

网络出版时间:2015-03-12 14:17

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.04.032

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150312.1417.032.html

玉米孤雌生殖单倍体高效诱导研究

刘晓鑫,慈佳宾,崔学宇,张 野,赵 超,杨伟光

(吉林农业大学 农学院,吉林 长春 130118)

【摘 要】 【目的】分析不同因素处理下玉米单倍体诱导率的变化,以提出高效诱导玉米单倍体的技术措施。【方法】研究不同母本基因型、世代选择、生态环境、授粉时期、果穗部位等 5 个处理因素对玉米单倍体诱导率的影响。【结果】母本基因型间单倍体的诱导效率差异显著,但不同杂交模式与诱导率之间没有必然的联系;5 大种质类群 S_1 世代为单倍体最佳诱导世代;与长春吉林相比,海南三亚的生态环境更有利于提高单倍体的诱导率;早期授粉的单倍体诱导率高于晚期授粉;果穗底部籽粒的单倍体诱导率低于顶部籽粒。【结论】选择高频的母本材料、适宜的诱导世代、在合适的地点于吐丝早期进行单倍体诱导是单倍体诱导的最佳方案。

【关键词】 玉米;单倍体育种;诱导率

【中图分类号】 S513.032

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2015)04-0035-09

Study on *in-vivo* haploid inducing efficiency in maize

LIU Xiao-xin, CI Jia-bin, CUI Xue-yu, ZHANG Ye, ZHAO Chao, YANG Wei-guang

(Agronomy College, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: 【Objective】 This study analyzed the change in inducing rate of maize haploid with different processing factors to propose new technique with efficient induction rate. 【Method】 Effects of five factors including of genotype of female parent, generation selection, ecological environment, pollination stage, and ear position on maize haploid inducing rate were analyzed. 【Result】 The haploid induction rates of different female parents were significantly different but the relationship between crossing pattern and induction rate was insignificant. S_1 was the optimal induced haploid generation for five germplasm types. Compared with Changchun, it was better to increase the haploid inducing rate in Sanya. Early pollination had higher haploid inducing rate than late pollination and lower part of ear had the higher haploid inducing rate than top of ear. 【Conclusion】 To increase maize haploid inducing rate and optimize the haploid induction, female parents with high frequency, suitable genotype and S_1 generation should be selected, and induction should be conducted in location with stable environment at early stage of silking.

Key words: maize; doubled haploid breeding; inducing rate

单倍体育种是指利用单倍体诱导系结合标记性状诱发,再通过染色体组加倍(包括自然和人工加倍)等手段使植株恢复正常染色体数的一种育种方法。玉米单倍体育种技术是一种快速获得玉米自交系的新方法,它的显著特点是能大大缩短自交系的

选育时间。利用常规育种方法一般要经过 6~7 代(3~4 年)才可得到自交系,而利用单倍体技术只需 2 代(1 年)就可以得到^[1]。近年来,玉米单倍体育种技术与常规育种技术的有机结合,提高了玉米育种的效率,开辟了玉米育种的新途径^[2]。

【收稿日期】 2013-12-04

【基金项目】 国家“863”计划项目(2011AA10A103);国家科技计划项目(2011BAD35B01);农业部“948”项目(2011-G1-21)

【作者简介】 刘晓鑫(1980—),女,吉林双辽人,在读博士,主要从事玉米遗传育种研究。E-mail:32120897@qq.com

【通信作者】 杨伟光(1960—),男,吉林梨树人,教授,博士生导师,主要从事玉米遗传育种研究。E-mail:yw789@126.com

单倍体植株经染色体加倍后,在一个世代中即可出现纯合的二倍体,从中选出的优良纯合系后代不分离,表现整齐一致,可缩短育种年限^[3]。单倍体植株中由隐性基因控制的性状,虽经过染色体加倍,但由于没有明显基因的掩盖而容易显现,这对于诱变育种和突变遗传研究很有好处^[4]。鉴于此,国内外各大公司、科研院所和高等院校相继开展玉单倍体育种,以加速培育优良自交系,并应用于玉米育种研究中^[5]。但在玉米单倍体育种实践中,单倍体诱导率低^[6]、难以获得足够数量的单倍体,成为亟待解决的问题。

黎亮等^[7]研究表明,不同母本基因型间单倍体的诱导效率差异很大;李国良等^[8]的研究结果表明,诱导兰卡斯特类群材料产生单倍体的频率要显著高于瑞德、塘四平头、旅大红骨类群和地方种质群;Röber 等^[9]报道,不同环境间诱导率差异很大,在比较差的环境下平均诱导率仅 2.0%,而在理想的环境下诱导率可以高达 16.4%;黎亮等^[7]在研究中发现,海南冬季的诱导率显著高于北京夏季。单倍体的诱导是单倍体育种的前提,但由于诱导系受到上述被诱导母本材料和诱导环境等因素的影响,使得

该技术的“工厂化”应用受到限制。因此如何优化诱导技术、提高诱导系的诱导效率、充分发挥诱导系的诱导效能,一直是人们探索的重要课题。本研究分析和探讨了实际玉米育种中不同诱导因素下诱导率的变化特点,进而提出高效诱导单倍体的技术措施,以期为进一步有效利用单倍体诱导系和单倍体诱导技术提高育种效率并选育自有的单倍体诱导系及快速培育玉米自交系奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 单倍体诱导的母本基因型效应

根据东北地区玉米育种实践中常用的亲本材料和主要的杂种优势模式,于 2011 年春季选择 10 个自交系、10 个杂交组合作为母本(即被诱导材料),种植于吉林农业大学长春玉米育种基地,每个试验材料种植 1 行,行距 65 cm,株距 25 cm,无区组重复,试验材料及编号见表 1。父本材料为诱导系 JS6-1,是吉林农业大学作物遗传育种教研室选育的遗传标记明显、花粉量大、持粉时间长、抗病性好的新型诱导系。

表 1 玉米单倍体诱导母本基因型效应试验供试母本材料

Table 1 Experimental female maize materials of maize haploid induced female genotype effect test

母本 Female	材料名称 Name	所属类群 Group	母本 Female	材料名称 Name	所属类群 Group
L-1	郑 58 Zheng 58	Reid	L-11	郑 58×PH6WC Zheng 58×PH6WC	Reid×Reid
L-2	PH6WC	Reid	L-12	郑 58×PHGJ4 Zheng 58×PHGJ4	Reid×Reid
L-3	PHGJ4	Reid	L-13	丹 340×PHB1M Dan 340×PHB1M	旅大红骨×Lancaster Lüda Red Cob×Lancasterr
L-4	昌 7-2 Chang 7-2	塘四平头 Tang 4 pingtou	L-14	S122×PHB1M	旅大红骨×Lancaster Lüda Red Cob×Lancaster
L-5	吉 853 Ji853	塘四平头 Tang 4 pingtou	L-15	S122×昌 7-2 S122×Chang 7-2	旅大红骨×塘四平头 Lüda Red Cob×Tang 4 pingtou
L-6	S122	旅大红骨 Lüda Red Cob	L-16	丹 340×昌 7-2 Dan 340×Chang 7-2	旅大红骨×塘四平头 Lüda Red Cob×Tang 4 pingtou
L-7	丹 340 Dan 340	旅大红骨 Lüda Red Cob	L-17	PHGJ4×丹 340 PHGJ4×Dan 340	Reid×旅大红骨 Reid×Lüda Red Cob
L-8	PHB1M	Lancaster	L-18	PH6WC×S122	Reid×旅大红骨 Reid×Lüda Red Cob
L-9	PH4CV	Lancaster	L-19	PH4CV×PHB1M	Lancaster×Lancaster
L-10	合 344 He 344	Lancaster	L-20	PH4CV×合 344 PH4CV×He 344	Lancaster×Lancaster

于母本吐丝 3~4 d 后进行授粉,每个试验材料杂交 10~20 穗,收获后在果穗上挑选胚芽无色、粒顶紫色、胚呈近三角形的籽粒为准单倍体,所有准单倍体于 2012 年春种植于吉林农业大学长春玉米育种基地,进行进一步的种植鉴定,其中单倍体表现为植株矮小、叶片和茎秆绿色、多为不育,而杂交二倍体表现为植株高大、茎秆紫色、花粉可育。根据田间

鉴定结果统计不同基础材料的单倍体诱导率。

试验原始数据先在 Excel 2007 软件中进行处理,再用 DPS 7.1 软件进行数据分析^[10]。群单倍体诱导率的计算采用李国良等^[11]的方法。

群单倍体诱导率=本群单倍体粒数/群总粒数×100%。

1.2 不同种质世代的选择效应

母本材料为吉林农业大学作物遗传育种教研室经过多轮选择获得的不同世代的 4 大种质类群和温带 I 群(表 2),父本材料为 JS6-1。2011 年春季,将玉米材料种植于吉林农业大学长春玉米育种基地,每个材料种植 2 行,行距 65 cm,株距 25 cm,无区组重复,同年 7 月进行杂交授粉,9 月收获,共获得不

同世代 5 个基础种质群 250 个杂交果穗,共收获 48 642 粒种子,其中准单倍体 2 806 粒。2012 年春,将收获的不同世代种质类群的准单倍体种子进行田间播种,采用完全随机试验设计,单倍体鉴定的方法同 1.1。

表 2 玉米单倍体诱导不同种质世代试验供试母本材料

Table 2 Experimental female maize materials of maize haploid induced different germplasm generations test

母本 Female	组群成份 Group composition	世代数量 Number
Lancaster 群 Group of Lancaster	吉 842、吉 846、杂 C546、495、Mo17、合 344、龙抗 11、412、419、485 等 10 系近缘混粉杂交 10 strains of Ji 842, Ji 846, Za C546, 495, Mo17, He 344, Longkang 11, 412, 419, 485 et al. mltimale parent	S ₁ —S ₅ 代各 10 株 10 strains of S ₁ —S ₅
Reid 群 Group of Reid	铁 C8605-2、沈 5003、9137、1216、选 73、铁 C8605、铁 7922、丹 9046、丹 9041、辽 8160、辽 2053 等 11 系近缘混粉杂交 11 strains of Tie C8605-2, Shen 5003, 9137, 1216, Xuan 73, Tie C8605, Tie 7922, Dan 9046, Dan 9041, Liao 8160, Liao 2053 et al. mltimale parent	S ₁ —S ₅ 代各 10 株 10 strains of S ₁ —S ₅
塘四平头群 Group of Tang 4 pingtou	黄早四、444、吉 853、吉 854、吉 856、482、黄 428、丹 5026、昌 7-2 等 9 系近缘混粉杂交 9 strains of Huangzao4, 444, Ji 853, Ji 854, Ji 856, 482, Huang 428, Dan 5026, Chang 7-2 et al. mltimale parent	S ₁ —S ₅ 代各 10 株 10 strains of S ₁ —S ₅
旅大红骨群 Group of Lüda Red Cob	郑 22、E28、丹 340、丹 8415、朝 23、丹 360、丹 337、旅 9、旅 10、旅 28、旅 9 宽、丹 T35 等 12 系近缘混粉杂交 12 strains of Zheng 22, E28, Dan 340, Dan 8415, Zhao 23, Dan 360, Dan 337, Lü 9, Lü 10, Lü 28, W-Lu 9, Dan T35 et al. mltimale parent	S ₁ —S ₅ 代各 10 株 10 strains of S ₁ —S ₅
温带 I 群 Group of Tropical germplasm	齐 319、沈 137、丹 599、丹 9195、178、P138、丹 988、丹 3130、8701、Su11、666 等 11 系近缘混粉杂交 11 strains of Qi 319, Shen 137, Dan 599, Dan 9195, 178, P138, Dan 988, Dan 3130, 8701, Su 11, 666 et al. mltimale parent	S ₁ —S ₅ 代各 10 株 10 strains of S ₁ —S ₅

1.3 不同生态环境条件的诱导效应

以吉林农业大学玉米遗传育种课题组选育的品种 JNY103、JNY116 和 JNY688 以及生产上推广面积较大的先玉 335(XY335)和郑单 958(ZD958)共 5 个杂交种作母本(表 3),以诱导系 JS6-2(农大高诱 1 号改良系)为父本进行试验。每个杂交组合选择 10 个以上果穗用于单倍体诱导率的测定,试验于 2011 年在吉林长春和海南三亚进行,长春基地行距 65

cm,株距 21 cm;三亚基地行距 90 cm,株距 17 cm。为了进一步研究不同年份长春和三亚两地间单倍体诱导率的差异,2011、2012 和 2013 年选择胚部标记表达较好的杂交种郑单 958 作母本,JS6-2 为父本,进行杂交诱导获得单倍体籽粒,在长春和三亚分别进行单倍体鉴定,具体鉴定方法同 1.1 节。2010 年鉴定数据来源于吉林农业大学玉米遗传育种课题组在长春和三亚两地的试验结果。

表 3 供试母本玉米材料的血缘及优势模式

Table 3 Consanguinity and heterosis pattern of experimental female maize materials

母本 Female	血缘 Consanguinity	杂种优势模式 Heterosis pattern
先玉 335 XY335	PH6WC×PH4CV	Reid×Lancaster
郑单 958 ZD958	郑 58×昌 7-2 Zheng 58×Chang 7-2	改良 Reid×塘四平头 Improved Reid×Tang 4 pingtou
JNY103	郑 58×J1465 Zheng 58×J1465	改良 Reid×外杂选 Improved Reid×Abroad-hybrid
JNY116	J1492×J1359	Lancaster×Reid
JNY688	NH60/J1658	外杂选×旅大红骨 Abroad-hybrid×Lüda Red Cob

1.4 不同授粉时期的选择效应

试验于 2011 和 2012 年夏在吉林农业大学长春玉米育种基地进行。分别以 ZD958、JNY698、农华 101(NH101)、JNY107 为母本,以诱导系 JS6-1 为父本,选择不同的时期进行授粉。根据母本吐丝后时间(将即将吐丝定义为 0 d,刚吐丝时定义为 1 d,

依次往后记录吐丝后时间)划分授粉时期,具体分为以下 3 个处理:(1)早期授粉,0~吐丝后 1 d 授粉;(2)中期授粉,吐丝后 3~4 d 授粉;(3)晚期授粉,吐丝后 6~9 d 授粉。收获后根据不同的处理,选择结实性好的果穗混合脱粒以进行单倍体的鉴定,仅第一年杂交后鉴定,具体鉴定方法同 1.1。

1.5 果穗不同部位诱导率的差异

试验于 2011 年冬天在吉林农业大学三亚育种基地进行。选择 5 个杂交种(ZD958、XY335、利民 33(LM33)、JNY698、NH101)为母本(表 4),以诱导系 JS6-3(吉高诱 3 号改良系)作父本,杂交 30 穗,收

获后选择结实性好的果穗按底部和顶部(各约占果穗长度的 1/2)分开脱粒,根据籽粒颜色标记进行单倍体的初步鉴定。单倍体的进一步种植鉴定于 2012 年夏在吉林长春进行,仅第 1 年杂交后鉴定,具体鉴定方法同 1.1 节。

表 4 玉米单倍体诱导果穗不同部位试验供试母本材料

Table 4 Experimental female maize materials of maize haploid induced different parts of ear test

母本 Female	血缘 Consanguinity	优势模式 Genetic pattern
郑单 958 ZD958	郑 58×昌 7-2 Zheng 58×Chang 7-2	改良 Reid×塘四平头 Improved Reid×Tang 4 pingtou
先玉 335 XY335	PH6WC×PH4CV	Lancaster×Reid
利民 33 LM33	L201×L269	改良 Reid×外杂选 Improved Reid×Abroad-hybrid
JNY 698	J1312×昌 7-2 J1312×Chang 7-2	改良 Reid×塘四平头 Improved Reid×Tang 4 pingtou
农华 101 NH101	NH60×S121	外杂选×旅大红骨 Abroad-hybrid×Lüda Red Cob

2 结果与分析

2.1 不同玉米母本材料对单倍体诱导率的影响

由表 5 可知,诱导系 JS6-1 对不同母本材料均具有诱导孤雌生殖单倍体的能力。不同母本材料经诱导后诱导率存在明显差异,诱导率最高的是 L-18

(PH6WC×S122),为 10.13%,最低的是 L-17(PH-GJ4×丹 340),为 4.97%,平均诱导率为 8.42%。由此可见,单倍体诱导率的高低受母本基因型材料影响很大,但诱导效率的高低与杂种优势模式没有必然的联系,如诱导率最高和最低的 2 个杂交种均来自于 Reid×旅大红骨的模式。

表 5 不同玉米母本材料的单倍体诱导率

Table 5 Haploid inducing rates of different female parent materials

母本 Female	总粒数 Sum	单倍体粒数 Haploid	诱导率/% Inducing rate	母本 Female	总粒数 Sum	单倍体粒数 Haploid	诱导率/% Inducing rate
L-1	1 103	104	9.43	L-12	1 108	100	9.03
L-2	1 255	117	9.32	L-13	1 011	99	9.79
L-3	906	71	7.84	L-14	780	56	7.18
L-4	664	45	6.78	L-15	507	39	7.69
L-5	1 001	57	5.69	L-16	578	39	6.75
L-6	677	47	6.94	L-17	1 228	61	4.97
L-7	367	31	8.45	L-18	691	70	10.13
L-8	1 441	133	9.23	L-19	1 904	189	9.93
L-9	1 106	109	9.86	L-20	877	74	8.44
L-10	951	89	9.36	平均 Mean	1 045	88	8.42
L-11	2 733	227	8.31				

2.2 不同玉米种质和世代对单倍体诱导率的影响

由表 6 可知,在 JS6-1 诱导下,5 个种质类群和 5 个种质世代均能产生单倍体,不同种质类群和种质世代的群单倍体诱导率差异明显。不同种质类群、不同种质世代单倍体诱导率的二因素方差分析结果见表 7。由表 7 可知,不同种质类群间 $P=0.006\ 4<0.01$,达到极显著水平;不同世代间 $P=0.018\ 0<0.05$,达到显著水平。

由表 8 可知,在不同种质类群单倍体诱导率的多重比较中,5 大类群单倍体平均诱导率存在差异,其中 Lancaster 群、Reid 群、塘四平头群和旅大红骨群单倍体诱导率分别为 4.94%,4.88%,4.16%和

4.08%,彼此之间差异不显著,但均极显著高于温带 I 群(2.12%)。在不同世代单倍体诱导率的多重比较中,同一类群不同世代间诱导率存在差异, S_4 和 S_5 世代群单倍体平均诱导率分别为 5.28%和 5.00%,差异不显著; S_3 、 S_2 和 S_1 世代群单倍体诱导率分别为 3.40%,3.32%和 3.18%,差异不显著,但均显著低于 S_4 和 S_5 世代。诱导系 JS6-1 对 S_1 代平均株单倍体诱导粒数是 12.36 粒,与 S_2 和 S_3 世代差异不显著,但显著高于 S_4 和 S_5 代, S_2 、 S_3 、 S_4 和 S_5 世代间平均株单倍体粒数差异均不显著。综上,5 大种质类群 S_1 世代为单倍体最佳诱导世代。

表 6 不同玉米种质类群和世代的单倍体诱导率

Table 6 Haploid inducing rates of different maize germplasm and generations

世代 Generation	Lancaster 群 Group of Lancaster		Reid 群 Group of Reid		塘四平头群 Group of Tang 4 pingtou	
	平均株单倍体粒数 Average haploids per plant	群单倍体诱导率/% Haploid inducing rate of group	平均株单倍体粒数 Average haploids per plant	群单倍体诱导率/% Haploid inducing rate of group	平均株单倍体粒数 Average haploids per plant	群单倍体诱导率/% Haploid inducing rate of group
S1	23.5	4.7	14.0	3.2	13.0	3.8
S2	13.2	4.9	16.5	3.3	6.6	3.2
S3	16.3	4.5	10.5	3.0	8.0	3.8
S4	17.5	5.1	9.3	9.4	6.5	4.4
S5	12.8	5.5	7.4	5.5	7.2	5.6

世代 Generation	旅大红骨群 Group of Lüda Red Cob		温带 I 群 Group of Tropical germplasm	
	平均株单倍体粒数 Average haploids per plant	群单倍体诱导率/% Haploid inducing rate of group	平均株单倍体粒数 Average haploids per plant	群单倍体诱导率/% Haploid inducing rate of group
S1	8.1	2.4	3.2	1.8
S2	10.3	3.3	2.2	1.9
S3	9.6	3.6	2.3	2.1
S4	8.5	5.4	2.6	2.1
S5	8.7	5.7	2.5	2.7

表 7 不同玉米种质类群和世代单倍体诱导率的方差分析

Talbe 7 Variance analysis on haploid induction rates of different maize germplasm and generations

变异来源 Source of variation	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值 F value	P 值 P value
类群间 Germplasm	27.20	4	6.60	5.37 * *	0.006 4
世代间 Generations	19.81	4	4.93	4.11 *	0.018 0
误差 Error	19.92	16	1.24		
总变异 Total variation	66.93	24			

注: * 表示差异显著($P<0.05$), * * 表示差异极显著($P<0.01$)。
Note: * indicates significant differences ($P<0.05$), * * indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

表 8 不同玉米种质群和世代间单倍体诱导率及每株单倍体粒数

Table 8 Haploid inducing rates of the different maize germplasm and generations and haploids per plant

不同种质类群 Different germplasm	诱导率均值/% Mean inducing rate	不同世代 Different generations	诱导率均值/% Mean inducing rate	平均株单倍体粒数 Numbers per plant
Lancaster 群 Group of Lancaster	4.94 aA	S ₄	5.28 aA	8.88 bA
Reid 群 Group of Reid	4.88 aA	S ₅	5.00 aA	7.72 bA
塘四平头群 Group of Tang 4 pingtou	4.16 aAB	S ₃	3.40 bA	9.34 abA
旅大红骨群 Group of Lüda Red Cob	4.08 aAB	S ₂	3.32 bA	9.76 abA
温带 I 群 Group of Tropical germplasm	2.12 bB	S ₁	3.18 bA	12.36 aA

注: 同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 标不同大写字母表现差异极显著($P<0.01$)。
Note: Different lowercase letters in each column indicate significant difference ($P<0.05$), while different uppercase letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$).

2.3 不同生态环境对玉米单倍体诱导率的影响

由表 9 可以看出, 三亚冬季的单倍体诱导率高于长春夏季, 其中先玉 335、郑单 958、JNY116 在三亚的单倍体诱导率显著高于长春($P<0.05$), JNY688 和 JNY103 在两个地点间的诱导率差异不显著。从表 10 可以看出, 三亚的单倍体诱导率极显著($P<0.01$)高于长春, 其中三亚冬季的平均诱导率为 3.39%, 而长春夏季的诱导率仅为 1.92%。

2.4 不同授粉时期对玉米单倍体诱导率的影响

由表 11 可知, 从总体上来看同一母本吐丝后延迟授粉会降低单倍体的诱导率, 但也有例外, 如

2011 年以 JNY107 为母本, 2012 年以郑单 958、JNY698 为母本于晚期授粉(吐丝后 6~9 d 授粉)时的单倍体诱导率高于中期授粉(吐丝后 3~4 d 授粉)的诱导率。此外, 早期授粉(0~吐丝后 1 d 授粉)的单倍体平均诱导率最高(2.06%); 其次是中期授粉(1.75%); 晚期期授粉的诱导率最低(1.45%)。方差分析结果表明, 不同杂交种间单倍体的诱导率差异达到显著水平, 而不同授粉时间的单倍体诱导率未达显著差异。尽管如此, 由于授粉时间越晚, 果穗结实性越差, 因此早期授粉获得单倍体的数量明显高于晚期授粉。

表 9 不同玉米品种在长春和三亚两地的单倍体诱导率比较

Table 9 Comparison of haploid inducing rates of different hybrids between Changchun and Sanya

母本 Female	长春 Changchun	三亚 Sanya	母本 Female	长春 Changchun	三亚 Sanya
先玉 335 XY335	3.95 a	4.87 b	郑单 958 ZD958	3.38 a	4.35 b
JNY688	2.65 a	2.74 a	JNY103	3.40 a	3.79 a
JNY116	2.09 a	3.80 b			

注:同行数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母表现差异极显著($P<0.01$)。

Note:Different lowercase letters in each row indicate significant difference ($P<0.05$),while different uppercase letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$).

表 10 不同年份郑单 958 与 JS6-2 杂交玉米在三亚和长春两地的单倍体诱导率比较

Table 10 Comparison of haploid inducing rates of Zhengdan 958 crossing with JS6-2 in different years between Sanya and Changchun

年份 Year	三亚 Sanya			长春 Changchun		
	总粒数 Sum	单倍体粒数 Haploid	诱导率/% Inducing rate	总粒数 Sum	单倍体粒数 Haploid	诱导率/% Inducing rate
2010	16 821	583	3.47 A	1 076	21	1.95 B
2011	6 241	227	3.64 A	2 498	59	2.36 B
2012	2 008	46	2.29 A	4 015	62	1.54 B
2013	3 028	97	3.20 A	1 390	29	2.09 B
平均 Average	7 025	238	3.39 A	2 245	43	1.92 B

注:同行数据后标不同大写字母表现差异极显著($P<0.01$)。

Note:Different uppercase letters in each row indicate extremely significant difference ($P<0.01$).

表 11 玉米母本吐丝后不同时间和 JS6-1 杂交后的单倍体诱导率比较

Table 11 Comparison of haploid inducing rates of male parents crossing with JS6-1 at different pollination stages

年份 Year	母本 Female	授粉时期 Pollination stage	总粒数 Sum	单倍体粒数 Haploid	诱导率/% Inducing rate
2011	郑单 958 ZD958	早期 Early stage	1 822	54	2.96
		中期 Middle stage	886	26	2.93
		晚期 Late stage	401	9	2.24
	JNY698	早期 Early stage	2 661	70	2.63
		中期 Middle stage	968	26	2.69
		晚期 Late stage	805	11	1.37
	农华 101 NH101	早期 Early stage	1 182	18	1.52
		中期 Middle stage	1 113	15	1.35
		晚期 Late stage	728	9	1.24
	JNY107	早期 Early stage	1 094	19	1.74
		中期 Middle stage	379	8	2.11
		晚期 Late stage	476	11	2.31
2012	郑单 958 ZD958	早期 Early stage	2 019	36	1.78
		中期 Middle stage	1 622	28	1.73
		晚期 Late stage	417	8	1.92
	NY698	早期 Early stage	1 811	19	1.05
		中期 Middle stage	1 689	12	0.71
		晚期 Late stage	682	9	1.32
	农华 101 NH101	早期 Early stage	2 013	53	2.63
		中期 Middle stage	1 888	29	1.54
		晚期 Late stage	846	10	1.18
	JNY107	早期 Early stage	1 356	22	1.62
		中期 Middle stage	576	11	1.91
		晚期 Late stage	603	7	1.16
	平均 Average	早期 Early stage	1 745	36	2.06
		中期 Middle stage	1 140	20	1.75
		晚期 Late stage	620	9	1.45

2.5 玉米果穗不同部位单倍体诱导率的差异性

从表 12 可以看出,除了 NH101 之外,其余 4 个

杂交果穗顶部的单倍体诱导率均高于底部;顶部籽粒的单倍体频率为 4.36%,而底部籽粒的单倍体频

率为 3.52%。 t 测验表明,XY335、JNY698 和 NH101 顶部和底部籽粒单倍体诱导率存在极显著差异($P<0.01$),郑单 958 和利民 33 顶部和底部的单倍体频率差异不显著。

表 12 玉米果穗顶部和底部的单倍体诱导率比较

Table 12 Comparison of haploid inducing rates between top and bottom parts of corn ear

母本 Female	部位 Position	总粒数 Sum	单倍体粒数 Haploid	单倍体诱导率/% Inducing rate	平均诱导率/% Average Inducing rate
郑单 958 ZD958	顶部 Top	3 340	141	4.21 a	3.85
	底部 Buttom	3 029	105	3.45 a	
先玉 335 XY335	顶部 Top	2 647	143	5.40 aA	4.32
	底部 Buttom	2 940	98	3.34 bB	
利民 33 LM33	顶部 Top	3 938	162	4.11 a	3.81
	底部 Buttom	3 945	138	3.51 a	
JNY698	顶部 Top	3 189	187	5.86 aA	4.95
	底部 Buttom	2 535	97	3.81 bB	
农华 101 NH101	底部 Buttom	2 620	90	3.44 aA	2.74
	顶部 Top	2 711	56	2.07 bB	
平均 Average	顶部 Top	3 165	138	4.36	3.94
	底部 Buttom	3 014	106	3.52	

注:同一母本果穗不同部位相比单倍体诱导率数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note:Different lowercase letters indicate significant difference between different parts of same parent ($P<0.05$),while different uppercase letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$).

3 讨 论

3.1 诱导系与母本基因型的互作

目前关于单倍体诱导率影响因素以及提高单倍体诱导效率的措施研究鲜见报道。本研究表明,不同母本基因型间单倍体的诱导效率差异显著,这与 Röber 等^[9]、刘志增 等^[12] 的研究结果一致。Chase^[13] 认为,这种影响是由于母本基因型所产生的雌配子中有害基因的频率不同所致。本研究结果表明,Lancaster 群、Reid 群、塘四平头群和旅大红骨群分别为 4.94%,4.88%,4.16%和 4.08%,彼此之间差异不显著,但上述 4 群单倍体诱导率均极显著高于温带 I 群(2.12%)。本研究选用的 20 种基础材料虽涵盖了东北地区常用自交系及杂交模式,但尚未发现不同杂交模式与诱导率之间存在明显的相关性,因此不同种质背景与单倍体诱导率之间的关系仍需要进一步研究。

3.2 诱导世代的效应

Lashermes 等^[14] 以 Stock6 作父本,以 169wx/Syn421、148uh/S112、1233wx/Syn115 等 3 个组合的 F₁ 代作母本,比较了 F₂ 及 F₃ 世代的单倍体诱导率,认为 F₂ 与 F₃ 世代间诱导率的相关性只有 0.59。李国良等^[11] 用农大高诱 1 号对同一群体不同世代间的单倍体诱导率进行了研究,认为早代 S₁ 代为最佳的单倍体诱导世代。本研究也得出了类似

结论:在不同类群的高世代中,S₄、S₅ 世代单倍体诱导率显著高于 S₁、S₂ 和 S₃ 世代,但每株获得的单倍体粒数却低于后者;S₁ 世代单倍体诱导率较低,但收获的材料、结实率高,实际获得的单倍体数量在不同类群中均位于前列。S₁ 世代是植株性状急剧分离的世代,可以通过植株抗病性、株高等田间农艺性状去除一些伪单倍体植株,选择一些比较优良的单株进行诱导获得单倍体,这可以大大减少工作量,提高优良单倍体出现的概率,因此本研究认为 S₁ 世代为单倍体最佳诱导世代。

3.3 诱导环境的优化

Prigge 等^[15] 在温带和热带地区进行单倍体诱导认为,2 种环境下单倍体的诱导率具有显著差异,但 Eder 等^[16] 对 12 份基础材料在两种不同的生态环境下诱导认为,不同环境条件下单倍体诱导率差异不大。黎亮等^[7] 多年的试验结果证实,在海南冬季进行单倍体诱导的效率显著高于北京夏季。本研究选取了长春和三亚 2 个试验点进行研究,结果发现三亚冬季的诱导率显著高于长春夏季,这种差异可能源于两地的气候因素。长春夏季气温较高,三亚冬季气温较低且昼夜温差大,而气温较低的情况下可能更适合于籽粒发育及色素标记基因的表达,因此选择适宜的单倍体诱导地点或者环境,诸如海南三亚,将更有利于提高单倍体的诱导率。

3.4 诱导时间和果穗部位的选择

授粉时期对单倍体的诱导率也有重要影响。

Chase^[13]、Seaney^[17]的研究均表明,延迟授粉可以提高玉米单倍体诱导率。慈佳宾^[18]的研究结果表明,长花丝条件下的单倍体诱导率优于短花丝条件下的诱导率,认为延迟授粉是其原因之一。本研究发现,果穗顶部籽粒的单倍体诱导率高于底部籽粒,这与 Sarkar 等^[19]、Chalyk^[20]的研究结果相类似,其原因可能与卵细胞成熟的不同步、营养功能的变化、某些外界因子的局部影响,或者所有因素共同起作用相关。本研究表明,早期授粉的单倍体诱导率高于晚期授粉,此现象尚无法用花丝长短进行解释。Rotarenco 等^[21]认为,早期授粉的单倍体诱导率高与异雄核受精有关,由于吐丝时间长的花丝直径更大,可以容纳更多的花粉管生长,单受精的概率可能降低,进而影响单倍体出现的概率。据此推测,不同生态环境下单倍体诱导率的差异也可能与花丝自身结构以及花粉的活力有关。

4 结束语

高效地进行单倍体诱导对于单倍体育种至关重要。特别是大规模的单倍体育种工作的开展,更需要从系统化和工程化角度进行技术优化。由于诱导效率受母本材料、地点环境等因素影响,在诱导技术优化过程中,系统地利用高频诱导材料、高频诱导地点、高频诱导时间将有利于单倍体育种技术系统效率的提高,也有利于单倍体育种工程化特别是专业化和基地化的发展。当然,随着单倍体育种技术的普及和规模化应用,仍然需要探索更加完善的单倍体诱导优化方案,从而为单倍体育种工程化的实现提供理论依据。

[参考文献]

- [1] 刘纪麟. 玉米育种学 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 172-177.
Liu J L. Maize breeding [M]. 2nd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2002: 172-177. (in Chinese)
- [2] 邢锦丰, 张如养, 段民孝, 等. 单倍体技术在玉米育种中的应用及其问题探讨 [J]. 作物杂志, 2012(2): 15-17.
Xing J F, Zhang R Y, Duan M X, et al. Discussion on problems for utilization of haploid breeding of maize [J]. Crops, 2012 (2): 15-17. (in Chinese)
- [3] 陈绍江, 黎 亮, 李浩川, 等. 玉米单倍体育种技术 [M]. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2012: 298-300.
Chen S J, Li L, Li H C, et al. Maize haploid breeding [M]. 2nd ed. Beijing: China Agriculture University Press, 2012: 298-300. (in Chinese)
- [4] 胡适宜. 雄性生殖单位和精子异型性研究的现状 [J]. 植物学

报, 1990, 32(3): 230-240.
Hu S Y. Male germ unit and sperm heteromorphism; The current status [J]. Acta Botanica Sinica, 1990, 32(3): 230-240. (in Chinese)

- [5] 文 科, 黎 亮, 刘玉强, 等. 高效生物诱导玉米单倍体及其加倍方法研究初报 [J]. 中国农业大学学报, 2006, 11(5): 17-20.
Wen K, Li L, Liu Y Q, et al. Study on bio-haploid inducing and doubling efficiency in maize [J]. Journal of China Agricultural University, 2006, 11(5): 17- 20. (in Chinese)
- [6] 姜 龙, 慈佳宾, 张 野, 等. 不同生态条件下玉米单倍体诱导率和加倍率研究 [J]. 吉林农业大学学报, 2014, 36(2): 23-29.
Jiang L, Ci J B, Zhang Y, et al. Study on inducing rate and doubling rate of maize haploid under different ecological conditions [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2014, 36(2): 23-29. (in Chinese)
- [7] 黎 亮, 李浩川, 徐小炜, 等. 玉米孤雌生殖单倍体诱导效率优化方法研究 [J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(1): 9-13.
Li L, Li H C, Xu X W, et al. Preliminary optimization of in-vivo haploid induction in maize [J]. Journal of China Agricultural University, 2012, 17(1): 9-13. (in Chinese)
- [8] 李国良, 苏 俊, 李春霞, 等. 农大高诱 1 号对玉米不同种质类群诱导单倍体的效果初探 [J]. 杂粮作物, 2008(3): 125-129.
Li G L, Su J, Li C X, et al. Preliminary result of ‘Cuohu inducer No. 1’ effect haploid induced rate in different maize germplasm [J]. Rain Fed Crops, 2008(3): 125-129. (in Chinese)
- [9] Röber F K, Gordillo G A, Geiger H H. *In-vivo* haploid induction in maize-performance of new inducers and significance of doubled haploid lines in hybrid breeding [J]. Maydica, 2005, 50: 275-283.
- [10] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2002: 304-311.
Tang Q Y, Feng M G. Practical statistical analysis and DPS data processing system [M]. Beijing: Science Technology Press, 2002: 304-311. (in Chinese)
- [11] 李国良, 苏 俊, 李春霞, 等. 农大高诱 1 号对玉米不同种质和世代单倍体诱导频率的研究 [J]. 玉米科学, 2008, 16(5): 3-6.
Li G L, Su J, Li C X, et al. Research on haploids frequency of different germplasm and generations in maize by cauho inducer 1 [J]. Journal of Maize Sciences, 2008, 16(5): 3-6. (in Chinese)
- [12] 刘志增, 宋同明. 玉米高频率孤雌生殖单倍体诱导系的选育与鉴定 [J]. 作物学报, 2000, 26(5): 571-574.
Liu Z Z, Song T M. The breeding and identification of haploid inducer with high frequency parthenogenesis in maize [J]. Acta Agronomica Sinica, 2000, 26(5): 571-574. (in Chinese)
- [13] Chase S S. Monoploids and monoploid derivatives of maize (*Zea mays* L.) [J]. Bot Review, 1969, 35: 161-167.
- [14] Lashermes P, Beckert M. Genetic control of maternal haploid in maize (*Zea mays* L.) and selection of haploid inducing lines [J]. Theor Appl Genet, 1988, 76: 405-410.
- [15] Prigge V, anchez C, Dhillon B S, et al. Doubled haploids in tropical maize: I. Effects of inducers and source germplasm

on in-vivo haploid induction rates [J]. J Crop Sci, 2011, 51 (4):149-150.

[16] Eder J, Chalyk S T. *In-vivo* haploid induction in maize [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104:703-708.

[17] Seaney R R. Monoploids in maize [J]. Maize Genet Coop News Lett, 1954, 28:22.

[18] 慈佳宾. 玉米单倍体诱导和加倍技术及 DH 系的遗传研究 [D]. 长春:吉林农业大学, 2012.

Ci J B. Study on haploid inducing and doubling method and ge-

netic analysis DH lines [D]. Changchun:Jilin Agricultural U-

niversity, 2012. (in Chinese)

[19] Sarkar K R, Prasanna B M, Gayen P. Distribution of haploids on the ear [J]. Maize Genet Coop News Lett, 1995, 69:107.

[20] Chalyk S T. Creting new haploid-inducing lines of maize [J]. Maize Genet Coop News Lett, 1999, 73:53-54.

[21] Rotarenco V A, Mihailov M E. The influence of ear age on the frequency of maternal haploids produced by a haploid-inducing lines [J]. Maize Genet Coop News Lett, 2007, 81:9-10.

(上接第 34 页)

[24] 于肖夏. 甘薯高密度分子连锁图谱的构建和干物质含量的 QTL 定位 [D]. 北京:中国农业大学, 2013.

Yu X X. Development of a high-density genetic linkage map and mapping of QTLs for dry-matter content in sweetpotato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. [D]. Beijing:China Agricultural University, 2013. (in Chinese)

[25] 孙文英. 梨(*Pyrus* L.) 遗传连锁图谱构建及其农艺性状的基因定位研究 [D]. 河北保定:河北农业大学, 2008.

Sun W Y. Genetic linkage map construction and gene localiza-

tion of agronomic traits in pear (*Pyrus* L.) [D]. Baoding, Hebei: Agricultural University of Hebei, 2008. (in Chinese)

[26] 王竹林, 刘曙东, 刘惠远, 等. ‘百农 64’×‘京双 16’小麦遗传连锁图谱构建 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(5):886-892.

Wang Z L, Liu S D, Liu H Y, et al. Genetic linkage map in ‘Bainong 64’×‘Jingshuang 16’ of wheat [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(5): 886-892. (in Chinese)