



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108522271 A

(43)申请公布日 2018.09.14

(21)申请号 201810222555.9

(22)申请日 2018.03.19

(71)申请人 沈阳金色谷特种玉米有限公司

地址 110866 辽宁省沈阳市沈河区东陵路
120号

申请人 沈阳农业大学

(72)发明人 史振声 孙淑凤 王宏伟 钟雪梅

王志斌 张喜华

(74)专利代理机构 沈阳科威专利代理有限责任

公司 21101

代理人 张述学

(51)Int. Cl.

A01H 1/08(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种创制玉米同源四倍体的方法

(57)摘要

本发明涉及一种创制同源四倍体玉米的方法,采用常规的染色体加倍剂和常规的处理方法处理玉米花丝,不经过授粉,通过诱导性器官中的体细胞染色体加倍,直接获得同源四倍体种子,然后进行染色体倍性的显微镜检测和同源四倍体筛选,并对结实率偏低的可再进行结实性选育,当结实率达到要求后再用同源四倍体自交系配制同源四倍体杂交种。本发明的有益效果为:方法简单易行,省掉了现有处理方法的种子发芽、幼芽低温处理、幼苗移栽的过程;提高加倍效率,避免了因染色体倍性嵌合体在体细胞向性细胞发育过程中因二倍体细胞的竞争优势使四倍体细胞被排斥掉的问题,进而提高了加倍效率;提高产量和品质,利于保证纯度。

1. 一种创制玉米同源四倍体的方法,其特征是,包括以下步骤:

(1) 配制染色体加倍处理剂

选用具有阻止细胞分裂作用的试剂,用水稀释后配成染色体加倍处理剂;

(2) 染色体加倍处理

玉米吐丝前严格套袋,当吐丝4~5天时,用纸浆糊法、切丝滴药法等方法对花丝进行施药处理,连续处理3次(即连续处理3天,每天1次),种子成熟后收获;

(3) 染色体倍性鉴定

此方法获得的种子可以采取以下方法进行染色体的倍性鉴定:

a. 种子鉴定:种子收获后播种前进行室内发芽,取根尖进行染色体镜检,淘汰二倍体种子,即获得同源四倍体;

b. 诱导1代或后代植株的鉴定:对植株的田间表型进行观察,初步筛选出具有四倍体特征的植株,并利用其花粉与二倍体玉米杂交,不能正常结实的即初步判断为同源四倍体;

c. 镜检:对初步判断为四倍体的单株和穗行进行染色体镜检,最终确认同源四倍体;

(4) 育种选择

通过育种选择提高结实率。

2. 根据权利要求1所述的一种创制玉米同源四倍体的方法,其特征是:所述具有阻止细胞分裂作用的试剂为秋水仙素、氟乐灵。

3. 根据权利要求2所述的一种创制玉米同源四倍体的方法,其特征是:所述秋水仙素的浓度为0.2%,氟乐灵的浓度为0.6%。

4. 根据权利要求1所述的一种创制玉米同源四倍体的方法,其特征是:所述采取诱导1代或后代植株的鉴定方法筛选同源四倍体,植株的田间表型为植株繁茂、籽粒较大、具有四倍体特征,与二倍体玉米杂交结实不正常的即为同源四倍体。

5. 根据权利要求1所述的一种创制玉米同源四倍体的方法,其特征是:所述的育种选择,是在同源四倍体获得后,对结实率偏低的再进行结实性选育,当结实率达到要求后再用同源四倍体自交系配制同源四倍体杂交种。

一种创制玉米同源四倍体的方法

技术领域

[0001] 本发明属于玉米育种技术领域,特别是甜糯玉米及青贮玉米的同源四倍体育种。

背景技术

[0002] 生产上的玉米品种属于二倍体植物。人们为了满足新的需求而采取染色体人工加倍的方法创造同源四倍体玉米。同源四倍体玉米与二倍体玉米相比,具有植株高大、茎叶繁茂、籽粒大、产量高的特性。因此,可将同源四倍体育种作为提高青贮玉米生物产量,作为提高甜玉米、糯玉米以及普通玉米品质和产量的育种途径。

[0003] 在国内外玉米育种研究中,同源四倍体被作为创新种质和选育四倍体玉米新品种的途径,以增加籽粒和营养体产量,提高粒重及营养价值。现有技术中采取的是利用化学诱导剂处理幼芽的方法,诱导茎生长点染色体加倍,经过生长发育进而结出同源四倍体种子。但是,该方法获得幼芽加倍的成功率较高而最终得到同源四倍体种子的机会很小。其原因是,所加倍的器官属于营养器官,加倍后的组织多属于嵌合体,其四倍体细胞往往在生长发育过程中被排斥掉,导致最终形成的往往是二倍体种子。

[0004] 现有利用二倍体玉米创制同源四倍体玉米的方法是:以秋水仙素为染色体加倍诱导剂来处理萌发后的幼芽,再经过一系列程序最后获得同源四倍体。而人们熟知的化学诱导玉米孤雌生殖技术,仅被作为加快玉米自交系选育速度的一种育种方法使用,对其中产生的非纯合种子均被看作是花粉污染的籽粒而被淘汰。

[0005] 现有的创制同源四倍体的方法存在以下缺陷:

1. 处理方法复杂

该方法基本分四个步骤。第一步,将种子进行发芽;第二步,幼芽及幼根伸长至一定长度时用染色体加倍处理剂进行加倍处理,即将发芽的种子放在一定浓度的秋水仙素水溶液中,在低温条件下发芽培养,当幼芽生长点及新生根尖明显变粗并长到一定长度时取出;第三步,挑选出生长点和根部明显变粗的,具有加倍特征的幼苗移栽到田间;第四步,对加倍的植株或种子进行染色体倍性鉴定。

[0006] 2. 成功率较低

该方法加倍的是幼苗的茎尖,属于营养器官,加倍后形成的植株往往是嵌合体。因此,在继续生长发育过程中由于二倍体细胞的竞争优势而容易出现四倍体细胞被排斥的现象,特别是进入到生殖生长阶段时其性细胞成为二倍体的几率较大,因而形成四倍体种子的概率较低。

[0007] 研究表明利用一些化学试剂可以使细胞染色体加倍从而诱发玉米孤雌生殖的原理,即用诱导剂处理花丝使其不经过授粉过程而结籽,化学药剂诱导玉米孤雌生殖不仅能引起性细胞染色体加倍形成种子,同样也存在刺激二倍体的体细胞组织通过无融合途径形成种子的机会。这些由性器官中的二倍体体细胞组织如珠心细胞、珠被细胞、孢原组织、造孢组织等产生的种子,有的经过染色体加倍而有的未经过染色体加倍,其中经过加倍的即是我们所要的同源四倍体,而以往的化学诱导玉米孤雌生殖快速选育玉米自交系技术中,

这种除了通过性细胞染色体加倍途径产生的纯合种子以外的,均被视为花粉污染的籽粒被淘汰。

[0008] 本申请要解决的技术问题是,通过直接诱导性器官组织的二倍体体细胞染色体加倍从而获得同源四倍体,解决现有的诱导体细胞染色体加倍技术所产生的倍性嵌合体而导致的成功率低的问题,并显著地简化育种程序,降低选育成本。

发明内容

[0009] 为了弥补上述现有技术的不足,本发明提出一种创制玉米同源四倍体的方法,通过直接诱导性器官组织的二倍体体细胞染色体加倍从而获得同源四倍体,解决现有技术中对幼芽茎生长点加倍,即由营养体的细胞染色体加倍所导致的倍性嵌合体而造成的成功率低问题,并显著地简化育种程序,降低选育成本。

[0010] 本发明采用的技术方案如下:一种创制玉米同源四倍体的方法,包括以下步骤:

1. 配制染色体加倍处理剂

选用具有阻止细胞分裂作用的试剂,用水稀释后配成染色体加倍处理剂。

[0011] 2. 染色体加倍处理

玉米吐丝前严格套袋,当吐丝4~5天时,用纸浆糊法、切丝滴药法等方法对花丝进行施药处理,连续处理3次(即连续处理3天,每天1次),种子成熟后收获。

[0012] 3. 染色体倍性鉴定

此方法获得的种子采取以下方法进行染色体的倍性鉴定:

(1) 种子鉴定:种子收获后播种前进行室内发芽,取根尖进行染色体镜检,淘汰二倍体种子,即获得同源四倍体;

(2) 诱导1代或后代植株的鉴定:对植株的田间表型进行观察,初步筛选出具有四倍体特征的植株,并利用其花粉与二倍体玉米杂交,不能正常结实的即初步判断为同源四倍体;

(3) 镜检:对初步判断为四倍体的单株和穗行进行染色体镜检,最终确认同源四倍体。

[0013] 4. 结实率的育种选择

通过育种选择提高结实率。

[0014] 作为优化方案,所述具有阻止细胞分裂作用的试剂为秋水仙素、氟乐灵。

[0015] 作为优化方案,所述秋水仙素的浓度为0.2%,氟乐灵的浓度为0.6%。

[0016] 本发明的有益效果如下:

(1) 方法简单易行

利用染色体加倍处理剂处理花丝,获得种子后经倍性鉴定即得到同源四倍体。免去了现有处理方法的种子发芽、幼芽低温培养加倍、幼苗移栽的过程;

(2) 提高加倍效率

该方法将现有方法的对营养器官染色体加倍改为对生殖器官染色体加倍,直接获得同源四倍体种子,避免了由于营养器官染色体加倍方法形成的倍性嵌合体,在体细胞向性细胞发育过程中因二倍体细胞竞争优势使四倍体细胞被排斥掉的问题,显著提高了加倍的成功率;

(3) 提高品质

由于同源四倍体玉米在籽粒体积、粒重、营养含量等方面比二倍体有明显增加,因此可

提高鲜食玉米的加工品质、营养品质和商业品质,对降低皮渣率、改善适口性等方面也有明显效果,在普通玉米方面,增加籽粒体积不仅可以提高营养物质含量还可显著提高出米率和出粉率;

(4) 增加产量

由于同源四倍体籽粒体积和粒重的增加,因而导致产量的增加;

(5) 有利于提高纯度

由于同源四倍体与二倍体之间杂交结实率较低,因此具有一定的遗传隔离作用。在甜玉米、糯玉米等受隐性基因控制的品种中,同源四倍体制种田、生产田与其他玉米的空间隔离可以大幅度缩短,因而利于保证种子和商品玉米的纯度。

具体实施方式

[0017] 本发明创制同源四倍体玉米的方法采用常规的染色体加倍剂和常规的处理方法处理玉米花丝,不经过授粉,通过诱导性器官中的体细胞染色体加倍,直接获得同源四倍体种子,解决现有技术中对幼芽茎生长点加倍,即由营养体的细胞染色体加倍所导致的倍性嵌合体而造成的成功率低问题。

[0018] 具体步骤包括如下:

1. 配制染色体加倍处理剂

选用具有阻止细胞分裂作用的试剂,用水稀释后配成染色体加倍处理剂。作为优化方案,所述具有阻止细胞分裂作用的试剂为秋水仙素、氟乐灵,秋水仙素的浓度为0.2%,氟乐灵的浓度为0.6%。

[0019] 2. 染色体加倍处理

玉米吐丝前严格套袋,当吐丝4~5天时,用纸浆糊法、切丝滴药法等方法对花丝进行施药处理,连续处理3次(即连续处理3天,每天1次),种子成熟后收获。

[0020] 3. 染色体倍性鉴定

由于该方法产生种子有多种途径,其种子有的是二倍体,有的是四倍体。因此,需要进行染色体倍性的显微镜检测和同源四倍体筛选;

此方法获得的种子可以采取不同方法进行染色体的倍性鉴定:

(1) 种子鉴定:种子收获后播种前进行室内发芽,取根尖进行染色体镜检,淘汰二倍体种子,即获得同源四倍体;

(2) 诱导1代或后代植株的鉴定:即采取表型鉴定与杂交结实性检验相结合的方法筛选同源四倍体。对植株的田间表型进行观察,初步筛选出植株繁茂、籽粒较大、具有四倍体特征的植株,并利用其花粉与二倍体玉米杂交,不能正常结实的即初步判断为同源四倍体;

(3) 镜检:对初步判断为四倍体的单株和穗行进行染色体镜检,最终确认同源四倍体。

[0021] 4. 结实率的育种选择

通过育种选择提高结实率:与二倍体相比,同源四倍体的结实率有降低现象发生。但研究表明,通过育种选择可使结实率提高,因此可通过育种手段加以解决,同源四倍体获得后,对结实率偏低的可再进行结实性选育,当结实率达到要求后再用同源四倍体自交系配制同源四倍体杂交种。

[0022] 实施例1:沈甜6号同源四倍体的创制

(1) 双亲自交系的同源四倍体创制

种植母本自交系沈甜135,吐丝第4天,用0.2%的秋水仙素水溶液,采取纸浆糊法进行化学诱导染色体加倍,通过对单株、穗行的田间鉴定和染色体观察,获得同源四倍体。经过进一步的结实率选育,选育成同源四倍体甜玉米自交系;利用同样方法将沈甜6号的父本自交系沈甜H154选育成同源四倍体甜玉米自交系。

[0023] (2) 沈甜6号同源四倍体杂交种的配制

以同源四倍体沈甜135为母本,以同源四倍体沈甜H154为父本制种,制成同源四倍体甜玉米沈甜6号杂交种的种子。

[0024] (3) 技术效果

用同源四倍体自交系配制的同源四倍体杂交种与二倍体沈甜6号相比,具有颗粒增大、皮渣率降低、产量增加、营养含量提高、口感更好的技术效果。

[0025] 由于同源四倍体与二倍体杂交结实率低,因此,制种田和生产田可大幅度降低与非甜玉米的杂交率,可有效缩短隔离距离和保证纯度。

[0026] 实施例2:沈糯7号同源四倍体的创制

(1) 双亲自交系的同源四倍体创制

种植母本自交系沈糯509,吐丝第4天,用0.6%的48%含量的氟乐灵水溶液,采取滴药法进行化学诱导染色体加倍,通过对单株、穗行的田间鉴定和染色体观察,获得同源四倍体。经过进一步的结实率选育,选育成同源四倍体糯玉米自交系;利用同样方法将沈糯7号的父本自交系沈糯350选育成同源四倍体糯玉米自交系。

[0027] (2) 沈糯7号同源四倍体杂交种的配制

以同源四倍体沈糯509为母本,以同源四倍体沈糯350为父本制种,制成同源四倍体糯玉米杂交种沈糯7号的种子。

[0028] (3) 技术效果

同源四倍体沈糯7号与二倍体沈糯7号相比,产量增加、颗粒增大、皮渣率降低,口感更好。

[0029] 由于同源四倍体与二倍体杂交结实率低,因此,在制种及生产中可大幅度降低与非糯玉米的杂交率,可有效缩短隔离距离和保证纯度。

[0030] 实施例3:郑单958同源四倍体的创制

(1) 双亲自交系的同源四倍体创制

种植母本自交系郑58,吐丝第4天,用0.6%的48%含量的氟乐灵水溶液,采取滴药法进行化学诱导染色体加倍,通过对单株、穗行的田间鉴定和染色体观察,获得同源四倍体。经过进一步的结实率选育,育成同源四倍体自交系;利用同样方法将郑单958的父本自交系昌7-2选育成同源四倍体自交系。

[0031] (2) 郑单958同源四倍体杂交种的配制

以同源四倍体郑58为母本,以同源四倍体昌7-2为父本制种,制成同源四倍体玉米杂交种郑单958的种子。

[0032] (3) 技术效果

同源四倍体郑单958与二倍体郑单958相比,产量增加、颗粒增大,出米(粉)率提高;制种田较二倍体玉米可有效缩短隔离区的距离和保证纯度。