

Stock6 在玉米自交系选育中的应用

徐艳霞

(黑龙江省畜牧研究所, 黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘要:单倍体诱导系的应用与发展在遗传和育种中均有重大意义,该方法不仅缩短了育种进程,提高育种效率,还可应用于遗传学等领域。在诱导系诱导单倍体过程中,选育高频诱导系是利用诱导系诱导产生单倍体的先决条件。通过综述 Stock6、W23ig、WS14、ZMS、KMS、MHI、RWS、CAU 和 JAAS3 等单倍体诱导系的选育历史,总结了 Stock6 在玉米单倍体诱导和选育中的应用。

关键词:Stock6;玉米单倍体诱导系;应用

中图分类号:S513

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)11-0157-03

通过单倍体诱导系诱导获得 DH 纯系是目前玉米常规育种工作中最有经济意义的方法,该方法不仅缩短了育种进程,提高了育种效率,还可应用于分子领域。因而单倍体诱导系的应用与发展在农作物遗传和育种中均有重大意义。美国是玉米单倍体诱导系育种的发源地,另外,研究较多的国家还有俄罗斯(前苏联)、德国、法国及摩尔多瓦等^[1]。我国关于玉米单倍体诱导系的研究起步较晚,主要研究单位有中国农业大学、华中农业大学、河北农业大学、吉林省农业科学院、山东省农业科学院和辽宁省农业科学院等。目前,我国正在逐步完善和应用此种选系技术。该文简要论述了 Stock6 在玉米单倍体诱导系选育中的应用,以期为广大科研和玉米育种工作者提供参考。

1 Stock6 单倍体诱导系的选育历史

Stock6 是在玉米中发现的第一个孤雌生殖诱导系。1946 年, NorthUp King 公司发现一个具有紫色糊粉层的玉米材料,表现为硬粒、白色籽粒及粉质胚乳。1956 年, Coe 在《玉米遗传通讯》(美国英文版)上,正式将该系命名为 Stock6。经过几年的试验发现, Stock6 自交系的后代中产生了 3%左右的单倍体,进而用它作父本杂交,产生了 2.29%的孤雌生殖单倍体。由于 Stock6 缺乏用以鉴别杂交诱导单倍体的遗传标记基因,在当时可用的籽粒遗传标记中, Coe 将控制色素形成的 C 基因的显性抑制基因 C-I 基因导入 Stock6,以具有紫色盾状体的材料作为母本来诱导单倍体。20 世纪 70 年代,人们开始对 Stock6(C-I)进行深入研究,试验结果表明单倍体诱导率可以通过选择而大幅度提高。

Stock6 可以说是目前所有单倍体诱导系的祖先,后来新选诱导系都是在其基础上经过一次次的遗传加工得来^[2-3]。

2 Stock6 在玉米单倍体诱导系选育中的应用

2.1 W23ig

在玉米中,雄核发育很少出现。霍赫洛夫等在花青素色泽标记的 861 457 株幼苗中,只找到 15 株雄核发育的单倍体,频率为 1:57 430^[4],远小于母性单倍体的频率 0.001^[5]。Kermicle 等研究表明,美国商用玉米自交系 W23 自交或用其它自交系的花粉授粉时,得到大约 3%的雄核发育单倍体,1969 年, Kermicle 等^[6-7]发现 W23 携带有不定配子体(indeterminate gametophyte)突变基因(ig),以 ig 基因纯合体为母本,杂交可以产生 3%左右的单倍体,其中 2.6%为孤雄生殖单倍体,0.6%为孤雌生殖单倍体。不定配子体基因位于玉米第 3 条染色体上,可诱导产生孤雄生殖单倍体。通过比较基因组学和分子标记等方法, ig-1 基因已经被克隆。在 ig-1 突变中,叶片经常出现异常,无叶脉和扭曲的叶舌比较普遍。ig/ig 纯合体为母本,与育种材料杂交,用于 DH 系的选育,但纯合体雄性不育,不能自交留种,而杂合体的后代只有 1/4 是纯合体,群体难以扩大,限制了其在育种中的应用^[8]。

2.2 WS14

WS14 是一个法国的诱导系,由 Lashermes 等人在 W23ig 和 Stock6 的基础上选育而来。1969 年, Kermicle 从美国商用玉米自交系 W23 中发现了不定配子(indeterminate gametophyte)突变系 W23ig,当以 W23ig 作母本时可以诱导产生雄核发育的单倍体,频率可达到 3%。Lashermes 等^[9]将 W23ig 和 Stock 6 进行杂交,然后从杂交后代中选择优良的株系测验并杂交。在 F₃有一个株系表现出比较高的单倍体诱导能力,用其不断的自交并进行诱导率测验,选育出了

收稿日期:2014-05-19

基金项目:齐齐哈尔市科学技术计划资助项目(NYGG-201316);黑龙江省科技厅自选专项基金资助项目(XZNKT-14-4)。

作者简介:徐艳霞(1981-),女,黑龙江省方正县人,硕士,助理研究员,从事玉米育种方面的研究。E-mail: xuyanxia0214@163.com。

WS14,当用 WS14 作父本时,诱导率为2%~5%。

2.3 ZMS 和 KMS

ZMS 和 KMS 都是 Stock6 的基础上选育而来的。1984 年,玉米孤雌生殖诱导系 ZMS(Zarodyshevsky Marker Saratovsky)由前苏联学者 Tyrnov^[10]等选育,ZMS 携带 *a1B1P1* 基因,可以通过发芽后 3~5 d 幼芽根的颜色来鉴定单倍体,单倍体诱导频率达到 2%左右^[11];1992 年,摩尔多瓦学者 Chalyk^[12]等首次报道了 KMS(korichnew Marker Saratovsky)单倍体诱导系,KMS 携带 *A1C1R-nj* 标记基因,能够通过籽粒颜色进行单倍体鉴定,单倍体诱导率达到 2.5%左右。

2.4 MHI

1994 年,摩尔多瓦学者 Chalyk 等^[13]首次报道了摩尔多瓦诱导系,简称 MHI(Modovian Haploid Inducer)。MHI 来源于两个诱导系,即 ZMS 和 KMS,Chalyk 等将两者杂交($KMS \times ZMS$),然后不断自交,从杂交后代中选择糊粉层及胚部标记非常清楚的株系,同时进行诱导率的测定。其中 F_2 、 F_3 根据自发单倍体的多少来选择单株或株系,从 F_4 开始选取优良单株广泛地与不同背景的材料进行杂交来评价诱导能力。最后从 F_8 中选取 14 个株系进行诱导率测定。由于此时各位点都已经接近纯合,因此诱导率的评价采取整行评价,将行内的花粉混合进行授粉,选择两个自交系及其杂交种作为测验种。选取诱导率最高的一个诱导系,命名为 MHI,平均诱导率约 6.5%^[12]。

2.5 RWS

RWS 是由德国霍恩海姆大学的 Geiger 等人选育,其来源于 WS14 和 KEMS,其中 KEMS 是由俄罗斯的 Shatskaya 等^[14]选育的。Röber 等^[15]将 WS14 与 KEMS 进行正反交,然后分别不断自交至 F_5 ,从 $KEMS \times WS14$ 组合后代中选出一个诱导率最高的株系,命名为 RWS($R = \text{Russian}; WS = \text{line WS14}$),用两个带有隐性基因的材料作为测验种来进行诱导率测定,其中一个测验种带有无叶舌的隐性突变,另一个是携带多个隐性农艺性状的特殊材料。RWS 带有显性花青素标志基因 *R1-nj*,除此之外还携带有一个显性紫色茎秆基因,可以弥补籽粒标记的表达容易受到抑制的缺点。RWS 的诱导率为 10%左右。目前,德国的 KWS 和法国的 Limagrain 等公司都是利用这个诱导系进行单倍体的育种工作^[2]。

2.6 农大高诱 1 号(CAU)

农大高诱 1 号是由中国农业大学植物科技学院刘志增和宋同明利用 Stock6 与高油玉米群体 BHO 的杂交后代,经过不断的测交选育而成。BHO 是一个高油改良群体,胚面较大,在 BHO 群体内不同单株与 Stock6 的数十个杂交果穗中,选择其中籽粒紫色标记最深的一个果穗作为选系

的原始组合,将其与 Stock6 回交 1~2 次,形成 F_1 自交、一次回交和两次回交 3 个选系基础群体。后代处理按系谱法进行,每代在选择诱导率的同时选择籽粒标记和农艺性状等。其中诱导率的测验采用自选的黄绿苗自交系 Syn695yg。以 Syn695yg 为母本时,单倍体幼苗表现为黄色,杂合体幼苗表现为绿色,因此可以有效鉴定单倍体,其单倍体诱导率约 5.8%。后来从 F_1 自交后代中选育出一个诱导率较高的株系,命名为农大高诱 1 号。高诱 1 号集 3 种优良标记于一身,即籽粒 Navaio 标记、大胚面标记和 *ABPI* 显性基因控制的紫株标记,且高诱 1 号花粉量大、综合性状好等,因此是诱导单倍体的理想诱导系。高诱 1 号的育成缩小了我国在该领域与先进国家之间的差距,为我国开展单倍体育种创造了物质基础^[1]。后来,陈绍江等在农大高诱 1 号的基础上,结合诱导率、农艺性状,尤其是对油分进行选择,从中分离出综合特性比较好的高油型农大高诱 1 号,其含油量为 7.5%左右。该系油分的花粉直感效应明显,可用于单倍体的鉴别。该系诱导率一般在 3%~5%,已经被国内多家育种科研单位及公司采用^[16]。

2.7 吉高诱 3 号(JAAS3)

2007 年,吉林农业科学院玉米研究所的才卓和徐国良等首次报道了吉高诱 3 号诱导系。1996 年,吉林农业科学院玉米研究所从美国引入诱导系 Stock6 单倍体诱导系,该 Stock6 带有 2 个明显的标记性状:籽粒 Navajo 斑纹,由 *A1A2C1C2R-nj* 互补基因控制;植株紫色,由 *A1A2C2BPI* 互补基因控制。对于绝大部分玉米材料表现为显性,但具有高感病、结实难等一系列缺点。1997 年该单位又从一批国外材料后代中发现 M278 籽粒带有紫斑,田间可自发产生单倍体株,进而配制 $M278 \times \text{Stock6}$ 组合作为选系的基础群体,杂交获得的 F_1 基础材料,采用系谱法连续进行 6 个世代的选育。各代以单倍体诱导率、籽粒 Navajo 标记选择为主,同时兼顾植株 *ABPI* 标记、花粉量、结实性及抗病性等,最终选出诱导率高、标记好、综合性状优良的株系,并命名为吉高诱 3 号。通过对 20 个不同基因型材料的单倍体诱导,单倍体诱导率为 5.50%~15.94%,平均单倍体诱导率为 10.40%,是 Stock6 的 10 倍;籽粒 Navajo 标记性状明显、稳定,花粉量大、结实性好、抗病性强,是优良的单倍体诱导系^[17]。

2.8 其它单倍体诱导系

除了上述介绍的单倍体诱导系外,国内很多学者也都一直致力于单倍体诱导系的研究,如张如养等^[18]报道了 6 个玉米单倍体诱导系,其中京科诱 044 的籽粒标记显著、诱导率较高且稳定,是一个优良的玉米单倍体诱导系。京科诱 043 可作为辅助诱导系,应用于基础材料的杂交诱导。广

西农业科学院玉米研究所的杨耀迥等^[19]于2012年报道了玉米单倍体诱导系 Y8,该诱导系是利用具有热带血缘的玉米材料 B1 与温带玉米单倍体诱导系高诱 1 号杂交(B1×高诱 1 号)的 F₁作为基础材料,经过连续 4 代自交和选择,育成了玉米单倍体 Y8,其诱导率约为 6.30%。Y8 具有诱导率高、雄花发达、花粉量大、花期长及抗广西玉米主要病害等特点。可满足广西区内和相似生态区开展玉米诱导育种对诱导系的需求。另外四川农业大学玉米研究所的林建海等^[20]正进行西南生态适应型玉米单倍体诱导系的选育研究。尽管目前所选出的单倍体诱导系其诱导率没有超过诱导率最高的亲本,但是能更好的兼顾诱导率和适应性这两个重要指标,该项研究仍在进行中。

3 结论与展望

虽然我国学者对单倍体技术的研究做了很多工作,但是目前用于改良 Stock6 的基础材料十分有限,因此限制了新的单倍体诱导系的选育^[21],由于国外一些改良成功的高频诱导系已经申请了专利权,因此,限制了国际间材料的自由交换^[1]。单倍体技术选育玉米自交系在国外已经广泛使用,目前国外大约 60%的马齿型自交系及 30%的硬粒型自交系都由单倍体技术选育而来^[22]。在我国最早开展此项研究的是中国科学院遗传所,通过孤雌生殖技术,在不到 20 a 的时间里育成 3 000 多个孤雌生殖纯系,其中综合性状优良或个别性状突出,可直接或者间接用于育种的近 350 个,其它单位也都育成了多个性状较优良的 DH 系,并且选育出多个优良组合参加国家级和省级区域试验,有的组合已经通过审定并在生产上推广^[23]。总之,随着转基因育种给人们带来的安全意义上的疑惑,人们更青睐于常规育种带来的经济和环境上的效益。单倍体诱导系在玉米育种中的应用价值巨大,无论是科研院所,还是育种企业,加大致力于新型单倍体诱导系的选育,提高单倍体诱导率及其稳定性是未来单倍体育种工作的重中之重。

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].作物学报,2000,26(5):570-574.
- [2] 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,2009:10.
- [3] 刘治先,张铭堂.玉米 Stock6 的遗传特性及其在玉米育种上的应用[J].山东农业科学,1956(3):4-8.
- [4] 霍赫洛夫.单倍体与育种[M].北京:农业出版社,1985.
- [5] Chase S S. Monoploids and monoploid-derivatives of maize(*Zea mays* L.)[J]. Bot. Rev,1969,35:117-167.
- [6] Kermicle J L. Pleiotropic effects on seed development of the indeterminate gametophyte gene in maize [J]. Amer. J. Bot.,1971,58:1-7.
- [7] Kermicle J L. Androgenesis conditioned by a mutation in maize[J]. Science,1969,166:1422-1424.
- [8] 杜何为,戴景瑞,李建生.玉米单倍体育种研究进展[J].玉米科学,2010,18(6):1-7.
- [9] Lashermes P,Beckert M. Genetic control of maternal haploidy in maize(*Zea mays* L.)and selection of haploid inducing lines[J]. Theor. Appl. Genet.,1988,76(3):405-410.
- [10] Tyrnov V S,Zavalishina A N. Inducing high frequency of maternal haploids in maize [J]. Dokl. Akad. Nauk SSSR,1984,276(3):735-738.
- [11] Tyrnov V S. Producing of parthenogenetic forms of maize[J]. Maize Genet. Coop. News lett.,1997,71:73-74.
- [12] Chalyk S T. Creating new haploid-inducing lines of maize[J]. Maize Genet. Coop. News lett.,1992,66:98.
- [13] Chalyk S T,Bylich V G,Chebotar O D. Transgressive segregation in the progeny of a cross between two inducers of maize maternal haploids [J]. Maize Genet. Coop. News lett.,1994,68:47.
- [14] Shatskaya O A,Zabirova E R,Shcherbak V S,et al. Mass induction of maternal haploids in corn[J]. Maize Genet. Coop. News lett.,1994,68:51.
- [15] Rober 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.
- [16] 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[J].作物学报,2003,29(4):587-590.
- [17] 才卓,徐国良,刘向辉,等.玉米高频率单倍体诱导系吉高诱系 3 号的选育[J].玉米科学,2007,15(1):1-4.
- [18] 张如养,段民孝,赵久然,等.6 个玉米单倍体诱导系诱导率的差异性研究[J].玉米科学,2013,21(2):6-10.
- [19] 杨耀迥,张述宽,滕辉升,等.玉米单倍体诱导系 Y8 的选育[J].大众科技,2012,157(14):106-107.
- [20] 林海建,李芦江,兰海,等.西南生态适应型玉米单倍体诱导系选育的初步研究[C]//中国作物学会玉米专业委员会,农业部玉米生物学与遗传育种重点实验室.2012 年全国玉米遗传育种学术研讨会暨新品种展示观摩会论文及摘要集,2012.
- [21] 谭静,徐春霞,陈洪梅,等.利用单倍体诱导系选育玉米自交系研究[J].玉米科学,2007,15(4):56-58.
- [22] 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.
- [23] 蔡泉,曹靖生,史桂荣,等.单倍体技术在玉米育种上的应用研究进展[J].黑龙江农业科学,2009(4):15-17.

Application of the Stock6 in the Breeding of Maize Inbred Lines

XU Yan-xia

(Institute of Animal Science of Heilongjiang province, Qiqihar, Heilongjiang 161005)

Abstract: The application and development of haploid induction system are significant in genetics and breeding, in the process of induction, breeding of high frequency induction system is precondition to induce haploid. The historical development were summarized including haploid induction systems of Stock6, 23ig, WS14, ZMS, KMS, MHI, RWS, CAU and JAAS3, the application of the Stock6 in breeding maize inbred lines was summarized.

Key words: maize; haploid induction system; breeding history