Ann. Rep. Dryland Food Crop Imp. 107:112-115 (2018)

優質蛋白玉米品種選育

陳裕儒、謝光照

行政院農業委員會農業試驗所

摘　　要

以分子標幟輔助育種將 *o2* 基因導入國內高產硬質玉米自交系，選育 44 個高產優質蛋白玉米家系，並生產 357 個單倍體誘導玉米果穗，作為選育優質蛋白玉米新品系之材料，期能保障我國糧食安全與提高農民收益。

關鍵詞：優質蛋白、玉米、品種選育。

前人研究

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。

重要工作項目及實施方法

1.玉米育種材料田間栽培管理：

以人工播種方式種植於霧峰試驗田，採順序排列，以 stiff stalk 和 non-stiff stalk 兩雜種優勢群分群種植，行株距 75 x 20 cm。N:P_2O_5:K_2O = 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雜交生產種子，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。

(1) 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 0.5g 玉米籽粒胚乳或 1cm 寬幼苗葉片樣品放入 96 孔盤中後，每孔加入 150µl DNA 提取液，以 95℃加熱 15 分 鐘，再每孔分別加入 150µl 緩衝液，混合均勻離心後 4℃保存，即可作為 PCR 反應之 DNA 溶液使用。

(2) PCR 反應：於分子標幟基因型分析之 PCR 反應條件參照 Chenet al. (1997) 並稍微

修改，PCR 反應總體積是 10μl ，反應溶液包含 5μl 聚 合酶酵素 (Taq2xMaster Mix Red 碩景，臺灣)，0.8μl 之 2.5μM 正向 引子，0.8μl 之 2.5μM 反向引子，1.4μl ddH 2 O 及 2μl 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℃ 5 min，1 個循環；94℃ 30 sec，55℃(視引子 Tm 值調整最適溫度) 30 sec，72℃ 30 sec，共 35 個循環；72℃ 1 min，一個循環，最後結束在 4℃。

(3) 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× TAE (Tris-acetate EDTA) 緩衝液配製 2.5%的 SFR (Super Fine Resolution，Amresco®，USA) 瓊菜膠片，並以 Seeing Safe Nucleic 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 10 bp 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 100bp Marker 分析其分子量大小。

(4) 單倍體玉米材料生產：將誘導系作為花粉貢獻親 (pollen donor)，與優質蛋白玉米育種材料族群植株以人工授粉方式雜交，在育種材料植株之果穗上即可獲得 5~15%的單倍體種子，以肉眼淘汰具有顯性 R1-nj 紫色基因胚性狀之種子，在溫室內人工玉米育苗單倍體種子，俟幼苗生長至三葉齡時，以秋水仙素處理幼苗後移植田間，單倍體玉米植株生長勢不如正常雙倍體玉米，所以需要特別栽培管理，在植株開花具有花粉可完成自交授粉後，即有機會收穫雙單倍體種子，單株收穫果穗即為純系，需再種植成穗行繁殖增加種子數量。

結果與討論

自交授粉屬於 Non- stiff stalk 雜種優勢群之 GEMN0141/CML161//M185-B-B (L) 優質蛋白玉米 14 個家系；GEMN0157/CML161//M185-B-B (L) 優質蛋白玉米 19 個家系； GEMN0141/CML161//M185-B-B(E) 優質蛋白玉米 4 個家系；GEMN0157/CML161//M185-B-B(E)優質蛋白玉米 8 個家系，合計共 35 個家系。分別自交授粉屬於 Stiffstalk 雜種優勢群之 9 個優質蛋白玉米家系，如 GEMS0146/ CML161//M198///M198-B 、 M198D///GEMS(1)/CML444//WT////198Q 、 M198D///GEMS(2)/CML444//WT////198Q 、 M198D///GEMS0007/CML444//WT8////198Q 、 M198D///GEMS 0049/CML444//WT8////198Q 、 M198D/// GEMS0020/CML444//WT7////198Q、M198D///GEMS0021/CML444 //WT8////198Q 、 M198D ///GEMS0028/CML444//WT8////198Q 、 M198D///GEMS0030/CML444//WT7////198Q，因此 107 年度共自交繁殖 44 個優質蛋白玉米家系。

Non- stiff stalk 之優質蛋白玉米家系，係以屬於 Lancaster Surecrop 之 LH185 自交系為核心骨幹材料並以 CML161 自交系作為 *O2* 基因貢獻親與其他早熟高產自交系雜交改良而成，經田間選拔程序，此育種材料特性為早熟、長穗、穗位低、抗銹病與煤紋病。Stiff stalk 之優質蛋白玉米家系，係以屬於 Reid Yellow Dent 之 LH198 自交系為核心骨幹材料，同樣以 CML161 自交系作為 *O2* 基因貢獻親，但因 LH198 在臺灣環境下會有銹病與煤紋病發生，故再與其他早熟高產、耐旱熱帶型自交系雜交改良而成，經田間選拔程序，此育種材料已改良成具有早熟、行數至少 14 行、葉片直挺耐密植、莖桿粗抗倒伏且抗銹病與煤紋病。

因已具備玉米核心優良育種材料，故為開始建立臺灣本土玉米族群改良族群，分別將屬於 Stiff stalk 與 Non- stiff stalk 雜種優勢群之玉米以低氮肥乾旱環境栽培並隔離開放

授粉，分別選拔具目標性狀之 C_0 族群材料，並再各自以單倍體誘導系雜交生產單倍體誘導果穗。。Stiff stalk 雜種優勢群(Reid Yellow Dent)生產 178 個果穗，Non-stiff stalk 雜種優勢群(Lancaster Surecrop)生產 179 個果穗，一共雜交生產 357 個單倍體誘導果穗。

結論

今年度已完成兩個具有高雜種優勢之優質蛋白玉米育種材料自交繁殖，今年秋作有取部分家系測交種子評估其田間表現，做為明年度材料組合力評估的預備試驗，測交 F_1 材料具有比台農 1 號早熟、穗長且耐密植之特性，具有高產且高蛋白質營養加工潛力。在今年度亦導入玉米雙單倍體技術於玉米族群改良工作中，可以省工有效率的方式改良玉米材料之遺傳增進，建立具有適應台灣氣候環境與栽培制度之本土特色玉米族群，以做為長期玉米育種基礎。

表一、玉米育種材料之單倍體誘導果穗數量

玉米育種材料	單倍體誘導系數量
Stiff stalk 雜種優勢群 (Raid Yellow Dent)	
A-1-8	0
A-1-9	3
A-1-10	73
C-1-3	17
E-1-1	22
G-1-1	18
G-2-1	18
G-4-2	27
	Sub total 178
Non-stiff stalk 雜種優勢群 (Lancaster Surecrop)	
A-1-8	17
A-1-9	15
A-1-10	21
C-1-3	18
E-1-1	38
G-1-1	17
G-2-1	G-2-1
G-4-2	25
	Sub total 179
	Total 357

Breeding and disseminating quality protein maize(QPM) for Africa.

引用文獻

Babu, R., Nair, S. K., Kumar, A., Venkatesh, S., Sekhar, J. C., Singh,N. N., ... & Gupta, H. S. (2005). Two-generation markeraided backcrossing for rapid conversion of normal maize lines to quality protein maize (QPM). Theoretical and Applied Genetics, 111(5): 888-897.

Bantte, K., & Prasanna, B. M. (2003). Simple sequence repeat polymorphism in Quality Protein Maize (QPM) lines. Euphytica, 129(3): 337-344.

Danson, J. W., Mbogori, M., Kimani, M., Lagat, M., Kuria, A., & Diallo, A. (2006). Marker assisted introgression of opaque2 gene into herbicide resistant elite maize inbred lines. African journal of biotechnology, 5(24):3.

Gibbon, B. C., & Larkins, B. A. (2005). Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. Trends in Genetics, 21(4): 227-233.

Holding, D. R., Hunter, B. G., Chung, T., Gibbon, B. C., Ford, C. F., Bharti, A. K., ... & Larkins, B. A. (2008). Genetic analysis of opaque2 modifier loci in quality protein maize. Theoretical and Applied Genetics, 117(2): 157-170.

Holding, D. R., Hunter, B. G., Klingler, J. P., Wu, S., Guo, X., Gibbon, B. C., ... & Larkins, B. A. (2011). Characterization of opaque2 modifier QTLs and candidate genes in recombinant inbred lines derived from the K0326Y quality protein maize inbred. Theoretical and applied genetics, 122(4), 783-794.

Jeet, S., Singh, J. P., Kumar, R., Prasad, R. K., Kumar, P., Kumari,A., & Prakash, P. (2012). Effect of Nitrogen and Sulphur Levels on Yield, Economics and Quality of QPM Hybrids under Dryland Condition of Eastern Uttar Pradesh, India. Journal of Agricultural Science, 4(9), p31.

Krivanek, A. F., De Groote, H., Gunaratna, N. S., Diallo, A. O., & Friesen, D. K. (2007).

The Breeding of Quality Protein Maize Variety

Y. R. Chen and G. J. Shieh

Taiwan Agricultural Research Institute, COA, Taichung, Taiwan

Abstract

It had applied the biological markers assisted to introgress *o2* gene into the elite common corn inbreds for producing the quality protein maize, which had selected 44 elite quality protein maize lines this year, and also produced 357 ears by crossing with the haploid inducers for producing double haploids. It is expected to select the elite QPM hybrid adapted to mid-south Taiwan agricultural surrounding for enhancing Taiwanese food security and farmers income.

Key words: Quality Protein, Maize, Breeding.