

玉米孤雌生殖诱导系及标记基因的观察

宋建成 姜丽君 王启柏 王守义 郭风法

(山东农业大学农学系,泰安 271018)

摘要 本文观察比较了玉米孤雌生殖诱导系的单倍体诱导频率、开花习性和农艺性状表现,以及几个标记性状的主要特点。结果表明:WS14和Stock 6两个诱导系均能诱导产生玉米孤雌生殖单倍体,诱导频率分别为3.06%和1.61%,分别比对照系提高35倍和18倍。但两个诱导系均存在植株矮小、生育期较短、生产能力较低,尤其是难以散粉等缺点,作为诱导系直接应用于玉米育种尚有较大困难。在观察的几个标记性状中,以显性基因Rn1和Pu联合应用效果最好,可有效地识别玉米孤雌生殖单倍体,单独应用则存在一定限制。隐性基因gl₁识别可靠性较好,但需转育到育种材料中才能利用,而隐性基因lg₁则由于可给育成自交系带来明显缺点性状而难以利用。

关键词 玉米 孤雌生殖 诱导系 标记基因

植物单倍体育种技术,不仅具有选择效率高、选择可靠性大等优点,而且可以在1~2个有性世代内获得遗传性稳定的纯合系,比常规自交分离自交系方法缩短育种周期3~4个生长季节,是一条快速、高效的现代作物育种途径。在育种实践中,目前主要通过配子体离体培养、药物诱导孤雌生殖以及特殊基因诱导孤性生殖等几种主要途径获得玉米单倍体。

在花药培养方面,自印度学者Guha和Maheshwari于1964年首次获得蔓陀罗花粉植株和我国于1975年首次获得玉米花粉植株后,国内外在玉米花药培养技术方面进行了大量的研究,但由于其培养效率低、基因型障碍大、染色体加倍困难,而且需要一定的设备条件和较高的费用等,严重限制了该技术在玉米育种实践中的应用,迄今为止,国内仅育成桂三1号一个玉米杂交种,在生产上进行小面积的推广^[1]。

在药物诱导孤雌生殖方面,谷明光^[2]等利用秋水仙碱、马来酰肼及二甲基亚砷等试剂处理未授粉雌穗,获得了玉米单倍体植株,并利用该技术育成了系列自交系和杂交组合,尽管该技术具有简便易行,不需技术设备等优点,但由于孤雌生殖系仍需经过2~3代自交才会稳定,在缩短育种年限方面仍不够理想。

美国遗传学家Coe^[3]于1956年发现了Stock 6种质系,以其作父本与任何玉米材料杂交的后代中,均可出现1%~2%的孤雌生殖单倍体。Kermicle^[4]于1969年从美国商用玉米自交系W23中发现了不定配子(indeterminant gametophyte)突变系W23ig,以其作母本与任何玉米材料杂交的后代中,可出现0.3%~2.0%的孤雌生殖单倍体植株^{[5][6]}。法国农科院Lashermes等从W23ig和Stock 6的杂种F₃群体中,选育出了孤雌生殖诱导系WS14,其单倍体诱导率平均可达3.5%左右^[6]。前苏联学者Tymov等^[7]也选育出玉米孤雌生殖诱导系ZMS,单倍体诱导频率也达到2%左右^[8]。这些研究者普遍认为,利用孤性生殖诱导系作为产生单倍体的工具,可以在不需任何特殊设备条件下,产生大量玉米单倍体,是目前单倍体育种最经济有效的途径。

能否及时、快速、高效识别单倍体个体,也是决定孤性生殖技术在玉米育种实践中应用的重要因素,目前多数研究者利用标记基因从杂种 F_1 群体中识别单倍体。 Rn_j 可使子粒顶部及胚部呈紫红色,以携带 Rn_j 的诱导系与普通育种材料(m_j)杂交后, F_0 种子顶部着色而胚部无色者即可判断为孤性生殖单倍体,尽管该基因可在种胚期识别,但由于子粒着色程度受气候条件及发育情况影响,而降低了其可靠性。法国农科院 Pollacsek(私人通讯)利用幼苗光叶基因 gl_1 成功地识别孤性生殖单倍体,并应用于玉米育种实践。

关于玉米孤雌生殖诱导系的研究和利用,目前国内尚未见报道,本文对两个孤雌生殖诱导系的综合性状及单倍体诱导效果进行了观察,并比较分析了几个标记基因的主要特性及在育种中应用的前景,以求为玉米单倍体育种提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 单倍体诱导频率的研究

以诱导系 Stock 6、WS14 和常规自交系 8112、583 为供试材料,分别与含有幼苗光叶基因 gl_1 的杂交种 $A_2/F546$ 杂交 10 穗,每组合在育苗盘中播种 2000 粒,于幼苗 2~3 叶期分别调查其光叶苗数,并进行根尖染色体镜检,确定各组合的单倍体频率。

1.2 综合性状的调查

上述 4 个基因型大田各种植 20 株,开花后各取 10 株调查其平均株高、穗位高、雄穗分枝数、散粉期、散粉持续期和散粉量。

1.3 标记基因的研究

以含有 Rn_j 和 Pu 的诱导系与正常系杂交,以诱导系与含有 gl_1 和 lg_1 的正常系杂交,在春、夏播大田和温室内观察杂交种子及幼苗的表现情况,以及这些标记基因对成株的影响情况。经标记基因初步鉴别的单倍体再进行根尖染色体镜检,以确定标记基因的可靠性。

2 结果与分析

2.1 单倍体诱导效果

由表 1 可见,在各自近 2000 个后代调查个体中,8112 和 583 的杂交后代出现单倍体的频率为 0.1% 左右,与玉米孤雌生殖的自然发生频率相近^[9],而 WS14 和 Stock 6 的杂交后代中,单倍体产生的频率则远远高于自然发生频率,说明两系均有诱导产生单倍体的能力,而 WS14 的诱导能力高达 3.06%,比 Stock 6 提高近 1 倍,这一结果基本与 Coe 和 Lashermes 的研究相一致。

表 1 玉米孤雌生殖诱导系的诱导效果

杂交父本	杂交穗数	调查苗数	单倍体株数	诱导率(%)
Stock 6	10	1 739	28	1.61 b
WS14	10	1 765	54	3.06 a
8112	10	1 835	2	0.11 c
583	10	1 768	1	0.06 c

2.2 孤雌生殖诱导系的性状表现

与常规自交系 8112 和 583 相比,两个孤雌生殖诱导系均表现为植株矮小、穗位较低、生育期缩短、果穗较小、单株生产能力明显降低。在实际应用中,孤雌生殖诱导系只能用作杂交父

本,因此,开花习性和散粉情况直接影响着诱导系的应用价值。由表2可知,诱导系 WS14 和 Stock 6 的雄穗分枝数和散粉持续期与常规系差异不大,但散粉量却存在极大差异,尽管两个诱导系花药及花粉发育正常,花粉量与常规系相似,但花药不能正常开裂,内部湿度增加,花粉粒粘连,散粉量很少,仅为常规系的 10% 以上,WS14 每个雄穗花粉只能满足 1 个果穗授粉需要,而 Stock 6 则仅能满足 0.3~0.5 个果穗需要。因此,为获得足够的杂交果穗,需种植大量的诱导系,这将是限制孤雌生殖技术在玉米育种中应用的重要因素。

表2 玉米雄雌生殖诱导系的性状表现

基因型	株高(cm)	穗位高(cm)	雄穗分枝数(个)	散粉期(d)	散粉持续期(d)	散粉量
Stock 6	135	27	15.30	42	3.0	- -
WS14	148	42	8.85	49	3.4	-
8112	187	76	6.25	61	3.0	+ -
583	172	62	11.74	58	4.2	+ +

* 散粉期为播种至散粉天数

2.3 玉米种胚及幼苗期标记基因的观察

作为鉴定孤雌生殖单倍体的理想标记基因,应该是在种胚或幼苗期表达的显性突变基因,可以直接引入诱导系。目前已被采用的有 Rnj 和 Pu, Rnj 可使子粒顶部和胚区呈现紫黑色,杂交后代中子粒顶部呈黑色而胚区呈白色者,即为正常受精的三倍体胚乳和孤雌生殖而形成的单倍体胚,在育种中易于应用,但由于胚区着色易受环境条件的影响,为迅速鉴定带来一定困难。Pu 基因表现为紫色胚尖,易于鉴别,但无法判断其胚乳来源,不能排除由非父本花粉授粉而造成的污染,直接利用有一定困难。将 Rnj 与 Pu 结合后则能较可靠的鉴别出孤雌生殖单倍体,是较为理想的标记性状。某些隐性突变基因如 gl_1 和 lg_1 也可用来识别孤雌生殖单倍体, lg_1 基因可使 3~4 叶以后的叶片失去叶舌,叶片几乎呈直立状态,较易识别,但由于无叶舌性状改变了植物形态结构,导致生产能力下降,育成的自交系性状不良,产量低,在育种中较难利用,而 gl_1 基因则仅在幼苗时表现光叶、无蜡粉,叶片易沾水珠,较易识别,由于对成株期无不良影响,也易在育种中应用。然而,这些隐性基因必须转育到育种材料中,才能作为识别孤雌生殖的标记性状,这就在一定程度上限制了其应用范围,但以轮回改良群体作为育种材料时,将标记基因转于群体后,便可长期应用。

表3 几个玉米标记基因的主要特点

基 因	表达部位	表达性状	鉴别难易	对成株影响	适宜携带者	应用难易
Rnj	胚、粒顶	紫黑色	+ -	无	诱导系	+
Pu	胚尖	紫色	+	无	诱导系	+ -
Rnj + Pu	胚、粒顶	紫黑色	+	无	诱导系	+ +
gl_1	幼苗	无腊粉	+	无	育种材料	+
lg_1	植株	无叶舌	+ +	降低产量	育种材料	+ -

3 讨 论

由本研究结果可以看出,孤雌生殖诱导系 WS14 和 Stock 6 均能诱导产生玉米单倍体,诱导频率以 WS14 更高一些,平均每个杂交穗可以产生单倍体种子 12~15 粒,以人工加倍及自交结实株率总计 30% 计,在一个育种材料中杂交 50 个果穗,即可获得 200 个左右自交后代,供表现

型选择及配合力测定,与其它单倍体育种及常规育种方法相比,不仅育种效率较高,育种成本也是很低的。因此,利用诱导系方法进行玉米单倍体育种将具有很好的应用前景。

然而,由于国外现有的诱导系在我国气候条件下表现综合性状较差,生产力水平低,散粉量极少等严重缺陷,需对其进行改良后才能用于育种实践中。我们通过数年的遗传改良,已经筛选到诱导率较高、综合性状良好、散粉量同常规自交系的穗行。目前正在进一步纯化及鉴定过程中,可望在近年内选育出直接用于玉米单倍体育种孤雌生殖诱导系。

在标记性状方面,我们认为将 R_{nj} 和 Pu 两个显性基因同时转育到诱导系将是最理想的选择,可以较可靠的识别单倍体,在实践中应用也较为方便。

参 考 文 献

- 1 胡道芬. 植物花培育种进展. 中国农业科技出版社, 1996
- 2 赵佐宇 谷明光. 遗传学报, 1984, 11: 39 - 46
- 3 Coe. 1956. Maize genet. Coop. Newsl, 30: 39 - 99
- 4 Kermicle. 1969. Science. 166: 1422 - 1424
- 5 Kermicle. 1974. In Haptoisid in higher plant. Ed. Kasha
- 6 Lashermes. 1987. These Univ. Clermont - Ferrand, France, France France. 183P
- 7 Tymov. et al. , 1984. Dokl. Akad. Nauk SSSR. 276(3): 735 - 738
- 8 Chalyk. 1994. Euphytica, 79: 13 - 18
- 9 Chase. 1969. Bot. Rev. 35: 117 - 167