

玉米高频单倍体诱导系选育研究

段民孝,刘新香,邢锦丰,张华生,王元东,宋 伟,张雪原,
杨海涛,张春原,吴珊珊,赵久然

(北京市农林科学院玉米研究中心/玉米DNA指纹及分子育种北京市重点实验室,北京 100097)

摘 要: 以3个杂交种京科968、先玉335、京科528及4个自交系京724、京92、京X005、京17为测验种,研究新选育单倍体诱导系的诱导率情况。结果表明,利用子粒颜色标记鉴别单倍体子粒存在误差,影响鉴别精度,通过田间种植进一步校正获得实际诱导率。同一诱导系不同单株的单倍体诱导率、不同测验种之间的单倍体诱导率均有差异。分析78份诱导系的140个穗系的282个测交组合,21份诱导系的25个测交组合的实际诱导率超过15.0%,最高达到25.3%。综合筛选出12份单倍体诱导系用于进一步研究。

关键词: 玉米;单倍体育种;单倍体诱导系;单倍体诱导率;测验种

中图分类号: S513.031

文献标识码: A

Study on Breeding the High Frequency Haploid Inducer in Maize

DUAN Min-xiao, LIU Xin-xiang, XING Jin-feng, ZHANG Hua-sheng, WANG Yuan-dong, SONG Wei,

ZHANG Xue-yuan, YANG Hai-tao, ZHANG Chun-yuan, WU Shan-shan, ZHAO Jiu-ran

(Maize Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences/

Beijing Key Laboratory of Maize DNA Fingerprinting and Molecular Breeding, Beijing 100097, China)

Abstract: The induction rates of 80 new haploid induction lines were studied with three hybrids Jingke968, Xianyu335, Jingke528 and four inbred lines Jing724, Jing92, Jing X005 and Jing17 as test species. The results showed that there were errors in the identification of haploid kernel by means of grain color markers, which affected the identification accuracy, and the actual induction rate was obtained by the further correction in field planting. The haploid induction rates of different plants in the same inducer line and among different test species were different. Two hundred eighty-two test crosses combinations of 140 individual plants from 78 induced lines were analyzed. Among them, the actual induction rate of 25 test cross combinations of 21 induced lines was more than 15.0%, and the highest induction rate was 25.3%. Twelve haploid induction lines were screened for further study.

Key words: Maize; Haploid breeding; Haploid inducing line; Haploid induction rate; Tester

玉米是全球最重要的农作物之一,在我国种植面积和总产均列第1位^[1]。目前,生产上利用的玉米品种几乎全部为杂交种。组配杂交种的亲本自交系

选育一直是玉米育种的核心,传统选育自交系方法需要连续自交8代以上才能达到基本纯合,速度慢、周期长、效率低。利用单倍体诱导系杂交诱导的单倍体育种将传统的“连续自交”多步选系转变为“诱导和加倍单倍体”两步选系,2个世代即可获得DH (Doubled haploid)纯系,成为快速获得玉米纯系的有效途径而被国内外育种单位广泛应用,并与转基因技术、分子标记辅助选择育种技术相媲美的现代玉米育种三大核心技术之一^[2]。

获得单倍体是单倍体育种的首要环节,研究人员研究了多种产生获得单倍体的方法,如组织培养、射线照射、化学诱导等,大多数没有实现规模化应用^[3]。利用玉米单倍体诱导系杂交诱导,依据遗传

录用日期: 2019-06-28

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0102003、2016YFD0101204)、北京市农林科学院科技创新能力建设专项“玉米种质资源收集、评价与创新”(KJ CX20170112)

作者简介: 段民孝(1972-),山西平顺人,副研究员,博士,研究方向为玉米遗传育种。Tel:010-51503772

E-mail: duanminxiao@126.com

刘新香为并列第一作者。Tel:010-15503404

E-mail: maizelxx@126.com

赵久然为本文通讯作者。E-mail: maizezhao @126.com

标记可快捷准确鉴定单倍体并经过加倍获得DH系,这种方法因操作简便而容易实现规模化应用,已成为美国先锋、德国KWS、法国利马格兰等国际种业公司的主要方法,在我国也得到一定规模应用^[4]。Stock6是美国遗传学家Coe最早发现的玉米单倍体诱导系^[5],该材料作父本杂交产生2.29%的单倍体,但难以满足规模化育种需求。科技人员进行了大量研究,先后选育出了诱导率较高、农艺性状优良的诱导系如EMK-1、WS14、KMS、ZMS、MHI、RWS、UH400、农大高诱1号、吉高诱系3号、中农大高诱5号、京科诱044等诱导系,并组配诱导系杂种进行诱导获得单倍体^[6-11],促进了DH技术的进步。生物诱导单倍体过程不仅受父本诱导系的影响,同时还受母本的遗传背景、环境条件、授粉方式等多种因素的影响^[12],有学者对诱导产生单倍体的机理进行研究并克隆了关键基因^[13-17]。本研究对新选育的单倍体诱导系进行诱导率测定,筛选诱导高的单倍体诱导系,为单倍体育种提供更优良的单倍体诱导系。

1 材料与方法

1.1 供试材料

选用玉米杂交种京科968、京科528、先玉335及自交系京724、京92、京X005、京17为母本测验种,单位自主选育的80份新玉米单倍体诱导系作父本。新单倍体诱导系一部分为外引诱导种质MT005群体变异株经多代自交选育而成;其余均为以MT005×京科诱045为基础材料,按照系谱法经多代自交选育而成。在各个分离世代,选择单株自交,同时取花粉授粉于选系材料进行诱导率测定,结合果穗结实性、子粒Navajo标记(子粒胚乳顶端和胚部分有紫色)、植株雄穗大小、分枝数、花粉量、散粉期、植株抗性等性状选择。玉米成熟后,依据子粒颜色标记进行甄别挑选准单倍体,估算准单倍体诱导率,将准诱导率高的自交果穗入选下一季度种植。下一季度进行相同工作,在各个世代诱导杂交的选系材料不相同,经过8~9代的选择,新选育的诱导系材料整齐一致。

1.2 试验方法

2017年冬季在海南省南滨农场试验基地种植试验材料。为保证单倍体诱导系开花散粉期与测验材料的吐丝期基本相遇,第1期种植测验种京724和京92,4 d后种植京科968、先玉335、京科528、京X005和京17,再过4 d后种植玉米单倍体诱导系。抽雄后,选择2~3株单株(穗系)自交并取其花粉杂交于

测验种,每穗系尽可能与7个测验种完成杂交,杂交3~5穗/测交组合,待果穗成熟后,及时收获,进行准单倍体种子鉴定。

1.2.1 准单倍体种子鉴定

根据子粒Navajo标记对杂交诱导果穗子粒逐粒鉴定,胚乳顶部和胚芽均有紫色的为杂交二倍体子粒,胚乳顶部紫色、胚芽无色的为准单倍体子粒,顶部紫色、胚部败育的子粒也计入总杂交子粒数,粒顶、胚尖均无色的子粒为花粉污染,不予统计。统计准单倍体种子数和总杂交子粒数。估算准单倍体诱导率(Putative Haploid Induction Rates, PHIR)=准单倍子粒数/总杂交子粒数×100%。

1.2.2 单倍体鉴定与准诱导率校正

筛选准诱导率达到8%的测交组合的准单倍体子粒,2018年春季在北京小汤山试验基地种植,依据田间生长势及植株茎秆颜色等标记性状进一步淘汰杂合二倍体植株,统计杂株数和单倍体植株数,对准诱导率校正获得诱导系的实际诱导率。实际诱导率(Actual Haploid Induction Rates, RHIR)=(准单倍子粒数-杂合植株数)/总杂交子粒数×100%;杂株率(Hybrid Rates, HR)=杂株数/总杂交子粒数×100%。

1.2.3 数据统计及分析

诱导率统计及分析采用Office 2007软件进行。

2 结果与分析

2.1 单倍体诱导系诱导率

本研究中使用的7个测验种生育期有差异,单倍体诱导系的穗系没有和7个测验种全部杂交。准单倍体诱导率达到8%的288个测交组合中,6个测交组合的杂交子粒数少于95粒,为降低分析误差,不参与分析。其余282个测交组合的杂交子粒总数均达到或超过100粒,测交父本来自于78个诱导系的140个单株(穗系),统计分析准诱导率与实际诱导率及杂株率(表1)。

从表1可以看出,在282个测交组合中,有84个组合的准单倍体诱导率介于8%~10%,140个测交组合的准单倍体诱导率介于10%~15%,58个组合超过15%,其中,超过20%的有16个,来自于14个诱导系,其中,1891的2个单株对应的测交组合实际诱导率均低于10.0%,而1849的2个单株的测交组合实际诱导率均超过10.0%(表2)。准单倍体诱导率最高为45.37%(穗系1891-7,杂株率高达42.5%,实际诱导率才3.2%),其次为42.2%(穗系1942-11,实际诱导率为10.4%)。穗系1944-14、1949-12、1891-9、

1935-11 测交组合的杂株率超过 10.0%以上,其中穗系 1891-9、1935-11 的测交组合的实际诱导率低于 10%。

杂株率高低是评价子粒标记鉴定准确度的指标。在 282 个测交组合中,3 个测交组合杂株率超过 20.0%(也是准单倍体诱导率排列前 3 的组合),2 个组合超过 15.0%;杂株率介于 13.0% ~ 15.0% 和

10% ~ 13% 的组合数分别为 2、6 个,杂株率介于 5.0% ~ 10.0% 的组合数为 27 个,242 个测交组合的杂株率在 5.0% 以下,其中,27 个组合杂株率为 0。利用子粒颜色标记鉴别单倍体子粒存在误差,有的材料鉴别容易,有的材料鉴别难度大。同时,试验选用的多数单倍体诱导系的子粒颜色标记在所使用的测验种遗传背景下表达明显,准确率较高。

表 1 测交组合准单倍体诱导率和实际单倍体诱导率及杂株率

Table 1 The distributions of putative haploid induction rates(PHIR) and actual haploid induction rates(AHIR) and hybrid rates(HR)in inducer crossed with tester

准单倍体诱导率(%)		实际单倍体诱导率(%)		杂株率(%)	
Putative haploid induction rate (QHIR)		Actual haploid induction rate(CHIR)		Hybrid rate(HR)	
区 间	组合个数	区 间	组合个数	区 间	组合个数
Interval	Cross number	Interval	Cross number	Interval	Cross number
—	—	H<5	17	H<5.0	242
—	—	5≤H<8	57	5.0≤H<10.0	27
8≤H<10	84	8≤H<10	80	10.0≤H<13.0	6
10≤H<15	140	10≤H<15	103	13.0≤H<15.0	2
15≤H<20	42	15≤H<20	20	15.0≤H<20.0	2
H≥20	16	20≤H	5	20.0≤H	3

表 2 准单倍体诱导率达到 20.0% 的测交组合情况

Table 2 The putative haploid induction rates(PHIR) over 20.0% testcrosses

测验种	诱导系-穗号	单倍体子粒数	杂合子粒数(粒)	出苗数(株)	杂株数(株)	准单倍体	实际单倍体	杂株率
Tester	Inducing line-ear No.	(粒)	Heterozygous kernels	Seedling number	Hybrid plant number	诱导率(%) PHIR	诱导率(%) AHIR	(%) HR
京 X005	1891-7	116	138	110	108	45.7	3.1	42.5
京科 528	1942-11	81	111	76	61	42.2	10.4	31.8
京 X005	1967-2	150	347	142	134	30.2	3.2	27.0
京科 528	1944-14	102	247	85	47	29.2	15.8	13.5
京科 528	1936-8	137	354	102	34	27.9	21.0	6.9
京科 968	1941-7	114	324	79	3	26.0	25.3	0.7
京科 528	1949-12	80	242	51	38	24.8	13.0	11.8
先玉 335	1896-9	73	227	60	0	24.3	24.3	0.0
先玉 335	1899-4	66	207	50	2	24.2	23.4	0.7
京 92	1891-9	66	220	52	51	23.1	5.2	17.8
京科 528	1949-7	68	233	46	23	22.6	15.0	7.6
京科 528	1954-12	67	238	50	20	22.0	15.4	6.6
京 724	1912-1	45	167	26	2	21.2	20.3	0.9
京科 528	1962-1	120	457	100	56	20.8	11.1	9.7
京 X005	1935-11	55	214	50	31	20.4	8.9	11.5
京科 528	1931-7	81	324	45	8	20.0	18.0	2.0

种植玉米准单倍体子粒,结合单倍体苗期表现、生长势、植株颜色,淘汰杂合植株,对准单倍体诱导率校正,能准确评价被测单倍体诱导系的诱导率。

在 282 个测交组合中,实际单倍体诱导率低于 5.0% 的组合为 17 个,57 个组合的实际诱导率介于 5.0% ~ 8.0%,80 个测交组合介于 8.0% ~ 10.0%, 128

个测交组合的实际诱导率超过 10.0%,其中,超过 20.0%为 5 个测交组合。实际诱导率超过 15.0%为 25 个测交组合,来自于 21 个诱导系(表 3),其中诱导系 1899、1949、1954 都是同一个穗系的测交组合, 1910 是两个穗系的测交组合。

表 3 实际单倍体诱导率达到 15%的测交组合情况
Table 3 The actual haploid induction rates(AHIR) over 15% testcrosses

测验种 Tester	诱导系-穗号 Inducing lines- ear No.	单倍体子粒数 (粒) Haploid kernels	杂合子粒数(粒) Heterozygous kernels	出苗数(株) Seedling number	杂株数(株) Hybrid plant number	准单倍体 诱导率(%) PHIR	实际单倍体 诱导率(%) AHIR	杂株率 (%) HR
京科 968	1941-7	114	324	79	3	26.0	25.3	0.7
先玉 335	1896-9	73	227	60	0	24.3	24.3	0.0
先玉 335	1899-4	66	207	50	2	24.2	23.4	0.7
京科 528	1936-8	137	354	102	34	27.9	21.0	6.9
京 724	1912-1	45	167	26	2	21.2	20.3	0.9
京科 968	1893-11	76	325	60	3	19.0	18.2	0.7
京科 528	1931-7	81	324	45	8	20.0	18.0	2.0
先玉 335	1945-8	120	778	95	8	19.2	18.0	1.2
先玉 335	1949-7	56	255	25	1	18.0	17.7	0.3
先玉 335	1927-11	111	910	95	23	19.7	17.1	2.6
京 724	1966-4	60	267	34	5	18.3	16.8	1.5
先玉 335	1910-3	43	210	30	1	17.0	16.6	0.4
京科 968	1898-10	29	143	8	1	16.9	16.3	0.6
先玉 335	1911-3	28	144	18	0	16.3	16.3	0.0
先玉 335	1956-13	31	143	26	3	17.8	16.1	1.7
先玉 335	1930-6	119	573	75	9	17.2	15.9	1.3
京 17	1935-11	27	143	21	0	15.9	15.9	0.0
京科 528	1944-14	102	247	85	47	29.2	15.8	13.5
京 17	1934-8	29	145	23	2	16.7	15.5	1.1
京科 528	1954-12	67	238	50	20	22.0	15.4	6.6
京科 528	1910-9	30	121	18	7	19.9	15.2	4.6
京 17	1929-10	33	164	25	3	16.8	15.2	1.5
京科 968	1899-4	49	237	25	6	17.1	15.0	2.1
先玉 335	1954-12	23	117	12	2	16.4	15.0	1.4
京科 528	1949-7	68	233	46	23	22.6	15.0	7.6

2.2 单倍体诱导系评价

将实际诱导率 10%以上的 128 个测交组合的穗系分布情况进行统计分析,除 3 个组合的杂株率超过 10%外,其余组合杂株率均在 10%以下。有 28 个诱导系的 31 个穗系与 2 个以上测验种测交组合的实际诱导率达到 10%以上,其中,穗系 1896-9 与 5 个测验种杂交组合中有 4 个测交组合的实际诱导率均达到 12%以上;穗系 1913-13 和 1937-8 与 5 个测验种杂交组合中有 3 个测交组合的实际诱导率均达到 10%以上, 1893-11、1930-6、1943-5、1954-12、1966-12 这 5 个穗系与 3 个测验种杂交的实际诱导率都达到 10%以上。

综合与 3 个测验种的实际诱导率达到 10.0%的

穗系和实际诱导率前 5 位的穗系,合计入选 12 份诱导系(表 4),除穗系 1936-8 只与 1 个测验种杂交外,其余穗系均杂交 3 个测验种以上。入选诱导系的不同穗系与同一测验种以及与不同测验种之间的诱导率均存在一定差异,在不同测验种之间的差异最大达到 17.2 个百分点(穗系 1896-9),同一穗行的不同单株与同一测验种测交的诱导率相差最大为 13.9 个百分点(穗行 1896),说明母本遗传背景影响诱导率。

3 结论与讨论

3.1 测验种对评价诱导率的影响

研究表明,诱导系诱导能力的高低受母本的遗传背景影响。Eder 等^[18]利用两个诱导系对马齿型、

表4 高诱导率单倍体诱导系测交情况汇总
Table 4 Summary of testcrosses of haploid induction lines with high induction rate

诱导系 Inducing line	穗 号 Ear No.	先玉 335 Xianyu335	京科 528 Jingke528	京科 968 Jingke968	京 92 Jing92	京 724 Jing724	京 17 Jing17	京 X005 JingX005	极 差 Range
1893	11	12.4	13.7	18.2					5.8
	18		8.4		9.5				1.1
	差值		5.3						
1896	2	10.4			6.6		12.0		5.4
	9	24.3	12.7	13.9			14.0	7.1	17.2
	差值	13.9					2.0		
1899	4	23.4	7.8	15.0					15.6
	7			6.4					-
	差值			8.6					
1912	1			12.6		20.3			7.7
	2		9.3						
1913	13		7.9	11.3	10.2	9.2	10.0		2.1
1930	6	15.9	10.7			13.9	7.4		8.5
1936	8		21.0						-
1937	8	14.4			5.4	12.5	11.6	7.2	9.0
1941	1			12.9					-
	7	12.2		25.3					13.1
	差值			12.4					
1943	2		9.8						-
	5					12.3	12.4	13.3	1.0
1954	2		13.4			8.1			5.3
	12	15.0	15.4			11.5			3.9
	14							7.5	-
	差值		2.0			3.4			
1966	4		10.3			16.8			6.5
	12	11.5	10.9			10.9			0.6
	差值		0.6			5.9			

硬粒型和半马齿型玉米进行诱导,产生单倍体的效率大约在 2.7%~8.0%。不同自交系、杂交种、不同种质类群材料、不同类型玉米之间^[19-24],研究结果均表明,不同基因型的基础材料被同一诱导系诱导时诱导率存在显著差异,选择多个测验种可以较客观的评价 1 个诱导系的诱导能力。在分离世代选择单株测定诱导率,1 次测交多个测验种,工作量较大。在早期选择 1~2 个测验种,当选育株系较稳定后,可以使用多个测验种测验。本研究选用 7 个测验种包含杂交种和自交系,由于生育期差异,被测诱导系单株的散粉期有限,没有完成被测穗系和 7 个测验种的全部杂交,因此没有分析测验种的差异。如果测验种生育期接近,通过多个测验种,更能客观分析诱导系的诱导能力。

3.2 颜色标记鉴定单倍体对诱导率的影响

鉴定单倍体的方法很多,如细胞遗传学方法,形

态学标记、遗传学标记、子粒油分标记。目前,使用广泛的子粒颜色标记即 Navajo 标记,主要利用人力依靠肉眼挑选,表达的强度受到母本材料遗传背景^[25]、环境因素、人工挑选方式等多种因素影响,影响到鉴别筛选精度。如果受体材料含有花青素抑制基因 *CI-1* 就影响子粒标记表达,尤其对欧洲硬粒玉米和热带种质材料鉴定效果不佳^[25,26]。本研究的 282 测交组合中,3 个准单倍体诱导率最高的测交组合的杂株率超过 20.0%,10 个测交组合的杂株率在 10.0%~15.0%,其余测交组合均低于 10.0%,说明选用测验种对诱导系的标记表达影响不大,多数单倍体诱导系的子粒颜色标记在所使用的测验种遗传背景下表达明显,鉴别准确率较高。

3.3 影响诱导率评价的因素

杂交授粉时花期相遇不好或花粉、花丝活力等因素造成杂交结实子粒数量少,影响诱导率的测算,

具体结实数量最低值对诱导率测算有多大影响还无法确定。本研究将结实子粒数少于100的测交组合没有列入统计分析。同时,本研究新选育的单倍体诱导系获得测交组合较多,为减轻工作量,仅将准单倍体诱导率达到8%的测交组合的准单倍体子粒进一步种植,出苗后调查统计杂合植株来校正准单倍体诱导率,这是基于杂合子粒全部出苗的假设前提下。在实践中有可能因种子发芽率、土壤水分条件等造成杂合子粒没有全部出苗,统计出苗后杂合植株数据对实际诱导率会有一定偏差。

诱导系杂交诱导会伴随产生一定比例的胚败育种子,依据现有诱导机理,这些胚败育子粒更大可能是诱导产生的,本研究将无胚种子作为杂交子粒数统计,如果这部分子粒算作单倍体,将提高诱导率绝对数值。实际诱导率超过15.0%的25个测交组合的父本来自于21个诱导系,其中,5个穗系的测交组合超过20.0%,最高达到25.3%(穗系1941-7与京科968测交组合)。该穗系与另一个测验种(先玉335)的测交组合实际诱导率为12.2%,同一诱导系与不同测验种杂交的单倍体诱导率有差异。因此评价单倍体诱导系需要多个测验数据进行综合分析。

3.4 诱导环境影响诱导率

杂交诱导产生单倍体的过程中还受环境条件、气候因素、花丝长短等其他一些因素影响。Prigger等^[27]在热带地区进行单倍体诱导利用无叶舌材料作测验种,2个环境下的诱导率具有显著差异。Kebede等^[28]研究表明,诱导率受冬季和夏季以及被诱导材料的基因型和季节相互作用的影响。黎亮等研究表明,海南冬季的诱导率明显高于北京春季的诱导率,不同的地点由于气候、环境的差异对单倍体诱导率有显著影响。因此选择合适的诱导环境也是提高诱导效率的因素之一。本研究在海南进行,测交评价的诱导率在其他地方表现还需要进一步研究。有研究表明,人工授粉产生单倍体的频率显著高于自然授粉^[29],分析原因可能是自然授粉增加了异雄核受精频率,降低了单受精的频率,也可能是诱导系花粉配子竞争力小于被诱导材料,所以自然授粉产生单倍体少。目前关于这一机理不是很清楚。

本研究选用7个测验种来评价新选育的单倍体诱导系的诱导率,没有影响诱导率测算,实际单倍体诱导率达到20.0%以上的穗行5个,最高达到25.3%,8个穗行在3个测验种都可以达到10%以上,综合分析筛选出12个穗行,将进一步在不同环境下广泛杂交诱导选系材料,更准确分析诱导率,为高效规模化单倍体育种提供优良诱导系。

参考文献:

- [1] 李少昆,赵久然,董树亭,等. 中国玉米栽培研究进展与展望[J]. 中国农业科学 2017, 50(11): 1941-1959.
- [2] Li S K, Zhao J R, Dong S T, et al. Advances and prospects of maize cultivation in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(11): 1941-1959. (in Chinese)
- [3] 陈绍江,黎亮,李浩川,等. 玉米单倍体育种技术(第二版)[M]. 北京:中国农业大学出版社,2012.
- [4] 李浩川,曲彦志,杨继伟,等. 玉米生物诱导孤雌生殖单倍体影响因素研究进展[J]. 中国农学通报,2015, 31(3): 239-243.
- [5] Li H C, Qu Y Z, Yang J W, et al. Research progress on influence factors of in vivo maternal haploid induction in maize[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(3): 239-243. (in Chinese)
- [6] Chang M T, Coe E H. Doubled haploids[A]. In: Kriz A L, Larkins B A (eds). Molecular genetic approaches to maize improvement[M]. Springer, Berlin, Heidelberg, 2009.
- [7] Coe E H. A line of maize with high haploid frequency[J]. Amer Nat, 1959(93): 381-382.
- [8] Liu Z X, Wang Y B, Ren J J, et al. Maize doubled haploids[A]. In: J. Janick(ed). Plant breeding reviews[C]. Volume40, John, Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2016, New Jersey, USA. doi:10.1002/9781119279723.ch3.
- [9] 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.
- [10] Liu Z Z, Song T M. The breeding and identification of haploid inducer with high frequency parthenogenesis in maize[J]. Acta Agronomica Sinica, 2000, 26(5): 570-574. (in Chinese)
- [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系3号的选育[J]. 玉米科学,2007, 15(1): 1-4.
- [12] Cai Z, Xu G L, Liu X H, et al. The breeding of JAAS3-Haploid inducer with high frequency parthenogenesis in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2007, 15(1): 1-4. (in Chinese)
- [13] Xu X X, Li L, Dong X, et al. Gametophytic and zygotic selection leads to segregation distortion through in vivo induction of maternal haploid in maize[J]. J Exp Bot, 2013, 64(4): 1083-1096.
- [14] 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.
- [15] Zhang R Y, Duan M X, Zhao J R, et al. Difference in the haploid induction rates of six maize inducer[J]. Journal of Maize Sciences, 2013, 21(2): 6-10. (in Chinese)
- [16] 张如养,段民孝,赵久然,等. 玉米单倍体诱导系诱导性状的杂种优势分析[J]. 种子,2016, 35(1): 77-80.
- [17] Zhang R Y, Duan M X, Zhao J R, et al. Heterosis of haploid induction traits of inducers in maize[J]. Seed, 2016, 35(1): 77-80. (in Chinese)
- [18] 黎亮,李浩川,徐小伟,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.
- [19] Li L, Li H C, Xu X W, et al. Preliminary optimization of in vivo haploid induction in maize[J]. Journal of China Agricultural University, 2012, 17(1): 9-13. (in Chinese)
- [20] Prigge V, Xu X W, Li L, et al. New insights into the genetics of in vivo induction of maternal haploids, the backbone of doubled haploid technology in maize[J]. Genetics, 2012, 190(2): 781-793.

- [14] Dong X, Xu X, Miao J, et al. Fine mapping of qhir1 influencing in vivo haploid induction in maize[J]. Theor Appl Genet, 2013, 126(7): 1713–1720.
- [15] Li L, Xu X W, Jin W W, et al. Morphological and molecular evidences for DNA introgression in haploid induction via a high oil inducer CAUHOI in maize[J]. Planta, 2009, 230: 367–376.
- [16] Liu C, Li X, Meng D, et al. A 4 bp insertion at ZmPLA1 encoding a putative phospholipase A generates haploid induction in maize[J]. Mol plant, 2017, doi:10.1016/j.molp.2017.01.011
- [17] Kelliher T, Starr D, Richbourg L, et al. Matrilineal, a sperm-specific phospholipase, triggers maize haploid induction[J]. Nature. (2017) doi:10.1038/nature20827.
- [18] Eder J, Chalyk S T. *In vivo* haploid induction in maize[J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 703–708.
- [19] 徐国良, 代玉仙, 刘晓丹, 等. 玉米单倍体诱导率和加倍率研究[J]. 玉米科学, 2012, 20(2): 1–5.
Xu G L, Dai Y X, Liu X D, et al. Research on the induced rates and the doubling rates of haploid in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2012, 20(2): 1–5. (in Chinese)
- [20] 祁志云, 杨 华, 邱正高, 等. 不同基因型玉米单倍体诱导效果研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(4): 1152–1158.
Qi Z Y, Yang H, Qiu Z G, et al. Study on induction effect of haploid in different maize genotypes[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2012, 25(4): 1152–1158. (in Chinese)
- [21] 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.
Li G L, Su J, Li C X, et al. Research on haploids frequency of different germplasm and generations in maize by Cauho inducer 1[J]. Journal of Maize Sciences, 2008, 16(5): 3–6. (in Chinese)
- [22] 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.
Cai Q, Cao J S, Shi G R, et al. Induction effect of the haploid inducers from different sources[J]. Journal of Maize Sciences, 2012, 20(4): 19–21. (in Chinese)
- [23] 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.
Sun R, Jing X Q, Gao H M. Preliminary study on induction effect of haploid inducer lines on different germplasm groups in maize[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2013(3): 18–21. (in Chinese)
- [24] 胡尔良. 利用 stock6 诱导玉米孤雌生殖单倍体及其加倍的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2008.
- [25] Rüber 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.
- [26] Chaikam V, Martinez L, Melchinger A E, et al. Development and validation of red root marker-based haploid inducers in maize[J]. Crop Sci., 2016, 56: 1678–1688.
- [27] Prigge V, Sánchez C, Dhillon B S, et al. Doubled haploids in tropical maize: I. Effects of inducers and source germplasm on *in vivo* haploid induction rates[J]. Crop Sci., 2011, 51(4): 1498–1506.
- [28] Kebede A Z, Dhillon B S, Schipprack W, et al. Effect of source germplasm and season on the *in vivo* haploid induction rate in tropical maize[J]. Euphytica, 2011, 180(2): 219–226.
- [29] Rotarencu V A. Production of matroclinous maize haploids following natural and artificial pollination with a haploid inducer[J]. Maize Genet Coop News Lett, 2002(76): 16.

(责任编辑: 朴红梅)

(上接第7页)

- [8] Wu P H, Ren J J, Li L, et al. Early spontaneous diploidization of maternal maize haploids generated by *in vivo* haploid induction[J]. Euphytica, 2014(1): 127–138.
- [9] 才 卓, 徐国良, 刘向辉, 等. 玉米高频率单倍生殖诱导系吉高诱系3号的选育[J]. 玉米科学, 2007(1): 1–4.
Cai Z, Xu G L, Liu X H, et al. The breeding of JAAS3-Haploid inducer with high frequency parthenogenesis in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2007(1): 1–4. (in Chinese)
- [10] Melchinger A E, Winter M, Mi X, et al. Controlling misclassification rates in identification of haploid seeds from induction crosses in maize with high-oil inducers[J]. Crop Sci., 2015, 55: 1076–1086.
- [11] Vijay C, Leocadio M, Albrecht E M, et al. Development and validation of red root marker-based haploid inducers in maize[J]. Crop Science, 2016, 56(4): 1678–1688.
- [12] Prigge V, Schipprack W, Mahuku G, et al. Development of *in vivo* haploid inducers for tropical maize breeding programs[J]. Euphytica, 2012, 185(3): 481–490.
- [13] Melchinger A, Molenaar W, Mirdita V, et al. Colchicine alternatives for chromosome doubling in maize haploids for doubled-haploid production[J]. Crop Sci., 2016, 56: 559–569.

(责任编辑: 朴红梅)