

文章编号: 1005-0906(2010)06-0027-04

玉米杂交诱导单倍体机理探析

Rotarenco V, Dicu G, Sarmaniu M

编译: 王丽娜^{1,2}, 徐国良², 代玉仙², 任 军², 李淑华², 于明彦², 才 卓²

(1. 吉林大学植物科学学院, 长春 130062; 2. 吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘 要: 玉米杂交诱导单倍体机制还不十分明确, 多数学者支持无融合生殖——假受精的单倍体诱导机制假说。通过研究异雄核受精对杂交诱导单倍体的影响, 发现在单倍体诱导过程中发生了受精的延迟, 而受精的延迟是引起较高异雄核受精率的原因, 进而导致诱导率下降。不同诱导系诱导同一自交系产生的单倍体之间存在显著差异, 推测这种差异可能源自于与诱导系的部分杂交。通过这些与上述诱导机制不一致的结果, 对杂交诱导单倍体机理进行了进一步探析。

关键词: 玉米; 杂交诱导; 单倍体生殖; 单倍体诱导系

中图分类号: S513.035.2

文献标识码: A

Induction of Maternal Haploids in Maize

Rotarenco V, Dicu G, Sarmaniu M

Compile: WANG Li-na^{1,2}, XU Guo-Liang², DAI Yu-xian², REN Jun²,LI Shu-hua², YU Ming-yan², CAI Zhuo²(1. *Institute of Plant Sciences, Jilin University, Changchun 130062;*2. *Jilin Academy of Agricultural Sciences Changchun 130033, China*)

Abstract: Recently, haploidy has been used widely in both maize breeding and genetics. However, the mechanism of haploid induction has not been explained, so far. In this work, we would like to present some results which have some contradictions with the mechanism of haploid induction which is known in apomictic development-pseudogamy. We also study the influence of heterofertilization on the induction of maternal haploids. The results indicated that during the induction of haploids a delay of fertilization occurs. In our opinion, the delay of fertilization was the reason for the high frequencies of heterofertilization in the pollinations where the haploid inducer was used. A delay of pollination leads to a decrease in the frequency which could also be caused by the phenomenon of heterofertilization. The last goal was to compare adult haploids of inbred lines produced by different inducers. It seems most likely the reason for the differences between haploids was partial hybridization with the inducers.

Key words: Maize; Maternal haploids; Haploid inducer

收稿日期: 2010-09-10

基金项目: 高产转基因玉米新品种培育 (2008ZX08003-003)、“973”计划“高产优质育种新材料的创制”(2009CB118400)、“863”计划“强优势玉米杂交种的创制与应用”(2010AA1020727001)

编译作者简介: 王丽娜(1987-), 女, 硕士, 从事玉米遗传育种研究。才 卓为本文通讯作者。

注: 本文作者为 Valeriu(Valeriy) Rotarenco, 摩尔多瓦国家科学院植物遗传生理研究所玉米遗传育种研究室主任。文章来源美国 Maize Genetics Cooperation Newsletter, 玉米育种家张铭堂先生推荐并审阅。

单倍体诱导系的产生建立在 Stock6(Coe, 1959)的基础上, 目前单倍体育种技术已经大量地应用于玉米育种和遗传实践中, 单倍体加倍(DH)技术也已成为许多育种公司选育自交系的主要方法。目前玉米杂交诱导单倍体诱导机制仍然不十分明确。

杂交诱导单倍体的机理普遍认为是由于发生了单受精, 也就是说, 一个精细胞与胚囊中央的极核结合, 受精胚乳的形成诱导未受精的卵细胞形成了胚, 即单倍体(Enaleeva, et al. 1990)。Bylich 等还发现, 同一诱导系产生的精细胞间形态上存在一些差异(Bylich, Chalyk, 1996), 这项研究结果支持单受精假

说。这种机制就是无融合生殖——假受精。但是只有某些特殊基因型的母本才能发生无融合生殖，而且通常产生的是二倍体胚。

本实验设计研究异雄核受精导致单倍体诱导率降低的原因，并比较了同一自交系由不同的诱导系诱导所产生的单倍体之间的差异，发现了与上述单倍体诱导机制不一致的结果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

自交系 A464、A619、X28C，诱导率 10%左右的单倍体诱导系 #1-ZMS(Tyrnov, 1984)和诱导系 #2-MHI(Chalyk, 1999)。

1.2 实验方法

1.2.1 自交系与诱导系、非诱导系不同授粉方式杂交

以自交系 A464、A619 为母本与两个父本杂交，其中一个父本是单倍体诱导系，另一个父本是非诱导系 X28C。两父本均有显性标记基因 *R1-nj*，可在胚中形成紫色盾片，在胚乳中形成紫色顶冠糊粉层(Nanda, Chase, 1966)。采用 3 种不同方式授粉：正常的父本给母本授粉；父、母本花粉按 1:1 比例混合后再给母本授粉；两次授粉，第 1 次授粉取父本花粉授粉，第 2 次授粉分别在 24、48、72 h 后取母本花粉授粉(自交)。

每种授粉方式不少于 10 个果穗。

1.2.2 单倍体诱导系自交与杂交

单倍体诱导系(诱导率为 10%左右)作为母本，采用 2 种不同的授粉方式授粉：用自交系 A464 花粉进行杂交；自花授粉进行自交。

1.2.3 不同诱导系诱导同一自交系产生单倍体

分别与诱导系 #1、#2 和诱导系 #1、#2 的杂交种杂交诱导 A464；诱导系 #2 和诱导系 #1、#2 的杂交种杂交诱导 A619，获得的单倍体种植 3 行区，开花期确认每小区 60 ~ 80 株单倍体植株，测量植株性状(株高、叶长、叶宽)和果穗性状(穗长和行粒数)。

2 结果与分析

2.1 自交系与诱导系、非诱导系不同授粉方式杂交

获得 4 种类型玉米子粒，即黄色子粒(母本类型)、*R1-nj* 基因完全表达的子粒、具有紫色糊粉层的子粒、具有紫色盾片(胚)的子粒(图 1)。其中，具有紫色糊粉层和紫色盾片(胚)的子粒是异雄核受精的结果，具有紫色糊粉层的子粒中有单倍体。将具有紫色糊粉层的子粒全部种植，并挑选出单倍体。

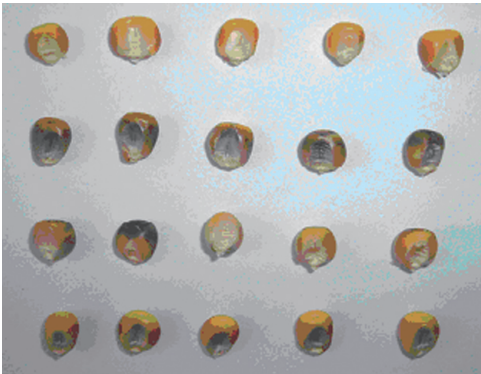


图 1 不同授粉方式产生的 4 种类型子粒

Fig.1 Four types of kernels produced by different methods of pollination

表 1 不同诱导系的单倍体诱导和异雄核受精的结果分析

Table 1 Results of haploid induction and heterofertilization by different inducers %

花粉来源 Pollinators	A464		A619	
	单倍体 Haploids	异雄核受精 Heterofert	单倍体 Haploids	异雄核受精 Heterofert
诱导系	12.6	—	11.8	—
X28C 系	—		—	—
诱导系 / 母本	10.6	3.90	3.9	2.00
X28C/ 母本	—	0.32	—	0.42
诱导系 /24 h 后再自交	5.2	1.50	6.0	1.30
X28C/24 h 后再自交	—	0.54	—	—
诱导系 /48 h 后再自交	12.5	0.35	9.5	0.30
X28C/48 h 后再自交	—	0.20	—	—
诱导系 /72 h 后再自交	10.0	0.68	8.5	0.40
X28C/72 h 后再自交	—	0.33	—	—

如表 1 所示,使用诱导系作父本,父母本花粉等比例混合授粉,A464 和 A619 分别产生 3.9%和 2.0%的异雄核受精子粒;用 X28C 作父本,父母本花粉等比例混合授粉,A464 和 A619 分别得到了 0.32%和 0.42%的异雄核受精子粒,使用诱导系花粉授粉可以产生更多异雄核受精子粒。使用父母本花粉混合方式授粉与单使用诱导系花粉授粉比较,A464 的单倍体比例从 12.6%下降到 10.6%,A619 从 11.8%下降到 3.9%。



注:左 1、2 依次是 A464、A619 分别先授诱导系花粉后马上再补粉自交果穗;左 3、4、5 依次是 A619 用诱导系花粉杂交后 24、48、72 h 再补粉自交的果穗。

Note: The 1st and 2nd from left are the self ears which be supplemented after pollination with A464 and A619, respectively; the 3rd, 4th and 5th are the ears which be supplemented after hybridization pollination with A619.

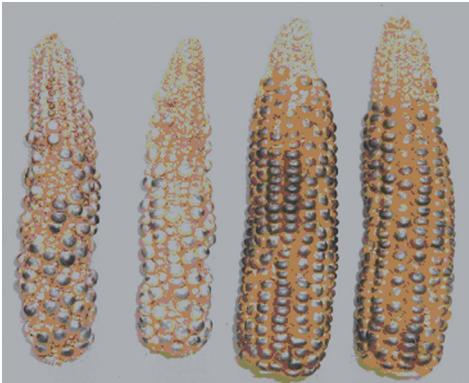
图 2 不同重复授粉方式获得的果穗

Fig.2 Ears of maternal genotypes in repeated pollination

图 2 表明,杂交后不同时间再补粉自交的实验

中,24 h 后补充授粉,A464 的单倍体比例为 5.2%,A619 为 6%,比非重复授粉的单倍体诱导率下降近一半。第 1 次授粉使用诱导系花粉比使用 X28C 花粉得到的异雄核受精率高。

诱导系自交果穗上产生大量胚乳异常的子粒(30%以上),其中有无胚乳子粒、胚乳减少的子粒和胚有活性但无胚乳的子粒(图 3)。



注:左边两穗是诱导系自交授粉,右边两穗是 A464 杂交授粉

Notes: The two ears on the left are the result of self-pollination, the other two ears are the result of pollination with the A464 line.

图 3 单倍体诱导系果穗

Fig.3 Ears of a haploid inducer

2.2 不同诱导系诱导产生单倍体之间的差异比较

A464 由不同诱导系诱导产生的单倍体间的一些测试性状表现出显著差异;A619 产生的单倍体在株高上表现出显著差异(表 2)。单倍体间除了数量性状上有差异外,在开花时间上也表现出差异性。

表 2 不同诱导系诱导产生的单倍体数量性状参数

Table 2 Parameters of quantitative traits of haploids produced by different inducers

性 状 Traits	A464			A619	
	诱导系 #1	诱导系 #2	诱导系 #1 × #2	诱导系 #2	诱导系 #1 × #2
	Inducer#1	Inducer#2	Haploid Inducer#1 × #2	Inducer#2	Haploid Inducer#1 × #2
株高(cm)	142.1 ± 3.1	126.2 ± 2.2*	120.2 ± 2.1**	133.4 ± 1.3	125.5 ± 2.0*
叶长(cm)	53.6 ± 0.8	51.0 ± 0.6	46.9 ± 0.7**	49.2 ± 0.4	47.7 ± 0.6
叶宽(cm)	6.7 ± 0.2*	6.7 ± 0.1*	7.1 ± 0.1	7.3 ± 0.6	6.9 ± 0.8
穗长(cm)	10.2 ± 0.3	8.9 ± 0.2*	9.7 ± 0.2	10.2 ± 0.3	9.2 ± 0.4
子粒行数(行)	13.3 ± 0.2	11.6 ± 0.2**	11.8 ± 0.2**	12.3 ± 0.2	11.7 ± 0.3

3 讨 论

Rotarenco 等认为,异雄核受精会降低单倍体的诱导率。由本实验研究结果可以推测出,在单倍体诱导过程中发生了受精的延迟,包括卵细胞和其中央

的细胞核。因此,使用单倍体诱导系授粉时,受精的延迟是导致较高异雄核受精率的原因。

在隔离区杂交诱导产生单倍体时,自然状态下的授粉方式是重复授粉,可导致高水平的异雄核受精率,甚至导致普通的精细胞完全替代前面进入诱

导系的精细胞,因此与人工授粉相比,单倍体诱导率较低(Rotarenco,2002)。然而人工授粉时,单倍体诱导率也不固定。所以异雄核受精现象引起单倍体诱导率下降的原因可能是由于授粉延迟导致的,即受粉延迟引起异雄核受精率升高,进而导致单倍体诱导率下降(Rotarenco,Mihailov,2007)。杂交诱导单倍体在早期授粉时诱导率较高,随着授粉的延迟单倍体诱导率会降低,但与此同时无融合生殖率却会升高。雌穗套袋吐丝后第3天人工授粉,每穗获得的单倍体子粒数量最多,结实性最好。

前人在选育新的诱导系的过程中,发现单倍体的诱导伴随着无胚和无胚乳子粒的产生,并得出了诱导系的诱导率与诱导系自交产生无胚和无胚乳子粒的频率成正相关关系。本实验发现,只有诱导系的花粉具有诱导产生无胚和无胚乳子粒的能力,而诱导系的大多数果穗都可以产生正常的子粒。

不同诱导系诱导同一自交系产生的单倍体之间表现出显著差异。单倍体间的差异也表现在(控温发芽箱中)发芽速度上的差异和生长早期(4叶前)表现型上的差异。单倍体胚乳的影响可能是单倍体间表现出这些差异的一个原因。Haskell (1960)在“假受精”物种中也发现了类似的现象,并称其为“假受精”

杂种优势。

本实验结果推测,混合胚乳导致单倍体之间差异的可能性不是很大,这种差异很有可能是由于与诱导系的部分杂交引起的,而且可能每个诱导系一定程度上都有部分杂交。部分杂交现象已经在水稻上得到阐述,太阳花上也发现存在这个现象(Faure, et al. 2002)。在单倍体中发现非整倍体植株(Chalyk, et al. 2003),且在表型上有很多差异,它们有可能是不育或者部分可育,并且通常具有诱导系的标记基因。同样在准单倍体植株上也发现了标记基因的踪迹。有研究认为,这些植株是父本单倍体,然而这些单倍体无论是在表型上还是标记基因的表达方式上都与由诱导系自交得到的单倍体完全不同。

这些结论可以用来验证部分杂交,但是,基于现有已知的结论仍不能确定单倍体胚的产生是由部分杂交引起的,也不能断定杂交诱导产生的单倍体实质上是含有部分诱导系基因的非整倍体。无论单倍体诱导率变动的原因是什么,杂交诱导单倍体与无融合生殖间有着本质的区别。总之,单倍体的诱导是一个相当复杂的过程,同时也是深有奥秘的现象。