

## 玉米不同单倍体诱导系之间杂交组合诱导效果的研究

丁舰舟<sup>1,3</sup>, 钱益亮<sup>2</sup>, 左晓龙<sup>2</sup>, 齐耀程<sup>2</sup>, 王俊<sup>2</sup>, 张玮<sup>2</sup>, 张云华<sup>3\*</sup>, 阮龙<sup>2\*</sup>

(1. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2. 安徽省农业科学院烟草研究所, 合肥 230031;

3. 安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036)

**摘要:** 利用 3 个具有一定亲缘、性状差异的诱导系 Stock6 改良系、高诱 1 号 and MT041 组配成 3 个诱导系杂交组合: Stock6 改良系×高诱 1 号、Stock6 改良系×MT041 和高诱 1 号×MT041, 开展其植株生长势(株高)、综合抗性、散粉量、诱导率研究。结果表明, 3 个诱导系杂交组合在植株生长势(株高)、综合抗性和散粉量等方面均具有超亲的优势; 诱导系杂交组合: Stock6 改良系×高诱 1 号和高诱 1 号×MT041 在单倍体诱导率上同样具有超亲的优势; 进一步验证表明这二个诱导系杂交组合具有较为稳定的单倍体诱导能力, 可作为大规模单倍体育种中诱导花粉源。

**关键词:** 玉米; 单倍体; 诱导系; 杂交组合; 诱导率

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2016)03-0410-04

### Effect of cross combinations between different haploid induction lines in maize

DING Jianzhou<sup>1,3</sup>, QIAN Yiliang<sup>2</sup>, ZUO Xiaolong<sup>2</sup>, QI Yaocheng<sup>2</sup>,

WANG Jun<sup>2</sup>, ZHANG Wei<sup>2</sup>, ZHANG Yunhua<sup>3</sup>, RUAN long<sup>2</sup>

(1. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Tobacco Research Institute of Anhui Academy of Agricultural Science, Hefei 230031;

3. School of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** Three cross combinations of stock6 improved inbred lines×Cauho inducer 1, stock6 improved inbred lines×MT041 and Cauho inducer 1×MT041 were studied for plant height, comprehensive resistance, amount of pollen and induction rate. The results indicated that plant height, comprehensive resistance and pollen amount of three cross combinations showed superiority over the better-parent, and the induction rate of two cross combinations stock6 improved inbred lines×Cauho inducer 1 and Cauho inducer 1×MT041 also showed superiority over the better-parent and further research revealed these two cross combinations have stable haploid inducibility and can be utilized as induction pollen source to produce hybrid combinations on a large scale.

**Key words:** maize; haploid; inducer line; hybrid combination; inducing rate

玉米是人类利用杂种优势最早、成效最显著的作物。2014 年我国玉米播种面积达到 5.56 亿亩, 总产量达到 2156.5 kg, 据农业部种植业司公开的统计数据, 当前已成为我国种植面积第一大作物。20 世纪 70 年代后期, 我国实现了玉米单交种普及, 大幅度地提高了玉米产量<sup>[1]</sup>。进而玉米育种家开始大规模利用二环系法等常规育种技术手段选育自交系, 以提高玉米杂交种产量和抗病性, 但该方法获得高配合力的纯合自交系通常需要经 6~10 代自交选择。

近年来, 单倍体育种技术已成为与分子标记辅助育种技术、转基因技术相媲美的现代玉米育种三大核心技术。单倍体育种能显著缩短育种年限, 一般只需一代自交即可获得纯合自交系<sup>[2]</sup>。1966 年, Sarkar 等<sup>[3]</sup>报道了 Randolph 和 Stadler 于 1929 年首次发现玉米单倍体的事件, 1949 年 Chase 提出活体诱导系诱导的方法<sup>[4]</sup>, 1950 年美国遗传学家 Coe 博士获得一个具白色胚乳和紫色糊粉层的玉米高频率诱发单倍体的材料, 用该材料作父本诱导正常植株

收稿日期: 2015-11-25

基金项目: 安徽省农业科学院学科建设项目 (14A0925) 和安徽省农业科学院院长青年创新基金面上项目 (14B0946) 资助。

作者简介: 丁舰舟, 硕士研究生。

\* 通信作者: 张云华, 教授。E-mail: yunhua9681@163.com

阮龙, 研究员。E-mail: longruan72@126.com

能产生约 1%~2% 的单倍体, 1956 年 Coe 在美国杂志 *Maize Genetics Newsletter* 上, 将该能诱导产生单倍体的自交系命名为 Stock6<sup>[5]</sup>。由于 Stock6 最初被发现时并没有用以鉴别单倍体的遗传标记, 为了能够在形态上鉴别单倍体籽粒和杂交二倍体籽粒, Coe 等先后将 *ACR-nj* 基因和 *ABPI* 基因导入 Stock6 中, 前者控制籽粒糊粉层和胚芽尖色素的形成, 后者控制不定根、叶鞘和茎秆色素的形成, 之后 Stock6 便具有了籽粒和植株双显性遗传标记<sup>[6-8]</sup>。遗传标记法已经成为鉴定单倍体最主要的方法。

当前, 玉米是唯一利用遗传方法大规模培育单倍体的作物, 在利用单倍体技术过程中, 诱导系的优劣直接影响选系效果。由于 Stock6 在诱导率、繁殖性能、抗逆性等方面存在诸多缺陷, 因此, 各国根据本国的实践, 相继对 Stock6 进行了改良, 选育出一批诱导率高、农艺性状较为良好的诱导系<sup>[9-11]</sup>。但这些单倍体诱导系仍然存在发芽势、生长势弱, 易倒伏和感叶斑病, 散粉量少等不足, 难以在育种规模大、基础材料多时应用。本研究将 3 个具有一定亲缘(均带有双显性遗传标记)、性状差异的诱导系分别配制成 3 个近缘杂交种, 通过对其植株生长势(株高)、综合抗性、散粉量、诱导率等研究, 选出最佳组合做单倍体诱导花粉源, 为进一步利用单倍体技术选育玉米自交系提供技术参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

单倍体诱导系: S01 为 Stock6 改良系(引自中国农业科学院), S02 为高诱 1 号(引自中国农业大学), S03 为 MT041(引自中国农业科学院), 3 个诱导系均带有双显性遗传标记。诱导系组合: S04 为 Stock6 改良系×高诱 1 号, S05 为 Stock6 改良系×MT041, S06 为高诱 1 号×MT041。被诱导材料一为 2 种基因型玉米杂交种: M01 为登海 618, M02 为迪卡 517。被诱导材料 2 为同 1 杂种优势群内的 2 个自选自交系组配的 F1 代: M03 为 7022×4006, M04 为 4015×4006, M05 为 1006×1007, M06 为 1011×4004。

### 1.2 方法

**1.2.1 单倍体的诱导与鉴定方法** 用 S01~S06 做父本, 以 M01~M06 做母本, 杂交诱导单倍体。用遗传标记鉴定法来鉴定单倍体, 基于 *R-nj* 遗传标记系统, 以籽粒的紫顶和紫胚为显性标记。对收获的杂交种子逐粒鉴定, 紫顶白胚的籽粒为单倍体, 紫顶紫胚的籽粒是正常杂交的二倍体, 白顶白胚是受

花粉污染的二倍体种子, 另还有少量的无胚种子。在单倍体幼苗期, 还可根据由 *R-nj* 基因控制的植株颜色鉴定单倍体: 紫色植株为杂株, 绿色植株为单倍体<sup>[12]</sup>。

**1.2.2 试验设计** M01 和 M02 材料各种植 12 行, M03~M06 材料各种植 2 行, 父本材料分别种植 2 行, 父母本通过分期播种来调节花期以确保花期相遇。小区行长 5 m, 行距 0.6 m, 株距 0.25 m。2014 年 6—7 月在安徽农科院玉米研究中心凤阳基地用 S01~S06 做父本, 以 M01~M02 做母本, 母本果穗全部授粉杂交诱导单倍体, 从收获的杂交种子中鉴定挑选准单倍体, 2014 年冬季在海南鉴定单倍体; 2014 年 12 月至 2015 年 1 月在安徽农科院玉米研究中心乐东南繁基地用 S04~S06 中筛选出的单倍体诱导率高、综合性状优的组合做父本, 以 M03~M06 做母本, 母本果穗全部授粉杂交诱导单倍体, 从收获的杂交种子中鉴定挑选准单倍体, 2015 年夏季在凤阳鉴定单倍体。单倍体诱导率=单倍体株数/总粒数×100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 诱导系和诱导系杂交组合综合表现

3 个诱导系和 3 个诱导系杂交组合田间综合表现情况见表 1 和图 1。3 个诱导系杂交组合无论从生长势(株高)、综合抗性、花粉量上都明显优于 3 个诱导系, 说明 3 个诱导系杂交组合表现出较高强度的杂种优势。

### 2.2 单倍体诱导效果分析

3 个单倍体诱导系杂交组合和 3 个单倍体诱导系对二个不同基因型杂交种诱导率统计结果见表 2。M01 和 M02 中 3 个单倍体诱导系杂交组合均有一定单倍体诱导能力, 在 M01 中诱导率最高的是 S04, 诱导率为 4.42%, 最低为 S05, 诱导率为 1.47%; 在 M02 中诱导率最高的是 S04, 诱导率为 4.52%, 最低为 S05, 诱导率为 1.67%。S04 和 S06 在 M01 和 M02 中单倍体诱导率均不低于其亲本诱导系的诱导率, 说明单倍体诱导系杂交组合 S04 和 S06 在单倍体诱导率上具有超亲的优势。

### 2.3 单倍体诱导系杂交组合诱导效果验证

单倍体诱导系杂交组合 S04 和 S06 对 4 个不同基因型杂交种诱导率统计结果见表 3。S04 和 S06 在 M03~M06 中均保持较高的单倍体诱导率, 诱导率最高为 5.87%, 最低为 3.62%, 说明单倍体诱导系杂交组合 S04 和 S06 单倍体诱导能力比较稳定。

表 1 3个诱导系和3个诱导系杂交组合主要特点

Table 1 The main traits of three inducer lines and three cross combinations

诱导系及组合 Inducer and cross combination	抗倒性 Lodging resistance	叶斑病 Leaf spot disease	花粉量 Pollen quantity
S01	弱 Weak	高感 High susceptible	中 Middle
S02	弱 Weak	感 Susceptible	中 Middle
S03	中 Middle	感 Susceptible	少 Little
S04	强 Strong	抗 Resistan	多 Many
S05	强 Strong	抗 Resistan	多 Many
S06	强 Strong	抗 Resistan	多 Many

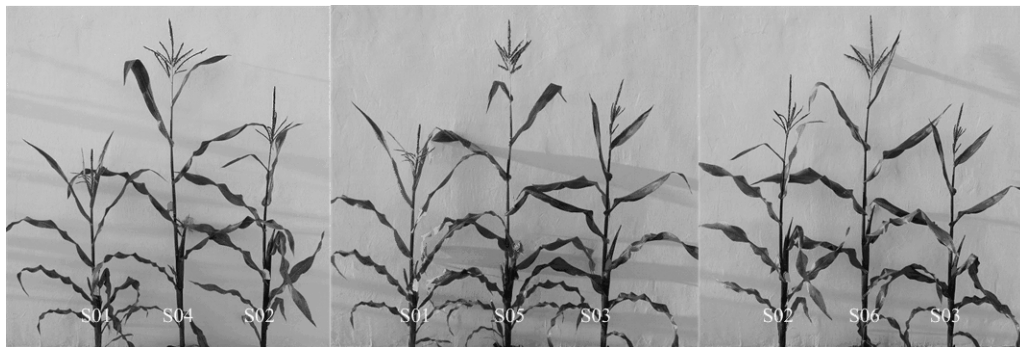


图 1 3个诱导系和3个诱导系杂交组合田间株型图

Figure 1 The field plant types of three inducer lines and three cross combinations

表 2 3个诱导系杂交组合和3个诱导系的单倍体诱导率

Table 2 The inducing rates of three inducer lines and three cross combinations

单倍体来源 Resource of haploid	总籽粒数/粒 Total grain number	拟单倍体数/粒 Number of pseudohaploid	单倍体株数/株 Strain of haploid	诱导率/% Induction rate
M01×S01	17646	226	206	1.17
M01×S02	19588	785	721	3.68
M01×S03	16500	562	503	3.05
M01×S04	18300	831	809	4.42
M01×S05	22590	345	332	1.47
M01×S06	19894	792	748	3.76
M02×S01	17476	251	234	1.34
M02×S02	17184	602	587	3.42
M02×S03	15330	502	484	3.16
M02×S04	15870	736	717	4.52
M02×S05	16758	298	280	1.67
M02×S06	17084	660	636	3.72

表 3 2个诱导系杂交组合的单倍体诱导率

Table 3 The inducing rate of the two inducer cross combinations

单倍体来源 Resource of haploid	总籽粒数/粒 Total grain number	拟单倍体数/粒 Number of pseudohaploid	单倍体株数/株 Strain of haploid	诱导率/% Induction rate
M03×S04	16514	621	606	3.67
M04×S04	15278	635	607	3.97
M05×S04	12821	698	673	5.25
M06×S04	13101	623	609	4.65
M03×S06	16126	602	584	3.62
M04×S06	15022	636	617	4.11
M05×S06	11586	703	680	5.87
M06×S06	12089	551	536	4.43

### 3 讨论与结论

在现代商业化单倍体育种中, 育种规模大、基础材料多, 要求父本材料具有较高、稳定诱导率的同时, 兼具生长势(株高)、综合抗性、散粉量等方面的优势, 单倍体诱导系自身一般都存在发芽势、生长势弱, 易倒伏和感叶斑病, 散粉量少等不足, 难以在大规模单倍体育种中发挥出优势。才卓<sup>[13]</sup>等认为具有一定亲缘(均带有双显性遗传标记)性状差异的诱导系组配的近缘杂交种, 一般在植株生长势(株高)、综合抗性和散粉量等方面都具有超亲的杂种优势, 通过测试, 筛选出诱导率高的杂交组合, 做单倍体诱导花粉源, 这和本试验的研究思路一致。

本试验利用 3 个具有一定亲缘、性状差异的诱导系 Stock6 改良系、高诱 1 号 and MT041 组配成 3 个诱导系杂交组合: Stock6 改良系×高诱 1 号、Stock6 改良系×MT041 和高诱 1 号×MT041, 开展其植株生长势(株高)、综合抗性、散粉量及诱导率等方面研究。结果表明: 3 个诱导系杂交组合在植株生长势(株高)、综合抗性和散粉量等方面均具有超亲的优势; 诱导系杂交组合: Stock6 改良系×高诱 1 号和高诱 1 号×MT041 在单倍体诱导率上同样具有超亲的优势; 进一步验证表明这二个诱导系杂交组合具有较为稳定的单倍体诱导能力, 可作为大规模单倍体育种中诱导花粉源。

#### 参考文献:

[1] 佟屏亚. 20 世纪中国玉米品种改良的历程和成就[J]. 中国科技杂志, 2001, 22(2): 113-127.

- [2] CHANG M T, COE E H. Doubled Haploids (Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement)[J]. Berlin Heidelberg: SpringerVerlag, 2009: 134-137.
- [3] SARKAR K R, COE E H. A genetic analysis of the origin of maternal haploid in maize[J]. Genetics, 1966, 54: 453-464.
- [4] CHASE S S. Monoploids and diploids of maize: a comparison of genotypic equivalents[J]. American Journal of Botany, 1964, 51:928 -933
- [5] 郭乐群, 古明光. 药物诱导玉米远缘杂种孤雌生殖获得异源种质纯系及其育种研究[J]. 遗传学报, 1997, 24(6): 537-543.
- [6] AMAN, M, SARAOKAR K. Selection for haploidy inducing potential in maize[J]. Indian J.Genet. and plant breed, 1978, 38(3): 452-457.
- [7] NANDA D, CHASE S. An embryo marker for detecting monoploids of maize[J]. Crop Science, 1966, 6(2): 213-215.
- [8] COE E. High haploid line. Maize Genet Coop[J]. News Letter, 1957, 31: 138-139.
- [9] LASHERMES P, BECKERT M. Genetic control of maternal haploid in maize and selection of haploid lines[J]. Theor Appl Genet, 1988, 76: 405-410.
- [10] SARKAR K R, PANDEY A, CAYEN P. Stabilization of high haploid inducer lines[J]. Maize Genet News Letter, 1994, 68: 65-65.
- [11] 才卓, 徐国良, 刘向辉, 等. 玉米高频率单倍生殖诱导系吉高诱 3 号的选育[J]. 玉米科学, 2007, 15(1): 1- 4.
- [12] 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: 511.
- [13] 才卓, 徐国良. 玉米杂交诱导单倍生殖(单倍体)选育自交系技术规范(暂行版)[J]. 玉米科学, 2009, 17(5): 1-4.