

糯玉米单倍体诱导及其加倍研究

陶蕊, 侯佳贤, 刘洪霞, 桑建, 王薪淇, 岳尧海, 孙传波

(吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘要: 以吉诱 101 为父本诱导 11 份糯玉米材料, 研究花丝长度、授粉时期对糯玉米单倍体诱导率的影响, 比较不同处理方法对糯玉米单倍体的加倍效果。结果表明, 糯玉米单倍体平均诱导率, 长花丝时期授粉为 13.47%, 短花丝时期授粉为 5.75%; 伏后期授粉为 12.86%, 伏期授粉为 6.22%。加倍试验结果表明, 平均散粉率, 浸芽法 (10.66%) > 浸根法 (6.20%) > 浸种法 (4.34%) > 自然加倍法 (1.05%), 其中, 浸芽法加倍效果最好。

关键词: 糯玉米; 单倍体; 诱导率; 加倍率

中图分类号: S513.032

文献标识码: A

Study on Haploid Inducing and Doubling of Waxy Maize

TAO Rui, HOU Jia-xian, LIU Hong-xia, SANG Jian, WANG Xin-qi, YUE Yao-hai, SUN Chuan-bo

(Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Eleven waxy maize materials were induced by haploid inducers (Jiyou 101) to study the effect of silk length, pollinating date on haploid inducing rate and different approaches on haploid doubling. The results of haploid inducing indicated that, the average haploid inducing rate of long silk pollination was 13.47%, short silk pollination was 5.75%, after summer pollination was 12.86%, summer pollination was 6.22%. The results of haploid doubling indicated that, the average loose powder rate of dipping shoot was 10.66%, dipping root was 6.20%, dipping seed was 4.34%, spontaneous was 1.05%, the best way of haploid doubling was dipping shoot.

Key words: Waxy maize; Haploid; Inducing rate; Doubling rate

单倍体技术已成为现代玉米育种的重要技术之一, 可大大缩短育种周期, 提高育种效率^[1]。1956 年美国遗传学家 Coe 等发现高频单倍体诱导系 Stock6^[2], 该技术得以在育种中应用。目前, 我国已从国外引进了多个单倍体诱导系^[3-5], 并以此为基础材料选育出农大高诱系列、吉高诱系列、辽诱系列等高频诱导系, 将单倍体诱导率提升至 10% 以上^[6-10]。单倍体育种技术在普通玉米育种中已产业化应用, 但在糯玉米育种中的研究应用相对滞后。为探索单倍体技术在糯玉米育种中应用的可能性, 本研究以吉林省农业科学院选育的高频诱导系吉诱 101 为父本, 诱导 11 份糯玉米材料, 研究花丝长度、授粉时期

对糯玉米单倍体诱导率的影响, 比较不同加倍处理方法对糯玉米单倍体的加倍效果, 为建立糯玉米单倍体育种技术体系提供理论依据, 加快糯玉米育种进程。

1 材料与方法

1.1 试验材料

父本材料为吉诱 101, 母本材料为 11 份糯玉米 (表 1)。

1.2 研究方法

1.2.1 糯玉米单倍体诱导试验

诱导试验在吉林省农业科学院公主岭试验基地进行。以高频诱导系吉诱 101 为父本、以 11 份糯玉米材料为母本进行杂交诱导。试验设置花丝长度和授粉时期 2 个因素, 花丝长度设 2 个处理, 长花丝时期 (花丝长度大于 8 cm) 和短花丝时期 (花丝长度小于 5 cm); 授粉时期设 2 个处理, 伏期 (一般为 7 月下旬) 和伏后期 (一般为 8 月下旬) 授粉^[11]。秋季收获脱粒后, 基于 Navajo 标记逐粒鉴定单倍体, 即胚乳糊粉层呈现紫色、胚芽部位无色、凹陷较深的子粒为准单倍

录用日期: 2020-06-09

基金项目: 吉林省农业科学院创新工程项目 (CXGC2018ZY017)

作者简介: 陶蕊 (1980-), 女, 助理研究员。

E-mail: taorui9735@sina.com

侯佳贤为并列第一作者。

刘洪霞和孙传波为本文通讯作者。

E-mail: chuanbosun@163.com

体子粒^[12]。根据成功诱导总子粒数和准单倍体子粒数,计算单倍体诱导率,统计分析花丝长度、授粉时期对糯玉米单倍体诱导率的影响。

单倍体诱导率=(准单倍体子粒数/成功诱导总子粒数)×100%。

表 1 诱导单倍体的母本材料
Table 1 Maternal materials of using induce haploid

编 号 Number	材料名称 Material name	材料来源 Material source
D01	吉农糯 7	JNX6×JNX22
D02	吉农糯 14	JN1201×JNX1202
D03	吉农糯 24	JN2487×JNX2402
D04	吉农糯 26	JNX2626×JNX2602
D05	绿糯 616	1243×836
D06	绿糯 619	1251×1245-1
D07	绿糯 635	1230×836
D08	绿糯 636	1611×L160
D09	吉糯 14	Jinuo22×Jinuo53
D10	吉农大糯 604	ND102×ND202
D11	吉农大糯 605	ND105×ND205

1.2.2 糯玉米单倍体加倍试验

以准单倍体种子为试验材料进行化学加倍和自然加倍试验。单倍体处理方法为浸芽、浸根、浸种,加倍试剂为 0.6 mg/mL 秋水仙素和 2.5%的二甲基亚砷(DMSO),加倍条件为 20℃条件下处理 8 h,种植后通过统计田间单倍体的散粉植株数计算散粉率,分

析不同处理方法对糯玉米单倍体加倍效果的影响。

单倍体散粉率=(散粉植株/加倍处理单倍体植株数)×100%。

1.2.3 统计方法

利用软件 Excel 对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 糯玉米单倍体诱导

2.1.1 花丝长度对糯玉米单倍体诱导率的影响

表 2 表明,长花丝时期授粉单倍体诱导率都明显高于短花丝时期授粉处理,长花丝时期授粉平均单倍体诱导率约是短花丝时期授粉的 2.34 倍,最高可达 16.93%。

对花丝长度与不同材料间进行方差分析(表 3),结果表明,花丝长度对诱导率有极显著影响,不同材料间诱导率达显著影响,说明花丝长度对糯玉米单倍体诱导率有很大影响,并且长花丝时期授粉可提高单倍体诱导率。

2.1.2 授粉时期对糯玉米单倍体诱导率的影响

表 4 结果表明,伏后期授粉糯玉米单倍体诱导率都明显高于伏期授粉,伏后期授粉平均单倍体诱导率大约是伏期授粉的 2.06 倍,最高可达 15.66%。

对授粉时期与不同材料间进行方差分析,表 5 结果表明,伏期授粉对诱导率有极显著影响,不同材料间诱导率达显著影响,说明伏期授粉对糯玉米单倍体诱导率有很大影响,并且伏后期授粉可提高单倍体诱导率。

表 2 不同花丝长度对糯玉米单倍体诱导率的影响
Table 2 Effects of different silk length on waxy maize haploid inducing rate

材 料 Material	花丝长度小于 5 cm Silk length<5 cm			花丝长度大于 8 cm Silk length>8 cm		
	总子粒数(粒) Total grains	准单倍体子粒数(粒) Grains of quasi-haploid	诱导率(%) Inducing rate	总子粒数(粒) Total grains	准单倍体子粒数(粒) Grains of quasi-haploid	诱导率(%) Inducing rate
D01	2 985	194	6.50	3 102	419	13.51
D02	2 868	178	6.21	2 964	387	13.06
D03	3 021	171	5.66	3 157	448	14.19
D04	2 798	132	4.72	2 846	347	12.19
D05	3 002	213	7.10	2 934	383	13.05
D06	3 125	158	5.06	3 208	304	9.48
D07	2 663	109	4.09	2 930	397	13.55
D08	2 450	148	6.04	2 610	378	14.48
D09	2 667	187	7.01	2 903	459	15.81
D10	2 690	206	7.66	2 398	406	16.93
D11	2 823	91	3.22	2 520	301	11.94
平均诱导率(%)			5.75			13.47

表3 花丝长度与不同材料间单倍体诱导率的方差分析

Table 3 Variance analysis of haploid inducing rate between silk length and materials

变异来源	平方和	自由度	均方	F值
Source of variation	SS	DF	MS	F-value
花丝长度	45.80	10	4.58	3.80*
材料间	327.90	1	327.90	272.28**
误差	12.04	10	1.204	

注:*表示5%显著相关水平、**表示1%极显著相关水平。下表同。

Note: * means significant correlation at 5% level; ** means extremely significant correlation at 1 % level. The same below.

表4 不同授粉时期对糯玉米单倍体诱导率的影响

Table 4 Effects of different pollinating dates on waxy maize haploid inducing rate

材料	伏期 Summer days			伏后期 After summer days		
	总子粒数(粒)	准单倍体子粒数(粒)	诱导率(%)	总子粒数(粒)	准单倍体子粒数(粒)	诱导率(%)
	Total grains	Grains of quasi-haploid	Inducing rate	Total grains	Grains of quasi-haploid	Inducing rat
D01	2 687	183	6.81	2 793	392	14.04
D02	2 584	164	6.35	2 658	365	13.73
D03	2 720	162	5.96	2 864	361	12.60
D04	2 531	125	4.94	2 583	314	12.16
D05	2 721	183	6.73	2 672	365	13.66
D06	2 802	162	5.78	2 814	308	10.95
D07	2 368	136	5.74	2 611	297	11.37
D08	2 195	168	7.65	2 354	328	13.93
D09	2 416	171	7.08	2 702	423	15.66
D10	2 438	167	6.85	2 183	327	14.98
D11	2 556	115	4.50	2 317	193	8.33
平均诱导率(%)			6.22			12.86

表5 授粉时期与不同材料间单倍体诱导率的方差分析

Table 5 Variance analysis of haploid inducing rate between pollinating dates and materials

变异来源	平方和	自由度	均方	F值
Source of variation	SS	DF	MS	F-value
授粉时期	42.83	10	4.28	4.62*
材料间	242.38	1	242.38	261.91**
误差	9.25	10	0.93	

2.2 糯玉米单倍体加倍

表6 不同处理方法加倍糯玉米单倍体的效果

Table 6 Doubled effects of different approaches to waxy maize haploid

%

处理方法	D01	D02	D03	D04	D05	D06	D07	D08	D09	D10	D11	平均散粉率
Treatment												Average rate of loose powder
浸芽	11.80	9.76	11.70	15.94	10.53	10.07	9.29	11.11	8.60	10.84	7.62	10.66
浸根	7.32	6.67	5.10	8.73	5.10	7.03	5.43	4.26	7.10	5.26	6.25	6.20
浸种	5.08	3.67	4.39	3.30	5.22	4.30	4.26	3.92	5.65	3.64	4.29	4.34
自然加倍(CK)	1.35	0.74	0.70	1.75	0.70	1.71	0.85	2.36	0.65	0.72	0.00	1.05

表7 不同处理方法与材料间单倍体加倍效果的方差分析
Table 7 Variance analysis of haploid doubling between different approaches and materials

变异来源 Source of variation	平方和 SS	自由度 DF	均 方 MS	F 值 F- value
处理方法	579.19	3	193.06	129.04**
材料间	24.11	11	2.19	1.45
误 差	49.75	33	1.50	

表6试验结果表明,浸芽、浸根、浸种不同处理的化学加倍法平均散粉率都高于自然加倍,其中,浸芽法的加倍效果最好,平均散粉率是10.66%;浸根法次之,平均散粉率是6.20%;浸种法平均散粉率是4.34%,自然加倍法平均散粉率为1.05%。

表7利用无重复双因素方差分析结果表明,不同加倍处理方法间达极显著水平,材料间未达显著水平。

3 讨 论

提高糯玉米单倍体的诱导率和加倍率是解决单倍体技术在糯玉米育种中应用的重要环节。本研究初步探索花丝长度、授粉时期对糯玉米单倍体诱导率的影响,比较不同处理方法对糯玉米单倍体的加倍效果。结果表明,花丝长度、授粉时期对糯玉米单倍体诱导率的影响较大,长花丝时期授粉平均单倍体诱导率(13.47%)大约是短花丝时期授粉(5.75%)的2.34倍,长花丝时期授粉可提高单倍体的诱导率。研究表明,在单倍体诱导过程中精核间距发挥着重要作用,当花丝长度增加时,花粉到达胚囊的距离延长,因此会造成两个精核间距增大,更易形成单倍体^[13]。伏后期授粉平均单倍体诱导率(12.86%)大约是伏期授粉(6.22%)的2.06倍,其原因可能与授粉时期的温度有很大关系。伏期授粉时温度较高,父本花粉管生长加速,新陈代谢作用加强,体内能量、物质的消耗同样会增加,此时能量和物质供给则不增加,因此,造成父本花粉管衰老加速,不正常花粉竞争力相对减弱,则会降低诱导形成单倍体的几率。温度较低授粉时,新陈代谢作用较慢,不正常花粉粒竞争力相对增强,则会增加诱导形成单倍体产生的几率。糯玉米单倍体的诱导率还受母本基因型、诱导系类型等因素影响^[14,15]。

糯玉米单倍体的加倍试验结果表明,不同处理方法对糯玉米单倍体加倍效率的影响显著,材料间的差异则不显著,其原因可能与糯玉米材料血缘比较近有关。在处理方法中,浸芽法平均散粉率达

10.66%,最高可达15.94%,明显高于其他方法。因此,浸芽法加倍糯玉米单倍体效果较好^[16]。虽然化学加倍法能提高加倍效果,但加倍试剂秋水仙素却具有很大毒性,对试验材料、人体和环境影响较大。因此,探索安全、高效的加倍试剂,解决影响自然加倍瓶颈问题,提高自然加倍率将是今后单倍体加倍研究的重点。

参考文献:

[1] 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.

[2] Coe E H. A line of maize with high haploid frequency[J]. Am. Nat., 1959, 93: 381-382.

[3] Lashermes P, Beckert M. Genetic control of maternal haploid in maize(*Zea mays* L.) and selection of haploid haploid inducers[J]. Theor Appl Genet, 1988, 76: 570-572.

[4] Chalyk S T. Obtaining fertile pollen in maize maternal haploids[J]. Maize Genet Coop Newslett, 2000, 74: 17-18.

[5] Chalyk S T. Creating new haploid-inducing lines of maize[J]. Maize Genetics Cooperation Newsletter, 1999, 73: 53-53.

[6] 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.

Li H C, Qu Y Z, Yang J W, et al. Research progress on influence factors of invivo maternal haploid induction in maize[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(3): 239-243. (in Chinese)

[7] 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.

Cai Z, Xu G L, Liu X H, et al. The Breeding of J AAS3- Haploid inducer with high frequency parthenogenesis in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2007, 15(1): 1-4. (in Chinese)

[8] 岳尧海,路 明,张建新,等. 玉米单倍体高频诱导系吉诱101号的选育[J]. 作物杂志,2017(3):35-38.

Yue Y H, Lu M, Zhang J X, et al. The breeding of Jiyou101 haploid inducer with high frequency parthenogenesis in maize[J]. Crops, 2017(3): 35-38. (in Chinese)

[9] 刘欣芳,马 骏,齐 欣,等. 辽诱系列玉米单倍体诱导系的选育[J]. 玉米科学,2020,28(1):25-30.

Liu X F, Ma J, Qi X, et al. Breeding of LAAS-set haploid inducers with high frequency parthenogenesis in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2020, 28(1): 25-30. (in Chinese)

[10] 王薪淇,岳尧海,董亚琳,等. 21份玉米单倍体诱导系遗传背景及诱导率分析[J]. 东北农业科学,2019,44(6):15-19.

- Wang X Q, Yue Y H, Dong Y L, et al. Analysis of genetic background and inducing rate of 21 haploid inducers[J]. Journal of Northeast Agricultural, 2019, 44(6): 15–19. (in Chinese)
- [11] 李向永,姜龙,王薪淇,等.糯玉米单倍体诱导和加倍的研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2016,44(8):90–96.
- Li X Y, Jiang L, Wang X Q, et al. Haploid inducing and doubling of waxy maize[J]. Journal of Northwest A&F University(Nat. Sci. Ed.), 2016, 44(8): 90–96. (in Chinese)
- [12] Chase S S. Monoploids and Monoploid derivatives of maize(*Zea mays* L.)(J). Bot Review, 1969, 35: 117–167.
- [13] 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.
- Liu Z Z, Song T M. Fertility spontaneously restoring of inflorescence and chromosome doubling by chemical treatment in maize haploid[J]. Acta Agronomica Sinica, 2000, 26(6): 947–952. (in Chinese)
- [14] 刘传兵,王黎明,朱祥芬,等.玉米单倍体诱导系及其杂交种对不同类型F1的诱导率评价与应用[J].湖北农业科学,2015,54(18):4398–4400,4411.
- Liu C B, Wang L M, Zhu X F, et al. Comments and application of maize haploid inducer and its Coeno-species for the induction rate of different F₁[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(18): 4398–4400, 4411. (in Chinese)
- [15] Rotarencu V, Dicu G, Armaniuc M, 等.玉米杂交诱导单倍体机理探析[J].玉米科学,2010,18(6):27–30.
- Rotarencu V, Dicu G, Armaniuc M, et al. Induction of maternal haploids in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2010, 18(6): 27–30. (in Chinese)
- [16] 邓昆鹏,李向永,景桂昕,等.高效糯玉米单倍体加倍方法研究[J].种子,2017,36(1):82–85.
- Deng K P, Li X Y, Jing G X, et al. Preliminary study on efficient waxy maize haploid doubling method[J]. Seed, 2017, 36(1): 82–85. (in Chinese)

(责任编辑:朴红梅)

(上接第26页)

- Huo S P, Zhang X D, Xiang Z F, et al. Study on the rates of sucking up moisture with maize seeds during their germination[J]. Journal of Maize Sciences, 2004, 12(4): 54–56, 59. (in Chinese)
- [22] 林海明,杜子芳.主成分分析综合评价应该注意的问题[J].统计研究,2013,30(8):25–31.
- Lin H M, Du Z F. Principal component analysis comprehensive evaluation should pay attention to the problem[J]. Statistical Research, 2013, 30(8): 25–31. (in Chinese)
- [23] 王江民,肖植文,张建华,等.聚类分析法在28个玉米杂交种筛选中的应用[J].西南农业学报,2014,27(2):480–484.
- Wang J M, Xiao Z W, Zhang J H, et al. Application of cluster analysis in screening of maize hybrid varieties[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2014, 27(2): 480–484. (in Chinese)
- [24] 赵鹏涛,赵卫国,罗红炼,等.小麦主要品质性状相关性及主成分分析[J].中国农学通报,2019,35(21):7–13.
- Zhao P T, Zhao W G, Luo H L, et al. The main quality traits of wheat: correlation analysis and principal components analysis[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(21): 7–13. (in Chinese)
- [25] 林文磊,吕美琴,李明松,等.39份春大豆种质资源的主成分分析及其聚类分析[J].福建农业学报,2018,33(10):1016–1022.
- Lin W L, Lü M Q, Li M S, et al. Principal component analysis and cluster analysis of 39 spring soybean germplasm Resources[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2018, 33(10): 1016–1022. (in Chinese)
- [26] 孙开利,李清超,马俊,等.玉米杂交种主要农艺性状的系统聚类分析[J].安徽农学通报,2015,21(14):28–29,50.
- Sun K L, Li Q C, Ma J, et al. Systematic cluster analysis of main agronomic characters of maize hybrids[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2015, 21(14): 28–29, 50. (in Chinese)

(责任编辑:栾天宇)