

文章编号: 1005-0906(2007)03-0052-03

药剂诱导玉米孤雌生殖技术选育自交系

王宏伟¹, 史振声¹, 邢志远², 徐盛恩³(1. 沈阳农业大学玉米研究所, 沈阳 110161; 2. 辽宁省高速公路管理局, 沈阳 110000;
3. 抚顺市萨尔浒风景区, 辽宁 抚顺 113000)

摘要: 2003~2006 年用药剂诱导玉米孤雌生殖共获得 254 粒孤雌生殖一代(Pa1)种子。选取部分 Pa1 种子对根尖细胞和花粉母细胞进行细胞学观察。结果表明, Pa1 植株的根尖细胞主要为二倍体, 非整倍体也占很大比例, 为 24.0%。在花粉母细胞中正常二倍体频率比根尖体细胞明显提高, 并且根尖细胞染色体数目变异不能延续到花粉母细胞。细胞学分析结合田间鉴定、方差分析获得孤雌生殖纯系 13 个, 经测配获得杂交组合 5 个, 均表现出较强的杂种优势。

关键词: 玉米; 药剂诱导; 孤雌生殖; 自交系

中图分类号: S513.024

文献标识码: A

Breeding of Inbred Lines and Hybrids of Maize Through Parthenogenesis Induced by Chemicals

WANG Hong-wei¹, SHI Zhen-sheng¹, XING Zhi-yuan², XU Sheng-en³

(1. Maize Institute of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161;

2. Highway Administer Bureau of Liaoning province, Shenyang 110000;

3. Beauty Spot of Fushun Saerhu, Fushun 113000, China)

Abstract: From 2003 to 2006, 254 Pa1 seeds had been obtained through parthenogenesis induced by chemicals. A few of Pa1 seeds were selected to checkup the root-rip somatic cells and PMCs. The result indicated that most of the root-tip somatic cells were diploid with 20 chromosomes, 24.0% were aneuploids. Meiotic analysis demonstrated that in parthenogenic plants frequency of normal univalent at the diakinesis stage in PMCs was more than in root-tip cells. The variation in root-tip somatic cells could not inherit to the generative cells. 13 chemically-induced parthenogenic maize inbred lines and 5 hybrids were obtained through cytology analysis, plant checkup and variance analysis, the hybrids had excellent heterosis.

Key words: Maize; Chemical inducing; Parthenogenesis; Inbred line

自 1973 年中国科学院遗传研究所开展孤雌生殖研究以来, 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^[1]通过药物诱导玉米孤雌生殖获得了二倍体纯系。母秋华等^[2]已获得了 V 花 91B、502GS 等一批优良纯系, 并配制出 V 花 91B/Mo17 等抗逆、高产、早熟的杂交组合。李祥昭^[3]、张太平^[4]和涂升斌等^[5]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利用药物诱导玉米远缘杂种孤雌生殖, 选育出优良的异源种质纯系 540, 并组配出优良杂交种遗单 6 号(5003/540)^[6], 推广面积达 1 万 hm², 1996 年通过山西省品种审定委员会认定。李冬郁、杨宪民^[7]也通过药剂诱导玉米孤雌生殖获得纯系 47 个和测交组合 43 个。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。

1 材料和方法

1.1 供试材料

2003~2006 年选用普通玉米和糯玉米不同遗传背景的材料 15 份。

收稿日期: 2006-08-20; 修回日期: 2007-03-26

基金项目: 沈阳农业大学青年教师科研基金项目(200310)

作者简介: 王宏伟(1974-), 女, 助研, 在读博士, 从事玉米遗传育种及生物技术研究。Tel: 024-88421178

E-mail: whw741119@163.com

1.2 实验方法

有关化学药剂诱导玉米孤雌生殖的处理方法同王宏伟等方法^[8]。

1.2.1 根尖体细胞的鉴定

将孤雌生殖获得的及部分原始亲本种子萌发的根尖切下,于 4℃水中处理 24 h,在室温条件下用 3 份冰醋酸(V/V)固定液固定 24 h,在冰箱中储存备用。经固定的根尖在 24℃条件下用 1 份浓盐酸和 1 份 95%乙醇(V/V)水解 10~12 min。用常规醋酸洋红法染色制片。

1.2.2 花粉母细胞的鉴定

取开始孕穗期植株的部分雄花序,用 3 份 95%乙醇和 1 份冰醋酸(V/V)固定液固定 12 h 以上,在冰箱中储存备用。固定的花粉母细胞用常规醋酸洋红法染色制片。

1.2.3 孤雌生殖后代的处理方法

经诱导获得的种子为孤雌生殖一代(Pa1)。第二季将 Pa1 种子单粒播种,经苗期鉴定淘汰后,生长正

常的单株在孕穗期取部分雄花序进行镜检,并进行田间自交,得到 Pa2 果穗。

第三季将 Pa2 果穗种成穗行,通过田间观察和测定分析,将表型一致的穗行部分自交,经株高、穗位方差分析等鉴定确认后,这些种子即为纯合的自交系。同时,Pa2 代的部分植株进行测配,得到杂交组合。

2 结果与分析

2.1 孤雌生殖一代(Pa1)的鉴定

2.1.1 孤雌生殖一代(Pa1)的细胞学鉴定

(1)孤雌生殖一代(Pa1)根尖细胞的有丝分裂。将经细胞学方法鉴定的 89 株原始植株所结的 73 粒 Pa1 种子根尖细胞进行镜检。鉴定结果表明,经鉴定的原始亲本的 1 103 个根尖细胞均为正常二倍体。在 73 株 Pa1 植株中,有 39 株为二倍体,44 株为混倍体和非整倍体,混倍体植株中包括正常二倍体、单倍体和多倍体(表 1)。

表 1 玉米孤雌生殖植株根尖体细胞染色体数目的变异

Table 1 Variation of number in root-tip somatic cells of maize parthenogenic plants

材 料 Materials	株 数 Plant number	细胞数 Cell number	染色体数目(2n) Chromosome number							
			整倍体 Euploid				非整倍体 Aneuploid			
			10	20	30 和 40	<10	11~19	21~29	31~39	合 计
普通玉米	48	723	28	521	26	2	85	65	5	157
所占比例(%)			3.8	71.2	3.6	0.3	11.6	8.9	0.7	21.4
糯玉米	25	406	13	268	17	4	59	43	2	108
所占比例(%)			3.2	66.0	4.2	1.0	14.5	10.6	0.5	26.6
合 计	73	1 138	41	789	43	6	144	108	7	265
平均比例(%)			3.5	68.6	3.9	0.5	13.0	9.7	0.6	24.0

由表 1 看出,化学药剂诱导的玉米孤雌生殖 Pa1 植株根尖体细胞组织中以二倍体(2n=2X=20)细胞所占比例最大,为 68.6%;非整倍体也占有 24.0%的比例。在非整倍体细胞中染色体数目变异幅度也很大,以 11~19 条的最多,占 13.0%。此结果和谷明光^[9]的研究结果一致。整倍体细胞中三倍体(2n=3X=30)和四倍体(2n=4X=40)、单倍体细胞(2n=X=10)分别占 3.9%和 3.5%。

(2)孤雌生殖一代(Pa1)花粉母细胞的减数分裂。将诱导所得的 254 粒 Pa1 种子单粒播种。其中经根尖细胞镜检的 73 粒 Pa1 种子中有 5 粒种子未出苗,剩余 68 株中有 49 株正常进行生殖生长。孕穗期对花粉母细胞减数分裂终变期的分裂进行观察,观察根尖细胞为正常二倍体的植株,其花粉母细胞减数分裂终变期的染色体数目和构型为正常的 10Ⅱ。根

尖细胞为混倍体和非整倍体的植株,其花粉母细胞减数分裂终变期的染色体数目和构型绝大多数为正常的 10Ⅱ,占所观察细胞的 89.8%;只有少数花粉母细胞的染色体数目和构型出现异常,表现为 7Ⅱ、8Ⅱ、9Ⅱ、7Ⅰ+3Ⅱ、10Ⅰ、9Ⅱ+1Ⅰ等。花粉母细胞的染色体数目和构型异常的植株表现为雄性不育,最后淘汰 1 株。

根尖细胞染色体为正常二倍体的植株,其花粉母细胞染色体也正常;根尖细胞染色体为混倍体和非整倍体的植株,接近 90%的花粉母细胞的染色体为正常的 10Ⅱ;虽然在花粉母细胞中也存在染色体数目和构型异常的细胞,但所占的比例远远小于根尖细胞中染色体的变异。这可能是二倍体细胞在生长发育中具有明显的竞争优势。

2.1.2 孤雌生殖一代(Pa1)的田间鉴定结果

经药剂诱导 617 株原始材料,共得到孤雌生殖一代 Pa1 种子 294 粒,第二季将其单粒播种,有 14 粒种子未正常出苗,12 株未正常发育而淘汰,共得健壮苗 268 株。经自交,单穗收获,共收获自交果穗 234 穗,经室内考种,得到纯果穗 145 穗,杂穗 89 穗,风折及机械损伤 2 株,雌雄不调 24 株,丝黑穗 2 株,雄性不育(无花粉)3 株,返祖现象 1 株,未成熟 2 株。结果说明,同一供试品种(F₁)所诱导的 Pa1 代不同株间其性状表现为多样性,即株高、熟期、株型、叶形、穗位高、穗型、粒型、粒色、抗性等均存在着一定的差异,符合遗传分离规律在 F₂ 代的表现。Pa1 种子出苗后大部分植株生长良好,但有死苗和白化苗现象,这可能是由于生理失调或隐性致死基因和半致死基因纯合所致^[10]。此结果与赵佐宇和谷明光的研究结果一致。

2.2 孤雌生殖二代(Pa2)的处理

将经细胞学分析和田间鉴定表现正常的 48 株 Pa1 植株上经自交所得的 Pa2 果穗种成穗行,同时种自交系 Mo17 为对照。综合苗期叶鞘色、叶色、株型、长势等田间性状整齐一致的共入选 13 份材料进行株高、穗位高的方差分析(表 2)。同时,部分植株进行自交和测交。

表 2 Pa2 株高和穗位高的方差分析结果
Table 2 Variance analysis results of Pa2 plant height and ear height

材 料 Materials	株高 Plant height		穗位高 Ear height	
	$\bar{x} \pm S(\text{cm})$	CV(%)	$\bar{x} \pm S(\text{cm})$	CV(%)
辽旅综群体-1	164.9 ± 3.34	2.0	79.3 ± 3.21	4.0
辽旅综群体-2	160.7 ± 3.72	2.3	83.9 ± 3.16	3.8
辽旅综群体-3	164.9 ± 3.86	2.3	79.8 ± 2.13	2.7
K12 热带群体-1	194.3 ± 4.65	2.4	86.7 ± 4.08	4.7
K12 热带群体-2	183.8 ± 3.71	2.0	73.7 ± 3.21	4.5
K12 热带群体-3	186.5 ± 4.41	2.2	82.5 ± 2.53	3.1
T2196	173.5 ± 2.92	1.7	85.2 ± 2.81	3.3
T2197-1	170.4 ± 2.05	1.2	74.9 ± 3.55	4.8
T2197-2	175.5 ± 3.13	1.8	84.2 ± 3.13	3.7
T2197-3	184.5 ± 3.21	1.7	66.7 ± 4.40	6.6
Wgn-1	143.8 ± 3.33	2.3	55.5 ± 3.47	6.3
Wgn-3	124.5 ± 3.59	2.8	65.3 ± 3.19	4.9
Wgn-10	155.5 ± 2.91	1.9	63.6 ± 2.54	4.0
Mo17	163.8 ± 5.90	3.6	58.0 ± 6.50	11.2

入选的 13 个孤雌生殖纯系除株间长势长相整齐一致、无明显分离现象外,株高和穗位高的变异系数均小于相同条件下的 Mo17。说明通过化学诱导获

得的孤雌生殖系与常规自交系有同样的田间整齐度和遗传稳定性。

2.3 测交组合的表现

入选的纯系共组配测交组合 13 个。2005 年冬种于海南,有 11 个测交组合群体表现整齐一致,营养生长旺盛,抗性较强。其中有 5 个组合比对照种农大 108 增产 10.0% ~ 20.0%,表现出明显的杂种优势。

3 讨 论

3.1 药剂诱导玉米孤雌生殖系纯度的鉴定

对孤雌生殖体的鉴定,还没有一致认同的权威方法^[11]。本实验采用细胞学鉴定、田间鉴定、统计分析和常规育种相结合的方法对药剂诱导玉米孤雌生殖系进行鉴定。

田间鉴定:通过田间观测 Pa2 代的穗行,根据其幼苗、株型、叶形、株高、花药、花丝等性状表现,确认是否为孤雌生殖纯系。

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

染色体鉴定:通过镜检鉴定二倍体和非整倍体。花粉母细胞的染色体数目和构型异常的植株为雄性不育株被淘汰。

3.2 玉米孤雌生殖植株细胞染色体的变异

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^[12]和混倍体。二甲亚砜(DMSO)诱导某些植物进行孤雌生殖,可以直接获得纯合二倍体^[13];DMSO 具有增加细胞膜化学渗透及引起 C 型有丝分裂,使染色体加倍;DMSO 也可通过核融合的方式使染色体加倍。本实验以 COL、DMSO 和这两种药剂的混合液为诱导剂,处理的材料经镜检出现大量的混倍体和非整倍体,这可能是由于药剂诱导玉米孤雌生殖导致细胞有丝分裂异常所致。

3.3 玉米孤雌生殖植株根尖体细胞染色体变异能否延续到花粉母细胞

本研究的结果与谷明光等的研究结果类似,体细胞为正常二倍体的孤雌生殖植株其花粉母细胞也为正常 10 II;体细胞为混倍体和非整倍体的孤雌生殖植株其花粉母细胞约 90% 为正常 10 II,只有少数染色体数目和构型异常的花粉母细胞,但植株形态和生长发育正常,与正常二倍体植株一样。这一结果表明,在混倍体和非整倍体植株中体细胞的染色体数目变异并不延续到花粉母细胞,说明(下转第 58 页)

(上接第 54 页) 混倍体和非整倍体植株从营养生长进入生殖生长, 由于二倍体细胞比非整倍体和混倍体细胞更具有明显的选择优势, 所以混倍体和非整倍体植株的体细胞在下一代中能恢复正常染色体数目。关于孤雌生殖正常二倍体胚的来源还没有一致的观点, 还需进一步的研究加以证实。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 母秋华, 李卫国, 李淑霞. 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.
- [3] 李祥昭, 陈洪俭, 胡文端. 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.
- [4] 张太平, 姚绍勉, 李刚毅, 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.
- [5] 涂升斌, 胡延玉, 潘光堂, 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.

- [6] 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.
- [7] 李冬郁, 杨宪民, 滕少花. 利用孤雌生殖技术选育玉米自交系和杂交种初报[J]. 玉米科学, 2005, 13(增刊): 23-25.
- [8] 王宏伟, 邢志远, 史振声, 等. 药剂诱导玉米孤雌生殖[J]. 玉米科学, 2006, 14(6): 35-37.
- [9] 谷明光, 杨太兴, 郭乐群. 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.
- [10] 敖光明, 赵世绪, 李广华. 从未受精的玉米子房培养出单倍体植株[J]. 遗传学报, 1982, 6(1): 56.
- [11] Chase S S. Haploids in higher plants, advances and potential (Ed. K. J. Kasha) [J]. Univ. of Guelph, Ontario, Canada, 1974, 211-230.
- [12] Kihlman B A. Actions chemicals on dividing cells, chapter 8, 9, 10, 11, Prentice-Hall, Inc. [J]. Englewood Cliffs, New Jersey, 1966, 105-157.
- [13] 周世琦. 棉花孤雌生殖研究初报[J]. 遗传学报, 1980, 7(3): 247-256.

(责任编辑: 张 英)