



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103548674 B

(45) 授权公告日 2016. 01. 06

(21) 申请号 201310566537. X

(22) 申请日 2013. 11. 14

(73) 专利权人 四川农业大学

地址 611130 四川省成都市温江区惠民路
211 号

(72) 发明人 唐祈林 荣廷昭 李华雄 郑名敏
程明军 苏月贵 周树峰 吴元奇
曹墨菊 蒋伟

(74) 专利代理机构 北京修典盛世知识产权代
理事务所(特殊普通合伙)
11424

代理人 胡长远

(51) Int. Cl.

A01H 1/02(2006. 01)

A01H 1/04(2006. 01)

A01G 1/00(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 87103485 A, 1988. 01. 13,

CN 1926962 A, 2007. 03. 14,

CN 101843215 A, 2010. 09. 29,

CN 1926963 A, 2007. 03. 14,

CN 101843215 A, 2010. 09. 29,

CN 103355080 A, 2013. 10. 23,

CN 103355159 A, 2013. 10. 23,

苏月贵. “玉米、摩擦禾、四倍体多年生类玉
米三元杂种的分子细胞遗传学研究”. 《中国优秀
硕士学位论文全文数据库农业科技辑》. 2010,

李志龙. “玉米—摩擦禾—四倍体多年生
类玉米三元杂种及玉米—摩擦禾附加系遗传分
析”. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库农业科技
辑》. 2012,

审查员 杜玉娟

权利要求书1页 说明书7页 附图4页

(54) 发明名称

利用玉米异源多倍体培育非整倍体多年生饲
草品种的方法

(57) 摘要

本发明公开了利用玉米异源多倍体培育非
整倍体多年生饲草品种的方法,属于玉米远缘杂
交领域。本发明以四川农业大学育成的 MTF-1
(Tripsazea creammaizeT. 2n=76) 为母本,以大
刍草为父本杂交,然后对杂交后代从多年生、越冬
性、分蘖数以及染色体数和染色体构成进行选择,
选出多年生的异源非整倍体饲草品种。本发明方
法将异源非整倍体作为饲草品种应用,创造性地
拓宽了玉米近缘属种的应用范围,为玉米近缘属
种材料利用开辟了一个新的途径;其次,利用本
发明方法育成的材料作为桥梁材料具有极大的利
用价值;此外,本发明可通过无性繁殖方式固定
杂种优势,且多年生,生产成本很低,但是产量和
营养价值高,经济效益大。

1. 利用玉米异源多倍体培育非整倍体多年生饲草品种的方法,其特征在于包括如下步骤:

(1)、在初春,当地温升至10℃以上时,对MTF-1(*Tripsazea creamaize* T.)进行分蘖、扦插或其他无性繁殖方式获得种苗,按株行距为2m×2m进行单株种植;同时,按照株行距为2m×2m种植大刍草;

(2)、在吐丝散粉期,以MTF-1为母本、以大刍草为父本进行杂交,成熟时收获杂交种子;其中所述杂交的授粉方式是人工套袋授粉或者开放授粉;

(3)、将步骤(2)所得的杂交种子种植在人工气候室的营养钵中,在温度为28℃、湿度为70%的条件下进行催芽,待幼苗生长至3叶1心时,按照株行距为2m×2m在大田进行单株种植;选择茎秆直立、分蘖数为10~200个、每茎叶片数为20~35片、无病害、抗寒能力强,且能在最低温-4℃安全越冬具有多年生特性的植株;

(4)、对步骤(3)所选的能安全越冬的植株的根尖进行染色体数鉴定,每株鉴定30~50个细胞,当所观察的80%以上的细胞为同一染色体数时,即确定为该植株的染色体数,选择细胞染色体数为53~95条的植株;然后采用基因组原位杂交和荧光原位杂交对所选植株的染色体构成进行鉴定,选择摩擦禾染色体数目13~35条的非整倍体植株;

(5)、对步骤(4)所选的植株采用分蘖繁殖、扦插繁殖或其他无性繁殖方式获得种苗,以四倍体多年生类玉米(*Zea perennis*)为对照连续进行两年品比实验;其中第2年品比试验所用的材料是在第1年刈割收获后当年再生,第2年在再生的基础上继续分蘖生长而来的;选择为株高≥250cm、分蘖数≥10个、叶片数≥20、越冬率≥90%、蛋白质含量≥8.5%、中性洗涤纤维≤60%、酸性洗涤纤维≤40%且鲜草产量高于对照15%以上的品系,即为新育成的异源非整倍体多年生饲草品种。

2. 按照权利要求1所述的方法,其特征在于其步骤(1)中所述的大刍草是指四倍体多年生类玉米(*Zea perennis*)、繁茂玉米种(*Zealuxurians*)或二倍体多年生类玉米(*Zea diploperennis*)之一种。

3. 按照权利要求2所述的方法,其特征在于所述的四倍体多年生类玉米是四倍体多年生类玉米9475。

4. 按照权利要求1所述的方法,其特征在于其步骤(2)中所述的杂交,当授粉方式采用套袋授粉时,在吐丝前在MTF-1雌穗上套牛皮纸袋,在吐丝后剪短花丝至1-3cm;用大刍草花粉给MTF-1雌穗授粉;第1次授粉后第2天重复授粉1次,再套上牛皮纸袋。

5. 按照权利要求1所述的方法,其特征在于其步骤(2)中所述的杂交,当授粉方式采用开放授粉方式时,需要在MTF-1种苗周围2.0~4.0米范围内种植大刍草,吐丝散粉期任大刍草的花粉对MTF-1雌穗进行开放授粉。

6. 按照权利要求1所述的方法,其特征在于其步骤(1)或(5)中所述的扦插繁殖是指以植株茎秆作为扦插枝条进行无性繁殖的方法。

7. 按照权利要求1所述的方法,其特征在于其步骤(1)或(5)中所述的分蘖繁殖是指以植株基部的分蘖为种苗进行无性繁殖的方法。

8. 按照权利要求1所述的方法,其特征在于其步骤(1)或(5)中所述的其他无性繁殖方式是指以植株茎、叶、胚等具有细胞全能性的组织进行组织培养繁殖的方法。

利用玉米异源多倍体培育非整倍体多年生饲草品种的方法

技术领域

[0001] 本发明属于玉米远缘杂交育种领域,具体涉及利用玉米异源多倍体培育非整倍体多年生饲草品种的方法。

背景技术

[0002] 大刍草与栽培玉米是同一属中不同亚属或同一种中的不同亚种。在玉蜀黍属(Genus Zea)中,除了栽培玉米亚种(ssp. mays)外的其余7个种或亚种统称为“大刍草”(Teosintes)。在玉米近缘植物中,大刍草与玉米的亲缘关系最近,与玉米杂交能够获得有育性的后代。不同类型的大刍草生活在不同的生态环境中,具有独特的特性,是扩宽玉米种质资源最直接的外缘基因库。大刍草中,四倍体多年生大刍草(亦称四倍体多年生类玉米)(Zea Perennis, 2n=40)、二倍体多年生大刍草(Zea diploperennis, 2n=20)、繁茂玉米(Zealuxurians, 2n=20)等近缘种具有多年生、分蘖力强、营养体繁茂等特点,是培育禾本科饲草的种质资源。

[0003] 四倍体多年生大刍草(Zea Perennis)是大刍草中唯一一个染色体数为40(2n=40)的多年生大刍草,可忍耐重霜冻,在寒冷、潮湿等不利条件下生存多年,具有发达的根状茎,形似竹鞭的根状茎始终保持着分生能力,地上部已开花结实,甚至完成一个生命周期,地下根茎仍不断生成分蘖,单株分蘖数十个,多者可达数百个(李冬郁等. 玉米科学. 2001. 9(2):11-13),具有作为多年生饲草的潜质。但是,由于四倍体多年生大刍草茎秆易倒伏,根状茎具有扩张性、侵略性,且种子成熟后自然脱落、四周扩散,易造成生物入侵,限制其直接作为多年生饲草的利用。四川农业大学利用四倍体多年生大刍草染色体的玉米代换系(2n=20)与四倍体多年生大刍草(2n=40)杂交选育出了具有产量及营养价值高、分蘖力强、多年生、再生性和适应性强等特点的饲草玉米(2n=30)(任勇等. 作物学报. 2007(08):1360-1365;陈柔屹等. Agricultural Science & Technology. 2008(5):74-77)。

[0004] 指状摩擦禾(又称鸭茅状摩擦禾, *Tripsacum dactyloides* L., 2n=72)属于摩擦禾属(*Tripsacum* L.),是一种暖季多年生的丛生牧草。由于其根系发达、生长繁茂、多年生、生育周期长、持绿期长、适口性良好,在美洲常作为一种优质牧草(Eubanks等. Maize Genetics Cooperation Newsletter. 1993. 67:41)。此外,由于再生能力强、适应性广,能在酸性、盐碱性及潮湿的土壤及环境条件下生长,摩擦禾又可作为一种优良的土壤改良及水土保持植物(Jack R等. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1977. 74(8):3494-3497)。然而,由于其天然种质稀少、结实率低、易脱粒、质量差、种子休眠性等问题使种苗生产不足,极大地影响了摩擦禾的推广利用。指状摩擦禾具有无融合生殖特性。二倍体摩擦禾为有性生殖,多倍体为兼性无融合生殖,主要是二倍体孢子生殖的形式,即胚珠内的孢原或大孢子母细胞减数分裂受阻后经正常有丝分裂形成未减数胚囊,而后直接发育形成胚,再经假受精形成胚乳,最终发育成种子(Kindiger等. Crop science. 1996. 36(2):250-255)。这种兼性无融合生殖的特性除产生母性后代外,还有少数

的(1-6%)有性杂交后代,且部分有性后代仍可进行无融合生殖(Grimanelli等.Apomixis News1. 1995. 8:35-37),这就为摩擦禾牧草品种改良以及将其优良特性转移入栽培玉米的实现提供了可能(Petrov.Proc.Acad.Sci.,Russia.1957.112(5):954-957)。

[0005] 在玉蜀黍族(ZeaL.)中,摩擦禾属与玉蜀黍属的亲缘关系最近。玉米($n=10$)与摩擦禾染色体基数($n=18$)不同,杂交不亲合,杂交极难成功。Mangelsdorf等将玉米与摩擦禾的混合花粉授于剪短花丝的玉米雌穗上,通过胚拯救技术,首次成功获得玉米与摩擦禾的杂种 F_1 (Mangelsdorf等.Journal of Heredity.1931.22(11):329-343)。玉米-摩擦禾杂种 F_1 代抗玉米根螟虫(Branson.J.Econ.Entomol.1972.65:195-196),对NaCl胁迫的抗性及抗寒性表现出超亲优势(García等.Maize Genetics Cooperation Newsletter.2000(74):41-42;Pesqueira等.Spanish Journal of Agricultural Research.2003.1(2):59-63;Jatimlansky等.Biologia Plantarum.2004.48(4):561-567),杂种后代籽粒含有很高的赖氨酸、蛋氨酸和多聚不饱和脂肪酸,其植株茎叶组织中蛋白质含量高,且动物的纤维消化率也较高,因此以它们用做食用和饲用作物品种选育的种质材料无疑具有很大的优势(Sokolov,et al.,2005)。但无论是玉米与摩擦禾的杂种 F_1 、还是杂种 F_1 随后的回交、自交等各类型材料都是一年生或弱多年生,制约了摩擦禾在多年生饲草中的直接利用。

[0006] 有关玉米、大刍草和摩擦禾三物种的三元杂交文献报道较少。Garcia等用四倍体玉米($2n=40$)和指状摩擦禾(*Tripsacum dactyloides*, $2n=72$)杂交获得杂种 F_1 ($2n=56$),然后分别用玉米、二倍体多年生大刍草(*Zea diploperennis*, $2n=20$)、四倍体多年生大刍草(*Zea Perennis*, $2n=40$)花粉与其杂交,经检测,杂交获得的后代是由无融合生殖特性而获得的自身杂种,植株染色体数仍为56条,玉米、大刍草和摩擦禾三物种的远缘杂交未获成功(Garcia,et al.,2000)。Eubanks(1993)报道,用二倍体多年生大刍草与摩擦禾杂交可获得杂种 F_1 ,获得的杂种 F_1 染色体数 $2n=20$,植株可育,再用玉米花粉与杂种 F_1 杂交,获得了摩擦禾、二倍体多年生大刍草和玉米的三物种杂交材料,通过该材料选育出了具有摩擦禾优良性状的玉米自交系(Eubanks,1995,1998),并申请了多项专利进行其杂交方法与材料的保护。但是,该研究成果一经报道,立即引起9位世界著名玉米遗传与进化研究学者质疑(Bennetzen等.Latin American Antiquity.2001:84-86)。

[0007] 2006年,四川农业大学从北京市农林科学院赵茂林研究员处引进源于美国的Dr.kingder的四倍体玉米(玉米加倍)与指状摩擦禾(冰淇淋草)的杂种 F_1 ($2n=56$)植株,2006年秋天用四倍体多年生类玉米种与之杂交获得三元杂种,得到的三元杂种中一株具有生长旺盛、分蘖能力强、多年生的三元杂种,命名为MTF-1。MTF-1的染色体数目为76,是一个含有玉米、四倍体多年生玉米和摩擦禾全套基因组的异源六倍体;MTF-1不仅克服了摩擦禾结实率、种子发芽率低和四倍体多年生玉米茎秆纤细易倒伏的缺点,同时还保留了多年生、分蘖多、营养生长期长等野生特性,植株生长势及生物产量上表现了强大的杂种优势(苏月贵.四川农业大学硕士论文,2009.)。但该三元种再生能力相对较弱,在越冬时当气温低于 -4°C 时易死亡,影响第二年的再生性,不利于用其直接用作多年生饲草饲用。因此,必须经遗传改良提高抗冷害能力和再生能力才能在实际生产中推广应用。

[0008] 从上述可以看出,无论是玉米、四倍体多年生大刍草还是指状摩擦禾,作为优良饲草利用均有各自的缺点,如玉米为一年生;四倍体多年生大刍草易倒伏,根状茎具有侵略性,种子易脱落;指状摩擦禾结实率低、休眠、种子发芽率低、草品质适口性差;严重制约了

玉米、大刍草和摩擦禾直接作为饲草推广使用。如果以三元种 MTF-1 为桥梁材料,再利用现实中的能聚合玉米、摩擦禾、四倍体多年生类玉米优良特性于一体的多年生饲草选育途径,需要找到解决制约大刍草和摩擦禾用于多年生饲草选育中的瓶颈问题。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于提供利用玉米异源多倍体培育非整倍体多年生饲草品种的方法。

[0010] 为达到上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0011] 本发明利用玉米异源多倍体培育非整倍体多年生饲草品种的方法,包括如下步骤:

[0012] (1)、在初春,当地温升至 10℃ 以上时,对 MTF-1 (*Tripsazea creammaize*T. $2n=76$; 苏月贵,四川农业大学硕士论文,2009) 进行分蘖、扦插或其他无性繁殖方式获得种苗,按株行距为 $2m \times 2m$ 进行单株种植;同时,按照株行距为 $2m \times 2m$ 种植大刍草;

[0013] (2)、在吐丝散粉期,以 MTF-1 为母本、以大刍草为父本进行杂交,成熟时收获杂交种子;其中所述杂交的授粉方式是人工套袋授粉或者开放授粉;

[0014] (3)、将步骤(2)所得的杂交种子种植在人工气候室的营养钵中,在温度为 28℃、湿度为 70% 的条件下进行催芽,待幼苗生长至 3 叶 1 心时,按照株行距为 $2m \times 2m$ 在大田进行单株种植;选择茎秆直立、分蘖数为 10 ~ 200 个、每茎叶片数为 20 ~ 35 片、无病害、抗寒能力强,且能安全越冬(最低温 -4℃) 具有多年生特性的植株;

[0015] (4)、对步骤(3)所选的能安全越冬的植株的根尖进行染色体数鉴定,每株鉴定 30 ~ 50 个细胞,当所观察的 80% 以上的细胞为同一染色体数时,即确定为该植株的染色体数,选择细胞染色体数为 53 ~ 95 条的植株;然后采用基因组原位杂交 (GISH) 和 荧光原位杂交 (FISH) (Han F 等, *Genome*2003(46):490-495; J. C. Lamb 等, *Genetics*, 2006(173):1007-1021.) 对所选植株的染色体构成进行鉴定,选择摩擦禾染色体数目 13 ~ 35 条的非整倍体植株;

[0016] (5)、对步骤(4)所选的植株采用分蘖繁殖、扦插繁殖或其他无性繁殖方式获得种苗,以四倍体多年生类玉米 (*Zea perennis*, $2n=40$) 为对照连续进行两年品比实验;其中第 2 年品比试验所用的材料是在第 1 年刈割收获后当年再生,第 2 年在再生的基础上继续分蘖生长而来的;选择为株高 $\geq 250cm$ 、分蘖数 ≥ 10 个、叶片数 ≥ 20 、越冬率 $\geq 90\%$ 、蛋白质含量 $\geq 8.5\%$ 、中性洗涤纤维 $\leq 60\%$ 、酸性洗涤纤维 $\leq 40\%$ 且鲜草产量高于对照 15% 以上的品系,即为新育成的异源非整倍体多年生饲草品种。

[0017] 上述方法步骤(1)中所述的玉米异源六倍体 MTF-1 (苏月贵,四川农业大学硕士论文,2009) 是四川农业大学以引自美国的四倍体玉米 (*Zea mays* L. $4n=40$) 和四倍体鸭茅状摩擦禾(或称指状摩擦禾, *Tripsacum dactyloides* L., $2n=72$) 之间的属间杂种 F_1 为母本,以四倍体多年生类玉米 (*Zea perennis*, $2n=40$) 为父本杂交育成的玉米异源六倍体;MTF-1 的染色体数为 76,是一个包含全套玉米染色体组(20 条)、鸭茅状摩擦禾染色体组(36 条)和四倍体多年生类玉米染色体组(20 条)的属间杂种,是一个自然界不存在的新物种,四川农业大学将新育成的玉米异源六倍体 MTF-1 分类命名为玉黍禾属玉淇淋草种,将其拉丁文分类名称命名为 *Tripsazea creammaize*T. 其中 T 为 MTF-1 的育种人及分类人唐祈林的简称。

[0018] 玉米异源六倍体 MTF-1 (*Tripsazeacreammaize*T.) 为多年生, 无性繁殖, 植株茁壮, 直立丛生, 根系发达; 抽雄时期平均株高为 310cm, 抽雄期后株高最高可达 335cm, 主茎粗 9.8-12.9mm, 抽雄期单株分蘖达 50-60 个, 分蘖与主茎茎粗差异不明显, 且整个生命周期中不断生成新的根分蘖; 叶片深绿细长, 叶长 61-81cm, 叶宽 5.1-5.9cm, 单个茎秆叶片数为 20-23 片; 主茎顶端雄花属圆锥花序, 花序长 27-30cm, 花粉高度不育, 茎秆节点上着生 5-7 个分枝, 分枝顶端为穗状花序的雌花, 9-18 个小穗在穗轴上呈双行或四行对生排列。植株雄穗、叶鞘和苞叶均为深紫色。MTF-1 杂交可获得少量种子, 种子颖壳坚硬, 呈褐色或灰褐色。植株抗寒抗涝能力强, 在 0-5 及长期水淹条件下仍能持续长出新分蘖。

[0019] MTF-1 主要通过分兜繁殖、茎秆扦插或其他无性繁殖方式等无性繁殖方法进行繁殖。公众可从四川农业大学获得 MTF-1 (*Tripsazeacreammaize*T. 2n=76) 生物材料。

[0020] 上述方法步骤(1)中所述的大刍草是指四倍体多年生类玉米 (*Zea perennis*, 2n=40)、繁茂玉米种 (*Zea luxurians*, 2n=20)、二倍体多年生类玉米 (*Zea diploperennis*, 2n=20)、尼加拉瓜玉米种 (2n=20); 墨西哥玉米亚种 (*ssp. mexicana*, 2n=20)、小颖玉米亚种 (*ssp. parviglumis*, 2n=20) 和韦韦特南戈亚种 (*ssp. huehuetenangensis*, 2n=20) 中之一。上述这些大刍草均可从墨西哥小麦玉米改良中心免费获得。

[0021] 所述的四倍体多年生类玉米可以是四倍体多年生类玉米 9475 (*Zea perennis*9475), 简称 9475, 可从墨西哥小麦玉米改良中心免费获得。

[0022] 上述方法步骤(2)中所述的杂交, 当授粉方式采用套袋授粉时, 在吐丝前在 MTF-1 雌穗上套牛皮纸袋, 在吐丝后剪短花丝至 1-3cm; 用大刍草花粉给 MTF-1 雌穗授粉; 第 1 次授粉后第 2 天重复授粉 1 次, 再套上牛皮纸袋。

[0023] 上述方法步骤(2)中所述的杂交, 当授粉方式采用开放授粉方式时, 需要在 MTF-1 种苗周围 2.0 ~ 4.0 米范围内种植大刍草, 吐丝散粉期任大刍草的花粉对 MTF-1 雌穗进行开放授粉。

[0024] 上述方法步骤(1)或(5)中所述的扦插繁殖是指以植株茎秆作为扦插枝条进行无性繁殖的方法。

[0025] 上述方法步骤(1)或(5)中所述的分兜繁殖是指以植株基部的分蘖为种苗进行无性繁殖的方法。

[0026] 上述方法步骤(1)或(5)中所述的其他无性繁殖方式是指以植株茎、叶、胚等具有细胞全能性的组织进行组织培养繁殖的方法。

[0027] 上述方法步骤(5)中所述的品比试验的试验设计为 3 个重复, 每个小区 10m², 按株行距为 1m×1m 的距离进行双株种植。

[0028] 本发明具有的优点和有益效果:(1)、本发明方法克服了玉米及其近缘属间远缘杂交的困难, 为在生产中利用玉米近缘属种提供了一种新的途径, 培育了自然界不存在的新物种。(2)、本发明为具有生殖障碍的多倍体的育种提供了一种新的育种模式, 即利用无融合生殖特性创建异源多倍体, 以其作为桥梁材料, 再进行多倍体的育种或改良。(3)、本发明方法创建了利用异源非整倍体的多年生饲草品种模式, 开拓性地扩大了玉米近缘野生种的应用范围。(4)、本发明方法培育的异源非整倍体饲草新品系, 通过无性繁殖方式固定杂种优势, 因此不必年年制种, 节约生产成本, 此外, 还不存在品种退化的问题。(5) 本发明方法综合利用了玉米的抗倒伏性, 摩擦禾的无融合生殖特性、抗逆性, 以及四倍体多年生类玉

米的无性繁殖特性、多分蘖性、优质性,在世界上首次培育成了多年生、产量高、抗逆性好、越冬性强的饲草品种。

附图说明

[0029] 图 1、玉米异源六倍体 MTF-1 照片。

[0030] 图 2、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 1-7 田间照片。

[0031] 图 3、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 1-7 染色体 GISH+FISH 结果显微照片,其中箭头所指为摩擦禾染色体。

[0032] 图 4、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 2-11 植株田间照片。

[0033] 图 5、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 2-11 染色体 GISH+FISH 结果显微照片,其中箭头所指为摩擦禾染色体。

[0034] 图 6、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 2-16 植株田间照片。

[0035] 图 7、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 2-16 染色体 GISH+FISH 结果显微照片,其中箭头所指为摩擦禾染色体。

[0036] 图 8、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 58 植株田间照片。

[0037] 图 9、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 58 染色体 GISH+FISH 结果显微照片,其中箭头所指为摩擦禾染色体。

[0038] 图 10、异源非整倍体饲草品系玉淇淋 58 分蘖繁殖种苗照片。

具体实施方式

[0039] 实施例 1:利用玉米异源多倍体培育非整倍体多年生饲草品种

[0040] 按照如下步骤进行:

[0041] (1)、2007 年春季,在四川农业大学雅安校区多营农场,在地温升至 10℃ 以上时,将 MTF-1(TripsazeacreammaizeT, 2n=76;苏月贵,四川农业大学硕士学位论文,2009。公众可从四川农业大学获得)(见图 1)进行分蘖繁殖,并将获得的种苗种至田间,同时,在 MTF-1 四周 2-4 米范围内种植四倍体多年生类玉米 9475(*Zea perennis*9475, 2n=40, 简称为 9475, 公众可从墨西哥小麦玉米改良中心免费获得),

[0042] (2)、在吐丝散粉期,任四倍体多年生类玉米花粉对 MTF-1 雌穗(不套袋)进行开放授粉,成熟后收获得杂交代果穗,脱粒保存于 -20℃ 的冰箱。

[0043] (3)、2008 年春天,于四川农业大学雅安校区抽取 100 粒杂交后代种子,在人工气候室的营养钵中,在温度为 28℃、湿度为 70% 的条件下进行催芽,当幼苗长至 3 叶 1 心时,在四川农业大学多营农场按株行距为 2m×2m 进行单株种植;2009-2011 年,在发芽的 98 个个体中,有 62 个个体能连续在雅安四川农业大学多营农场、成都市温江区公平镇等试验地多年生长,选择其中表现为茎秆直立、分蘖数 10-200、叶片数 25-35、无病害、抗寒能力强,且能安全越冬(最低温 -4℃)具有多年生特性的植株共 45 个。

[0044] 表 1、本试验所选饲草品系染色体数目及染色体组成鉴定结果

材料编号	总染色体数 (条)	含摩擦禾染色 体数(条)	含玉米与 <i>Zeaperennis</i> 染色 体数之和(条)
1-17	57	17	40
1-2	57	15	42
1-4	55	16	39
1-5	53	13	40
1-7	57	18	39
2-1	58	19	39
2-11	55	16	39
2-12	55	16	39
2-14	57	17	39
[0045] 2-16	58	17	41
2-19	58	17	41
2-2	57	17	40
2-3	55	15	39
2-6	53	16	37
2-8	55	16	39
3-13	55	18	37
3-14	55	17	38
3-15	56	17	39
3-17	94	33	61
3-19	55	16	38
3-3	57	17	40
58	58	17	41

[0046] (4) 对所选的 45 个个体进行染色体数鉴定, 每株鉴定 30 ~ 50 个细胞, 当所观察的 80% 以上的细胞为同一染色体数时, 即确定为该植株的染色体数, 选择细胞染色体数为 53 ~ 95 条的植株; 然后采用基因组原位杂交 (GISH) 和荧光原位杂交 (FISH) (Han F 等, Genome 2003(46):490-495; J. C. Lamb 等, Genetics, 2006(173):1007-1021.) 对所选植株的染色体构成进行鉴定, 选择摩擦禾染色体数目 13 ~ 35 条的非整倍体植株; 并采用双色荧光原位杂交对染色体的构成进行鉴定, 选择染色体数 ≥ 53 条、且摩擦禾染色数 ≥ 13 条的 22 个异源非整倍体(见表 1) 植株用于饲草品比试验。

[0047] (5) 对所选的 22 个异源非整倍体于 2012-2013 年连续两年进行品比试验。品比试验以四倍体多年生类玉米为对照, 参试品系利用分茺方式种植, 试验设计为 3 个重复, 每个小区 10m², 株行距 1 米 × 1 米, 双株种植, 分别于 2012 年 9 月 10 号测产, 2013 年 7 月 21 号测产。其中编号为 1-7、2-11、2-16、58 等 4 个品系材料的两年鲜草产量总和折算为亩产分别 12707.5kg、11699.7kg、11554.5kg、11210.8kg, 比对照四倍体多年生类玉米鲜草产量高出 25.17%、15.24%、13.81%、10.43%。编号为 1-7、2-11、2-16、58 等 4 个品系其(见表 2) 株

高 \geq 250cm,分蘖数 \geq 10 个,叶片数 \geq 20,越冬率 \geq 90%,蛋白质含量 \geq 8.5%,中性洗涤纤维 \leq 60%,酸性洗涤纤维 \leq 40%。所选的优良品系 1-7、2-11、2-16、58 等即为新的多年生饲草品种,且都为异源非整倍体;分别定名为:玉淇淋 1-7(其染色体数目为 57,摩擦禾染色体为 18,染色体见图 3,植株见图 2)、玉淇淋 2-11(其染色体数目为 55,摩擦禾染色体为 16,染色体见图 5,植株见图 4)、玉淇淋 2-16(其染色体数目为 58,摩擦禾染色体为 17,染色体见图 7,植株见图 6)、玉淇淋 58(其染色体数目为 58,摩擦禾染色体为 17,染色体见图 9,植株见图 8、分蘖繁殖种苗见图 10)。

[0048] 表 2 本试验所选的多年生饲草品种田间性状及营养成分含量测定结果

[0049]

材料名称 性状	玉淇淋 1-7	玉淇淋 2-11	玉淇淋 2-16	玉淇淋 58	9475
产量 (Kg/亩)	12707	11700	11555	11211	10152
分蘖数 (个)	16.4	9.35	10.35	21.45	16.95
株高 (cm)	247.2	270.3	252.3	257.6	220.2
叶片数 (片)	23	29.5	21.5	27	21.5
越冬率 (%)	96.67%	100.00%	100.00%	100.00%	93.33%
蛋白质含量 (%)	8.90%	9.52%	11.88%	9.45%	11.01%
中性洗涤纤维含量 (%)	59.96%	55.62%	59.93%	59.87%	54.24%
酸性洗涤纤维含量 (%)	35.39%	34.13%	36.69%	36.03%	33.29%



图 1



图 2

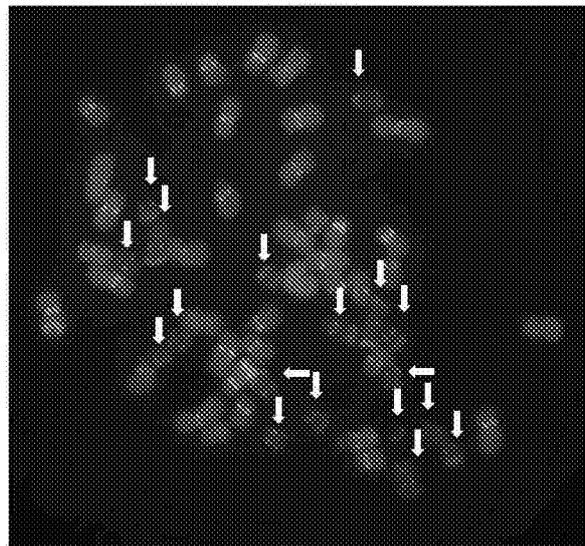


图 3



图 4

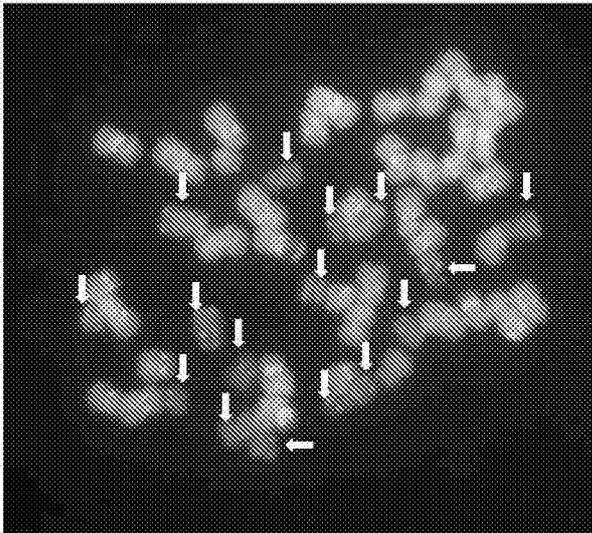


图 5



图 6

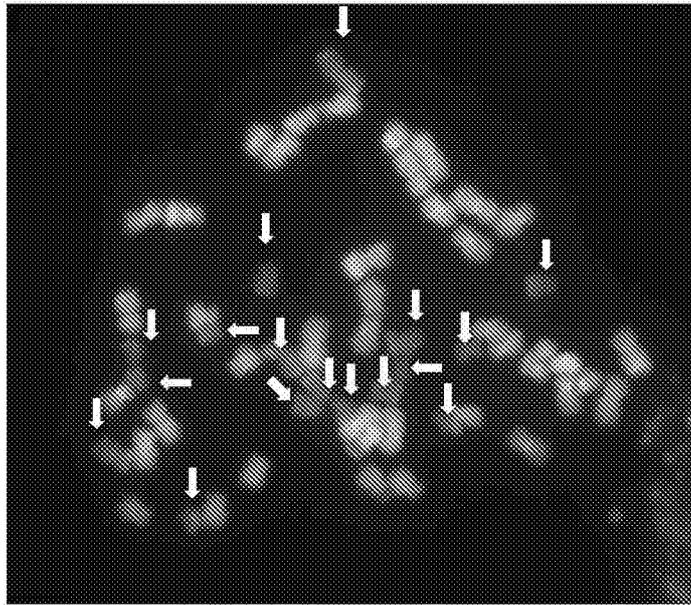


图 7



图 8

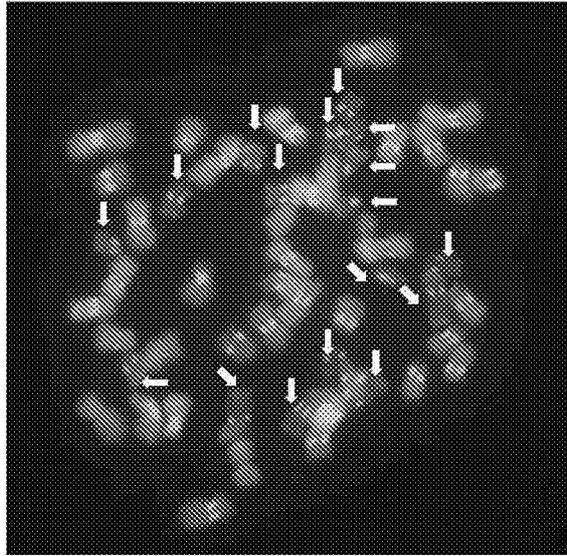


图 9

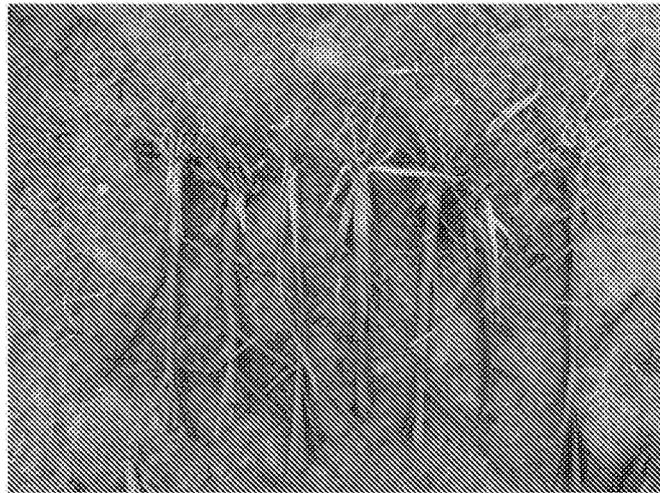


图 10