

國際玉米與小麥中心之玉米種原引進與利用評估

謝光照、陳裕儒

行政院農業委員會農業試驗所

摘 要

在我國進口大量飼料用玉米及大豆之情況下，本計畫將建立分子標幟輔助玉米育種平台，並以基因型選拔方式將 *o2* 基因導入高產優良之硬質玉米自交系中，建立優質蛋白玉米基礎育種族群材料，目標為選育適應臺灣氣候環境與栽培模式之優質蛋白玉米新品系，推廣種植優質蛋白玉米來提高我國糧食安全與解決休耕地活化問題。

關鍵詞：玉米、遺傳質、引種。

前人研究

台灣玉米主要種植區域為台中以南，玉米種植季可有春作與秋作兩季。春作從種植到收穫氣溫由低到高；雨量由少變多，生育初期低溫影響種子幼苗生長速度且容易有南方型銹病之發生，生育中後期溫度升高易受玉米螟危害且梅雨季會影響授粉結實，到成熟採收期則可能有颱風威脅導致籽粒不易乾燥、植株倒伏之情況。秋作從種植到收穫氣溫由高到低；雨量由多變少，生育初期有颱風威脅導致田間浸水使得種子無法發芽幼苗黃化等不良影響，生育中期氣候環境易有普通型銹病之發生，生育後期低溫籽粒成熟較慢有利於乾物質充實，而晚熟品種籽粒成熟採收期則會延長不利於水旱田輪作制度之第一期作水稻種植。

行政院農業委員會動植物防疫檢疫局表示，在 2014 年初雲林、嘉義、台南地區發現所種植的玉米出現有矮化、葉片黃綠斑駁斑點等不尋常的植株外觀。經農委會農業試驗所檢測植株葉片結果發現，造成玉米葉片出現黃化嵌紋病斑、葉脈褪綠，植株矮化等植株外觀，是由首次在臺灣發現的新病毒玉米褪綠斑駁病毒 (MCMV) 所感染造成。玉米褪綠斑駁病毒，在中南部 40 個主要食用玉米

栽種區感染情形嚴重，然而如玉米褪綠斑駁病毒與已普遍存在臺灣的甘蔗嵌紋病毒 (SCMV) 複合感染會造成玉米葉片快速斑駁黃化；植株矮化枯萎死亡，文獻稱此複合感染病徵為玉米死亡壞疽病 (MLN/CLN) (Xie L *et al.* 2011)，最近國外新聞也有報導由 MCMV 與 SCMV 所感染造成的 MLN 病害，嚴重危害非洲肯亞國家的玉米產業，嚴重程度甚至已威脅到肯亞國家的糧食安全。

目前台灣主要種植玉米品種有台農一號、台南 24 號、明豐 3 號、明豐 103 號等等。這些品種都有各自的缺點無法完全滿足現今台灣氣候、環境與耕作制度之需求，因此為因應調整耕作制度活化農地計劃，需加強選育適合上述氣候環境所種植之高產優質硬質玉米新品種，透過從國際玉米與小麥改良中心引進新玉米種原來增進硬質玉米品種抗病蟲害、非生物性逆境能力與產量潛力，以提升我國硬質玉米新品種選育之成效。

由境外傳入台灣的新興病毒：玉米褪綠斑駁病毒 (MCMV)，藉由媒介昆蟲薊馬感染玉米植株會造成玉米葉片出現黃化嵌紋病斑、葉脈褪綠，植株矮化等植株病徵，目前主要感染對象為甜玉米及糯玉米品種，飼料用硬質玉米未有發病情形。玉米褪綠斑駁病毒，在中南部 40 個主要甜玉米栽種區感染情

形嚴重，然而如果玉米褪綠斑駁病毒與甘蔗嵌紋病毒 (SCMV) 複合感染會使玉米葉片更嚴重的斑駁黃化；幼苗期感染後植株即明顯矮化快速枯萎死亡，此複合感染病徵稱為玉米死亡壞疽病 (MLN/CLN)。面對玉米褪綠斑駁病毒與甘蔗嵌紋病毒的危害問題，擬引進抗 MCMV 病毒玉米自交系種原，作為選育抗 MCMV 病毒病之甜玉米與糯玉米品種之育種材料。

病毒病害需藉由植株機械受傷方式或媒介昆蟲進行傳播感染，所以可透由農機器械之消毒工作；清除禾本科雜草寄主，以減少媒介昆蟲棲息，降低感染源；噴灑防治媒介昆蟲藥劑等田間管理工作來降低玉米植株感染的機率，然而選育抗病毒病的玉米品種仍是最直接有效的方式 (Uyemoto JK, 1983)。玉米病毒病害危害有日益增加的趨勢，加上植株感染病毒後是無法利用噴灑藥劑來治癒的，所以歐美國家對於玉米病毒病害的研究相當重視。在玉米抗 SCMV 的研究部分，利用抗病品系 (L520) 與感病品系 (L19) 雜交所建立的 $F_{2:3}$ 家系族群，定位到三個主效數量性狀基因座：*Scm2a*、*Scm2b* 與 *Scm1*，分別位於第三條染色體 bin 3.04 與第六條染色體 bin 6.01 位置上，分別可解釋 13.34、41.85 與 7.66% 抗 SCMV 的外表型變異 (Regina Prazeres De Souza *et al.*, 2008)。而許多文獻研究報告提供許多和 *Scm1*、*Scm2*、*Scm2b* 緊密連鎖的分子標誌可以應用於分子標誌輔助育種工作中 (Duble *et al.*, 2000; Duble *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 1999)。在玉米抗 MCMV 的研究部分，以往針對有關屬於 Tombusviridae 病毒屬的 MCMV 育種研究較少，但在 2011 年在非洲肯亞國家開始發現複合感染所造成的 MLN 危害當地玉米產業後，國際玉米與小麥研究中心就開始從種原庫中篩選抗 MCMV 的玉米種原，很快的成功篩選到一些抗 MCMV 的玉米種原。

重要工作項目及實施方法

玉米田間栽培管理：

自交系以 A group 和 B group 兩雜種優勢群分群以人工播種方式種植於霧峰試驗田，採順序排列，行株距 75 x 24 cm。

N:P₂O₅:K₂O = 200:90:60 kg/ha，N 肥分基肥及追肥二次施用，並以人工套袋授粉方式自交繁殖增加種子與雜交生產優良雜交組合種子，生育期間視氣候、田間土壤與病蟲害情況進行必要之栽培管理，果穗成熟後人工收穫以烘箱乾燥，再進行脫粒編號材料代號。主要農藝性狀及病蟲害調查方法均依「雜糧作物 育種程序及實施方法」進行之。自 CIMMYT 引進之雜交種多點試驗評估，則以 CIMMYT 提供之田間試驗設計配合之。

功能性分子標幟之設計與利用：

玉米葉片與胚乳 DNA 提取：以剪定夾剪取 0.5 g 玉米籽粒胚乳或 1 cm 寬幼苗葉片樣品放入 96 孔盤中後，每孔加入 150 μ l DNA 提取液，以 95°C 加熱 15 min，再每孔分別加入 150 μ l 緩衝液，混合均勻離心後 4°C 保存，即可作為 PCR 反應之 DNA 溶液使用。

PCR 反應：於分子標幟基因型分析之 PCR 反應條件參照 Chenet *et al.* (1997) 並稍微修改，PCR 反應總體積是 10 μ l，反應溶液包含 5 μ l 聚合酶鏈式反應 (Taq2x Master Mix Red 碩景，臺灣)，0.8 μ l 之 2.5 μ M 正向引子，0.8 μ l 之 2.5 μ M 反向引子，1.4 μ l ddH₂O 及 2 μ l 快速提取之玉米基因體 DNA。使用核酸增殖儀 (Biometra, German) 進行反應，PCR 反應為 94°C 5 min，1 個循環；94°C 30 sec，55°C (視引子 T_m 值調整最適溫度) 30 sec，72°C 30 sec，共 35 個循環；72°C 1 min，一個循環，最後結束在 4°C。

基因型分析：以分子標幟擴增之 PCR 反應產物，以 Liberty 120 Gel System (Liberty, Biokeystone Co. California®, USA) 高速電泳系統進行分析，以 1 \times TAE (Tris-acetate

EDTA) 緩衝液配製 2.5%的 SFR (SuperFine Resolution, Amresco®, USA) 瓊菜膠片, 並以 Seeing SafeNucleic Acid Stain 為膠體染色 (昕穎生物科技, 臺灣)。以 250V 進行電泳, 電泳時間依據分子量大小決定, 一般為 8~22 min, 最佳解析是 10bp 以上的差距。分離後的電泳條帶以照膠系統拍照記錄並輔以 100bpMarker 分析其分子量大小。

結果與討論

從 CIMMYT 引進之優質蛋白玉米所選育雜交一代之新品系, 與種苗繁殖場合作採種 1640 kg, 秋作於中南部地區推廣試種 81.7 ha。胺基酸組成分析, 與國產硬質玉米相較, 重要必需胺基酸:離胺酸增加 16.34%、色胺酸增加 91.4%、精胺酸 12.64%、甲硫胺酸 5.21%。在 32 天的肉雞動物試驗中, 優質蛋白玉米與國產普通硬質玉米飼料配方餵養肉雞相較, 其屠宰率與換肉率未有顯著差異, 但提高胸肉脂肪含量。而在 63 天的蛋雞動物試驗中, 優質蛋白玉米較國產普通硬質玉米飼料配方, 提高產蛋率 2.1%、平均蛋重增加 1.8%, 蛋殼厚度部分, 以高離胺酸玉米組較 (0.352mm>0.347)。但在其他蛋品品質, 包括蛋白厚度、蛋黃色度、豪式指數、蛋殼硬度等沒有差異。

根據 106 年度前往 CIMMYT-Mexico、CIMMYT-Kenya 學習生物營養加強型玉米育種訓練和 MLN 篩選基地研習, 設計 1 組與位於玉米第 10 條染色體控制玉米籽粒顏色之高維生素原 A 之主效基因緊密連鎖之 SNP 分子標誌 S10_136072513, 由於 CIMMYT 的優良自交系很大部分為白色籽粒特性, 因此可以利用此分子標誌輔助回交快速改良 CIMMYT 優良自交系成為黃色或橘黃色育種材料, 增加 CIMMYT 玉米種原利用性。根據病毒接種結果, CML494、CML550 對於 MCMV 有 2 級抗性, 國內超甜玉米品種對

MCMV 皆無抗性, 因此設計 2 組位於玉米第 6 條染色體具 MCMV 抗性之 QTL 連鎖之 S N P 分子標誌 S6_161663671、S6_164999578, 有助於導入抗 MCMV 之 QTL 至臺灣食用玉米育種材料中, 提升玉米 MCMV 抗病能力。

CIMMYT 玉米種原豐富多樣化, 如果沒有透過與 CIMMYT 研究人員交流互動以及大量文獻資料閱讀, 實難正確引進適合台灣氣候環境之玉米種原與有效利用之, 藉由這幾年種原的引進、種植調查、試種評估經驗, 以及 106 年前往 CIMMYT-Mexico、CIMMYT Kenya 研習訓練經驗, 逐漸對 CIMMYT 材料有更深入的了解, 這期間同時也進行了優質蛋白玉米的動物飼料與加工利用評估試驗, 瞭解 CIMMYT 玉米的市場應用潛力。此四年期計畫為農委會與 CIMMYT 研究合作計畫, 目標主要為引進 CIMMYT 玉米材料增進國內玉米育種成效及強化國際玉米研究交流合作, 今年度是本計畫最後一年, 故簡要歸納因此計畫所達成工作項目, 1. 引進耐酸性土壤、耐旱、耐低氮、抗病毒病和銹病與具優質蛋白等特性之玉米自交系材料, 2. 建構玉米分子標誌輔助育種實驗室平台, 3. 前往 CIMMYT 參加短期訓練課程, 與中南美洲、非洲、亞洲等國家育種研究人員交流, 4. 強化國內玉米雜交品系採種體系, 與種苗繁殖場合作優質蛋白玉米採種, 使得玉米大面積試種推廣得以推行, 5. 與福壽實業公司合作優質蛋白玉米動物飼料配方利用評估以及後續玉米穀粉加工利用評估。隨著氣候變遷與國際貿易市場的快速變化, 臺灣玉米種植生產有其一定程度的重要性, 而國產玉米後續利用加工與加值化提升農民收益, 亦是穩定臺灣糧食自給率之關鍵。臺灣硬質玉米育種研究曾經中斷若干年, 而此計畫工作的執行重新讓台灣年輕玉米育種研究人員獲得實務育種經驗與國際交流機會, 且計畫一點

一滴的成果累積會是臺灣玉米育種研發長期發展的基礎。

引用文獻

- 農林廳。1989。雜糧作物育種程序及實施方法。p.56-72。
- 謝光照、曾富生。1998a。台灣不同地區台南白玉米族群性狀之變異。中華農業研究 47(3):204-219。
- 謝光照、曾富生。1999b。台南白產量與農藝性狀之組合力分析。中華農藝 9:1-9。
- 謝光照。2005a。八個不同地區台南白族群果皮性狀之變異。台灣農業研究 54: 219-226。
- 謝光照。2005b。玉米不同遺傳背景與胚乳型對果皮厚度之影響。台灣農業研 54: 227-234。
- 劉紹國、謝光照、曾富生。2009。台灣超甜玉米雜種優勢類群之探討。台灣農業研究 58: 31-44。
- 謝光照。2009。黑糯玉米農藝性狀之組合力分析。台灣農業研究 58: 125- 135。
- 謝光照。2010。糯質玉米自交系籽粒種皮厚度之變異。台灣農業研究 59: 103- 111。
- Bernardo, R. 1990. An alternative statistic for identifying line useful for improving parents of an elint single cross. Theor. Appl. Genet. 80:105-109.
- Brandolini, A., and F. Salamini. 1985. Breeding strategies for maize production improvement in the Tropics. NUOVA Serie N. 100. Italy.
- Daynard, T. B., and R. B. Hunter. 1975. Relationships among wholeplant moisture, grain moisture, dry matter yield, and quality of whole-plant corn silage. Can. J. Plant Sci. 55:77-84.
- Dudley, J. W. 1988. Theory for identification of lines or populations useful for improvement of elite single crosses. In B. Weir (ed.) Proc. Ind Int. Conf. on Quantitative Genetics, Raleigh, NC.1-5 June 1987. Sinauer ASSOC., Sunderland, MA.
- Goodman, M. M. 1985. Use of tropical and subtropical maize and teosinte germplasm in temperate conditions. P. 93-104. In Brandolini, A., and F. Salamini (eds.). Breeding strategies for maize production improvement in the tropics. Florence and Bergamo, Italy.
- Hallauer, A. R. 1984. Compendium of recurrent selection methods and their application. Critical Review in Plant Science 3:1-33.
- Hallauer, A. R., and J. B. Miranda, FO. 1981. Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State Univ. Press, Ames.
- Holley, R. N., and M. M. Goodman. 1988. Yield potential of tropical hybrid maize derivatives. Crop Sci. 28:213-217.
- Mungoma, C., and L. M. Pollak. 1988. Heterotic patterns among the corn belt and exotic maize population. Crop Sci. 28:500-504.
- Stuber, C. W. 1986. Use of exotic sources of germplasm for maize improvement. P. 19-31. In: Dolstra, O., and P. Miedema (eds.). Breeding of Silage Maize. Pudoc Wageningen, Netherlands.
- Sprague, G. F. 1977. Corn and corn improvement. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, U. S. A.

The Introduction, Assessment and Utilization of CIMMYT Elite Maize Germplasms

G. J. Shieh and Y. R. Chen

Taiwan Agricultural Research Institute, COA, Taichung, Taiwan

Abstract

It is introducing CIMMYT inbreds and pre-commercial hybrids this year to investigate the pathogen and insect resistance, abiotic stress resistance as well as yield in the project this year. It is also going to assess the publication potential of CIMMYT pre-commercial hybrids in Taiwan, and it would simultaneously use CIMMYT maize germplasm to improve Taiwan common maize breeding material for elevating Taiwan common corn varieties field performance in the future.

Key words: Maize, Germplasms, Introduction.