

主要有  $21 II + I$ ,  $20 II + 3 I$ ,  $19 II + IV + I$ ,  $18 II + IV + 3 I$  等 4 种染色体构型, 其中 80% 以上的染色体构型为  $21 II + I$ , 表明配对基本正常。而少数花粉母细胞中出现 3 个单价体 ( $2n = 20 II + 3 I$ ,  $2n = 18 II + IV + 3 I$ ) 和 1 个四价体 ( $2n = 19 II + IV + I$ ,  $2n = 18 II + IV + 3 I$ ) (表 1), 这是由于外源染色体 (3C 或 4E) 的存在影响了小麦染色体的正常联会造成的<sup>[4]</sup>。

表 1 小麦核不育 × 中国春 3C 二体附加系和小麦核不育 × 普通小麦 4E 单体附加系杂种 F<sub>1</sub> 植株花粉母细胞减数分裂中期 I 的染色体构型

Table 1 Chromosome configuration at meiotic metaphase I in F<sub>1</sub> hybrids from wheat nucleus male sterile line × Chinese spring 3C disomic addition and wheat nucleus male sterile line × 4E monosomic addition in common wheat

材料 Material	观察细胞总数 Total of cell obs	染色体结构 Chromosome configuration			
		21 II + I	20 II + 3 I	19 II + IV + I	18 II + IV + 3 I
02 F <sub>1</sub> -01	106	87(82.1)	17(16.0)	2(1.9)	
02 F <sub>1</sub> -02	104	94(90.4)	10(9.6)		
02 F <sub>1</sub> -03	102	94(92.2)	8(7.8)		
02 F <sub>1</sub> -04	103	88(85.4)	12(11.7)	2(1.9)	1(1.0)

注: 括号内为含有该染色体构型的细胞频率, 单位为“%”。

Note: In the parentheses is the cell frequency of Chromosome configuration (%).

### 2.2 F<sub>1</sub> 植株花粉母细胞减数分裂后期 I 的落后染色体

在细胞减数分裂过程中, 如果染色体分离不同步, 在赤道板附近后期 I 会有落后染色体存在, 而这些落后染色体一般为外源染色体或染色体断片。小

麦核不育 × 中国春 3C 二体附加系杂种 F<sub>1</sub> 植株和小麦核不育 × 普通小麦 4E 单体附加系杂种 F<sub>1</sub> 植株花粉母细胞减数分裂后期 I 落后染色体的观测结果见表 2。

表 2 小麦核不育 × 中国春 3C 二体附加系和小麦核不育 × 普通小麦 4E 单体附加系杂种 F<sub>1</sub> 植株花粉母细胞减数分裂后期 I 的落后染色体观察

Table 2 Observation of fall chromosome at meiotic anaphase I in F<sub>1</sub> hybrids from wheat nucleus male sterile line × Chinese spring 3C disomic addition and wheat nucleus male sterile line × 4E monosomic addition in common wheat

材料 Material	观察细胞总数 Total of cell obs	落后染色体数及频率 Fall chromosome and frequency				
		0 个 0 fall ch.	1 个 1 fall ch.	2 个 2 fall ch.	3 个 3 fall ch.	4 个以上 Above 4 fall ch.
02 F <sub>1</sub> -01	48	36(75.0)	6(12.5)	6(12.5)		
02 F <sub>1</sub> -02	85	17(20.0)	20(23.5)	17(20.0)	22(25.9)	9(10.6)
02 F <sub>1</sub> -03	47	17(36.2)	12(25.5)	10(21.3)	7(14.9)	1(2.1)
02 F <sub>1</sub> -04	33	15(45.5)	12(36.4)	6(18.1)		

注: 括号内为具有该落后染色体的细胞频率, 单位为“%”。

Note: In the parentheses is the cell frequency of fall chromosome (%).

从表 2 可以看出, 同一父本 (中国春 3C 二体附加系) 与不同母本 (0105W, 0121W, 01R-411(S)) 杂种 F<sub>1</sub> 代 (02F<sub>1</sub>-01, 02F<sub>1</sub>-02, 0F<sub>1</sub>-03) 花粉母细胞减数分裂后期 I 同步分离的细胞频率和落后染色体 (或片段) 的细胞频率差异较大, 其中 02F<sub>1</sub>-02 中染色体能够同步分离的细胞频率 (具有 0 个落后染色体) 为 20.0%, 不能同步分离的细胞频率 (具有 1 个以上落

后染色体) 为 80.0%, 而 02F<sub>1</sub>-01 中染色体能够同步分离的细胞频率 (具有 0 个落后染色体) 为 75.0%, 不能同步分离的细胞频率 (具有 1 个以上落后染色体) 为 25.0%, 说明染色体在杂种 02F<sub>1</sub>-01 中分离同步性较好, 在杂种 02F<sub>1</sub>-03 中次之, 在杂种 02F<sub>1</sub>-02 中最差。在杂种 02F<sub>1</sub>-04 中, 4E 染色体能够同步分离的细胞频率为 45.5%。

由于4个杂种 $F_1$ 均含有1条外源染色体(3C染色体或4E染色体),因此在减数分裂后期I应该最多只能产生1个落后染色体,而本研究中4个杂种 $F_1$ 代花粉母细胞减数分裂后期均不同程度出现了2个或2个以上的落后染色体(图版I-B),而且在 $02F_1-02$ 和 $02F_1-03$ 中,2个或2个以上落后染色体的细胞频率明显大于 $02F_1-01$ 和 $02F_1-04$ ,尤其在材料 $02F_1-02$ 中,镜检下明显有断片存在。在减数分裂后期I除具有落后染色体外,还观察到染色体桥的存在(图版I-C),说明在2个或2个以上的落后染色体中可能至少有1个染色体断片存在。

在无落后染色体细胞中,由于3C染色体和4E染色体分离的同步性较好,在减数分裂后期I,3C染色体和4E染色体已经分离到一极;在具有1个落后染色体的细胞中,这条落后染色体是3C染色体、4E染色体或染色体断片;在具有2个落后染色体的细胞中至少有1个染色体断片;在具有3个或3个以上落后染色体的细胞中,有2个或2个以上染色体断片。

由表1和表2可知,在减数分裂中期I中,在 $02F_1-01$ , $02F_1-02$ , $02F_1-03$ 和 $02F_1-04$ 4个杂种 $F_1$ 代

中均无含有2个单价体的染色体构型,而在减数分裂后期I,在这4个杂种 $F_1$ 中均具有2个落后染色体,在减数分裂中期I中, $02F_1-04$ 和 $02F_1-01$ 具有3个单价体的染色体构型,而在减数分裂后期I却未观察到其具有3个或3个以上落后染色体。这主要是由于减数分裂后的配子形成过程中有丝分裂时经历了染色体断裂;或含有3个单价体的细胞在有丝分裂时1个染色体发生了同步分离。

### 2.3 $F_1$ 植株花粉母细胞二分体和四分体时期的小核细胞

二分体和四分体所带的小核一般是由落后染色体或落后染色体断片形成的。从表3可以看出,4个杂种 $F_1$ 植株花粉母细胞二分体和四分体中均带有小核(图版I-D, E, F),其中 $02F_1-02$ 和 $02F_1-03$ 二分体中具有1~3个小核的细胞数明显多于 $02F_1-01$ 和 $02F_1-04$ ,尤其是 $02F_1-02$ 二分体中带有1~3个小核的细胞数最多; $02F_1-02$ 和 $02F_1-03$ 四分体中具有1个以上小核的细胞数明显多于 $02F_1-01$ 和 $02F_1-04$ ,这与减数分裂后期I观察到落后染色体细胞数的情况相符,进一步验证了在减数分裂中有染色体断片存在。

表3 小麦核不育×中国春3C二体异附加系和小麦核不育×普通小麦4E单体附加系杂种 $F_1$ 植株花粉母细胞二分体和四分体时期的小核细胞数及频率

Table 3 Carrying little nucleus cell and frequency at PMC bispore and quartet in  $F_1$  hybrids from wheat nucleus male sterile line × Chinese spring 3C disomic addition and wheat nucleus male sterile line × 4E monosomic addition in common wheat

材料 Material	观察细胞 总数 Total of cell obs	二分体小核数 Little nucleus in bispore					4以上 Above 4	材料 Material	观察细胞 总数 Total of cell obs	四分体小核数 Little nucleus in bispore					4以上 Above 4
		0	1	2	3	4以上 Above 4				0	1	2	3	4以上 Above 4	
$02F_1-01$	83	49(59.0)	20(24.1)	6(7.2)	5(6.0)	3(3.6)	$02F_1-01$	105	50(47.6)	23(21.9)	19(18.1)	8(7.6)	5(4.8)		
$02F_1-02$	150	35(23.3)	60(40.0)	41(27.3)	12(8.0)	2(1.0)	$02F_1-02$	155	32(20.6)	34(21.9)	39(25.2)	43(27.7)	7(4.5)		
$02F_1-03$	105	49(46.6)	39(37.1)	11(10.5)	4(3.8)	2(1.9)	$02F_1-03$	130	48(36.9)	37(28.5)	28(21.5)	9(6.9)	8(6.2)		
$02F_1-04$	102	55(53.9)	37(36.3)	7(6.9)	1(1.0)	2(2.0)	$02F_1-04$	111	68(61.3)	26(23.4)	11(9.9)	4(3.6)	2(2.0)		

注:括号内为小核细胞频率,单位为“%”。

Note: In the parentheses is the cell frequency of little nucleus (%).

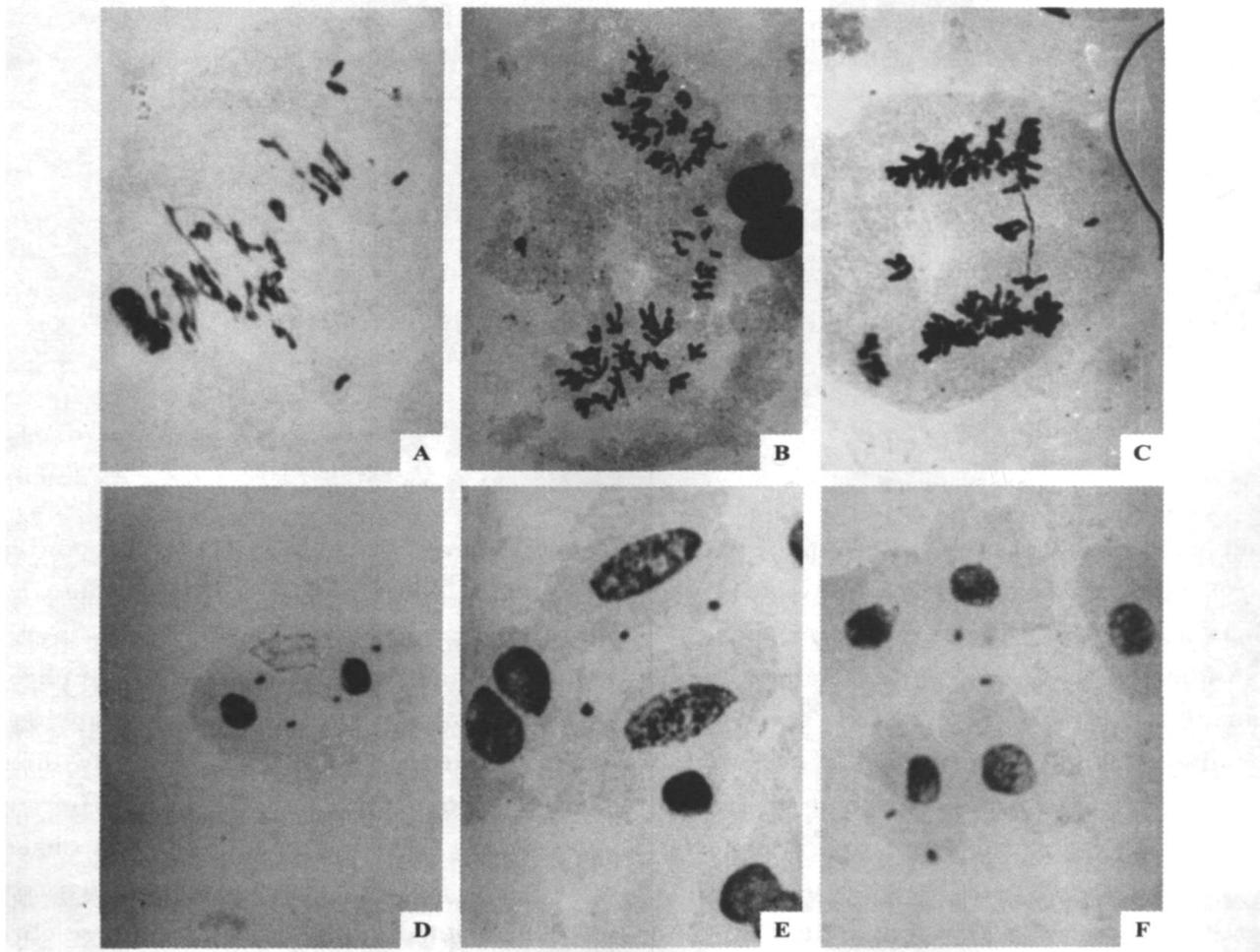
## 3 讨论

将3C染色体导入普通小麦背景中形成单体附加系时,能引起小麦染色体断裂并导致配子受精失败,并且在不同遗传背景中诱导染色体断裂的作用不同,即杀配子染色体的作用强度受普通小麦基因型的影响<sup>[1-2,9]</sup>。本研究将3C染色体导入小麦核不育背景中,结果表明,杂种 $F_1$ 代花粉母细胞减数分裂期出现了3个单价体的构型(20II+3I)、2个或2个以上的落后染色体和2个或2个以上的二分体和四分体小核,且在不同核不育背景中出现的频率各

不相同,表明3C染色体在小麦核不育背景中具有诱导染色体断裂作用,而且在不同小麦核不育背景中诱导染色体断裂作用不同,差异较大。

研究<sup>[6,11]</sup>表明,4E染色体具有兰色胚乳基因,小麦核不育恢复基因及诱导部分同源染色体配对作用。本研究将4E染色体导入小麦核不育背景中,结果表明,在杂种 $F_1$ 代花粉母细胞减数分裂中期I也出现了3个单价体的构型(20II+3I, 18II+IV+3I),在 $F_1$ 花粉母细胞减数分裂后期I具有2个落后染色体,在二分体和四分体时期均带有2个或2个以上小核,表明4E染色体在小麦核不育背景中也具

有诱导染色体断裂作用。



图版 I 小麦核不育 × 中国春 3C 二体附加系后代 (F<sub>1</sub>) 的细胞学分析

A. F<sub>1</sub> 花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体构型; B, C. F<sub>1</sub> 花粉母细胞减数分裂后期 I 落后染色体及染色体桥; D, E, F. 二分体和四分体小核

Plate I Cytology analysis of progeny (F<sub>1</sub>) from wheat nucleus sterile line × Chinese spring 3C disomic addition

A. Chromosome configuration at meiotic metaphase I in F<sub>1</sub> hybrids; B, C. Fall chromosome and chromosome bridge at meiotic anaphase I in F<sub>1</sub> hybrids; D, E, F. Little nucleus at PMC bispore and quartet

Endo 等<sup>[1-2]</sup>和郭长虹等<sup>[9]</sup>研究认为, 杀配子染色体的作用机制可能是, 在减数分裂后缺少杀配子染色体的减数孢子, 在配子形成的有丝分裂阶段出现染色体断裂。本研究观察到在小麦核不育 × 中国春 3C 二体附加系杂种 F<sub>1</sub> 代和小麦核不育 × 普通小

麦 4E 单体附加系杂种 F<sub>1</sub> 代花粉母细胞减数分裂不同时期, 出现单价体、落后染色体和小核的数目及频率不相吻合, 这是否表明 3C 染色体或 4E 染色体的诱导染色体断裂作用可能在减数分裂的多个时期发生, 尚需进一步深入研究。

[参考文献]

[1] Endo T R, T sunewaki K. Sterility of common wheat with *A egilops triuncialis* cytoplasm [J]. Hered, 1975, 66: 13-18

[2] Endo T R, Katayama Y. Finding of a selectively retained chromosome of *A egilops caudata* L. in common wheat [J]. Wheat Int Serr, 1978, 47: 32-35.

[3] 苑泽宁, 徐香玲, 李集临. 小麦-黑麦代换系间杂交后代染色体易位的研究[J]. 植物研究, 2004, 24(2): 223-225

[4] 施芳, 刘坤凡, 远藤隆, 等. 柱穗山羊草 2C 染色体诱发中国春小麦背景中黑麦 IR 染色体结构变异的研究[J]. 遗传学报, 2005, 32(5): 487-494

[5] 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

- [6] 李集临,徐香铃,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.
- [7] 袁建华,陈佩度,刘大钧.利用杀配子染色体创造普通小麦-大赖草异易位系[J].中国科学C辑:生命科学,2003,33(2):110-116.
- [8] King I P, Koebner R M, Reader S M, et al. Inducation of a mutation in the male fertility gene of the Preferentially transmittted aegilops sharonensis chromosome 4S1 and its application for hybrid wheat production[J]. Euphytica, 1991, 54: 33-39.
- [9] 郭长虹,王同昌,李集临.杀配子染色体及其在小麦遗传和育种研究中的应用[J].生物工程进展,2000,20(1):66-68.
- [10] 王鹏科,田增荣.利用杀配子基因建立小麦核不育杂种优势利用体系[J].麦类作物学报,2002,22(专辑):62-64.
- [11] 王鹏科,侯文胜,杨智全.VE型小麦不育-保持系的细胞遗传学研究[J].西北植物学报,1999,19(4):648-653.

## Cytology analysis of progeny ( $F_1$ ) from nucleus sterile line $\times$ chinese spring 3C disomic addition on wheat

WANG Peng-ke

(College of Agronomy, Northwest A & F University Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** The chromosomes variations of the meiotic metaphase I, anaphase I, bispore and quartet in PMC were revealed in  $F_1$  hybrids from nucleus male sterile line  $\times$  Chinese spring 3C disomic addition and wheat nucleus male sterile line  $\times$  common wheat 4E monosomes addition on wheat by cytology analysis. The results indicated that there were 3 monosomes at meiotic metaphase I, 2 or above 2 fall chromosomes at meiotic anaphase I, 2 or above 2 little nucleuses at bispore and quartet in  $F_1$  hybrids from wheat nucleus male sterile line  $\times$  Chinese spring 3C disomic addition, the frequency was not the same in different hybrids. It showed that 3C chromosome had the action of induce chromosome aberration in different nucleus male sterile, but the action was not same in different nucleus male sterile; similar results of observation in  $F_1$  hybrids from wheat nucleus male sterile line  $\times$  4E monosomic addition in common wheat showed that the 4E chromosome had the action of induce chromosome aberration; and the stage of induce chromosome aberration was discussed.

**Key words:** wheat male nucleus sterile line; gametocidal chromosome; cytology analysis