

玉米新不育胞质 WB 的线粒体类质粒鉴定

李小琴¹, 万邦惠¹, 刘纪麟², 李建生², 郑用琏², 徐尚忠², 张方东²

(1 华南农业大学农学院, 广东 广州 510642; 2 华中农业大学 作物遗传改良国家重点实验室, 湖北 武汉 430070)

摘要:通过线粒体类质粒分析, 表明华中农业大学发现的新雄性不育胞质 WB 带有 S 组特有的 S₁、S₂ 类质粒, 据此将 WB 确认为 S 组雄性不育胞质.

关键词:细胞质雄性不育; WB 胞质; 类质粒; 玉米

中图分类号: S513.035.1

文献标识码:A

文章编号: 1001-411X (2004) 01-0118-02

Mitochondrion like-plasmid identification of a new male sterile cytoplasm WB in *Zea mays*

LI Xiao-qin¹, WAN Bang-hui¹, LIU Ji-lin², LI Jian-sheng²,
ZHENG Yong-lian², XU Shang-zhong², ZHANG Fang-dong²

(1 College of Agriculture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agric. Univ., Wuhan 430070, China)

Abstract: Based on the analysis of cytoplasmic like-plasmid, WB-a new male sterile cytoplasm identified recently by Huazhong Agricultural University was found to contain S₁ and S₂-type plasmids. The result indicated that WB was further confirmed belonging to S-group cytoplasmic male sterility.

Key words: cytoplasmic male sterility; a male WB; type plasmids; *Zea mays* L.

细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, 简称 cms)材料的应用为玉米 *Zea mays* 杂交种种子的大批量商品化生产提供了一条有效途径。在玉米 T、C、S 3 组 cms 胞质中, 只有部分 S 组、CⅡ亚组、CⅢ亚组可在生产上安全应用^[1]。玉米新不育胞质 WB 是华中农业大学玉米室近年发现的^[2], 为了安全利用该胞质, 尚需对其细胞质类型进行确诊。1977 年 Pring^[3]首先在玉米 S 组雄性不育胞质(cms-S)线粒体中发现一种特殊的 S 类质粒。Levings 等^[4]1983 年证明, S₁、S₂ 是玉米 cms-S 所特有的类质粒, 易于检测。Kemble^[5]在玉米 C 组雄性不育胞质(cms-C)中又发现了特有的 C₁、C₂ 类质粒, 通过检测这些特有的类质粒, 可鉴定玉米 CMS 的类型^[6]。育种中常通过 S₁、S₂ 类质粒对 S 组胞质进行确诊^[7,8]。本试验也希望通过

这一方法确认 WB 胞质的细胞质类型, 为其利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

用 Mo17 核背景下含新不育胞质 WB 及 N、T、C、S 4 类对照胞质的一套同核异质近等基因系作材料: Mo17cms-WB₆₄ 和 Mo17cms-WB₆₂, 带 WB 不育胞质的姐妹系, 已回交 5 代, 田间表现一级雄性不育; Mo17cms-唐徐, S 组不育系; Mo17cms-T, T 组不育系; Mo17cms-EL, C 组不育系; Mo17, N 组正常胞质。材料均由华中农业大学玉米室提供。

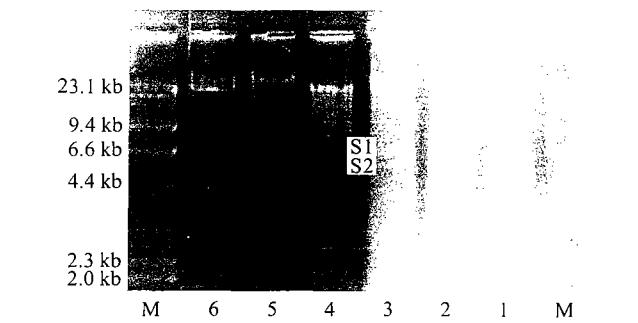
1.2 方法

上述材料在 28 ℃左右暗培养 6~8 d, 剪取叶片

200~300 g, 参照 Levings^[9]的方法, 分别提取 mt DNA, 纯化。各取 2 μg mt DNA 点样, 在 8 g/mL 琼脂糖凝胶、TBE 电泳缓冲液、电压 50 V/30 cm 条件下电泳 12 h, 用溴化乙锭染色 30 min, 在紫外灯下观察照像。

2 结果与分析

本实验 6 个 Mo17 同核异质近等基因系的 mt DNA 电泳结果见图 1。图 1 中, S 组的 Mo17cms-唐徐除了具有 1 条大分子量的 mtDNA 主带外, 还有 2 条约 6.4 kb、5.4 kb 的 DNA 带纹, 从带纹的分子量判断, 这 2 条带为 S₁、S₂ 类质粒带。而在分别属 T、C、N 组的 Mo17cms-T、Mo17cms-EL、Mo17 的 mt DNA 电泳道中, 只观察到 1 条大分子量的 mt DNA 主带, 无 6.4 kb、5.4 kb 的 S₁、S₂ 类质粒带。可见, 6.4 kb、5.4 kb 的 S₁、S₂ 类质粒带确实为 S 组不育胞质所特有, 这与前人^[4,7,8]的研究结果一致。



(M: 分子量标准 molecular size; 1: Mo17cms-WB₆₄; 2: Mo17cms-WB₆₂; 3: Mo17cms-唐徐 Tang-Xu; 4: Mo17cms-T; 5: Mo17cms-EL; 6: Mo17)

图 1 6 个玉米近等基因系的 mtDNA 电泳图

Fig. 1 mtDNA electrophoresis photo of six maize isonuclear alloplasm lines

从图 1 可见, 带 WB 新不育胞质的姐妹系 Mo17cms-WB₆₄ 和 Mo17cms-WB₆₂ 的 mt DNA 电泳图谱与 S 组的 Mo17cms-唐徐一样, 除具有 1 条大分子量的 mtDNA 主带外, 还有 2 条约 6.4 kb、5.4 kb 的 S₁、S₂ 类质粒带纹, 与 T、C、N 3 组对照材料 Mo17、Mo17cms-T、Mo17cms-EL 的 mt DNA 电泳图谱明显不同, 据此可以判断, WB 胞质与唐徐胞质一样, 应属 S 组不育细胞质。

3 讨论

玉米 CMS 分类方法有大田育性恢复专效性分类法、线粒体 DNA 鉴定法、类质粒鉴定法、专化型生理

小种感病性鉴定法等^[1]。其中, 类质粒分类法由 Laughnan^[6] 1981 年首先提出, 赖箐茹^[7]、谢友菊^[8]等已在实践中证实通过 S₁、S₂ 类质粒鉴定 S 组胞质的可靠性。本实验在 2 个带 WB 不育胞质的姊妹系 Mo17cms-WB₆₄、Mo17cms-WB₆₂ 和 S 组对照胞质唐徐的 mt DNA 电泳图谱中均检测到了明显的 S₁、S₂ 类质粒带纹, 而在 N、C、T 组中未检测到此带纹, 据玉米 CMS 类质粒分类方法可判定 WB 不育胞质属 S 组^[4,6~8]。这与大田育性恢复专效性、mt DNA RFLP 鉴定的结果一致, 进一步证实 WB 新胞质确属 S 组^[2,10]。

类质粒鉴定方法只需 7~10 d 左右, 时间短, 结果准确, 值得采用。

致谢: 本研究得到了华中农业大学玉米室全体成员和华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室的大力支持, 在此致以衷心的谢意!

参考文献:

- [1] 刘纪麟. 玉米育种学 [M]. 北京: 农业出版社, 2001. 257~285.
- [2] 李小琴, 刘纪麟, 万邦惠, 等. 玉米 CMS 育性恢复专效性分类系统的研究 [J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(3): 203~207.
- [3] PRING D R. Diversity of mitochondrial genomes among normal cytoplasms of maize [J]. Hered, 1977, 68: 350~354.
- [4] LEVINGS C S III, SEDEROFF R R. Nucleotide sequence of the S₂ mitochondrial DNA from the S cytoplasm of maize [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1983, 80: 4055~4059.
- [5] KEMBLE R J, GUNN R E, FLAVELL R B. Low molecular weight circular and linear DNA in mitochondria from normal and male-sterile *Zea mays* cytoplasm [J]. Nature, 1980, 284: 565~566.
- [6] LAUGHNAN J R. Characteristics of cms-S reversion to male-fertility in maize [J]. Stadler Genet Symp, 1981, 13: 93~114.
- [7] 赖箐茹, 郑用琏, 刘纪麟. 应用玉米线粒体 S 类质粒对几种 CMS 的胞质进行分类 [J]. 华中农业大学学报, 1990, 9(2): 129~133.
- [8] 谢友菊, 戴景瑞. 用线粒体 DNA 鉴定玉米雄性不育细胞质的研究 [J]. 遗传学报, 1988, 15(5): 335~339.
- [9] LEVINGS C S III, PRING D R. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from normal and Texas cytoplasmic male-sterile maize [J]. Science, 1976, 193: 158~169.
- [10] 李小琴, 万邦惠, 刘纪麟, 等. 玉米细胞质线粒体 DNA RFLP 分类研究 [J]. 作物学报, 2001, 27(4): 476~481.

【责任编辑 周志红】