

不同遗传基础甜玉米单倍体的诱导和加倍效果研究

武云昊¹, 孙洁², 姜龙¹, 于海燕^{1*}, 陈殿元¹, 高华洋¹

(1. 吉林农业科技学院农学院, 吉林 吉林 132101; 2. 吉林市种子管理站检验科, 吉林 吉林 132013)

摘要:以6份吉林农业科技学院育种课题组选育的甜玉米基础材料为母本(日系甜玉米材料、韩系甜玉米材料、美系甜玉米材料),以吉科诱115和吉科诱209为父本进行杂交诱导,研究甜玉米单倍体诱导率和人工化学加倍率。结果表明,母本基础材料和父本诱导系均会影响甜玉米单倍体诱导率。单倍体诱导率从高到低依次是日系甜玉米材料、韩系甜玉米材料、美系甜玉米材料;化学加倍后单倍体的散粉株率和结实株率从高到低依次是日系甜玉米材料、美系甜玉米材料、韩系甜玉米材料;此外,吉科诱115的诱导率为5.9%,显著高于吉科诱209,在甜玉米单倍体育种中应加强对吉科诱115的利用。

关键词:甜玉米;单倍体;诱导系;诱导率

中图分类号:S513

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2022)01-0031-04

Haploid Induction and Doubling Effect of Sweet Maize with Different Genetic Basis

WU Yunhao¹, SUN Jie², JIANG Long¹, YU Haiyan^{1*}, CHEN Dianyuan¹, GAO Huayang¹

(1. College of Agronomy, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132101; 2. Seed Inspection Department, Jilin Seed Management Station, Jilin 132013, China)

Abstract: The haploid induction rate and artificial chemical doubling rate of sweet corn were studied by using 6 basic materials of sweet corn (Japanese sweet corn material, Korean sweet corn material and American sweet corn material) selected by the breeding team of Jilin Agricultural Science and Technology University as female parent, Jikeyou 115 and Jikeyou 209 as male parent. The results showed that both basic female parent materials and male induction lines could affect haploid induction rate of sweet corn. The haploid induction rate from high to low was Japanese sweet corn material, Korean sweet corn material and American sweet corn material. After chemical doubling, the haploid loose powder plant rate and seed-setting plant rate from high to low were Japanese sweet corn material, American sweet corn material and Korean sweet corn material. In addition, the induction rate of Jikeyou 115 was 5.9%. It was significantly higher than that of Jikeyou 209. The utilization of Jikeyou 115 should be strengthened in haploid breeding of sweet corn.

Key words: Sweet corn; Haploid; Inducer; Induction rate

甜玉米又称水果玉米,是欧美、韩国和日本等发达国家的主要蔬菜之一,也逐渐成为餐桌上的一道新型佳肴^[1]。甜玉米还是重要出口创汇产品和

工业原料,尤其在欧洲和东南亚地区的需求量日益扩大,发展鲜食玉米及其加工产品有广阔的市场^[2]。我国甜玉米的品种研发还处于小规模阶段,甜玉米品种单一。为了推进甜玉米市场发展,满足不同人群口味需求,快速选育适应市场需求的甜玉米新品种是当务之急。

单倍体在自然情况下发生概率极低,一般不超过0.01%,仅为 10^{-5} ~ 10^{-8} ^[3]。想要获得大规模的单倍体必须依靠人工诱导^[4]。世界上第一个广为熟知的玉米单倍体诱导系—Stock6,于1956年在美国问世^[5-6],该系推开玉米单倍体育种的大门。通过人工诱导获得单倍体,对诱导成功的单倍体

收稿日期:2019-12-18

基金项目:大学生科技创新创业训练计划项目(吉农院合字【2019】第049号);吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(JJKH20190979KJ);玉米遗传育种科技创新团队(吉农院院通字【2020】48号)

作者简介:武云昊(1998-),男,在读本科,主要从事作物遗传育种研究。

通讯作者:于海燕,女,硕士,高级实验师,E-mail: 1036958484@qq.com

进行染色体加倍,只需要两个世代就可以获得纯系(DH系)材料,大大缩短自交系选育年限,加速玉米新品种改良的进程^[7-8]。单倍体育种技术正逐渐应用于甜玉米育种中,大大提高甜玉米杂交组合的配制效率,缩短优良甜玉米杂交种的选育年限^[9-10]。因此,本研究以6个甜玉米品种为基础材料,利用单倍体诱导系进行杂交诱导、单倍体鉴定和染色体化学加倍,探讨单倍体技术在甜玉米育种中的应用,以期加快甜玉米育种进程。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试父本材料为吉林农业科技学院育种课题组培育的诱导系吉科诱115和吉科诱209,二者均具有籽粒Navajo标记。6份母本基础材料为吉林农业科技学院育种课题组选育的甜玉米二环系T405、T406、T817、T818、T910和T911,供试材料遗传基础见表1。

表1 供试材料名称及遗传基础

材料名称	遗传基础
吉科诱115	JKW33/RWS
吉科诱209	Stock6/农大高诱5号
T405	T423/日本甜玉米材料
T406	T511/日本甜玉米材料
T817	T144/韩国甜玉米材料
T818	T857/韩国甜玉米材料
T910	T1941/美国甜玉米材料
T911	T7825×美国甜玉米材料

1.2 试验方法

2017年夏季,在吉林农业科技学院作物育种场圃对6份诱导基础材料进行单倍体诱导杂交,每份基础材料种植400株,并对2个父本诱导系进行分期播种,使父母本花期相遇。6个基础材料与2个诱导系分别进行杂交诱导(至少授粉50穗),对杂交成功的杂交果穗进行单穗逐粒鉴定。其中紫色粒顶、无色胚芽尖的籽粒为拟单倍体,紫顶紫胚及无色粒顶、紫色胚芽尖的籽粒为非单倍体^[11]。经诱导系诱导后的甜玉米籽粒变为硬粒型,甜玉米单倍体的鉴别应在收获当日即拿到实验室进行鲜穗逐粒鉴定,此时单倍体籽粒顶部、胚部标记明显且易脱粒,为甜玉米单倍体籽粒鉴别最佳时间。

1.3 单倍体鉴定

2018年夏季,在苗期依据植株生长势、株型、叶片以及紫色植株标记进一步鉴定,植株生长势

强、植株高大、叶片宽大株型披散、茎秆或叶片出现紫色的植株均为杂合植株,全部去除,保留生长发育慢、植株较矮、叶片上冲、叶色较浅的单倍体植株^[12]。统计杂交籽粒数、拟单倍体籽粒数、出苗数,去除杂株数后,计算校正单倍体诱导率^[13]。

校正单倍体诱导率=[(拟单倍体籽粒数-去除杂株数)/杂交籽粒数]×100%

出苗率=(出苗数/拟单倍体籽粒数)×100%

上述公式中拟单倍体籽粒数即为在当日收获的单倍体果穗上挑选的顶部为紫色、胚盾状体为白色的单倍体籽粒,称为拟单倍体籽粒或准单倍体籽粒(未经田间鉴定)。

1.4 染色体人工加倍

2018年冬在海南南滨,将挑选的拟单倍体种子播种于田间。待甜玉米单倍体幼苗长到4叶1心时,于晴天9:00~10:00,用微量移液器抽取3 μL 0.5 mg/mL秋水仙素+2.5% DMSO+5%甘油溶液滴于幼苗心叶处,隔2日重复进行一次。待到散粉吐丝期进行单株挂牌和套袋自交。统计化学加倍株数、散粉株数、结实株数,计算散粉株率、结实株率。

散粉株率=(散粉株数/化学加倍株数)×100%

结实株率=(结实株数/化学加倍株数)×100%

1.5 统计分析

数据统计分析采用Excel 2017软件。

2 结果与分析

2.1 甜玉米单倍体籽粒鉴定及田间鉴定

以课题组选育的单倍体诱导系吉科诱115、吉科诱209为父本,甜玉米基础材料T405、T406、T817、T818、T910和T911做母本进行杂交诱导,籽粒鉴定及田间鉴定结果见表2。从表2可知,甜玉米材料的杂交诱导籽粒数为1 243~2 875粒,平均为1 867粒,获得的拟单倍体籽粒数为62~176粒,平均为103.6粒,拟单倍体率的变化幅度较大,最低为3.7%,最高达10.2%,平均拟单倍体率为5.7%。甜玉米材料单倍体籽粒平均出苗率为82.3%,不能全部出苗原因可能在于甜玉米单倍体籽粒的生长势较弱,试验中可加大基础材料与诱导系的杂交穗数,避免材料不足。从杂合株数及标记鉴定准确率来看,甜玉米材料的拟单倍体中均含有杂株,标记鉴定准确率为68.5%~89.0%,平均数为81.1%,不同基础材料遗传背景影响Navajo标记的表达,进而影响标记鉴定的准确度。甜玉米材料经校正后的单倍体诱导率为2.9%~9.0%,平均诱导率为4.7%,变化幅度较大。

表2 甜玉米单倍体籽粒鉴定及田间鉴定结果

单倍体材料	杂交籽粒数 (个)	拟单倍体粒 数(个)	拟单倍体率 (%)	出苗数(个)	出苗率(%)	杂合株数 (个)	标记鉴定准 确率(%)	校正单倍诱 导率(%)
T405×吉科诱 115	2 561	176	6.9	152	86.4	24	86.4	5.9
T406×吉科诱 115	1 754	75	4.3	63	84.0	11	85.3	3.6
T817×吉科诱 115	1 243	84	6.8	71	84.5	23	72.6	5.7
T818×吉科诱 115	2 875	132	4.6	111	84.1	18	86.4	3.9
T910×吉科诱 115	1 431	92	6.4	70	76.1	29	68.5	4.9
T911×吉科诱 115	1 679	62	3.7	49	79.0	12	80.6	2.9
T405×吉科诱 209	2 015	74	3.7	63	85.1	9	87.8	3.1
T406×吉科诱 209	1 821	108	5.9	92	85.2	27	75.0	5.1
T817×吉科诱 209	1 523	155	10.2	137	88.4	17	89.0	9.0
T818×吉科诱 209	1 285	92	7.2	75	81.5	21	77.2	5.8
T910×吉科诱 209	2 166	108	5.0	78	72.2	15	86.1	3.6
T911×吉科诱 209	2 051	85	4.1	69	81.2	18	78.8	3.4

2.2 甜玉米单倍体籽粒化学加倍分析

用秋水仙素对甜玉米单倍体植株进行化学加倍处理,结果见表3。化学加倍后单倍体的散粉

株率为6.3%~13.0%,平均散粉株率为10.2%,单倍体的结实株率为1.3%~5.1%,平均结实株率为3.8%,散粉株率和结实株率的变化幅度均较大。

表3 甜玉米单倍体化学加倍效果

单倍体材料	出苗数(个)	散粉株数(个)	散粉株率(%)	结实株数(个)	结实株率(%)
T405×吉科诱 115	152	18	11.8	7	4.6
T406×吉科诱 115	63	8	12.7	3	4.8
T817×吉科诱 115	71	7	9.9	2	2.8
T818×吉科诱 115	111	10	9.0	5	4.5
T910×吉科诱 115	70	5	7.1	3	4.3
T911×吉科诱 115	49	6	12.2	2	4.1
T405×吉科诱 209	63	4	6.3	2	3.2
T406×吉科诱 209	92	12	13.0	3	3.3
T817×吉科诱 209	137	16	11.7	5	3.6
T818×吉科诱 209	75	5	6.7	1	1.3
T910×吉科诱 209	78	7	9.0	4	5.1
T911×吉科诱 209	69	9	13.0	3	4.3

2.3 不同基础材料各性状差异显著性分析

本研究对2个诱导系与6份甜玉米基础材料经杂交所得所有单倍体的拟单倍体率、校正单倍体诱导率、散粉株率、结实株率等4个主要农艺性状进行方差分析。由表4可知,从诱导系的拟单倍体率、校正单倍体诱导率来看,吉科诱115显著高于吉科诱209。诱导系的散粉株率和结实株率差异均不显著。从基础材料的拟单倍体率、校正单倍体诱导率来看,甜玉米杂交种T405、T817的均值最高,高于其他4个品种,但对于T910优势较小。从基础材料的散粉株率和结实株率来看,甜玉米杂交种T405和T818,显著高于其他品种,但T406、T818的均值也相对较高,具有一定优势。

3 结论与讨论

玉米单倍体育种技术能够在两个世代获得纯合自交系,大大加快育种进程,已经成为现代玉米育种的关键核心技术之一^[14-15]。关于甜玉米单倍体诱导和加倍技术的研究国内外报道较少^[16-17]。本研究结果表明,基础材料和诱导系都会对甜玉米单倍体诱导率产生一定影响,而基础材料对于散粉株率、结实株率影响较大。因而在甜玉米单倍体育种中,选择合适的甜玉米基础材料和诱导系,不仅能大幅度提高单倍体育种效率,而且也会提高甜玉米单倍体诱导的成功率。

本试验结果表明,6份甜玉米材料的单倍体

表4 甜玉米单倍体各性状差异显著分析

%

基础材料	拟单倍体率		校正单倍体诱导率		散粉株率		结实株率	
	均值	5%显著水平	均值	5%显著水平	均值	5%显著水平	均值	5%显著水平
吉科诱115	6.9	a	5.9	a	8.0	b	4.6	ab
吉科诱209	4.3	c	3.6	c	8.0	b	4.8	a
T405	6.7	bc	5.4	bc	15.6	a	4.8	a
T406	4.4	c	3.8	c	7.4	b	4.6	b
T817	6.8	bc	5.7	bc	7.0	b	2.8	b
T818	4.6	c	3.9	c	10.0	b	4.5	a
T910	6.4	bc	4.9	b	5.0	c	4.3	b
T911	3.7	c	2.9	c	6.0	bc	4.1	b

注:小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)

诱导率从高到低依次为日系甜玉米材料、韩系甜玉米材料、美系甜玉米材料;散粉株率和结实株率从高到低依次为日系甜玉米材料、美系甜玉米材料、韩系甜玉米材料;日系甜玉米材料的单倍体诱导率、散粉株率和结实株率均为最高,分析其原因可能是由于本研究供试日系甜玉米材料是由多个日系血缘的优良甜玉米自交系经混粉合成,优良的血缘使其适应性强,因而在育性恢复上偏高,混粉合成使得其遗传基础更为复杂,因而诱导率偏高。本研究所选用的2个诱导系中,吉科诱115的诱导率显著高于吉科诱209,表明在甜玉米单倍体诱导育种中,可继续加大对吉科诱115的利用。此外,进一步针对甜玉米单倍体进行专用型诱导系的选育以及筛选适合甜玉米单倍体加倍的方法是本课题组下一阶段的研究重点。

参考文献:

- [1] 李登海,柳京国,杨今胜.鲜食特用玉米生产形势分析及发展对策建议[J].莱阳农学院学报,2004(1):40-44.
- [2] 黄瑛.温州地区鲜食玉米生产的现状及发展研究[D].杭州:浙江大学,2012.
- [3] 蔡泉,曹靖生,史桂荣,等.单倍体技术在玉米育种上的应用研究进展[J].黑龙江农业科学,2009(4):15-17,20.
- [4] 王江浩,尤帅,赵爱菊,等.玉米单倍体的诱导加倍技术及其应用研究[J].河北农业科学,2016,20(1):70-75,79.
- [5] 刘志新,王延波,Thomas Lübberstedt.玉米单倍体育种技术研究进展与展望[J].辽宁农业科学,2015(4):51-56.
- [6] 赵海涛,赵静红,李勃,等.玉米单倍体育种技术的发展现状与趋势[J].农业工程技术,2018,38(29):73-74.
- [7] 何海军.玉米单倍体育种研究进展[J].农业科技通讯,2018(1):4-5,31.
- [8] 郭怀志,任炳正,闻占飞.论单倍体技术在玉米育种上的应用[J].种子科技,2018,36(3):62.
- [9] 岳尧海,路明,张建新,等.玉米DH系规模化筛选、评价技术流程初探[J].东北农业科学,2016,41(2):13-15.
- [10] 李高科,胡建广,陈新振,等.甜玉米双单倍体系的纯度鉴定[J].玉米科学,2015,23(6):56-60.
- [11] 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.
- [12] 才卓,徐国良,任军,等.玉米杂交诱导单倍体选育自交系技术规范(修订版)[J].玉米科学,2013,21(2):1-5.
- [13] 段民孝,刘新香,张华生,等.我国玉米地方种质的单倍体诱导和加倍特性研究[J].种子,2017,36(6):30-34.
- [14] 徐辉,姜龙,陈殿元,等.不同玉米单倍体诱导系之间杂交组合诱导性状的杂种优势研究[J].种子,2018,37(11):21-25.
- [15] 徐晓红,舒坤良,王洪丽,等.吉林省玉米种业现状与发展战略[J].吉林农业科学,2013,38(6):12-14.
- [16] 马一铭.甜玉米单倍体诱导、加倍及DH系配合力的研究[D].长春:吉林农业大学,2018.
- [17] 廉宏利,杨翔宇,王丽丽,等.利用除草剂来高效加倍甜玉米单倍体[J].分子植物育种,2018,16(19):6436-6439.

(责任编辑:王昱)