

文章编号: 1005-0906(2014)02-0001-04

玉米单向异交不亲和基因研究进展及其在玉米育种上的应用

赵贤容¹, 李松², 陈智斌¹, 陈化榜¹

(1.中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101; 2.山东农业大学农学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 玉米单向异交不亲和基因是一种配子体基因(*Gametophyte factors, Ga*)。Ga 基因是影响单倍体配子有性传递的遗传因子, 许多带有 Ga 基因的爆裂玉米可以给不带有 Ga 基因的马齿型和硬粒型玉米正常授粉结实, 反交则通常不结实。Ga 基因的这种特性在生产上可以用于特用玉米与普通玉米以及非转基因玉米与转基因玉米之间的生殖隔离, 在基础理论上可以用于研究玉米授精过程中的基因互作、信号传导以及雌雄配子间的不亲和机理。

关键词: 玉米; 单向异交不亲和基因; 生殖隔离

中图分类号: S513.035

文献标识码: A

Research Progress on Unilateral Cross-incompatibility Genes and Their Utilization in Maize Breeding

ZHAO Xian-rong¹, LI Song², CHEN Zhi-bin¹, CHEN Hua-bang¹

(1. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101;

2. Agronomy College, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: Unilateral cross-incompatibility genes in maize were known as *Gametophyte factors (Ga)* which influence the sexual transmission of haploid gametes. Many popcorn inbred lines carry these genes and can fertilize dent and flint maize lines. However, reciprocal crosses were often unsuccessful. This cross-incompatibility of *Ga* genes can be applied to reproductive isolation among different maize varieties and maize relatives and to study signal transduction and pollen-pistil interactions in the course of maize fertilization.

Key words: Maize; Unilateral cross-incompatibility gene; Reproductive isolation

雌雄配子的互作控制着绿色开花植物的生殖特性, 它们之间的不亲和可以避免自交或者异交。目前, 对于自交不亲和的遗传基础研究比较深入^[1], 而对于异交不亲和的遗传研究则还比较薄弱。研究异交不亲和的障碍主要在于, 如果这种不亲和在异交

的两种植物中是相互的, 则不能产生后代进行进一步的研究; 如果这种异交不亲和是单向的, 则对其的遗传分析是可行的。

在玉米中存在单向异交不亲和性, 主要由单向异交不亲和基因所控制。玉米单向异交不亲和基因是一种配子体基因(*Gametophyte factor, Ga*), *Ga* 基因是影响单倍体配子有性传递的遗传因子。许多带有 *Ga* 基因的爆裂玉米可以给不带有 *Ga* 基因的马齿型硬粒型玉米(*ga/ga*)正常授粉, 反交却往往不成功。一般来讲, *ga* 花粉不能给显性纯合的 *Ga/Ga* 母本授粉结实, 而 *Ga* 花粉则能给隐性纯合的 *ga/ga* 母本授粉结实, 这就是 *Ga* 基因所控制的单向异交不亲和性。当 *Ga* 花粉和 *ga* 花粉混合给 *Ga/Ga* 或 *Ga/ga* 母本授粉时, *Ga* 花粉对 *ga* 花粉有显著的竞争优势^[2~5]。*Ga* 位点通常由单一显性主基因控制, 另有数目不等的微效修饰基因。不同的 *Ga* 基因对 *ga* 花粉的不亲和

收稿日期: 2014-01-01

基金项目: 国家自然科学基金面上项目“玉米单向杂交不亲和基因 *Ga1-s* 的分子克隆与功能验证”(31271729)、国家自然科学基金青年科学基金项目“玉米单向异交不亲和基因 *Ga2-s* 的精确定位及其不亲和机理初探”(31301323)

作者简介: 赵贤容(1985-), 女, 博士, 研究方向为作物遗传育种。

E-mail: xrzhao@genetics.ac.cn

李松(1985-), 男, 硕士, 研究方向为作物遗传育种。

E-mail: lisongxcy@foxmail.com

赵贤容和李松为本文共同第一作者。

陈化榜为本文通讯作者。

程度不同。几乎所有的温热带玉米都是 *ga/ga* 基因型, *Ga/Ga* 基因型只存在于爆裂玉米和极少数中美洲玉米类型中。

1 研究意义及应用前景

Ga 基因只存在于爆裂玉米和极少数中美洲玉米类型中, 而绝大多数马齿型和硬粒型栽培玉米都是 *ga/ga* 基因型, 因此可以利用回交转育的方法将 *Ga* 基因从爆裂型玉米转育到马齿硬粒型等普通玉米中去, 使得 *Ga* 基因成为不同类型玉米生物学隔离的工具。

Ga 基因可以用于转基因玉米与非转基因玉米之间的生物学隔离。目前, 转基因玉米利用中存在的主要问题之一是转基因品种对非转基因品种的转基因污染。如何使转基因玉米与非转基因玉米安全共处是全球转基因玉米利用中共同存在的问题^[6]。过去的 10 年中, 即使在种子法律和食品管理制度健全的美国, 在转基因作物的利用上仍出现过两次重大混杂污染事故, 其中之一 StarLink/Cry9C 转基因玉米, 给美国造成数亿美元的损失^[7,8]。避免转基因污染的途径之一是采用时间隔离和空间隔离的方法, 但由于玉米的雄穗花粉量大、花粉传播距离远、生育期集中, 实际操作起来会给玉米生产带来困难和不便, 实践中基本不可能, 美国的生产实践就证明了这一点。避免转基因污染的另一途径是利用玉米的 *Ga* 基因系统, 将 *Ga* 基因从爆裂玉米回交转育到普通玉米杂交种的双亲自交系中, 它们的杂交种 (*Ga/Ga*) 即使和转基因玉米 (*ga/ga*) 并肩而种也不会存在问题。因为转基因玉米的 *ga* 花粉不能给非转基因玉米的花丝 (*Ga/Ga*) 授粉结实, 从而避免了转基因花粉的传播, 达到生物学隔离的目的。

Ga 基因可以用于常规玉米与专用玉米之间的生物学隔离。具有特殊性状的专用玉米如糯玉米、甜玉米、白玉米、高油玉米和高赖氨酸玉米等在全球的推广面积逐年增加, 其制种和生产都需要隔离, 以防止与常规玉米串粉而影响其专用性。若将 *Ga* 基因回交转育到上述专用玉米中, 则可解决生产隔离的问题, 这将大大降低专用玉米生产成本, 增加农民收入。

植物的传粉过程可以分为 4 步: ①花粉识别柱头; ②花粉粒在柱头上的水化萌发; ③花粉管在雌蕊组织中的生长并到达胚珠通过珠孔; ④花粉管中的精子在胚囊中释放及双受精。高等植物的传粉授精是一个复杂的生理生化过程, 其中任何一步受阻都

会导致不结实。*Ga* 单向异交不亲和玉米是研究上述过程中基因互作、信号传导的理想材料。

2 研究进展

目前, 已有多个 *Ga* 基因被发现, 它们分别位于玉米的不同染色体上 (Chr1: *Ga4*、*Ga6*; Chr2: *Ga7*; Chr4: *Ga1*、*Tcb1*; Chr5: *Ga2*、*Ga10*; Chr6: *Ga3*; Chr9: *Ga8*)。有 3 个 *Ga* 基因由于其近乎 100% 的单向异交不亲和性而被人们广泛研究, 它们分别是由 Correns 于 1902 年发现的 *Gal* 基因^[9], 由 Burnham 于 1936 年报道的 *Ga2* 基因^[10], 由 Kernicle 于 1990 年报道的在玉米的祖先大刍草中发现的 *Tcb1* 基因。

2.1 *Ga* 基因的遗传定位

Bloom 等分别利用带有 *Gal* 基因的爆裂玉米 Hp301 与 B73 的 NAM 重组自交系材料和仅在 *Gal* 位点存在差别的 W22 的近等基因系材料将 *Gal* 定位在 B73 上一个 2.6 Mb 的区间内^[11]。Zhang 等利用带有 *Gal* 基因的爆裂玉米 SDGa25 与其他 4 种普通玉米组配的 4 组 BC₂F₁ 群体通过图位克隆的方法将 *Gal* 基因定位在分子标记 SD3 和 SD12 之间, 在 B73 上的参考序列上的距离约为 2 Mb^[12]。经过比较分析, Bloom 等的定位区间完全覆盖 Zhang 等的定位区段。2013 年, Liu 等通过构建不需要表型鉴定的同质群体的方法, 将 *Gal* 基因进一步定位在了玉米 4 号染色体上一个 100 Kb 的区间^[13]。

Jerry 等通过一套玉米的 9 号染色体短臂与其他 9 条染色体的相互易位系材料对 *Ga2* 基因在染色体上的具体位置进行了研究, 这套材料的 9 号染色体短臂上带有一个控制玉米子粒蜡质性状的隐形基因 *wx1*。如果 *Ga2* 基因与易位系材料 (Translocation, T) 的 *wx1* 连锁, 则用基因型为 *wx1 T(ga2)Wx1 (Ga2)* 的父本给基因型为 *wx1 (Ga2)wx1 (Ga2)* 的材料授粉, 所得到的后代蜡质子粒的比例应该低于 50%。研究结果发现, 3 个在 9 号染色体短臂与 5 号染色体之间发生异位的材料出现了这种现象, 其中, 在 9S.05;5L.06 位置 (着丝粒附近) 发生异位的材料后代中蜡质子粒的比例仅为 3.8%; 在 9 号染色体短臂与 1、3、4 号染色体之间发生异位的材料后代蜡质子粒的比例为 42.2% ~ 46.8%, 说明 *Ga2* 位于玉米 5 号染色体的着丝粒附近^[14]。

Tcb1 基因也被定位在第 4 号染色体的短臂上, 但 *Gal* 和 *Tcb1* 没有连锁, 相对独立遗传。Evans 等认为, *Tcb1* 位点包含两个紧密连锁基因: 雌配子因子 (*Female-factor*) 和雄配子因子 (*Male-factor*), *Female-*

factor 主要作用于 *Ga* 花丝对 *ga* 花粉的不亲和, *male-factor* 主要作用于 *Ga* 花粉对 *Ga* 花丝的亲和^[5]。目前, Female-factor 和 Male-factor 均被定位在分子标记 nmc0471 与 bnlg490 之间^[6]。

2.2 *Ga* 基因单向异交不亲和机理的研究

Ga 基因的这种单向异交不亲和性可能由两种原因导致, 一种是 *ga* 花粉产生的信号引发 *Ga* 花丝的主动排斥; 另一种是 *ga* 花粉不能产生 *Ga* 花丝能够识别的信号^[7]。另外, 杂合体中 *Ga* 花粉与 *ga* 粉的竞争作用也有可能抑制 *ga* 花粉的活性^[8]。Schwartz 等人的研究表明, *gal* 花粉管在 *Ga1* 花丝中的伸长严重受阻。Zhang 等报道, 在授粉 2 h 后, *gal* 花粉管在 *Ga1* 花丝中长到约 5.5 cm 后就不再生长, 最终没有到达胚珠。Kermicle 认为, *gal* 花粉和 *Ga1* 花丝的不亲和, 不是由于 *Ga1* 花丝对 *gal* 花粉的主动排斥, 而是二者之间的不相容^[9]。

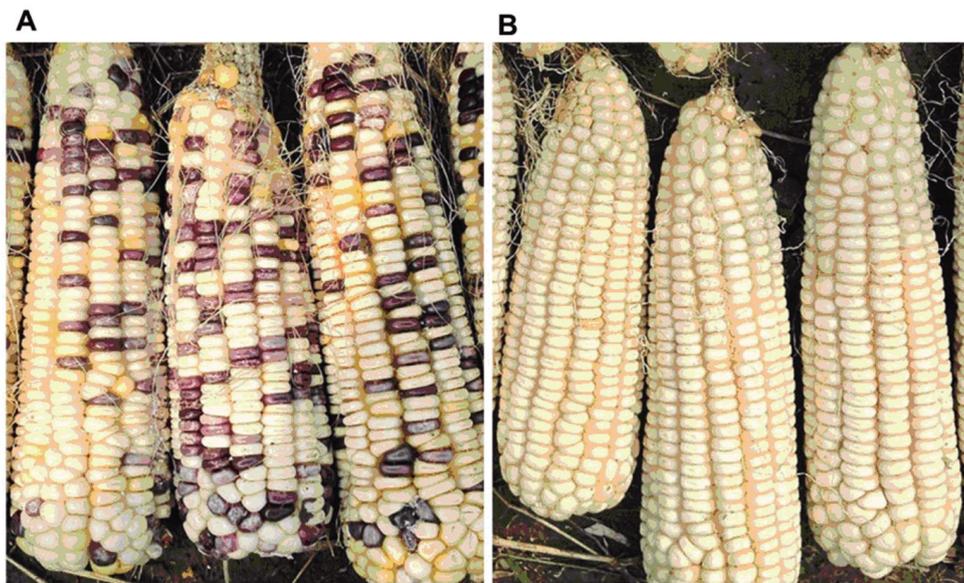
研究发现, 在 *Ga1*、*Ga2* 与 *Tcb1* 这 3 种单向异交不亲和系统中, *ga* 花粉管在 *Ga* 花丝中的生长在早期会显著慢于正常花粉管, 而在授粉 24 h 以后都会停止生长。但是, 3 种不亲和花粉管的形态各不相同, 在 *Ga1*、*Ga2* 与 *Tcb1* 花丝中分别表现为弯曲、扭结和笔直, 这表明 3 种单向异交不亲和系统的机理各不相同。

虽然 *Ga1*、*Ga2* 与 *Tcb1* 功能类似, 但它们并不

是同一个基因, 因为带有这 3 种基因的材料彼此之间是不亲和的。然而, 某些证据显示, 在 *Ga1* 与 *Tcb1* 以及 *Ga2* 与 *Ga1* 之间存在着互作, 这说明这 3 个基因的单向异交不亲和性的分子基础存在一定的关联。

3 *Ga* 基因在玉米育种上的应用

目前, 国外多数种子公司及国内一些育种单位均把 *Ga* 基因导入新选育的优良自交系作为首要的育种目标。不过, 由于 *Ga* 基因的单向杂交不亲和这一特性, 其在玉米生产上的应用相对困难。要将 *Ga* 基因回交转育到 *ga/ga* 基因型的普通或专用玉米上, 其转育程序和常规的回交转育过程相比, *Ga* 基因必须用作父本; 其次, 每回交两代, 就要自交一代, 以确保分离群体内 *Ga/Ga* 基因型的存在; 第三, 为选择 *Ga/Ga* 基因型的个体继续进行回交, 需要利用紫玉米的花粉(*ga*)直感来区分分离群体中个体的基因型(*GaGa*、*Ga/ga* 和 *ga/ga*), 具体做法是先用紫玉米花粉给回交自交的后代个体分别授粉(覆盖), 然后再将其自交, 结果是 *Ga/Ga* 无紫粒(紫玉米花粉不亲和), *ga/ga* 全部为紫粒, *Ga/ga* 则为嵌合体。由此可见, 回交转育 *Ga* 基因的过程比一般基因的回交转育要复杂费时。因此, *Ga* 基因的快速有效的回交转育必须借助与其紧密连锁的分子标记, 进行分子标记辅助选择育种。



注: A 为普通“京科糯 2000”; B 为父母本带有 *Ga1* 基因的“京科糯 2000”。两种“京科糯 2000”在无隔离措施的情况下与紫玉米及黄玉米种在一起的表现。

Note: A, JKN2000 (*ga/ga*); B, JKN2000 (*Ga1/Ga1*). Both hybrids were grown in field conditions and were surrounded by yellow and purple corns.

图 1 *Ga1* 基因在白糯玉米“京科糯 2000”生产上的应用

Fig.1 White waxy corn JKN2000 hybrid showing difference in cross-incompatibility with yellow and purple corns (*ga/ga*)

中国科学院遗传与发育生物学研究所陈化榜实验室率先利用与 *Ga1* 基因紧密连锁的分子标记将其导入到白糯玉米“京科糯 2000”的父母本中。所配的杂交组合在毫无隔离措施的情况下与紫玉米及黄玉米种在一起也不会发生污染(图 1)。

4 展 望

虽然带有 *Ga* 基因的玉米材料很多,但是实践证明真正具有 100%单向异交不亲和性的 *Ga* 基因材料是很少的。在生产上只能利用具有 100%单向异交不亲和性的 *Ga* 基因,如果使用单向异交不亲和性不彻底的 *Ga* 基因还是会引来外来花粉的污染,在大面积的玉米制种和生产上会造成很大的损失。*Ga1*、*Ga2* 与 *Tcb1* 是目前发现的单向异交不亲和性最彻底的配子体基因,具有巨大的潜在利用价值。然而,*Tcb1* 已经进行了专利保护^[9],对 *Ga2* 的相关研究几乎还是空白,目前唯一能在玉米生产上用的只有 *Ga1* 基因。随着 *Ga* 基因在玉米生产上的广泛应用,单一的 *Ga1* 基因远远不能满足玉米生产上的应用,必须发掘更多的具 100%单向异交不亲和性的 *Ga* 基因。因此,有必要对同样具有 100%单向异交不亲和性的 *Ga2* 基因展开更加深入的研究,这将在我国的玉米生产上发挥巨大的作用。

参考文献:

- [1] Franklin-Tong VE. Self-incompatibility in flowering plants: evolution, diversity, and mechanisms[M]. Berlin (Germany): Springer, 2008.
- [2] Schwarts D. The analysis of case of cross sterility in maize[J]. PNAS, 1950, 36: 719-724.
- [3] Ashman RB. Modification of cross-sterility in maize[J]. The J. of Heredity, 1975, 66: 5-9.
- [4] Kermicle J L, Allen J O. Cross incompatibility between maize and teosinte [J]. Maydica, 1990, 35: 399-408.
- [5] Nelson OE. The maize handbook[M]. New York:Springer, 1994.
- [6] <http://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/2007/01/18.html> Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2006.
- [7] <http://www.starlinkcorn.com/starlinkcorn.htm>.
- [8] <http://www.organicconsumers.org/Corn/starlink.cfm> U.S. Farmers to Get \$112 Million for GE Starlink Corn Contamination.
- [9] <http://www.maizegdb.org/cgi-bin/displaymaprecord.cgi?id=64506>.
- [10] Burnham C R. Differential fertilization in the Bt-Pr linkage group of maize[J]. J. Am. Soc. Agron., 1936, 28: 968-975.
- [11] Josie C B, James B H. Genomic localization of the maize cross-incompatibility gene, *Gametophyte factor 1(ga1)*[J]. Maydica, 2011, 56: 1771-1782.
- [12] Zhang H, Chen H B. Genetic analysis and fine mapping of the *Ga1-S* gene region conferring cross-incompatibility in maize[J]. Theor. Appl. Genet., 2012, 124:459-465.
- [13] Liu X, Chen H B. Fine mapping of the Cross-incompatibility locus *Gametophytic Factor 1 (ga1)* using a homogeneous maize population [J]. Crop Science, 2013, doi: 10.2135/cropsci2013.09.0598.
- [14] Kermicle J L, Evans MMS. The *Zea mays* sexual compatibility Gene *ga2*: Naturally occurring alleles, their distribution, and role in reproductive isolation[J]. Journal of Heredity, 2010, 101(6): 737-749.
- [15] Evans MMS, Kermicle J L. *Teosinte crossing barrier1*, a locus governing hybridization of teosinte with maize[J]. Theor. Appl. Genet., 2001, 103: 259-265.
- [16] Lu Y X, Evans MMS. Genetic and cellular analysis of cross-incompatibility in *Zea mays*[J]. Plant Reprod, 2013, doi: 10.1007/s00497-013-0236-5.
- [17] Hancock C N, Kondo K, Beecher B, et al. The S-locus and unilateral incompatibility[J]. Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci, 2003, 358: 1133-1140.
- [18] Meyer P, Saedler H. Homology-dependent gene silencing in plants [J]. Annu. Rev. Plant Physiol, 1996, 47: 23-48.
- [19] Kermicle J L, Evans MMS. Pollen-pistil barriers to crossing in maize and teosinte result from incongruity rather than active rejection [J]. Sexual Plant Reproduction, 2005, 8(4): 187-194.
- [20] <http://www.patentstorm.us/patents/7074984-description.html>.

(责任编辑:李万良)