

优化玉米单倍体育种技术流程的探讨

周旭东¹, 岳尧海^{1*}, 王敏², 张建新¹, 马英杰¹, 周德龙¹, 张志军¹, 刘文国^{1*}

(1. 吉林省农业科学院玉米研究所/玉米国家工程实验室, 吉林 公主岭 136100; 2. 吉林吉农高新技术发展股份有限公司, 吉林 公主岭 136100)

摘要:结合常规玉米单倍体育种技术及自身多年的实践经验,主要探讨了优化玉米单倍体育种技术流程。常规单倍体育种流程需要9年能完成,优化后单倍体育种流程需要8年能完成,可以看出优化后的流程比常规的流程品种选育进程快了1年,加快了新品种的选育速度,促进了新品种的推广和应用。

关键词:玉米;单倍体育种技术;优化;常规育种技术

中图分类号:S513

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2024)01-0039-05

Discussion on the Optimization Procedure of Maize Haploid Breeding Technology

ZHOU Xudong¹, YUE Yaohai^{1*}, WANG Min², ZHANG Jianxin¹, MA Yingjie¹, ZHOU Delong¹, ZHANG Zhijun¹, LIU Wenguo^{1*}

(1. Maize Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences/National Engineering Laboratory for Corn, Gongzhuling 136100; 2. Jilin Jinong Hi-tech Inc., Ltd., Gongzhuling 136100, China)

Abstract: The optimization procedure of maize haploid breeding technology was discussed mainly with conventional breeding technology of maize haploid and many years' corn breeding experience in the domestic and foreign. The conventional maize haploid breeding procedure can be completed in 9 years, but the optimized haploid breeding procedure can be completed in 8 years. The results showed that the breeding process of the optimized procedure was one year faster than that of the conventional procedure, which speeds up the breeding speed of new corn varieties and promotes the popularization and application of new corn varieties.

Key words: Maize; Maize haploid breeding technology; Optimization; Conventional breeding technology

利用常规育种方法选育自交系,获得一个纯系平均需4~6年时间^[1],耗费大量人力、物力和财力。利用单倍体育种技术进行育种,不仅能缩短育种年限,加速育种进程,还能提高育种效率^[2]。

近年来,单倍体育种技术已经逐步成为我国玉米育种的关键性技术。前人在玉米单倍体诱导系选育、加倍技术等方面进行了相当多的研究^[3-9]。中国农业大学于2007年召开首届单倍体育种技术研讨会,其后又成立由国内骨干育种单位和企业参加的全国玉米单倍体育种协作组,并

发放农大高油型单倍体诱导系。目前,各单位单倍体育种规模越来越大,单倍体年生产能力甚至达到30万个以上。随着单倍体育种的规模不断扩大,急需一个操作简便、有效的单倍体育种流程。单倍体育种流程是指从基础材料选择和组配到品种审定的一系列过程,这个过程一般需要10个程序、9年时间才能完成。因此建立一个更加高效的单倍体育种技术流程,对广大育种者和企事业单位来说越来越重要。本文结合国内外玉米单倍体育种技术的研究及自身多年的实践经验,对玉米单倍体育种技术常规流程进行优化,以期为加快单倍体育种技术的应用提供参考。

1 玉米单倍体育种技术常规流程

常规流程主要包括基础材料选择和组配、杂交诱导、单倍体鉴定、单倍体加倍、DH系繁殖(鉴定)、DH系鉴定与筛选、DH系测配、初级产量测

收稿日期:2023-03-23

基金项目:国家玉米产业技术体系项目(CARS-02-06)

作者简介:周旭东(1972-),男,助理研究员,主要从事玉米育种研究。

通讯作者:岳尧海,男,研究员,E-mail: yueyaohai@163.com

刘文国,男,博士,研究员,E-mail: Liuwenguo168@163.com

试、参加各级试验、品种审定(见图1)。

第1步	基础材料选择和组配
第2步	杂交诱导
第3步	单倍体鉴定
第4步	单倍体加倍
第5步	DH系繁殖(鉴定)
第6步	DH系鉴定与筛选
第7步	DH系测配
第8步	初级产量测试
第9步	参加各级试验
第10步	品种审定

图1 常规单倍体育种技术流程

1.1 基础材料的选择和组配

与常规自交系的选育方法一样,通过单倍体诱导选系同样应非常重视基础材料的选择。但是由于单倍体育种的前提条件是要能够大量地产生单倍体,因此对诱导材料的选择就具有一定的特殊性,主要应该考虑诱导材料产生单倍体的能力以及选系材料的世代等。

目前在玉米单倍体育种中,主要利用 F_1 世代进行诱导获得单倍体籽粒,即经过了一次减数分裂和基因重组。但是,依据遗传学原理可知,诱导世代的选择对于获得理想DH系的概率具有重要作用。当两个基因处于完全不连锁时,从不同世代诱导的DH后代里得到最优重组DH系的概率是一样的。当两个基因处于紧密连锁时,需要从大量的DH后代中才可能获得最优的重组个体,这就需要对创制的DH系进行大量筛选和测验。当然,也可以通过晚代诱导来提高获得最优DH系的概率。研究表明,与 F_1 代诱导比较, F_2 代进行诱导获得最优DH系的可能性更大,而从 F_2 单株及 F_3 家系诱导获得最优DH系的概率差异不大^[10]。

综合考虑,如果双亲差异大,后代分离基因较多,则仅靠一次重组就需要很大的群体才可能获得优良重组基因型。因此,建议此类材料的诱导可以在 F_2 代或更高世代诱导,而对于窄基群体则可以在 F_1 代诱导。

1.2 单倍体的杂交诱导

一般基础群体或材料在北方进行组配,在海南进行杂交诱导。杂交诱导就是以组建的基础群体或材料为母本,以单倍体诱导系为父本进行杂交授粉。单倍体的杂交诱导可分为人工授粉和自然授粉两种方式,人工授粉是指吐丝期通过人工控制的方式进行授粉,自然授粉则是在隔离条件下,吐丝期时对母本进行人工去雄而进行的开放授粉。目前人工授粉比较普遍,优点在于无需隔离,诱导系数少且可种植在不同的地块,但是需要花费一定的劳动力,不适合大规模诱导。自然授粉的优点在于节省劳动力,其类似于大田制种,只需按一定比例种植被诱导母本材料和诱导系即可。

自然授粉同大田制种一样,采用天然隔离屏障,父、母本比例为1:4或2:5,其中父本采用花粉量大的诱导系间杂交种群体为宜,杂交后果穗结实较好,但诱导效率较人工授粉要低,研究表明,人工杂交诱导产生的单倍体频率显著高于自然杂交诱导^[11]。自然杂交诱导一般选在海南、甘肃等地,其诱导率要高一些。岳尧海等^[12]研究的杂交诱导方法也是一种提高杂交诱导效率的方式。总之,组配的基础材料数量少可以选择人工授粉,数量较大可以选择自然授粉。

1.3 单倍体鉴定

单倍体的鉴定技术是单倍体育种中的关键技术之一。目前,国内外鉴定单倍体的方法主要依靠籽粒颜色标记的表达。但是这种方法不十分理想,因为很多材料的标记表达很弱,导致鉴定效率很低。因此,又研发了油分鉴定法、分子标记鉴定法等方法。中国农业大学于2003年最先提出利用油分的花粉直感效应鉴定单倍体,显著提高了鉴定效率。近几年中国农业大学基于核磁共振技术成功研发了单倍体自动分选仪器,每天分选量达2万粒以上,实现了单倍体规模化应用。但因设备价格较高,目前单倍体的鉴定仍然要靠费时费力的人工鉴定。

1.4 单倍体加倍

单倍体加倍方法包括自然加倍、化学加倍等,自然加倍就是将单倍体不经任何处理直接播种在田间,待授粉、收获后即加倍成功,自然加倍根据基础群体的来源不同,总体来说加倍效率较低,一般为1%~5%,另外一些单倍体材料可能不易于自然加倍。目前国内外应用化学加倍是提高加倍效率的主要途径,化学加倍的方法很多,其中多

数是利用秋水仙素和除草剂等药剂进行处理,秋水仙素是目前单倍体加倍最有效的化学试剂。在实践中应用较多的化学加倍方法有浸种法、注射法、浸芽法、组培法、浸根法等。浸种法是将单倍体种子浸泡前用清水处理,种子通过吸胀作用减少秋水仙素的毒害作用,加倍效果较好;注射法是在田间用注射器直接将秋水仙素或混合液注射到单倍体幼苗茎尖生长点处,优点是不用育苗和移栽,用药量较少,在大田里直接进行操作,但由于注射的时期和部位把握不准,因此对注射技术要求较高,岳尧海等^[13]研究认为用秋水仙素和二甲基亚砜(DMSO)混合液注射时加倍效果较好;浸芽法是将种子在实验室内发芽后,切掉幼芽用秋水仙素和DMSO进行浸泡^[14],用清水冲洗后移栽到田间,浸芽法加倍效率比较高,一般加倍率可达30%左右,是一种较实用的加倍方法,但加倍过程比较复杂,如规模较大,需要大量人力、物力、财力,而且加倍处理时一定要做好防毒工作;中国农业大学陈绍江等^[15]建立了一套高效单倍体幼胚加倍技术和幼胚直接成苗技术,提供了一种新的快速获得玉米双单倍体的方法,是一种较为有效的加倍方法,其加倍率比较高,一般育种材料加倍率达50%以上,可实现工厂规模化操作。

1.5 DH系繁殖(鉴定)

玉米单倍体经过加倍成功后,需对其进行种子扩繁,一般在东北进行加倍成功后,当年冬天到海南进行自交繁殖,第二年在东北进行DH系鉴定(测配)。

由于冬天海南省气候适宜,水肥充足,DH系易于自交结实,对于优异的DH系可以在海南直接进行测配,第二年参加东北产量比较试验,这样可大大加快育种进程。

1.6 DH系鉴定与筛选

第二年在东北试验田里,选择中上等地块,把海南扩繁的DH系按穗行种植。待DH系出苗后,根据苗期长势、株高、穗位、抗性、熟期、品质性状等表型鉴定指标进行评价(表1)。

1.7 DH系测配和初级产量测试

鉴定入选的DH系当年在海南省以隔离区制种形式种植,选择2~3个测验种,以多个DH系为母本,测验种为父本,一个测验种设置一个隔离区。设置2~3个隔离区,收获时一个母本就是一个组合,准备来年参加初级产量试验。

1.8 参加各级试验、品种审定

参加初级产量试验后,根据配合力分析结果,

表1 DH系鉴定指标

序号	鉴定指标	占DH系总数/%
1	不发芽或发芽弱,根茎脆弱	3.5
2	杂株穗行	0.4
3	植株太高、弱小	5.4
4	不抗倒植株	15.6
5	雄穗不好,开花不好,散粉不好	3.1
6	雌雄不协调或叶鞘内吐丝或花丝球状	2.3
7	开花晚或熟期晚	4.1
8	抗逆、抗病性差	18.3
9	种子粒型不好或品质差	2.2
合计		54.9

要对DH系进行淘汰、筛选,选择出大约3%~5%的DH系继续进行鉴定、测配、淘汰,直到筛选到符合育种目标的DH系。

经过几次测交、产量测试最终筛选出优异的新组合参加国家、省级试验,完成试验流程后进行品种审定。

2 优化单倍体育种技术流程

常规单倍体育种流程需要9年能完成,而优化后单倍体育种流程需要8年能完成,可以看出优化后的流程比常规的流程品种选育进程快了1年。

2.1 第1年

常规流程和优化流程内容相同(表2),都是在北方或海南组配基础材料。

2.2 第2年

常规流程中在北方或海南进行杂交诱导。

优化流程中北方的杂交诱导和海南的杂交诱导都在海南进行加倍。北方杂交诱导获得的单倍体籽粒经过鉴定后于当年12月邮寄海南进行加倍;海南杂交诱导、加倍过程:9月份去海南进行播种,10月份进行杂交诱导,11月份获得单倍体籽粒,经过鉴定后12月份获得拟单倍体籽粒,12月份进行加倍。

2.3 第3年

常规流程中在北方进行单倍体加倍,在海南进行DH系繁殖(鉴定)。

优化流程中在北方进行DH系繁殖、鉴定,在

表2 单倍体育种技术选育新品种流程

常规单倍体育种技术选育新品种流程(简称常规流程)			优化单倍体育种技术选育新品种流程(简称优化流程)		
年份	地点	实施内容	年份	地点	实施内容
第1年	北方	组配基础材料	第1年	北方	组配基础材料
	海南	组配基础材料		海南	组配基础材料
第2年	北方	杂交诱导	第2年	北方	杂交诱导
	海南	杂交诱导		海南	杂交诱导、加倍
第3年	北方	单倍体加倍	第3年	北方	DH系繁殖(鉴定)
	海南	DH系繁殖(鉴定)		海南	测配
第4年	北方	DH系鉴定筛选	第4年	北方	初级产量试验
	海南	测配		海南	测配
第5年	北方	初级产量试验	第5年	北方	网点试验
	海南	测配		海南	测配
第6年	北方	网点试验	第6年	北方	预备试验
	海南	测配		海南	大量杂交、亲本繁殖
第7年	北方	预备试验	第7年	北方	区域试验
	海南	大量杂交、亲本繁殖		海南	大量杂交、亲本繁殖
第8年	北方	区域试验	第8年	北方	区域、生产试验和品种审定
	海南	大量杂交、亲本繁殖			
第9年	北方	区域、生产试验和品种审定			

海南进行测配。

2.4 第4年

常规流程中在北方进行DH系鉴定筛选,在海南进行DH系测配。

优化流程中在北方进行初级产量试验,在海南进行测配。

2.5 第5年

常规流程中在北方进行初级产量试验,在海南进行测配。

优化流程中在北方进行网点试验,在海南进行测配。

2.6 第6年

常规流程中在北方进行网点试验,试验在海南进行测配。

优化流程中在北方参加预备试验,试验在海南进行大量杂交、亲本繁殖。

2.7 第7年

常规流程中在北方参加预备试验,在海南进行大量杂交、亲本繁殖。

优化流程中在北方参加区域试验,在海南进行大量杂交、亲本繁殖。

2.8 第8年

常规流程中在北方参加区域试验,在海南进行大量杂交、亲本繁殖。

优化流程中在北方参加区域试验、生产试验并参加品种审定流程。

2.9 第9年

常规流程中在北方参加区域、生产试验并参加品种审定流程。

3 小 结

单倍体育种技术是选育玉米自交系的一种最快捷、最简便、比较经济的方法,缩短了育种年限,加速了育种进程,因此受到广大育种者的极大重视。在实际育种过程中,育种家希望尽快培育出新的优良杂交种。本文根据育种实践经验主要对常规单倍体育种技术选育新品种流程进行优化和探讨,从组配基础材料到最终品种审定,常规单倍体育种流程需要9年能完成,而优化后单倍体育种流程需要8年能完成。可以看出优化后的流程比常规的流程品种选育进程快了1年,从而加快了新品种的选育速度,促进了新品种的推

广和应用。

单倍体育种与传统选系方法相比是一种以规模换时间的方法,如果要在一次减数分裂获得所有可能的基因组合就需要较大规模。考虑到国内育种规模,建议将单倍体育种与传统选系方法结合起来,以提高玉米育种效率。

我国玉米育种与种业的发展正处在一个新的转型时期,规模化的育种将逐步成为商业化玉米育种的主要方式。近几年国内如奥瑞金、登海种业、屯玉种业等大型企业的单倍体育种已经实现规模化,年产单倍体数量都在百万以上,与国外的差距明显缩小。但由于我国单倍体育种技术研究起步时间较晚,未来几年还需要在诱导机理、新型诱导系的选育、高效低毒加倍方法等方面进行重点研究,需要进一步技术创新和优化,才能使单倍体育种技术流程更加完善,最终形成一套高效的单倍体育种体系,实现玉米育种技术的变革。

参考文献:

- [1] Kuo C S,Guo Z C,Li Z,et al.Another culture and haploid breeding of maize in China[J].Biotechnology in Agriculture and forestry, 1994, 25: 149-161.
- [2] 陈绍江,黎 亮,李浩川.玉米单倍体育种技术(第1版)[M].北京:中国农业大学出版社,2009:26-30.
- [3] 母秋华,杨振棠,陈泽光.玉米花药培养单倍体育种的研究[J].吉林农业科学,1980,5(4):6-14.
- [4] 岳尧海,张志军,路 明,等.东北生态区玉米单倍体浸芽加倍效果的初探[J].作物杂志,2012(5):114-117.
- [5] 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):28-31,85.
- [6] 焦仁海,徐艳荣,代秀云,等.玉米单倍体诱导系诱导率研究[J].吉林农业科学,2015,40(2):1-3.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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):10-13,32.
- [10] Lashermes P, Beckert M.Genetic control of maternal haploidy in maize(*Zea mays* L.) and selection of haploid inducing lines[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1988, 76: 405-410.
- [11] Rotareno V. Production of matroclinous maize haploids following natural and artificial pollination with a haploid inducer[J]. Maize Genet Coop Newsletter,2002,76:16.
- [12] 岳尧海,张建新,周旭东,等.玉米单倍体田间自然杂交诱导效率初析[J].作物杂志,2013(6):39-41.
- [13] 岳尧海,王 敏,张志军,等.玉米单倍体加倍效果的研究[J].吉林农业科学,2011,36(5):9-12.
- [14] 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,2011:114-116.
- [15] 陈绍江,陈 琛,钟 裕,等.一种玉米双单倍体的制备方法:中国,CN201711204640.4[P]. 2019-06-04.

(责任编辑:王 昱)