

小麦恢复可育基因非配子融合转移¹⁾

张孔溢 刘根齐

(中国科学院遗传研究所,北京)

由于利用了根癌农杆菌作为载体的 DNA 转移系统,高等植物中的双子叶植物基因转移获得了成功。但根癌农杆菌的天然寄生范围仅限于双子叶植物,因此,单子叶植物的转化尚待探索其他途径。有人采用单细胞或原生质体摄取外源 DNA,再生愈伤组织,进而培育成完整植株^[1]。有人为了避开从细胞培养成植株的某些困难,设想采用配子作为接受外源 DNA 的受体,在体外培养花粉,把精子作为显微注射 DNA 的靶子,再由花粉管进入子房,通过受精将外源遗传物质引入到合子,从而形成转化的胚,再发育为转化的植株^[2]。还有人设想,以雌配子作为显微注射 DNA 的靶子,将外源 DNA 直接注入卵细胞,然后通过受精,使外源 DNA 进入受精卵,发育为转化的胚及转化的植株^[2,3,5,4,10]。此外,最近有人报道,已经重组了 Ti 质粒,可在单子叶植物玉米中作为外源 DNA 转移的载体^[11]。但在单子叶植物的禾本科农作物中,如小麦、水稻、玉米等,至今仍缺少可行的外源基因转移技术。

为了探索禾本科农作物外源基因转移的途径,我们参考文献 [6,7,8],曾用高粱雄性不育三系为材料,进行了“非载体”即非配子融合转移恢复可育基因的研究^[1],并获得肯定的结果。在此基础上,为将高粱外源恢复基因转移的实验手段引用于其他重要农作物性状的转化,我们改进了在高粱实验中所用的实验技术,自 1981 年开始,进行了转移小麦恢复可育基因的试验,现将初步结果报道如下。

材料和方 法

(一) 试验材料 冬小麦 T 型雄性不育

系 轴包 1A 及其保持系 轴包 1B (无芒、红粒、不育度 100%); 苏早 55A 及其保持系 苏早 55B (长芒、白粒、不育度 100%); T 型恢复系 冬恢 1 号 (顶芒、红粒,对轴包 1A 和苏早 55A 均为完全恢复)。

(二) 恢复系花粉匀浆制备 取冬恢 1 号新鲜花粉放入 75mm 规格的玻璃匀浆器内,加入 3 倍体积的花粉匀浆缓冲液 (0.1M 磷酸缓冲液中加入 0.25M 蔗糖, pH7.2), 在冰浴中匀浆至镜检无完整细胞核时,立即涂于不育系柱头上。

(三) 授粉方法 先用毛笔将恢复系花粉匀浆充分涂于不育系柱头上,立即授以保持系花粉,授粉时进行严格隔离。除对亲本穗套纸袋外,并在授粉时用大型塑料薄膜棚,连同授粉人和亲本植株一起罩上,在棚内进行操作。

(四) 两种方式的对照 (1) 不育系授保持系花粉; (2) 不育系柱头上涂以保持系花粉匀浆 (匀浆制备方法与恢复系相同), 然后再授以保持系新鲜花粉。

(五) 处理后代的观察 H₁ 代, 在田间检查花药形态及有无结实, 并在不同的发育时期观察其株型、穗形和芒等外部特征的变化。对收获种子的粒色、粒形进行室内考种。H₂—H₃ 代, 重点观察育性表现, 并注意其他主要性状分离。此外, 将 H₂ 代可育株花粉给不育系授粉, 早

Zhang Kongtian et al.: Transfer of Male Fertile Gene of Restorer into Male Sterile Wheat Through Non-gametic Fusion

1) 本试验所用亲本材料由本所潘湘民同志提供, 特此致谢。中国科学院科学基金资助的课题。

本文于 1985 年 2 月 11 日收到。

期预测其可育特性。

结果和讨论

(一) 匀浆处理当代的结实 (1) 蚰包

1A, 共处理 15 穗, 获得种子 117 粒。对照 I 授粉 5 穗, 共获得种子 64 粒。对照 II 处理 5 穗, 共获得种子 24 粒。(2) 苏早 55A, 共处理 10 穗, 获得种子 76 粒。对照 I 授粉 5 穗, 获得种子 46 粒。对照 II 共处理 5 穗, 获得种子 33 粒。

本试验中, 处理及对照均采用捻穗法授粉。根据我们对处理及对照单株结实的统计和从上述总结实情况的比较来看, 匀浆处理对杂交当代结实率有所影响, 但影响不大。

(二) 匀浆处理后代的表与遗传 (1)

蚰包 1A 匀浆处理。1981 年秋将处理当代获得的 117 粒种子播种于大田后, 1982 年 H_1 代成活 71 株。其株型、穗形、叶形等外部性状均为蚰包 1A, 并且无芒。但观察到其中有 5 株少数花朵的花药变为黄色, 表现可育并结实, 共获得 37 粒种子, 均为红粒; 其余 66 株完全雄性不育。该处理的对照 I 47 株及对照 II 16 株均为完全雄性不育, 外部形态也无变化。上述 H_1 代所获 37 粒种子于 1982 年秋播种大田后, 1983 年 H_2 代成活 12 株, 其中 4 株为完全雄性可育, 8 株为完全雄性不育 (见图 1)。但两者均为无芒并在株型、穗形、粒色等主要性状上未出现分离, 全然是蚰包 1A 的特征。1984 年 H_3 代, 共观察 25

株, 其中 22 株为完全雄性可育, 3 株为雄性不育。表明 H_3 代育性还在分离。 H_3 代所有植株的外部形态仍表现一致, 为母本型。(2) 苏早 55A 匀浆处理。1982 年 H_1 代成活 23 株, 其中 7 株少数花朵的花药变为黄色, 表现可育并结实, 共获得 10 粒种子, 均为白粒; 其余 16 株均为完全雄性不育。该处理的两个对照全部为雄性不育。以上处理及对照后代植株形态全部为苏早 55A 的特征。1983 年 H_2 代成活 7 株, 其中 2 株表现完全雄性可育, 5 株为完全雄性不育。其它性状无分离, 皆为母本型。1984 年 H_3 代, 共观察 28 株, 其中 23 株为完全雄性可育, 另外 5 株为完全雄性不育, 其余性状仍稳定地保持了苏早 55A 的特征。

(三) 匀浆处理后代的可育性测定 苏

早 55A (未经处理的雄性不育系植株) \times 蚰包 1A H_2 代可育株, 1983 年授粉 1 穗, 获得 9 粒种子, 同年秋播种于花盆中。1984 年成活 1 株, 花药饱满呈鲜黄色, 具散粉量大。套袋隔离, 能正常自交结实 (图 2)。说明蚰包 H_2 代可育株的可育特性是恢复的, 且恢复力很强。

从上述观察结果可归纳出如下两点: (1) 两个雄性不育系采用恢复系花粉匀浆处理后, H_1 代出现个别植株恢复雄性可育的现象能够遗传, 且其可育特性为完全恢复。(2) 本试验所设对照 I, 所有植株全部为完全雄性不育, 排除

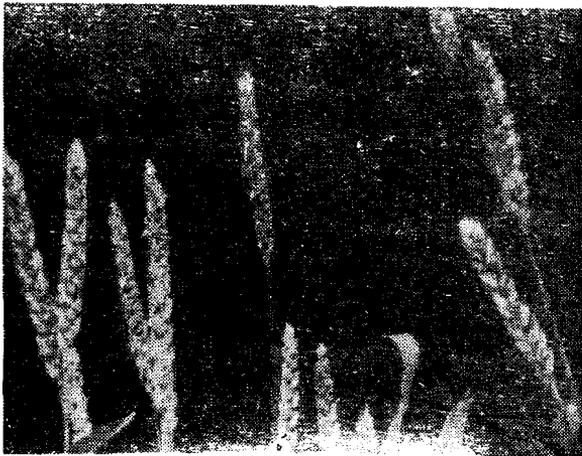


图 1 蚰包 1A 处理 H_2 代植株
左: 雄性可育株。 右: 雄性不育株。



图 2 杂交小麦

了试验所用不育系自然恢复结实的可能性。对照 II 后代全部为完全雄性不育,说明花粉匀浆缓冲液中的某些化学药物没有刺激不育系恢复雄性可育的效应。此外,从处理 H₁ 代表现为个别植株少数花朵结实,以及 H₂、H₃ 代都不象一般的杂交后代出现规律性的性状分离,也排除了此后代为恢复系花粉匀浆中残留具有生活力的花粉而授粉的可能性。

综上所述,利用恢复系花粉匀浆非配子融合转移小麦恢复可育基因,是有效的。

参 考 文 献

[1] 张孔滢等: 1982。遗传学报, 9(3): 209—213。
[2] 周光宇: 1979。遗传学报, 6(4): 405—413。

[3] 翁 坚、周光宇: 1984。生物化学与生物物理学报, 16 (3): 325—327。
[4] Dewet and J. Harlan: 1982. *Illinois Agri-News*, Friday, oct, 23, 1982.
[5] Flavell Richard et al.: 1984. *Nature*, 307(5947): 108—109.
[6] Hess, D.: 1975. *Genetic Manipulation with Plant Material*, pp. 519—538.
[7] Hess, D.: 1981. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 176: 322—328.
[8] Pandey, K. K.: 1976. *Theor. Appl. Genet.*, 47: 299—302.
[9] Raman, K. et al.: 1980. *Heredity*, 71: 311.
[10] Snape, J. W. et al.: 1983. *Theor. Appl. Genet.*, 65: 103—111.
[11] Waldron, J. C.: 1984. 国际作物遗传操作学术讨论会。



遗传性平衡易位 t(3; 22)(p21; q13) 家系

马长俊¹⁾ 陈园茶¹⁾ 孙自国¹⁾ 李远星¹⁾
陈应芳²⁾ 谷孝华³⁾ 钟亚琴⁴⁾

本文报道一例 t(3; 22)(p21; q13) 平衡相互易位的家系。先证者,男性,一岁半,淋巴细胞及皮肤成纤维细胞 G 带分析结果:核型均为 46, XY, t(3; 22)(p21; q13) 或 46, XY, t(3; 22)(3qter → 3p21::22q13 → 22qter; 22pter → 22q13::3p21 → 3pter)。

经银染与 G 带复合显示技术,先证者及母亲的 22der 可见清晰的 AgNOR 区。先证者的父亲与舅父 G 带分析核型正常。在此情况下,有生育正常婴儿的可能,但必须作产前诊断。



图 1 3号、22号染色体

Ma Changjun et al.: Hereditary Balanced Translocation t(3; 22)(p21; q13) Pedigree

1) 四川省计划生育科学研究所组胚遗传室; 2) 四川省人民医院妇产科遗传室; 3) 自贡市第一人民医院; 4) 四川省卫生干部进修学院。

本文于 1985 年 9 月 14 日收到。