

玉米育种理论技术新拓展与商业育种实践

董占山¹, 高玉峰¹, 柴宇超¹, 赵广远¹, 卢洪¹, 才卓²

(1. 中玉金标记(北京)生物技术股份有限公司, 北京 102206; 2. 吉林省农业科学院, 长春 130124)

摘要: 一套功能健全的商业育种技术体系是商业育种研发流水线的保障。新世纪伊始, 各种玉米育种新技术层出不穷, 例如分子标记辅助选择技术、单倍体育种技术、品种精确评价技术和高通量数据采集技术等, 这些技术大大提高了商业育种研发流水线的效率。本文从我国玉米种业的研发现状出发, 分析育种新技术在加速商业育种进步中的作用, 提出切实可行的玉米种质资源创新体系, 该体系整合了包括分子标记辅助选择技术、单倍体育种技术、品种精确评价技术、高通量数据采集技术和育种大数据管理技术在内的先进商业育种技术, 构建了玉米规模化种质资源创新体系, 可以更有效地加速我国玉米商业育种的进程。

关键词: 玉米; 商业育种; 技术体系; DH系创制; 单倍体技术

中图分类号: S513

文献标识码: A

Advances in Maize Breeding Technologies and Commercial Breeding Practices

DONG Zhan-shan¹, GAO Yu-feng¹, CHAI Yu-chao¹, ZHAO Guang-yuan¹, LU Hong¹, CAI Zhuo²

(1. China Golden Marker, Beijing 102206;

2. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130124, China)

Abstract: Since new millennium, a number of new breeding technologies had been emerged or advanced, such as marker assistant selection, haploid doubling technology, evaluation and positioning of hybrids, high throughput phenotyping technology etc. These technologies had dramatically improved the efficiency of plant breeding. A well-organized technology pipeline was essential to the success of a commercial breeding institution. In this paper, the current status of commercial breeding in China and the importance of several breeding technologies were reviewed, and a practical breeding technology system for maize germplasm improvement was provided. The system integrated marker assistant selection, haploid doubling technology, precision evaluation and positioning of hybrids, high throughput phenotyping and breeding big data management, it could more effectively accelerate maize commercial breeding process of China.

Key words: Maize; Commercial breeding; Technology pipeline; DH line creation; Haploid breeding technology

近10年来, 玉米跃居为我国第一大播种作物, 面积迅速扩张, 总产不断攀升, 但单产却滞恒于相对稳定的区间, 与美国玉米单产的直线上升形成明显对比, 且差距逐步增大。

国内大型种业公司与国际大型种业公司在商业育种的研发管理模式和育种程序方面存在极大的差距^[1]。管理模式方面, 大部分科研单位仍然沿用课题组式分散育种, 缺少共享和协作, 没有完整的生产流水线; 在常规育种技术方面, 多数沿用多元杂优模式, 难以实现育种群体的循环改良, 相应专业化技术支持刚刚起步; 在分子标记辅助选择技术方面, 育种家刚开始尝试, 还不习惯在育种过程中主动使用; 在双单倍体技术方面, 开始在小范围内使用, 但加倍技术亟待提高; 在信息化技术方面, 购买国际或国内开发的小型育种信息管理系统或开始研发私有育种信

收稿日期: 2015-12-10

基金项目: 北京市科委重大专项“作物生物育种技术转化服务平台建设与规模化抗病种质创制”课题“规模化生物育种材料创新平台建设”、“863”计划七大农作物杂种优势利用——“玉米杂种优势利用技术与强优势杂种创制”

作者简介: 董占山, 旅美归国学者。E-mail: zhanshan2015@163.com
才卓为本文通讯作者。E-mail: caizhuo@126.com

息管理系统,还没有成为育种流程中的决策工具和共享渠道。表现在技术层面的瓶颈有:资源遗传基础狭窄,同质化严重;自交系改良速度慢,低水平重复;单倍体加倍效率低,商业应用迟缓;DH系快速评价方法原始,效率低下。表现在业内协作共享层面的瓶颈有:材料遗传背景信息模糊,造成利用困难;种质资源交流共享困难,缺乏有效渠道。因此,亟待加强技术体系的流程化、规模化、工业化和信息化建设,同时加强种质资源的创新效率,打造我国的种质资源创新平台。本文基于我国玉米育种国情与研发现状,阐述提高育种效率的关键技术和打破商业化瓶颈的管理模式,提出构建种质与材料创新体系的思路。

1 国际育种理论新拓展及商业育种体系新模式

作物育种作为一门学科,经过100多年的发展,已经从一门经验科学发展成为利用现代高科技技术的精准科学。随着分子标记技术的逐步成熟和应用成本的降低,分子标记辅助选择技术已经融入到品

种选育全过程;转基因技术有效地打破了物种之间的藩篱,为跨种属发掘功能基因改良各种性状提供了可能;双单倍体快速纯化技术的应用,显著缩短了作物育种的进程。

1.1 育种三角形理论及其演变

近20年间,伴随众多育种新方法的逐步成熟与应用,推动了玉米育种水平的提高和理论体系的演进。自交系选育过程可比作登山运动,育种早期需要自交、测试的育种材料数量巨大,像在山底,所有人都想一试;随着育种世代的演进,需要测试的育种材料数量逐渐减少,就像随着山的高度逐步增加,能留下来继续登山的运动员越来越少,最终到达山顶代表着选育出的优异自交系,山的高度代表了育种周期的长短。图1将该过程示意成一个三角形,高度代表育种进程,每一个育种世代作为一层,世代越多,三角形越高;三角形底边长度代表着进入选育过程的育种群体的大小,每一层的底边代表着上一世代选出的育种材料的数量,育种的选择压力是上一层底边的长度除以下一层底边的长度,三角形的面积代表着资源消耗量。

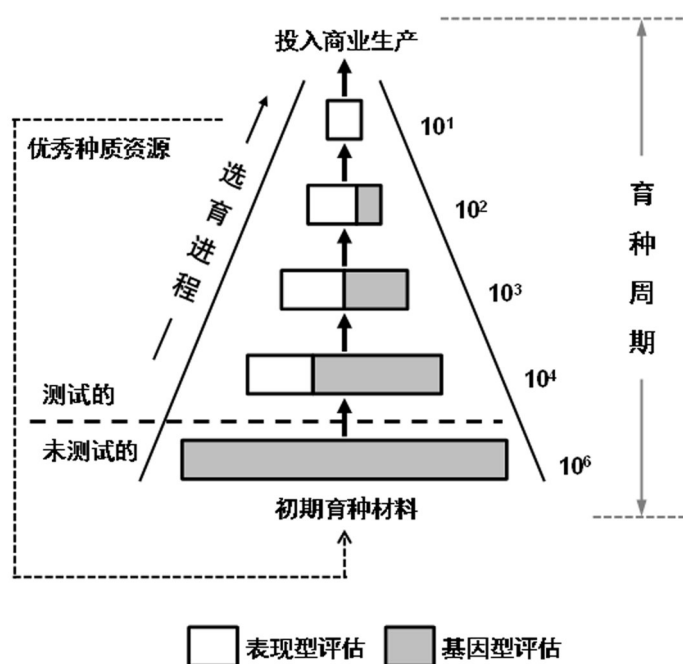


图1 玉米育种三角形

Fig.1 Triangle of maize breeding

育种三角形中,基因型评估在早代占据绝对的优势,随着育种世代的演进,基因型评估所占比重逐渐减少;到了育种进程的后期,由于基因型与环境 and 农艺管理之间存在复杂的互作关系($G \times E \times M$)^[2],育种家需要根据每个材料在田间的具体表现来评判其优

劣,从而选出配合力高、丰产性好、抗逆性强、适应性广的优良自交系,此时基因型评估就让位于表现型评估。

在近代商业育种中,伴随各项育种新技术的完善成熟和实施应用,育种三角形不断发生变化,设计

育种和全基因组选择使得选择的范围变得更加宽泛,表现为三角形的底边变长;双单倍体技术的全面

应用实现了一代纯化,显著地缩短了育种周期,表现为育种三角形的高度变小。

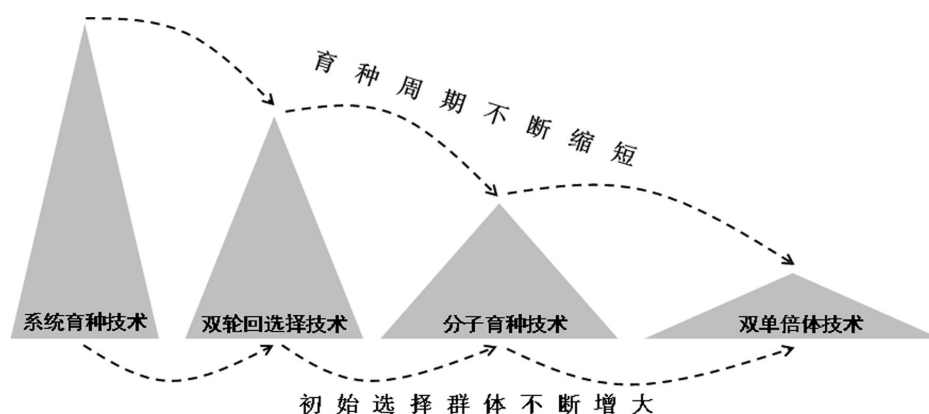


图2 高新育种技术应用重塑育种三角形

Fig.2 Triangle of the application of high-tech breeding techniques to reshape breeding

随着育种技术的不断发展,育种三角形也不断地演进。图2为传统常规育种技术向现代商业育种技术的演变过程。随着育种技术的创新和成熟,在不增加资源消耗(三角形面积保持不变或减小)的情

况下,育种三角形的底边变长,高度降低,代表着进入育种进程的育种材料增多,育种进程缩短,育种效率提高,每年的遗传增益提高。

1.2 玉米商业育种管理模式与机制

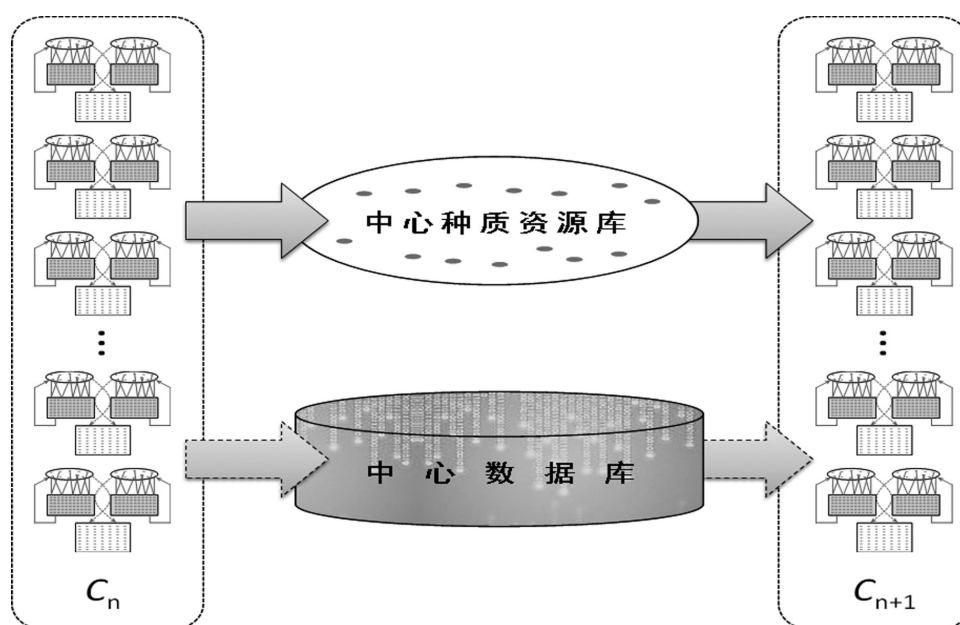


图3 大型的商业育种项目网络

Fig.3 Large-scale commercial network for breeding project

在商业育种体系中,技术体系和管理机制是相辅相成的。成功的商业育种实践集中体现了共享、协作、服务三位一体的管理理念,国际大型种业公司都采用了类似的商业育种体制。公司内部诸多育种项目相互并行,育种目标各不相同,但互相都不是相互孤立、相互竞争的关系,而是相互补充、相互依存的关系。分布在世界各地、各个生态区域的育种站

相互联通,形成了一个信息资源和种质资源共享的协同网络,就像互联网一样,公司能够利用这一网络快速地获取、互通种质资源和信息资源,从而创制出更好的杂交种投入商业生产。图3为一个大型商业育种项目网络^[3]。在双轮回选择的第n轮,整个商业育种计划网络包含m个育种项目,每个育种项目研发出k个母本自交系和i个父本自交系,育种家提供

出这些自交系的种子存储到公司的中心种质资源库中;育种家同时提供这些自交系的所有基本性状表现型和基因型信息,存储在公司的中心数据库中,通过中心数据库和种质资源库,第 $n+1$ 轮的所有育种项目可以共享这些种质资源和新信息资源,形成一个完整的信息和种质资源共享协作网络。这一理念虽然简单,却是商业育种体系的关键所在。没有协作和共享,就不能形成高效的商业育种体系,也难以源源不断地选出新的自交系,更勿论持续推出新的优异品种。

2 育种新技术在商业育种中的应用

高通量的分子标记辅助选择技术、表现型分型技术、双单倍体技术、育种大数据挖掘技术、作物生长环境分类技术等新技术的应用,逐步实现了传统作物育种向精确育种的过渡。

2.1 利用分子标记辅助选择技术提高育种效率

分子标记技术和基因组学在作物育种中的应用显著改变了育种后代的选择方法和步骤,使杂交亲本的选择更加高效,育种后代的选择更加准确,有益基因位点在育种群体中更快聚合。

设计育种是分子标记辅助选择技术在育种中日益成熟的应用升级,即利用亲本基因型信息有目的地将不同亲本的有益基因组合起来,通过基因型数据进行后代表现型预测,从而有目的地配制具有遗传多样性的育种群体;再通过双单倍体技术快速产出纯合DH系;这些新的DH系在进行田间测试之前,利用分子水平的基因型信息通过全基因组预测技术对表现型进行预测,选出含有优良基因型的DH系进行田间测试鉴定,扩展早代选择的可能性和范围,大幅度地提高早代选择效率,为选出优良自交系拓宽道路。

全基因组选择技术是在全基因组水平上的分子标记辅助选择育种,主要包括模型建立和验证、后代预测和选择、田间测试和繁殖3个主要部分。首先,将目标育种群体随机分成训练群体和预测群体两部分,可以2:8比例进行划分,在田间种植训练群体并采集各种性状的表现型信息,同时,采集叶片进行全基因组的分子标记检测获得基因型信息,通过全基因组关联分析方法建立包含所有标记的预测模型;其次,获得预测群体的基因型信息,使用上一步建立的模型预测后代的育种值,根据育种目标对整个育种群体进行筛选,得到符合育种目标的个体;最后,将选中的后代在田间进行多年多点测试,根据田间实际表现,选优汰劣。该技术主要优点是改变选择

的对象,基于标记/基因型而非育种群体中的个体表现型进行选择;利用建立的模型预测重要农艺性状的育种值,然后选择一部分符合育种目标的个体在田间种植,大大降低了育种过程的田间成本,提高了育种效率。

2.2 利用双单倍体工程化技术加速育种进程

单倍体育种技术已经成为现代玉米商业育种中最为有效的主体技术,可以加快自交系的选育过程并提高选择的精确性。利用孤雌生殖诱导系对基础群体进行单倍体诱导,然后经加倍获得双单倍体(DH系)。结合南繁加代一年内便可产出纯合自交系;由于单倍体只有一套染色体,在单倍体世代,显性和隐性基因都可以在单倍体中完全表达,受不良基因控制的性状会导致植株活力下降、抗性不佳、高度不育,实现自然淘汰。因此,单倍体技术不但是快速积累优良基因、淘汰不良基因的有效手段,而且可提高种质改良与品种创新的效率。

目前,已开始利用全基因组选择技术对DH系的表型进行预测,筛选出符合育种目标的DH系进入测配试验,经过两轮早代测试就可选出高配合力的优良自交系,显著缩短自交系选育的效率,比传统穗行法节省3~4个生长季。

单倍体半同胞相互轮回选择技术^[4],是对基础群体进行单倍体诱导和测交试验,根据测交组合表现选择相对应的基础群体和单倍体后代;依据单倍体后代表现型直接进行选择,辅以分子标记辅助选择技术,将入选的单倍体后代进行基因型重组形成新一轮改良群体。这种技术将单倍体技术的快速、准确、从表型直接选择优良基因型等优点与半同胞相互轮回选择过程相融合,节省育种时间,提高选育效率,比传统的改良半同胞相互轮回选择缩短1~2个生长季。

2.3 利用作物环境分类技术进行品种精准评价

品种表现是基因型与环境型互作的结果,玉米生长在不断变化的环境中,地域间、年度间都有巨大的差别,产量比较与区试试验仅能经历极少部分环境类型。近年气候变化造成环境变异的加剧,仅仅依靠有限的区域测试结果精确评判品种适应性、丰产性、稳产性还远远不够。因此,如何对品种进行精确评价和准确定位非常重要。

由于作物生长发育遵循一定的物理学和生理学基本规律,生长发育的过程完全可以通过作物生长发育模拟模型进行量化,从而模拟作物在不同环境条件下的生长发育和产量形成^[5]。因此,利用作物模拟模型可以完成常规手段难以完成的研究工作。

可以研究玉米在过去和未来气候环境下的表现型差异、对不同水分胁迫环境的反应、对不同农艺措施的反应等。2000年以来,育种家和作物模拟专家开始合作将作物模拟技术应用到作物育种过程中,解析基因型与环境的相互作用;制定不同环境条件下的育种策略;对生长环境进行分类,实现作物品种精准评价和定位。

这些研究成果有效地填补了常规品种比较试验(包括区域试验)难以克服的缺陷。通过研发先进的作物生长环境分类算法,利用在有限生态环境下采集的数据,借助作物模拟模型对新品种在各种生态环境下的表现型进行全方位评价和预测,极大地提高品种评价的可靠性和高效性,为品种布局提出全面的推荐意见。利用作物生长发育环境分类算法将作物的生长环境划分为水分充足环境和干旱环境,根据品种在不同的水分胁迫环境下的产量表现,将品种划分为几类,如高产且适应性广的品种和适合特殊地区的耐旱品种等。

将作物系统模拟技术、高通量数据采集技术、大数据和数据库技术、环境分类和地理信息系统等有机地整合,可以实现对作物生长发育环境的动态分类,进一步利用这些分类信息完成作物品种的精确评价与定位。各国科学家已先后完成了北美玉米和大豆、欧洲玉米、印度玉米和高粱、澳大利亚小麦和高粱等作物的生长环境分类^[6~9],并应用于品种评价。

3 玉米商业育种技术体系的搭建

为解决课题组式育种无法实现的种质资源规模化创新以及种质资源、信息资源无法共享的难题,按商业育种模块化、流程化、专业化、工业化的思路,将自交系创制流程划分成基础群体构建、育种群体循环改良、DH系工业化生产、新DH系精细评价、优良自交系鉴定等功能模块(图4)。每个模块都由专业团队负责,进行各项技术的吸收、转化和二次开发,以实现规模化和工业化,建成能够为全社会服务的玉米种质资源创新平台。

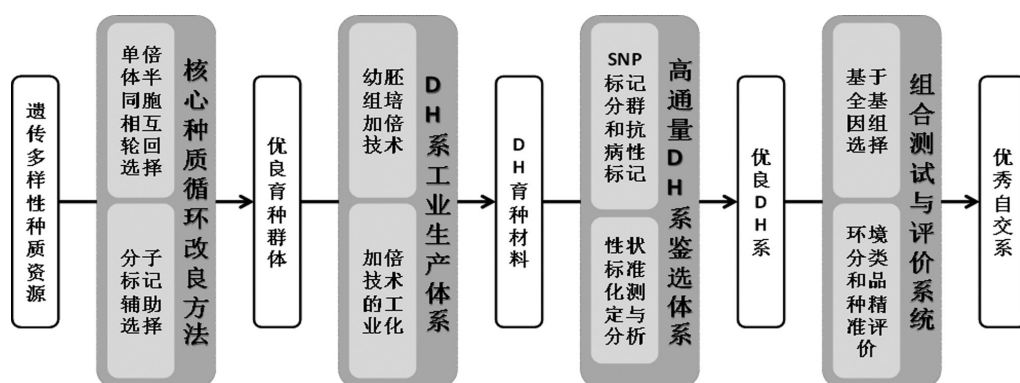


图4 基于单倍体技术的玉米种质资源创新流程

Fig.4 Innovation processes of maize germplasm based on the haploid technology

3.1 基础群体构建

玉米原产美洲,我国的种质资源都是直接或间接引自美洲。近年来,由于国内大多育种计划急功近利,围绕改郑单958、先玉335亲本选系,导致产出集中在类昌7-2亚群、类郑58亚群、类PH6WC亚群、类PH4CV亚群,使得遗传基础更加狭窄、种质资源同质化更加严重。如何有效地打破这个格局,快速有效的创建具有遗传多样性,同时又符合育种目标的育种群体是亟待解决的问题。

目前,能够合法引进并应用的国外育种材料大体可划分两类,一是欧美七八十年代育成,目前超出品种权保护期限的老自交系,尽管是“超期服役”,但作为资源还有其利用价值;二是由跨国公司在国内试验推广的品种选育的自交系或其亲本材料,虽然

不代表当今世界育种最新水平,但在耐密植、脱水快、抗倒伏、适合机械化作业等方面还是最值得引用的新资源。当然,过去的几十年间,我国育种家从地方种质中选育出了一批配合力高、适应性广、品质优良的骨干自交系,这些系多选自经过长期适应驯化的农家种(塘四平头、旅大红骨等),具有国外新引进系难以具备的良好的生态适应性,仍然有很高的利用价值。以来自跨国公司的玉米商业杂交种资源为起点,和本土资源选育的骨干自交系融合,可以创建适合育种目标的基础育种群体。

3.2 育种群体循环改良

人类社会对农作物优异品种的需求有着永恒的依赖,因此,就需要种业持续不断地对品种进行循环改良,逐步通过轮回育种选择和遗传改良,将优

良基因逐步聚合在一起,从而提高新品种的整体水平。

目前,可以基于分子标记辅助选择技术和单倍体半同胞相互轮回选择技术创建一套只需3个生长季的群体改良技术体系,其技术关键是产量的一般配合力测试和单倍体选择在生态适应区内完成,而第一季生产测交组合和诱导单倍体,及第三季单倍体后代随机交配可以在海南完成。将群体的改良周期缩短为一年半时间,提高了单位时间内的遗传增益。在完成单倍体世代的表型选择之后,再利用分子标记辅助选择技术对抗病性、重要农艺性状等进行分子水平的筛选,可以大大提高选择的准确度和效率。

在单倍体半同胞相互轮回选择流程中,由于组配测交组合时使用的测交系来自相对应的杂种优势群,因此可以对父本和母本群体进行同时快速改良与提高。在改良各育种目标性状的同时,提高育种群体的遗传多样性和一般配合力,并在任一轮结束后,都可拿出部分种子进入DH系创制环节。

3.3 DH系工业化生产

DH系工业化生产可按采用主体技术分为基于化学加倍的DH系生产体系和基于幼胚组培的DH系生产体系。

单倍体化学加倍方法发展应用较为广泛,其优点是技术投入相对低,较易操作,但存在加倍效率低且不稳定、产生污水多和浪费资源等缺点;幼胚组培加倍方法克服了化学加倍效率低、不稳定的缺点,加倍效率可达化学加倍的两倍以上,并且从幼胚直接加倍过渡到培养成苗,整个过程省去了40 d灌浆时间,缩短DH系生产的时间。

3.4 DH系综合评价

DH系的评价鉴定是合理利用DH系的关键所在,尤其是当前密植资源极度匮乏阶段,育种家直接或间接诱导商业杂交种,产生很多表现型优异的DH系,但这些DH系大多属于父母本中间类群,商业利用价值较低。因此,纳入分子辅助选择技术建立高效的DH系评价鉴定体系是最佳技术方案。

该体系需要具备杂种优势分群判定及重要农艺性状、主要病害抗性筛选功能标记,同时还需要有一套相对固定的田间表型筛选评价标准。通过这套规范的评价体系,在分清DH系的杂种优势群归属的同时,还能判断其抗病虫(逆境)性和重要农艺性状的表现,以及是否具有育种可应用的其他优良性状。当然,由于育种家拥有的育种基础材料的不同,不排除育种家从不同角度利用DH系的可能性,所

以只要是纯合DH系都具有一定的利用价值。

3.5 优良自交系鉴定

根据育种目标需要,DH系通过分子辅助和田间鉴定后,利用全基因预测模型筛选出最具潜力的DH系进入优良自交系测配流程。第一步是产生DH系测交组合;第二步是在生态适应区进行产比试验,根据一般配合力高低筛选出一定数量的DH系晋级;第三步是选用更多的测验系产生更多的测交组合;第四步是在生态适应区进行第二轮产比试验,在生态适应区布置试验若干个点,根据田间测交组合的试验结果,选留10%左右配合力高、表现性优良的DH系进行定名,进入杂交种选育过程。这个过程的重点是测交组合的两年多点测试,根据配合力的高低、自交系的表现型和其测交后代的表现型进行综合选择。同时,种子送交种质资源库,数据送交信息资源数据库,育种家可以根据新的育种目标继续利用这些新自交系及收集的遗传材料,进行再循环育种。

这两季生态区测试会包含上千个组合,为实现测试组合间及与对照间的公平比较,需采用好的田间试验设计,有效地消除田间土壤肥力、试验操作等造成的差异,准确估计出每个DH系多种性状的育种值,从而实现无偏比较、优中选优的目的,选出符合育种目标的优秀自交系。现在国际通用的试验设计为增广设计,可容纳几千个试验材料,通过最佳线性无偏预测(BLUP)的统计方法获得每个DH系的BLUP值作为其育种值^[10]。同时,综合运用作物环境分类技术进行自交系和测交组合的精准评价,为后续的杂交组合选育提供基础。

3.6 种子资源与信息资源共享

获得的所有DH系和选育的优良自交系组成了基础种子公司的基本种质资源库;通过DH系评价体系和优良自交系选育过程获得基因型、表现型和配合力数据,构成了一个完善的信息资源数据库。基于这个种质资源库和信息资源数据信息库可以开发出全开放(公益使用类)或半开放(有偿使用类)育种材料共享系统平台,从而实现DH系的商业产出、信息资源互联互通及全方位服务,在此方面中玉金标记(北京)生物技术股份有限公司做了大胆尝试,并获得成功的运作经验。

4 结 语

综合利用现代育种各项新技术,可以在资源消耗不增加的情况下,提高种质资源筛选和改良的效率,使更多的种质资源进入育种流水线进行快速改

良,从而更高效地选育出优良商业杂交种、破解种质资源狭窄、改良速度缓慢这一困扰我国玉米育种发展的最大困境。

基础种子公司作为一个公开的、有偿共享使用的育种资源公共平台,使得全国的育种家都可以享受到全部或分段的资源创制和共享服务,育种家通过有偿方式不仅可以合法地获得DH系或自交系等直接育种材料,还可以获得这些材料对应的系谱、基因型、表现型和一般配合力等有效信息,成功地解决我国育种材料无法公开共享、来源不清、难以有效使用的难题。

参考文献:

- [1] 董占山,卢 洪,柴宇超,等. 中国特色的玉米商业育种体系构建[J]. 玉米科学, 2015, 23(1): 1-9.
Dong Z S, Lu H, Chai Y C, et al. Concept and practices of maize commercial breeding in China[J]. Journal of Maize Sciences, 2015, 23(1): 1-9. (in Chinese)
- [2] Messina C D, Podlich D, Dong Z, et al. Yield-trait performance landscapes: from theory to application in breeding maize for drought tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62: 855-868.
- [3] Cooper M, Messina C D, Podlich D, et al. Predicting the future of plant breeding: complementing empirical evaluation with genetic prediction[J]. Crop and Pasture Science, 2014, 65(4): 311-336.
- [4] Rotarencu V, Dicu G, Mihailov M, et al. Selection and breeding experiments at the haploid level in maize[J]. Journal of Plant Breeding and Crop Science, 2012, 4(5): 72-79.
- [5] Hammer G L, Dong Z, McLean G, et al. Can changes in canopy and/or root system architecture explain historical maize yield trends in the U.S. corn belt[J]. Crop Science, 2009, 49(1): 299-312.
- [6] Loeffler C M, Wei J, Fast T, et al. Classification of maize environments using crop simulation and geographic information systems[J]. Crop Sci., 2005, 45: 1708-1716.
- [7] Harrison M, Tardieu F, Dong Z, et al. Characterizing drought stress and trait influence on maize yield under current and future conditions[J]. Global Change Biology, 2014, 20: 867-878.
- [8] Kholov J, McLean G, Vadez V, et al. Drought stress characterization of post-rainy season(rabi) sorghum in India[J]. Field Crops Research, 2013, 141: 38-46.
- [9] Chenu K, Cooper M, Hammer G L, et al. Environment characterization as an aid to wheat improvement: interpreting genotype - environment interactions by modeling water-deficit patterns in North-Eastern Australia[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(6): 1743-1755.
- [10] Piepho H P, Mohring J, Melchinger A E, et al. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing[J]. Euphytica, 2008, 161(1): 209-228.

(责任编辑:李万良)

欢迎订阅2016年《玉米科学》

《玉米科学》1992创刊,由吉林省农业科学院主办。玉米科学是我国惟一的玉米专业学术期刊,在国内外玉米界具有较大影响。2004~2014年连续4次入选中文核心期刊。

《玉米科学》主要报道:遗传育种、品种资源、耕作栽培、生理生化、生物工程、土壤肥料、专家论坛、国内外玉米科研动态、新品种信息等方面的内容。适合科研、教学、生产及管理方面的人员参考。

《玉米科学》为双月刊,双月15日出版。大16开本,176页,每期定价15元,全年90元。国内外公开发行,邮发代号:12-137,全国各地邮局(所)均可订阅,漏订者可直接向本刊编辑部补订。

地 址:吉林省长春市生态大街1363号 邮 编:130033