遗传 HEREDITAS (Beijing) 2011 年 2 月, 33(2): 175－181
ISSN 0253-9772 www.chinagene.cn


DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00175

# 空间环境诱发玉米细胞质雄性不育突变体的遗传分析

张采波，袁国钊，汪静，潘光堂，荣廷昭，曹墨菊

四川农业大学玉米研究所，教育部作物基因资源与遗传改良重点实验室，雅安 625014

**摘要：** 从返回式卫星“实践八号”搭载的 08-641 和 18-599 两份玉米自交系后代选育出 3 份雄性不育突变体，在不同地点、不同年份、不同季节进行种植观察，鉴定其育性表现，通过测交、反交及回交对不育性状的遗传特性进行分析。结果表明：3 份不育突变材料均能稳定遗传，属可遗传的细胞质雄性不育类型。恢保关系测定和特异引物 PCR 扩增结果显示，3 份不育材料均属玉米 C 型细胞质雄性不育类型，但 3 份不育材料在恢保关系上存在一定差异，推测它们可能分别属于玉米 C 型细胞质雄性不育的不同亚组。这些不育材料的发现，丰富了雄性不育胞质的遗传基础，在玉米不育化制种中具有一定应用价值。

**关键词：** 玉米；空间诱变；细胞质雄性不育(CMS)；突变体；遗传分析

# Genetic analysis of maize cytoplasmic male sterile mutants obtained by space flight

ZHANG Cai-Bo, YUAN Guo-Zhao, WANG Jing, PAN Guang-Tang, RONG Ting-Zhao, CAO Mo-Ju

*Key Laboratory of Crop Genetic and Improvement, Ministry of Education, Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an* 625014, *China*

**Abstract:** Three maize male sterile mutants were obtained from the offsprings of two maize inbred lines 18-599 and 08-641, which were carried into space by the Shijian 8 Satellite. The stability of male sterile expression was observed in different locations, years, and seasons. In order to analyze the genetic characteristic of male sterility, testcross, backcross and reciprocal cross were made with these male sterile plants. The results showed that the male sterility character was stable in different locations, years, and seasons, and the sterility was inheritable. Because the maintainer lines and restorer lines for these sterile materials were found, and there was no male sterile plant separated among the reciprocal cross $F_2$. Thus, we concluded that these mutants could be cytoplasmic male sterile. Combining the results of male fertility restoration test and PCR analysis, we could conclude that the three male sterile mutants were classified into the CMS-C type in maize. Owing to their difference in fertility restoration, these mutants may belong to different subgroups of CMS-C type. The discovery of the three male sterile mutants increased the genetic diversity of CMS-C type, improved the tolerance to *Bipolaris maydis*, and laid a foundation for extensive application of CMS-C in seeds production.

**Keywords:** maize; space mutagenesis; cytoplasmic male sterile (CMS); mutant; genetic analysis

---

收稿日期：2010–08–16；修回日期：2010–11–21
基金项目：国家“十一五”科技支撑计划项目(编号：2008BAD97B03)资助
作者简介：张采波，博士研究生，研究方向：玉米遗传育种。E-mail: zhang_caibo@126.com
通讯作者：荣廷昭，教授，博士生导师，研究方向：玉米遗传育种。E-mail: rongtz@sicau.edu.cn
曹墨菊，教授，博士生导师，研究方向：玉米生物技术育种。E-mail: caomj@sicau.edu.cn

植物在有性繁殖过程中不能产生正常花药、花粉或雄配子的遗传现象称为雄性不育(Male sterility)。根据其遗传特点，雄性不育可分为由细胞核基因控制的核不育(Nuclear male sterility, NMS)以及由细胞核和细胞质基因共同控制的核质互作雄性不育，也称细胞质雄性不育(Cytoplasmic male sterility, CMS)。雄性不育广泛存在于植物界，已在 43 科、162 属、320 个种和 297 个种间杂种中发现了雄性不育现象[1]，并且这个数目还在不断增加。雄性不育是遗传研究和育种利用的宝贵资源，对杂种优势的广泛利用起到了巨大的推动作用[2, 3]，在作物群体遗传改良和多基因聚合等方面可以作为桥梁载体[4]。自 20 世纪 70 年代玉米小斑病T小种在美国爆发流行以来，人们开始把注意力转到选育新的不育胞质源和加强对细胞核雄性不育的利用研究[5~7]。

空间诱变育种是指利用返回式卫星或高空气球将作物种子带到太空，利用太空特殊的环境使生物体产生变化，引起生物体DNA序列结构变化和染色体畸变，进而导致生物体性状发生改变，经地面种植选育新种质、培育新品种的作物诱变育种新技术[8~10]。它具有诱变效率高、变异幅度大、育种周期短、无环境污染等特点，在当今植物育种中发挥着重要的作用。自 1987 年以来，我国共进行了 23 次 70 多种植物的空间搭载实验，诱变选育出一系列高产、优质、多抗的水稻、小麦、番茄、青椒、芝麻等作物新品种[11, 12]。利用空间诱变成功选育玉米细胞核雄性不育突变体的研究已有报道[13~15]，但关于从卫星搭载玉米种子后代中获得细胞质雄性不育突变体的研究尚未见报道。

四川农业大学玉米研究所于 2006 年选送优良玉米自交系在“实践八号”卫星上进行搭载实验，从中获得 3 份雄性不育突变材料，本文对 3 份雄性不育突变材料从田间育性表现、恢保关系测定、正反交遗传分析及特异引物的 PCR 扩增等方面进行了初步鉴定和遗传分析。该不育材料的发现，丰富了玉米雄性不育胞质的遗传基础，拓宽了雄性不育的研究内容，为进一步推进不育化制种在玉米杂种优势中的利用奠定了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料及卫星搭载处理

将玉米自交系 08-641、18-599 种子一分为二，一份留在地面保存作对照，另一份于 2006 年 9 月 9 日利用返回式卫星“实践八号”搭载，通过“长征二号丙”运载火箭发射到指定的太空轨道，在近地点 187 km、远地点 463 km 的轨道上运行 15 d 后，返回地面。

用于测交、恢保关系测定及正反交遗传分析的玉米自交系有: 5022、Mo17、自 330、48-2、18 白、RP125、478、ES40、自凤-1、恢 313、凤可-1、广 10-2 和 A619。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 田间试验

2007 年将空间搭载回收种子与对照种子同时种植于四川农业大学多营农场。根据各自交系的种子量，处理种子分别种植 25~40 行，对照种子分别种植 10 行，行长 3 m，行距 0.80 m，单粒播种，田间精细管理。卫星搭载回收种子的处理当代记为 $SP_1$, $SP_1$ 自交后代记为 $SP_2$, $SP_2$ 自交后代记为 $SP_3$，其余依次类推。

#### 1.2.2 育性鉴定

育性鉴定采用田间鉴定和室内花粉镜检相结合的方法。田间育性鉴定采用Duvick[16]提出的 5 级育性鉴定标准，于散粉期分 3 次逐株进行育性鉴定；室内用 1%的I-KI染色，镜检花粉粒的可染性。

#### 1.2.3 不育性状稳定性及遗传特性分析

对不育株及其测交后代，分别在四川多营、云南西双版纳两地进行种植，观察其育性表现。以不育株为母本，同区可育株和其它自交系为父本进行杂交，对杂交 $F_1$ 及其自交或回交后代进行育性调查。同时，以自交系ES40、08-641 和RP125 为母本，以不育株与自 330 测交 $F_1$ 育性完全恢复的植株为父本进行反交，观察反交 $F_1$、$F_2$ 的育性表现。根据测交后代育性表现，参照郑用琏[17]提出的玉米细胞质雄性不育分类标准，分析不育材料所属胞质类型。

#### 1.2.4 不育胞质特异引物 PCR 扩增

根据玉米CMS-C、CMS-T和CMS-S的线粒体特异序列分别设计不育胞质特异引物，引物的DNA序列受专利保护[18~20]。取不育株和可育株幼嫩叶片，采用DNAquick Plant System试剂盒提取DNA，同时

提取 3 个已知细胞质类型的不育材料CMS-$T_{Mo17}$、CMS-$C_{Mo17}$ 和CMS-$S_{Mo17}$ 的基因组DNA，将提取的玉米基因组DNA稀释至 20 ng/μL。PCR扩增体系为 25 μL，包括模板DNA 1 μL、10 mmol/L特异引物 1 μL、10 mmol/L dNTPs 0.4 μL、10×buffer 2.5 μL、25 mmol/L的$MgCl_2$ 1.5 μL和 5 U/μL的*Taq*酶 0.2 μL，加$ddH_2O$至 25 μL，加矿物油 1~2 滴。PCR扩增程序为：94℃ 2 min; 94℃ 30 s, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min, 30 个循环; 72℃ 10 min。PCR扩增产物用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。

## 2　结果与分析

### 2.1　不育材料的选育

2007 年在自交系 18-599 处理当代($SP_1$)中发现一雄性不育突变株，用同区可育株授粉保种，2008 年将该不育株上收获的种子进行种植(区号为 c8782)，结果出现育性分离，不育株分别用同区可育株授粉保种和其它自交系测交保种。2008 年在自交系 18-599 的 $SP_2$ 代发现 c8613 小区出现一雄性不育植株，用自交系 5022 测交保种；在自交系 08-641 的 $SP_2$ 代发现 c8396 小区出现多个雄性不育株，不育株分别用同区可育株授粉保种和其它自交系测交保种。

不育株小穗的花药干瘪，无花药外露(图 1)。用 1%的 KI-I 染色，镜检花粉粒的可染性(图 2)，不育株花药内基本无花粉粒或有少数不可染的畸形花粉粒，可育株花药内充满正常可染的花粉粒。

### 2.2　不育材料的育性遗传特性分析

在四川雅安和云南西双版纳分别种植不育株的不同测交后代。不育材料 c8396A、c8782A 与 RP125 的测交后代以及不育材料 c8613A 与 5022 的测交后

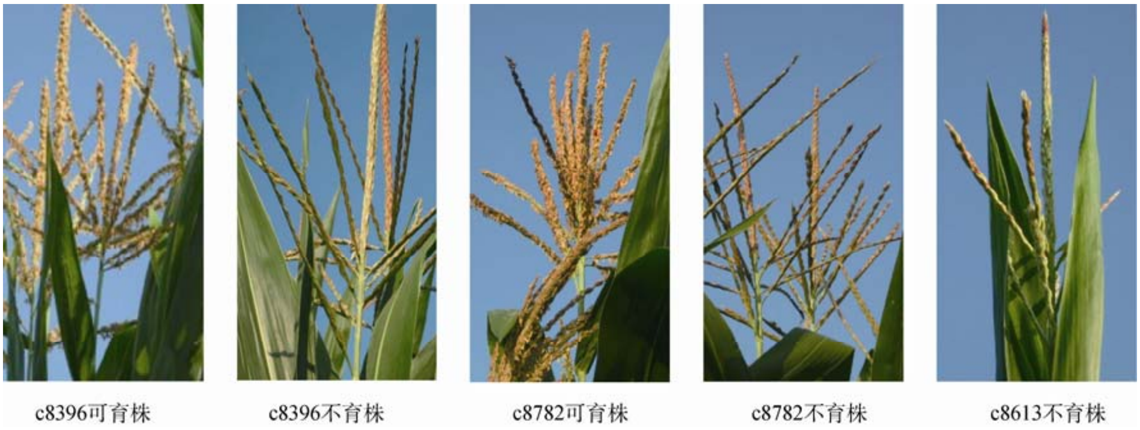


**图 1**　可育株与不育株的雄穗特征

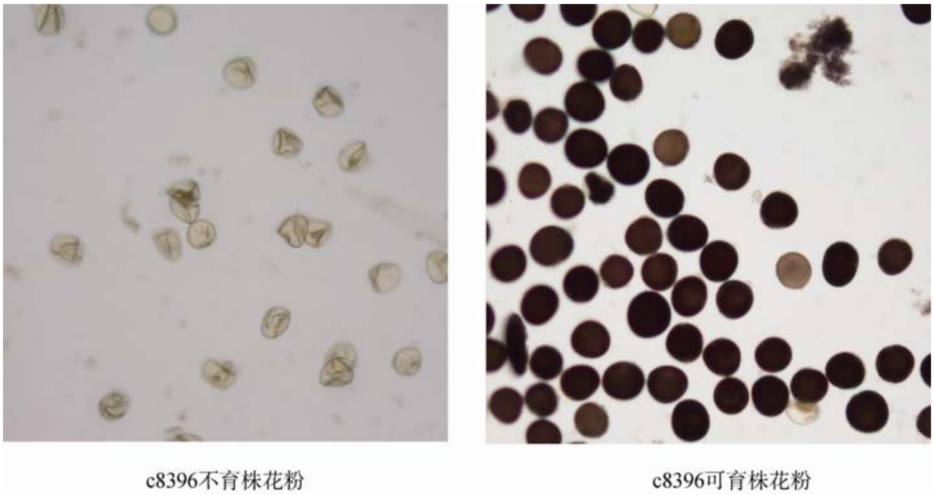


**图 2**　不育株和可育株的花粉镜检结果

代，在不同地点、不同季节种植均表现为完全不育。由此可见，3 份不育材料的育性表现不受环境条件影响，均属可遗传的雄性不育突变。

分别以 3 份不育材料为母本，以自交系 5022、Mo17、自 330、48-2、18 白、RP125、478、ES40 为父本进行测交，测交后代分别在四川雅安和云南西双版纳种植，育性调查结果见表 1。由表 1 可知，自交系 5022 对不育材料 c8613A 表现为保持不育性，Mo17、RP125 对不育材料 c8396A 表现为保持不育性，RP125 对不育材料 c8782A 表现为保持不育性；自 330 对不育材料 c8396A、c8782A 均表现为育性完全恢复；5022、48-2、18 白等自交系与不育材料 c8396A、c8782A 的测交后代则表现不同程度的育性分离。说明自交系 5022 为不育材料 c8613A 的保持系，RP125 为不育材料 c8396A 和 c8782A 的共同保持系，自 330 为不育材料 c8396A 和 c8782A 的共同的恢复系。由于 3 份雄性不育材料均能找到完全保持系，故推测 3 份不育突变体可能为细胞质雄性不育。

选取不育材料测交后代不育株出现比例较高的组合，用原父本继续回交得到回交一代($BC_1$)，$BC_1$ 的育性表现见表 2。从表 2 可知，5022 对不育材料 c8613A 仍表现为育性完全保持；RP125 对不育材料 c8396A 仍表现为育性完全保持性，5022、Mo17 与不育材料 c8396A 的回交一代出现较高比例的不育株；478、RP125 对不育材料 c8782A 表现育性完全保持，ES40 与不育材料 c8782A 的回交一代出现较高比例的不育株。

**表 1　不育材料与自交系测交 $F_1$ 的育性表现**

| 组合 | 云南 | | | | | | 四川 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 总株数 | 育性表现 | | | | | 总株数 | 育性表现 | | | | |
| | | Ⅰ | Ⅱ | Ⅲ | Ⅳ | Ⅴ | | Ⅰ | Ⅱ | Ⅲ | Ⅳ | Ⅴ |
| C8613A×5022 | 28 | 28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22 | 22 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C8396A×5022 | 68 | 68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 28 | 3 | 9 | 0 | 10 |
| C8396A×Mo17 | 11 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | – | – |
| C8396A×自 330 | 55 | 0 | 0 | 0 | 0 | 55 | 31 | 0 | 0 | 3 | 0 | 28 |
| C8396A×48-2 | 50 | 9 | 0 | 4 | 0 | 37 | 42 | 7 | 0 | 6 | 0 | 29 |
| C8396A×18 白 | 28 | 26 | 1 | 1 | 0 | 0 | 22 | 17 | 0 | 3 | 0 | 2 |
| C8396A×RP125 | 24 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| C8782A×5022 | 66 | 58 | 1 | 5 | 1 | 1 | 100 | 53 | 0 | 16 | 0 | 31 |
| C8782A×Mo17 | 71 | 39 | 9 | 12 | 0 | 11 | 53 | 6 | 0 | 18 | 0 | 29 |
| C8782A×48-2 | 70 | 11 | 14 | 4 | 0 | 41 | 50 | 3 | 0 | 8 | 0 | 39 |
| C8782A×478 | 78 | 73 | 0 | 3 | 0 | 2 | 51 | 26 | 5 | 18 | 0 | 2 |
| C8782A×自 330 | 73 | 0 | 0 | 0 | 0 | 73 | 44 | 0 | 0 | 0 | 0 | 44 |
| C8782A×ES40 | 33 | 28 | 1 | 4 | 0 | 0 | 27 | 22 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| C8782A×18 白 | 16 | 15 | 0 | 0 | 0 | 1 | 49 | 23 | 0 | 5 | 0 | 21 |
| C8782A×RP125 | 68 | 68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 37 | 37 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注：Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ为 Duvick 提出的玉米雄花 5 级育性标准，“–”表示组合缺失，“A”表示不育株，以下各表同。

**表 2　不育材料与自交系回交($BC_1$)的育性表现**

| 组合 | 总株数 | 育性表现 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Ⅰ | Ⅱ | Ⅲ | Ⅳ | Ⅴ |
| c8396A×$5022^2$ | 48 | 42 | 0 | 5 | 0 | 1 |
| c8396A×$Mo17^2$ | 25 | 24 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| c8396A×18 白 $^2$ | 20 | 14 | 0 | 2 | 0 | 4 |
| c8396A×$RP125^2$ | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8782A×$5022^2$ | 29 | 16 | 0 | 1 | 0 | 12 |
| c8782A×$Mo17^2$ | 27 | 9 | 0 | 5 | 0 | 13 |
| c8782A×$48\text{-}2^2$ | 27 | 11 | 1 | 1 | 0 | 14 |
| c8782A×$478^2$ | 27 | 27 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8782A×$ES40^2$ | 29 | 27 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| c8782A×$RP125^2$ | 24 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8613A×$5022^2$ | 25 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注：自交系上标数字表示回交次数，以下各表同。

将 $BC_1$ 代中不育株出现比例较高的组合继续回交，得回交二代($BC_2$)，$BC_2$ 育性表现见表 3。5022、Mo17 与不育材料 c8396A 的回交二代植株表现为完全不育或高度不育，ES40 与不育材料 c8782A 的回交二代植株均表现为完全不育。回交得到 3 份不育材料对应的稳定保持系，即不育材料 c8613A 的保持系为 5022，不育材料 c8396A 的保持系为 5022、Mo17 和 RP125，不育材料 c8782A 的保持系为 478、ES40 和 RP125。不育材料 c8396A 与 c8782A 对应的保持系不完全相同，推测它们可能属于不同组别的细胞质雄性不育类型。

为进一步研究不育材料 c8396A 和 c8782A 的不育特性在其它细胞质背景下的表现，本研究以自交系 08-641、ES40、RP125 为母本，以上述不育材料和自 330 测交后代育性完全恢复的 $F_1$ 植株为父本进行杂交，记为反交 $F_1$。种植反交 $F_1$ 均为完全可育，将其自交得到反交 $F_2$，反交 $F_2$ 育性调查结果见表 4。由表 4 可知，在云南和四川分别种植反交 $F_2$ 均无不育株出现。前述研究表明，RP125 为不育材料 c8396A 和 c8782A 的完全保持系，ES40 为不育材料 c8782A 的完全保持系，但以 08-641、RP125、ES40 为母本进行反交，后代均未出现不育性状分离，表明不育性状遗传受正反交效应影响，说明供试材料为典型细胞质雄性不育遗传类型。

**2.3　不育材料的恢保关系鉴定**

按照郑用琏[17]提出的依据恢复专效性原理对我国玉米细胞质雄性不育进行分类的标准，本研究特选用自凤-1 和恢 313 为测验系，因凤可-1、广 10-2 和A619 为玉米CMS-C的恢复系，故本研究也用来进行恢复性测定。恢保关系测定结果见表 5，以恢 313 为父本的杂交后代均表现为完全不育，以自凤-1 为父本的杂交后代均表现为完全可育。参照郑用链[17]提出的细胞质雄性不育胞质分类标准，可推断 3 份不育材料均属于C型细胞质不育类型。凤可-1、广 10-2 和A619 对不育材料c8613A、c8396A和c8782A也均表现为育性恢复。

**2.4　不育材料所属胞质类别的PCR鉴定**

为进一步从分子水平验证 3 份不育材料所属不育胞质类别，本研究分别提取 3 份不育材料不同转育世代、不同核背景下的基因组 DNA，利用 CMS-C、CMS-T、CMS-S 的特异引物对供试材料进

表 3　不育材料与自交系回交($BC_2$)的育性表现

| 组合 | 总株数 | 育性表现 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Ⅰ | Ⅱ | Ⅲ | Ⅳ | Ⅴ |
| c8396A×$5022^3$ | 18 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8396A×$Mo17^3$ | 28 | 25 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| c8396A×$RP125^3$ | 26 | 26 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8782A×$RP125^3$ | 28 | 28 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8782A×$478^3$ | 24 | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8782A×$ES40^3$ | 25 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| c8613A×$5022^3$ | 25 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 |

表 4　反交 $F_2$ 的育性表现

| 组合 | 云南 | | | | | | 四川 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 总株数 | 育性表现 | | | | | 总株数 | 育性表现 | | | | |
| | | Ⅰ | Ⅱ | Ⅲ | Ⅳ | Ⅴ | | Ⅰ | Ⅱ | Ⅲ | Ⅳ | Ⅴ |
| [ES40×(c8396A×自 330)]$F_2$ | 87 | 0 | 0 | 0 | 0 | 87 | 110 | 0 | 0 | 0 | 0 | 110 |
| [08-641×(c8396A×自 330)]$F_2$ | 95 | 0 | 0 | 0 | 0 | 95 | 109 | 0 | 0 | 0 | 0 | 109 |
| [RP125×(c8396A×自 330)]$F_2$ | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 | 112 | 0 | 0 | 0 | 0 | 112 |
| [ES40×(c8782A×自 330)]$F_2$ | 91 | 0 | 0 | 0 | 0 | 91 | 109 | 0 | 0 | 0 | 0 | 109 |
| [08-641×(c8782A×自 330)]$F_2$ | 87 | 0 | 0 | 0 | 0 | 87 | 112 | 0 | 0 | 0 | 0 | 112 |
| [RP125×(c8782A×自 330)]$F_2$ | 105 | 0 | 0 | 0 | 0 | 105 | 111 | 0 | 0 | 0 | 0 | 111 |

表 5　不育材料的恢保关系测定

| 母本＼父本 | 自凤-1 | 恢 313 | 凤可-1 | 广 10-2 | A619 |
|---|---|---|---|---|---|
| (c8613A×5022)A | B | A | B | – | – |
| (c8613A×$5022^2$)A | B | A | B | – | – |
| (c8396A×c8396)A | B | A | – | – | B |
| (c8396A×5022)A | B | A | B | B | B |
| [(c8396A×c8396B)A×R08]A | B | A | B | B | – |
| (c8396A×$5022^2$)A | B | A | B | B | B |
| (c8782A×c8782B)A | B | A | B | B | B |
| (c8782A×5022)A | B | A | B | B | B |
| [(c8782A×c8782B)A×18-599]A | B | A | B | B | B |
| (c8782A×$5022^2$)A | B | A | B | B | B |

注:　“A”表示不育; “B”表示可育。

行 PCR 扩增。3 对特异引物的多重 PCR 扩增结果见图3，由图3可知，待测不育材料的多重PCR扩增结果与 CMS-C $_{Mo17}$ 的扩增结果一致。利用 3 对特异引物分别对供试材料进行单引物 PCR 扩增结果见图4。由图 4 可知，待测不育材料的 PCR 扩增条带与 CMS-C $_{Mo17}$ 的扩增条带一致，片段大小为 600 bp，明显区别于 CMS-T(435 bp)和 CMS-S(950 bp)。多聚PCR和单引物的PCR扩增结果均表明待测不育材料属 C 型细胞质雄性不育类型，这与田间恢保关系测定结果一致。

## 3　讨 论

本试验以玉米自交系08-641和18-599为诱变材料，利用返回式卫星“实践八号”进行搭载处理，从诱变后代中选育出 3 份雄性不育材料，经恢复专效性鉴定，结合特异引物的PCR扩增，初步认为3份不育突变材料均属于玉米C型细胞质雄性不育类型。进一步以对供试不育材料表现为保持的自交系为母本，以不育材料与测验系杂交表现育性恢复的$F_1$为父本，进行反交，反交$F_1$和反交$F_2$均未出现雄性不育植株，雄性不育性状在正反交后代的差异表现充分说明供试不育材料为细胞质雄性不育遗传类型。从空间诱变后代成功选育玉米细胞核雄性不育的研究已有报道[13, 15]，但从空间诱变后代成功选育玉米细胞质雄性不育的研究本文尚属首次报道。

本研究发现利用细胞质特异引物对不育材料进

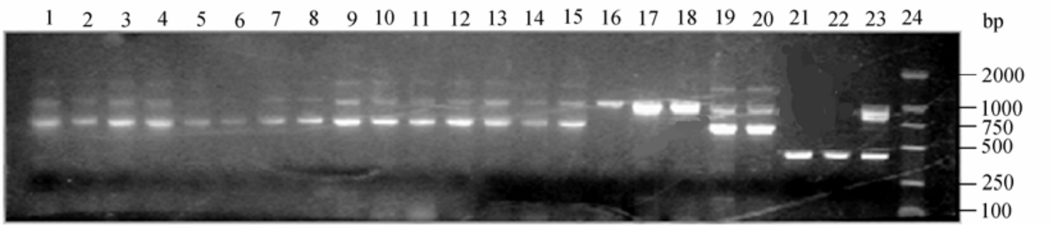


**图 3　3 对特异引物的多重 PCR 扩增结果**

1: (c8613A×5022)A; 2: (c8613A×$5022^2$)A; 3: (c8613A×$5022^3$)A; 4~6: (c8396A×c8396)A; 7: (c8396A×5022)A; 8: (c8396A×$5022^2$)A; 9: (c8396A×$5022^3$)A; 10~12: (c8782A×c8782)A; 12~15: (c8782A×5022)A; 16: 08-641; 17: 18-599; 18: Mo17; 19,20: CMS-C $_{Mo17}$; 21,22: CMS-T $_{Mo17}$; 23: CMS-S $_{Mo17}$; 24: Marker。

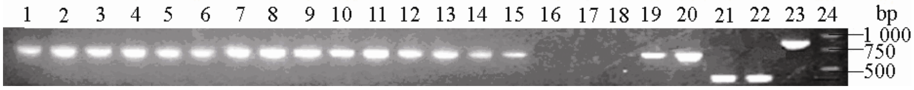


**图 4　单引物 PCR 扩增结果**

1: (c8613A×5022)A; 2: (c8613A×$5022^2$)A; 3: (c8613A×$5022^3$)A; 4~6: (c8396A×c8396)A; 7: (c8396A×5022)A; 8: (c8396A×$5022^2$)A; 9: (c8396A×$5022^3$)A; 10~12: (c8782A×c8782)A; 12~15: (c8782A×5022)A; 16: 08-641; 17: 18-599; 18: Mo17; 19,20: CMS-C $_{Mo17}$; 21,22: CMS-T $_{Mo17}$; 23: CMS-S $_{Mo17}$; 24: Marker。1~20 泳道: CMS-C 引物; 21,22 泳道: CMS-T 引物; 23 泳道: CMS-S 引物。

行 PCR 鉴定，多聚 PCR 和单引物 PCR 扩增均可起到相同的效果，而多聚 PCR 则具有简便快捷的特点。对待测不育材料进行特异引物的 PCR 扩增时，不育胞质的扩增结果不因核背景及转育世代的不同而有所差别，可见不育胞质特异引物的 PCR 扩增不受核背景及转育世代的影响。

通常认为空间诱变后的 $SP_2$、$SP_3$ 是变异性状出现的主要世代，而本研究分别从 $SP_1$、$SP_2$ 中成功选育出细胞质雄性不育突变体，并且从 $SP_1$ 和 $SP_2$ 中选育出的细胞质雄性不育突变材料存在一定差异，可能分别属于玉米 C 型细胞质的不同亚组。这些不育材料的成功创制丰富了玉米不育化制种的种质基础，为利用 CMS-C 进行不育化育种创造了条件。利用新选细胞质雄性不育同属玉米 CMS-C 类群，又分别属于不同亚组的特点，既可以较为容易地找到它们共同的保持系和恢复系，又可通过混合使用以增加细胞质的异质性和多样化，防止和避免优势生理小种的出现及专化侵染，为进一步推进玉米 CMS-C 在不育化制种中的广泛利用提供保障。

## 参考文献(References):


[1] Kaul MLH. Male sterility in higher plants. Berlin: Springer-Verlag Press, 1988.[DOI]

[2] 孟金陵．植物生殖遗传学．北京：科学出版社, 1995.

[3] 李竞雄，周洪生，孙荣锦．玉米雄性不育分子生物学．北京：中国农业出版社出版, 1998, 1–29.

[4] 王玉元．植物核型雄性不育在我国的研究现状及其应用前景．生物科学信息, 1991, 3(4): 21–24. [DOI]

[5] 孙庆泉，荣廷昭．玉米核雄性不育材料的研究及其在分子育种中的利用．植物学通报，2003，20(2)：248–253. [DOI]

[6] 李维平，张建国，葛世敏，杨驱虎．玉米细胞核雄性不育基因利用新途径．中国农学通报，1998，14(3)：35–36. [DOI]

[7] 孙庆泉，荣廷昭．玉米雄性不育材料的研究和利用进展．玉米科学, 2003, 11(2): 22–27. [DOI]

[8] 温贤芳，张龙，戴维序，李春华．天地结合开展我国空间诱变育种研究．核农学报，2004，18(4)：241–246. [DOI]

[9] 密士军，郝再彬．航天诱变育种研究的新进展．黑龙江农业科学, 2002(4): 31–33,153. [DOI]

[10] 刘录祥，郑企成．空间诱变与作物改良．北京：原子能出版社, 1997. [DOI]

[11] 刘录祥，赵林姝，郭会君．作物航天育种研究现状与展望．中国农业科技导报, 2007, 9(2): 26–29. [DOI]

[12] 潘光辉，尹贤贵，杨琦凤，张赞．作物航天诱变育种研究进展．西南农业学报, 2005, 18(6): 853–857. [DOI]

[13] 曹墨菊，荣廷昭，潘光堂．首例航天诱变玉米雄性不育突变体的遗传分析．遗传学报，2003，30(9)：817–822. [DOI]

[14] 曹墨菊，荣廷昭，潘光堂．卫星搭载获得玉米基因雄性不育的初步鉴定．四川农业大学学报，2000，18(2)：100–103. [DOI]

[15] 李玉玲，余永亮，刘艳霞，李学慧，付家锋．两份太空诱变玉米雄性不育突变体的遗传研究．遗传，2007，29(6): 738–744. [DOI]

[16] Duvick DN. Cytoplasmic pollen sterility in corn. *Adv Genet*, 1965, 13(1): 1–56. [DOI]

[17] 郑用琏．若干玉米细胞质雄性不育类型(CMS)育性机理的研究．华中农学院学报, 1982, (1): 44–68. [DOI]

[18] 张祖新，方明镜，杜何为，邓莉蓉，郑用琏．基于PCR技术的玉米CMS材料胞质类型的快速鉴定．作物学报，2005, 31(10): 1386–1388. [DOI]

[19] Liu ZY, Peter SO, Long MH, Weingartner U, Stamp P, Kaeser O. A PCR assay for rapid discrimination of sterile cytoplasm types in maize. *Crop Sci*, 2002, 42(2): 566–569. [DOI]

[20] 陈伟，刘占先，鄂立柱，杨会，戴景瑞．玉米细胞质雄性不育材料CMS-P的胞质分类研究．作物学报，2007，33(2)：196–200. [DOI]