

利用父本单倍体诱导系选育自交系的研究进展

扈光辉

(黑龙江省农业科学院玉米研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 介绍了玉米父本单倍体诱导系的研究现状、单倍体诱导和加倍方法及黑龙江省在该领域研究的进展。单倍体诱导系已在玉米育种中显示出巨大的应用前景, 应加强这方面的研究并尽快应用于实践。

关键词: 玉米; 单倍体诱导系; 育种

中图分类号: S513 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)01-0138-02

Investigation of Male Haploid Induction Techniques for Inbred Line Development in Maize

HU Guang-hui

(Maize Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: The paper introduced research development in male haploid inducer of maize, haploid induction, doubling methods and development of the research in Heilongjiang province. Haploid inducer has showed a promising prospect in maize breeding, we should strengthen study on it and make it to be used in practice soon.

Key words: maize; haploid inducer; breeding

1 概况

1949年 Chase 提出了单倍体诱导选系的方法^[1], 原理是利用自然发生或人工培育的单倍体植株, 经人工或自然加倍获得纯合的一倍体植株, 再从中选育自交系。

诱导产生单倍体的方法有很多种, 其中利用单倍体诱导系结合性状标记基因, 诱发和筛选单倍体和纯合一倍体, 是一种高效的方法。世界第一个选育成功和目前普遍使用的母本单倍体诱导系 Stock6 是 Ed Coe(1950)发现的, 该系自交后代中可产生约 2.52% 的单倍体植株。各国育种家先后育成了一些具有单倍体诱发能力的自交系, 譬如 Chase 使用的 A385, Kermicle 发现的 *ig* 基因, Ty mov 和 Zavalishina 使用的 ZMS (Zarodyshev marker Saratovsky), Chalyk 使用的 KMS (Korichnev marker Saratovsk) 及 MHI (Moldovian haploid inducer), 以及中国农业大学宋同明使用的农大高诱 1 号, 吉林省农业科学院选育的吉高诱 3 号等都可以产生约 3% 左右甚至更高诱导率的单倍体^[28]。

显然, 利用单倍体诱导系杂交诱导单倍体不但诱导率很高, 而且方法非常简单, 所获得的单倍体完全取决于母本基因型的随机组合, 它们经过染色体加倍, 即

可成为可育的纯合二倍体。因此具备应用于育种的基本要求。利用单倍体方法进行育种, 不但可以大大缩短自交系的选育周期, 加快育种进程, 而且还可以实现配子选择, 提高有利基因型的入选频率。

近年来, 美国孟山都公司、德国 KWS 公司及俄罗斯等国的一些玉米种子公司都在尝试利用单倍体诱导系进行自交系选育, 以期加快育种速度, 缩短新杂交种推出的时间, 达到占有和扩大市场的目标, 其中以德国的 KWS 公司的技术相对成熟。据不完全统计每年大约可产生 1 500~2 000 个纯系^[9]。而诱导选系在我国研究较少, 中国农业大学、中国农业科学院、华中农业大学、河北农业大学、吉林省农业科学院、山东省农业科学院、辽宁省农业科学院、吉林省农业科学院等也都先后从事了这方面的研究。

2 单倍体诱导系选育玉米自交系的技术

利用单倍体诱导系选育玉米自交系程序主要包括杂交诱导产生单倍体、对单倍体诱导系杂交 F₁ 后代进行单倍体个体的鉴定及单倍体个体的染色体加倍。

2.1 杂交诱导及单倍体鉴别技术

其基本过程是: 以选系用的基础材料为母本, 用诱导系与之杂交, 从当代杂交果穗上就可以产生一定比例的单倍体籽粒。利用遗传标记的鉴定方法来鉴别单倍体。Coe 的 Stock 6 和宋同明等的高诱 1 号单倍体诱

收稿日期: 2008-07-14

作者简介: 扈光辉(1975-), 男, 黑龙江省甘南县人, 助理研究员, 主要从事玉米育种研究。E-mail: gh_h@tom.com.

导系, 导入了籽粒和植株显色的遗传标记基因。由单倍体诱导系诱导出的籽粒分 3 种类型: ①胚乳糊粉层呈现紫色或紫红色, 胚芽部位也呈现紫色或紫红色; ②胚乳糊粉层呈现紫色或紫红色标记, 胚芽部位无色; ③胚乳糊粉层和胚芽部位均不显色(无标记)^[19]。

张铭堂报道^[11]: 第一、二种类型的子粒占绝大多数, 为一倍体子粒; 第一类子粒所占的比例很小, 为单倍体子粒。根据子粒的颜色标记特征, 对单倍体做出初步判断之后, 还可在田间根据植株 ABPI 紫色标记对单倍体做出进一步的判别: 幼苗叶鞘全部为紫色者不是单倍体。在拔节期, 单倍体植株大多表现出生长缓慢、植株矮小、叶片短和颜色浅等特点; 此外, 玉米植株的育性也是鉴别玉米单倍体的一个重要指标。玉米的单倍体植株由于只含有一套染色体组, 通常都是雄性不育或育性很低。

为进一步确定植株染色体倍性, 在显微镜下观察绿苗根尖压片, 细胞染色体数目为 10 条则为单倍体个体。细胞学鉴定直接揭示染色体的倍性, 最基本、最精准的方法, 是形态学鉴定的补充和证明^[13]。

2.2 单倍体个体的加倍技术

对已诱发产生的单倍体加倍, 是利用单倍体诱导系创造新种质的最终目的。主要的加倍方法有自然加倍和化学加倍。

2.2.1 自然加倍 单倍体植株在生长发育的过程中, 大约有 0.4%~1.2% 的植株可以自然加倍成二倍体^[9]。在一般情况下单倍体植株表现为雌雄不调, 正常花粉粒很少, 所以单倍体自然加倍的频率仅占全部单倍体植株的 10%^[11]。许多材料的自然加倍率低于 5%, 也有的材料不发生自然加倍^[10]。

Shatskaya 等研究发现, 由 DH 系再诱导出来的单倍体, 其自然加倍频率比一般单倍体高出 40%。用高频系与低频系杂交, F₁ 代产生单倍体的自然加倍率倾向双亲平均值(Shatskaya 等)。因此, 单倍体的自然加倍特性也是一种遗传性状^[13]。

2.2.2 化学加倍 目前对单倍体进行加倍的常用方法主要药剂为秋水仙碱和氮氧气体。中国农大的研究人员对其加倍的药剂浓度及时间作了详细的研究。结果表明: 浸种法(0.6 mg·mL⁻¹)和注射法((0.4 mg·mL⁻¹)的效果较好, 散粉率和结实率相对较高。秋水仙素含量与国外幼芽加倍法采用的含量类似。但是, 由于秋水仙素对人体毒性很大, 而且易对植物造成死苗、畸形等伤害, 因此寻找其他替代是今后染色体加倍研究的重点。据报道 APM(amiprophos-methyl)、拿草特(pronamide)、安磺灵(oryzalin)、氟乐灵(trifluralin)等具有加倍功能, 有望成为新的细胞分裂抑制剂替代品^[14]。Kato 使用染色体加倍技术处理单倍体诱导系 Stock6 产生的单倍体, 发现用氮氧气体在压强 6 kg·cm⁻² 处理玉米单倍体幼苗(在花原基形成期)2 d, 明显

提高可育雄穗和雌穗的比例。结果表明, 经处理的 44% 的单倍体能自交结实^[15]。

3 影响孤雌生殖诱导系诱导效果的因素

不同遗传背景母本产生单倍体频率存在很大差异。Chase 发现, 经过多代农艺性状改良的材料作母本比未经改良材料产生单倍体频率高, 单倍体的发生频率与雌配子体中致死和半致死基因的频率呈负相关。刘志曾等报道, 高诱 1 号对各种材料均有诱导孤雌生殖单倍体的能力。高诱 1 号对 411/Syn695 和 411/230 诱导率 8% 左右, 对黄野四和 H4 诱导率 2%, 相差 4 倍之多, 显然, 母本基因型对单倍体诱导率具有重要影响^[9]。

改变环境和处理方式也能影响诱导率。例如将授粉时间推迟到下午、吐丝的时期、加热等因素都可能改变诱导率。中国农业大学的陈绍江等人研究认为花丝长度对诱导单倍体频率有一定的影响。刘志增报道精核间距在诱导单倍体过程中起重要作用。花丝长时, 更容易诱导形成单倍体。授粉时期对单倍体诱导率的影响可能同气温有密切关系, 花丝在温度较低时接受花粉的时间延长, 这样也增加了单受精的机会。另外, 试验还发现, 海南冬繁单倍体诱导频率明显高于北京, 这也进一步证明较低温度可能有利于单倍体诱导。从花丝不同时期接受花粉的能力来看, 雌穗在吐丝后 3~4 d 内抽出的花丝活力较强, 6~9 d 后活力开始下降^[14]。

4 黑龙江省利用单倍体诱导系取得的研究进展

黑龙江省农业科学院自 2005 年从中国农业大学引入农大高诱 1 号后, 即开展了单倍体诱导系选育自交系的研究。主要开展了以下工作: ①杂交诱导及单倍体的加倍。3 年内共获得 DH 系 18 份, 经测交鉴定后, 已利用杂交种的组配中。②研究分析农大高诱 1 号对现有不同种质类群种质的诱导率及自然加倍情况, 认为含有 Lancaster、塘四平头血缘的种质单倍体诱导率相对较高, 分别为 4.6%、3.4%, 而含有旅大红骨血缘的单倍体的自然加倍率达 10.5%, 单穗结实率可达 35%。③以 Stock6 和农大高诱 1 号为基础材料, 采用多个材料对其进行了遗传改良, 期望选育出适应性强、诱发力高的新诱导系。

5 展望

利用单倍体诱导系诱导单倍体具有高效、经济等特点, 远优于花药培养、化学诱导等其它方法。该方法已在欧美等国的一些玉米种子公司大量使用。美国已育成了一批优良的玉米单倍体诱导系, 而且对玉米单倍体的鉴别、筛选、育种方法已经日趋完善成熟。实现单倍体诱导系在我国玉米育种中的应用, 必须重视新诱导系的选育研究, 通过已有单倍体诱导系与国内广泛使用的优良玉米种质杂交和回交选育新的诱导系。

(下转第 155 页)

(哈尔滨)2 年检验,江单 4 号籽粒含粗蛋白 10.62%~10.67%,粗脂肪 4.22%~4.29%,粗淀粉 72.31%~73.64%,赖氨酸 0.29%~0.30%。

表 2 江单 4 号 2007 年生产试验产量结果

年份	试验点名称	产量/ $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$	增减/%	对照品种
2007	齐山种业龙江分公司	11120.5	+10.9	四单 19
2007	省农科院齐齐哈尔分院	9910.0	+13.5	四单 19
2007	大庆市种子管理处	10940.6	+10.0	四单 19
2007	安达市大鹏种业	10351.0	+15.0	四单 19
2007	泰来县种子公司	11600.0	+10.5	四单 19
2007	杜蒙县种子管理站	9830.5	+12.0	四单 19
平均		10625.3	+12.0	四单 19

2.1.2 抗病虫鉴定结果 经黑龙江省农科院植保所 2 年病害接种鉴定,平均结果:玉米大斑病两年均为 3 级,玉米丝黑穗病发病率 16.9%~23.3%。

2.1.3 抗逆性 江单 4 号表现有较强的抗逆性,几年异地鉴定表现出较强的抗寒、抗倒伏能力。

优点:该杂交种抗倒伏能力强,叶色浓绿,株型清秀,活秆成熟,在适应区密度为 50 000 株 $\cdot \text{hm}^{-2}$ 左右。江单 4 号高产稳产性好,在不同地区不同年际间,均具有较好的高产、稳产性和生态适应性。

2.2 植株及果穗性状

江单 4 号幼苗生长迅速,幼苗期第一叶鞘紫色,第一叶尖端形状圆形、叶片绿色,茎绿色;株高 276 cm,穗位高 73 cm,成株叶片数 19 片。果穗为圆柱形、穗轴粉色、穗长 25 cm、穗粗 5.5 cm,穗行数 14~18 行,籽粒中

齿型、黄色,出籽率较高。

3 栽培要点及适宜种植区域

3.1 播种

江单 4 号适宜在平川地及岗地种植,在适应生态区,一般在 5 月 1 日前后播种,播种量 30 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$,3 叶期间苗、5 叶期定苗。栽培密度一般以 50 000 株 $\cdot \text{hm}^{-2}$ 为宜。

3.2 施肥水平

基肥及种肥施 225 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 磷酸二铵、15 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 硫酸锌,有条件加施 40 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 硫酸钾;在拔节期追施 150~225 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 尿素。

3.3 适宜种植区域

江单 4 号从出苗到成熟需有效活动积温 2 550 $^{\circ}\text{C}$ 左右,在适宜种植区域生育日数为 126 d 左右,适宜黑龙江省第一积温带下限种植。

4 杂交种制种技术及方法

杂交种制种需与其它玉米田隔离 500 m 以上,父母本比例为 1:4,在技术人员指导下分别在苗期、拔节期及大喇叭口期进行三次除杂,以确保杂交种的纯度;待授粉结束 1 周将父本砍除,保证母本更好地通风透光以确保杂交种的质量;玉米成熟后收获,剔除杂穗和不典型果穗,待水分降至 16%以下时脱粒、清选、包装。

参考文献:

[1] 孙发明,焦仁海,李凤任,等.高产、优质、抗逆玉米新品种吉单 198 的选育研究[J].农业与技术,2001,25(1):56-57.

定[J].作物学报,2000,26(5):570-574.

[7] 刘志增,宋同明,滕文涛,等.玉米孤雌生殖诱导系的选育方法研究[J].中国农业大学学报,2000,5(3):51-57.

[8] 才卓,徐国良,刘向辉,等.玉米高频率单倍体生殖诱导系吉高诱系 3 号的选育[J].玉米科学,2007,15(1):1-4.

[9] 才卓,徐国良,刘向辉,等.玉米单倍体诱导选系研究(简报)[J].玉米科学,2004,12(1):10-11.

[10] 梁文科,戚廷香,徐尚忠.单倍体技术在玉米育种中的应用和新进展[J].玉米科学,2004,12(3):13-15,18.

[11] 张铭堂.玉米之遗传(续)—细胞遗传[J].科学农业,1996,44(3-4):87-109.

[12] 宋建成,姜丽君,王启柏,等.玉米孤雌生殖诱导系及标记基因的观察[J].玉米科学,1998,1:17-20.

[13] 刘志增,宋同明.玉米杂交诱导孤雌生殖单倍体研究进展[J].玉米科学,1999,7(2):16-19.

[14] 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.

[15] Kato A. Chromosome doubling of haploid maize seedlings using nitrous oxide gas at the flower primordia stage[J]. Plant Breeding Reviews 2002, 121:370-377.

(上接第 139 页)

提高诱导率,加强遗传标记性状,探讨单倍体诱导系诱导性状的遗传规律和诱导机制。将群体改良、二环系选育等常规育种手段与单倍体诱导选育有机的结合起来,重视目标诱导基础材料选择,将会极大地发挥单倍体诱导育种的优势。

参考文献:

[1] Chase S S. Monoploid frequencies in a commercial double cross hybrid maize and in its component single cross hybrids and inbred lines [J]. Genetics, 1949, 34: 328.

[2] Coe E H. A line of maize with high haploid frequency [J]. Amer Nat., 1959, 93: 381-382.

[3] 刘志增,宋同明.玉米孤雌生殖诱导系 Stock6 的农现及其遗传改良初报[J].中国农业大学学报,1998,3(增刊):6-10.

[4] Lashermes P, Beckert V L. Genetic control of maternal haploidy in maize (*Zea mays* L.) and selection of haploid inducing lines [J]. Theor. Appl. Genet., 1988, 76: 405-410.

[5] Chaluk S T. Properties of maternal haploid maize plants and potential applications to maize breeding [J]. Euphytica 1994, 79: 13-18.

[6] 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