

玉米突变自交系“原辐17”的遗传鉴定

唐秀芝 张维强

(中国农业科学院原子能利用研究所 北京)

用 γ 射线辐照玉米自交系“公70”花粉诱发突变,获得突变自交系“原辐17”。用淀粉凝胶电泳分析“原辐17”与原亲本“公70”杂交和回交后代的酯酶同工酶,并观察苗期叶鞘色泽,证明“原辐17”的酯酶同工酶和叶鞘色泽的变异是分别由一对等位基因突变的结果。用“P $\times$ Q”杂交模式测验,经方差分析证明,“原辐17”的株高、穗位、穗长、千粒重、产量以及配合力等,与原亲本“公70”的这些性状之间发生了明显变异。说明突变自交系“原辐17”在一系列基因位点上发生了变异。

关键词: 同工酶 方差 等位基因 突变

前 言

二十多年来,同工酶被广泛地应用在植物遗传研究中,在麦、豆、番茄等12个科39个属的植物中作了同工酶遗传分析。并对玉米、小麦、大麦、大豆、马铃薯等主要作物的十多种酶的同工酶作了染色体定位和连锁分析^[7,12],为各类突变种质的研究和鉴定提供了理论依据。Freeling(1978)报道了用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线诱发玉米花粉中ADH同工酶的基因突变,并进行了早代预选,获得一批各种类型的(包括染色体倍性变异)突变体^[8]。张维强等(1985)报道用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照玉米花粉,诱发ADH、E.t同工酶的突变及其分离^[1]。国际植物遗传资源委员会(IBPGR)用同工酶鉴定各类植物种质资源^[14]。Jarret(1987)指出,同工酶是鉴定芭蕉和其他种质资源的一种有效方法^[13]。

玉米突变自交系“原辐17”是本研究所玉米组用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照玉米自交系“公70”的花粉,经系统选育而成。表现比亲本“公70”早熟、抗病。本工作对“原辐17”的同工酶及其主要性状进行遗传鉴定。

材 料 与 方 法

(一)取突变自交系“原辐17”与亲本自交系“公70”正反杂交,回交测验(在温室和大田二次重复),观察幼苗叶鞘色泽等。用淀粉凝胶电泳^[1],分析单粒种子中的淀粉酶、酯酶、酸性磷酸酯酶、乙醇脱氢酶、苹果酸脱氢酶、过氧化物酶六种同工酶,并对分离代进

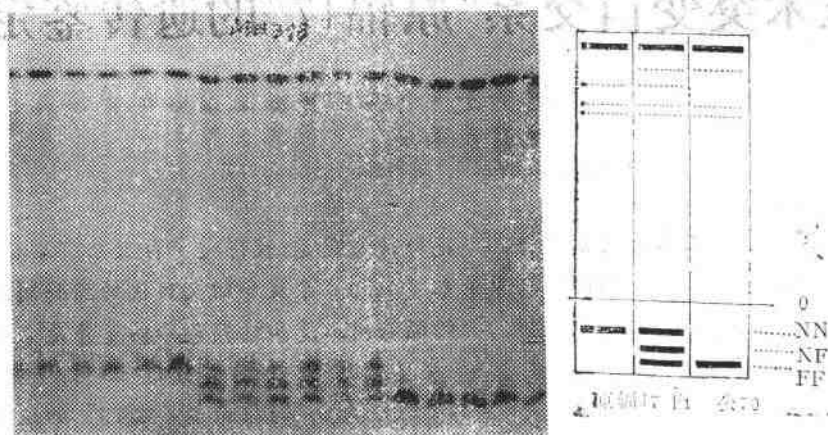


图1 原辐17×公70的酯酶同工酶谱型

Fig.1 Esterase isozyme zymograms of (Yuanfu-17 × Kon-70)

表1 酯酶同工酶的分离

Table 1 Segregation of E_1 esterase isozymes in progenies of inbreds Kon-70 and Yuanfu-17

组 台 Cross	基因型 Genotype	总数 Total	酶 谱 型 Zymograms			预期比例 Expected ratio	χ^2	P
			NN	FN	FF			
原辐17	NN/NN	51	51					
Yuanfu-17								
公70	FF/FF	51			51			
Kon-70								
原辐17×公70	NN/FF	85	20	45	20	1:2:1	0.2382	0.70—0.50
Yuanfu-17 × Kon-70								
公70×原辐17	FF/NN	85	23	42	19	1:2:1	0.4186	0.70—0.50
Kon-70 × Yuanfu-17								
(原辐17×公70)×原辐17	NF/NN	85	39	46		1:1	0.5764	0.50—0.30
(Yuanfu-17 × Kon-70)								
× Yuanfu-17								
(原辐17×公70)×公70	NF/FF	84		41	43	1:1	0.0476	0.90—0.80
(Yuanfu-17 × Kon-70)								
× Kon-70								
(公70×原辐17)×原辐17	NF/NN	85	44	41		1:1	0.1059	0.80—0.70
(Kon-70 × Yuanfu-17)								
× Yuanfu-17								
(公70×原辐17)×公70	NF/FF	84		45	39	1:1	0.4285	0.70—0.50
(Kon-70 X Yuanfu-17)								
× Kon-70								

行 χ^2 统计分析^[3]。

(二)取突变自交系“原辐17”、“171”、“177”、亲本“公70”与白交系“黄早四”、“自330”、“加32”，按“P×Q”设计方案^[2]进行杂交。共测配24个杂交组合，田间小区随机排列，三次重复，行株距60×40cm，每行12—13株，每组合75株左右，调查株高、穗位、穗长、千粒重、产量，并对其数据进行方差分析。

结果与分析

(一)同工酶分析

用淀粉凝胶电泳分析种子淀粉酶、过氧化物酶、苹果酸脱氢酶、乙醇脱氢酶、酯酶、酸性磷酸酯酶同工酶。结果发现，“原辐17”与亲本“公70”之间的酯酶、酸性磷酸酯酶、苹果酸脱氢酶、乙醇脱氢酶等均有差异。本文着重对酯酶同工酶进行遗传分析。经四年鉴定，玉米种子中酯酶同工酶是稳定的，不受外界条件影响^[1]。亲本“公70”负极酯酶同工酶显FF带，“原辐17”是NN带，杂种为NN、NF、FF带(图1)。正反杂交F₂代有NN、NN、NF、FF，

表2 玉米幼苗叶鞘色泽的分离

Table 2 Segregation of sheath colour of seedling in progenies of inbreds Kon-70 and Yuanfu-17

组 合 Cross	苗 数 No. of Seedling		预期比例 Expected ratio	χ^2	P
	绿 叶 鞘 Green sheath	紫 叶 鞘 Purple sheath			
公70 Kon-70		260			
原辐17 Yuanfu-17	202				
公70×原辐17 Kon-70 × Yuanfu-17	102	420	1:3	8.2937	>0.01
原辐17×公70 Yuanfu-17 × Kon-70	136	495	1:3	3.6984	0.05—0.02
(原辐17×公70)×原辐17 (Yuanfu-17 × Kon-70) × Yuanfu-17	249	265	1:1	0.4980	0.50—0.30
(原辐17×公70)×公70 (Yuanfu-17 × Kon-70) × Kon-70		491			
(公70×原辐17)×原辐17 (Kon-70 × Yuanfu-17) × Yuanfu-17	238	236	1:1	0.0384	0.95—0.90
(公70×原辐17)×公70 (Kon-70 × Yuanfu-17) × Kon-70		340			

表3 各性状方差分析

Table 3 Variance analysis of characters in maize

变异原因 Source of variation		株 高 Height (cm)			穗 位 Ear height (cm)			穗 长 Ear length (cm)		
品种间变异 Intervarietal variance	自由度 Degrees of freedom	平方和 Sum square	方 差 Varia- nce	F值 F value	平方和 Sum square	方 差 Varia- nce	F值 F value	平方和 Sum square	方 差 Varia- nce	F值 F value
总 Total	23	8120.0	353.0	8.0**	6387.0	278.0	9.0**	173.0	8.0	9.0**
加32 Jia-32	7	1149.0	164.0	9.0**	1035.7	148.0	17.0**	14.9	2.0	1.6
黄早四 Huangcao-4	7	2811.0	402.0	11.0**	1527.7	218.3	8.8**	20.0	3.0	21.0**
自330 Zi-330	7	3357.0	480.0	5.0**	1262.2	180.3	3.5	64.0	9.1	3.2
区组间变异 Inter-plot variance										
总 Total	8	388.8	184.4	4.6**	44.8	22.4	0.7	0.3	0.2	0.2
加32 Jia-32	2	128.8	64.4	3.4	0.04	0.02	0.0	1.8	0.9	0.7
黄早四 Huangcao-4	2	62.0	31.0	0.8	51.1	25.6	1.0	0.8	0.4	2.9
自330 Zi-330	2	247.0	120.5	1.3	334.0	167.0	3.2	0.2	0.1	0.03
机误变异 Error variance										
总 Total	46	1944.8	42.3		1429.5	31.1		39.8	0.9	
加32 Jia-32	14	267.0	19.1		122.0	8.7		18.9	1.3	
黄早四 Huangcao-4	14	517.9	37.0		348.7	25.0		1.9	0.1	
自330 Zi-330	14	1338.1	95.6		726.3	51.9		40.3	2.9	
总 交 异 Total variance										
总 Total	71	10454.0			7862.0			213.0		
加32 Jia-32	23	1544.0			1157.7			35.6		
黄早四 Huangcao-4	23	3391.0			1927.5			23.0		
自330 Zi-330	23	4936.0			2322.5			104.2		

续表3

变异原因 Source of variation	千粒重(克) 1000 Grains weight (g)			产 量 (公斤) Yield (kg)		
品种间变异 Intervarietal variance	平方和 Sum square	方 差 Variance	F值 F value	平方和 Sum square	方 差 Variance	F值 F value
总 Total	51333.0	2254.0	12.0**	1393680.0	655.0	14.0**
加32 Jia-32	1381.2	268.7	1.6	61007.8	8715.4	2.8**
黄早四 Huangcao-4	3443.6	492.0	4.8**	11380.0	15913.0	12.0**
自330 Zi-330	11350.5	1707.2	9.5**	1078602.0	154080.0	18.8**
区组间变异 Inter-plot variance						
总 Total	409.1	204.5	1.1	7833.0	3916.5	0.9
加32 Jia-32	472.8	236.4	1.4	1921.1	960.5	0.3
黄早四 Huangcao-4	119.0	559.5	5.5*	24997.0	12493.5	9.3**
自330 Zi-330	894.0	447.1	2.5	3488.1	1744.0	0.2
机误变异 Error variance						
总 Total	8468.3	184.1		200247.7	4353.2	
加32 Jia-32	2432.6	173.8		44058.9	3147.2	
黄早四 Huangcao-4	1437.0	102.6		18799.0	1342.8	
自330 Zi-330	2521.8	180.1		115029.3	8216.4	
总 变 异 Total variance						
总 Total	60710.0			1601770.0		
加32 Jia-32	4786.5			106988.0		
黄早四 Huangcao-4	5999.6			155184.0		
自330 Zi-330	15366.5			1197119.0		

注: * 差异显著

** 差异极显著

* Significant at 5% level.

** Significant at 1% level.

FF三种同工酶谱型,其比例接近1:2:1的理论值。回交后代(“原辐17”×“公70”)×“原辐17”、(“公70”×“原辐17”)×“原辐17”、(“公70”×“原辐17”)×“公70”、(“原辐17”×“公70”)×“公70”,分别出现的同工酶谱型有FN、NN₁; FN、NN₁; FN、FF; FN、FF。它们的分离比例都接近于1:1的理论值(表1)。表明突变自交系、“原辐17”NN带是辐照自交系“公70”引起的酯酶同工酶E₁位点等位基因FF带的突变。

(二) 幼苗叶鞘色泽

亲本自交系“公70”的幼苗叶鞘呈紫色,突变自交系“原辐17”的幼苗叶鞘呈绿色,正反杂交后,F₁幼苗叶鞘呈紫色。经自交和回交后,幼苗叶鞘色泽分离,有紫色叶鞘和绿色叶鞘两种。统计分析结果表明,杂交种F₂代的绿色叶鞘和紫色叶鞘苗数的比例接近1:2:1。用“原辐17”回交的绿色叶鞘苗数与紫色叶鞘苗数的比例接近1:1。用“公70”自交系回交的幼苗叶鞘全部是紫色(表2)。

说明辐照诱发叶鞘色泽的变异,是由控制叶鞘色泽的一对等位基因突变所引起的。

(三) 主要性状的遗传鉴定

取亲本自交系“公70”、突变自交系“原辐17”、“171”、“177”与自交系“加32”、“黄早四”、“自330”正反交。按“P×Q”模式设计,配成24个组合。株高、穗位、穗长、千粒重、产量五个性状的方差分析结果表明,组合间变异和总变异显著(表3)。说明

表4 一般配合力与特殊配合力的方差分析

Table 4 Analysis of variance of general and specific combining ability

变异(原因)来源 Source of variation	产 量 (正 交) Yield				产 量 (反 交) Yield			
	自由度 Degrees of freedom	平方和 Sum of square	方 差 Variance	F值 F value	自由度 Degrees of freedom	平方和 Sum of square	方 差 Variance	F值 F value
区 组 间 Inter-group	2	15501.50			2	2028.50		
F ₁ 基因型间 Inter-genotype F ₁	11	362053.00			11	103127.33		
母本一般配合力 Female general combining ability (F)	3	25453.88	8484.62	3.18	2	73946.17	36973.08	6.07
父本一般配合力 Male general combining ability (M)	2	123068.17	61534.08	23.11*	3	468873.58	152957.86	25.12*
母×父特殊配合力 (M×F) specific combining ability	6	213530.95	35588.49	13.35**	6	497451.60	82908.60	13.62**
环境误差 Environmental error	22	58612.50	2664.20		22	133938.17	6088.09	
总变异 Total Variance	35	426167.00			35	1167238.00		

注: * 差异显著 ** 差异极显著

* Significant at 5% level, ** Significant at 1% level.

亲本自交系“公70”与突变自交系“原辐17”之间,上述五个性状的遗传性有了明显差异。以产量为例,进一步估计其一般配合力与特殊配合力,并作方差分析,其结果:特殊配合力的方差极显著(表4)。说明“原辐17”与原亲本“公70”相比,株高、穗位、穗长、千粒重、产量以及配合力等主要性状均发生了明显变异。

讨 论

用同工酶鉴定各类突变种质资源是一种有效的方法。同工酶是由基因决定的,是基因表达的结果。本文证明了玉米突变自交系“原辐17”的酯酶同工酶负极酶带NN是由辐照诱发自交系“公70”在E₁位点上的一对等位基因控制的FF向NN突变所引起的。这与Y射线辐照玉米花粉诱发E₁t、ADH同工酶的等位基因突变的结论相一致^[1,6]。说明通过鉴定同工酶谱的变异来鉴别突变种质资源的遗传变异是可行的^[11-14]。但必须选择稳定性好,不受外界条件(包括栽培和地理条件等)影响的同工酶。

用Y射线辐照能诱发控制玉米叶鞘色泽的基因突变。玉米叶鞘色泽是受多基因控制的^[4]。但本文用Y射线辐照紫色叶鞘的玉米自交系“公70”,获得绿色叶鞘的突变自交系“原辐17”,与其原亲本作正反杂交和回交测验,证明玉米自交系“公70”紫色叶鞘的突变可能是由一对主效等位基因突变引起的,因此与受多基因控制的结论并不矛盾。

根据“P×Q”测交证明突变自交系“原辐17”的株高、穗位、穗长、千粒重、产量以及配合力等性状与原亲本“公70”有显著差异,说明突变自交系“原辐17”已在一系列基因位点上发生了变异,才表现为一系列形态特征的变异。表明采用各种诱变因素能诱发DNA系列上一些基因位点的变异,使mRNA、酶蛋白发生相应的变异,从而引起由一系列酶调控的代谢系统的变化,最终表现在一些特徵特性的变异。这种变异为作物改良、培育新品种提供了丰富的田间筛选的基因宝库。但仅形态鉴别是有一定局限性的,不能将一些特殊、特异的有价值的突变种质筛选或鉴定出来,需要通过现代生化技术和染色体技术,从染色体和分子水平上鉴定分析各类突变种质并阐明其变异的原因。

参 考 文 献

- (1) 张维强、唐秀芝,用⁶⁰Co γ射线辐照玉米花粉对籽粒中同工酶遗传变异的影响,《原子能农业应用》,增刊, 1985: 255—259。
- (2) 莫惠栋, P×Q交配模式的配合力分析,《江苏农学院学报》, 3(3), 1982: 51—57。
- (3) 童一中,《作物育种学常用统计分析法》,上海科技出版社, 1978: 110—134。
- (4) 《玉米遗传育种学》编写组编,《玉米遗传育种学》,科学出版社, 1979: 70—78。
- (5) Brown, A.H.D. and R.W.Allard, Further isozyme differences among the inbred parents of a reciprocal recurrent selection population of maize, *Crop.Sci.*, 9, 1969, 643—644。
- (6) Freeling, M. and D.S.K.Cheng, Radiation induced alcohol dehydrogenase mutants in maize following allyl alcohol selection of pollen, *Genet. Res. Camb.*, (31), 1978: 107—129。
- (7) Goodman, M.M. and C.W.Stueber, Genetic identification of lines and crosses using isoenzyme electrophoresis, in “Proceedings of the thirty-fifth annual corn and sorghum industry research” Loden and Dolores, Wilkinson, 35, 1980: 10—31。
- (8) Macdonald and J.L.Brewbaker, Isoenzyme polymorphism in flowering plants, *J. Heredity*, 65, 1974: 37—42。

- [9] Schwartz, D., A second hybrid enzyme in maize, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 51, 1964, 602—605.
- [10] Schwartz, D., Genetic studies on mutant enzymes in maize: Synthesis of hybrid enzymes by heterozygotes, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 46, 1960, 1210—1215.
- [11] Schwartz, D., Genetic studies on mutant enzymes in maize III. Control of gene action in synthesis of PH 7.5 esterase, *Genetics*, 47, 1962, 1609—1615.
- [12] Tanksley, S.D. and T.J. Orton, *Isozymes in plant genetics and breeding, Part B*, Amsterdam-Oxford-New York, 1983, 1—188.
- [13] Jarret, R.L., Isozymes and allelic diversity in the genus *Musa*, *FAO/IBPGR Plant genetic resources newsletter*, 70, 1987, 20—23.
- [14] Simpson, M.J.A. & L.A. Withers, *Characterization using isozyme electrophoresis: A guide to the literature*, IBPGR, Rome, 1976, 1—32.

GENETIC IDENTIFICATION FOR MUTANT INBRED MAIZE "YUANFU No.17"

Tang Xiuzhi Zhang Weiqiang

(*Institute for Application of Atomic Energy, Chinese
Academy of Agricultural Sciences, Beijing*)

ABSTRACT

The mutant inbred of corn Yuanfu No.17 and other different mutants with different characters was obtained from Kon No.70 after the pollen was irradiated by gamma ray. Its genetic variation was identified by using method of electrophoresis in starch gel and of $P \times Q$ model of cross. Experimental results showed that variation of esterase isozyme, colour of leaf sheath, were attributed to gene mutation, and estimation of combining ability showed distinguished difference between parent and mutations. The results of experiment have shown that improving varieties will be achieved through inducing gene mutation by irradiation with gamma ray, fast neutron and by treatment with chemical mutagens.

Key words: Isozyme variance allele mutant.