

化学药剂诱导玉米唐四平头群体孤雌生殖 选育自交系的研究

王俊强¹, 丁昕颖², 马宝新¹, 刘海燕¹, 孙善文¹, 韩业辉¹, 于运凯¹

(1. 黑龙江省农业科学院 齐齐哈尔分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省畜牧研究所, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘要:为研究化学药剂诱导玉米孤雌生殖获得纯系的可操作性, 选取6个自交系组建唐四平头群体, 从不同诱导时间和不同化学药剂2个方面探讨最佳诱导条件, 并对孤雌生殖系后代进行稳定性和配合力分析。结果表明: 最佳诱导时间为雌穗吐丝3 d, 诱导率为0.098%; 0.20 mg·kg⁻¹ Col 诱导率最高, 诱导率为0.192%, 比对照(0.023%)高8.3倍; 通过田间表型鉴定及自交, 共获得玉米孤雌株系112份; 从各个组合一般配合力和特殊配合力的相对平均值来看, P1亲本中T239和T298特殊配合力表现最好。

关键词:玉米; 孤雌生殖; 化学药剂; 配合力

中图分类号: S513 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2015)10-0010-04 DOI: 10.11942/j.issn1002-2767.2015.10.0010

传统的玉米育种方法大多利用杂种优势, 推广杂交种是提高玉米产量最重要的措施, 长期以来, 玉米选育自交系最常规有效的方法是人工自交, 但是纯合的自交系需要6~8代才能获得, 致使育种周期延长, 费用增加, 而通过诱导玉米孤雌生殖, 可在短期内(2~3代)即获得纯合系, 但是孤雌生殖在自然界中偶有发生, 发生的频率极低。目前诱导玉米孤雌生殖的方式有许多种类, 化学因子可以作为信使启动孤雌生殖基因和加强其表达效果, 以其获得二倍体频率比较高、不定向变异比较少等优点而备受青睐^[1]。玉米自交系的改良和创新是提高当前玉米育种水平的关键。“玉米群体改良”是改良玉米原始群体, 创造遗传基础丰富的新材料, 建立优良基因库的重要手段, 将成为今后作物育种的基础。众多学者对孤雌生殖的诱导及在玉米育种中的利用进行了深入研究^[2-6], 本研究选取6个品种组建唐四平头群体, 进一步探讨化学药剂诱导玉米孤雌生殖获得纯系的可行性, 并对孤雌生殖系后代进行稳定性和配合力分析, 为玉米孤雌生殖深入研究及自交系的选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为黄早四、444、扎461、吉853、

N13、N16六个自交系, 组建唐四平头群体。唐四平头群体: 以黄早四为母本, 444、扎461、吉853、N13、N16混合花粉为父本进行杂交, 授粉20穗。选择一块0.01 hm²隔离地块, 单粒点播, 保苗500株, 自然授粉, 果穗成熟后, 选择果穗饱满、植株形状优良、抗病性强的果穗30穗。

1.2 方法

1.2.1 化学药剂诱导玉米孤雌生殖 将处理材料播种于隔离区, 4 m行长、3行区、株距25 cm, 每个处理每份材料保苗30株。雌穗吐丝前进行套袋隔离, 当花丝大部分抽出苞叶时, 用剪刀剪平花丝, 用酒精擦拭双手灭菌后, 在雌穗顶端拔出来一个凹槽, 用猴头喷雾器对准雌穗喷药2~3 mL, 重复2~3次, 为了防止污染严重, 选择4:00-7:30喷药, 喷药后用硫酸纸袋套好。收获时统计处理果穗数、结实穗数、每穗结实粒数。

1.2.2 处理时间对诱导率的影响 受体选择唐四平头群体, 设置5个处理, 分别在雌穗吐丝后1、2、3、4、5 d, 利用2% DMSO(二甲基亚砜)试剂对雌穗进行药剂处理, 以了解不同处理时间对孤雌生殖诱导率的影响。

1.2.3 单一化学药剂诱导 受体选择唐四平头群体, 用不同浓度的DMSO和Col(秋水仙碱)对受体进行处理, DMSO: 0.5%、1.0%、2.0%; Col: 0.1、0.15、0.2 mg·kg⁻¹, 雌穗吐丝3 d诱导, 每个处理30穗。

1.2.4 孤雌生殖田间鉴定 化学药剂诱导结实后的种子称为Pa0, Pa0的种子单粒播种, 自交后

收稿日期: 2015-07-20

第一作者简介: 王俊强(1981-), 男, 黑龙江省齐齐哈尔市人, 硕士, 助理研究员, 从事玉米育种研究。E-mail: august-wj@163.com。

得到孤雌生殖第一代(Pa1)籽实。Pa1 经自交后的后代植株为孤雌生殖第二代(Pa2)。将 Pa2 按穗行进行田间播种,每个株系种植一个小区,选择表现不分离、遗传纯合自交系。

1.2.5 数据分析 应用 DPS7.05 软件对数据进行方差分析,同时采用新复极差法检验处理间的差异显著性水平。

2 结果与分析

2.1 不同处理时间对玉米孤雌生殖诱导率的影响

供试材料为唐四平头群体,采用 2% DMSO 试剂进行处理,处理时间为雌穗吐丝 1、2、3、4、5 d,发现诱导时间对玉米孤雌生殖诱导率影响差异较明显。由表 1 可以看出,用猴头喷雾器法诱导玉米孤雌生殖,处理最佳时间为雌穗吐丝 3 d,其诱导率为 0.098%,与雌穗吐丝 1、2、4、5 d 诱导率达到极显著水平。

表 1 不同诱导时间对玉米孤雌生殖诱导率的影响

Table 1 Effect of different induction time on induction rate

| 处理时间/d | 处理穗数 | 结实穗数 | 结实粒数 | 诱导率/% |
|----------------|-----------------------|------------|--------------|----------------|
| Treatment time | Ear number processing | Ear number | Grain number | Induction rate |
| 1 | 48 | 20 | 18 | 0.054 E |
| 2 | 42 | 19 | 20 | 0.079 B |
| 3 | 47 | 25 | 31 | 0.098 A |
| 4 | 41 | 19 | 21 | 0.073 C |
| 5 | 39 | 19 | 20 | 0.065 D |

不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著。
Different capital letters mean significant difference at 0.01 level.

2.2 不同单一药剂对玉米孤雌生殖诱导率的影响

用不同浓度的 DMSO 和 Col 分别诱导唐四平头群体,孤雌生殖诱导率见表 2,单独使用药剂

表 3 玉米孤雌生殖 Pa1 代田间情况比较

Table 3 Comparison of Pa1 generation on field situation

| Pa1 代 | 收获 | 出苗 | 出苗未成株 | 高大苗 | 保留株系 |
|-----------------|---------|----------|-----------------------|------------|-----------------|
| Pa1 generation | Harvest | Seedling | Seedling but no plant | High plant | Retention plant |
| 粒数 Grain number | 429 | 391 | 128 | 150 | 113 |
| 比例/% Proportion | - | 91.1 | 32.7 | 38.4 | 28.9 |

2.3.2 孤雌生殖系 Pa2 田间表型观察 取 112

0.5%~2.0%DMSO 和 0.10~0.20 mg·kg⁻¹ Col 对玉米孤雌生殖的诱导率都有促进作用,诱导率在 0.078%~0.192%,与对照(0.023%)相比高出 3.4~8.3 倍。诱导率最高的是 0.20 mg·kg⁻¹ Col,并且随着 Col 浓度的增加诱导率在不断增大,而药剂 0.5%~2.0%DMSO 处理后,诱导率峰值出现在 1.0%DMSO 处。

表 2 单一药剂处理对玉米孤雌生殖诱导率的影响

Table 2 Effect of different chemicals on induction rate

| 药剂 | 处理穗数 | 结实穗数 | 结实粒数 | 诱导率/% |
|------------------------------|--------------|----------------------|--------------|----------------|
| Chemical reagents | Spike number | Spike number of seed | Grain number | Induction rate |
| 0.5%DMSO | 47 | 24 | 53 | 0.138 |
| 1.0%DMSO | 43 | 23 | 42 | 0.164 |
| 2.0%DMSO | 50 | 23 | 30 | 0.078 |
| 0.10 mg·kg ⁻¹ Col | 45 | 23 | 38 | 0.128 |
| 0.15 mg·kg ⁻¹ Col | 40 | 22 | 40 | 0.173 |
| 0.20 mg·kg ⁻¹ Col | 39 | 25 | 44 | 0.192 |
| CK(水) | 53 | 7 | 11 | 0.023 |

2.3 孤雌生殖田间鉴定

2.3.1 孤雌生殖系 Pa1 田间表型观察 从表 3 可以看出,3 项试验共获得种子 429 粒,分粒播种,Pa1 出苗 391 粒,38 粒未出苗,未出苗率占 8.9%。出苗籽粒中未成株 128 株,占 32.7%,已白化苗和雄穗不散粉为主。高大植株 150 株,占 38.4%,高大株可能是体细胞无融合生殖产生的,还有可能是生殖细胞无孢子生殖产生的。另外,弱小苗 113 株,占 28.9%,这些植株矮小,生活力弱、散粉正常,可能是遗传同质化的自交系,有待以后自交种成株行和后代同工酶电泳或蛋白电泳进行鉴定。如果其余 112 株是纯合二倍体,诱导率(获得纯系数/处理雌穗小花数)按 0.096%算,则处理 4~5 穗可产生 1 个纯系。

份材料,按穗行进行田间鉴定,结果表明,Pa2 多

出现偏母本或父本型,且大多数表现分离,其中只有 T9、T36、T98、T143、T163、T228、T239、T298、T306、T307 这 10 份材料表现为不分离,是遗传纯合类型,纯系频率为 8.9%。

2.4 玉米孤雌生殖纯系产量配合力分析

将 T9、T36、T98、T143、T163、T228、T239、T298、T306、T307 分别与常规自交系 Mo17、

B73、丹 340 进行 AB 式不完全双列杂交,获得 30 个组合。籽粒产量方差分析见表 4 结果表明,供试组合达到极显著差异($F=12.605\ 0^{**}$),进一步对杂交组合的 A、B 组亲本进行配合力方差分析($F_A=10.429\ 0^{**}$, $F_B=2.284\ 0^*$),其配合力均达到极显著、显著差异。

表 4 不完全双列杂交的 30 个组合籽粒产量方差分析表
Table 4 Variance analysis of grain yield of 30 combinations

| 变异来源 Variation source | 自由度 Degree of freedom | 平方和 Quadratic sum | 均方 Mean square | F 值 F value | P 值 P value |
|--------------------------|--------------------------|----------------------|-------------------|----------------|----------------|
| 区组 | 2 | 115660.6638 | 57830.3319 | 0.7940 | 0.4568 |
| 组合 | 29 | 26617366.5739 | 917840.2267 | 12.6050** | 0.0001 |
| P1 | 2 | 4286030.7922 | 2143015.3961 | 10.4290** | 0.0010 |
| P2 | 9 | 4224370.0842 | 469374.4538 | 2.2840* | 0.0649 |
| p1xp2 | 18 | 3698585.6446 | 205476.9803 | | |
| 误差 | 58 | 4223267.8176 | 72814.9624 | | |
| 合计 | 89 | 30956295.0554 | | | |

2.5 唐四平头群体生殖纯系产量一般配合力、特殊配合力分析

从表 5 中看出,P2 亲本中的丹 340 产量一般配合力的相对效应为 1.527,高于 Mo17(−0.213)、B73(0.734)的相对效应,说明丹 340 籽粒产量的一般配合力相对较优于 Mo17 和 B73,P1 亲本中的 T163 籽粒产量的一般配合力相对效应最高,为 1.017,其次是 T36(0.935)、T98(0.86)和 T143(0.975),这些亲本的一般配合力较优。

表 5 纯系产量的一般配合力、特殊配合力分析
Table 5 General combining ability and special combining ability of pure line yield

| | P2.1 | P2.2 | P2.3 | P2 |
|-------|--------------|-------------|-------------|----------|
| P1.1 | 0.62228256 | 0.66422562 | −1.09763343 | 0.265533 |
| P1.2 | −1.75387027 | −1.88066326 | −4.64927004 | 0.935051 |
| P1.3 | 0.83230337 | −1.70908221 | −1.24076474 | 0.860132 |
| P1.4 | 0.18653509 | −3.04034564 | −2.91133649 | 0.974737 |
| P1.5 | 0.50316630 | −0.24534158 | −1.93422150 | −0.84319 |
| P1.6 | 0.31663876 | −3.33261236 | −1.56806003 | 1.016856 |
| P1.7 | 0.42806939 | 2.32188441 | 0.13586776 | −1.9686 |
| P1.8 | −0.36208897 | 1.59748626 | 0.13597239 | −1.96136 |
| P1.9 | 0.16448553 | 0.53371222 | 0.76773682 | −1.72916 |
| P1.10 | 0.95772219 | −1.39373939 | −2.08849941 | 0.401991 |
| P1 | −0.213221481 | 0.733883771 | 1.527351681 | |

从各个组合一般配合力和特殊配合力的相对平均值来看,P1 亲本中 T239 的特殊配合力表现最好,其次为 T298。

3 结论与讨论

同一化学药剂不同的诱导时间对玉米孤雌生殖的诱导率有明显的差异,诱导最佳时间为雌穗吐丝 3 d,其诱导率为 0.098%。该结果与赵念力等^[1]研究结果基本一致。不同化学药剂对唐四平头群体诱导效果差别较大,本试验结果表明,0.20%Col 对玉米孤雌生殖诱导效果最好,诱导率为 0.192%,与对照(0.023%)相比高出 8.3 倍,这个结果与前人研究略有不同;王宏伟等^[7]对 Col 进行了 0.01%、0.10%、0.15%不同浓度的筛选,以 0.05%Col 的诱导效果最好,诱导率为 0.221%。有可能与材料遗传背景相关。且本试验的诱导率是对照的 8.17 倍,要远高于其的 2.8 倍。

本试验通过化学药剂诱导玉米孤雌生殖共获得 112 份株系,按穗行进行田间鉴定,结果表明,Pa2 多出现偏母本或父本型,且大多数表现分离,当中只有 10 个表现为不分离,是遗传纯合类型,纯系频率为 8.9%。从各个组合一般配合力和特殊配合力的相对平均值来看,唐四平头群体 P1 亲本中特殊配合力表现最好的是 T239,其次是 T298。玉米育种难在选系,重在组配,中心问题

是配合力,能否选育出优良的玉米杂交种,重点在于选择优良自交系。因此,玉米自交系配合力的测定,已成为杂交组合组配、提高育种工作效率中重要的环节。本试验总共获得组合 30 个,分析它们的一般、特殊配合力,从结果中看出,多数孤雌生殖纯系一般配合力和特殊配合力都表现较好。通过对药物诱导孤雌生殖法选育的玉米自交系籽粒产量配合力的研究认为,药物诱导孤雌生殖法可以作为一种新的方法应用于玉米育种实践,其优点是:不仅能大大缩短育种年限,加快育种进程,而且能选育出配合力高的自交系。

从理论上讲,利用人工诱导玉米孤雌生殖直接产生纯合二倍体的选系方法是目前较常用的方法,要优于目前的常规选系的方法。从本试验的结果来看,此项技术还需要进一步完善,从选系的速度看,该项技术优于常规选系方法,从选系的效

率来看又优于单倍体选系法。

参考文献:

- [1] 赵念力,苏俊,闫秀峰,等. 化学药剂诱导玉米孤雌生殖选育自交系的研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(30): 18463-18465.
- [2] 才卓,徐国良, Tang Changming, 等. 玉米单倍体育种研究进展[J]. 玉米科学, 2008, 16(1): 1-5.
- [3] 蔡泉,曹靖生,史桂荣,等. 单倍体技术在玉米育种上的应用研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2009(4): 15-17.
- [4] 刘全林,张寿昌,张玉俊,等. 诱导玉米孤雌生殖选育自交系研究初报[J]. 玉米科学, 1998, 6(3): 7-9.
- [5] 丰嵘,蔡群峰. 药剂诱导玉米孤雌生殖研究[J]. 西南农业大学学报, 1994, 16(6): 566-568.
- [6] 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.
- [7] 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.

Research on the Parthenogenesis Inbred Line Breeding of Maize Tangsipingtou Population by Chemical-induced

WANG Jun-qiang¹, DING Xin-ying², MA Bao-xin¹, LIU Hai-yan¹, SUN Shan-wen¹, HAN Ye-hui¹, YU Yun-kai¹

(1. Qiqihar Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar, Heilongjiang 161006; 2. Heilongjiang Province Institute of Animal Science, Qiqihar, Heilongjiang 161005)

Abstract: In order to study the operationally of the pure line of maize through the chemical induced parthenogenetic method, taking six inbred lines form Tangsipingtou groups as materials, two aspects of different time and different chemicals induced were studied to explore optimum induced condition, parthenogenetic progeny of stability and combining ability were analyzed. The results showed that the best inducement time for chemical was on the third day of spike and the induction rate was 0.098%; 0.2 mg·kg⁻¹ Col induced the highest rate, induction rate was 0.192% which was 8.3 times than control (0.023%); through field phenotypic identification and selfing, a total of 112 copies of corn maize parthenogenesis were received; From relative mean value of general combining ability and special combining ability of each combination, the yield of T239 and T298 had the best general marth cooperation.

Keywords: maize; parthenogenesis; chemical recipe; combining ability

(该文作者还有许健、孙培元、周超,单位同第一作者)

欢迎刊登广告