

文章编号: 1005-0906(2011)02-0001-05

作物遗传学发展历程回顾与玉米育种目标的前瞻

张铭堂¹, 李建生², 才卓³

(1. 美国睿智农业科技顾问公司, 洛杉矶 91775; 2. 中国农业大学 / 国家玉米改良中心, 北京 100094;

3. 吉林省农业科学院 / 国家玉米工程技术研究中心, 长春 130033)

摘要: 遗传学的发展是依据性状表现在亲子间传递关系来建立遗传理论及法则, 然后从解析遗传基因的核苷酸分子结构来验证遗传理论及法则。育种学是应用遗传原理, 依据人类需要, 选择并固定在某一特定生育环境最佳性状表现的遗传组合个体或品种, 采用分子方法及关联分析来定义影响某一特定性状表现的遗传基因及遗传机制。未来对基因组学基因功能整体运作协调配合的了解, 将提高育种的选择效率, 并获得适应某一特定生育环境的最佳作物品种。

关键词: 玉米; 遗传学; 育种目标**中图分类号:** S513.03**文献标识码:** A

Review on Crop Genetics Progress and Prospective of Maize Breeding Objectives

ZHANG Ming-tang¹, LI Jian-sheng², CAI Zhuo³(1. *Agi-Wise, L.L.C., CA 91775, USA*; 2. *National Maize Improvement Center, China Agricultural University, Beijing 100094*; 3. *Maize Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China*)

Abstract: The development of genetics and the establishment of genetic theories and principles are based on inheritance of phenotypic expression between parent and offspring. Then use molecular technique to analyze physical structure and nucleotide sequence of a gene to confirm genetic theories and principles. Breeding is based on human needs, applying genetic principles, selecting and fixing individuals or varieties with ultimate required performance and best genetic makeup in a specific growing environment. Then can use molecular method and association analysis to define genes and genetic mechanism affecting a unique trait expression. With increased understanding of overall coordination and operation of functional genomics in the future, it is possible to improve breeding selection effectiveness and to obtain high throughput ultimate crop varieties adapted to a specific growth environment.

Key words: Maize; Genetics; Breeding objective

遗传学(Genetics)是探讨性状表现(Expression)在亲子间传递关系的科学。育种学(Breeding)是应用遗传学原理, 依据人类需要, 选择并固定(Selection and Fixation)在特定生育环境的最佳性状表现遗传组合的个体或品种。因此, 遗传学是理论科学, 育种学是应用技术。早期遗传学研究是从性状表现传递的结果来推断遗传规律, 归结遗传法则。这些遗传法则可以解释许多遗传现象, 不能完全解释所有遗传现象, 直到近年来伴随分子生物学的研究迅速

发展并逐步成熟之后, 许多遗传现象才在分子基础上做出了明确而合理的解释。早期育种学研究发现, 在自然环境下, 自交后代表现活力衰退, 杂交后代表现活力增加, 确定了自交衰退(Inbreeding Depression)及杂种优势(Hybrid Vigor)的理论。自交衰退及杂种优势是基因组(Genome)整体遗传基因组合在某一特定环境下协调作用效率高低的综合表现结果。因此, 表现结果是数量性状由庞大数量基因功能在特定生育环境的整体配合, 由交互协调运作的效率决定, 不能用简单的遗传法则来解释。

1 经典遗传学——从性状表现到推理

早期遗传学研究是从性状表现传递的结果来推

收稿日期: 2010-10-20**作者简介:** 张铭堂, 男, 美国玉米育种家。

E-mail: mtchang@hotmail.com

才卓为本文通讯作者。

断遗传规律,建立遗传定律。孟德尔(Mendel G.)遗传法则则是建立在孟德尔的遗传定律上面。1866年孟德尔发现,简单而表象明确的性状可以用数学方法定义并预期其后代的表现及分离结果,由此,建立了显性定律(Law of Dominance)、分离定律(Law of Segregation)及自由分配定律(Law of Independent Assortment)3个遗传法则,归结其实质是遗传基因有显性及隐性差别,显性基因与隐性基因杂交后代只表现显性特征,自交后代基因分离而表现3:1的分离比例。如果是两个以上的杂种基因自交,后代基因间表现自由配合的分离结果。1941年毕多(Beadle G. W.)及塔同(Tatum E.)依据孟德尔遗传法则,提出了“一个基因一个酶”的假说(One Gene, One Enzyme Hypothesis),对当时促进遗传学家认知遗传基因产生很大影响,开始重视优良遗传基因(Good Gene)的研究。优良基因是指具有独特的遗传功能、可以独立作业而直接影响个体的外在表现性状。现在已经明确一个酶或蛋白质可能由多个基因所产生的多个次级单元多肽键(Polypeptide)组合形成。这个假说是开启分子生物学研究大门的钥匙。

遗传学另一项重大突破是对条纹(Variation)、嵌合体(Mosaic)、双子斑(Twin Sectors)或斑点(Dots or Spots)现象研究。Stadler(1939)及Anderson(1949)等发现,经过射线照射的玉米组织细胞会产生染色体断裂现象而丧失部分染色体及其所携带的遗传基因。如果其中有形成紫色素必需的显性基因缺失,这个细胞所形成的组织就变成在紫色组织中间的绿色嵌纹或双子斑。麦克林托克(McClintock B.)的细胞遗传学研究发现,染色体两端断裂后会自动愈合形成环状染色体。如果一条染色体有一段倒置(Inversion)染色体,在同型染色体联会(Homologous Pairing)时,染色体在倒置位置发生互换,就会在分裂后期产生染色体桥而随机断裂,这种现象就是著名的染色体断裂-愈合-桥(Breakage-Fusion-Bridge)的细胞学现象。麦克林托克早期研究发现染色体断裂现象的随机性,后来又发现某一个玉米材料的断裂位置在某一个固定点上面,将这个固定断裂点称为分离点Ds(Dissociation)。后来又发现Ds只有在另外一个基因存在时才会发生断裂功能,将这个活化基因称为启动子Ac(Activator)。如果断裂的染色体上面有形成紫色素必需的显性基因,丧失这个基因之后,子粒紫色糊粉层细胞组织中间就会形成无色的嵌纹或斑点组织。而后又发现无色子粒糊粉层上面会形成紫色斑点,把这种现象称为可移动的遗传元素(Mobile Genetic Elements)或控制

元素(Controlling Elements),当一个可移动的遗传元素移入一个基因后即可抑制基因功能,当元素移出后就可以恢复基因正常功能。因此,无色的糊粉层细胞里面可以产生恢复功能有色的细胞组织。彼德生则把这种基因称为转座子(Transposon)。

早期的数量遗传及育种资讯是通过连续变异性状的统计分析及选拔的结果而获得。因此育种也是通过对表象的分析而得出的结果。1869年生物统计学家高腾(Francis Galton)开始研究表现连续变异、由一群微效基因控制的数量遗传性状。这些遗传基因的效果微小而不显著,不能用简单的有、无或性状特征的表达来定义。达尔文(Darwin C.)的演化论、物种起源(The Origin of Species)说明了物竞天择、适者生存或生存、竞争、自然淘汰的道理,自然环境的挑战及生物间的竞争压力是选拔的重要工具。遗传基因在某一特定生育环境的表现程度或适应性决定该基因功能在该生育环境的存续及优劣,适应的保留,不适应的淘汰。生物功能及特性的表达是遗传基因整体功能交互作用表现的结果。达尔文1876年做了很多研究来证明他的物种起源理论,通过比较自交及杂交玉米后裔表现发现,杂交玉米增加生育优势,自交玉米降低生育优势;杂交植株后裔的高度比自交后裔高25%。杂交有利,自交不利,但达尔文未能对所观察到的表象做出合理解释。1903年约翰生(Johannsen W.)研究证明,豆粒大小的变异是遗传及环境的双重影响结果,天然授粉情况下,遗传基因不是纯合而分离,性状不能固定地传给下一代;大粒及小粒的后裔,都会分离出大、小粒,如果连续选拔大粒及小粒数代后,大粒后裔的平均值大于小粒后裔的平均值,显示出选拔的遗传效果;纯系的后裔遗传稳定,性状表现相同。因此,纯系性状的变异主要来自环境的影响,子粒间大小的差异是环境作用的结果。

萧耳及伊斯特(Shull G. H. and East E. M.)1908年分别发现玉米的自交衰退及杂种优势表象,玉米杂种优势的定义是杂交种性状或产量表现大于双亲中值的部分。因此,杂优是依据配合力(Combining Ability)或产量测试(Yield Test)结果来确定,不是依据品种遗传组成决定。1920年前后,美国玉米育种急需解决的两个问题是自交系严重衰退现象及寻求杂交种最大值的杂种优势,方法是利用遗传歧异性高的育种群体以自交方法有效筛选聚合影响玉米自交系生育及活力的优良基因,包括开花期、根强度、秆强度、不倒伏、耐逆性、抗病和抗虫等特性,有效提升了自交系的生育活力、生长势及产量,使得利用自

交系生产单交种种子的方法变得利润可观并快速发展。早期对玉米杂种优势的理解是南方马齿型(瑞德)与北方硬粒型(兰卡斯特)杂交的杂种优势很大。地理隔离的距离愈大,杂种优势愈大;遗传的歧异性愈大,杂种优势愈大。为寻找最大杂种优势的特殊配合力,还得依赖广泛的产量配合力测试。

美国杂种优势群和杂种优势模式(Heterotic Group 或 Heterotic Pattern)的划分有效简化了玉米育种的操作及种质资源管理。杂种优势群的划分是在 1947 年美国中北部地区玉米改良年会提出,1949 年开始实施。将自交系编号后,奇数的自交系归到 A 群,偶数的自交系归到 B 群,最初分群的结果是 A 和 B 两群都包括瑞德、兰卡斯特及依阿华马齿自交系,然而效果不好。而后用了 20 年时间逐步完善,逐渐将两群的遗传差异分开,直到 1972 年才真正可以有效运用玉米的杂种优势群。达德里(Dudley J. W.)1984 年的研究,玉米自交系 B73、Mo17 的产量分别为 7 135.0 kg/hm²、4 176.6 kg/hm²,杂交种 B73/Mo17 的产量是 18 098.5 kg/hm²,杂优强度是 69%。利用 214 个 RFLP 探针分析 B73 及 Mo17 遗传组成,发现 31%遗传标记相同,69%遗传标记不同。因此,杂优的超亲表现可能与异结合(Heterozygote)的遗传基因直接相关联。

自交系父母亲本在同质结合(Homozygote)时,某些基因的效率不好,阻碍了正常代谢,成为影响自交系生长、发育及产量的限制因素。如果另外一个自交系具有效率高的等位基因,可以补偿自交系的低效率缺点,形成高效系统,则杂交种将以最大的生育活力、生长势及产量产出运行。

2 分子遗传学——用遗传物质验证表型

达尔文的物种起源提出生物功能及特性的表达是遗传基因整体功能交互作用表现的结果。近代研究代谢功能组学(Metonomics)及蛋白质解析(Protein Profile)希望从基因功能整体的差异来解析性状在不同环境变化下的表型差别。玉米单倍体(Haploids)植株是研究玉米分子遗传基因整体表型的最佳材料,因为玉米单倍体是配子体选择(Gamete Selection)的结果,每一单倍体植株只有一套染色体,每个基因都是单一存在。每一个单倍体植株的基因,都是来自随机分离及自由组合的配子体。每一个等位基因可以用有或无来定义,没有中间型,可以明确定义等位基因的遗传效果。性状表现差异可以直接与遗传组成差异有效衔接。

1953 年瓦特生及克里克(Watson J. D., Crick F.)使用 DNA X-射线的绕射资料,确定 DNA 分子的双螺旋结构(Double Helix)以及遗传基因核苷酸分子序列是以成对的方式排列在染色体上面,这是分子遗传学的重大发现。分子遗传是依据遗传基因分子结构的变异来解析性状表象的差别变化。知道基因的大小、结构及核苷酸序列才有可能精确定义基因的功能及表象。玉米的移位元素或转座子可以随时移动位置到不同的基因里面。如果能将移位元素或转座子的结构弄清楚,就可以在转座子移动到目标基因位置后使用转座子作为探针(Probe)将附近的核苷酸片段分离,找到目标基因结构及核苷酸序列。玉米首先研究的是使用胚乳糯基因转录(Transcription)mRNA 蛋白质信息,转换成为糯基因的 cDNA 方法而获得基因的结构及组成,使用这个小型 cDNA 作为探针,萧等克隆了 *wx-Ds* 糯基因的等位基因;苏珊娜、希瓦兹-撒莫等克隆了 *wxm8* 糯基因的等位基因(En/Spm 系统的一个 2 200 核苷酸受体衍生物)。从 *wx-Ds* 及 *wxm8* 等位基因确定 Ac/Ds 及 En 转座子的一些基本结构。En 包括目标位置重复(Target Site Duplication 或 TSD)是 3 加 3 个核苷酸,末端倒置重复(Terminal Inverted Repeats 或 TIR)是 13 个核苷酸。使用转座子作为探针,已经确定 55 个以上玉米基因的结构及功能,包括与花青素合成有关的基因 *a1*、*a2*、*B1*、*Bz11*、*Bz2*、*C1*、*C2* 以及与淀粉合成有关的遗传基因 *Ae1*、*Bt1*、*Bt2*、*Du*、*Sh1*、*Sh2*、*Wx* 等。现在可以将这些基因的功能精确定义为结构基因(Structural)或调节基因(Regulatory)。对于每一个基因在花青素合成或淀粉合成中对性状表象的影响已经非常清楚。

转基因(Transgene)从 80 年代开始实际应用。在作物育种中将一段带有正常基因功能的 DNA 或 cDNA 片段,从一个生物体导入目标作物染色体组,这个新导入的外源基因可以在寄主细胞发挥制造 RNA 及蛋白质的正常运作功能。这些改变遗传功能的转基因作物(Genetic Modified Crop)携带一些本身没有的优良农艺性状,比如玉米的抗除草剂及抗虫基因等。抗除草剂基因可以分解 Round Up 主成分(Glyphosate)杀草的毒害效果,抗虫剂基因 *Bt* 可以分解 *Bt* 杆菌产生的 Cry 毒蛋白的毒害效果。现在已经从实践中证明,只要有单一基因存在,就可以发挥基因的正常功能及表型。转基因技术是生物技术与分子遗传学在育种中的成功应用,带来现代玉米育种的一次飞跃。2009 年美国玉米 85%种植面积是转基因玉米,全世界 26%玉米种植面积是转基因

因玉米。

使用分子方法来分析数量性状遗传基因的控制机制及性状表象非常困难,因为在不同的生育环境条件下,基因表型的差异可能很大,直接影响分子遗传预测的能力。先锋公司杜维克(Duvick)曾经对先锋公司从1930~2001年的55个商业化高产品种及其94个父母亲本自交系进行了25年相邻的生育比较,使用298个简单重复序列(SSR)分子标记进行分析,每年都会收集所有材料基因型、表现型特性及产量,目的是分析影响产量的分子标记及因素,即将不同时代、不同空间、适应不同栽培条件、具有不同遗传特性、生育期相同的这些品种放在同一时间及空间里进行比较,希望找出分子标记与表型变化的关联性(Association),该项研究资料及结果已经陆续发表,这是一个定义数量性状遗传基因比较可行的方法。

先锋公司主要的育种目标是高产,然而育种目标必需接受环境的考验。因此,每年的育种试验由于受各类生物性及非生物性问题制约,使得育种目标除高产之外,必须扩大范围。30年代早期,干旱严重迫使选择耐旱特性品种;由于耐旱资源发生穗腐,需要筛选抗穗腐植株;50年代,玉米螟危害严重,抗虫成为新的育种目标;60年代,玉米种植密度及氮肥使用量增加,育种目标增加了根强度、秆强度及没有空秆。未来玉米种植密度还会继续增加,耐旱、耐荫及其他耐性成为重要育种目标。

利用全基因组(Whole Genomewide)分子标记追踪表型变化,然后提出并解析问题,包括随时间变化品种产量增益、不同熟期品种产量基因的差异、耐逆性及开花期等数量性状的遗传机制、密度改变的影响、水资源的影响、不同育种家选拔效果的遗传差异等。找出直接或间接与每个问题(如产量或开花期)相关的分子标记或遗传基因,证明这些基因是直接影响玉米产量的必要条件。表现型资料越详细,分子标记越能精确代表所分析的性状,这些分子标记所获得的遗传资讯才有可能作为辅助育种(Marker Assisted Breeding)的有效工具。分子标记辅助育种的遗传筛选准确性及效率大于田间操作的常规育种选拔。目前分子遗传对基因组遗传基因及环境互作的复杂关系了解不是很清楚,因此在实际育种的适用性上受到一定限制。

3 遗传学未来发展与玉米育种目标前瞻

(1)个别遗传基因的实质结构及功能已经可以

清楚定义,其精确程度可以达到单一核苷酸结构的变化以及对性状表象的具体影响,但还不了解基因在基因组整体运作下所扮演的角色以及对生命成长的具体影响,只有在了解玉米基因组整体运作以及基因之间协调配合的复杂关系之后,才可能定义什么是玉米的最佳遗传基因型,什么是玉米的最大产量潜能。

(2)每个遗传基因都有其功能的最大上限及下限,超过上限或下限功能很快降低。所有基因不可能在同一时间、同一生育环境同时表达基因的最大功能,因此基因组整体效率很难定义。如光合作用可利用的太阳光能转换为化学能的比率是3%~6%。同理,将一套效率高低不同的基因组的遗传基因放在同一条生产线上,将不可能变成一条流畅的高通量的产量生产线。

(3)等位基因功能互补,可有效扩增基因功能的上限及下限。如美国南方马齿型玉米瑞德与北方硬粒型玉米兰卡斯特杂交后裔的产量很高;北方硬粒型基因适应低温生育环境,具有开花期早、生育期短、早熟、脱水快等特性;南方马齿型基因适应温带生育环境,具有晚熟、子粒灌浆期较长、大穗、脱水较慢的特性。将这两条差别很大的基因型放在一起运作,可有效扩大基因运作的范围或增大作物对环境的适应性。

(4)生态环境发生变化时,影响不适应逆境遗传基因的功能表现。达尔文认为,遗传基因在某一特定生育环境的表现程度或适应性,决定该基因功能对生育环境适应的好坏。在某一环境表现优良的遗传基因,可能在其他环境的表现很差。因此,只有在一个最适合生育的理想环境条件之下,才有可能精确定义什么是玉米的最佳遗传组合以及什么是玉米的最大产量潜能。最高产量、最大产量潜能是以最理想的生育环境条件、最佳遗传基因组合情况下推断的最高结果。事实上自然界不会提供这样理想的生育环境,因此,玉米产量几乎不可能达到最大产量潜能,也就不存在最佳遗传基因组合的问题。可见,高产、稳产的特性来自基因间紧密而有效的协调配合,玉米育种没有最大产量,只有最佳产量。

(5)育种必需满足人类栽培作物的目标及需求。作物育种是在满足人类需求为基础的人为选择条件下,把高产作为玉米第一育种目标,使育成品种已经逐渐丧失其自然习性的外表形态,而成为非正常个体,遗传基因组成也发生巨大改变。杜维克(Duvick)对先锋公司1930~2001年的55个商业化高产品种及其94个父母亲本自交系进行25年生育及分子比

较,表明育种目标不同以及育种时间先后都会影响育种结果的遗传差异及性状表象。产量的增加与品种的年代呈正相关($r=0.97$)。种植密度增加,产量随时间增加;种植密度越大,产量随时间增产的幅度越大。

(6)玉米品种特性随时间及育种目标改变而变化。将先锋公司 1930~2001 年间育成品种比较,发现品种的开花期提前,雄花穗变小,叶片夹角变小,叶片变窄,落果数量减少,植株保绿性增加,脱水速度加快等。1930~2001 年,等位基因数量减少的幅度不大,新发现的等位基因数量则随时间而显著减少。1930 年在 10 条染色体的 84 个基因位位置发现 241 个新的等位基因;2000 年时仅在 8 条染色体的 20 个基因位位置发现 26 个新的等位基因。表明在育种过程中,产量基因逐渐聚合而固定,因此新发现的产量基因的机率越来越小。

(7)未来玉米遗传育种的研究方向取决于人类对未来世界的需要及设计。如果可以预测数十年后的玉米栽培景象,就可以依据未来玉米的栽培模式来设计最佳的基因组合,以达到最佳产出效果。未来的气候变化异常,干旱、洪涝、低温等自然灾害频发;多年连作病原种群增加,常见病害、新生病害会日益滋生蔓延;伴随种植密度的继续增加,植株通透性可能恶化,个体间的竞争压力会更大;土壤退化问题导致肥水资源供应日益严重,更多的水肥营养施用使生产成本逐渐增加;植株茎秆的强度相对变弱,倒伏加重,株型、叶片及果穗会相对变小等。如果依据这样的构思来设计育种方案,就应该改变并制定新的育种目标及方向,改善玉米杂交种的抗病虫能力,提供对恶劣环境的适应能力,以确保产量持续提升,满足未来作物栽培的需求。

参考文献:

- [1] 张铭堂. 玉米之遗传[J]. 科学农业, 1996, 44(8): 190-212.
- [2] Anderson E G, Longley A E, Li C H, et al. Hereditary effects produced in maize by radiations from the Bikini Atomic Bomb. I. Studies on seedling and pollen of the exposed generation[J]. Genetics, 1949, 34: 639-646.
- [3] Chang M T, Neuffer M G. Mr R-m Controlling Element System in Maize[J]. The J. of Heredity, 1987, 78: 163-170.
- [4] Duvick D. N. Biotechnology in the 1930s: the Development of Hybrid Maize[J]. Nature Reviews, 2001, 2: 69-74.
- [5] Duvick D N, Smith J S C, Cooper M. Long Term Selection in a Commercial Hybrid Maize Program[J]. Plant Breeding Rev., 2004, 24: 109-151.
- [6] Genetically Modified Plants: Global Cultivation Area, MAIZE [C]. GMO Compass, August, 2010.
- [7] Helentjaris T, King G, Slocum M, et al. Restriction Fragment Polymorphisms as Probes for Plant Diversity and their Development as tools for applied Plant-Breeding[J]. Plant Molecular Biology, 1985, 5:109-118.
- [8] McClintock B. The Stability of Broken ends of Chromosomes in *Zea mays*[J]. Genetics, 1941, 26:234-282.
- [9] McClintock B. The Fusion of Broken Ends of Chromosomes following Nuclear Fusion[J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 1942, 28: 458-463.
- [10] McClintock B. The Relation of Homozygous Deficiencies to Mutations and Allelic Series in Maize[J]. Genetics, 1944, 29: 478-502.
- [11] McClintock B. Cytogenetic studies of Maize and Neurospora [C]. Carnegie Inst Wash. Yearbook, 1947.
- [12] McClintock B. Mutable Loci in Maize [C]. Carnegie Inst. Wash Yearbook, 1948.
- [13] McClintock B. Chromosome Organization and Genic Expression[C]. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol, 1951.
- [14] Peterson P A. Professor Haniz Saedler: A Lasting Legacy. A Dedication to the Earliest and Most Productive Contributor Uncovering Genes in the Maize Genome[J]. Maydica, 2008, 53: 161-172.
- [15] Peterson P A. Early Beginnings of Mobile Element Studies: Controlling Elements vs Gene Inserts, Pre-Molecular Concepts[J]. Maydica, 2002, 47: 147-167.
- [16] Redei G P. Genes and Selection: Retrospect and Prospect[C]. Plant Breeding Review, 2004.
- [17] Schlegel R H J. Encyclopedic Dictionary of Plant Breeding and Related Subjects[C]. The Haworth Press, Inc., 2003.
- [18] Shure M, Wessler S, Fedoroff N V. Molecular Identification and Isolation of the waxy Locus in Maize[J]. Cell, 1983, 35: 225-233.
- [19] Sleper D A, Poehlman J.M. Breeding Field Crops, 5th edition [C]. Blackwell Publishing, 2006.
- [20] Stadler L J. Genetic Studies with Ultraviolet Radiation [C]. Proceedings of the 7th International Genetical Congress, Edinburgh, Scotland, 1939.
- [21] Stadler L J. Gamete Selection in Corn Breeding[J]. J. Am. Soc. Agron, 1944, 36: 988-989.
- [22] Tracy W F, Chandler M A. The Historical and Biological Bases of the Concept of Heterotic Patterns in 'Corn Belt Dent' Maize [M]. Annual Illinois Corn Breeders' School, 2005.

(责任编辑:姜媛媛)