

热带玉米诱导系的培育及诱导效果评估

陈洪梅¹, 张玉东¹, 刘晨旭², 蒋辅燕¹, 徐春霞¹,
汪燕芬¹, 罗黎明¹, 姚文华¹, 番兴明¹

(1. 云南省农业科学院粮食作物研究所, 昆明 650205; 2. 中国农业大学, 北京 100193)

摘要: 针对温带单倍体诱导系在我国西南及热带地区难以直接利用的现状, 利用3个温带玉米单倍体诱导系与1个热带抗病玉米自交系YML146杂交构建选育群体, 从中选育含有热带种质的单倍体诱导系。在对选育群体自交6代后, 初步筛选出36个诱导率较高、抗病性强、花粉量大的诱导系单株。对36个诱导系进行诱导率测定, 结果发现, 有8个诱导系的诱导率高于对照CAU5, 其中, 诱导系8号和10号的诱导率分别比对照CAU5高出35.28%和67.82%, 均达显著水平。田间诱导试验表明, 诱导系8号的诱导率表现稳定、诱导率高、花粉量大, 且抗多种玉米病害, 将其命名为“云诱8号”, 可在我国热带、亚热带玉米育种中加以应用。含热带种质的新诱导系云诱8号的选育, 可进一步助力热带、亚热带玉米种质高效创新利用, 提高育种效率。

关键词: 玉米; 单倍体诱导系; 诱导率

中图分类号: S513.032

文献标识码: A

Breeding and Evaluation of Tropical Haploid Inducing Lines in Maize

CHEN Hong-mei¹, ZHANG Yu-dong¹, LIU Chen-xu², JIANG Fu-yan¹, XU Chun-xia¹,
WANG Yan-fen¹, LUO Li-ming¹, YAO Wen-hua¹, FAN Xing-ming¹

(1. Institute of Food Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205;

2. China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Given the limited applicability of temperate haploid inducers in the tropical and southwestern regions of China, a breeding population was constructed by crossing three temperate maize haploid inducers with a tropical disease-resistant inbred line YML146, for selecting haploid inducers with tropical germplasm. After six generations of inbreeding, 36 inducing lines with high disease resistance, large tassel with abundant pollen, were tested for their inducing rate. The results indicated that eight inducing lines had higher inducing rates than that of the check inducer CAU5. Among these, inducing lines #8(35.28%) and #10(67.82%) demonstrated statistically higher inducing rates than that of the check inducer CAU5. Subsequent field testing results indicated that the new inducing lines #8 had maintained stable high inducing rates, produced a large amount of pollen, and exhibited high resistance to various diseases. Authors had thus named the inducing line #8 as Yunyou 8 as official name and suggested to apply it to maize breeding programs in tropical and sub tropical regions in China. The successful development of Yunyou 8, which possess tropical germplasm and adapt well to tropical conditions, establishes a solid foundation for expediting the maize breeding process in Southwest China and other tropical and sub-tropical regions.

Key words: Maize; Haploid inducing line; Inducing rate

录用日期: 2024-03-03

基金项目: 云南省“兴滇英才支持计划”项目、云南省粮食安全种业支撑专项(530000210000000013809)

作者简介: 陈洪梅(1972-), 重庆渝北人, 研究员, 主要从事玉米遗传育种研究。E-mail: chenhm9072@sina.com

张玉东为并列第一作者。

E-mail: mikezhangy2023@163.com

番兴明为本文通信作者。E-mail: xingmingfan@163.com

玉米杂种优势利用最基础的工作是培育优良自交系。单倍体育种已成为快速选育玉米自交系的主流方法^[1-2], 而优良单倍体诱导系是单倍体育种技术在玉米育种中成功应用的基础。我国单倍体育种研究起步较晚, 但近年来发展较快, 已选育出一系列高诱导率的单倍体诱导系应用于育种, 如CAU5、CAU6、CHOI3、吉高诱3号、吉黄诱7号、京科诱043等^[3-8]。随着单倍体诱导基因的遗传研究, 分子标记

辅助选择在单倍体诱导系的选育中开始发挥作用^[9-12]。目前,育种上应用的单倍体诱导系主要是温带单倍体诱导系,在温带环境中表现较好。

我国西南及热带地区由于玉米生长季节高温多湿、阴雨寡照的气候特点,病虫害极易流行成灾^[13-14]。温带单倍体诱导系在我国西南及热带地区大多表现生长势弱、抗病性差、花粉量少、花期不协调、结实率低、生育期过早、散粉期短等缺点,难以直接育种应用。近年来,国内外研究者开始选育适宜热带环境种植的热带单倍体诱导系。Prigge等选育出适应热带环境的第一代热带诱导系TAIL,其诱导率为3%^[15]。Chaikam等在诱导系TAIL的基础上,利用qhir1位点的分子标记辅助选择,选育出较高诱导率第二代适应热带环境的诱导系^[16]。广西农业科学院利用热带玉米种质和农大高诱1号选育出适应广西生态区的桂诱系列诱导系Y8^[17-18]。虽然有少数适应热带环境的单倍体诱导系,但难以满足我国西南

及热带特殊生态环境的玉米单倍体育种需求。

本研究利用温带单倍体诱导系与优良热带玉米自交系杂交,再利用系谱法连续自交,同时进行单株诱导性状分子标记、诱导率测定和田间植株农艺性状及抗性鉴定,培育适宜我国西南和热带生态环境种植的玉米单倍体诱导系应用于育种实践,为加快热带、亚热带玉米种质高效创新利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究利用中国农业大学陈绍江教授团队育成的3个温带玉米单倍体诱导系CHOI3、CAU5、CAU6,分别与来自Suwan1种质群体的热带抗病玉米自交系YML146杂交构建选育群体,从中选育含有热带种质的单倍体诱导系。2019年冬季在云南景洪,以中玉335为测验种,初步筛选出诱导率超过8%的诱导系单株36个(图1)。

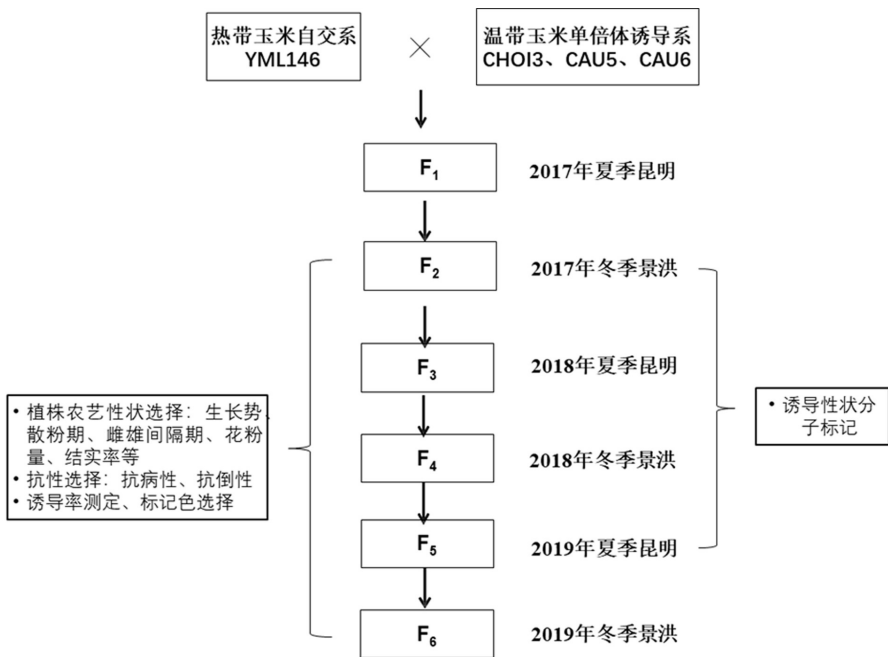


图1 选育过程

Fig.1 Breeding process

1.2 田间试验设计及诱导率评估方法

为进一步评估中选诱导系单株的诱导率,2020年夏季在云南昆明,将36个诱导系单株种植成穗行,同时种植温带诱导系CAU5(对照),以4个代表性杂交玉米品种中玉335、云瑞668、保玉17、文研1905为母本测验种进行杂交诱导。为保证诱导系开花散粉期与测验种的吐丝期相遇,试验将36个诱导系分两期播种,第1期诱导系与母本测验种同期播种,第2期诱导系晚5 d播种。因CAU5生育期短,CAU5全

部晚10 d播种。在花期分别取诱导系花粉与4个测验种各杂交5株,待果穗成熟后及时收获。收获后根据子粒上的颜色标记逐粒鉴定,胚乳和胚均为紫色为杂交子粒,胚乳紫色、胚败育的子粒计入杂交子粒;胚乳紫色、胚无色为拟单倍体子粒,胚乳和胚均无色的子粒不统计。

2020年冬季,再将鉴定出的拟单倍体子粒种植于云南景洪试验基地,依据田间生长势及植株性状进一步淘汰杂合二倍体植株,统计单倍体植株数和

杂合植株数。最后估算每个诱导系的单倍体诱导率,并计算诱导率的对照优势。

单倍体诱导率=单倍体植株数/(拟单倍体子粒数+杂交子粒数)×100%;

对照优势=(新诱导系诱导率-对照诱导率)/对照诱导率×100%。

1.3 数据统计与分析

用SAS和Excel软件对数据进行分析并作图。下列混合模型用于方差分析。

$$Y_{ij} = \mu + I_i + H_j + e_{ij}$$

式中, Y_{ij} 是试验观测值; μ 是群体平均值; I_i 是诱导系效应; H_j 是杂交种效应; e_{ij} 是随机误差。在这一混合模型中,诱导系被定为固定效应,杂交种被定为随机效应。

2 结果与分析

2.1 热带单倍体诱导系选育

2016年冬季在海南,以3个温带玉米诱导系

CHOI3、CAU5、CAU6为父本,热带玉米自交系YML146为母本杂交获得 F_1 种子。2017–2019年每年两季在云南昆明和景洪连续自交选育,其中, $F_2 \sim F_5$ 代每个材料种植200株以上,均在苗期单株提取叶片DNA进行诱导基因 $ZmPLA1$ 和 $ZmDMP$ 的基因型鉴定,同时以中玉335为测验种对单株进行诱导率测定,选择具有诱导基因、单穗诱导率8%以上、子粒颜色标记明显且植株生长势强、抗病性好、花粉量大、结实率高的单株继续自交选择。经6代自交选育,获得了36个子粒颜色标记明显、植株抗病性强、花粉量大且具有较强诱导力的诱导系单株。

2.2 诱导率的方差分析

36个新选诱导系和对照CAU5与4个测验种杂交的诱导率按混合模型进行方差分析(表1)。结果表明,诱导系和测验种之间的差异达显著水平,说明不同诱导系之间的诱导率有显著差异,而且不同测验种对诱导率也有显著影响。

表1 诱导系与测验种之间的诱导率方差分析

Table 1 ANOVA of inducing rates between inducing lines and testers

方差来源 Source of variance	自由度 DF	平方和 SS	均方 MS
模 型	39	1 457.81	37.38**
诱导系	36	1 210.91	33.64**
测验种	3	143.80	47.93**
误 差	84	6.93	

注:**表示其均方差达极显著水平($P<0.01$)。

Note: **, significant at 0.01 probability levels.

2.3 新选诱导系与对照诱导率的比较

本研究计算36个新选诱导系与对照CAU5诱导率之间的相对优势,其结果见图2。从图2可以看

出,有8个新选诱导系的诱导率比对照高,其中诱导系10号诱导率最高(67.82%),其次是诱导系8号(35.28%)。显著性分析表明,诱导系8号($P<0.05$)和

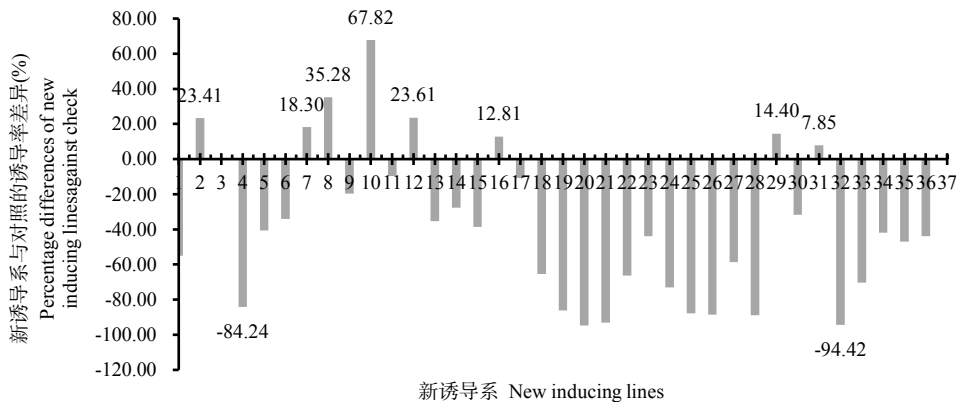


图2 新诱导系诱导率与对照诱导率的差异

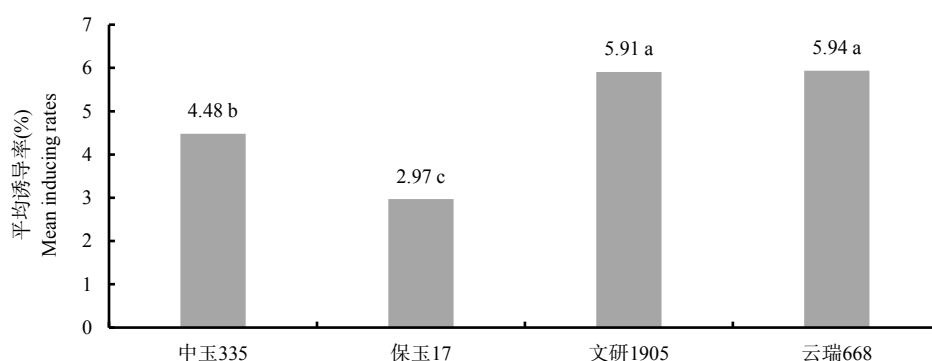
Fig.2 Percentage differences of induction rates between new inducing lines and check

10号($P<0.01$)的相对优势均达显著水平。诱导系8号和10号的诱导率显著高于温带诱导系对照,他们极可能是潜在的优良热带玉米单倍体诱导系。

2.4 测验种对诱导率高度的影响

本研究选用生产上大面积种植的4个代表性杂交玉米品种中玉335、云瑞668、保玉17和文研1905

作为测验种,对新选诱导系及对照诱导系进行诱导率测定。分别统计4个测验种与不同诱导系的平均诱导率,从图3可以看出,不同测验种之间存在显著差异,说明不同遗传背景对诱导系的诱导率影响较大。



注:不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。

Note: Different lowercase letters indicate statistically significant at $\alpha=0.05$ level.

图3 测验种之间的诱导率差异

Fig.3 Mean inducing rates for individual testers

进一步将诱导系与测验种杂交的所有组合的诱导率做成散布图,再把各杂交组合的诱导率按测验种连接起来。从图4可以看出,有近一半新诱导系与不同测验种杂交的诱导率比对照诱导率(7.38%)高,新选诱导系7、8、10号与4个测验种杂交的诱导率均比对照的诱导率高,诱导率相对稳定。有些诱导系与某个特定测验种杂交时获得了比对照高得多

的诱导率,但他们不是与所有测验种杂交的诱导率都比对照高,如2、17和29号。结果说明在评估诱导系的诱导率时,仅用1个测验种获得的诱导率数据是不可靠的,需要用两个以上的测验种才能获得可靠的诱导率数据。同时,在单倍体育种实践中也需要考虑和应用不同的诱导系进行诱导,以获得理想的诱导育种效果,达到既定的育种目标。

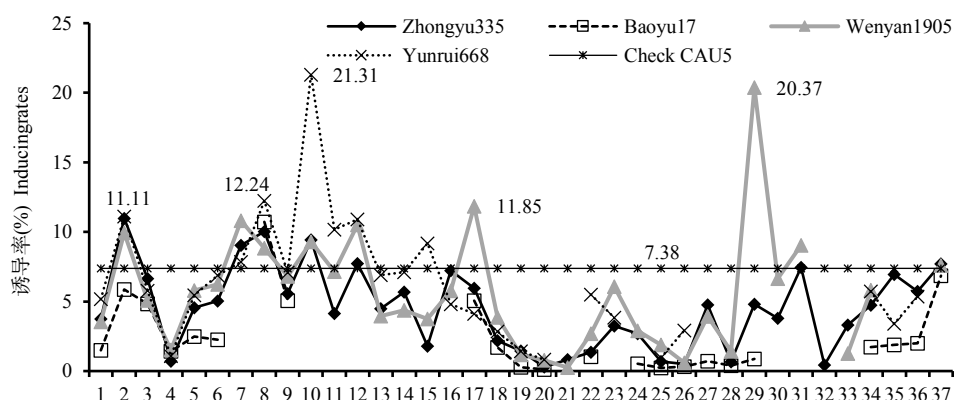


图4 新诱导系与不同测验种杂交时的诱导率差异

Fig.4 Differences of inducing rates among crosses between new inducers and different testers

2.5 新选诱导系的进一步田间验证

为进一步评价新选诱导系7、8和10号的诱导率,2021年夏季在云南昆明,以本研究团队组建的3个遗传基础广泛的群体材料(Reid群、Suwan群和非Reid群)为测验种进行杂交诱导,同样以CAU5为对

照,每个群体材料诱导20株。测定结果显示,诱导系7、8和10号的平均诱导率分别为5.25%、6.90%和4.36%,对照CAU5的平均诱导率为5.05%,诱导系7、8号平均诱导率优于对照。综合分析两年的诱导率,虽然同一诱导系在不同年份和不同的诱导背景

下诱导率存在一定差异,但诱导系8号诱导率更为稳定,是适应我国西南及热带地区的优良单倍体诱导系。

3 结论与讨论

3.1 热带玉米单倍体诱导系的选育

我国玉米单倍体育种中应用的诱导系大多来源于温带玉米种质材料,在我国西南和热带地区种植多存在抗病性差等问题而难以直接利用。另外现有温带玉米诱导系生育期短,与大多数热带玉米种质材料生育期相差20~30 d,错期播种时间较长,花期调节难度较大。优良热带单倍体诱导系的缺乏,限制了单倍体育种技术在我国西南及热带环境中的广泛应用^[9]。虽然高诱导率是选育诱导系最主要的目标,但诱导系的农艺性状如散粉期、花粉量、结实率、抗病性、抗倒性、标记色是否清晰等在很大程度上也会影响诱导系在育种中的应用。植株生长势强、雄穗散粉量大、花期持续时间长、结实率高、标记色明显的优良诱导系可以有效减少诱导系种植规模,减少人工授粉和子粒鉴别工作量,降低育种成本。本研究选育出含热带种质的优良单倍体诱导系8号诱导率稳定且较高,还具有许多热带玉米种质的优良性状,植株健壮,根系发达,株高175 cm,穗位高90 cm,出苗至散粉70 d左右,雄穗发达,花粉量大,散粉期长,抗大斑病、小斑病、穗腐病等玉米主要病害,且子粒标记色清晰,结实性好,抗倒性强。将其命名为“云诱8号”,该诱导系在我国西南和热带地区单倍体育种中应用潜力较大,可进一步应用于育种实践,助力热带玉米种质高效创新利用,提高育种效率。

3.2 环境对诱导率的影响

不同地点、不同季节由于气候、环境的差异对单倍体诱导系的诱导率有显著影响。Kebede等^[20]研究表明,诱导系的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^[21]研究表明,海南冬季的诱导率明显高于北京春季的诱导率。本研究在诱导系选育世代中也发现,景洪冬季诱导率高于昆明夏季,而且不同年份间诱导率也存在较大差异。2019年冬季在景洪,所有诱导系平均诱导率为7.93%;2020年夏季在昆明,平均诱导率为4.97%(对照CAU5为7.39%);2021年夏季在昆明,平均诱导率为4.80%(对照CAU5为5.05%),说明环境对诱导系的诱导率影响较大。因此,在诱导系选育过程中,很有必要设置诱导系对照,以提高优良诱导系选择的准确性。

3.3 测验种的选择和应用

诱导系的诱导率不但受环境影响而且还受测验种遗传背景的影响。前人研究表明,诱导系的诱导率受母本测验种的遗传背景影响较大^[22-26]。本研究选用的36个诱导系单株在2019年仅用1个测验种时,单株诱导率均在8%以上;在2020年用4个测验种时,诱导率在0.39%~13.34%,平均诱导率超过8%的只有8个。诱导系8号和10号平均诱导率显著高于对照,其中8号与4个测验种杂交的诱导率都高于对照,表现比较稳定;10号与4个测验种杂交的诱导率变化很大,表现不稳定。诱导系7号,在2020年的试验中虽然平均诱导率没有显著高于对照,但与4个测验种杂交的诱导率都高于对照,表现也比较稳定。在2021年的进一步田间验证试验中,2020年表现稳定的诱导系7号和8号与3个测验种的诱导率仍比对照高,再次表现出较好的稳定性。说明在诱导系选育过程中,选用多个测验种来评估诱导系的诱导率十分必要,并且选择诱导率既高又稳定的诱导系单株,才有可能获得诱导率高且稳定性好的优良诱导系。

参考文献:

- [1] 陈绍江,黎亮,李浩川,等.玉米单倍体育种技术(第2版)[M].北京:中国农业大学出版社,2012.
- [2] PRASANNA B M, CHAIKAM V, MAHUKU G. Doubled haploid technology in maize breeding: theory and practice[M]. Cimmyt, 2012.
- [3] 黎亮.玉米单倍体育种技术研究及单倍体诱导性状的遗传机理探讨[D].北京:中国农业大学,2010.
- [4] 董昕,田小龙,李伟,等.玉米高油型诱导系CHO11和CHO13的单倍体鉴定效率评价[J].中国农业大学学报,2019,24(6):1-9.
DONG X, TIAN X L, LI W, et al. Evaluation the efficiency of maize haploid identification with high-oil inducers CHO11 and CHO13[J]. Journal of China Agricultural University, 2019, 24(6): 1-9. (in Chinese)
- [5] 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.
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)
- [6] 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)
- [7] 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.
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)

- [8] 段民孝,刘新香,邢锦丰,等. 玉米高频单倍体诱导系选育研究[J]. 玉米科学,2020,28(4):8-14.
DUAN M X, LIU X X, XING J F, et al. Study on breeding the high frequency haploid inducer in maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2020, 28(4): 8-14. (in Chinese)
- [9] 董 昕. 玉米单倍体诱导基因 *qhir1* 精细定位与新型诱导系选育研究[D]. 北京:中国农业大学,2014.
- [10] 刘 金. 玉米单倍体自动化鉴别与新型诱导系选育研究[D]. 北京:中国农业大学,2015.
- [11] 刘晨旭. 玉米单倍体诱导关键基因定位与克隆及新型高油诱导系选育研究[D]. 北京:中国农业大学,2017.
- [12] CHEN C, XIAO Z, ZHANG J W, et al. Development of in vivo haploid inducer lines for screening haploid immature embryos in maize[J]. Plants, 2020, 9(6): 739.
- [13] 王晓鸣,晋齐鸣,石 洁,等. 玉米病害发生现状与推广品种抗性对未来病害发展的影响[J]. 植物病理学报,2006,36(1): 1-11.
WANG X M, JIN Q M, SHI J, et al. The status of maize diseases and the possible effect of variety resistance on disease occurrence in the future[J]. Acta Phytotopologica Sinica, 2006, 36(1): 1-11. (in Chinese)
- [14] 王振营,王晓鸣. 我国玉米病虫害发生现状、趋势与防控对策[J]. 植物保护,2019(45):1-11.
WANG Z Y, WANG X M. Current status and management strategies for corn pests and disease in China[J]. Plant Protection, 2019 (45): 1-11. (in Chinese)
- [15] 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.
- [16] CHAIKAM V, NAIR S K, MARTINEZ L, et al. Marker-assisted breeding of improved maternal haploid inducers in maize for the tropical/subtropical regions[J]. Front Plant Science, 2018, 9: 1527.
- [17] 江禹奉,覃兰秋,程伟东,等. 桂诱系列热带玉米单倍体诱导系选育[J]. 广东农业科学, 2015,42(10):11-15.
JIANG Y F, QIN L Q, CHENG W D, et al. Breeding of Gui inducer series for in vivo haploid production in tropical maize[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2015, 42(10): 11-15. (in Chinese)
- [18] 杨耀迥,张述宽,滕辉升,等. 玉米单倍体诱导系 Y8 的选育[J]. 大众科技, 2012,14(9):106-107.
YANG Y J, ZHANG S K, TENG H S, et al. Breeding of corn haploid induction system Y8[J]. Popular Science & Technology, 2012, 14(9): 106-107. (in Chinese)
- [19] 余奎军,刘艳妮,程晋龙,等. 玉米单倍体育种技术研究进展及展望[J]. 宁夏农林科技,2021,62(10):25-30.
SHE K J, LIU Y N, CHENG J L, et al. Research progress in double haploid breeding technology of maize[J]. Ningxia Journal of Agri. and Fores. Sci.&Tech., 2021, 62(10): 25-30. (in Chinese)
- [20] 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.
- [21] 黎 亮,李浩川,徐小炜,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.
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)
- [22] 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)
- [23] 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)
- [24] 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)
- [25] 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)
- [26] 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)

(责任编辑:朴红梅)