

文章编号: 1005-0906(2007)02-0019-04

甜玉米种质资源的遗传改良

何余堂¹, 陈兴奎², 马春颖¹

(1. 渤海大学植物研究所, 辽宁省食品质量与安全功能性食品研究重点实验室, 辽宁 锦州 121000; 2. 锦州农业科学院, 辽宁 锦州 121017)

摘要: 配子体基因 *Ga* 控制着玉米的杂交不亲和性, 杂交不亲和性具有遗传隔离和防杂保纯的作用。本研究利用 *Ga* 基因对甜玉米种质资源进行改良, 通过杂交、回交转育及混合花粉鉴定法, 将配子体基因成功转育到甜玉米的优良自交系上, 为甜玉米的遗传隔离和杂种优势利用奠定了基础。

关键词: 单向杂交不亲和性; 甜玉米; 遗传改良

中图分类号: S513.024

文献标识码: A

Genetic Improvement of Sweet Corn in *Zea mays* Germplasm

HE Yu-tang¹, CHEN Xing-kui², MA Chun-ying¹(1. *Plant Institute, Liaoning Provincial Key Laboratory of Food Quality Safety and Functional Food Research, Bohai University, Jinzhou 121000;**2. Academy of Agriculture Science of Jinzhou, Jinzhou 121017, China*)

Abstract: Cross incompatibility in *Zea mays* is controlled by gametophyte gene (*Ga* gene). The cross-incompatibility has the function of genetic isolation and keeping seed purity. In this study, the *Ga* gene was used to improve genetically sweet corn lines. Through mixing pollen and backcross method, the cross-incompatibility or *Ga* gene was transferred successfully into the sweet corn lines, which establishing the foundation of heterosis utilization.

Key words: Cross incompatibility; Sweet corn; Genetic improvement

在鲜食甜玉米生产中, 外源花粉的污染容易导致玉米杂交种的纯度降低, 造成商品玉米的外观品质及理化性能的下降。甜玉米需要遗传隔离以保证种子的纯度和鲜食时的质量。自从 Demerec(1929)和 Schwartz(1950)在玉米上发现了配子体基因(Gametophyte gene, *Ga*)以来, 人们已经认识到 *Ga* 基因具有保护一些玉米类型免受其它花粉混杂的作用^[1,2]。携带有 *Ga* 基因的玉米, 其花粉可使其它玉米授粉结实, 但其它玉米的花粉却不能使它授粉结实^[3~5]。本研究利用 *Ga* 基因的杂交不亲和性, 对甜玉米种质进行遗传改良。

1 材料与方法

1.1 材料

携带 *Ga* 基因的材料 C022、C037 从 CIMMYT 提

供的种质资源中筛选出来, 甜玉米自交系及普通玉米等自交系由渤海大学植物研究所提供。

1.2 方法

对引自 CIMMYT 的种质资源进行了初步观察、鉴定后, 选单株自交。2003 年在配制杂交组合时, 以 C022、C037 株系中选单株作母本, 分别与普通自交系 M56、M124、M236 进行人工杂交, 结果只收到极少量种子, 但反交结实正常。为验证上面的试验结果, 2003 年在加代时, 以 C022、C037 作母本, 重复与普通自交系 M56、M124、M236 的人工杂交。当 C022、C037 作母本时, 所有的杂交组合仅获得极少量种子, 当作为父本时, 杂交结实率完全正常。

2004 年以 C022 和 C037 为亲本, 与不同来源的甜玉米自交系 M178、M185、M202 进行正反杂交。同年加代繁殖时, 6 个杂交组合(M178 × C022)、(M185 × C022)、(M202 × C022)、(M178 × C037)、(M185 × C037) 和 (M202 × C037)F₁ 代中选单株进行自交, 并以甜玉米自交系为母本与 F₁ 进行回交, 杂交组合结实正常。

2005 年从上述 6 个杂交组合的 F₂ 和 BC₁ 代中

收稿日期: 2006-11-24

基金项目: 辽宁省博士启动基金(20051084)

作者简介: 何余堂(1967-), 男, 陕西户县人, 博士, 副教授, 研究方向为分子育种。E-mail: heyutang@163.com

选单株自交,得到 F₃ 和 BC₁F₁ 代。同年加代繁殖时,从 F₃ 和 BC₁F₁ 代中选单株自交,并利用混合授粉法进行鉴定^[6~8]。将来自马齿玉米、硬粒玉米、糯玉米及甜玉米等 12 个自交系的花粉混合,对 F₃ 和 BC₁F₁ 代中的单株进行授粉,考察其结实率。

2006 年种植 F₄ 和 BC₁F₂ 家系,对其农艺性状进行观察鉴定。同时从 F₄ 和 BC₁F₂ 家系中选单株自交,并利用混合授粉法对株系进行鉴定。

玉米人工杂交授粉结实率的测定。抽丝前用纸袋套住雌穗以防止外源花粉。当花丝长度达 5 cm 以上时,将花丝剪短至 2 cm,将父本花粉迅速倒在母本花丝上,并立即将纸袋套住雌穗。成熟的果穗收获后,统计其结实率。结实率的计算方法如下:

结实率(%)=(实际粒数 / 理论粒数) × 100

理论粒数 = 果穗行数 × 行粒数

2 结果分析

2.1 亲本材料的杂交不亲和性

表 1 C022 和 C037 自交系的鉴定结果

Table 1 Identification of *Ga* gene in C022 and C037

组 合 Combination	春播 Sown in spring		冬播 Sown in winter	
	株 数 Plants	结实率(%) Seed set	株 数 Plants	结实率(%) Seed set
C022 × M56	2	1.12	3	0.93
C022 × M124	2	0.80	2	1.04
C022 × M236	3	0.54	2	0.26
平 均		0.82		0.74
C037 × M56	2	0.26	2	0.15
C037 × M124	3	0.37	2	0.00
C037 × M236	2	0.65	2	0.32
平 均		0.43		0.16
M56 × C022	4	86.22	3	73.55
M124 × C022	3	63.30	4	78.28
M236 × C022	4	72.65	3	82.63
平 均		74.06		78.15
M56 × C037	4	83.25	2	74.23
M124 × C037	4	68.82	4	85.20
M236 × C037	3	92.15	3	70.27
平 均		81.41		76.57

对 C022 和 C037 进行人工授粉杂交,以鉴定自交系的杂交不亲和性。春播和南繁的结果均表明,C022 和 C037 作母本时,结实率在 0 ~ 1.12% 之间,平均结实率不到 1%;而反交的结实率正常,在 63.30% ~ 92.15% 之间,平均结实率达到 80% 左右(表 1)。说明 C022 和 C037 具有杂交不亲和性,它们可能带有 *Ga* 基因。在以 C022 和 C037 作母本的杂交中

结少量种子,可能是在人工杂交过程中,由自交因素而不是杂交造成的,也可能有其它原因。

在加代繁殖时,从杂交组合 F₁ 中选出单株与 M56、M124、M236 自交系进行回交,结果每穗上所结的种子量很少,平均结实率小于 0.93%(表 2),说明 C022 和 C037 中的 *Ga* 基因是纯合的。将 C022、C037 与爆花玉米 P012 和 P025 进行杂交鉴定,正反交结实率均为正常。已知 P012 和 P025 带有 *Ga* 基因,表明 C022、C037 中也存在 *Ga* 基因,且与 P012 和 P025 中的 *Ga* 基因是相同或等位的。

表 2 F₁ 代的鉴定结果

Table 2 Identification of *Ga* gene in F₁ generation

组 合 Combination	株 数 Plants	结实率(%) Seed set	存在 <i>Ga</i> 基因 <i>Ga</i> exists
(M56 × C022) × M56	3	1.41	是
(M124 × C022) × M124	5	1.16	是
(M236 × C022) × M236	4	0.23	是
平 均		0.93	
(M56 × C037) × M56	5	0.86	是
(M124 × C037) × M124	2	0.53	是
(M236 × C037) × M236	4	1.28	是
平 均		0.89	

2.2 改良后代的鉴定

将来自不同类型的玉米花粉混合,对 6 个杂交组合 (M178 × C022)、(M185 × C022)、(M202 × C022)、(M178 × C037)、(M185 × C037) 和 (M202 × C037) 的 F₃ 和 BC₁F₁ 家系进行人工授粉。每家系选单株自交,并随机选取 10 株进行混合授粉鉴定,收获后考察结实率,并计算平均结实率。表 3 中列出 F₃ 和 BC₁F₁ 家系的平均结实情况。由于不同组合中家系的平均结实率变化比较大,为便于比较,按照平均结实率的大小将同一组合的家系划分为 3 类:平均结实率小于 1% 的家系;平均结实率大于 1% 而小于 10% 的家系;平均结实率大于 10% 的家系。带有 *Ga* 基因的家系具杂交不亲和性,混合授粉的结实率很低或为零。因此,可以推断,表 3 中平均结实率小于 1% 的家系,带有 *Ga* 基因;而平均结实率大于 10% 的家系,则不含有 *Ga* 基因。对于平均结实率大于 1% 而小于 10% 的家系,情况比较复杂,不能肯定是否带有 *Ga* 基因。利用混合授粉法鉴定玉米的杂交不亲和性,可靠性比较高,但也会受环境因素如温度、湿度、风力、人为混杂等的影响。在遗传育种实践中,增加选择压力可以有效提高目的基因的选择效率。所以,淘汰平均结实率高于 1% 的 F₃ 和 BC₁F₁ 家系。平均结实率低于 1% 的 F₃ 和 BC₁F₁ 家系,通过自交形成 F₄ 和

BC₁F₂ 家系。

对 F₄ 和 BC₁F₂ 家系进行自交,并利用混合授粉法对其进行鉴定(表 4)。可以看出,大多数 F₄ 和 BC₁F₂ 家系的平均结实率小于 1%, 仅有个别家系的结实率大于 1%。继续淘汰平均结实率高于 1%的家系,

则留下的 F₄ 和 BC₁F₂ 家系均具有杂交不亲和性。经过多代自交、选择与鉴定,将 *Ga* 基因成功转育到甜玉米自交系上。具有杂交不亲和性的甜玉米可以不受外源花粉的污染, 在自交系繁殖、杂交种组合配制、大田生产中具有无法比拟的优越性。

表 3 F₃ 和 BC₁F₁ 代中 *Ga* 基因的混合花粉法鉴定

Table 3 Identification of *Ga* gene in F₃ and BC₁F₁ populations by mixed pollen

组合世代 Combination generation	平均结实率≤1%的家系 Lines with mean seed set ≤1%	1%< 平均结实率≤10%的家系 Lines with mean seed set >1% and ≤10%	平均结实率>10%的家系 Lines with mean seed set >10%
(M178 × C022) F ₃	6	14	9
(M185 × C022) F ₃	4	10	8
(M202 × C022) F ₃	5	11	7
(M178 × C037) F ₃	7	13	8
(M185 × C037) F ₃	4	9	6
(M202 × C037) F ₃	5	12	7
M178 × (M178 × C022) BC ₁ F ₁	4	9	8
M185 × (M185 × C022) BC ₁ F ₁	3	8	10
M202 × (M202 × C022) BC ₁ F ₁	5	9	11
M178 × (M178 × C037) BC ₁ F ₁	6	10	9
M185 × (M185 × C037) BC ₁ F ₁	3	8	12
M202 × (M202 × C037) BC ₁ F ₁	4	7	11
存在 <i>Ga</i> 基因	是	有可能	否

表 4 F₄ 和 BC₁F₂ 代中 *Ga* 基因的混合花粉法鉴定

Table 4 Identification of *Ga* gene in F₄ and BC₁F₂ populations by mixed pollen

组合世代 Combination generation	家系总数 Total lines	平均结实率≤1%的家系 Lines with mean seed set ≤1%	1%< 平均结实率≤10%的家系 Lines with mean seed set >1% and ≤10%	平均结实率>10%的家系 Lines with mean seed set >10%
(M178 × C022) F ₄	6	5	1	0
(M185 × C022) F ₄	4	3	1	0
(M202 × C022) F ₄	5	3	1	1
(M178 × C037) F ₄	7	5	1	1
(M185 × C037) F ₄	4	3	1	0
(M202 × C037) F ₄	5	3	2	0
M178 × (M178 × C022) BC ₁ F ₂	4	2	1	1
M185 × (M185 × C022) BC ₁ F ₂	3	2	1	0
M202 × (M202 × C022) BC ₁ F ₂	5	3	1	1
M178 × (M178 × C037) BC ₁ F ₂	6	4	1	1
M185 × (M185 × C037) BC ₁ F ₂	3	2	0	1
M202 × (M202 × C037) BC ₁ F ₂	4	3	1	0
存在 <i>Ga</i> 基因		是	有可能	否

2.2 改良甜玉米的农艺性状

对 6 个杂交组合(M178 × C022)、(M185 × C022)、(M202 × C022)、(M178 × C037)、(M185 × C037) 和 (M202 × C037)的 F₄ 和 BC₁F₂ 家系的农艺性状进行观察鉴定,并与亲本性状进行比较。经过改良的甜玉米在株高和穗位高上略高于甜玉米亲本, 生育期晚

2~3 d,果穗长、行粒数、鲜穗重和千粒重略有增加,子粒色泽、含糖量等性状没有变化。由于改良甜玉米具有杂交不亲和性,在遗传育种、杂交种繁殖、鲜食玉米生产中具有广阔的应用前景。

3 讨论

植物利用雌雄蕊异花或生理上的自交不亲和性 (self-incompatibility) 以避免自交衰退^[9]; 另一方面, 异花授粉植物通过调节杂交过程, 以平衡自交衰退效应和广泛杂交的不良影响。不加区分的随意杂交, 由于空间上、时间上及生理上各因素的限制而被禁止^[10]。玉米属的亚种间、亚种内均存在着杂交不亲和性, 完全不亲和与部分不亲和均是存在的^[11]。*Ga* 基因控制的杂交不亲和性, 在不同的材料中表现出不同的强度。本研究中 C022 和 C037 中的 *Ga* 基因在利用混合授粉法对改良群体进行鉴定时, 平均结实率似乎呈现出数量性状的趋势, 从结实率为 0 到 1%、10% 以及大于 10%。事实上, *Ga* 基因为质量性状基因, 其控制的杂交不亲和性应该表现出简单地孟德尔式的遗传规律。然而, 植物的授粉受精是一个复杂的生理过程。玉米花粉的杂交不亲和基因可能就存在于由二倍体组织发育而来的花粉被中。杂交不亲和基因(*Ga* 基因) 与识别反应有关^[12]。当不亲和花粉落在花丝上, 花丝上的杂交不亲和基因的表达产物就与花粉被中的特异蛋白相互识别, 启动信号传导过程, 阻止花粉的萌发、受精、结实, 导致杂交不亲和。但是, 花粉与花丝的相互作用有时会受环境因素的影响, 不亲和花粉可能由于环境因素的干扰而未能被识别, 从而正常萌发、受精、结实。因此, 利用 *Ga* 基因进行玉米的遗传改良, 需要采取有效的鉴定方法, 并增加选择压力, 以剔除环境因素的影响, 从而达到既定育种目标。

参考文献:

- [1] Demerée M. Cross sterility in maize. Zeits i Abst u Verer[J]. 1929, 50: 281–291.
- [2] Schwartz D. The analysis of case of cross sterility in maize[J]. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1950, 36: 719–724.
- [3] 何余堂, 梁文科, 张丽华, 等. 玉米配子体基因研究进展[J]. 玉米科学, 2005, 13(3): 10–13.
- [4] 曾三省. 玉米杂交不亲和性研究初探[J]. 玉米科学, 1998, 6(1): 1–3, 20.
- [5] 何余堂, 刘 岩, 马春颖, 等. 辽宁玉米—油菜复种模式的初步研究[J]. 玉米科学, 2006, 14(3): 123–125.
- [6] Jones D F. Selective fertilization in pollen mixtures[J]. Biol Bull, 1920, 38: 251–289.
- [7] Nelson O E. Non-reciprocal cross-sterility in maize[J]. Genetics, 1952, 37: 101–124.
- [8] Kermicle J. Cross compatibility within the genus *Zea*[A]. In: M. Freeling and V. Walbot, (eds.) The Maize Handbook[C]. Springer-Verlag, 1993.
- [9] 何余堂, 涂金星, 傅廷栋, 陈宝元. 芸薹属自交不亲和基因的分子生物学及进化模式[J]. 植物学通报, 2003, 25(5): 65–75.
- [10] Mutschler M, Liedl B E. Interspecific crossing barriers in *Lycopersicon* and their relationship to self-incompatibility [A]. In: E.G. Williams et al., (eds.) Genetic control of self-incompatibility and reproductive control in flowering plants[C]. Klower Press, 1994.
- [11] Guo F L, Huang B Q, Han Y ZH, Zee S Y. Fertilization in maize indeterminate gametophyte1 mutant[J]. Protoplasma, 2004, 223(3): 111–120.
- [12] Kermicle J L, Allen J O. Cross-incompatibility between maize and teosinte[J]. Maydica, 1990, 35: 399–408.

(责任编辑: 尹 航)