

2C 杀配子染色体对减数分裂的作用及分析

赵丽娟^{1,2}, 赵丽伟³, 于金海², 李集临¹

(1. 哈尔滨师范大学, 哈尔滨 150080; 2. 黑龙江省农科院作物育种所, 哈尔滨 150086;
3. 阿城杨树乡政府农技站, 哈尔滨 150314)

摘要:“中国春”—长穗偃麦草二体附加系与“中国春”—2C 二体附加系杂交, 观察到 F_1 代减数分裂过程异常。 F_1 花粉母细胞减数分裂时出现了大量的单价体和一定频率的多价体; 在后期 I 和后期 II 均看到大量的染色体断片、染色体桥、落后染色体等异常现象; 在 F_1 末期或四分孢子中观察到大量的微核; 还出现了细胞质的多极分裂。可能是由于杀配子染色体作用引起的染色体断裂和易位造成的。

关键词:杀配子染色体; 减数分裂; 单价体; 多价体

中图分类号: S 512.103

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2007)03-00004-03

Function and Analysis of 2C Gametocidal Chromosome on Meiosis

ZHAO Li-juan^{1,2}, ZHAO Li-wei³, YU Jin-hai², Li Ji-lin¹

(1. Harbin Normal University, Harbin 150080; 2. Crop Breeding Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 3. Agricultural Technology Extension Station, Acheng Poplar Tree Town Government, Harbin 150314)

Abstract: By crossing CS-(1-7)E^u with CS-2C^u, We observed the abnormal behaviors of F_1 pollen cell meiosis. There were a great of univalent and certain frequency multivalent chromosome appeared in F_1 . We also observed that a large number of chromosome fragment, chromosome bridge, laggards etc appeared at anaphase I, anaphase II and a great quantity of micro-nucleus at telophase of F_1 or tetrad. It appeared cytoplasmic multipolar division in the experiment. Those aberration were probably caused by chromosome splitting and translocation made by gametocidal chromosome.

Key words: gametocidal chromosome; meiosis; univalent; multivalent chromosome

杀配子染色体(或基因 Gc), 又名“杜鹃”染色体^[1], 是由 Endo 和 Tsunewaki(1975)^[2] 首次报道的。杀配子染色体作为诱导染色体变异的一种手段, 它与物理诱变、化学诱变有着本质的区别。主要表现在诱变频率极高、变异类型复杂、具有一定的方向性、诱导产生染色体畸变一般不致死, 可在后代中稳定地保存下来^[2]。Endo 经过多年研究认为, 在减数分裂后, 缺少杀配子染色体的减数孢子在配子形成过程中的有丝分裂阶段发生了染色体断裂。由这样的孢子形成的配子发生的染色体畸变是致死或半致死的。半致死畸变的配子有较低的存活率, 产生的缺失或易位等染色体畸变有机会被传至下一代,

即杀配子染色体具有双重功能, 使缺少它的细胞发生染色体畸变, 同时又保护含有自身的细胞中的染色体免受其杀配子作用。这种杀配子作用似乎与细菌中 DNA 的修饰限制系统相类似^[3]。

杀配子染色体在小麦育种上具有诱人的应用前景, 因为它和与其紧密连锁的基因在后代中可以被选择性地保留下来。一旦某一个农艺学有益的基因, 与杀配子基因连锁, 育种学家就能够集中进行其他性状的选择(Milller 1983^[1], 1986; King et al. 1988^[4])。杀配子染色体的一个独特用途就是生产 F_1 代杂种(Tsujimoto and Tsunewaki 1983^[5]; Marshall and Ellison, 1988^[6])。利用杀配子诱导的易

收稿日期: 2006-12-14

第一作者简介: 赵丽娟(1974-), 女, 黑龙江阿城人, 硕士研究生, 助研, 从事谷子遗传育种。Tel: 13664503578; E-mail: zlj-110@163.com。

通讯作者: 李集临(1928-), 男, 教授, 主要从事小麦细胞遗传学的研究。



位频率在已有的几种诱导易位系的方法中可能是最高的。本试验通过对 F_1 花粉母细胞减数分裂染色体行为进行研究,更深入地分析和理解杀配子染色体的作用,为下一步易位和缺失染色体的检测分析奠定基础,这对于利用小麦近缘种属遗传资源进行抗病、品质育种具有十分重要的意义。

1 材料与方法

用于本研究的试验材料为 7 个“中国春”—长穗偃麦草(*E. elongata* $2n=14$ EE)二体附加系,由以色列 Weizmann 科学研究所的 Feldman 教授提供;“中国春”—柱穗山羊草(*Ae. cylindrical*)染色体 2C 二体附加系,由日本京都大学 Endo 教授提供;长穗偃麦草由 Feldman 教授提供;“中国春”对照由本实验室提供。

花粉母细胞减数分裂时期,每天上午 9:00~11:00,下午 4:00~6:00 取材,取孕穗的幼穗,立即挑出花药,用乙醇/冰醋酸(3:1)固定;过 30 min 更换固定液,24 h 以后转移至 70%乙醇中保存。制片时用锡夫试剂初染,花药变紫,再换入醋酸洋红过夜。45%冰醋酸压片,镜检,液氮冷冻揭片,气干 24 h 以上,Dammar 胶封片。OLYMPUS BH-2 显微镜镜检与照相。

2 结果与分析

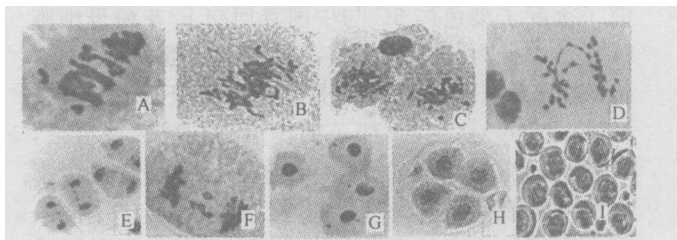
“中国春”—长穗偃麦草二体附加系(1E-7E)与“中国春”—柱穗山羊草染色体 2C 二体附加系杂交,对 7 个杂交组合 F_1 花粉母细胞减数分裂染色体行为进行了分析。 F_1 的染色体组基本构型应为 $21II+1I(1E-7E)+1I(2C)$ (如图 A),实际观察发现 7 个杂交组合中都出现了大量的单价体和一定频率的多价体(如图 B, C)。分析原因可能是在合线期到粗线期联合复合体形成期间,杀配子染色体引起的某些染色体不联会,并产生断裂和易位造成的。

同时,在上述的观察中发现,在后期 I 和后期 II 均看到大量的染色体断片、染色体桥、落后染色体和染色体粘连等异常现象(见图 D, E, F)。除了 $CS-1E'' \times CS-2C''$ 外,其他 6 个杂交组合 F_1 中具有染色体异常的细胞数占 70% 以上,7E 最高。在所有的 F_1 末期或四分孢子中观察到大量的微核(见图 G),微核数从 1 到 4 不等,微核产生频率达 80% 以上,而且还观察到了细胞质的多极分裂,最多可形成七分孢子(见图 H),每一分裂块中均包含大小不一的微核,小的分裂块能形成小花粉粒(见图 I),小花粉粒是不育的,进一步证实了可能是由于杀配子的作用导致花粉母细胞后期、末期出现大量的断片和微核。

在 $CS-6E$ 和 $CS-7E$ 与 $CS-2C$ 杂交 F_1 的花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体组型非常复杂,出

现多价体的频率和微核的数目比其他的组合要高些。说明 E 组不同染色体对 2C 的敏感程度不同。

观察发现,7 个杂交组合 F_1 代花粉粒有丝分裂基本正常,只有极少数的染色体在后期形成断片和落后染色体。生殖核有丝分裂正常。



A- F_1 PMC MI $21II+2I$, B- F_1 PMC MI 有一个三价体和一个四价体, C- F_1 PMC MI 有四个单价体, D- F_1 PMC AI 落后染色体和桥, E- F_1 PMC AII 落后染色体, F- F_1 PMC AI 落后染色体, G- F_1 带微核的四分孢子, H- F_1 七分孢子, I- F_1 小花粉粒为不育配子。

图 F_1 花粉母细胞减数分裂染色体情况

3 结论与讨论

3.1 F_1 代减数分裂的异常现象主要是由杀配子染色体诱发染色体畸变引起的

本研究中用“中国春”—长穗偃麦草二体附加系与“中国春”—2C 二体附加系杂交,观察 F_1 代减数分裂中期 I 出现的单价体数超过理论值,并出现一定频率的三价体、四价体。MI 异常现象可能是因为 F_1 代的母本“中国春”—二倍体长穗偃麦草附加系($21''+E''$)中的 E 组染色体存在促进同祖配对基因或有抑制 PH 基因的作用。Dvorak(1988)^[7],发现长穗偃麦草中染色体 3ES、3EL、4ES、5E、6E 上有诱导重组易位的基因;韩方普(1993)^[8]等认为长穗偃麦草有促进同祖配对的基因或抑制 PH 基因的作用;刘树兵(1999)^[9]等利用限制性片段长度多态性分析(RFLP)及等电聚焦电泳(IEF)确定二倍体长穗偃麦草的 1E、2E、3E、4E、5E、6E、7E 七条染色体分别与小麦染色体的 1、2、3、4、5、6、7 七个部分同源群具有部分同源关系。因此,单价体数目的增多与多价体的出现可能是部分同源染色体配对造成的,但是频率不会如此之高。我们认为主要是由于杀配子染色体诱发的染色体畸变引起易位造成的。而且在减数分裂的后期和末期出现了大量的断片、桥、落后染色体;末期和四分孢子时期中出现大量微核,孙仲平(2002)利用八倍体小黑麦($2n=56$ AABBDDRR)、六倍体小黑麦($2n=42$ AABBRR)、“中国春”—黑麦二体附加系与“中国春”—2C 二体附加系进行杂交,同样也发现了 F_1 代减数分裂的异常现象。可见这种异常现象不是偶然的,而是与 2C 杀配子的作用有密切的关系,尽管前人报道,含 2C 单体的杂交子一代中,减数分裂过程均正常,但我们认为杀配子染色体在减数分裂过程中能诱发染色体畸变,并导致后代染色体变异。

3.2 杀配子染色体诱发染色体畸变发生的时期

杀配子在个体发育或花粉母细胞发育的哪个时期起作用,一直是大家研究的焦点。据 Finch (1984)报道,杀配子染色体诱导的染色体畸变发生在受精之后。Tsuyimoto 和 Tsunewaki (1985)研究了杀配子染色体 3C 与中国春回交 F_1 花粉母细胞减数分裂行为,没有发现不规则现象。据此,他们认为,杀配子染色体的作用是在受精后不久发生的。Endo (1996)认为,杀配子的作用是在减数分裂后,减数孢子在配子形成过程中的有丝分裂阶段发生了染色体断裂。Shuihei Nasuda (1998)分析了不同杀配子因子的小麦纯合和杂合品系的雄性配子的形成过程,只在杂合品系中小孢子形成的减数分裂后的有丝分裂中观察到了染色体断片和桥。染色体片段的多态性暗示杀配子基因(GC)在 G1 期诱发了染色体断裂,而不是在有丝分裂的 DNA 合成期。郭长虹(2000)在观察涉及杀配子的 F_1 花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体行为时,推测杀配子染色体的作用发生在减数分裂中期 I 以后的时期。本试验观察到减数分裂异常现象从中期 I 持续到减数分裂结束,在花粉粒的有丝分裂阶段没有观察到异常现象或很少看到异常现象。与徐萍、孙仲平观察的结果相一致^[10]。因此认为杀配子染色体在减数分裂前期,即合线期到粗线期联合丝复合体形成时期发生作用。推测也可能是杀配子染色体在不同的遗传背景下作用时期不同。杀配子染色体的作用时期及机制还需要结合细胞学及分子生物学的方法进行大量的试验才能清楚地揭示出来。

参考文献:

- [1] Miller, T. E. Preferential transmission of alien chromosome in wheat[C]. In: Kew chromosome conference II. London, UK, 1983. 173-182.
- [2] Endo, T. R., Tsunewaki, K. Sterility of common wheat with *Aegilops triuncialis* cytoplasm[J]. *Hered.* 1975, 66, 13-18.
- [3] Endo, T. R. Induction of chromosomal structural changes by a chromosome of *Aegilops cylindrical* L in common wheat[J]. *Hered.* 1988, 79, 366-370.
- [4] King, I. P., Reader, S. M., Miller, T. E. Exploitation of the "cukoo" chromosome (4S) of *Aegilops sharonensis* for eliminating segregation for height in semi-dwarf Rht2 bread wheat cultivars[C]. *Proc 7th Intern Wheat Genet. Symp.*, Cambridge, UK, 1988. 337-341.
- [5] Tsujimoto, H., Tsunewaki, K. Genetic analyses on a gametocidal gene originated from *Aegilops aucheri*[C]. In *Proc. 6th Intern Wheat Genet. Symp. Kyoto, Japan*, 1983, 1077-1081.
- [6] Marshall, D. R., Ellson, F. W. The potential use of gametophytic factors in the production of F_1 hybrid varieties[J]. *Euphytica*. 1988, 39, 75-81.
- [7] Apples R, Moran LB, Gustafson JP. Rye heterochromatin 1. studies on clusters of the major repeating sequence and the identification of a new dispersed repetitive sequence element[J]. *Can J genet Cytol*, 1986, 28, 645-657.
- [8] 韩方普, 李集临. 小麦细胞遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [9] McIntyre CL, Clarke C, Apples R. Amplification and dispersion of repeated DNA sequences in the Triticeae[J]. *Plant Syst Evol*, 1988, 160, 39-59.
- [10] 孙仲平. 利用柱穗山羊草杀配子 2C 诱导中国春-黑麦二体附加系染色体畸变的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学博士学位论文, 2002.

欢迎订阅2007年

《黑龙江农业科学》

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊,是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊、“中国期刊方阵”期刊、《中国核心期刊(遴选)数据库》收录期刊、CNKI系列数据库、万方数据库、重庆维普中文科技期刊数据库和华艺电子出版事业群收录。本刊坚持以高新实效为原则,以服务科研、服务生产为宗旨,主要报道最新的农业科研成果、先进技术、发展趋势以及新产品、新品种等,能够全面反映黑龙江省特色、内容丰富、栏目新颖、信息量大、可读性强。设有作物育种、耕作栽培、土壤肥料、植物保护、畜牧兽医、园林园艺、质量安全、农村能源、食用菌、遥感、三农研究、农技推广、品种简介、农业信息等栏目以及各类广告业务宣传,如:新品种、新产品、重点实验室、研究所、企业简介等。本刊发行面广,读者群大:农业科研工作

者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广部门的科技人员、管理干部和广大农民群众等。

本刊为国际大十六开本,彩色四封,120页,双月刊,刊号:ISSN1002-2767, CN23-1204/S, 邮发代号14-61, 广告经营许可证号:2301004010072, 单月10日出版,每期定价8.00元,全年48.00元。全国各地邮局(所)均可订阅。漏订者可汇款至本刊编辑部补订。

另外,本刊编辑部现有少量 2005 年、2006 年合订本珍藏版。每册 70.00 元,邮费 5.00 元,共计 75.00 元,售完为止。

地址:哈尔滨市南岗区学府路368号 《黑龙江农业科学》编辑部

电话:0451-86668373

电子函件:nykx13579@sina.com; nykx13579@126.com

邮编:150086

