

玉米“单倍体+轮回选择”技术在育种中的应用探析

武阳春¹, 杜金洹¹, 郭琦^{1,2}, 刘小丹¹, 代玉仙¹, 于明彦¹, 李淑华¹,
任军^{1*}, 徐国良^{1*}, 才卓¹

(1. 吉林省农业科学院, 长春 130033; 2. 先正达生物科技(中国)有限公司, 北京 102200)

摘要: 轮回选择是一种有效改良玉米群体的方法, 将单倍体育种技术与轮回选择相结合, 可以高效地改良玉米群体并产出可以商业化的玉米自交系。本文通过回顾性研究及相关的试验验证, 提出了“单倍体+轮回选择”的双轮回选择玉米育种新体系。

关键词: 玉米; 单倍体; 育种技术; 轮回选择; 技术体系

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)01-0017-05

Study on the Application of "Haploid Technology + Recurrent Selection" in Maize Breeding

WU Yangchun¹, DU Jinhuan¹, GUO Qi^{1,2}, LIU Xiaodan¹, DAI Yuxian¹, YU Mingyan¹, LI Shuhua¹, REN Jun^{1*}, XU Guoliang^{1*}, CAI Zhuo¹

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 2. Syngenta Biotechnology (China) Co., Ltd., Beijing 102200, China)

Abstract: Recurrent selection is an effective method for population improvement in maize breeding. Combine the haploid technology with the recurrent selection method can increase the efficiency of maize population and produce commercial maize inbred lines. In this paper, a new double recurrent selection maize breeding system of "haploid technology + recurrent selection" was put forward through retrospective study and related experiments.

Key words: Maize; Haploid; Breeding technology; Recurrent selection; Technical system

当前, 单倍体育种技术已成为玉米育种的核心技术, 利用单倍体育种可以极大地缩短玉米自交系的选育年限, 加快杂交种市场化的速度^[1]。目前单倍体技术主要应用在自交系选育和商业化育种中, 而在种质资源扩增和群体改良方面鲜有应用。轮回选择是种质扩增和群体改良最为有效的方法。为此, 才卓研究员在“2019年全国玉米育种新技术应用与群体改良学术会议(贵州)中”对相关内容进行报告。本文根据才卓研究员会议报告内容进行整理, 主要探讨单倍体育种技术(包括单倍体和DH系)在轮回选择中的应用。

1 轮回选择技术简介

“轮回选择”一词首次由 Jenkins 于 1940 年提出, 而 Hayes 和 Garber 被认为是轮回选择的第一个使用者。轮回选择技术的核心是选择和重组, 每轮选择都是根据育种目标选择合适的个体进入到下一轮重组^[2]。轮回选择的基本流程见图 1。



图 1 轮回选择流

在历经 80 年 40 轮的轮回选择过程中, 分离选育出 B73、B37 等商用自交系, 这些自交系构成了 SS 杂种优势群, 已成为美国乃至全世界玉米育种的支柱^[3-6]。轮回选择的遗传增益为 3%~7%, 不同选择条件下和不同群体对平均遗传增益的影响不大, 其差别在于选择方法。育种实践中要根据育种计

收稿日期: 2020-06-08

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2018ZY018)

作者简介: 武阳春(1995-), 女, 研究实习生, 硕士, 主要从事玉米单倍体育种研究。

通讯作者: 任军, 男, 硕士, 副研究员, E-mail: 583215489@qq.com

徐国良, 男, 研究员, E-mail: ymxugl@163.com

划选择不同方法,试验表明S1家系选择法和自交系相互轮回选择法遗传增益较高,与商业化育种结合较好^[7]。

2 单倍体技术在轮回选择中的应用模式

2.1 DH系轮回选择法

早在1975年,Griffing就给出了DH系选择的数量遗传模型,证明了DH系轮回选择的遗传增益和效率都要高于常规的选择方法。由于在双单倍体的状态下,显性和隐性基因都完全表达。去除了显性及上位遗传效应,所有性状表现均能与其基因型准确吻合,选择变得显而易见。其遗传方差成分为:

$$\text{普通二倍体: } \sigma_p^2(D) = \sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_E^2$$

$$\text{双单倍体: } \sigma_p^2(H) = 2\sigma_A^2 + \sigma_E^2$$

基于此,Griffing进一步推算出不同方法和不同遗传模型下的遗传增益(表1、表2),得出结论如下^[8]:(1)在二倍体水平上,群体数量不受限时,穗行选择和测交配合力选择法相对于个体选择有优势,但在群体数量受到限制时,这种优势几乎消失。而在DH系轮回选择上,在群体数量受到限制时,通过每轮测量,这种优势并没有消失。所以在DH系轮回选择中,对于遗传力高,表型明显的性状可直接进行单株选择。(2)基于纯系理论,杂种优势将会在DH系杂交种中体现,所以将杂交种作为最终产品将会比纯合综合种(自交系)更具商业价值。与传统轮回选择结合系谱法的育种模式相比,DH系轮回选择每轮选择获得的都是纯合自交系,可直接用于杂交育种;传统轮回选择不能够获得纯合的单株或穗行,仍需进一步自交纯合。显然DH系轮回选择要更为高效。

表1 常规二倍体选择群体遗传增益

选择方法	模型 I ($\sigma_p^2 = \sigma_A^2$)	模型 II ($\sigma_D^2 = \sigma_A^2, \sigma_E^2 = 0$)	模型 III ($\sigma_E^2 = \sigma_A^2, \sigma_D^2 = 0$)	模型 IV ($\sigma_D^2 = 17\sigma_A^2, \sigma_E^2 = 0$)	模型 V ($\sigma_E^2 = 17\sigma_A^2, \sigma_D^2 = 0$)
单株选择	2.66(σ_A)	1.88(σ_A)	1.88(σ_A)	0.63(σ_A)	0.63(σ_A)
穗行选择					
n为限定值	2.66(σ_A) (n=1)	1.88(σ_A) (n=1)	1.98(σ_A) (n=2)	0.63(σ_A) (n=1)	1.07(σ_A) (n=12)
n为大数值	2.66(σ_A)	1.88(σ_A)	2.66(σ_A)	0.63(σ_A)	2.66(σ_A)
一般配合力					
n为限定值	1.63(σ_A) (n=5)	1.36(σ_A) (n=8)	1.36(σ_A) (n=8)	0.66(σ_A) (n=19)	0.66(σ_A) (n=19)
n为大数值	2.66(σ_A)	2.66(σ_A)	2.66(σ_A)	2.66(σ_A)	2.66(σ_A)

表2 双单倍体选择群体的遗传增益

选择方法	模型 I ($\sigma_p^2 = \sigma_A^2$)	模型 II ($\sigma_D^2 = \sigma_A^2, \sigma_E^2 = 0$)	模型 III ($\sigma_E^2 = \sigma_A^2, \sigma_D^2 = 0$)	模型 IV ($\sigma_D^2 = 17\sigma_A^2, \sigma_E^2 = 0$)	模型 V ($\sigma_E^2 = 17\sigma_A^2, \sigma_D^2 = 0$)
单株选择	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)	3.08(σ_A)	3.77(σ_A)	1.22(σ_A)
穗行选择					
n为限定值	3.77(σ_A) (n=1)	3.77(σ_A) (n=1)	3.08(σ_A) (n=1)	3.77(σ_A) (n=1)	1.83(σ_A) (n=8)
n为大数值	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)
一般配合力					
n为限定值	2.80(σ_A)(n=2)	2.31(σ_A) (n=5)	2.31(σ_A) (n=5)	1.20(σ_A) (n=16)	1.20(σ_A) (n=16)
n为大数值	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)	3.77(σ_A)

完成轮回选择的时间是限制DH系轮回选择的关键因素。常规方法完成一轮选择的时间是两年,而利用DH系完成一轮选择的时间是3年。

2005年,J. Bordes利用试验证明了DH系轮回选择的优势。DH轮回选择可以增加单位时间内的遗传增益。DH系在一轮选择后的遗传增益是

8.2%,而S1家系经过两轮选择后遗传增益是10.6%,周期是4年。而DH系轮回选择周期为3年,由此,每年增益相近^[9]。而实际的遗传增益和遗传力比较,利用DH系轮回选择仍具有优势。基于DH系轮回选择的自交系可直接应用于育种实践,DH系轮回选择的效率要高于常规育种方法。

2.2 单倍体水平的轮回选择

与DH系轮回选择不同,单倍体水平的轮回选择最大的优势在于缩短了优良性状的固定时间(图2),只需两季(一年)就可以完成一轮选择。

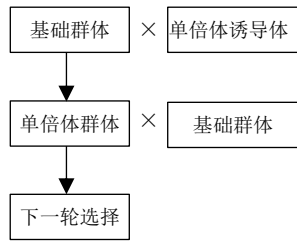


图2 单倍体轮回选择流程图

大部分单倍体植株的雌穗都是可育的,利用二倍体植株为其授粉都会结实,这就为单倍体水平的轮回选择提供了现实条件。利用单倍体提高综合群体有利基因频率的优势在于:(1)单倍体水平的选择相当于在配子体水平选择,基因效应(不论是显性还是隐性)完全显现,不存在等位基因

的互作,容易选择出有利基因、排除不良基因。(2)母本单倍体是由未受精的配子体发育而来,相对于二倍体来说,更容易出现有利的基因组合。(3)单倍体水平的自然选择可以轻易淘汰掉不良基因组合,因为不良基因控制性状,会导致植株活力下降、生长势弱、抗性不佳、高度不育等,可以自然淘汰^[10]。

单倍体水平的轮回选择即对基础群体进行诱导,然后在单倍体水平上进行选择,对于入选单株使用基础群体回交,再诱导,再选择,循环往复。改良群体可作为商业育种的基础材料开发优良自交系;同时,在单倍体水平上自然加倍获得的DH系可直接用于杂交种的组配^[11]。

3 DH系轮回选择改良群体自然加倍率的研究

摩尔多瓦科学院遗传研究所的Rotarenco博士从2001年开始进行单倍体水平的轮回选择实验研究。他的实验证明:改良后的群体SPC4、SPC5、SPC6的产量表现上已接近商业杂交种,每轮选择的产量增益为13.7%,而且脂肪和蛋白质含量上已接近或超过商业杂交种(图3、图4)。从改良群体分离出优良自交系的可能性也随之提高^[10]。

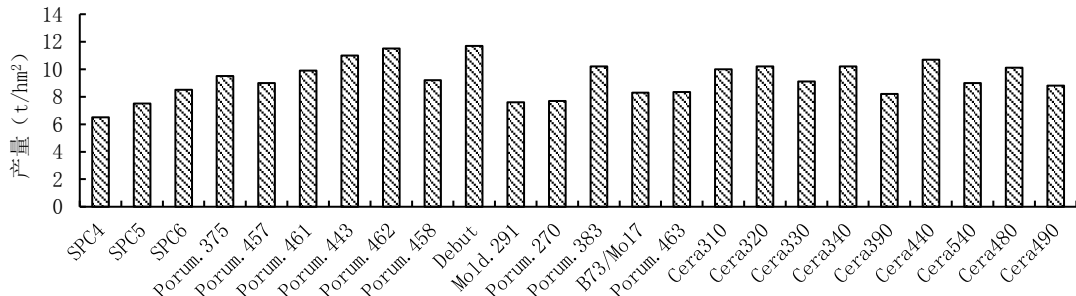


图3 改良群体的产量表现

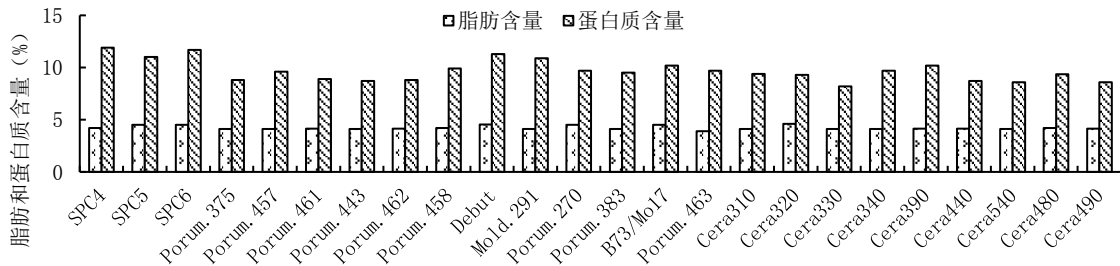


图4 改良群体脂肪和蛋白质含量的表现

2006年本团队以商业杂交种先玉335为基础群体,利用自选单倍体诱导系吉高诱3号,诱导产生单倍体,在10万株/hm²的密度下进行自然加倍研究,2007年对所获DH系进行鉴定,并再组群,

再诱导,循环往复。2007年对诱导先玉335单倍体群体进行自然加倍,自交结实率为6.71%;2011年诱导先玉335DH系重组二轮群体10个,平均单倍体自交结实率提升到17.63%(最高组合达

31.26%);2015年诱导先玉335 DH₂系重组三轮群体6个,单倍体植株平均散粉率提升到85.15%,平均结实率提升到66.18%^[12],选育过程见图5。利用同样的方法,2015年开始,对DKM753群体进行了两轮的轮回选择。结果表明,经过两轮选择后该群体的散粉率达到90%以上(表3)。

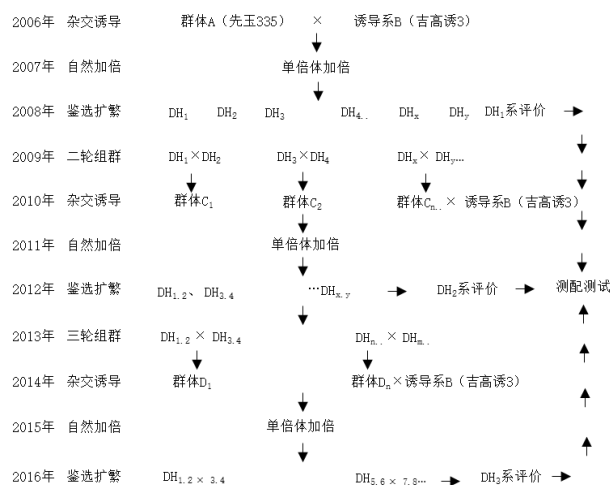


图5 DH系轮回选择过程

表3 改良DKM753群体自然加倍表现

群体	总数	杂株	散粉	收获	散粉率 (%)	加倍率 (%)
DKM753DH ₂	1920	16	1738	732	91.2	40.2

通过轮回选择,不但使群体的自然加倍率得以提高,而且辅以农艺性状选择和测交配合力选择,可在群体改良的同时兼顾商业育种。经过两轮选择,优良基因得以聚合,淘汰了劣性基因,每轮选择都会产生优良的商业自交系。在轮回选择的过程中,辅以配合力选择,这样在选系的同时也完成了商业杂交种的组配。与常规的选系方法相比(常规选系方法至少要自交3代才可以进行早期测配),此方法至少要节省1年的时间。利用此方法选育出的自交系组配出商业杂交种吉单466(吉审玉20190061),产量表现要优于对照品种先玉335(图6)。

通过实验可以得出以下结论:

(1)单倍体水平的轮回选择侧重于群体的改良,单倍体水平上可以最大程度上淘汰不良性状,从而显著提高遗传增益,达到改良群体的目的。(2)DH系水平的轮回选择更加侧重于自交系的选拔,与现有的商业化育种流程结合得更为紧密。DH系轮回选择,每轮选择都会产生新的优良自交系,而且随着选择的持续进行,优良自交系产出的概率随之增加,商业化杂交种也会随之

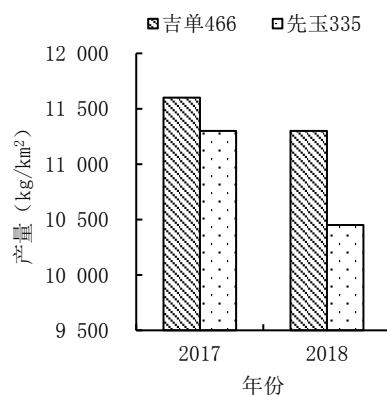


图6 吉单466产量表现

产生。可见,这种轮回选择的方法要比常规的育种方法拥有着更高的效率。

2019年,德国霍芬海姆大学 Molenaar 利用自然加倍DH系双列杂交试验证明,轮回选择可以明显提高单倍体的散粉率和结实率^[13]。国内外的研究同时证明,自然加倍技术将会在不久的将来取代低效高毒的药剂化学加倍技术。

4 构建基于DH系的双轮回选择育种技术体系

当前,我国玉米育种市场竞争激烈,“作坊式”的模仿育种仍是主流,决定育种项目成败的高效自交系与杂交种研发产出体系没有建立起来是限制我国玉米育种发展的主因。单倍体作为快速选育玉米自交系的技术手段,如何与先进的现代分子辅助、数据采集与分析处理等现代育种新技术融合成新的育种技术体系成为当前的主要课题之一。根据图7所示,单倍体双轮回选择育种技术体系,即利用DH技术同时对母本群(SS)、父本群(NSS)轮回选择。再利用群体内不同基础的互补材料重新组建群体(DH×DH)诱导重组群体。这样循环往复,n轮选择以后可以形成2套血缘对应的核心种质群(DH_n系),持续按类群导入优异新材料,持续产出新DH(DH_{n+1})系。实践过程中,选择可以是基于单倍体当代性状的表现水平、基于双单系性状的表现水平及基于双单系产量配合力水平的三个层次进行轮回选择。今后可以通过回交转育的方法,将高自然加倍的特异性状导入到两套血缘对立、性状互补的骨干商用自交系或核心种质群;再将改良后的育种群体融合到图7所示的育种体系中,即可快速高效批量化生产DH系,同时结合分子标记、全基因组选择等先进的育种手段,事半功倍地产出符合育种目标的DH系。利用双轮回选择方法,可以不断地将两个群

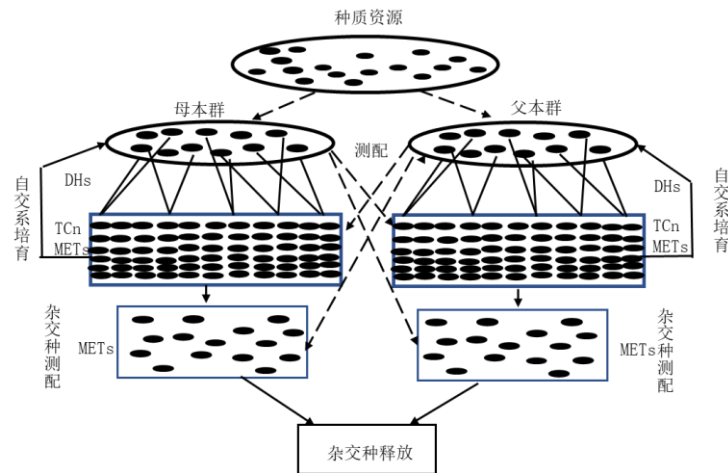


图7 基于主体杂优模式的自然加倍DH系的双轮回改良技术流程图

体的遗传距离拉远,从而使两个群体间的杂交种表现出更强的杂种优势^[14]。同时根据杂种优势超显性假说,由于DH系是完全纯合的自交系,不同群体间DH系的杂交会在绝大多数的基因位点上表现为杂合子,从而表现出更强的杂种优势,杂交种在产量以及抗逆性的表现上会更加突出。所以,图7所示体系^[15]可以实现玉米育种方法整体升级,大幅度提升育种的效率和技术水平,推动我国玉米育种再次跨入新时代。

参考文献:

- [1] 王化冰,刘励蔚,朴莲玉,等.国内玉米单倍体诱导及籽粒鉴别技术的研究进展[J].东北农业科学,2020,45(6):28-31.
- [2] Hallauer A R. Recurrent Selection in Maize[J]. Plant Breeding Reviews, 2010, 19(9): 115-179.
- [3] Hallauer A R. Registration of BS28 and BS29 Maize Germplasm [J]. Crop Science, 1994, 34(2): 544-545.
- [4] Hallauer A R, Smith O S. Registration of BS13(S2) C1 and BS16 Maize Germplasm1 (Reg. No GP 81 and GP 82)[J]. Crop Science, 1979, 19(5): 755-756.
- [5] Brekke H B. Agronomic and Phenotypic Responses to 75 years of Recurrent Selection for Yield in the Iowa Stiff Stalk Synthetic Maize Population[J]. Crop Science, 2010, 50(5): 1-15.
- [6] Brekke, Brent, Edwards, et al. Selection and Adaptation to High Plant Density in the Iowa Stiff Stalk Synthetic Maize (*Zea mays* L.) Population: II. Plant Morphology[J]. Crop Science, 2011, 51(6): 2344-2351.
- [7] Hallauer A R, Carena M J. Recurrent Selection Methods to Improve Germplasm in Maize[J]. Maydica, 2012, 57(3): 266-283.
- [8] Griffing B. Efficiency Changes Due to Use of Doubled-haploids in Recurrent Selection Methods[J]. Theoretical & Applied Genetics, 1975, 46(8): 367-385.
- [9] Bordes J, Charmet G, Vaulx R D D, et al. Doubled Haploid Versus S-1 Family Recurrent Selection for Testcross Performance in a Maize Population[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2006, 112(6): 1063-1072.
- [10] Chalyk S T, Rotarenco V A. The Use of Matroclinous Maize Haploids for Recurrent Selection[J]. Russian Journal of Genetics, 2001, 37(12): 1382-1387.
- [11] Valeriu R, Georgeta D, Mihail M, et al. Selection and Breeding Experiments at the Haploid Level in Maize (*Zea mays* L.)[J]. Journal of Maize Sciences, 2012, 4(5): 72-79.
- [12] 才卓,徐国良,任军,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.
- [13] Molenaar W S, Schipprack W, Brauner P C, et al. Haploid Male Fertility and Spontaneous Chromosome Doubling Evaluated in a Diallel and Recurrent Selection Experiment in Maize[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132(1): 1-12.
- [14] 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.
- [15] 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.

(责任编辑:刘洪霞)