

不同诱导系对不同基因型玉米材料的诱导率评价

梁建斌 张旭辉 闫治斌 李世风 支海林 梁歌恒 李丽仙

李悦 王倩 夏瑞英 柴君臣

(甘肃省敦煌种业集团股份有限公司研究院,酒泉 735000)

摘要:玉米双单倍体(DH,Doubled haploid)技术是现代玉米育种的关键核心技术,能显著加快育种进程。为解决目前玉米单倍体育种普遍存在的诱导率低、杂株率高等问题,本研究利用4个单倍体诱导系和12个基础群体材料进行杂交,探讨不同诱导系及不同基因型材料对单倍体诱导率的影响。结果表明:(1)用4个诱导系诱导同一基础材料时CS3诱导系的平均诱导率最高,为5.66%,稳定性也较好;不同基础材料与同一诱导系杂交时D3和D4的平均诱导率最高,分别达7.44%和7.45%。(2)用4个诱导系诱导同一基础材料时CS3诱导系的杂株率最小,为16.95%;不同基础材料与同一诱导系杂交时HB4的平均杂株率最小,为10.93%。(3)诱导系CS3对HB4诱导时诱导率最高(11.9%),杂株率最低(0.81%)。研究结果可充实玉米单倍体育种理论研究,为玉米单倍体育种生产奠定理论基础。

关键词:玉米;单倍体育种;诱导率;杂株率

玉米作为中国第一大粮食作物,在国民经济及国家粮食安全中发挥着重要的作用。随着生产需求的不断增长,玉米育种者不断探索和改进现代育种技术。玉米双单倍体(DH,Doubled haploid)技术是生物技术与常规育种方法结合产生的一条新的育种途径,作为快速获得纯系的手段,可以显著缩短育种年限,加快育种进程^[1]。种质狭窄是影响玉米产量提高的主要原因,也是导致我国育种进程、育种水平与发达国家差距较大的主要原因。外来种质是玉米育种重要的种质基础,单倍体育种对外来种质进行遗传改良具有重要意义。单倍体育种是目前各大种业公司广泛应用的现代育种技术,已成为现代玉米育种的关键核心技术之一^[2]。

诱导系诱导获得单倍体,是指利用诱导率较高的诱导系作父本、改良基础群体材料作母本,诱导产生单倍体,是目前应用最多的实用技术^[3]。其中选择诱导系与基础材料杂交,单倍体诱导系是一个关键因素,1959年Coe^[4]发现了第一个单倍体诱导系Stock6,诱导率仅为2%左右,诱导率低严重制约了该项技术的应用。前人研究表明,不同的诱导系对不同的基础材料诱导时诱导率差异较大^[5],选择诱导率高且稳定

的诱导系及更适应诱导的具有优良性状的基础材料至关重要,我国玉米单倍体育种总体上还处于引进熟化创新阶段,与发达国家比较还有相当大的差距。到目前为止单倍体诱导系的研究在国内外学者的共同努力下已经有了重大进步,已经选育出非常有价值的高油性诱导系列CAUHOI、农大高诱号系列、吉高诱系3号和单倍体诱导系H01~H05、WS14、Zarodyshev Marker Saratovsky、Korichnevv Marker Saratovsky、Moldovian Haploid Inducer等^[6-13]。目前国内诱导系的遗传背景普遍较为单一,所以不仅要组配更具有杂种优势的杂交诱导系,还需要拓宽国内种质资源的遗传背景。前人已有广泛的研究来提高单倍体诱导率和单倍体诱导系的农艺性状,除了提高诱导系的诱导率外,研究诱导材料对单倍体诱导系的影响也很重要^[14]。本研究用不同的诱导系诱导不同的基础群体材料,分析诱导率和杂株率差异,探讨诱导系的选用策略,筛选标记明显、诱导率稳定且高、杂株率少的诱导系和基础群体材料。本研究结果可充实单倍体的规模化生产和提高育种效率相关的研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试的4个单倍体诱导系材料(表1)均具有籽粒Navajo标记,均引自中国农业大学国家玉米改良中心。供试的12个基础材料类型见表2。

基金项目:甘肃省科技重大专项(21ZD10NF002,21ZD10NF003);酒泉市科技支撑计划(基于单倍体技术的杂交玉米育种体系构建)

通信作者:闫治斌

表1 供试单倍体诱导系材料

名称	系谱	来源
高诱3号	改良 Stock6	外引
高诱5号	改良 Stock6	外引
紫色5号	改良 Stock6	外引
CS3	改良 Stock6	外引

表2 供试基础材料类型

名称	材料类型	类群
D1	杂交种	A
D2	杂交种	A
D3	杂交种	B
D4	杂交种	B
D5	杂交种	A
HB1	杂交种	B
HB2	杂交种	B
HB3	杂交种	B
HB4	杂交种	B
HN1	杂交种	B
HN2	杂交种	A
HN3	杂交种	A

通过杂交诱导所得籽粒主要有以下3种类型(图1)。拟单倍体籽粒:籽粒胚乳上有紫色,胚部无色;杂合二倍体籽粒:籽粒胚部和胚乳上均有紫色;杂合二倍体黄粒:籽粒胚乳黄色,胚部无色。

1.2 试验设计 试验于2020年冬天在甘肃省敦煌种业海南玉米育种基地进行。为了保证诱导系与基础群体材料的花期能够相遇,先播种全部基础群体材料与第1期诱导系,第2期、第3期诱导系分别间隔5d、10d播种。花期采用人工去雄并套袋授粉的方式,分别取4个诱导系(高诱3号、高诱5号、紫色5号和CS3)的花粉授予12个基础群体材料。收获后依据籽粒的Navajo标记进行籽粒挑选,胚乳上

有诱导标记、胚部无诱导标记的籽粒被认定为拟单倍体籽粒,并统计拟单倍体籽粒、有诱导标记的二倍体籽粒数量。2021年在敦煌种业西北育种基地(酒泉)对拟单倍体籽粒进行催芽、加倍和田间单株移栽。待植株散粉前对植株进一步鉴定,植株高大粗壮或带紫色标记的为二倍体植株,植株矮小,叶片短小、皱缩、上冲的为单倍体植株,并统计单倍体植株数。

1.3 项目统计 统计诱导总粒数、拟单倍体籽粒数和田间鉴定单倍体株数,按以下公式计算诱导率和杂株率,杂株包含非单倍体和发育不正常的籽粒。

诱导率(%) = 田间鉴定单倍体株数 / 总粒数 × 100

杂株率(%) = (拟单倍体籽粒数 - 田间鉴定单倍体株数) / 拟单倍体籽粒数 × 100

2 结果与分析

2.1 不同诱导系诱导率和杂株率统计 如表3所示,本研究中杂交诱导后籽粒的数量较大,总共有845354粒,各基础材料都在5269~52060粒之间,平均17612粒,统计所得诱导率和杂株率具有代表性。

2.2 不同诱导系诱导不同基础群体材料的诱导率

由表4可知,4个诱导系作父本与12个基础材料杂交诱导后,不同基础群体材料之间的诱导率存在差异,基础材料D3和D4平均诱导率较高,分别为7.44%和7.45%,其中高诱5号对D3和D4基础群体的诱导率分别达11.36%和11.60%。基础群体D1、D2和HN3的平均诱导率较低,分别为1.11%、0.87%和1.85%。4种诱导系对HB4基础群体的诱导率差异较大,变异系数达112.03%,其中CS3对HB4基础群体的诱导率达11.90%。

同一诱导系诱导不同的基础材料后平均诱导率大小依次为CS3>高诱5号>高诱3号>紫色5号,

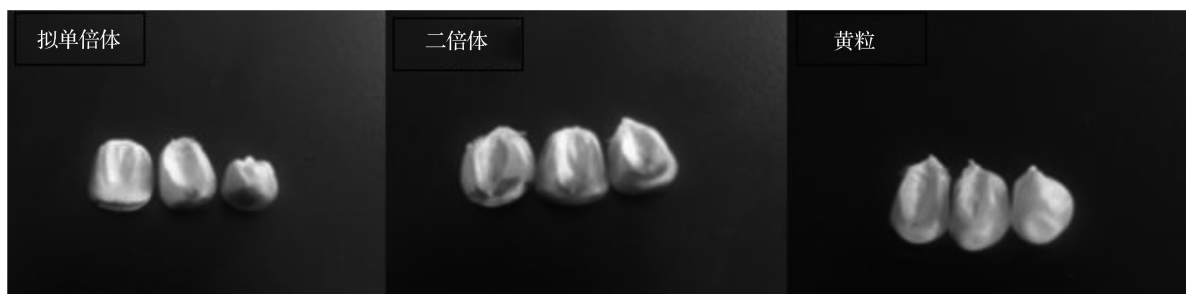


图1 杂交诱导籽粒类型

表3 不同诱导系诱导率和杂株率统计

基础材料	诱导系	总粒数	田间鉴定单倍体株数	诱导率(%)	拟单倍体籽粒数	田间鉴定杂株数	杂株率(%)
D1	高诱3号	15215	158	1.04	236	78	33.05
	高诱5号	20857	325	1.56	409	84	20.54
	紫色5号	10369	78	0.75	105	27	25.71
	CS3	11185	122	1.09	167	45	26.95
D2	高诱3号	9563	147	1.54	294	147	50.00
	高诱5号	16386	123	0.75	227	104	45.81
	紫色5号	16519	100	0.61	182	82	45.05
	CS3	16515	92	0.56	165	73	44.24
D3	高诱3号	9550	569	5.96	673	104	15.45
	高诱5号	8107	921	11.36	1099	178	16.20
	紫色5号	12294	634	5.16	778	144	18.51
	CS3	5269	384	7.29	473	89	18.82
D4	高诱3号	15313	762	4.98	1176	414	35.20
	高诱5号	18852	2186	11.60	2689	503	18.71
	紫色5号	14760	734	4.97	906	172	18.98
	CS3	16089	1328	8.25	1527	199	13.03
D5	高诱3号	21719	1034	4.76	2809	1775	63.19
	高诱5号	19017	662	3.48	778	116	14.91
	紫色5号	10264	248	2.42	390	142	36.41
	CS3	13780	678	4.92	739	61	8.25
HB1	高诱3号	14445	498	3.45	798	300	37.59
	高诱5号	19554	583	2.98	697	114	16.36
	紫色5号	16417	339	2.06	486	147	30.25
	CS3	10211	587	5.75	696	109	15.66
HB2	高诱3号	7989	317	3.97	670	353	52.69
	高诱5号	12025	665	5.53	923	258	27.95
	紫色5号	9374	630	6.72	982	352	35.85
	CS3	11327	936	8.26	1280	344	26.88
HB3	高诱3号	7279	246	3.38	326	80	24.54
	高诱5号	10429	535	5.13	561	26	4.63
	紫色5号	18014	611	3.39	694	83	11.96
	CS3	9642	391	4.06	442	51	11.54
HB4	高诱3号	17885	176	0.98	218	42	19.27
	高诱5号	17884	248	1.39	265	17	6.42
	紫色5号	15230	586	3.85	708	122	17.23
	CS3	11324	1348	11.90	1359	11	0.81
HN1	高诱3号	38758	1362	3.51	4686	3324	70.93
	高诱5号	23520	1051	4.47	1179	128	10.86
	紫色5号	52060	1105	2.12	2424	1319	54.41
	CS3	29369	1792	6.10	1961	169	8.62
HN2	高诱3号	34117	983	2.88	1686	703	41.70
	高诱5号	34505	1329	3.85	1557	228	14.64
	紫色5号	19711	387	1.96	534	147	27.53
	CS3	33445	2480	7.42	2740	260	9.49
HN3	高诱3号	32238	501	1.55	734	233	31.74
	高诱5号	11668	177	1.52	222	45	20.27
	紫色5号	26517	542	2.04	961	419	43.60
	CS3	18794	426	2.27	527	101	19.17

分别为 5.66%、4.47%、3.17% 和 3.00% ;高诱 3 号
和 CS3 分别对 12 个基础材料的平均诱导率差异相
对较小,高诱 5 号对 12 个基础材料的平均诱导率差

异较大,变异系数达 81.00%。

2.3 不同诱导系诱导不同基础群体材料的杂株率
如表 5 所示,不同诱导系和不同基础材料杂交诱

表 4 不同诱导系诱导不同基础群体诱导率分析

基础材料	诱导率(%)				平均诱导率(%)	CV(%)
	高诱 3 号	高诱 5 号	紫色 5 号	CS3		
D1	1.04	1.56	0.75	1.09	1.11c	30.08
D2	1.54	0.75	0.61	0.56	0.87c	53.00
D3	5.96	11.36	5.16	7.29	7.44a	37.05
D4	4.98	11.60	4.97	8.25	7.45a	42.51
D5	4.76	3.48	2.42	4.92	3.90abc	30.23
HB1	3.45	2.98	2.06	5.75	3.56bc	44.03
HB2	3.97	5.53	6.72	8.26	6.12ab	29.73
HB3	3.38	5.13	3.39	4.06	3.99abc	20.70
HB4	0.98	1.39	3.85	11.90	4.53abc	112.03
HN1	3.51	4.47	2.12	6.10	4.05abc	41.27
HN2	2.88	3.85	1.96	7.42	4.03abc	59.24
HN3	1.55	1.52	2.04	2.27	1.85c	20.03
平均诱导率(%)	3.17c	4.47ab	3.00c	5.66a		
CV(%)	51.39	81.00	61.87	58.40		

不同小写字母表示 0.05 水平差异显著,下同

表 5 不同诱导系诱导不同基础群体杂株率分析

基础材料	杂株率(%)				平均杂株率(%)	CV(%)
	高诱 3 号	高诱 5 号	紫色 5 号	CS3		
D1	33.05	20.54	25.71	26.95	26.56abc	19.35
D2	50.00	45.81	45.05	44.24	46.28a	5.54
D3	15.45	16.20	18.51	18.82	17.25bc	9.69
D4	35.20	18.71	18.98	13.03	21.48bc	44.46
D5	63.19	14.91	36.41	8.25	30.69abc	80.72
HB1	37.59	16.36	30.25	15.66	24.97abc	43.15
HB2	52.69	27.95	35.85	26.88	35.84ab	33.26
HB3	24.54	4.63	11.96	11.54	13.17bc	62.97
HB4	19.27	6.42	17.23	0.81	10.93c	80.45
HN1	70.93	10.86	54.41	8.62	36.21ab	86.48
HN2	41.70	14.64	27.53	9.49	23.34abc	61.69
HN3	31.74	20.27	43.60	19.17	28.70abc	39.90
平均杂株率(%)	39.61a	18.11b	30.46a	16.96b		
CV(%)	42.88	59.46	42.54	67.93		

导的杂株率差异较大。不同基础群体材料之间,D2基础群体平均杂株率最大,达46.28%;HB4基础群体最小,为10.93%;HN1的变异系数最大,说明1种诱导系诱导HN1时杂株率差异较大,其中CS3诱导HN1基础群体时的杂株率为8.62%,而高诱3号诱导HN1基础群体时的杂株率为70.93%;D2的变异系数最小,说明4种诱导系诱导D2基础群体时杂株率差异较小。同一诱导系对不同基础材料诱导时平均杂株率大小依次为高诱3号>紫色5号>高诱5号>CS3,其杂株率分别为39.61%、30.46%、18.11%和16.96%,其中CS3诱导HB4时杂株率仅为0.81%。

3 讨论与结论

诱导系的选择首先注重于提高诱导率,从而产生大量单倍体,提高配子体选择效率,筛选聚集更多有利基因的目标植株。目前,基于Navajo标记的单倍体籽粒筛选主要依靠人工目测,遗传标记在不同种质资源中的表达水平差异很大,影响诱导系的利用效率和育种成本。因此,选择和诱导在注重提高诱导率的同时,还需要加大筛选标记表达的力度。

不同群体材料之间的诱导率存在差异,研究诱导率高的诱导材料对提高诱导效率具有重要意义^[15]。本研究发现,同一基础材料与不同的诱导系进行杂交诱导后所得到的单倍体诱导率存在显著差异,12份基础材料诱导后,D3和D4的平均诱导率显著高于其他基础材料,杂株率也较低;D3和D4材料与诱导系高诱5号进行组合后其诱导率分别达到11.36%和11.60%,这一最佳组合显著提高了其诱导率,其可能原因是D3和D4的遗传基础更为复杂,优良的血缘使得其适应性更强、育性恢复能力强,使得诱导率偏高,但具体原因还需进一步研究,以期将此材料广泛应用于单倍体诱导的基础材料来满足商业育种的需求。不同诱导系对同一基础材料进行杂交诱导所得单倍体诱导率存在显著的差异,本研究发现4个诱导系单倍体平均诱导率在3.00%~5.66%之间,这一研究结果与李高科等^[16]研究结果相一致。其中CS3的诱导能力最强,变异系数也小于高诱5号和紫色5号,说明其诱导系的稳定性较高,平均杂株率也低于其他诱导系,表明在玉米单倍体诱导育种中,可继续加大对CS3的利用。本研究结果表明,基础材料和诱导系都会对玉米单

倍体诱导率和杂株率产生一定影响,因此诱导系的诱导能力不仅受自身遗传背景的影响,也受其诱导的基础材料遗传背景的影响,但由于本研究所用的基础材料有限,还需进一步针对玉米单倍体进行专用型诱导系的选育以及基础材料的筛选,这是本课题组下一阶段的研究重点。

目前,虽然单倍体技术已广泛应用于商业化育种,但仍有以下4个方面有待改进。首先,应选择具有优良农艺性状的高频单倍体诱导系。其次,在新的诱导系中整合多个有效标记,提高单倍体鉴定的有效性和准确性。第三,结合倍率相关的QTL定位和基因编辑技术,建立高效的倍增体系。最后,利用组织培养和选择标记缩短DH系生产所需的时间。今后,解决上述方面的技术难题,将促进单倍体诱导技术在现代玉米育种中得到更广泛的应用。

参考文献

- [1] 邢锦丰,张如养,段民孝,赵久然,黄长玲.单倍体技术在玉米育种中的应用及其问题探讨.作物杂志,2012,147(2):15-17
- [2] 杨巍,任雪娇,崔学宇,慈佳宾,张野,赵超,杨伟光.玉米不同自交后代的单倍体诱导率和加倍率表现及DH系配合力分析.玉米科学,2014,22(6):40-44
- [3] 张如养,段民孝,赵久然,刘新香,邢锦丰,王元东,张华生.6个玉米单倍体诱导系诱导率的差异性研究.玉米科学,2013,21(2):6-10
- [4] Coe E H. A line of maize with high haploid frequency. American Naturalist, 1959, 93: 381-382
- [5] Trynov V S, Zavalishina A N. High frequency of inducing of maternal haploids in maize. Biological Sciences, 1984, 276(3): 735-738
- [6] Lashermes P, Beckert M. Genetic control of maternal haploidy in maize (*Zea mays* L.) and selection of haploid inducing lines. Theoretical and Applied Genetics, 1988, 76(3): 405-410
- [7] Chalys S T. Creating new haploid-inducing lines of maize. Maize Genetics Cooperation Newsletter, 1992, 66: 98
- [8] Rotarencu V, Dicu G, Sarmanic M, Xu G L, Dai Y X, Ren J, Li S H, Yu M Y, Cai Z. Induction of maternal haploids in maize. Journal of Maize Sciences, 2010, 40(6): 15-16
- [9] 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.作物学报,2000(5):570-574
- [10] 才卓,徐国良,刘向辉,董亚琳,代玉仙,李淑华.玉米高频率单倍体诱导系吉高诱系3号的选育.玉米科学,2007,59(1):1-4
- [11] 刘治先,杨菲,丁照华,刘朋.玉米单倍体诱导材料的鉴定和快速选系技术研究.玉米科学,2008,67(3):12-14,18
- [12] 陈绍江,宋同明.利用高油分的花粉直感效应鉴别玉米单倍体.作物学报,2003(4):587-590
- [13] 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

高产优质杂交油菜品种宜油 35 的选育

刘 梦 赵远林 张义娟 林 权 杭淑莲 张德银 刘 晓 余世权

(四川省宜宾市农业科学院, 宜宾 644600)

摘要: 宜油 35 是四川省宜宾市农业科学院利用核不育两型系宜 10AB 为母本、恢复系 13-5987 为父本组配而成的甘蓝型油菜双低优质新品种, 2016-2018 年度参加四川省油菜新品种联合试验, 具有生育期适中、抗倒性强、产量优势突出、适应性强等特点, 于 2020 年 9 月通过农业农村部登记, 登记编号: GPD 油菜(2020)510156, 适宜在四川省大部分平坝、丘陵区秋播种植。

关键词: 宜油 35; 杂交油菜; 高产优质; 选育

油菜是我国第一大油料作物, 占我国油料作物产油量的 57.2%, 食用油的刚性需求还在不断增涨, 因此, 提高油菜产量和含油量是有效缓解我国食用油安全危机的有效途径之一^[1-2]。杂种优势利用在作物提质增效、增强抗(耐)逆性等方面具有举足轻重的地位, 油菜杂种优势强, 增产效果显著^[3]。目前, 我国油菜杂种优势利用的途径主要有细胞质雄性不育(CMS)、细胞核雄性不育(GMS)和化学杀雄(CHA)^[3-4]等。细胞核雄性不育包括显性核不育和隐性核不育, 其中隐性细胞核不育以 2 对隐性重叠基因控制的核不育两型系(S45A)^[5]和隐性上位互作型核不育(9012A、6515A 等)^[6-7]为主。油菜核不育两型系不受温度影响、恢复源广、不育性稳定且彻底、无不育胞质负效应、易转育、易配置强优势组合^[3,8], 是实用价值最大的油菜核雄性不育类型之一, 因此许多育种家把油菜隐性核不育作为甘蓝型油菜杂种优势利用的重点。

为选育优质高产甘蓝型油菜隐性核不育杂交品种, 四川省宜宾市农业科学院选择一般配合力好、

农艺性状优良的甘蓝型核不育两型系宜 10AB 为母本^[9]、恢复系 13-5987 为父本, 配制出强优势杂交油菜组合宜油 35, 参加 2016-2018 年度四川省油菜新品种联合试验, 具有抗倒性强、增产显著、稳产性好等优点。宜油 35 种子芥酸含量未检出, 商品油菜籽硫苷含量 28.43 $\mu\text{mol/g}$ 饼, 含油量 43.22%, 2020 年通过农业农村部登记, 登记编号: GPD 油菜(2020)510156。

1 亲本来源及选育过程

1.1 不育系宜 10AB 2002 年油菜开花期, 在经钴 60 γ 射线照射 8593-1 的 M₂ 中发现 2 株雄不育株(01-M2084A), 用本株行可育株(01-M2084B)对该不育株授粉保持。2003 年油菜开花期选优株成对兄妹交。2004 年油菜花期在各兄妹交后代组合中选不育株率高的组合成对兄妹交, 组合收获后室内对芥酸、硫苷含量进行品质定性检测, 筛选出芥酸硫苷含量低的组合。2005 年油菜花期对不育株的处理同 2004 年。2006 年春天油菜花期对不育株系进行鉴定, 选不育株率为 50% 左右、性状稳定一致的优良不育株系成对兄妹交保持, 成熟收获后进行室内芥酸、硫苷品质定性检测筛选。2007 年进行不育株系决选, 田间调查不育株率为 49.6%。2008 年、2009 年、2010 年对稳定成型后的不育系进行兄妹交的同时, 继续对育性进行鉴定, 各年不育株率分别

基金项目: 四川省“十四五”农作物及畜禽育种攻关项目资助(2021YFYZ0018); 国家产业技术体系四川省油菜创新团队建设专项资金项目(SCNYCXTD-3-2022)

通信作者: 赵远林

in hybrid breeding. Maydica, 2005, 50 (3): 275-283

[14] 孙瑞, 景希强, 高洪敏. 单倍体诱导系对玉米不同种质类群诱导效果的初步研究. 辽宁农业科学, 2013 (3): 18-21

[15] 祁志云, 杨华, 邱正高, 张亚勤, 袁亮, 蔡治荣, 王楠, 金川, 李淑君. 不同基因型玉米单倍体诱导效果研究. 西南农业学报, 2012, 25

(4): 1152-1158

[16] 李高科, 毛笈华, 李春艳, 李武, 刘建华, 于永涛, 祁喜涛, 文天祥, 卢文佳, 胡建广. 28 份玉米单倍体诱导系的诱导率表现及聚类分析. 玉米科学, 2016, 24 (4): 24-29

(收稿日期: 2022-06-23)