

兰州核不育小麦不育基因的遗传研究

王世红^{1,2,3}, 周宽基², 张怀刚¹, 冯毓琴², 张永生², 袁明璐²

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810001; 2. 甘肃省农科院粮作所, 甘肃兰州 730070; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 利用石蜡切片显微观察、雄性不育基因遗传分析和缺体定位等方法, 对兰州核不育小麦不育基因进行了遗传研究, 以明确该不育基因的遗传学特性。显微观察发现, 兰州核不育小麦不育系 257A 的不育花药各壁层组织在不同发育时期没有明显的结构发育异常现象, 但不育花药的绒毡层及中层组织有延迟解体的趋势。257A 与中国春等小麦品种的杂交 F₁ 结实率、F₂ 和 F₁BC₁ 代育性分离比率调查结果表明, 该突变体材料不育性是受一对隐性核基因控制, 不育性遗传稳定, 不受小麦品种细胞质以及光、温等生态因子变化的影响。缺体分析将不育基因定位在 4B 染色体上。

关键词: 兰州核不育小麦; 花药发育; 遗传分析; 基因定位

中图分类号: S 512.1; S 334.5

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2006)03-0058-05

Genetic Analysis on the Male Sterile Gene of Lanzhou Genic Male-Sterile Wheat

WANG Shi-hong^{1,2,3}, ZHOU Kuan-ji², ZHANG Huai-gang¹,
FENG Yu-qin², ZHANG Yong-sheng², YUAN Ming-lu²

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai 810001, China;

2. Crop Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China;

3. Graduate University, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: We studied the genetic characters of the male-sterile gene in Lanzhou Genetic Male-Sterile Wheat (L GMS) by cytological method, genetic analysis and nullisomic analysis. Pollen abortion processes of the mutant male sterile line 257A were comparatively investigated with cytological method. It was concluded that there were no distinct structural differences between male sterile line 257A and its corresponding male-fertile line 257B during the stage of anther development, pollen abortion occurs after the period of dikaryophase, and the disintegration process in the taptum intercellular layer tissue of sterile anthers was retarded. Genetic analysis indicated that the male sterility in this mutant was controlled by a pair of recessive genes and genetic stability of the male sterility wasn't influenced by different wheat cytoplasm and environmental factors like photoperiod and temperature. Nullisomic analysis showed that the male sterile genes located in the chromosome 4B of wheat.

Key words: Lanzhou genetic male sterile wheat; Anther development; Genetic analysis; Gene location

杂优利用是小麦遗传育种研究的一个重要方面。随着核不育基因的发现, 核不育材料被引入到杂交小麦研究之中。目前, 国内外发现的小麦核不育材料在杂交小麦应用研究过程中大都因为存在不育性不能有效保持、恢复源少、杂种优势不明显等难以克服的困难而未能得到深入的研究^[1-11]。

兰州核不育小麦是我们 1989 年发现的小麦隐性雄性核不育材料。1994 年, 利用该突变体与 4E 染色体附加系蓝粒小麦 (4E 染色体携带显性蓝粒标记基因) 杂交, 经连续多代自交选育, 创建了 4E-*ms* 杂交小麦生产体系 (以下简称 4E-*ms* 体系), 实现了不育系种子白色 (正常小麦粒色) 及保持系种子浅蓝色的粒色标记, 使小麦隐性核不育

* 收稿日期: 2005-12-27 修回日期: 2006-03-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30170593)。

作者简介: 王世红 (1970 -), 男, 在读硕士, 助理研究员, 主要从事春小麦杂种优势利用、品质育种研究。

性获得有效保持,并将这一体系成功地应用于杂交种的育种研究^[12~15]。4E-*ms*体系浅蓝粒保持系自交繁殖可分离出白粒不育系(64.3%)、浅蓝粒保持系(32.1%)和深蓝粒完全可育系(3.6%)。该体系恢复源广泛,任何小麦品种(系)都可以完全恢复不育系的育性;并且任何小麦品种(系)都可以通过杂交、回交等常规育种方法转育成保持系。目前,已经选育出十几份保持系,并有杂交种参加甘肃省区试。4E-*ms*杂交小麦生产体系的建立将核不育杂交小麦研究推向生产应用前沿,为杂交小麦尽快走向大田生产开辟了一条新途径。为了加速该体系的应用和推广,以及更多杂交小麦品种的选育成功,我们对该突变体材料的雄花败育发生的花药和花粉细胞学显微结构、不育基因的遗传特性和基因定位等进行了研究,以期对4E-*ms*体系杂交小麦育种实践提供理论指导依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

兰州核不育小麦的4E-*ms*体系不育系257A、保持系257B、021A、1376A和8391A,以及小麦品种中国春、阿勃、陇春11号和宁春4号均由甘肃省农科院提供,阿勃小麦缺体系统(其中缺体系1AN用丰抗3号、3AN用中7902、7DN用扬麦5号相应的缺体系代替,缺体系4AN用阿勃的单体系4AM代替)由西北农林科技大学提供。

1.2 雄花败育发生的细胞学时期和类型观察

在花药发育的不同时期隔天田间采集不育系257A、相应的保持系257B及对照宁春4号的幼穗花药,室内固定,进行石蜡切片,在光学显微镜下观察。

1.3 雄性不育的遗传分析方法

以不育系257A为母本,中国春、阿勃、陇春11号和宁春4号为父本杂交获得 F_1 和 F_2 ;以4个品种为母本,257A作父本与4个品种进行杂交(即反交组合)获得 F_1 和 F_2 ;以257A为母本,257A与4个品种的 F_1 为父本杂交获得回交 F_1BC_1 代。调查杂种后代在生态环境差异十分明显的云南省元谋县秋播冬收及甘肃省兰州市春播夏收条件下的育性表现(结实率)。单穗结实率(%)=(结实粒数/授粉小花数) $\times 100\%$ 。

1.4 雄性不育基因的染色体定位方法

以不育系021A、257A、1376A和8391A为母

本,阿勃小麦缺体系为父本杂交,调查其 F_1 代的结实率。

2 结果与分析

2.1 兰州核不育小麦不育系的花药与花粉的显微结构

用石蜡切片法,在光学显微镜下观察了257A、257B和宁春4号的花药及花粉的细胞学发育过程。结果表明,257B和对照品种宁春4号相比较,兰州核不育小麦不育系257A花药各壁层组织在不同的发育时期,没有观察到明显的结构发育异常现象,多数雄性不育花药在小孢子发生期花药的壁层组织正常,但花粉败育时期在二核期以后,但不育花药的绒毡层及中层组织有延迟解体的趋势。在部分切片中,不育材料的二核花粉期存在花粉空胞化、花粉畸形且大小不一的现象。

2.2 兰州核不育小麦雄性不育的遗传特点

对以257A为母本,中国春、阿勃、陇春11号和宁春4号为父本的杂交后代 F_1 和 F_2 在兰州和元谋两地的育性分离表现(5%以下的自交结实率视为雄性不育,反之,视为可育)的调查结果(表1)表明, F_1 正常结实,平均结实率为87.4%, F_2 代不育株数与可育株数分离比符合1:3的单基因遗传分离规律。

同时调查了4个反交组合(即以4个品种为母本,257A作父本杂交) F_1 代结实率和 F_2 代育性表现以及不育系257A与中国春等4个品种的回交 F_1BC_1 代的育性表现(表2)。其不育株数与可育株数的分离比率,分别符合单基因性状的 F_2 代1:3及 F_1BC_1 代1:1的遗传分离规律。卡方测验结果显示实际分离比例符合理论分离比例。由此证明兰州核不育小麦为单隐性核基因突变。

比较兰州和元谋两地的试验结果可以看出,不育性的遗传在两地之间没有明显的差异,说明兰州核不育小麦的不育性遗传稳定,不受光、温等生态因子变化的影响。从257A与4个品种反交的结果(表1)看,其 F_1 代的结实率和 F_2 代不育株数与可育株数间的育性分离比率,与正交组合的相应值(表1)相比较,没有明显的差异,说明兰州核不育小麦具有普通小麦的细胞质,不育性的遗传不受小麦品种细胞质的影响。

表 1 不育系 257A 与 4 个小麦品种杂交正、反交 F_1 结实率及 F_2 的育性分离比例
 Table 1 F_1 seed set rates and F_2 fertility segregation in the crosses of male sterile line 257A and 4 wheat cultivars

组合名称 Crosses	地点、 年份 Location, Year	F_1 结 实率 % Seed set rate of F_1	F_2 总 株数 No. of F_2	F_2 不 育株数 No. of Sterile F_2	F_2 可 育株数 No. of fertile F_2	F_2 分离比 segregation rate of F_2	F_2 理论 分离比 Theoretical segregation rate of F_2	²	<i>P</i>
257A/ 中国春	元某 Yuanmu, 2001	78.2	135	37	98	1 2.65	1 3	0.2988	0.70 ~ 0.50
257A/ Chinese Spring	元某 Yuanmu, 2002	76.5	381	106	275	1 2.59	1 3	1.4707	0.30 ~ 0.20
	兰州 Lanzhou, 2002	80.3	249	77	172	1 2.23	1 3	4.3494	0.05 ~ 0.02
	兰州 Lanzhou, 2003	75.5	332	82	250	1 3.05	1 3	0.0040	> 0.90
	合计 Total	77.6	1 097	302	795	1 2.63	1 3	3.6101	0.10 ~ 0.05
257A/ 阿勃	元某 Yuanmu, 2001	87.3	149	41	108	1 2.63	1 3	0.3781	0.70 ~ 0.50
257A/ Abbodanza	元某 Yuanmu, 2002	92.6	210	51	159	1 3.12	1 3	0.0254	0.90 ~ 0.80
	兰州 Lanzhou, 2002	85.6	419	106	313	1 2.95	1 3	0.0072	> 0.90
	兰州 Lanzhou, 2003	91.4	504	121	383	1 3.17	1 3	0.2143	0.70 ~ 0.50
	合计 Total	89.2	1 282	319	963	1 3.02	1 3	0.0042	> 0.90
257A/ 陇春 11 号	元某 Yuanmu, 2001	83.2	98	32	66	1 2.06	1 3	2.6667	0.20 ~ 0.10
257A/ Longchun11	元某 Yuanmu, 2002	89.0	244	56	188	1 3.36	1 3	0.4426	0.70 ~ 0.50
	兰州 Lanzhou, 2002	88.8	302	70	232	1 3.31	1 3	0.4415	0.70 ~ 0.50
	兰州 Lanzhou, 2003	90.6	159	41	118	1 2.88	1 3	0.0189	0.90 ~ 0.80
	合计 Total	87.9	803	199	604	1 3.04	1 3	0.0104	> 0.90
257A/ 宁春 4 号	元某 Yuanmu, 2001	86.4	75	22	53	1 2.41	1 3	0.5378	0.50 ~ 0.30
257A/ Ningchun4	元某 Yuanmu, 2002	88.1	620	150	470	1 3.13	1 3	0.1742	0.70 ~ 0.50
	兰州 Lanzhou, 2002	83.5	179	46	133	1 2.89	1 3	0.0168	0.90 ~ 0.80
	兰州 Lanzhou, 2003	90.6	302	65	237	1 3.65	1 3	1.7660	0.20 ~ 0.10
	合计 Total	87.2	1 176	283	893	1 3.16	1 3	0.5000	0.50 ~ 0.30
中国春/ 257A	元某 Yuanmu, 2002	79.2	265	74	191	1 2.58	1 3	1.0579	0.50 ~ 0.30
Chinese Spring/ 257A	兰州 Lanzhou, 2003	83.1	237	58	179	1 3.08	1 3	0.0127	> 0.90
	合计 Total	81.2	502	132	370	1 2.80	1 3	0.3825	0.70 ~ 0.50
阿勃/ 257A	元某 Yuanmu, 2002	89.5	206	47	159	1 3.38	1 3	0.4142	0.70 ~ 0.50
Abbodanza/ 257A	兰州 Lanzhou, 2003	91.3	281	72	209	1 2.90	1 3	0.0297	0.90 ~ 0.80
	合计 Total	90.4	487	119	368	1 3.09	1 3	0.0554	0.90 ~ 0.80
宁春 4 号/ 257A	元某 Yuanmu, 2002	87.9	266	65	201	1 3.09	1 3	0.0201	0.90 ~ 0.80
Ningchun4/ 257A	兰州 Lanzhou, 2003	88.6	258	55	203	1 3.69	1 3	1.6744	0.20 ~ 0.10
	合计 Total	88.3	524	120	404	1 3.37	1 3	1.1221	0.30 ~ 0.20
陇春 11 号/ 257A	元某 Yuanmu, 2002	85.2	196	42	154	1 3.67	1 3	1.1497	0.30 ~ 0.20
Longchun11/ 257A	兰州 Lanzhou, 2003	79.8	304	81	223	1 2.75	1 3	0.3553	0.70 ~ 0.50
	合计 Total	82.5	500	123	377	1 3.07	1 3	0.0240	0.90 ~ 0.80

2.3 兰州核不育小麦不育基因的染色体定位

从不育系 021A 和 257A 及其与阿勃缺体系杂交 F_1 的结实率(表 3)看,两个不育系 021A 和 257A 的自交结实率分别为 5.00% 和 2.23%;两个不育系 021A 和 257A 与整倍体阿勃小麦品种杂交的 F_1 代结实率分别是 66.97% 和 85.04%;两个不育系 021A 和 257A 与缺体系杂交 F_1 代中,只有 4B 缺体系的两个 F_1 代的结实率最低,分别为 8.83% 和 10.70%,其余组合的结实率在 25.79% ~ 79.39% 之间,且多数在 40% 以上。由此可以断定,兰州核不育小麦雄性不育基因位于

4B 染色体上。

为了进一步明确第四同源群的 4A、4B、4D 及 2A、7B 染色体与兰州核不育小麦不育基因的关系,用 021A、1376A、8391A 三个不育系与这五个缺体系再次进行缺体分析。结果(表 4)表明,021A、1376A 和 8391A 三个不育系的自交结实率分别为 3.2%、5.1%、6.5%,三个不育系与 4B 缺体系杂交 F_1 的结实率分别为 7.5%、5.5%、7.2%,与其余缺体系的 F_1 结实率在 51.3% ~ 70.3% 之间,远远高于 4B 缺体系的 F_1 结实率。再次证明不育基因位于 4B 染色体上。

表 2 不育系 257A 与 4 个常规品种回交 BC₁ 代的育性分离调查
Table 2 BC₁ fertility segregation in backcrosses of male sterile line 257A and 4 F₁ crosses

组合名称 Crosses	地点、 年份 Location, Year	总株数 No. of BC ₁	不育株数 No. of Sterile	可育株数 No. of fertile	分离比 segregation rate	理论分离比 Theoretical segregation rate	²	P
257A//257A/ 中国春	元某 Yuanmu,2002 兰州 Lanzhou,2003	45 64	19 35	26 29	1.37 0.83	1 1 1 1	0.5556 0.2500	0.50~0.30 0.70~0.30
257A//257A/ Chinese Spring	合计 Total	109	54	55	1.02	1 1	0.0029	>0.90
257A//257A /阿勃	元某 Yuanmu,2002 兰州 Lanzhou,2003	85 126	40 57	45 69	1.13 1.21	1 1 1 1	0.1059 0.7937	0.80~0.70 0.50~0.30
257A//257A/ Arbo	合计 Total	211	97	114	1.18	1 1	1.0664	0.50~0.30
257A//257A /陇春 11 号	元某 Yuanmu,2002 兰州 Lanzhou,2003	79 121	38 56	41 65	1.08 1.16	1 1 1 1	0.0127 0.4050	>0.90 0.70~0.50
257A//257A/ Longchun11	合计 Total	200	94	106	1.13	1 1	0.5000	0.50~0.30
257A//257A /宁春 4 号	元某 Yuanmu,2002 兰州 Lanzhou,2003	45 91	19 42	26 49	1.37 1.17	1 1 1 1	0.5556 0.2747	0.50~0.30 0.70~0.50
257A//257A/ Ningchun4	合计 Total	136	61	75	1.23	1 1	1.0588	0.50~0.30

表 3 不育系 021A、257A 与阿勃缺体系杂交 F₁ 的结实率(2002)

Table 3 F₁ seed set rate in crosses between male sterile line 021A, 257A and Abbodanza nullisomic lines(2002)

组合 Crosses	结实率(%) Seed set rate	组合 Crosses	结实率(%) Seed set rate
021A	5.00	257A	2.23
021A/阿勃	66.97	257A/阿勃	85.04
021A/丰 1AN	55.06	257A/丰 1AN	44.74
021A/1BN	55.91	257A/1BN	67.43
021A/1DN	77.92	257A/1DN	70.11
021A/2AN	79.39	257A/2AN	72.97
021A/2BN	57.17	257A/2BN	58.94
021A/2DN	34.19	257A/2DN	63.51
021A/中 3AN	25.79	257A/中 3AN	61.94
021A/3BN	66.48	257A/3BN	63.66
021A/3DN	46.22		
021A/4AM	67.34	257A/4AM	65.70
021A/4BN	8.83	257A/4BN	10.70
021A/4DN	61.94	257A/4DN	38.19
021A/5AN	51.56	257A/5AN	46.47
021A/5BN	68.54	257A/5BN	65.38
021A/5DN	61.09		
021A/6AN	40.91	257A/6AN	47.50
021A/6BN	56.83		
021A/6DN	49.20		
021A/7AN	54.21		
021A/7BN	26.39		
021A/扬麦 7DN	60.19	257A/扬麦 7DN	49.07

表 4 不育系 021A、1376A、8391A 与部分阿勃缺体系杂交 F₁ 的结实率(2004)

Table 4 F₁ seed set rate in crosses of male sterile line 021A,1376A,8391A and Abbodanza nullisomic line(2004)

组合 Crosses	结实率(%) Seed set rate	组合 Crosses	结实率(%) Seed set rate	组合 Crosses	结实率(%) Seed set rate
021A	3.2	1376A	5.1	8391A	6.5
021A/2AN	64.4	1376A/2AN	70.3	8391A/2AN	62.6
021A/扬麦 4AN	60.1	1376A/扬麦 4AN	61.5	8391A/扬麦 4AN	60.0
021A/ Yangmai4AN		1376A/ Yangmai4AN		8391A/ Yangmai4AN	
021A/4BN	7.5	1376A/4BN	5.5	8391A/4BN	7.2
021A/4DN	57.6	1376A/4DN	51.3	8391A/4DN	57.4
021A/7BN	59.2	1376A/7BN	58.2	8391A/7BN	56.4

3 讨论

对兰州核不育小麦不育系的雄花败育发生的细胞学机理研究结果与何蓓如等^[16]、姜奇彦等^[17]、王小利等^[18]的报道有些不同。这些研究结果是关于细胞质雄性不育的,而兰州核不育小麦是隐性细胞核雄性不育材料,因而其结果不同。另外,由于石蜡切片制作技术和缺少高档光学显微镜等原因,有关不育系雄花败育细胞学观察实验结果还有待进一步验证。

兰州核不育小麦为单隐性核基因突变,有关其遗传稳定性、受控基因数目的研究尚未见相关报道。兰州核不育小麦是在普通小麦品种间杂交组合 87(212)(亲本组合为 8186F₃/79 鉴 16//852-648)的杂种 F₄ 代群体中发现的,母本 8186F₃/79 鉴 16 是甘肃省农科院培育的中间材料,父本 852-648 引自云南省农科院,其系谱中含有农家品种“山前麦”。国内也有其他核不育材料^[11]的发现,但其遗传规律均缺乏系统研究。

用缺体分析法将兰州核不育小麦雄性不育基因定位于 4B 染色体上,Cornerstone 突变体的 *mslc* 基因也位于 4B 染色体上,两者之间是否为等位基因突变需要进行等位性测定,该研究目前正在进行中。薛秀庄等^[19]用阿勃缺体系统验证了刘秉华等^[2]对太谷核不育小麦的不育基因定位结果,其定位结果完全相同。目前,核不育基因遗传研究虽取得很大进展,但除对不育基因进行了染色体定位外,还需进行染色体臂定位和基因定位。

参考文献:

- [1] 黄铁城,张爱民编. 杂种小麦研究进展、问题与展望[M]. 北京:北京农业大学出版社,1990.
- [2] 刘秉华,邓景扬. 小麦显性雄性不育基因 *Tal* 的染色体组定位及端体分析[J]. 中国科学(B辑),1986,(2):157-165.
- [3] 刘秉华. 小麦核不育性与轮回选择育种[M]. 北京:中国农业科技出版社,1994.39-52,80-100.
- [4] Driscoll C J. Registration of Cornerstone male-sterile wheat germplasm[J]. Crop Sci., 1977,17:190.
- [5] Driscoll C J. XYZ system of producing hybrid wheat. Crop Sci.,1972,12:516-517.
- [6] Driscoll C J. Modified XYZ system of producing hybrid wheat [J]. Crop Sci.,1985,25:115-116.
- [7] Maan S S. Chromosomal arm location and gene centromere distance of a dominant gene for male sterility in wheat [J]. Crop Sci., 1987, 27:494-500.
- [8] Suneson C A. Use of Pugsley's sterile wheat in cross breeding [J]. Crop Sci., 1962, (2): 534-535.
- [9] Fossati A, M. Ingold. A male sterile mutant in *Triticum aestivum*[J]. Wheat Info. Serv., 1970, 30: 8-10.
- [10] Maan S S. Chromosomal arm location and gene centromere distance of a dominant gene for male sterility in wheat [J]. Crop Sci.,1987,27:494-500.
- [11] Maan S S, S F Kianian. Third dominant male sterility gene in common wheat[J]. Wheat Info. Serv., 2001,93:27-31.
- [12] 周宽基,周文麟,王淑英,等. 4E-*ms* 小麦雄性核不育、保持体系的建立[J]. 中国农业科学,1996,29(3):93-94.
- [13] 周宽基,王世红,刘忠祥,等. 作物细胞雄性核不育杂种优势利用的 NX-*ms* 模式[A]. 万建民,马有志主编. 2003 年全国作物遗传育种学术讨论会论文集[C]. 2003.223-226.
- [14] Kuanji Zhou, Shihong Wang, Yuqin Feng, et al. 4E-*ms* system of producing hybrid wheat[J]. Crop Sci.,2006,(46):250-255.
- [15] 刘忠祥,周宽基,王世红,等. 兰州核不育小麦在杂交小麦育种中的应用研究[J]. 甘肃农业科技,2004,(7):11-14.
- [16] 何蓓如,王忠明,王鸿钧. K型小麦雄性不育系的花药和花粉发育[J]. 黄铁城,张爱民主编. 杂种小麦研究进展[M]. 北京:农业出版社,1993.53-57.
- [17] 姜奇彦,张改生,王军卫,等. 二角型小麦雄性不育花粉败育的细胞学研究[J]. 西北植物学报,2004,24(6):986-990.
- [18] 王小利,张改生,陈新宏,等. 两类二角山羊草细胞质小麦雄性不育系的细胞学研究[J]. 西北植物学报,2004,24(5):781-786.
- [19] 薛秀庄,吉万全,王秋英,等. 小麦性状的缺体分析[J]. 西北农业学报,1995,4(4):1-5.