

[文章编号] 1005-0906(2001)02-0022-04

我国化学诱导玉米孤雌生殖育种研究与进展

王宏伟, 史振声, 王志斌

(沈阳农业大学特种玉米研究所, 沈阳 110161)

[摘要] 本文根据大量文献资料结合作者的研究实践, 对我国化学诱导玉米孤雌生殖育种研究做了比较全面的阐述。就该领域的研究现状、技术方法、理论、应用价值以及存在的问题和可能的解决途径等进行了讨论和探讨。

[关键词] 玉米育种; 化学诱变; 孤雌生殖; 二倍体; 自交系

[中图分类号] S 513; S 335.3

[文献标识码] A

由于单性生殖在植物育种上的特殊价值, 长期以来, 国内外许多学者做了广泛而深入的研究并取得很大进展。单性生殖包括孤雄生殖和孤雌生殖两大类。孤雄生殖主要是指花药的组织培养。但是, 由于花药培养效率低、基因型障碍大、染色体加倍困难, 加上需要一定的设备条件和较高费用等, 在玉米育种实践上一直没有得到真正应用^[1]。孤雌生殖是无融合生殖的一种。在自然界的许多作物中都有发生。也可以通过化学、物理、生物等技术手段, 使其不通过双受精作用而获得种子。人工诱导单倍体孤雌生殖的方法在许多植物中已经获得成功^[28]。玉米孤雌生殖诱导是通过杂交^[3, 32, 35]、温度处理^[54]、射线照射^[25]利用异源细胞质^[32]、药物处理^[2, 26, 27,]等方法进行。不经授粉直接用药物处理获得孤雌生殖体的研究, 在黑穗醋栗、黄瓜、番茄^[29, 30]、小麦^[4]、棉花^[5]、油菜^[6]等植物中已经获得成功。以往玉米孤雌生殖主要是得到单倍体^[32], 而单倍体植株加倍成功率较低^[53], 使其在育种中的应用受到限制。因此, 利用化学处理直接获得纯合二倍体种子的玉米育种新方法研究倍受关注。

1 我国化学诱导玉米孤雌生殖研究现状

孤雌生殖研究是近 10 年间作物育种研究的新热点。所谓玉米孤雌生殖育种, 就是在人工控制条

件下不经过受精方式, 采用化学诱导物质或其他方法刺激或诱导结实, 得到纯合的二倍体种子, 通过鉴定和选择, 育成玉米自交系的方法。此方法一般经 2~3 代就可得到纯系。显然, 与常规育种方法相比大大缩短了育种年限, 提高了育种效率。自 1973 年中国科学院遗传研究所开展小麦孤雌生殖研究以来, 现在已有近百个单位开展了此项研究, 并取得了可喜成果。赵佐宇等^[7](1984)通过药物诱导玉米孤雌生殖获得了二倍体纯系。母秋华等^[8](1988)已获得了 V 花 91B, 502GS 等一批优良纯系, 并配制出了 V 花 91B/Mo17 等抗逆、高产、早熟的杂交组合。刘全林等 1995 年做了玉米孤雌生殖诱导剂最佳使用时期与使用浓度试验, 1996 年完成了夏播玉米测交种(自选孤雌生殖自交系/外引自交系)鉴定试验。近期, 李祥昭^[10](1994), 张太平^[11](1994), 涂升斌等^[12](1994)也用药物诱导玉米孤雌生殖, 获得了纯合二倍体种子。中国农业科学院遗传研究所在十几年研究探索的基础上也取得了成果。他们利用药物诱导玉米远缘杂种孤雌生殖, 在 2~3 年内选育出优良的异源种质纯系 540, 并组配出了优良杂交种遗单 6 号(5003/540)^[13], 推广面积已达 1 万多公顷, 1996 年通过山西省品种审定委员会认定。石太渊、杨立国等^[4](1999)也对诱导玉米孤雌生殖的最佳方法和孤雌生殖后代表现等做了研究。实践证明, 化学诱导孤雌生殖为玉米育种开辟了一条新途径。

2 化学诱导玉米孤雌生殖的主要方法

2.1 诱导药剂

[收稿日期] 2000-11-06

[作者简介] 王宏伟(1974-), 女, 硕士研究生, 沈阳农业大学特种玉米研究所, 从事玉米遗传育种研究。

实践证明,可用于诱导玉米孤雌生殖的化学药剂有多种,包括 DMSO、MH、COL 等和一些激素类药物。现有的大量研究资料表明,效果较为理想的主要有:40 mg/kgMH + 2% DMSO^[7,15,16]、2% DMSO + 0.1% COL^[16]、40 mg/kgMH + 2% DMSO + 0.1% COL^[14]、40 mg/kgMH + 4% (DMSO + MS 培养液)^[12]、0.01% DMSO^[22,52] 和 0.01% DMSO + 0.01% 甲烷磺酸^[52]、2% DMSO + 600mg/LPEG + 2mg/L2, 4-D^[15]。此外,MS 和 N6 培养液对玉米孤雌生殖也有显著的促进作用^[8,12,18]。

2.2 诱导方法

关于诱导方法的试验也有许多,通常认为简单易行且效果较好的是:在田间状态下,花丝尚未抽出时将雌穗严格套袋,待花丝完全抽出时剪短花丝(约留 1~2 cm),再用注射器将化学诱导剂喷注到花丝上,每株用量约 2 mL^[15,16]。最后再套上一层纸袋防止花粉从针眼和下口进入。整个操作过程是在严格控制之下,防止产生花粉污染。收获前再进行田间检查,除去破袋和有疑问的果穗,收获后进行室内考种。此外,还有注射法、喷雾法和涂抹法等。

2.3 后代的处理

通过诱导获得的种子为孤雌生殖当代(Pa0),将其播种形成第一代(Pa1)。Pa0 种子实行单粒播种,秋后得到 Pa1 代果穗。孤雌的种子通常不够饱满、生活力弱,有的甚至不能发芽和正常出苗。苗势较弱、植株矮小、雄穗不发达^[17]。在生长期详细调查,选择优良的植株自交。将不良株、畸形株、不结实株、感病和农艺性状差的淘汰。经过室内考种做最后取舍。

将 Pa1 果穗种成穗行成 Pa2 代,通过反复田间观察、测定分析,将表型一致的穗行自交,再经过染色体分析等手段鉴定确认后,这些 Pa2 种子即可认为是纯合的玉米自交系。至此,自交系的选育工作完成。在 Pa2 代,可以同时利用一部分植株进行测配。从下一代开始可进入常规育种程序。

2.4 孤雌生殖系的鉴定

田间鉴定:首先通过田间观测 Pa2 代穗行,根据其幼苗、株形、叶形、株高、花药、花丝等性状表现,确认是否为孤雌生殖的纯系。

室内鉴定:考种也是重要的鉴定环节,根据果穗数量性状表现和质量性状变化判断其真伪。

生化分析:分析 Pa1 同一果穗种子或 Pa2 不同个体的同工酶等酶谱,通过酶带的一致性判断孤雌

生殖纯系。

染色体鉴定:通过镜检鉴定二倍体和非整倍体等。

3 化学诱导玉米孤雌生殖的机理

关于药物诱导玉米孤雌生殖种子形成的胚胎学起源问题,至今还未见报导。至于二倍体胚的来源,已有的文献报导有两种推测:一是单倍体卵细胞^[32],二是未减数的卵细胞^[21,33,34]。杜尔宾(1968)的研究表明:诱导获得的二倍体是由于减数分裂时,减数第二次分裂被破坏使染色体加倍的结果。即当已减数的单倍体的子核仍停留在一个细胞中时,由于破坏了减数第二次分裂,两子核便彼此相互融合并形成二倍的“自体融合”的核。由此推测:此二倍体的“自体融合”的核可能就是孤雌生殖二倍体的来源。但是,从化学诱导玉米孤雌生殖获得纯系的频率看,大多数孤雌生殖后代表现分离。这与孤雌生殖的单倍体起源相矛盾。因此,涂升斌等^[12,21]推测:大多数孤雌生殖后代是由体细胞(如珠心、珠被等细胞)发育而成,属无融合生殖范畴。这可从化学诱导孤雌生殖后代的遗传研究得以证实。

胚乳的来源有两种可能:一是象其它植物的无融合生殖一样,极核不经授精而自发分裂发育成胚乳^[20,36,37,38];二是由珠心细胞启动发育而成^[36]。在这方面比较认同的是 Chase^[31,32]提出的“卵细胞提前分裂”假说,他设想在卵细胞的细胞质或助细胞中存在一种抑制卵细胞在受精前分裂的物质,正常受精时花粉管的分泌物可以解除这种“抑制物”。因此,胡适宜^[19]、赵佐宇^[7]等认为:化学药剂可能起到这种花粉管分泌物的作用,能够钝化这种物质的抑制作用,启动卵细胞分裂。

关于被子植物孤雌生殖的确切机制目前了解很少,是一个复杂的过程。在玉米上,虽然 Chase 曾提出“卵细胞提早分裂”假说。但迄今尚未找到二倍体种子来源和产生途径的直接证据。

4 影响玉米孤雌生殖频率的因素

4.1 基因型对化学诱导剂的反应

赵佐宇^[7](1984)的研究指出:不同材料对化学药物诱导玉米孤雌生殖的反应不同。涂升斌等^[12](1994)的研究进一步表明:化学诱导玉米孤雌生殖的频率因基因型的不同差异显著,并且在诸多因素中基因型对玉米孤雌生殖的影响最大。有自然产生

孤雌生殖特性的材料,对化学诱导剂的反应敏感,产生孤雌生殖的频率高。反之就低。加藤辛雄(日,1987)认为化学因素对玉米孤雌生殖的影响,可以作为信使启动孤雌生殖基因和加强其表达效果。石太渊,杨立国等^[23](2000)的研究也表明;不同基因型之间孤雌生殖诱导率差异明显。自交系的孤雌生殖频率非常低,而杂交种较高,但不同基因型的杂交种差异很大。说明基因的纯合与孤雌生殖诱导有关,但试验表明基因背景比单交种更复杂的三交种和双交种的诱导率并不比单交种高。

4.2 不同药剂和不同浓度的诱导作用

据报道,秋水仙碱(COL)引起细胞 C 型有丝分裂,使染色体加倍、多极有丝分裂^[39,40,41]和混倍体^[42,43],有人还指出秋水仙碱可以使染色体数目减少^[44]。二甲基亚砜(DMSO)诱导某些植物种孤雌生殖,可以直接获得纯合二倍体^[5,45,46];DMSO 具有增加细胞膜化学渗透^[43,47]及引起 C 型有丝分裂,使染色体加倍^[48];DMSO 也可通过核融合的方式使染色体加倍^[45,46];马来酰肼(MH)诱导甜玉米孤雌生殖时,低浓度能增加单倍体频率,它还是一种强烈的染色体断裂剂^[39,49,50];MH 能启动卵细胞分裂作用^[51]。研究表明:适当浓度的 MH(40 mg/kg)与 DMSO(2%)配合使用有利或极有利于诱导玉米孤雌生殖^[7,12,13,14,15]。MS 和 N6 培养液对玉米孤雌生殖有极一显著或显著的影响^[8,12,18]。培养液可能起到类似植物体液的作用,以减少化学药物的损伤和提供营养,所以有利于玉米孤雌生殖。GongsheHu^[52]认为最有效的诱导剂及浓度为 0.01% DMSO 和 0.01% DMSO + 0.01% 甲烷磺酸。石太渊等^[14]研究结果表明:2% DMSO + 40 mg/kg MH + 0.1% COL 的诱导效果最好。而李祥昭等却未见处理浓度对结实率有显著影响。对于诱导剂和最佳浓度问题还没有完全一致的结果和看法,尚待进一步研究。

4.3 处理方法和处理时期对孤雌生殖频率的影响

比较一致的研究结果认为^[10,11,14]最理想的处理时期和方法是:在吐丝前向果穗中注入诱导剂或抽丝 2~3 d 向花丝上施药效果最佳。刘全林等^[9]认为抽雄期使用效果最好,始花期使用效果差;张太平认为处理时期越接近吐丝期,诱导效果越好。

5 化学诱导玉米孤雌生殖技术的利用价值

5.1 选择效率高,育种周期短,成本消耗低

化学药剂诱导玉米孤雌生殖当代就可得到纯合的二倍体。通过繁殖和鉴定,三代就可形成纯系。而常规育种方法得到纯合自交系至少需要 7 代以上。

孤雌生殖避开了双受精过程的染色体和基因重组。对孤雌生殖个体的选择本质上是在单倍体水平上的选择,因此目的性状的选择机率大大提高^[28]。以 5 个目的性状为例,常规方法的选择机率为 $1/4^5$,而孤雌生殖的选择机率仅仅 $1/2^5$ 。

孤雌生殖育种周期短、群体小、选择效率高加上早代测配的准确性提高等优点,育种成本大大降低。

5.2 适用性广泛,成功率高

与花粉培养和单倍体育种相比,药物诱导孤雌生殖对于不同基因型的材料均有效果,甚至对于任何高度杂结合的基因型,包括发生疯狂分离的远缘杂种。这就逾越了玉米单倍体应用上染色体加倍困难的一大障碍,也避免了愈伤组织形成及分化难的问题。

5.3 技术简单,便于推广应用

技术简单易行,一般技术人员都可掌握,便于推广应用。

5.4 克服远缘杂交障碍创造新种质

引入野生或近缘野生种的基因一直作为创造新种质的方法。但是由于远缘杂交带来的疯狂分离和杂交不孕、胚乳发育不全等障碍,使得受到限制。郭乐群等^[13]的研究表明,利用药物诱导孤雌生殖的方法处理玉米与类玉米的远缘杂交种 BCI 可以成功地获得二倍体种子并得到自交系。

6 存在的问题及可能的解决途径

6.1 化学药物和浓度问题

虽然许多人已对诱导玉米孤雌生殖的化学药物和浓度进行了试验和筛选,但是普遍存在诱导率偏低问题。这也是药物诱导玉米孤雌生殖技术长期未能在玉米育种上广泛应用的原因之一。因此,最佳诱变剂和最佳浓度仍是需要解决的问题。

6.2 诱变机理和胚胎学机理问题

关于药物诱导玉米孤雌生殖的机理,有人^[7,16,23]通过细胞学鉴定等方法对药物导致染色体变异的可能原因进行研究,但还没有统一的确切的结论。玉米孤雌生殖二倍体胚及胚乳的胚胎学研究甚少,有的只是提出某种假说。这些问题将是该领域进一步研究的重点。

6.3 后代分离及非整倍体问题等

大量实践表明,虽然是通过化学药剂诱导获得的种子,但并不完全都是理想的个体,其中还含有非整倍体、杂合体等。后代的表现并不很稳定^[9,16],Pa2代尚有大量株系表现明显的分离现象^[11,12,24]。这些都有待于进一步研究。

6.4 孤雌生殖体的鉴定问题

对孤雌生殖体的鉴定^[7,16],还没有一致的权威的方法。研究出准确、简单、实用的鉴定方法是必须的也是我们今后的重要任务。

总之,利用化学方法诱导玉米孤雌生殖的育种技术,虽然开展较晚但已引起玉米育种工作者的极大兴趣,大量的研究结果已为我们展现出诱人的前景,完善这一技术并应用于育种实践,还需要我们继续努力。

[参考文献]

- [1] 胡道芬. 植物花培育种进展[M]. 北京:中国农业科技出版社, 1996.
- [2] 敖光明,等. 遗传学报,1982,6(1):56.
- [3] 朱庆麟. 西北农学院学报,1979,(4):49-58.
- [4] 遗传所304组. 农业科技通讯,1977,7:2-3.
- [5] 周世琦. 棉花孤雌生殖研究初报[J]. 遗传学报,1980,7(3):247-256.
- [6] 四川大学生物系遗传组. 遗传学报,1979,6(1):56.
- [7] 赵佐宇,谷明光. 药物诱导玉米孤雌生殖获得二倍体纯系[J]. 遗传学报,1984,11(1):39-46.
- [8] 母秋华,等. 玉米生物技术育种的改革与研究[J]. 吉林农业科学,1988(3):15-19.
- [9] 刘全林,等. 诱导玉米孤雌生殖选育自交系研究初报[J]. 玉米科学,1998,6(3):7-8.
- [10] 李祥昭,等. 药剂诱导玉米孤雌生殖选育自交系[J]. 安徽农业科学,1994,22(1):52-55.
- [11] 张太平,等. 化学诱导玉米无融合生殖研究初报[J]. 贵州农业科学,1994,(6):34-35.
- [12] 涂升斌,等. 化学诱导玉米孤雌生殖的研究[J]. 四川农业大学学报,1994,12(3):423-430.
- [13] 郭乐群,等. 药物诱导玉米远缘杂种孤雌生殖获得导源种质纯系及育种研究[J]. 遗传学报,1997,24(6):537-543.
- [14] 石太渊,杨立国,等. 药剂诱导玉米孤雌生殖的研究[J]. 杂粮作物,2000,20(1):17-20.
- [15] 丰 峰,蔡群峰. 药剂诱导玉米孤雌生殖研究[J]. 西南农业大学学报,1994,16(6):566-568.
- [16] 谷明光,杨太兴,郭乐群,等. 药物诱导玉米孤雌生殖植株的倍性变异[J]. 遗传学报,1995,22(5):406-412.
- [17] 刘晓广,金玄吉. 孤雌生殖技术在玉米育种上的利用效果[J]. 吉林农业科学,1999,24(1):23-25.
- [18] 赖来展. 作物单性(孤雌)生殖育种研究的进展[J]. 广东农业科学,1981(4):14-16.
- [19] 胡适宜. 被子植物胚胎学[M]. 人民教育出版社,1983.
- [20] 周开达,等. 中国科学(B辑),1992,8:808-813.
- [21] 黄国中,谷明光. 玉米雌穗离体培养诱导孤雌生殖结实[J]. 遗传学报,1995,22(3):230-238.
- [22] 王富德,等. 玉米无融合生殖系的农艺性状表现[J]. 辽宁农业科学,1997(4):3-8.
- [23] 赵佐宇,谷明光. 化学药剂诱导玉米孤雌生殖植株的细胞遗传学研究[J]. 遗传学报,1988,15(2):89-94.
- [24] 倪 苏,等. 化学诱导玉米孤雌生殖的纯合系分析研究[J]. 四川农业大学学报,1995,13(3):280-283.
- [25] Emmerling, M. H.: 1995. Genetics, 40: 697-714.
- [26] Al-Yasiri, S. A. and O. M. Rogers: 1971. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 96(1): 126-127.
- [27] Deanon, J. R. Jr.: 1957. Philipp. Agric., 41: 364-377.
- [28] Kimber G, R Riley. Bot. Rev., 1963, 29: 480-531.
- [29] Бөрмөнб, Е. М., к. п. Капобова: 1973. онтогенез, том. 4 №3: 240-248.
- [30] Бөрмөнб, Е. М., покаявал АН СССР., Том, 210 № 2: 457-460.
- [31] Chase, S. S.: 1974, In: Haploids in Higher Plants, Advances and Potential (Ed. K. J. Kasha).
- [32] Chase, S. S.: Bot. Rev., 1969, 35(2): 117-167.
- [33] Alexander, D. E. and J. B. Becket: J. Heredity, 1963, 54: 103-106.
- [34] Bauman, L. F.: Maize Genet. Crop. News letter, 1961, 35: 128-130.
- [35] Coe, E. H. Jr.: Am. Naturalist, 1959, 93: 381-382.
- [36] Baulcombe, d. C. Hormone Apomixis its identification and use in plant breeding action in plant development (Ed. G. V. Hoad et al.) 1987, 63-70.
- [37] Hanna W. W., et al. Crop Science, 1987, 27(6): 1136-1139.
- [38] Tang, C. X. et al. Apomixis in Sorghum lines and Their F₁ Progenies BOT. GAZ. 14(3): 294-299.
- [39] Kihlman B A. Actions chemicals on dividing cells, chapter, 8, 9, 10, 11, Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, 1996, 105-157.
- [40] Levan A. Hereditas, 1938, 24: 471-486.
- [41] Ostergren G. Hereditas, 1950, 36: 1-18.
- [42] Nitzsche W and G wenzel Advances, In plant breeding supplement 8 to J. of plant breeding, 1977, 7-89.
- [43] Sanders H and J W Hull. Hort. Sci, 1970, 5: 111-112.
- [44] Simantel G M and J G Ross. J. Hered., 1964, 55: 3-5.
- [45] вермекутаЕмкп Саповова 1973а дядвы Аносер, 210(2): 457-460.
- [46] вермекутаЕмкп Саповова 1973б онтогенез 4(3): 240-248.
- [47] daul B L and U Zutshi. Indian J. of Exp. biology, 1971, 9: 522-523.
- [48] hervas J P and G Gimenez-Martin. Experientia, 1973, 29: 1540-1542.
- [49] Darlington C D and J Mcleish. Nature, 1951, 167: 407-408.
- [50] Evans H J and D Scott. Genetics, 1964, 49: 17-38.
- [51] Deanon J R JR. Philipp. Agric., 1957, 41: 364-377.
- [52] Hu G S, G H Liang and C. E. Wasson. Euphytica, 1991, 56: 97-105.
- [53] Jensen G J. In: Haploids in higher plants, advances and potential. (Ed. K. J. Kasha), Univ. of Guplph, Guelph, Ontoril. Canada, 1974, 153-190.
- [54] Randolph, L. F.: 1932. PNAS, 18: 222-229.