Ann. Rep. Dryland Food Crop Imp. 106:25-29 (2017)

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

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：優質蛋白、玉米、品種選育。

前　言

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。春作從種植到收獲氣溫由低到高；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。秋作從種植到收獲氣溫由高到低；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。台灣每年由國外進口硬質玉米四百多萬公噸，進口大豆兩百多萬頓，皆主要作為動物飼料使用。玉米是畜禽飼料中的主要能量來源，而普通硬質玉米中離胺酸(Lysine)、色胺酸(Tryptophan)等必需胺基酸含量低，因此在飼料中仍需添加大豆粉來增加離胺酸與色胺酸含量以提高飼料換肉率。

1964 年美國普渡大學 Mertz 教授研究發現同型結合的隱性基因 *opaque2 (o2)* 可以顯著的提到玉米籽粒中離胺酸含量，而玉米醇溶蛋白都顯著地減少，而球蛋白、穀蛋白、白蛋白的含量均有不同程度的增 加。在 *o2* 基因突變體的玉米醇溶蛋白合成速度較慢，其含量比正常玉米少 50%但胚乳中離胺酸與色胺酸含量卻增加一倍以上。相較於其他高離胺酸突變體存在一些難以克服的缺陷問題，所以高離胺酸玉米育種中廣泛利用的基礎材料主要為 *o2* 突變基因。

然而過去高離胺酸玉米一直無法成功推廣種植之主要原因為 *o2* 玉米仍具有粉質胚乳易破裂、病蟲害嚴重、低產等不良農藝性狀。有鑑於它的營養重要性，國際玉米與小麥改良中心的研究人員，針對高離胺酸玉米的不良農藝性狀進行族群改良，他們導入硬胚乳修飾基因並擴大族群的遺傳變異。經過二十多年的努力，不同於過去的高離胺酸玉米，他們成功選育出一系列高產且具硬胚乳型之高離胺酸的自交系，他們也重新命名這些高離胺酸玉米，稱之為優質蛋白玉米(quality protein maize, QPM)。目前中國大陸、印度、越南、巴西等國已經利用 QPM 自交系種原選育出產量與普通硬質玉米相當的優質蛋白玉米品種。

農業試驗所於 2011 秋作重新啟動硬質玉米選種，育種目標為中早熟、抗銹 病、產量高於台農 1 號 20%以上、抗倒伏及適合機械採收。2017 選育出台農育 7 號硬質玉米新品系，符合育種目標之農藝特性，其在兩年的新品系比較 試驗中，其產量也顯著較對照品種台農 1 號高，平均增產 27.9%。

材料與方法

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 150μl DNA 提取液，以 95℃加熱 15 min，再每孔分別加入 150 μl 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。

PCR 反應：

於分子標幟基因型分析之 PCR 反應條件參照 Chen *et 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 (Taq2x Master Mix Red 碩景，臺灣)，0.8μl 之 2.5μM 正向引子，0.8 μl 之 2.5 μM 反向引子，1.4 μl dd H_2O 及 2 μl 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℃。

基因型分析：

以分子標幟擴增之 PCR 反應產物，以 Liberty 120 GelSystem (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。

田間栽培管理與種子生產：

雜交種子生產：將從 CIMMYT 引進之優質蛋白玉米與美國高產耐密植自交系和農試所選育之優良自交系，以人工播種方式種植於霧峰試驗田，採用順序排列單行區，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，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，並以人工套袋授粉方式生產雜交種子，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。

優質蛋白玉米育種族群建立：

兩個雜種優勢群之育種族群：以 CIMMYT 優質蛋白玉米為 *o2* 基因之貢獻親人工套袋回交優良自交系生產 BC_1F_1 種子，並依自交系譜系資料與性狀調查資料，劃分雜種優勢群建立育種基礎材料。

結果與討論

目前台灣主要種植玉米品種有台農 1 號、台南 24 號、明豐 3 號、明豐 103 號等。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，而據參考文獻資料，普通硬質玉米籽粒中離胺酸與色胺酸平均含量只有 4.02%左右，而國際玉米與小麥改良中心經過多年改良，所選育之優質蛋白玉米 (quality protein maize, QPM)，其玉米籽粒中離胺酸與色胺酸約提高 1 倍含量可達 8.04%。國外文獻研究也指出以優質蛋白玉米作為畜禽飼料，可提升畜禽之飼料換肉率與體重增加。為有效利用台灣農地增加雜糧種植面積，以保障臺灣糧食安

全，本計畫將選育適合台灣氣候環境所種植之高產優質蛋白玉米新品種。

美國溫帶玉米具有早熟耐密植特性，故利用美國 GEM 玉米自交系與優質蛋白玉米 CML161 及 CML172 雜交，調查其 F1 測交種之開花吐絲期、株高穗位高與果穗等農藝性狀。因台農 1 號為目前臺灣主要推廣之少熟硬質玉米品種，故以其開花吐絲日數 (57、59 day) 作為篩選標準。在優質蛋白玉米 CML161 與美國玉米自交系測交之 86 個雜交種，其開花期日數、吐絲期日數、株高 、穗高 、桿徑 、穗長、穗徑、籽粒深度與行數之平均值為 58 day、60 day、205.8 cm、96.8 cm、19.1 mm、16.8 cm、45.9 mm、12.0 mm 與 14。其中 GEMN-0044 、GEMS-0051、GEMS-0061 、GEMS-0180 、GEMS-0069 、GEMN-0071 、GEMN-0077 、GEMS-0080 、GEMS-0084 、GEMS-0085 、GEMS-0188 、GEMN-0216、GEMN-0139、GEMN-0154、GEMN-0155 等 15 個自交系與 CML161 之測交種開花與吐絲日數皆少於台農 1 號 (表 1)。在優質蛋白玉米 CML172 與美國玉米自交系測交之 164 個雜交種，其開花期日數、吐絲期日數、株高 、穗高 、桿徑 、穗長、穗徑、籽粒深度與行數之平均值為 60 day、62 day、220.5 cm、100.4 cm、19.4 mm、15.0 cm、45.2 mm、11.9 mm 與 14 mm，其中 GEMS-0203 、 GEMN-0124 、 LH185 、GEMS-0002 、GEMS-0016 、GEMN-0097 、GEMN-0138 、GEMN-0141 、GEMS-0143 、GEMN-0154 等 10 個自交系與 CML172 之測交種開花與吐絲日數皆少於台農 1 號 (表 2)，因此上述共 25 個美國玉米自交系可做為選育具有早熟特性之優質蛋白玉米新品系之育種材料。

結論

將以 250 個溫帶玉米與優質蛋白玉米 CML161 與 CML172 測交種之所調查之農藝性狀數據，先篩選開花吐絲日數少於臺農 1 號之玉米回交材料，做為早熟優質蛋白玉米之育種材料。今年度已完成建立基因型分析平台所需冷藏冷凍設備購置、低成本快速萃取 DNA 試劑配製研發與高通量瓊膠電泳系統及 *O2* 功能性分子標幟設計開發，將應用於高離胺酸之分子標幟輔助育種工作中。

表 1. 美國玉米自交系與優質蛋白玉米 CML161 之回交家系

譜系	開花期 (D)	吐絲期 (D)	株高 (cm)	穗高 (cm)	稈徑 (mm)	穗長 (cm)	穗徑 (mm)	籽粒深度 (mm)	行數 (No.)
GEMN-0044	55	57	191	78	18.3	18	49	12.2	16
GEMS-0051	56	58	210	90	20.7	14	46	12.3	14
GEMS-0061	56	59	220	106	23.3	17	45	10.6	16
GEMS-0180	56	58	206	103	18.7	16	46	12.1	12
GEMS-0069	55	57	206	100	20.7	17	43	12.1	12
GEMN-0071	56	58	216	110	20.0	16	44	13.2	12
GEMN-0077	55	57	193	81	17.7	16	47	12.3	16
GEMS-0080	54	57	198	78	18.3	18	49	11.0	12
GEMS-0084	56	58	211	105	18.0	20	48	11.8	14
GEMS-0085	55	57	198	81	19.3	17	47	11.9	14
GEMS-0188	51	53	213	91	17.7	17	44	12.0	14
GEMN-0216	53	57	206	110	18.7	18	45	11.9	12
GEMN-0139	55	57	195	80	15.7	18	45	12.5	16
GEMN-0154	55	58	218	103	20.7	19	43	12.0	14
GEMN-0155	56	59	198	88	20.7	18	46	12.8	14
TNG1	57	59	220	80	14.3	16	42	11.8	14

表 2. 優質蛋白玉米 CML172 與美國玉米自交系測交之雜交種農藝性狀調查資料

譜系	開花期 (D)	吐絲期 (D)	株高 (cm)	穗高 (cm)	稈徑 (mm)	穗長 (cm)	穗徑 (mm)	籽粒深度 (mm)	行數 (No.)
GEMS-0203	56	59	210	93	19.3	18	45	12	16
GEMN-0124	55	59	216	133	17.3	17	40	11.2	14
LH185	56	59	215	80	18.0	14	39	11.3	12
GEMS-0002	55	59	213	90	18.0	13	44	11.5	14
GEMS-0016	58	61	221	98	21.3	18	49	12.4	16
GEMN-0097	56	58	221	103	18.7	15	41	10.0	16
GEMN-0138	55	56	223	86	20.0	15	44	10.2	16
GEMN-0141	55	56	245	111	20.3	17	44	12.4	14
GEMS-0143	56	57	228	101	19.7	15	48	13.2	14
GEMN-0154	55	58	223	81	18.7	17	41	10.8	14

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。1999b。 台南白產量與農藝性狀之組合力分析。中華農藝 9:1-9。

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。

Bernardo, R. 1990. An alternative statistic for identifying line useful for improving parents of an elite single cross. Theor. Appl. Genet. 80:105-109.

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. Euphytica1 29(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).

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 formaize production improvement in the tropics. Fl orence and Bergamo, Italy.

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

The Plant Breeding of Quaility Protein Maize

Y. R. Chen and G. J. Shieh
Taiwan Agricultural Research Institute, COA, Taichung, Taiwan

Abstract

This project is planned to set up the molecular markers assisted selection platform and introgress the *o2* gene into elite common corn inbreds by gel based genotyping data. Moreover, it is going to generate the quality protein maize foundation breeding population materials to aim at breeding a new quality protein maize hybrid variety. It would be expected to enhance Taiwan food security and solve the fallow lands utilization problems by popularize the quality protein maize.

Key words: Quality Protein, Maize, Breeding.