

玉米单倍体诱导系对不同类群 F₁ 的诱导率评价

林 红,孙德全,李绥艳,马延华,潘丽艳

(黑龙江省农业科学院 草业研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为了规模化应用玉米单倍体育种技术,研究了玉米单倍体诱导系高诱 1 号和 EMK-1 对不同基因型类群 F₁ 的单倍体诱导效果。结果表明:诱导率和母本基因型存在显著差异,与不同来源父本的差异相关性接近显著水平。EMK-1 诱导率和植株性状明显优于高诱 1 号,可以重点利用;单倍体自然加倍率与母本基因型差异接近显著水平,与父本诱导系基因型没有差异。

关键词:玉米;单倍体诱导系;诱导率;自然加倍率

中图分类号:S513.035.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)06-0012-03

玉米单倍体育种技术,现已成为玉米商业化育种过程中主要的选系技术,国际种业公司均已经大规模运用 DH 育种,实现了“工厂化”育种。目前,限制单倍体技术规模化应用的主要因素有诱导系诱导效率、单倍体的鉴定效率和单倍体的加倍技术。国内许多科研单位对单倍体技术的研究不断深入,选育出一批新的诱导率较高的诱导系,鉴定效率也不断提高^[1]。该试验以 2 个玉米单倍体诱导系作父本,与 3 种不同类群母本的材料杂交诱导,进行不同玉米单倍体诱导系对不同类群 F₁ 的诱导率评价与研究,同时对诱导系评价、自然加倍的选择和单倍体在自然加倍过程中

田间管理、加倍材料的观察以及单倍体授粉等方面进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

母本为同一类群 2 个自交系组配的 F₁,作为被诱导材料,其中 T₁ 来自扎 461×黄早四(塘四平头类群)、T₂ 来自 Mo17×丹 1324(兰卡斯特类群)、T₃ 来自 PH6WC×4462(瑞德类群),父本为引自中国农业大学的农大高诱 1 号和俄罗斯诱导系 EMK-1。单倍体来源及主要性状见表 1。

表 1 玉米单倍体诱导系来源及主要特点

Table 1 Sources and agronomic characters of derived lines

诱导系 Derived lines	来源 Source	茎秆颜色 Color of stem	花粉量 Pollen quantity	花期协调性 Synchronization of florescence	籽粒特点 Characteristics of grain	穗粒数 Grain number per spike
高诱 1 号 Gaoyou 1	中国农业大学	紫	中	差	紫色、硬粒	少
EMK-1	俄罗斯诱导系	绿	多	好	黄色、紫顶、硬粒	少

1.2 方法

1.2.1 杂交诱导 试验于 2011 年在黑龙江省农业科学院试验田进行,先组配 T₁、T₂、T₃ 的 F₁ 杂交组合,冬季在海南三亚黑龙江省南繁指挥部试验地进行杂交诱导,每个母本 20 行区,2 个父本各 6 行区,行长 5 m,行距 60 cm,株距 25 cm,每个

父本诱导系分两期播种,第 1 期在母本破土露尖时播种,第 2 期在母本 3 叶期播种;每个母本各 10 行分别杂交 2 个父本诱导系,每行全部授粉,收获后根据籽粒的 R-nj 标记挑选出拟单倍体种子。

1.2.2 种植及管理 挑选出来的拟单倍体种子于 2012 年春在黑龙江省农业科学院(哈尔滨)试验地播种,种植行距 65 cm,株距 20 cm,出苗后 5~7 叶期通过观察叶鞘颜色和植株生长势等判断,去除伪单倍体植株,第 1 次确定单倍体数量;在开花授粉期间,再次确定单倍体数量。因单倍体生长势较弱,应及时中耕、除草、灌水,3 叶期开始,每 10 d 人工浇水 1 次,连续 3 次。

1.2.3 诱导率的分析与评价 根据 3 个不同类

收稿日期:2014-03-04

基金项目:国家国际科技合作专项资助项目(2011DFR30840);黑龙江省应用技术与开发计划资助项目(WB13B108)

第一作者简介:林红(1974-),男,黑龙江省阿城市人,硕士,副研究员,从事玉米新品种选育及推广研究。E-mail:linhonglitt@163.com。

群的 F₁ 与 2 个诱导系诱导后代所获得的真实单倍体株数和总籽粒数,计算单倍体诱导率,评价不同玉米单倍体诱导系对杂交 F₁ 的诱导率。

单倍体诱导率(%)=(真实单倍体株数/总籽粒数)×100

1.2.4 自然加倍效果研究 针对玉米单倍体在哈尔滨生态条件下生长和自然加倍过程中,田间管理、加倍材料的观察及单倍体授粉等方面进行研究和探讨。

加倍率(%)=(雄穗显花药株数/单倍体株数)×100

数据采用 Excel 2003 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同诱导系诱导不同类群后代的诱导率分析

通过 2 个诱导系诱导 3 个不同类群的杂交后代,根据籽粒的 R-nj 标记挑选拟单倍体种子,根据田间植株的叶鞘颜色和植株生长势等判断并确定单倍体植株数量,计算出每个诱导系诱导不同类群后代的诱导率。通过表 2 和表 3 可知,不同诱导系诱导不同类群杂交后代,其诱导率和母本基因型存在显著差异,而与其不同来源的父本差异不显著,但也接近显著差异水平,EMK-1 诱导 3 个基因型母本的平均诱导率为 3.31%,明显高

表 2 不同诱导系诱导不同类群后代的诱导率分析
Table 2 Analysis on induction rate of different groups

母本 Female parent	类群 Class group	父本 Male parent	总粒数 Total grain number	拟单倍体数 ^a Number of quasi haploid	单倍体数 ^b Number of haploid	诱导率/% Induction rate	雄穗显 花药株数 Anther appearing plants	加倍率 Doubling rate
T ₁	塘四平头类群	高诱 1 号	35136	1287(3.66)	772(59.9)	2.20	23	2.98
		EMK-1	32427	1415(4.36)	874(61.8)	2.69	21	2.40
T ₂	兰卡斯特类群	高诱 1 号	34384	1115(3.24)	726(65.1)	2.11	20	2.75
		EMK-1	31535	1232(3.66)	812(65.9)	2.57	24	2.96
T ₃	瑞德类群	高诱 1 号	42962	2199(3.91)	1584(72.0)	3.67	67	4.23
		EMK-1	43668	2763(6.33)	2045(74.0)	4.68	87	3.96

注:a. 括号内数字指拟单倍体数占总粒数的百分比;b. 括号内数字是指单倍体数占拟单倍体数的百分比。
Note:a. Figures in brackets are the percentage of the quasi haploid number to total grain number;b. Figures in brackets are the percentage of the haploid number to the quasi haploid number.

表 3 不同类群后代诱导率方差分析
Table 3 Variance analysis on the induction rate of different groups

差异源 Difference source	自由度 df	平方和 SS	均方 MS	F	P	F 临界值 F critical value
母本基因型 Genotype of female parent	2	4.247433	2.123717	44.41373*	0.02202	19
父本 Male parent	1	0.640267	0.640267	13.39003	0.067238	18.51282
误差 Deviation	2	0.095633	0.047817			
总计 Total	5	4.983333				

于高诱 1 号的平均诱导率(2.66%)。通过挑选的拟单倍体数占总粒数的百分比以及田间真实单倍体数占拟单倍体数的百分比的比较,在根据籽粒的 R-nj 标记人工挑选单倍体籽粒时,马齿型瑞德类群的诱导标记表达要优于中间型的兰卡斯特类群和硬粒型的塘四平头类群。

2.2 不同诱导系诱导不同类群后代的自然加倍率分析

从表 2 可以看出,不同诱导系诱导不同类群后代,单倍体自然加倍率存在差异,但从表 4 的方差分析结果来看,单倍体自然加倍率与母本基因型差异接近显著水平,与父本基因型没有差异。

表 4 不同类群后代单倍体加倍率方差分析
Table 4 Variance analysis on haploid doubling rate of different groups

差异源 Difference source	自由度 df	平方和 SS	均方 MS	F	P	F 临界值 F critical value
母本基因型 Genotype of female parent	2	2.359233	1.179617	14.89102	0.062929	19
父本 Male parent	1	0.068267	0.068267	0.861772	0.451245	18.51282
误差 Deviation	2	0.158433	0.079217			
总计 Total	5	2.585933				

3 结论与讨论

3.1 父母本基因型对诱导率和加倍率的影响

在该试验中,不同诱导系诱导不同类群杂交 F_1 后代,母本基因型对诱导率的差异具有显著影响,这与刘志增、才卓和陈绍江等人研究结果一致^[1-7];与不同来源父本的差异相关性接近显著水平。魏昌松研究表明,母本材料对诱导率的高低有影响,但对诱导率的分布趋势影响不大,诱导率的高低主要取决于诱导系的基因型。同时研究表明,单倍体自然加倍率与母本基因型差异接近显著水平,与父本基因型没有差异^[8]。

该试验中,瑞德类群的诱导率明显高于塘四平头和兰卡斯特类群,与蔡泉等研究结果基本一致;而李国良等研究表明,兰卡斯特类群诱导单倍体的频率要显著高于瑞德、塘四平头和旅大红骨类群^[9]。目前国内各类群内的自交系多采用二环系选育,很多自交系并没有利用群体内家系杂交选育,在选育过程中或多或少参进了其它类群的种质,只是在组配杂交组合上按照某一类群系利用,所以在研究同一类群内杂交后代性状和DNA分子水平时,其表型性状和某一类群标准测验种相近,但其自交系群体结构及分子标记聚类分析的遗传距离与标准测验种有一定的距离。所以不同学者研究诱导系对不同遗传基础材料诱导能力的结果也不尽相同。

3.2 玉米单倍体诱导系的评价

高诱1号是由中国农业大学宋同明教授等利用北京农业大学高油群体BHO和Stock6杂交,育成诱导率达5.8%的孤雌生殖单倍体诱导系,其填补了我国这个领域的空白,并率先在国内各大科研院所及种业公司利用,但由于其根倒、雌雄协调性差、授粉困难、果穗产量低以及穗粒数少等缺点,已经被其它优良的诱导系取代,如中国农业大学陈绍江教授选育的高诱5号,其诱导率可达8%以上;吉林省农业科学院选育的诱导率高达10%的吉高诱3号。EMK-1是俄罗斯克拉斯诺达尔农业研究所的研究学者利用Chase的PEM(紫色标记)Stock6及从萨拉托夫大学得到的几个Stocks为原始材料,利用这些材料进行杂交并对后代的个体选择,1991年育成,诱导率为6%~10%。该试验中,EMK-1和高诱1号的诱导率没有达到前人研究的水平,但诱导率和植株性状均明显优于高诱1号,这可能与杂交诱导的授粉时期、诱导的地点和诱导系长时间应用退化等有关。

3.3 自然加倍的选择

刘志增等研究表明,海南和北京夏播种植玉米单倍体的加倍率较差,推论出单倍体雄穗育性

的自然恢复与生长前期环境温度(或昼夜温差)的变化具有负(或正)相关的趋势^[10]。段民孝等研究表明,甘肃张掖春播和海南冬季播种玉米单倍体的自然加倍频率较高^[11]。蔡泉等研究认为玉米单倍体生长过程中自然条件对其育性恢复有着显著的影响,不同来源的玉米单倍体在海南的自然加倍率均高于黑龙江省^[12]。

前人研究均说明单倍体基因型和生长期间的自然条件对单倍体育性的自然恢复有着较大的影响,复杂的自然条件包括地点、纬度、播期、降水及灌溉条件等,因此需要更进一步深入研究影响单倍体自然加倍的因素。

很多研究认为如果母本基因型材料的自然加倍率可以达到10%左右,则可以采用自然加倍的方法来获得DH系,但如果自然加倍率很低,则一定要进行人工化学加倍处理,以提高加倍率。因此,在选择母本基因型的时候,可以先通过先期试验了解其自然加倍的能力,选择自然加倍率较高的母本基因型用作诱导材料。自然加倍需要尽量杂交诱导多的单倍体籽粒,以量取胜来获得所需的DH系。

3.4 单倍体及加倍材料的表现与管理

玉米单倍体均生长势弱,叶片上冲窄小,株高和穗位高都显著低于非单倍体。秋水仙素加倍后的材料多表现田间成活率低、叶片畸形较多、雄穗分化异常,因此,单倍体和加倍材料的观察和管理是单倍体加倍中的重要环节,尤其要特别加强田间管理和精细授粉。种植单倍体的地块要精工细作,肥水充足,及时铲趟。如果是药剂处理后的幼芽或幼苗需要移栽,要求更精细的管理,移栽时一定要保证存活率。单倍体不同单株育性恢复程度不同,其散粉性也大不相同,多数是花药吐露不散粉甚至不吐露,这就需要人工辅助精细授粉,即使能自然散粉的单倍体授粉时也需要每天多时段的观察和多次授粉,以保证结实率。

参考文献:

- [1] 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].玉米科学,2000,26(5):570-574.
- [2] 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.
- [3] 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[J].辽宁农业科学,2013(3):18-21.
- [4] 才卓,徐国良,任军,等.玉米杂交诱导单倍体选育自交系技术规范(修订版)[J].玉米科学,2013,21(2):1-5.
- [5] 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.
- [6] 蔡泉,曹靖生,史桂荣,等.几个不同来源玉米单倍体诱导系诱导效果的研究[J].玉米科学,2012,20(4):19-21.
- [7] 陈绍江,黎亮,李浩川.玉米单倍体育种技术[M].北京:中国农业大学出版社,2009.

水稻粒形性状的 QTL 分析

张智杰

(鸡东县农业技术推广中心,黑龙江 鸡东 158200)

摘要:为了促进水稻粒形性状分子标记辅助选择育种研究,以粳稻二九南和粳稻龙稻 5 号杂交衍生的重组自交系群体为材料,对粒长、粒宽和粒厚 3 个粒形性状进行数量性状基因定位(Quantitative trait loci, QTL)分析。结果表明:采用完备区间作图法(ICIM),共检测到 7 个控制粒形性状的 QTL,包括 3 个粒宽 QTL,4 个粒厚 QTL,它们分布于第 2、3、5、11 和 12 号染色体上,其中 4 个主效 QTL 包括 1 个控制粒宽的 *qGW5a* 和 3 个控制粒厚的 *qGT2a*、*qGT11a* 以及 *qGT12a*,但未检测到控制粒长的 QTL 位点。进一步分析表明,3 个控制粒宽性状的 QTL 能解释 28.44% 的表型贡献率,单个表型贡献率为 6.61%~13.81%;而 4 个控制粒厚性状的 QTL 能解释 17.53% 的表型贡献率,单个表型贡献率为 7.32%~15.30%。

关键词:水稻;重组自交系群体;粒形性状;数量性状基因位点

中图分类号:S511

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)06-0015-04

粒形性状是水稻最重要的农艺性状之一,直接影响着水稻产量和品质。随着科学技术的不断发展,水稻育种已不仅仅只满足于解决人们的温饱问题,不断提高稻米品质,选育出高产优质的新品种是水稻育种面临的新挑战。粒形性状是典型的数量性状,受多基因控制,易受环境的影响^[1-3],而传统育种一般都是根据表型性状选择基因型,会降低选择的效率。近年来,随着分子生物学的

快速发展,通过分子标记辅助选择育种能有效且准确地为育种家提供指导。由此可见,定位和克隆新的 QTL 位点对于品种选育具有重要的意义。

前人对水稻粒形性状做了大量的研究,陈冰蠕等^[4]利用 BC₂F₂ 高代回交群体进行粒宽的 QTL 分析,共检测到 4 个粒宽相关的数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL),它们分别位于水稻第 3、5、5 和 8 号染色体上,共解释了 40.05% 的表型变异。姜树坤等^[3]利用 BC₁F₅ 群体对不同地区的水稻粒形进行 QTL 分析,共检测到 16 个控制粒形相关性状的 QTL,包括在日

收稿日期:2014-03-10

作者简介:张智杰(1963-),女,黑龙江省富裕县人,高级农艺师,从事农业技术推广工作。E-mail:1751100422@qq.com。

- [8] 魏昌松. 玉米单倍体高频诱导系的筛选与加倍技术的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2011.
- [9] 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.
- [10] 刘志增,宋同明. 玉米单倍体雌雄育性的自然恢复以及染

- 色体的化学加倍[J]. 作物学报,2000,26(6):947-952.
- [11] 段民孝,赵久然,刘新香,等. 不同种植地点对玉米单倍体自然加倍率的影响[J]. 作物杂志,2012(2):68-70.
- [12] 蔡泉,曹靖生,史桂荣,等. 玉米单倍体在黑龙江与海南自然加倍效果的对比研究[J]. 玉米科学,2012,20(5):7-9.

Evaluation on Induction Rate of Maize Haploid Derived Lines for Different Groups F₁

LIN Hong, SUN De-quan, LI Sui-yan, MA Yan-hua, PAN Li-yan

(Pratacultural Science Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to use maize haploid breeding technology for large-scale application, induction effect of haploid derived lines of Gaoyou1 and EMK-1 on generation F₁ of different groups were studied. The results showed that there were significant differences between induction rate and different female genotypes, the difference between different male parents was closed to significant level. EMK-1, which could use mainly, had higher induction rate and better plant traits than Gaoyou 1. Difference between natural doubling rate and female genotypes was closed to significant level but no difference with male derived line genotypes.

Key words: maize; haploid derived line; induction rate; natural doubling rate