

玉米单倍体高自然加倍种质快捷轮选方法及高加倍瑞德核心种质的创制

才 卓, 徐国良, 于明彦, 任 军, 代玉仙, 郭 琦, 刘小丹,
李淑华, 杜金洹, 武阳春

(吉林省农业科学院单倍体育种技术创新团队, 吉林 公主岭 136100)

摘 要: 基于DH系表现水平的轮回选择已被证明是改良玉米单倍体加倍能力的有效手段。本研究通过试验证明, 在单倍体DH⁰世代, 基于优选单株组群开始轮回选择, 同样也迅速提高了单倍体自然加倍能力。相比较基于DH系水平的轮回选择, 每轮节约了1个世代, 大幅度提升了选择效率。应用此方法构建了2个Reid群高加倍种质(群体及DH系), 自然加倍率分别高达80%以上, 已作为骨干核心种质应用于商业育种。“高自然加倍材料快捷创制方法”的成功突破, 实现了高加倍种质与优异DH自交系同步创制。“瑞德类群高加倍核心种质的成功创制”, 为构建快捷高效的“单倍体自然加倍双轮回育种技术体系”奠定了坚实基础。

关键词: 玉米; 单倍体; 高自然加倍; 高加倍瑞德种质(Reid)

中图分类号: S513.035.2

文献标识码: A

Rapid Creation Method for Germplasm with High Spontaneous Haploid Doubling Rate & Creation for Improved Reid Population with High Haploid Spontaneous Doubling Rate

CAI Zhuo, XU Guo-liang, YU Ming-yan, REN Jun, DAI Yu-xian, GUO Qi, LIU Xiao-dan,
LI Shu-hua, DU Jin-huan, WU Yang-chun

(Haploid Breeding Technology Innovation Team, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: Recurrent selection at the DH line level has been shown to be an effective method for improving in maize. This experiment indicated that recurrent selection in haploid level can get the same effect for improving the spontaneous doubling rate, and reducing 1 generation comparing with the DH level selection. Compared to round selection based on the DH¹ series level, it saves 1 generation per round, substantially improving selection efficiency. The population is now used as core germplasm for commercial breeding. The successful breakthrough in the “rapid creation method of high natural doubling material” realized the simultaneous creation of high doubling core germplasm and excellent DH self-cross lines, and the “successful creation of high doubling core germplasm of the Ryder taxon” laid a solid foundation for the construction of a rapid and efficient haploid natural doubling double-round breeding technology system.

Key words: Maize; Haploid; High Spontaneous doubling rate; Reid population with high spontaneous doubling rate

杂交诱导单倍体育种技术能够大幅度缩短育种年限, 提高育种效率, 已得到育种家的广泛认可。近

年来, 随着杂交诱导方法研究的快速发展, 在高通量诱导和规模化的加倍环节上取得重大突破, 单倍体技术在边研究、边应用、边提升过程中逐步完善, 已成为中国农业大学、吉林省农科院等科研单位及大型种企的主流育种方法, DH系年产规模已达1万份以上。目前, 虽取代常规系谱育种法的趋势早已形成, 但雄穗的加倍效率依然是工程化应用的“瓶颈”, 大多育种材料自然加倍率仅在0~10%^[1-3]。通过芽

录用日期: 2021-03-12

基金项目: 吉林省农业科技创新工程重大专项“玉米超快捷高效双轮回育种方法创新及新品种选育(CXGC2021ZD005)”

作者简介: 才 卓, 研究员, 研究方向为作物遗传与育种。

E-mail: caizhuo@126.com

切浸泡法、幼胚组培法、生长点注射法等人工方法提高加倍效率,因加倍技术环节复杂、加倍过程对幼苗致死、加倍药剂对人身毒害等不确定因素过多,不同方法加倍产出效率不同,不同批次产出不同,加倍率在15%~75%之间波动幅度很大^[4-6]。本研究提出研发“简捷高效、绿色环保的单倍体自然加倍育种方法”。

历经10余年探索,发明提高单倍体雄花自然加倍率的育种方法,创制出自然加倍率80%以上的育种材料(吉Gjb335DH群体及DH系),提出了高加倍率材料的创制^[7]实践及“基于自然加倍的DH双轮回选择育种技术体系”的构思^[8],应用吉Gjb335DH²组配出吉单466(吉审玉20190061)等品种,验证了单倍体高自然加倍为主体的规模化育种技术路线。为克服高加倍材料屈指可数及创制高加倍材料需年限较长等限制,开启了高自然加倍材料快捷创制方法及Reid等各类群高自然加倍核心种质的发掘与创制研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料:Ys027m、Ys111m、Ys159m由松辽粮作研究所育种者赠予,分别选自先玉027、先玉1111、迪卡159田间大群体瘦弱矮小株,连续自交获得,植株表观特征与测配分群倾Reid血缘。应用56K芯片矩阵相似度聚类分析,均与Reid类群典型自交系血缘相近,SNP相似度均在90%以上。

单倍体诱导系:吉林省农科院选育的吉黄诱7号等,具有子粒Navajo标记明显稳定、黄色叶片标记明显、花粉量大等特点,平均诱导率10.71%^[9]。

1.2 试验方法

单倍体获得方法:配制Ys027m*Ys159m、Ys111m*Ys159m、Ys111m*Ysxs5、Ysxs5*Ys159m、JD1262*D517等杂交组合为母本基础材料,用吉黄诱7号等诱导系为父本,杂交诱导单倍体。根据所得F₁代杂种子粒的遗传标记挑选出单倍体子粒。

田间鉴定方法:将准单倍体子粒种植于单倍体规模化育种圃场(公主岭市)或海南育种基地(三亚市),种植密度为10.5万株/hm²,根据Yg3黄苗遗传标记确认并及时去除伪单倍体苗^[10]。精细管理,确保生长发育良好。

表1 诱导基础群体与所属遗传类群
Table 1 Induced basic groups and the genetic groups

诱导基础群体 Induce basic groups	所属遗传类群 Genetic groups	诱导基础群体 Induce basic groups	所属遗传类群 Genetic groups
Ys027m*Ys159m	Reid×Reid	Ys111m*Ysxs5m	Reid×Reid
Ys111m*Ys159m	Reid×Reid	JD1262*Ys517	Non Reid×Non Reid
Ysxs5m*Ys159m	Reid×Reid		

高加倍株鉴定:单倍体开花期,按育种目标优选5%~10%左右生长健壮的单株,为使入选株双雌穗均发育,清除两边其他不育株后精细管理,并及时套袋。每天仔细观察散粉情况进行分级(9-代表优异散粉株;5-代表一般散粉株,有可见花粉,可进行授粉;1-代表不育株),便于散粉期结束后,统计散粉株数及比例。授粉前再确认散粉性能好、符合育种目标、生长健壮的单株。

轮选重组群方法:试验分别基于单倍体水平的轮回选择和基于DH系水平的轮回选择两种方法,简称为DH¹*DH¹模式和DH¹*DH⁰模式^[11]。

(1)DH¹*DH¹模式:第一次杂交诱导获得的单倍体自交所得的DH系单行种植,根据育种目标性状表现,有针对性地选择2个以上缺点尽量能够相弥补的优良DH系再杂交组群——既DH¹-z*DH¹-w,

再杂交诱导及自然加倍即可获得新的DH²系。循环以上过程,分别获得DH系、DH²系、DH³、DH⁰系进入下轮选择;符合育种目标的优异DH穗行,可直接进入育种程序应用。

(2)DH⁰*DH⁰模式:采用以下3种杂交组群方式组建下轮基础群体,用于再诱导、自然加倍创制高加倍种质。

DH^{0R}*DH^{0R}方式:散粉性能好的加倍单株相互杂交;

DH^{0A}*DH^{0R}方式:性状优异的不育株与散粉性能好的单倍株相互杂交;

DH^{0R}*DH^{0H}方式:若干个综合性状好、散粉性能好的单株混粉,授予性状优异及散粉性能好的单倍株雌穗。

实践上可第1雌穗自交(获得DH系进入组合测

配),第2雌穗做母本单杂交或混合授粉(获得子粒进入高加倍轮回选择)。做到精细授粉,重复授粉,更换另色纸袋,追加偏光、偏水、偏肥管理措施。

1.3 DH系获得方法

自交果穗成熟后及时单穗收获,统计收获到种子的株数用来计算加倍结实率。次年将所获得的双单倍体子粒按单穗分行种植,田间精细管理,经生长季确认及时剔除杂株。对选留的株行自交授粉,按单行收获脱粒,即为DH系种子。

1.4 统计指标计算

散粉株率=散粉株数 / 单倍体总株数×100%;
优异散粉株率=优异散粉(评级为9)株数 / 单倍体总株数×100%。

授粉株率=可授粉(评级为5)株数 / 单倍体总株数×100%。

2 结果与分析

2.1 单倍体雄穗高自然加倍种质创制研究过程

2017年开始,分别按所设计DH⁰*DH⁰快捷创制模式和DH¹*DH¹创制模式程序运行(图1、图2)。结果表明,两种模式所获单倍体雄穗散粉株率、花药饱满度及花粉量等性状均获得改良与提高,均可创制出综合性状优异的高自然加倍群体及DH系。“DH⁰*DH⁰快捷创制模式”较“DH¹*DH¹创制模式”每轮缩短了1个世代,同时具备单倍体育种DH系规模化产出与高加倍种质快捷创制同步并进的突出优势。

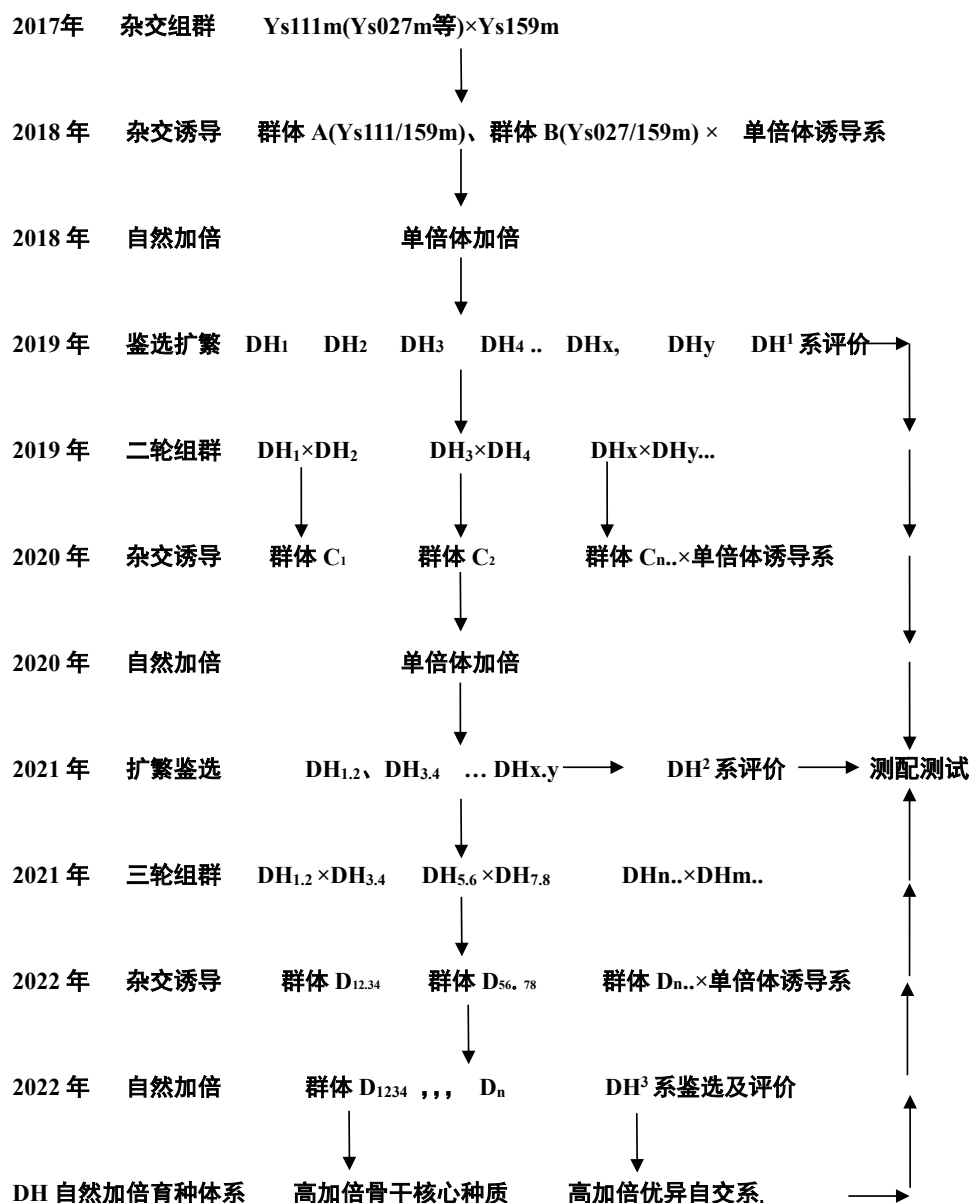


图1 玉米高自然加倍瑞德种群质的DH¹*DH¹创制模式设计

Fig.1 Diagram of high spontaneous doubled frequency maize population creation procedures

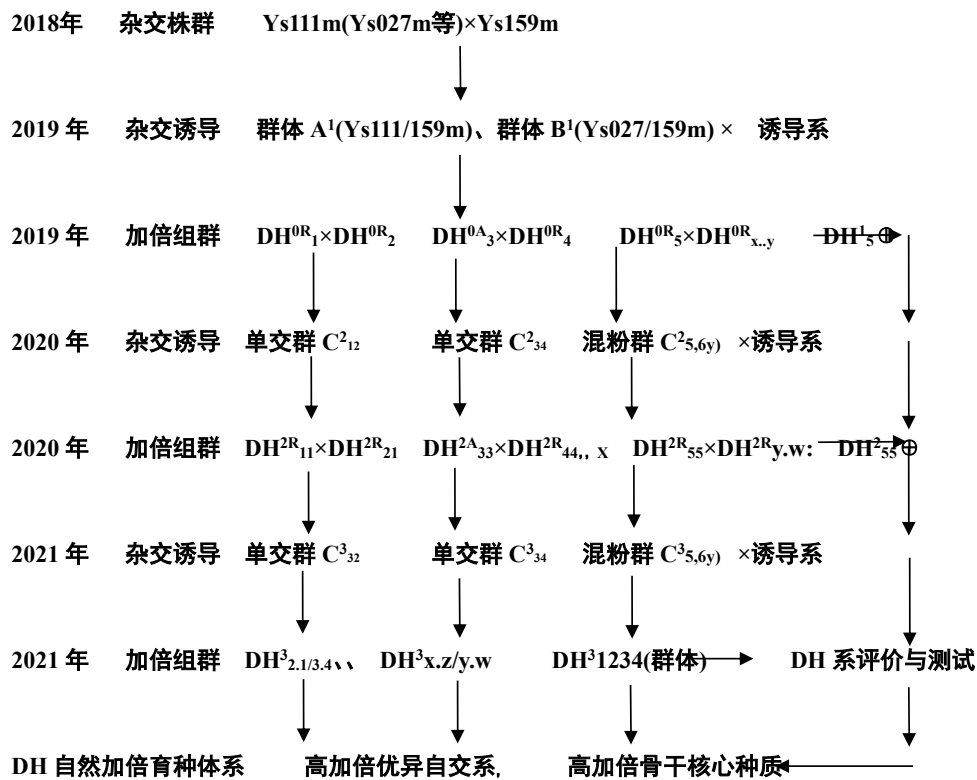


图2 玉米高自然加倍瑞德种群质的DH⁰*DH⁰快捷创制模式设计

Fig.2 Diagram of high spontaneous doubled frequency maize population creation procedures

2.2 单倍体高自然加倍瑞德群体的发现与创制

2.2.1 单倍体高自然加倍瑞德种质的初步发现

2018年冬季,在海南育种基地分别播种 Ys027*159m、Ys111*159m 两个基础群体第一轮杂

交诱导获得的单倍体子粒,田间精细管理,开花期发现两个株群自然加倍株率分别高达 29.87%、26.11%,均显著高于同期播种的其他 28 个加倍株群的加倍率(表 2)。

表 2 单倍体雄穗高自然加倍瑞德群体的发现

Table 2 The discovery of Reid population with high spontaneous doubling rate

基础群体 Basic group	总株数 (株) Total plants	散粉株数 (株) Loose powder plants	散粉株率 (%) Loose powder plant rate	优异散粉 (株) Excellent loose powder plants	良好散粉 (株) Good loose powder plants	EDH (株) (株)	无效株 (株) Invalid plants	授粉株 (株) Pollinating plants	授粉株率 (%) Pollinating plant rate	收获穗 (穗) Harvest ears
Ys027*159m	154	46	29.87	23	20	3	3	42	27.27	25
Ys111*159m	157	41	26.11	21	18	2	5	35	22.29	21
6个Reid群(CK1)	879	75	8.30							51
22个Non Reid群(CK2)	3 435	143	4.15							97

2.2.2 单倍体高自然加倍瑞德类种群种质及DH系的创制

2020年冬季,在海南育种基地,Ys027*159m、Ys111*159m、Ys111m*xg5m 这 3 个基础群体按 DH⁰*DH⁰、DH¹*DH¹ 两种创制模式及不同组群方式所获得的第二轮单倍体株群进行自然加倍,开花期

逐日调查散粉情况,标记散粉株,以 Ys_{xg5}/159mF₁、JD1262/D517F₁单倍株群做参照。

加倍株率:由表 3 所示,在 DH¹*DH¹创制模式中,Ys027*159m、Ys111*159m、Ys111m*xg5m 群内优异 DH 系相互杂交组群(DH¹*DH¹),再诱导所获单倍体株群自然加倍株率分别达 84.93%、81.72%、

61.05%,平均为75.89%。

在 DH⁰*DH⁰ 快捷创制模式中, Ys027*159m、Ys111*159m、Ys111m*xg5 群内散粉性能好的加倍株(包括二穗利用)相互杂交组群(DH^{0R}*DH^{0R})方式,

再诱导所获单倍体株群自然加倍株率分别达到77.14%、83.13%、57.83%,三者平均值为72.70%,与DH¹*DH¹创制模式相差甚微。

表 3 不同轮回选择模式的单倍体群体表现														
Table 3 The performance of haploid populations in different recurrent selection modes														
基础群体 Basic group	轮选模式 Recurrent selection mode	总株数 Total plants	加倍情况 About doubling			9级散粉株 Level 9 loose powder plant			5级散粉株 Level 5 loose powder plant			可授粉株 Pollinable plant		无效株数 Invalid plants
			未加倍株数 Undoubling plants	加倍株数 Doubling plants	加倍株率(%) Doubling plant rate	株数 Plants	株率(%) Plant rate	株数 Plants	株率(%) Plant rate	株数 Plants	株率(%) Plant rate	株数 Plants	株率(%) Plant rate	
Ys027*159m	DH ^{0R} *DH ^{0R}	84	44	40	47.62	11	13.10	29	34.52	36	42.86	4	26	
	平均	93	45	48	51.61	15	16.13	33	35.48	43	46.24	5	17	
	DH ^{0R} *DH ^{0R}	70	16	54	77.14	16	22.86	38	54.29	46	65.71	8	30	
	DH ^{0R} *DH ^{0R}	79	17	62	78.48	16	20.25	46	58.23	51	64.56	11	21	
	DH ¹ *DH ¹	73	11	62	84.93	18	24.66	44	60.27	52	71.23	10	27	
	平均				80.19		22.59		57.60		67.17			
Ys111*159m	DH ^{0R} *DH ^{0R}	79	36	43	54.43	16	20.25	27	34.18	36	45.57	7	21	
	平均	70	30	40	57.14	12	17.14	28	40.00	34	48.57	6	30	
	DH ^{0R} *DH ^{0R}	83	14	69	83.13	18	21.69	51	61.45	57	68.67	12	27	
	DH ^{0R} *DH ^{0R}	98	20	78	79.59	19	19.39	59	60.20	61	62.24	17	12	
	DH ¹ *DH ¹	93	17	76	81.72	20	21.51	56	60.22	61	65.59	15	17	
	平均				81.48		20.86		60.62		65.50			
Ys111m*xg5	DH ^{0R} *DH ^{0R}	75	47	28	37.33	4	5.33	24	32.00	17	22.67	11	28	
	平均	82	50	32	39.02	4	4.88	28	34.15	19	23.17	13	25	
	DH ^{0R} *DH ^{0R}	83	35	48	57.83	5	6.02	43	51.81	19	22.89	29	27	
	DH ^{0R} *DH ^{0R}	87	39	48	55.17	5	5.75	43	49.43	17	19.54	31	23	
	DH ¹ *DH ¹	95	37	58	61.05	7	7.37	51	53.68	22	23.16	36	15	
	平均				58.02		6.38		51.64		21.86			
YsXg5*159m	CK	639	566	73	11.42	3	0.47	70	10.95	54	8.45	19	98	
JD1262*Yx517	CK	749	681	68	9.08	9	1.20	59	7.88	44	5.87	24	119	

在 $DH^0 \times DH^0$ 快捷创制模式中, $Ys027 \times 159m$ 、 $Ys111 \times 159m$ 、 $Ys111m \times xg5$ 群内优选 DH^0 代单株相互杂交方式组群, 散粉性能好的加倍株与农艺性状优异的未加倍株杂交组群($DH^{0A} \times DH^{0B}$)方式, 再诱导所获单倍体株群自然加倍株率分别为 49.62%、55.79%、38.18%, 平均为 47.86%。第一轮 DH^0 世代单株优选, 二轮 DH^0 代株群综合性状表现得到改良, 可同步改良农艺性状与加倍能力。

在 $DH^0 \times DH^0$ 快捷创制模式中, $Ys027 \times 159m$ 、 $Ys111 \times 159m$ 、 $Ys111m \times xg5$ 群内散粉性能较好的加倍株混粉与农艺性状优异的加倍株雌穗(包括二穗利用)杂交组群($DH^{0R} \times DH^{0H}$)方式, 再诱导所获单倍体株群自然加倍株率分别为 78.48%、79.59%、55.17%, 平均为 71.08%, 与 $DH^1 \times DH^1$ 创制模式相差不大。作为试验参照的 $Ys_{xg5} \times 159mF_1$ (BSS 群)、 $JD1262 \times D517F_1$ (NSS 群)两个组合单倍体的自然加倍株率仅为 11.42%、9.08%。

散粉质量: 通过二轮选择的单倍体株群不仅散粉株率得到大幅度提高, 而且花药花粉质量(花药大小、花药多少、散粉多少)均获显著改善, 优异散粉株表现为大半个花序或单(多)支花序连续散粉 2 d 以上, 在实际授粉操作环节上表现出优异散粉株率、可授粉株率、自交结实率也均随之显著提升。

在 $DH^1 \times DH^1$ 创制模式中, $Ys027 \times 159m$ 、 $Ys111 \times 159m$ 、 $Ys111m \times xg5$ 群内优异 DH 系相互杂交组群, 再诱导获得的单倍体株群自然加倍, 优异散粉株率分别 24.66%、21.51%、7.37%, 平均为 17.85%。在 $DH^0 \times DH^0$ 快捷创制模式中, $Ys027 \times 159m$ 、 $Ys111 \times 159m$ 、 $Ys111m \times xg5$ 群内散粉性能好的加倍株相互杂交的组群($DH^{0R} \times DH^{0R}$)方式(包括第二穗杂

交), 再诱导获得的单倍体株群自然加倍, 优异散粉株率分别为 22.86%、21.69%、6.02%, 平均为 16.86%; $Ys027 \times 159m$ 、 $Ys111 \times 159m$ 、 $Ys111m \times xg5$ 群内散粉性能较好的加倍株混粉与农艺性状优异的加倍株雌穗杂交的组群($DH^{0R} \times DH^{0H}$)方式, 再诱导获得的单倍体株群自然加倍, 优异散粉株率分别为 20.25%、19.39%、5.75%, 平均为 15.13%。两种模式优异散粉株率差异不大。同时, 两种创制模式中一般散粉株比例和可授粉株比例具有同样的趋势。

2.2.3 单倍体高自然加倍种质轮回选择创制方法的效果

实验表明(图 3), 两种单倍体雄穗自然加倍能力遗传修复模式没有明显差异, 均可高效地提高单倍体自然加倍能力(散粉株率、散粉质量、开花时间等), DH 系水平基础上的 $DH^1 \times DH^1$ 模式改良单倍体加倍率高效稳定, 单倍体水平基础上的 $DH^0 \times DH^0$ 模式也可以取得相近效果, 并因节约 1 个世代/轮回, 缩短选择进程因而提高了选择效率。同时, 还具有第一雌穗自交选 DH 系和第二雌穗杂交改良加倍能力同步并进的優勢。

本实验首次采用 $DH^0 \times DH^0$ 模式, 选用瑞德骨干系组建基础群体, 仅两轮选择就创制出高自然加倍瑞德群种质——吉 Gjbs027159DH、吉 Gjbs111159DH (群体、 DH 系), 不仅单倍体加倍率分别高达 68.77% ~ 71.11%、72.06% ~ 72.40%, 且花药花粉质量非常明显优于豫 87-1 等高加倍材料^[12]。田间验证, 优异单系的全花序散粉株率超 30%, 花药饱满度似二倍体, 单药粉量近似自交系。从首轮 DH 系筛选出的吉 D2504 综合农艺性状好, 一般配合力高, 测配组合进入多点异地产比试验。

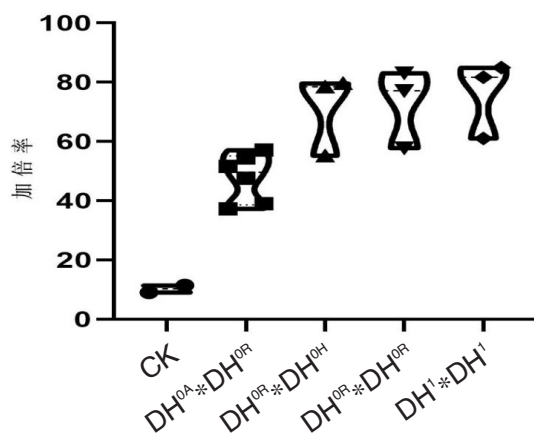


图3 不同轮回选择模式单倍体群体加倍率比较

Fig.3 The comparison of doubling rate in haploid population which derived from different recurrent selection modes

3 结论与讨论

玉米单倍株能否成为DH系的“瓶颈”决定于雄穗能不能成功加倍恢复育性^[12~14]。2016年吉林省农业科学院研究团队开发出单倍体雄穗自然加倍性轮选遗传修复方法(专利号:CN201610280480.0),并创制出单倍体株群雄穗散粉率高达91.24%、自交结实率高达66.18%的育种群体吉Gjb335DH及DH系吉Gjb335DH³,为单倍体规模化自然加倍育种开辟出一条新的途径。轮选遗传修复方法耗时较长,育种家难下决心广泛全面应用。“单倍体高自然加倍材料的快捷创制方法研究”,其技术创新,一是改良单倍体雄花高自然加倍遗传修复方法,高加倍核心种质与优异DH系同步创制^[15~18];二是利用单倍体株表现型与基因型高度一致的特性进行选择,较容易获得符合育种目标的优异个体;三是基于玉米雌穗自身二倍化修复能力强,可以对优异加倍株的第二雌穗统筹加以利用。具体方法在DH⁰代授粉前仔细观察寻找(挂牌标记)农艺性状优异单株,散粉期锁定自然加倍能力强、农艺性状优异的单株(散粉花序比例高、散粉期长、花药饱满、花粉量大等),主穗自交选育DH自交系;同时选择性状优异、散粉性均好的单株间进行杂交,或采集群内散粉性、农艺性较好单株混合花粉,给群内综合农艺性状非常优异的单倍体植株主穗(未加倍不散粉株)或次穗(加倍散粉株主穗自交,次穗混粉杂交)授粉。为尽量多获得种子,需多次重复授粉,及时割除邻株,并追施穗肥。秋季收获,自交穗获得的种子按育种程序进入鉴定及组合测配,杂交获得的种子再进入高自然加倍育种材料创新程序。

2018年本团队提出构建“基于自然加倍为主体的DH双轮回选择玉米育种技术体系”,用自然加倍DH育种技术对两个以上血缘对立的遗传类群进行循环轮回选择改良,同步提高各自的产量性状及自然加倍能力。随周期递增,产出的DH系产量相关性状有益基因频率逐步累加,雄穗自然加倍能力也同时得以快速提高,形成两个或多个单倍体高自然加倍商业化核心种质群,逐步摆脱复杂苛刻、耗资耗时的人工加倍环节。由于目前高加倍育种材料十分匮乏,双向轮回育种体系就难以瞄准一个或几个能广泛应用、持续应用的杂优模式展开。基于商业化品种先玉335的BSS*NSS混血缘遗传背景选育的吉Gjb335DH,按常规与塘群、旅群、黄旅群等自交系组配具有强杂种优势,而与BSS、NSS血缘自交系就难以组配出强优势组合。因此,在以BSS*NSS为主体

育种模式区域应用受限。“单倍体高自然加倍骨干核心种质的发掘与创制研究”,取得重大发现,基于东北主产区优异品种骨干育种材料组群,创制出自然加倍率高达80%以上、散粉性能好(散粉花序比例大、花药饱满、粉量充足)的瑞德类群高加倍优异种质,命名吉GjbS2759DH、吉GjbS1159DH,综合农艺性状突出,组配多个组合进入多点异地产量测试。

3.1 单倍体高自然加倍材料快捷创制方法解决了原自然加倍轮选遗传修复方法耗时长、速度慢的问题

利用玉米雌穗自身二倍化修复能力强的特性,在单倍体株DH⁰阶段利用表现型与其基因型高度一致的特性,优选符合育种目标的已加倍与未加倍优异单株统筹加以利用,既不误优选符合育种目标的DH系,又可快速创制出高自然加倍种质,较DH¹*DH¹模式缩短1个世代/轮(全程节约2~3代),具备单倍体育种与高加倍材料创新并进之优势。

3.2 创制出高自然加倍能力、优异散粉质量兼备的瑞德核心种质——吉Gjbs2759DH²、吉Gjbs1159DH²是单倍体育种的重大突破

该种质具备主产区优异品种瑞德类群骨干材料的遗传背景,以其作为核心种质既可直接选育出高配合力DH自交系,又可作为规模化自然加倍双轮回育种的基础群体,逐轮产出综合性状更加优异的新DH系,全面用于BSS*NSS、BSS*塘群、BSS*旅群、BSS*黄旅群等杂优模式^[19,20],应用前景极其广阔。

3.3 单倍体“高自然加倍材料快捷创制方法”的成功突破与“瑞德类群高加倍核心种质”的成功创制意义重大

为构建更加高效的“单倍体自然加倍双轮回育种技术体系”奠定了坚实基础,将全球应用最为广泛的BSS群选系人工加倍繁琐工序变得简单快捷,节约了人力物力大量消耗,避免了人身及环境污染风险,跨越式地提升了育种效率。非瑞德类群单倍体高自然加倍种质正在创制中,伴随该目标的实现,再辅之现代物联网技术、计算机技术及生物工程技术,必将迅速推动玉米育种再次跨上新台阶——玉米育种4.0^[21]。

参考文献:

- [1] Chase S S. Monoploids and monoploid derivatives of maize(*Zea mays* L.)[J]. Bot. Review, 1969, 35: 117-167.
- [2] Beckert M. Advantages and disadvantages of the use of doubled-hap-loids in recurrent selection for combining ability[J]. Crop Sci., 1994, 40: 23-29.
- [3] Kato A. Chromosome doubling of haploid maize seedling using nitrous oxide gas at flower primordial stage[J]. Plant Breed, 2002, 121:

- 370-377.
- [4] 惠国强,李建生,等.不同除草剂加倍玉米单倍体的效率[J].作物学报,2012,38(3):416-422.
Hui G Q, Li J S, et al. Doubling efficiency of maize haploids treated by different herbicides[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(3): 416-422. (in Chinese)
- [5] 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)
- [6] 文科,陈绍江,等.高效生物诱导玉米单倍体及其加倍方法研究初报[J].中国农业大学学报,2006,11(5):17-20.
Wen K, Chen S J, et al. Study on bio-haploid inducing and doubling efficiency in maize[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2006, 11(5): 17-20. (in Chinese)
- [7] 才卓,等.玉米单倍体雄穗自然加倍性轮选遗传修复与高加倍率材料的创制[J].玉米科学,2016,24(4):1-6.
Cai Z, et al. Selection experiment of high spontaneous male-fertility-restorer frequency maize population[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2016, 24(4):1-6. (in Chinese)
- [8] 才卓,徐国良,郭琦,等.基于自然加倍为主体的DH双轮回选择玉米育种技术体系的构思[J].玉米科学,2018,26(1):1-7.
Cai Z, Xu G L, Guo Q, et al. Conception of new maize breeding system based on spontaneous doubling capabilities integrated into recurrent selection scheme[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2018, 26(1): 1-7. (in Chinese)
- [9] 才卓,徐国良,张铭堂,等.玉米黄绿苗标记单倍体诱导系“吉黄诱7号”的选育[J].玉米科学,2020,28(4):1-7,14.
Cai Z, Xu G L, Zhang M T, et al. Novel maize haploid inducer line with Yellow-Green Marker - JHY 7[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2020, 28(4): 1-7, 14. (in Chinese)
- [10] 郭琦,于明彦,任军,等.利用玉米黄绿苗标记单倍体诱导系选育早期加倍双单系(EDH)的研究[J].作物杂志,2020(5):48-52.
Guo Qi, Yu M Y, Ren J, et al. The study of novel haploid inducer with yellow-green marker in early spontaneous doubled haploid line selection in maize breeding[J]. *Crop Journal*, 2020(5): 48-52. (in Chinese)
- [11] 武阳春,杜金洹,郭琦,等.玉米“单倍体+轮回选择”技术在育种中的应用探析[OL].东北农业科学:1-8[2021-06-09].
- [12] 吴鹏昊.玉米生物诱导单倍体雄穗育性恢复研究[D].博士学位论文,北京:中国农业大学,2014.
- [13] Chalyk S T. Properties of maternal haploid maize plants and potential application to maize breeding[J]. *Euphytica*, 1994, 79(1/2): 13-18.
- [14] Kleiber D, Prigge V, et al. Haploid fertility in temperate and tropical maize germplasm[J]. *Crop Science*, 2012, 52(2): 623-630.
- [15] 段民孝,赵久然,刘新香,等.不同种植地点对玉米单倍体自然加倍率的影响[J].作物杂志,2012(2):68-70.
Duan M X, Zhao J R, Liu X X, et al. Study on the effect of planting place in maize haploid doubling rate[J]. *Crops*, 2012(2): 68-70. (in Chinese)
- [16] Shatskaya O A, Zabirowa E R, Shcherbak V S. Autodiploid lines as sources of haploid spontaneous diploidization in corn[J]. *Maize Genet Coop Newslett*, 1994, 68: 51-52.
- [17] Zabirowa E R, O A Shatskaya, V S Shcherbak. Line 613/2 as a source of a high frequency of spontaneous diploidization in corn[J]. *Maize Genet. Coop. News Lett.*, 1993, 67: 67.
- [18] Geiger H H, Schonleben M. Incidence of male fertility in haploid elite dent maize geimplasm[J]. *Maize Genet Coop Newsl*, 2011, 85: 22-32.
- [19] 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)
- [20] 董占山,高玉峰,柴宇超,等.玉米育种理论技术新拓展与商业育种实践[J].玉米科学,2016,24(1):1-7.
Dong Z S, Gao Y F, Chai Y C, et al. Advances in maize breeding technologies and commercial breeding practices[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2016, 24(1): 1-7. (in Chinese)
- [21] 王向峰,才卓.中国种业科技创新的智能时代——“玉米育种4.0”[J].玉米科学,2019,27(1):1-9.
Wang X F, Cai Z. Era of maize breeding 4.0[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2019, 27(1): 1-9. (in Chinese)

(责任编辑:朴红梅)