

李金凤,尹兴福,岩罕温龙,等. 4 个热带玉米单倍体诱导系利用价值研究[J]. 江苏农业科学,2025,53(1):109-116.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.01.016

4 个热带玉米单倍体诱导系利用价值研究

李金凤¹,尹兴福²,岩罕温龙³,李霖卓¹,张兴洁¹,张培高²,李绍雄¹,刘美辰¹,蒋辅燕²

(1. 云南大学资源植物研究院,云南昆明 650500; 2. 云南省农业科学院粮食作物研究所,云南昆明 650205;

3. 云南省景洪市种子管理站,云南景洪 666100)

摘要:为系统评价 4 个云诱系列热带玉米单倍体诱导系的诱导和加倍效果,为热带亚热带地区玉米双单倍体技术的规模化运用提供新的诱导系和理论依据,以 13 份温热带玉米杂交种为母本、4 个云诱系列热带玉米单倍体诱导系为父本,进行杂交诱导和加倍试验,对 4 个诱导系的诱导率、标记鉴定准确率、单穗平均单倍体粒数及 14 份单倍体材料自然加倍率进行分析。结果表明,4 个诱导系的诱导率和标记鉴定准确率之间存在显著差异,云诱一号的平均实际诱导率(6.45%)和平均标记鉴定准确率(42.92%)最低,与其他 3 个诱导系之间的差异均达到了极显著水平,云诱二号、云诱三号、云诱四号的平均实际诱导率分别为 12.82%、11.15%、11.69%,平均标记鉴定准确率分别为 70.08%、78.08%、80.03%,三者之间差异不显著;云诱二号诱导母本材料产生的单穗平均单倍体粒数最多(27.75 粒),显著优于其他 3 个诱导系;14 份单倍体材料的授粉率为 3.6%~19.6%,加倍结实株率为 1.2%~10.7%。在对不同基础材料进行诱导时,云诱二号诱导产生的单穗平均单倍体粒数最多,平均实际诱导率最高,产生高诱导率组合(实际诱导率>15%)的概率最大,诱导获得的单倍体自然加倍效果好;云诱三号诱导能力强且诱导效果比较稳定。综上所述,在进行热带和温热带种质育种过程中可加强对热带玉米单倍体诱导系云诱二号和云诱三号的利用。

关键词:玉米;单倍体;热带单倍体诱导系;诱导率;自然加倍

中图分类号:S513.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)01-0109-08

大量获取单倍体是运用双单倍体(double haploid,简称 DH)技术培育玉米新品种的第一步,

人为选育出诱导能力强的高频诱导系将有助于实现高效生产单倍体,推动 DH 技术的规模化运用,加快玉米种质的改良和新品种的选育。

自然情况下,单倍体发生的概率一般不超过 0.01%^[1]。为了提高获取单倍体的效率,科研工作者对外培养花药(花粉)产生单倍体与杂交诱导孤雌生殖产生单倍体这 2 个技术方向进行了研究。在实验室培养花药(花粉)产生单倍体难度大、效率低,很难运用到玉米育种生产中,而通过诱导系与优良玉米种质材料杂交诱导孤雌生殖产生单倍体

收稿日期:2023-12-22

基金项目:国家自然科学基金(编号:31961143014);云南省重大科技专项(编号:202102AE090023);云南省种子种业联合实验室项目(编号:202205AR070001);云南省科技支撑绿色产业发展专项(编号:202204AC100001-A05)。

作者简介:李金凤(2000—),女,广西桂平人,硕士研究生,研究方向为玉米遗传育种。E-mail:jinfengli1020@163.com。

通信作者:蒋辅燕,博士,副研究员,研究方向为玉米遗传育种。

E-mail:jiangfuyansxx@126.com。

[7]陆宝金,田生昌,左忠,等.盐渍化土地可持续利用研究综述及展望[J].宁夏大学学报(自然科学版),2023,44(1):79-88.

[8]万何平,张浩,余忆,等.油菜耐盐碱研究与应用[J].中国农业科技导报,2022,24(12):59-67.

[9]曹禹,史睿,杨廷海,等.甘蓝型油菜萌发期耐盐性 QTL 定位及耐盐种质资源筛选[J].中国油料作物学报,2023,45(6):1185-1196.

[10]胡凤仪,侯献飞,于月华,等.479 份芥菜型油菜种质资源萌发期耐盐性综合评价[J].中国油料作物学报,2023,45(6):1174-1184.

[11]Wan H P,Wei Y K,Qian J L,et al. Association mapping of salt

tolerance traits at germination stage of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. Euphytica,2018,214(10):190.

[12]朱琨,刘骅峻,冯成龙,等.盐胁迫对不同苜蓿品种种子萌发的耐盐性综合评价[J].草地学报,2023,31(12):3724-3733.

[13]刘自刚,王志江,方圆,等. NaCl 胁迫对白菜型冬油菜种子萌发和幼苗生理的影响[J].中国油料作物学报,2017,39(3):351-359.

[14]严中琪,朱家骝,吴国泉.5 个油菜品种耐盐性试验及盐碱地改良应用[J].浙江农业科学,2021,62(12):2407-2409.

[15]范倩玉,李晋,刘振华,等.饲用油菜对盐碱地土壤改良效果探究[J].河南农业科学,2020,49(11):71-78.

在田间即可操作,且简易高效,使得诱导系成为诱导单倍体产生的必备遗传工具。自 Coe 于 1959 年选育出第 1 个诱导率达到 3% 左右的孤雌生殖诱导系——stock6 后,国内外科研人员纷纷对诱导系 stock6 进行了改良,选育出了诱导率大幅提高的 EMK (6% ~ 10%)、PHIs (12.1% ~ 14.5%)、农大高诱 1 号 (1.92% ~ 9.25%) 及高油诱导系 CAUHOI (5.3% ~ 5.8%) 等一系列诱导系^[2-5]。从利用这些诱导系诱导产生单倍体到进行单倍体染色体组加倍获得纯合的 DH 系只需 2 ~ 3 个世代,大幅降低了育种周期和成本,使得玉米 DH 育种技术进入实质应用阶段,成为现代玉米育种的核心技术之一^[6]。美国杜邦先锋、拜耳(孟山都)、德国 KWS 等国际公司已经在玉米育种项目中大规模运用 DH 技术,每年育成 DH 系高达 5 000 份以上,实现了规模化 DH 系育种^[7]。DH 育种技术在我国也得到了高速发展,目前,我国生产上应用较多的玉米单倍体诱导系主要是温带诱导系,如农大高诱 5 号(诱导率可达 12%) 和吉高诱 3 号(平均诱导率达 10.40%) 等高频诱导系^[8-9]。然而温带诱导系在热带亚热带地区应用时,往往表现出诱导率低、颜色标记不明显、适应性差、花粉量小、难以扩繁等特点,导致 DH 技术在这些地区难以规模化运用。

为加快热带亚热带地区 DH 育种技术的规模化运用,特别是针对热带种质材料被诱导率低、颜色标记不明显等情况,专化型诱导系的选育尤为重要。本研究对 4 个新选育的热带玉米单倍体诱导系的诱导率、单穗平均杂交总粒数、单穗平均单倍体粒数、标记鉴定准确率及自然加倍率等性状进行系统性评价测定,以期筛选出抗逆性强、花粉量大、诱导率高、颜色标记明显且适宜在热带亚热带地区种植的热带玉米单倍体诱导系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用 13 份温热玉米杂交种为测验种(表 1),以 4 个云诱系列热带玉米单倍体诱导系为被测系(表 1)进行杂交诱导,根据杂交后代单倍体产生的频率评价不同诱导系的诱导率。供试的 4 个诱导系均由云南省农业科学院玉米遗传育种及应用创新团队引进热带抗病玉米材料对高诱 5 号进行连续不断的测验、改良、回交和自交选育而成。4 个诱导系的籽粒 Navajo 标记显色明显,且具有花粉量大、散粉期

表 1 供试杂交诱导材料

材料名称	类型	材料名称	类型
ZHY	杂交种	ZY335	杂交种
JY808	杂交种	KNY588	杂交种
RY889	杂交种	HD809	杂交种
WG5268	杂交种	ZY5	杂交种
GZY115	杂交种	云诱一号	自交系
GY3868	杂交种	云诱二号	自交系
GA7	杂交种	云诱三号	自交系
GSJY	杂交种	云诱四号	自交系
JY112	杂交种		

长、抗病性强、适应性广等特点。

1.2 试验设计

1.2.1 杂交诱导试验 2022 年夏季在云南省昆明基地种植试验材料。为使母本的吐丝期与父本的散粉期正常相遇,将 13 份母本材料一次性播种,4 个父本诱导系分 2 批播种(与母本同期和晚母本 5 d 各播种 1 批),每份母本材料播种 3 行,每份父本材料每批次种 2 行,行长 2.5 m,行距 0.6 m,株距 0.21 m,每行种植 14 株。在花期,将母本的雌穗套袋,取诱导系花粉,采用 NC II 遗传交配设计进行杂交诱导获得 F₁ 代,每个杂交组合诱导 3 ~ 5 穗并在果穗成熟后及时收获,用于进行准单倍体籽粒鉴定和诱导率统计分析。

1.2.2 准单倍体籽粒鉴定 果穗成熟收获后,根据籽粒 Navajo 颜色标记性状,进行单穗逐粒鉴定。胚乳顶部紫色、胚芽无色的籽粒被确定为准单倍体籽粒;胚乳顶部和胚芽均有紫色或胚乳无色、胚芽紫色的为杂合二倍体籽粒;胚乳和胚芽均无色的籽粒为花粉污染籽粒^[10]。统计准单倍体籽粒数和总杂交籽粒数。

总杂交籽粒数 = 准单倍体籽粒数 + 杂合二倍体籽粒数;

准诱导率 = 准单倍体籽粒数/总杂交籽粒数 × 100%^[1]。

1.2.3 单倍体田间鉴定、实际诱导率计数与单倍体自然加倍 将挑选出的准单倍体籽粒于 2022 年 10 月在云南景洪基地进行田间种植、鉴定和加倍。试验采用大垄双行,行距 0.6 m,材料按顺序排列,每穴播种 4 粒,穴距 0.5 m。在苗期淘汰叶鞘为紫色、叶片宽大、株型披散和生长势强的杂株,选留生长较慢、植株较矮、叶片直立且叶色较浅的单倍体植株^[11]。统计杂株数和单倍体株数,对准诱导率进行

校正以获得诱导系的实际诱导率并计算籽粒 Navajo 标记鉴定的准确率。

实际诱导率 = (准单倍体籽粒数 - 杂合植株数) / 总杂交籽粒数 × 100% ;

标记鉴定准确率 = (准单倍体籽粒数 - 杂合植株数) / 准单倍体籽粒数 × 100% ^[1]。

12 月上旬开始对单倍体植株雌穗进行套袋,对雌穗吐丝且雄穗散粉株进行自交授粉,用剪刀剪开雄穗已散粉而雌穗未吐丝植株的雌穗包叶,使其露出花丝进行自交授粉,次年 1 月上旬结束授粉,2 月中旬收获,记录授粉株数和结实株数。

授粉率 = 授粉株数 / 单倍体株数 × 100% ;

加倍结实株率 = 结实株数 / 单倍体株数 × 100% ^[12]。

1.3 数据处理与分析

试验各测定性状的描述统计量采用 Excel 2016 进行分析和制图,用 DPS 7.05 进行二因素无重复方差分析和多重比较 (*LSD* 法)。

2 结果与分析

2.1 单倍体籽粒鉴定及田间鉴定

以 4 个热带单倍体诱导系云诱一号、云诱二号、云诱三号 and 云诱四号作父本,13 份温热带玉米杂交种作母本进行杂交诱导,其籽粒鉴定及田间植株鉴定结果见表 2。由表 2 可知,52 个杂交组合的总杂交籽粒数介于 193 ~ 1 694 粒之间,平均为 872.4 粒,获得的准单倍体粒数介于 8 ~ 483 粒之间,平均为 142.8 粒,准诱导率介于 3.4% ~ 37.7% 之间,变化幅度较大,平均准诱导率为 16.2%。

从杂合株数及标记鉴定准确率(表 2)来看,52 份准单倍体材料中均含有杂合二倍体籽粒,标记鉴定准确率介于 8.5% ~ 98.4% 之间,平均为 69.3%,且标记鉴定准确率偏低的准单倍体材料出苗率均偏高,其中标记鉴定准确率低于 50% 的 13 份单倍体材料中的 10 份出苗率大于 82%,而标记鉴定准确率高于 90% 的 13 份单倍体材料中的 9 份出苗率小于 65%。表明相较于单倍体籽粒,杂交二倍体籽粒生长势较旺盛,更容易出苗。

诱导系的准诱导率和实际诱导率的差值受籽粒 Navajo 标记鉴定准确率的影响,一般来说,标记鉴定准确率越低,准诱导率和实际诱导率的差值越大。将准诱导率和实际诱导率的差值及籽粒 Navajo 标记鉴定准确率做成组合图(图 1),由图 1 可知,52

个杂交组合的实际诱导率比准诱导率降低了 0.2 ~ 34.5 百分点。标记鉴定准确率低于 60% 的 14 份单倍体材料平均实际诱导率比平均准诱导率降低了 14.7 百分点,其中 10 号材料的降幅最大,为 34.5 百分点(标记鉴定准确率最低,为 8.5%);标记鉴定准确率高于 60% 的 38 份单倍体材料平均实际诱导率比平均准诱导率降低了 2.4 百分点。

通过田间鉴定计数杂合植株,以此对准诱导率进行校正而获得实际诱导率。结果(表 2)显示,52 个杂交组合实际诱导率介于 1.3% ~ 20.1% 之间,变化幅度较大,平均实际诱导率为 10.5%。将数据分布制作成折线图(图 2),由图 2 可知,实际诱导率小于 5.0% 的 7 个杂交组合中有 5 个是由云诱一号诱导得到的;云诱二号诱导的 13 个杂交组合的实际诱导率介于 5.3% ~ 20.1% 之间,其中 4 个组合实际诱导率大于 15.0%;由云诱三号诱导的 13 个杂交组合中有 10 个组合的实际诱导率介于 8% ~ 14% 之间;云诱四号的实际诱导率介于 1.3% ~ 17.8% 之间。这些结果表明,云诱一号的平均实际诱导率偏低,云诱二号实际诱导率较高且更容易获得高诱导率组合,云诱三号的诱导效果比较稳定且诱导能力强,云诱四号实际诱导率较高但变幅较大。

2.2 不同诱导系各性状差异显著性分析

将 13 个基础材料与 4 个诱导系杂交所得单倍体的准诱导率、实际诱导率、标记鉴定准确率进行方差分析,结果(表 3)显示,准诱导率、实际诱导率和标记鉴定准确率在基础材料间的差异均达显著水平;准诱导率在诱导系间的差异不显著,但实际诱导率和标记鉴定准确率在诱导系间的差异均达极显著水平。表明单倍体实际诱导率和标记鉴定准确率受基础材料和诱导系影响均较大。

对 4 个诱导系中差异达显著水平的性状按材料计算均数并作多重比较,结果(表 4)表明,云诱二号的平均实际诱导率最高(12.82%),云诱四号的平均标记鉴定准确率最高(80.03%),云诱二号、云诱三号、云诱四号之间的平均实际诱导率和平均标记鉴定准确率差异都不显著;云诱一号的平均实际诱导率(6.45%)和平均标记鉴定准确率(42.94%)都是最低的,都极显著低于其他 3 个诱导系。

2.3 不同诱导系诱导单穗平均杂交总粒数和单穗平均单倍体粒数的统计分析

单穗单倍体粒数能够直接反映诱导系的诱导能力,其数量大小受单穗杂交总粒数的影响。对 4

表 2 单倍体籽粒鉴定及田间鉴定结果

杂交组合 编号	杂交组合	总杂交籽 粒数 (粒)	准单倍体 粒数 (粒)	准诱导率 (%)	出苗数 (株)	杂合株数 (株)	出苗率 (%)	标记鉴定 准确率 (%)	实际 诱导率 (%)	杂交 穗数 (穗)
1	ZHY × 云诱一号	1 498	132	8.8	106	30	80.3	77.3	6.8	5
2	JY808 × 云诱一号	911	125	13.7	88	76	70.4	39.2	5.4	5
3	RY889 × 云诱一号	1 129	300	26.6	200	182	66.7	39.3	10.5	5
4	WG5268 × 云诱一号	286	45	15.7	29	4	64.4	91.1	14.3	5
5	GZY115 × 云诱一号	193	50	25.9	45	36	90.0	28.0	7.3	4
6	GY3868 × 云诱一号	1 379	133	9.6	110	90	82.7	32.3	3.1	5
7	GA7 × 云诱一号	863	74	8.6	46	28	62.2	62.2	5.3	5
8	GSJY × 云诱一号	1 033	154	14.9	150	130	97.4	15.6	2.3	5
9	JY112 × 云诱一号	280	37	13.2	23	2	62.2	94.6	12.5	5
10	ZY335 × 云诱一号	1 282	483	37.7	446	442	92.3	8.5	3.2	5
11	KNY588 × 云诱一号	1 619	227	14.0	210	186	92.5	18.1	2.5	5
12	HD809 × 云诱一号	1 239	375	30.3	316	314	84.3	16.3	4.9	5
13	ZY5 × 云诱一号	525	84	16.0	69	54	82.1	35.7	5.7	5
14	ZHY × 云诱二号	1 694	302	17.8	208	42	68.9	86.1	15.3	5
15	JY808 × 云诱二号	1 112	249	22.4	172	36	69.1	85.5	19.2	5
16	RY889 × 云诱二号	884	146	16.5	112	74	76.7	49.3	8.1	5
17	WG5268 × 云诱二号	835	180	21.6	97	12	53.9	93.3	20.1	5
18	GZY115 × 云诱二号	933	176	18.9	136	67	77.3	61.9	11.7	5
19	GY3868 × 云诱二号	884	179	20.2	172	60	96.1	66.5	13.5	5
20	GA7 × 云诱二号	887	61	6.9	34	14	55.7	77.0	5.3	4
21	GSJY × 云诱二号	1 012	141	13.9	88	24	62.4	83.0	11.6	5
22	JY112 × 云诱二号	665	81	12.2	47	25	58.0	69.1	8.4	5
23	ZY335 × 云诱二号	1 195	187	15.6	154	58	82.4	69.0	10.8	5
24	KNY588 × 云诱二号	1 344	292	21.7	198	124	67.8	57.5	12.5	5
25	HD809 × 云诱二号	1 087	215	19.8	138	12	64.2	94.4	18.7	4
26	ZY5 × 云诱二号	696	83	11.9	65	3	78.3	96.4	11.5	5
27	ZHY × 云诱三号	1 264	204	16.1	142	52	69.6	74.5	12.0	5
28	JY808 × 云诱三号	294	95	32.3	84	66	88.4	30.5	9.9	4
29	RY889 × 云诱三号	305	45	14.8	23	12	51.1	73.3	10.8	3
30	WG5268 × 云诱三号	984	130	13.2	99	9	76.2	93.1	12.3	4
31	GZY115 × 云诱三号	970	196	20.2	111	44	56.6	77.6	15.7	5
32	GY3868 × 云诱三号	1 345	180	13.4	130	8	72.2	95.6	12.8	5
33	GA7 × 云诱三号	845	66	7.8	40	26	60.6	60.6	4.7	5
34	GSJY × 云诱三号	680	99	14.6	54	10	54.5	89.9	13.1	4
35	JY112 × 云诱三号	314	29	9.2	26	5	89.7	82.8	7.6	5
36	ZY335 × 云诱三号	1 085	134	12.4	112	28	83.6	79.1	9.8	5
37	KNY588 × 云诱三号	1 251	171	13.7	94	50	55.0	70.8	9.7	5
38	HD809 × 云诱三号	1 178	180	15.3	102	20	56.7	88.9	13.6	5
39	ZY5 × 云诱三号	484	64	13.2	37	1	57.8	98.4	13.0	5
40	ZHY × 云诱四号	703	77	11.0	56	16	72.7	79.2	8.7	3
41	JY808 × 云诱四号	518	70	13.5	60	20	85.7	71.4	9.7	5
42	RY889 × 云诱四号	705	115	16.3	64	19	55.7	83.5	13.6	5
43	WG5268 × 云诱四号	701	133	19.0	116	8	87.2	94.0	17.8	5
44	GZY115 × 云诱四号	680	221	32.5	190	133	86.0	39.8	12.9	5
45	GY3868 × 云诱四号	869	131	15.1	76	20	58.0	93.9	14.2	5
46	GA7 × 云诱四号	1 120	66	5.9	34	10	51.5	84.8	5.0	5
47	GSJY × 云诱四号	707	80	11.3	54	10	67.5	87.5	9.9	5
48	JY112 × 云诱四号	235	8	3.4	7	5	87.5	37.5	1.3	3
49	ZY335 × 云诱四号	805	109	13.5	54	2	49.5	98.2	13.3	5
50	KNY588 × 云诱四号	800	154	19.3	84	36	54.5	76.6	14.8	5
51	HD809 × 云诱四号	784	111	14.2	62	2	55.9	98.2	13.9	4
52	ZY5 × 云诱四号	272	48	17.6	24	2	50.0	95.8	16.9	4

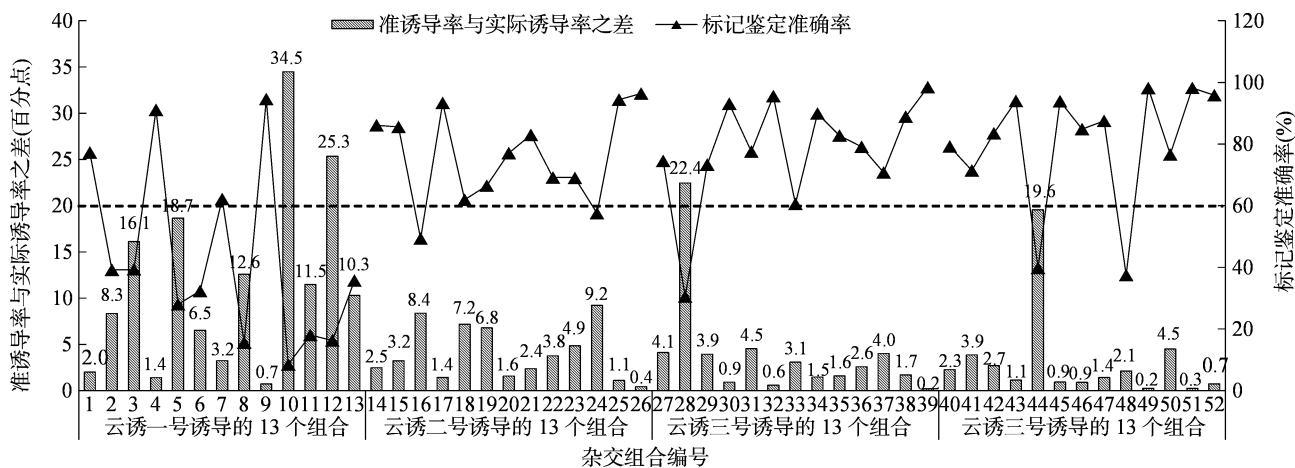


图1 52 个杂交组合的准诱导率与实际诱导率之差及子粒 Navajo 标记鉴定准确率

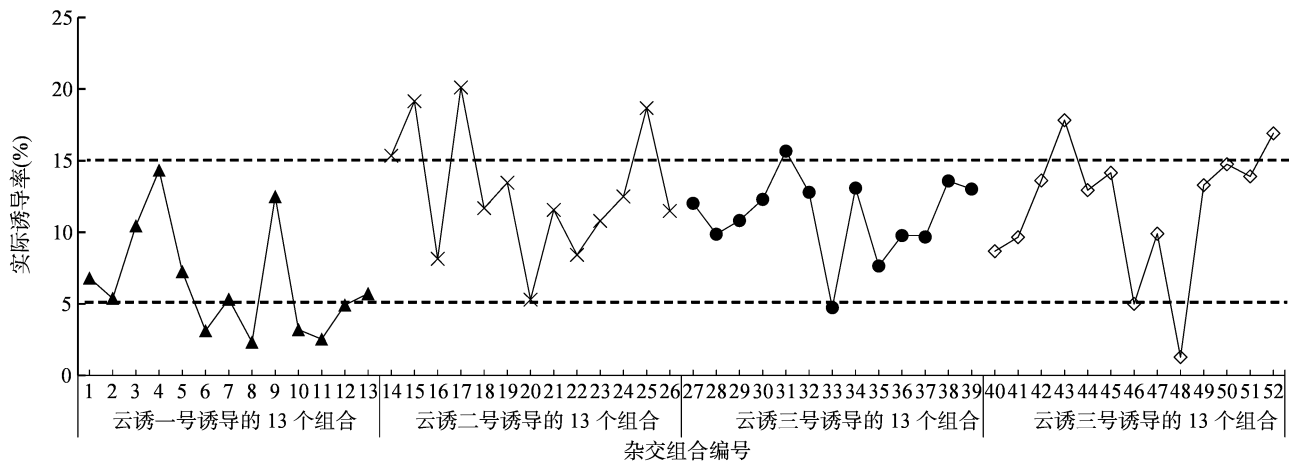


图2 52 个杂交组合的实际诱导率

表 3 各性状方差分析表

变异来源	自由度	准诱导率 (%)			实际诱导率 (%)			标记鉴定准确率 (%)		
		平方和	均方	F 值	平方和	均方	F 值	平方和	均方	F 值
基础材料	12	1 051.0	87.6	2.56 *	332.8	27.7	2.24 *	6 360.6	530.1	1.24 *
诱导系	3	92.6	30.9	0.90	307.8	102.6	8.30 **	12131.3	4 043.8	9.47 **

注：* 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。表 5 同。

表 4 诱导系间实际诱导率和标记鉴定准确率的多重比较

诱导系	实际诱导率 (%)		标记鉴定准确率 (%)	
	均值	0.01 水平	均值	0.01 水平
云诱一号	6.45	B	42.94	B
云诱二号	12.82	A	76.08	A
云诱三号	11.15	A	78.08	A
云诱四号	11.69	A	80.03	A

注：同列不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

个诱导系诱导 13 份母本材料获得单穗平均杂交总粒数和单穗平均单倍体粒数进行方差分析, 结果 (表 5) 表明, 单穗平均杂交总粒数和单穗平均单倍

体粒数在基础材料间的差异均达到极显著水平, 在诱导系间的差异分别达到显著和极显著水平。

对单穗平均杂交总粒数和单穗平均单倍体粒数进行多重比较, 结果 (表 6) 表明, 云诱二号诱导母本材料获得的单穗平均杂交总粒数最多, 为 211.11 粒, 云诱一号和云诱三号次之, 三者间差异不显著; 云诱四号诱导母本材料获得的单穗平均杂交总粒数最少, 为 150.58 粒, 显著低于其他 3 个诱导系。云诱二号诱导母本材料获得的单穗平均单倍体粒数最多, 为 27.75 粒, 显著高于其他 3 个诱导系; 云诱一号诱导母本材料获得的单穗平均单倍体粒数最少, 为 9.98 粒, 显著低于其他 3 个诱导系。

表 5 单穗平均杂交总粒数和单穗平均单倍体粒数的方差分析表

变异来源	自由度	单穗平均杂交总粒数(粒)			单穗平均单倍体粒数(粒)		
		平方和	均方	F 值	平方和	均方	F 值
基础材料	12	166 190.7	13 849.23	6.26 **	2 569.98	214.17	3.54 **
诱导系	3	24 519.81	8 173.27	3.69 *	2 130.77	710.26	11.73 **

表 6 诱导系间单穗平均杂交总粒数和单穗平均单倍体粒数的多重比较

诱导系	单穗平均杂交总粒数(粒)		单穗平均单倍体粒数(粒)	
	均值	0.05 水平	均值	0.05 水平
云诱一号	189.01	a	9.98	c
云诱二号	211.11	a	27.75	a
云诱三号	179.88	ab	20.67	b
云诱四号	150.58	b	17.25	b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.4 14 份单倍体籽粒自然加倍分析

对 14 份单倍体材料进行自然加倍处理(由于 29 号组合单倍体材料的成株数较少,所以不参与授

粉率和结实株率分析),自然加倍结果见表 7。由表 7 可知,14 份单倍体材料的授粉率介于 3.6% ~ 19.6% 之间,结实株率介于 1.2% ~ 10.7% 之间,平均授粉率为 10.2%,平均结实株率为 3.8%,授粉率和结实株率的变化幅度均较大。14 份单倍体材料中的 7 份结实株数少于授粉株数的一半,较多单倍体植株授粉后不结实,仅 2 份单倍体材料的加倍结实株率超过 10%,说明单倍体自然加倍效率较低。云诱二号诱导产生的单倍体材料自然加倍的平均授粉率(11.72%)和平均结实株率(5.6%)是最高的,说明云诱二号诱导产生的单倍体材料自然加倍效果最好。

表 7 14 份单倍体材料自然加倍效果

杂交组合编号	杂交组合	单倍体数(株)	授粉数(株)	结实数(株)	授粉率(%)	结实株率(%)
14	ZHY × 云诱二号	166	21	10	12.7	6.0
16	RY889 × 云诱二号	38	5	2	13.2	5.3
18	GZY115 × 云诱二号	69	4	2	5.8	2.9
19	GY3868 × 云诱二号	112	22	12	19.6	10.7
23	ZY335 × 云诱二号	96	7	3	7.3	3.1
27	ZHY × 云诱三号	90	5	3	5.6	3.3
29	RY889 × 云诱三号	11 *	0	0	—	—
31	GZY115 × 云诱三号	67	6	2	9.0	3.0
32	GY3868 × 云诱三号	122	9	4	7.4	3.3
36	ZY335 × 云诱三号	84	3	1	3.6	1.2
40	ZHY × 云诱四号	40	3	2	7.5	5.0
42	RY889 × 云诱四号	45	5	3	11.1	6.7
44	GZY115 × 云诱四号	57	4	2	7.0	3.5
45	GY3868 × 云诱四号	56	8	6	14.3	10.7
49	ZY335 × 云诱四号	48	3	1	6.3	2.1

注:“*”表示不参与分析授粉率和结实株率。

3 讨论

3.1 诱导系与母本的互作

诱导率高低作为评价玉米单倍体诱导系诱导效果好坏的重要标准,是选育诱导系的首要考虑因素。本研究中 52 个杂交组合的实际诱导率介于 1.3% ~ 20.1% 之间,变化幅度较大,表明诱导系与

基础材料的遗传背景都会影响单倍体诱导率,这与前人的研究结果^[13-14]相一致。4 个诱导系对 13 份基础材料诱导效果不同,表明云诱系列诱导系存在各自的优势诱导基础材料,可根据育种基础材料血缘选择最优诱导系。

3.2 影响诱导率评价的因素

依据诱导率计算公式,单倍体诱导率除与果穗

上单倍体的数量成正比外,还受果穗杂合籽粒数的影响。受遗传因素影响,单倍体诱导的过程中伴随着一定比例的败育,且籽粒败育率与诱导率正线性相关^[15-16]。此外,不利的环境条件也会减弱授粉效果导致结实数减少。当雌穗结实籽粒数降低到一定范围以下时,仅用单倍体诱导率来评价诱导系,可能就无法真实反映诱导系的单倍体诱导性能,应结合单穗单倍体粒数来评估诱导系的诱导能力,而单穗获得单倍体粒数与其结实籽粒数相关,最佳的单穗结实数在 100~300 粒之间^[17]。本研究中 4 个诱导系诱导母本材料获得的单穗平均总杂交粒数都超过了 150 粒,具有较好的结实数,且云诱二号、云诱三号和云诱四号诱导母本材料获得的单穗平均单倍体粒数均超过 17 粒,此外,这 3 个诱导系的平均实际诱导率均较高,都达 11% 以上,表明这 3 个单倍体诱导系在保证具有高诱导率的同时,亦获得较高的单倍体产量。

3.3 热带玉米单倍体诱导系的选育

目前,生产上使用较多的诱导系是温带诱导系,将其应用到热带玉米种质资源中,诱导率将大幅降低。吴迅等用 4 份不同来源的诱导系诱导 3 个热带玉米群体,发现随着群体中热带血缘的增加,诱导率也逐渐降低^[18]。为了选育出适用于热带种质和热带环境的诱导系,育种家们做了大量努力。广西壮族自治区农业科学院的科研工作者对农大高诱 1 号进行改良,选育出了适应亚热带环境 Y8 诱导系(诱导率最高达到 6.3%)和平均诱导率介于 2.24%~4.64% 之间的 6 个桂诱系列热带玉米单倍体诱导系^[19-20]。国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)的育种家创制了诱导率达 8%~10% 的适合热带地区应用的诱导系——TAIL (tropical adapted inducer lines),极大地提高了热带亚热带地区 DH 育种的效率^[21]。本试验中使用的 4 个新选育的云诱系列热带玉米诱导系诱导 13 个温热杂交种均获得较高的诱导率,尤其云诱二号的平均实际诱导率最高(12.82%)且获得高诱导率组合(实际诱导率>15%)概率最大;云诱三号诱导能力强,且受母体遗传背景的影响最小,诱导效果比较稳定。进行 DH 技术育种时可以加大对诱导系云诱二号和云诱三号的利用。

3.4 Navajo 标记鉴定单倍体对诱导率的影响

$R-nj$ 标记基因在胚和胚乳的表达可以帮助区分单倍体和杂合二倍体籽粒,但南方育种常使用的热

带亚热带种质中往往含有花青素抑制基因 $Cl-I$,会弱化或抑制 $R-nj$ 标记基因表达,使诱导所得籽粒的 Navajo 标记显色较弱,依据籽粒 Navajo 标记筛选单倍体效率较低^[21-22]。江禹奉等用 6 个桂诱系列热带玉米诱导系诱导 9 个不同的热带玉米种质,得到的平均 Navajo 标记鉴定准确率为 28.16%~50.52%^[20]。本研究用 4 个云诱系列热带玉米诱导系诱导 13 份温热杂交种,得到的 52 份单倍体的标记鉴定准确率介于 8.5%~98.4% 之间,实际诱导率比准诱导率降低了 0.2~34.5 百分点,可能是由于基础材料所含热带血缘的比例不同导致 $R-nj$ 基因表达显色强度不同,进而影响肉眼筛选单倍体的准确率。其中有 12 个杂交组合的标记鉴定准确率低 于 40%,可能是由于诱导籽粒胚标记显色弱,导致准单倍体大量误选。由于 Navajo 颜色标记在不同种质资源中的表达强度差异大,可以通过引入额外的标记性状对 4 个云诱系列热带玉米单倍体诱导系进行改良,提高其单倍体鉴定的准确性和可靠性。

3.5 单倍体的自然加倍

单倍体经过染色体加倍获得的 DH 系是直接用于育种的材料,因此单倍体加倍频率直接影响到 DH 育种的效率。大多数育种材料自然加倍率仅为 0~10%^[10]。本研究中进行自然加倍处理的 14 份单倍体材料结实株率介于 1.2%~10.7% 之间,变异幅度大,说明父母本遗传背景对单倍体加倍频率有较大影响,与前人研究结果^[1,13] 相一致。14 份材料的平均授粉率为 10.2%,平均结实株率为 3.8%,平均结实株率较平均授粉率大幅降低,可能是受到花期不遇以及栽培地气候环境条件的影响,导致自交结实较差等问题。而云诱二号诱导产生的单倍体材料自然加倍的平均授粉率(11.72%)和平均结实株率(5.6%)是 4 个诱导系中最高的,说明由云诱二号诱导得到的单倍体自然加倍效果表现突出,可以加大对它的利用。

除通过单倍体加倍获得 DH 系作为育种材料外,诱导系在诱导产生单倍体的同时,也会产生一部分早期加倍单倍体,即 EH 系(early doubled haploid or embryo double haploid,简称 EH)^[23-24]。相较于 DH 系,EH 系株型高大,花粉量大且全部可育,授粉结实正常,利用其选育新品种时可省略 DH 系扩繁环节,直接进入测配阶段,获得优良品种的概率也随之增加^[25]。虽然 EH 现象广泛存在,但发生概率不到 4%,很难满足规模化育种需求^[25]。如

果能对 4 个诱导系进行进一步改良,选育出能高频生产 EH 系的诱导系,利用前景将非常广阔。

4 结论

本研究用 13 份温热杂交种作母本对 4 个云诱系列热带玉米单倍体诱导系的诱导能力进行测验鉴定,发现云诱二号、云诱三号和云诱四号的平均实际诱导率($>11\%$)、单穗平均单倍体粒数(>17 粒)和平均标记鉴定准确率($>75\%$)都显著高于云诱一号,其中云诱二号诱导产生的单穗平均单倍体粒数最多,平均实际诱导率最高,产生高诱导率组合(实际诱导率 $>15\%$)的概率最大,云诱三号的诱导能力强且诱导效果较稳定,有良好的应用前景。在景洪冬季田间种植条件下,对诱导率较高的云诱二号、云诱三号和云诱四号诱导产生的 14 份单倍体材料进行自然加倍效果测验,发现云诱二号诱导产生的单倍体材料自然加倍效果最好。此外云诱二号和云诱三号具有花期长、花粉量大、抗逆性强的特点,是优异的热带诱导系。4 个诱导系的诱导和加倍能力还需要进一步在不同环境下和更多的基因型中进行验证分析,充分挖掘 4 个诱导系各自的最优诱导基础材料,根据育种基础材料血缘选择最适诱导系,实现高效育种。

参考文献:

- [1] 武云昊,孙洁,姜龙,等. 不同遗传基础甜玉米单倍体的诱导和加倍效果研究[J]. 东北农业科学,2022,47(1):31-34.
- [2] Coe E H Jr. A line of maize with high haploid frequency[J]. The American Naturalist,1959,93(873):381-382.
- [3] Rotarencu V, Dicu G, State D, et al. New inducers of maternal haploids in maize[J]. Maize Genetics Cooperation Newsletter,2010,84:1-7.
- [4] 刘志增,宋同明. 玉米高频率孤雌生殖单倍体诱导系的选育与鉴定[J]. 作物学报,2000,26(5):570-574.
- [5] 陈绍江,宋同明. 利用高油分的花粉直感效应鉴别玉米单倍体[J]. 作物学报,2003,29(4):587-590.
- [6] Geiger H H, Gordillo G A. Doubled haploids in hybrid maize breeding[J]. Maydica,2009,54(4):485-499.
- [7] 杨巍,任雪娇,慈佳宾,等. 不同生态条件下玉米单倍体诱导系 JS5-27 和 JS17-1 的诱导效果[J]. 吉林农业大学学报,2018,40(5):540-544.
- [8] 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.
- [9] 才卓,徐国良,刘向辉,等. 玉米高频率单倍体诱导系吉高诱系 3 号的选育[J]. 玉米科学,2007,15(1):1-4.
- [10] Chase S S. Monoploids and monoploid - derivatives of maize (*Zea mays* L.)[J]. The Botanical Review,1969,35(2):117-168.
- [11] 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.
- [12] 李忠南,王越人,郭生辉,等. 玉米单倍体自然加倍花粉结实力遗传的初步研究[J]. 作物杂志,2021(2):57-61.
- [13] 杨通文,柏光晓,陈汁雯,等. 3 个单倍体诱导系对不同基础群体玉米材料的诱导效率研究[J]. 种子,2020,39(9):21-25.
- [14] 高佳琪,王琨,徐梅艳,等. 鲜食玉米单倍体诱导率的影响因素研究[J]. 玉米科学,2021,29(5):15-21,27.
- [15] Liu C X, Li W, Zhong Y, et al. Fine mapping of *qhir8* affecting *in vivo* haploid induction in maize[J]. Theoretical and Applied Genetics,2015,128(12):2507-2515.
- [16] Xu X W, Li L, Dong X, et al. Gametophytic and zygotic selection leads to segregation distortion through *in vivo* induction of a maternal haploid in maize[J]. Journal of Experimental Botany,2013,64(4):1083-1096.
- [17] Liu C X, Li J L, Chen M, et al. Development of high-oil maize haploid inducer with a novel phenotyping strategy[J]. The Crop Journal,2022,10(2):524-531.
- [18] 吴迅,杨克相,郭向阳,等. 基于热带玉米种质的高效诱导自交系筛选[J]. 玉米科学,2018,26(3):17-21.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] Chaikam V, Martinez L, Melchinger A E, et al. Development and validation of red root marker-based haploid inducers in maize[J]. Crop Science,2016,56(4):1678-1688.
- [23] 慈佳宾. 玉米 DH 育种关键技术研究及不同类型 DH 系遗传分析[D]. 长春:吉林农业大学,2015:6-8.
- [24] 贾波,谢庆春,余艳欢. 4 个玉米单倍体诱导系的诱导效果[J]. 江苏农业科学,2023,51(5):129-133.
- [25] Wu P H, Ren J J, Li L, et al. Early spontaneous diploidization of maternal maize haploids generated by *in vivo* haploid induction[J]. Euphytica,2014,200(1):127-138.