

谷子四体的细胞学和形态学研究^X

高俊华 毛丽萍 王润奇

(河北省农林科学院谷子研究所 河北石家庄 050031)

提 要 报道了在谷子初级三体的群体中发现了四体 $\dot{1}$ 、四体—和四体 \dot{N} 。运用细胞学方法对三种四体进行了染色体核型分析,其染色体数均为 $2n+2=20$,四体的两个额外染色体与其同源的两个染色体形成四价体的稳定结构。减数分裂时染色体的联会有四种形式,其中以 $8^{\circ}+2^{\circ}$ 形式最多,在后期容易形成 $2\ddot{2}$ 均衡分离。四体—、四体 \dot{N} 植株形态便于鉴定,在子代中传递率较高。这些特征使它能替代相应的三体用于遗传分析。

关键词 谷子; 四体; 染色体核型分析; 减数分裂; 形态学

A Study on the Cytology and Morphology of the Tetrasomics in Foxtail Millet

GAO JunHua MAO LiPing WANG RunQi

(Institute of Millet Crops, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050031)

Abstract Tetrasomic $\dot{1}$, — and \dot{N} were discovered from primary trisomic population of foxtail millet. Karyotype analysis of the three kinds of tetrasomics showed that their chromosome numbers were invariably $2n+2=20$. The two additional chromosomes of the tetrasomics formed a stable quadrivalent with two other autochromosomes. In meiosis, there were four kinds of chromosome configuration, with $8^{\circ}+2^{\circ}$, which would segregate evenly later, the most commonly occurred one. The morphology of tetrasomic — and tetrasomic \dot{N} plant could be easily distinguished and their transmit rates were very high. These characteristics enable them to replace their corresponding trisomics in genetic analysis.

Key words Foxtail millet; Tetrasomics; Karyotype analysis of chromosome; Meiosis; Morphology

四体是生物的一种非整倍体,目前尚无发现它直接的生产应用价值。但是从理论及实践中都表明它和三体一样是重要的遗传材料,可用以测定基因所在的染色体,并可以确定染色体的亲缘关系。

1993年王润奇等首次建立了谷子初级三体系列^[1]。在研究初级三体,并利用它们进行染色体基因定位过程中发现了三种谷子四体。研究表明,谷子四体在子代中传递率高,与小麦四体相似^[2]。本文报道了谷子四体细胞学和形态学的研究结果。

X 国家自然科学基金和河北省自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1999203230, 接受日期: 1999212215

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料有本所经过鉴定的谷子初级三体 \bar{i} 、三体—和三体 \bar{N} 及其变异株四体 \bar{i} 、四体—、四体 \bar{N} ；山东农科院提供的红苗品种红秫谷，河北张家口坝下所提供的青粘谷及本所的黄苗不育系 1066A。

1.2 试验方法

1.2.1 体细胞染色体鉴定 8月上旬上午7时左右，取三体 \bar{i} 、三体—和三体 \bar{N} 变异株幼嫩的气生根或次生根的根尖以0.02%秋水仙素溶液处理2h，水洗后去壁低渗，以火焰干燥法^[3]制片，经变性复性处理，Giemsa染色。染色用的磷酸缓冲液pH=7.1~7.2。通过镜检确定体细胞染色体数为20的植株为四体植株。谷子四体染色体的核型分析按李懋学等的标准^[4]进行。

1.2.2 花粉母细胞减数分裂标本制备 8月中旬上午8时左右，分别取上述材料中抽出205左右的幼穗用卡诺氏固定液(附加0.05% FeCl₃溶液^[5])固定6h，换入70%酒精后冰箱保存。在解剖镜下取部分小谷码解剖出花药，以醋酸洋红染色，加盖片，把材料压开后，加热到透明，以石蜡临时封片，镜检。

1.2.3 四体形态特征、传递规律及杂种的研究 比较豫谷1号二体以及三体 \bar{i} 、三体—、三体 \bar{N} 与四体 \bar{i} 、四体—和四体 \bar{N} 的形态特征。在四体的穗行中分别统计其中的二体、三体和四体的株数，每种四体统计5个穗行，取平均值计算四体的传递率。一组以四体—和四体 \bar{N} 作母本，经温汤(水温46~48℃，7min)杀雄，红秫谷、青粘谷为父本；另一个组是以黄苗的不育系1066A为母本，以四体—和四体 \bar{N} 为父本，以接触授粉和反复授粉的方法进行杂交。杂交种第二年按穗行播种，成株后根据四体的特征和父本的标志性状鉴定杂种F₁。取杂种幼嫩的次生根和气生根的根尖，按1.2.1方法对四体杂种进行体细胞染色体鉴定。

2 结果

2.1 谷子四体的染色体核型分析

对三体 \bar{i} 、三体—、三体 \bar{N} 后代群体中的变异植株有丝分裂晚前期或早中期根尖染色体的观察和分析结果是，其染色体数均为 $2n+2=20$ ，都具有2个额外染色体，染色体的形态与豫谷1号二倍体或由豫谷1号产生的初级三体无任何差异。对于谷子，染色体数是20的非整倍体有两种，一种是双三体，在它的染色体中两个额外染色体同另外两对染色体组成2个三价体。双三体的遗传稳定性极差，自交不结实，人工授粉也极少结实，在谷子三倍体的后代中曾发现几株。四体是染色体数为20的谷子的另一种非整倍体，它的两个额外染色体同另外两个同源染色体形成一个四价体。对这三种变异植株的体细胞染色体进行分析，结果如下：三体 \bar{i} 的变异株所具有的2个额外染色体与4号染色体是同源的。而三体—和三体 \bar{N} 变异株的两个额外染色体分别与8号和9号染色体是同源的(图版É 25~7)。这些变异株细胞中的两个额外染色体与其同源的其他两个染色体在减数分裂时可配成一个四价体。同时这几种变异株稳定性较高，自交能够结实。由此，可以确定这三种变异株不是双三体而是谷子四体，分别是四体 \bar{i} 、四体—、四体 \bar{N} 。

2.2 谷子四体减数分裂观察

观察四体 $\bar{1}$ 、四体 $\bar{1}$ —和四体 \bar{N} 花粉母细胞减数分裂制片, 看到了粗线期染色体的形态(图版 \acute{E} 212)。在终变期和中期 I, 我们清楚地看到谷子四体有 10 个二价体。四体 $\bar{1}$ —、四体 \bar{N} 在这个时期四体联会有以下几种方式: $8^{\circ} + 1\bar{1}$; $9^{\circ} + 2\acute{E}$; $8^{\circ} + 2^{\circ}$; $8^{\circ} + 1_{\bar{1}} + 1\acute{E}$ (图版 \acute{E} 28~ 10), 其中以 $8^{\circ} + 2^{\circ}$ 的情况最多, 占 60% 左右。其次 $8^{\circ} + 1\bar{1}$ 的约占 20%; $9^{\circ} + 2\acute{E}$ 和 $8^{\circ} + 1\acute{E} + 1_{\bar{1}}$ 的情况各占 10% 左右。四体染色体随机联会情况的几率与四体在子代中的传递率有密切关系。染色体呈偶数的联会时, 后期 I 中容易形成 2 $\bar{2}$ 的均衡分离, 在子代中容易生成四体的稳定结构。所以四体 $\bar{1}$ —和四体 \bar{N} 在子代中传递率分别达到 77.5% 和 82.3%。另外, 四体在授精过程中可能大部分雄配子参与了传递, 也会提高它们在子代中的传递率。 $8^{\circ} + 1\acute{E} + 1_{\bar{1}}$ 和 $9^{\circ} + 2\acute{E}$ 的联会, 其中的单价体到后期容易被遗弃在细胞质里, 所以在四体的子代中也可以产生部分三体和二体。到第一次分裂的后期, 同源染色体在纺锤丝的牵引下向两极移动, 出现了滞后的染色体(见图版 \acute{E} 211)。三体和四体在减数分裂后期 I 都出现滞后染色体, 不同的是四体出现的滞后染色体较少。

2.3 谷子四体的形态鉴别

从植株形态上来看, 谷子四体与对应的三体有一定差异。四体 $\bar{1}$ 与三体 $\bar{1}$ 相比有些性状更突出了, 例如刚毛, 四体 $\bar{1}$ 比三体 $\bar{1}$ 的刚毛更多、更长。四体 $\bar{1}$ 叶子比三体 $\bar{1}$ 更宽。但是总的来看它们之间差异不够显著, 从表 1 看, 四体 $\bar{1}$ —、四体 \bar{N} —, 与三体 $\bar{1}$ —、三体 \bar{N} —及它们的二体豫谷 1 号差异较大。根据这些差异可以从形态上将四体 $\bar{1}$ —与三体 $\bar{1}$ —、四体 \bar{N} —与三体 \bar{N} —及它们的二体进行区分和鉴别, 再加上四体在后代中传递率高, 应用起来比较方便。

表 1 谷子四体、三体和二体一些性状的比较

Table 1 Comparison of Some Characters of Tetrasomic, Trisomic and Diploid Foxtail Millet

材料 Material	形态特征 Characters						传递率 (%) Transmission rate	四体在三体群体中 产生的几率(%) Percentage of tetrasomic in trisomic population
	株高 Plant height	株型 Plant type	穗型 Spike type	穗长 Spike length	穗粗 Spike width	结实率(%) Seed set rate		
四体 $\bar{1}$ Tetra24	113.0	叶下垂	纺锤	16.0	3.8		48.0	0.2
三体 $\bar{1}$ Tri24	130.8	叶下垂	纺锤	19.8	4.0	62.0	24.5	
四体 $\bar{1}$ — Tetra28	78.5	叶上冲	细纺锤	10.8	2.0	39.6	77.5	6.05
三体 $\bar{1}$ — Tri28	121.2	叶下垂	纺锤	22.4	4.6	35.7	38.2	
四体 \bar{N} Tetra29	82.0	叶上冲	棒型	8.7	2.1	43.3	82.3	7.2
三体 \bar{N} Tri29	108.9	叶下垂	纺锤	25.9	4.08	46.3	45.8	
豫谷 1 号 二倍体 Yugu 1 Diploid	131.0	叶下垂	纺锤	23.5	3.7	88.6		

2.4 谷子四体在遗传分析中的应用

在四体—、四体 \tilde{N} 与亲本红秫谷、青粘谷杂交的 F_1 代群体中,根据四体的特征和亲本的标志性状,从杂种 F_1 代形态鉴定结果来看,在四体—、四体 \tilde{N} 与亲本杂交的 F_1 代群体中,都产生了10%左右的真杂种,它们标志性状是红苗或红色的叶枕。通过检查杂种体细胞染色体数,明确了上述真杂种分为两种类型。一类染色体数为 $2n+1=19$ 的三体,另一类是染色体数是18的二倍体。四体—的杂种 F_1 代产生45%的三体—,四体 \tilde{N} 的杂种 F_1 代产生53%的三体 \tilde{N} 。

以不育系为母本(黄苗),以四体为父本杂交, F_1 代为绿苗。其中大多数为三体杂种株,部分为二体杂种株。这进一步说明四体—、四体 \tilde{N} 的花粉是可育的,有不少雄配子参与了传递。

3 讨论

3.1 上述3种四体,在子代中传递率相差较大。四体 \tilde{I} 的传递率较低,只有48%。而四体—和四体 \tilde{N} 的传递率分别达到77.5%和82.5%。四体传递率的高低与减数分裂时,额外染色体的联会方式有一定关系。而联会方式又可能受额外染色体长短的影响。额外染色体较长,联会时引起体系不平衡的现象较为严重,由此可能导致传递率降低。谷子初级三体的9种类型分别是三体 \acute{E} 、三体 $^{\circ}$ 、...三体 \tilde{N} ,它们在子代中的传递率依次为32.6%、32.2%、33.1%、24.5%、29.3%、40.7%、37.6%、38.2%、45.8%。三体传递率总的趋势是随额外染色体变小,传递率增大。这种变化规律与四体传递率的变化是一致的。

3.2 以豫谷1号遗传背景创建的谷子初级三体共有9种类型,即三体 \acute{E} 、三体 $^{\circ}$...三体 \tilde{N} 。其中前7种类型与二体相比在形态上都有一定差异,只有三体—和三体 \tilde{N} 植株形态与二体极为相似,难以区分。另外三体在子代中的传递率是30%~40%,用三体—和三体 \tilde{N} 植株进行杂交等工作之前,必须进行复杂的细胞学鉴定才能确定后代群体中的三体。

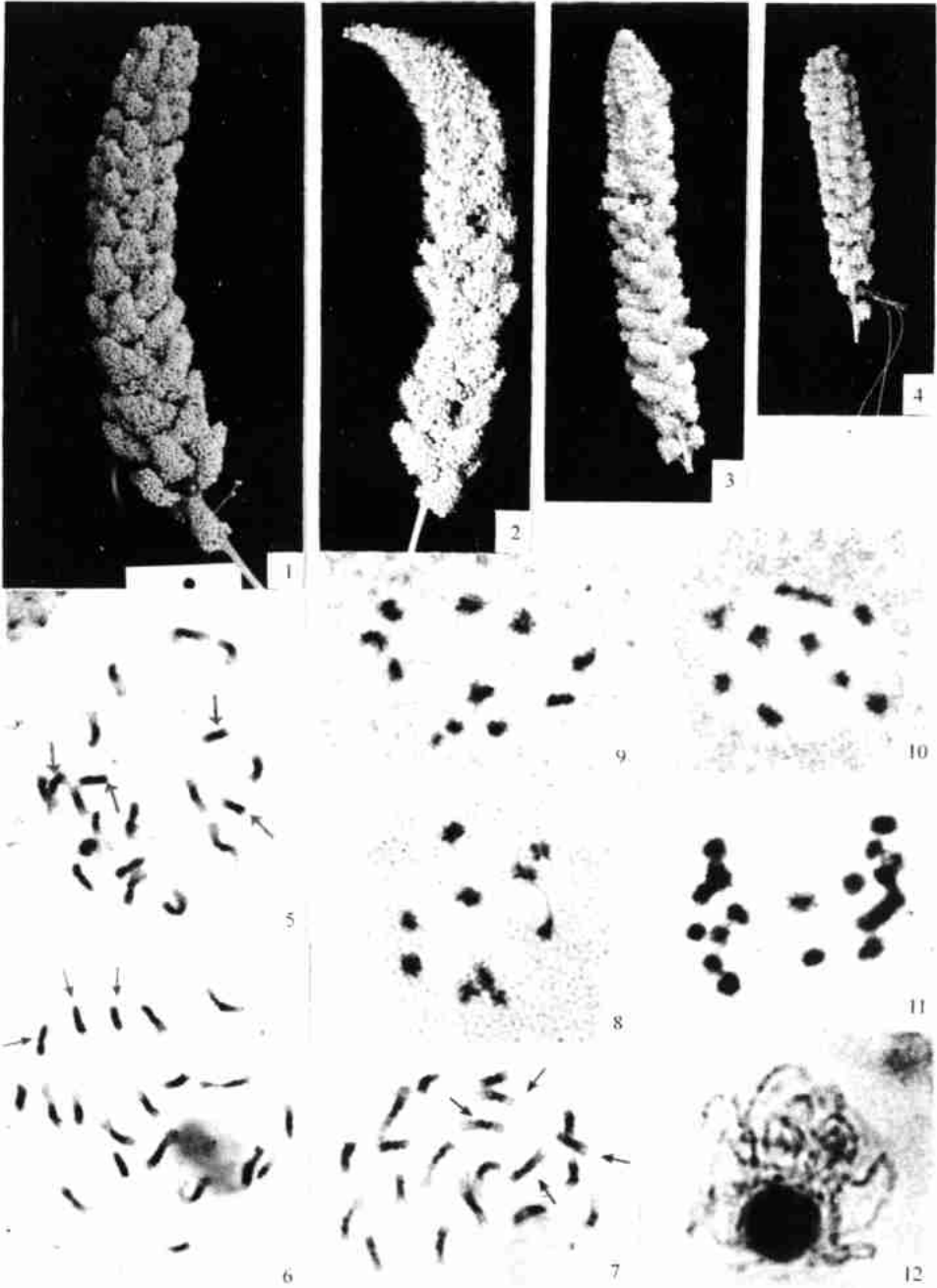
四体—、四体 \tilde{N} 遗传性比相应的三体稳定。其传递率较高,植株形态与二体有一定差异。因此用四体—、四体 \tilde{N} 代替相应的三体可以免去大量的细胞学鉴定工作。所获得杂种 F_1 比例较大,不影响对杂种 F_1 和 F_2 代性状分离情况的遗传分析。

参 考 文 献

- 1 王润奇,高俊华,王志兴等 植物学报,1994,36(9):690~695
- 2 Sear E R. *Missouri Agric Exp Stn Res Bull* 1954, 572
- 3 陈瑞阳,宋文芹,李秀兰 植物学报,1979,21(3):297~298
- 4 李懋学,陈瑞阳 武汉植物学研究,1985,3:297~302
- 5 程祝宽,顾铭洪 遗传学报,1994,21(5):285~293

Explanation of Plate \acute{E}

1. Yugu 1. 2. Tetrasomic \tilde{I} spike 3. Tetrasomic — spike 4. Tetrasomic \tilde{N} spike 5. Tetrasomic \tilde{N} somatic chromosome, A row s indicate four autochromosones 6. Tetrasomic — somatic chromosome, A row s indicate four autochromosomes 7. Tetrasomic \tilde{I} somatic chromosome, A row s indicate four autochromosomes 8~10. Three synapsis forms of tetrasomic pollen mother cell meiosis in diakinesis and metaphase: 8. $8^{\circ} + 2^{\circ}$; 9. $9^{\circ} + 2\acute{E}$; 10. $8^{\circ} + 1\dot{I}$. 11. Laggards in 1st division anaphase 12. Chromosome shape in pachytene



图版 I 说明

1. 对照豫谷 1 号穗。 2. 四体 IV 穗。 3. 四体 VI 穗。 4. 四体 IX 穗。 5. 四体 IX 体细胞染色体，→ 示四条同源染色体。 6. 四体 VI 体细胞染色体，→ 示四条同源染色体。 7. 四体 IV 体细胞染色体，→ 示四条同源染色体。 8~10. 四体花粉母细胞减数分裂终变期和中中期 I 三种联会形式；8. $8\text{II}+2\text{I}$ ；9. $9\text{II}+2\text{I}$ ；10. $8\text{II}+1\text{IV}$ 。 11. 第一次分裂后期的滞后染色体。 12. 粗线期染色体的形态。