

玉米单倍体诱导系间杂交种评价及其杂种优势分析及其杂交组合选育

徐小炜^{1,2} 董昕^{1,2} 黎亮^{1,2} 刘晨旭^{1,2} 张艳^{1,2} 刘文欣^{1,3} 陈绍江^{1,2,3*}

(中国农业大学 1. 农学与生物技术学院/2. 国家玉米改良中心/3. 北京市作物遗传改良重点实验室, 北京 100193)

摘要 利用 2 个诱导系与 25 个单倍体诱导率呈现梯度变化的材料, 采用 NCI 设计, 组配了 50 个杂交组合, 并对其诱导率及农艺性状进行了评价。结果表明, 诱导性状的杂种优势不显著, F_1 代诱导率呈现出接近中亲值或略低于中亲值的特点, 但 F_1 的农艺性状较双亲有了显著提升, 尤其是在株高、雄穗长度等方面表现出较强的杂种优势。经筛选评价, 2 个杂交组合诱导率稳定在 8.5% 以上, 可在今后的育种中加以利用。

关键词 玉米; 单倍体; 杂交种; 杂种优势

中图分类号 S 513 文章编号 1007-4333(2014)04-0001-06 文献标志码 A

Selection of maize inducer hybrid and heterosis analysis of the hybrid

XU Xiao-wei^{1,2}, DONG Xin^{1,2}, LI Liang^{1,2}, LIU Chen-xu^{1,2},
ZHANG Yan^{1,2}, LIU Wen-xin^{1,3}, CHEN Shao-jiang^{1,2,3*}

(1. College of Agronomy and Biotechnology/2. Maize Improvement Center of China/

3. Beijing Key Laboratory of Crop Genetics Improvement, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In this study, fifty F_1 crosses originated from two inducers and 25 materials with various haploid induction rate (HIR) have been made by the NCI experimental design. All these crosses had been evaluated for the HIR and agronomic performance. The results showed that heterosis for haploid induction trait was not significant. The HIRs for F_1 crosses were the same as that of middle parent value or below, but the agronomic performance were significantly improved, especially the plant height and tassel length showed strong heterosis. In this study, we developed two inducer hybrids, with the HIR of approximately 8.5% and a better agronomic performance, which could be used in future haploid induction work.

Key words maize; haploid; hybrid; heterosis

利用玉米单倍体诱导材料作父本与其他玉米材料进行杂交, 可在其子代中获得一定频率的单倍体^[1]。基于该方法发展起来的单倍体育种技术已经在育种实践中得到规模化应用。Stock6 是第一个选育出的单倍体诱导系, 其诱导率达到 2% 左右^[2]。在此基础上, 已经选育出了一批优良的高频诱导系如 WS14^[3]、RWS^[4]、UH400^[5]、农大高油高诱 1 号、农大高诱 2~5 号^[1] 和吉高诱 3 号^[6] 等。虽然这些诱导系在诱导率方面较 Stock6 有了大幅的提高,

但在农艺性状如散粉性、结实性、抗倒性、抗逆性和适应性等方面仍需改进。

杂种优势是生物界的普遍现象, 并已在作物育种及作物生产中得到广泛应用^[7]。利用杂种优势规律组配诱导系间杂交种来提高现有诱导材料农艺性状是一种可行的方式。Kebede 等^[8] 利用 UH400 以及 RWS 组配了诱导系间杂交种, 并利用该杂交组合进行了单倍体的诱导。徐玉波等^[9] 利用低诱导率材料组配了 23 个 F_1 杂交组合, 发现在双亲诱导率

收稿日期: 2013-10-09

基金项目: 国家 863 计划项目(2011AA10A103); 现代农业玉米产业技术体系(CARS-02-09)

第一作者: 徐小炜, 博士研究生, E-mail: xuxiaowei32@126.com

通讯作者: 陈绍江, 教授, 主要从事玉米单倍体育种研究, E-mail: chen368@126.com

较低时, F_1 代诱导率有较高的杂种优势, 诱导性状的杂种优势具有超亲现象。但目前尚无对于单倍体诱导材料杂种优势的系统研究。

本研究采用 NCII 设计, 通过组配 50 个 F_1 杂交组合, 对每个杂交组合的单倍体诱导能力进行检测, 并对杂交组合本身的农艺性状进行测定, 其目的是: 1) 利用所配置的不同杂交组合, 分析单倍体诱导性状的遗传规律; 2) 分析不同组合中, 单倍体诱导性状是否存在杂种优势; 3) 组配的诱导系间杂交种在农艺性状上是否较亲本有明显提升。

1 材料与与方法

1.1 材料

本试验采用 NC II 设计, 利用高频诱导系 CAU5、UH400 与诱导率呈现梯度差异的 19 个诱导系及 6 个常规系组配了 50 个杂交组合。其中, 高频诱导系 CAU5 由中国农业大学选育, 平均诱导率 10% 左右; UH400 引自德国霍恩海姆大学, 平均诱导率 8% 左右。19 个诱导率显著差异的诱导系均为中国农业大学选育(表 1), 其中, 低诱导系 5 份(低), 中诱导系 6 份(中), 高诱导系 8 份(高)。6 个无诱导率材料为常用玉米自交系(无)。按双亲组配方式, 将杂交组合分为 4 类: I, 无诱导率/高诱导率(无/高)组合, 共 12 个; II, 低诱导率/高诱导率(低/高)组合, 共 10 个; III, 中诱导率/高诱导率(中/高)组合, 共 12 个; IV, 高诱导率/高诱导率(高/高)组合, 共 16 个。杂交组合于 2010 年在海南组配, 于 2011 年在北京上庄实验站进行单行种植, 行长 3 m, 每行 13 株, 株距为 25 cm。

1.2 单倍体诱导率鉴定

测定诱导率所使用的母本测验种为郑单 958。当利用郑单 958 作母本时, 杂交诱导子粒的 $R1-n_j$ 标记表达非常清晰^[5,10], 单倍体子粒挑选的准确率能够达到 85% 以上。将单行种植的 F_1 杂交组合, 行内混粉, 诱导 5 穗以上的郑单 958。在杂交子粒中, 单倍体表现为胚无色而胚乳紫色, 而杂合二倍体子粒的胚与胚乳均表现为紫色。杂交诱导后每个组合选取结实较饱满的杂交果穗分别进行单倍体诱导率的统计: 单倍体诱导率/% = 单倍体子粒/(单倍体子粒 + 杂合二倍体子粒) × 100。中亲优势的计算方法为: $MPH/\% = [F_1 - (P_1 + P_2)/2] / (P_1 + P_2) / 2 \times 100$, 超亲优势计算方法为: $BPH/\% = (F_1 - HP) / HP \times 100$

表 1 亲本材料诱导率及系谱来源

Table 1 Haploid induction rate and pedigree for parent materials

材料 Materials	诱导率/% Haploid induction rate	类型 Type	系谱来源 Pedigree
B73	0	无	瑞德
C7-2	0	无	塘四平头
Z58	0	无	瑞德
1680	0	无	瑞德
Mo17	0	无	兰卡
A188	0	无	非瑞德
CN987	1.20	低	UH400×CAU
CN1016	2.44	低	UH400×CAU
CN1010	1.95	低	UH400×CAU
CN1012	2.17	低	UH400×CAU
CAUHOI-1	2.13	低	Stock6×BHO
CN1015	4.20	中	UH400×CAU
CN1018	3.55	中	UH400×CAU
CN1020	3.50	中	UH400×CAU
CN1014	4.62	中	UH400×CAU
CN1017	5.11	中	UH400×CAU
LN09613-2	5.67	中	UH400×CAU
CN1013	10.30	高	UH400×CAU
LN09619-1	10.29	高	UH400×CAU
LN79	8.72	高	UH400×CAU
LN08 76-1	8.56	高	UH400×CAU
LN09612	9.37	高	UH400×CAU
LN09620	11.34	高	UH400×CAU
UH400	6.62	高	KEMS
CAU5	7.09	高	UH400×CAU

1.3 农艺性状鉴定

授粉结束 1 周后, 从各 F_1 组合中随机选取 5 株, 调查株高、穗位高、雄穗分支数和雄穗分支长。并鉴定杂交组合的诱导系农艺性状。

2 结果与分析

2.1 不同杂交组合的诱导率及其遗传分析

利用 25 个诱导率呈现梯度差异的诱导系或常规系与 CAU5 及 UH400 组配 50 个杂交组合, 单倍体的平均诱导率为 4.83%。在 50 个组合中, 11 个

组合表现出中亲优势,1个组合的诱导率与中亲值一致,其余38个组合的诱导率均低于中亲值,表明诱导率性状的杂种优势不显著。若以超亲优势衡量杂种优势,则仅有2个组合显示出超亲优势,并且亲本之一均为LN0876-1。在所有组合中,1680/CAU5的诱导率最低,仅为1.57%;而组合

LN09620/CAU5的诱导率最高,达到10.67%,中亲优势值达到15.78%(表2),呈现出显著的杂种优势。对双亲诱导率均值与相应组合的诱导率进行相关性分析(图1),结果表明随着双亲诱导率均值提高, F_1 组合的诱导率也显著提高, R^2 值达到0.6949。

表2 不同杂交组合的单倍体诱导率及配合力分析

Table 2 Analysis on combining ability and haploid induction rate among different cross combinations

材料 Materials	CAU5			UH400			均值 Mean	一般配合力 General combining ability
	样本量 Sample size	诱导率 Haploid induction rate	特殊配合力 Special combining ability	样本量 Sample size	诱导率 Haploid induction rate	特殊配合力 Special combining ability		
B73	1 177	3.48	-0.47	658	4.26	0.47	3.87	-0.96
C7-2	115	1.74	0.01	193	1.55	-0.01	1.65	-3.19
Z58	2 689	3.16	-0.01	2 115	3.03	0.01	3.09	-1.74
1680	575	1.57	-0.89	2 045	3.18	0.89	2.37	-2.46
M017	1 815	2.92	-0.10	3 347	2.96	0.10	2.94	-1.89
A188	654	2.45	0.30	480	1.68	-0.30	2.06	-2.77
平均 Mean		2.55			2.78		2.66	
CN987	8 550	3.06	-0.70	6 607	4.30	0.70	3.68	-1.15
CN1016	1 013	4.54	0.37	1 838	3.65	-0.37	4.09	-0.74
CN1010	4 098	4.42	0.19	1 574	3.88	-0.19	4.15	-0.69
CN1012	1 557	5.27	0.86	3 169	3.38	-0.86	4.32	-0.51
CAUHOI	1 114	4.76	-0.01	11 683	4.61	0.01	4.69	-0.15
平均 Mean		4.41			3.96		4.18	
CN1015	1 449	2.97	-1.60	1 033	6.00	1.60	4.48	-0.35
CN1018	4 101	4.07	-0.55	3 189	5.02	0.55	4.54	-0.29
CN1020	1 896	4.80	0.02	4 179	4.59	-0.02	4.70	-0.14
CN1014	1 311	5.03	0.18	3 832	4.51	-0.18	4.77	-0.06
CN1017	1 355	4.21	-0.73	3 255	5.50	0.73	4.85	0.02
LN09613-2	1 428	5.74	0.14	434	5.30	-0.14	5.52	0.69
平均 Mean		4.47			5.15		4.81	
CN1013	2 704	6.99	1.24	4 490	4.34	-1.24	5.67	0.83
LN09619-1	418	7.66	1.57	1 836	4.36	-1.57	6.01	1.17
LN79	4 894	5.78	-0.40	12 308	6.42	0.40	6.10	1.27
LN0876-1	746	8.85	-0.13	861	8.94	0.13	8.90	4.06
LN09612	861	8.94	-0.03	746	8.85	0.03	8.90	4.06
LN09620	628	10.67	0.76	1 458	8.98	-0.76	9.83	4.99
平均 Mean		8.15			6.98		7.57	
平均 Mean	—	4.92	—	—	4.75	—	4.83	—
GCA	—	0.08	—	—	-0.08	—	—	—

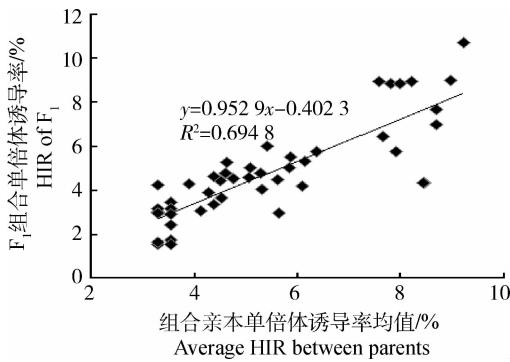


图1 50个F₁组合的诱导率与双亲诱导率均值的相互关系

Fig. 1 Relationship between haploid induction rate among fifty cross combinations and mean haploid induction rate for two parents

对CAU5组配的不同组合按类型进行分析。无/高类型各组合的平均诱导率为2.55%，显著低于双亲的平均单倍体诱导率(3.55%)，但B73/CAU5组合的诱导率均达到3.48%(与UH400组配的B73/UH400的诱导率更是达到4.26%)，远高于该类型中其余组合的诱导率；在低/高类型中，各组合的平均诱导率为4.41%，与双亲的平均诱导率(4.53%)较一致；在中/高类型中，各组合的平均诱导率为4.47%，与低/高类型的诱导率表现一致，但低于双亲平均单倍体诱导率(5.77%)；在高/高类型中，各组合的平均诱导率为8.15%，与双亲均值8.06%接近。按照4种类型组合的均值进行统计，利用CAU5组配的F₁诱导率与双亲诱导率均值的相关系数为0.9680，而UH400组配的F₁诱导率与双亲诱导率均值的相关系数可高达0.9960。结果表明，UH400所组配的各类型组合均值均低于双亲均值；在CAU5组配的各类型组合中，除低/高组合与高/高组合的均值与双亲均值接近以外，剩余2种类型组合的均值都低于双亲均值，可见单倍体诱导性状的杂种优势效应不明显，但所组配的组合，尤其是高/高类型组合能够保证单倍体诱导率与之前高诱导率诱导系的诱导水平持平。以UH400组配的不同类型组合也显示出同样的趋势(表2)。

2.2 诱导率性状的配合力分析

50个F₁组合的单倍体诱导性状的分析结果表明，CAU5与UH400的一般配合力有一定差异，但是其余材料的一般配合力差异更大(表2)。当利用无、低、中诱导率材料进行F₁组配时，除LN09613-2

与CN1017以外，一般配合力均表现为负值，而当利用高诱导率材料与CAU5或UH400进行F₁组配时，其一般配合力均表现为正值。对不同材料的特殊配合力进行分析，不同材料的特殊配合力差异较大，如利用CN1015这个中等诱导率的材料组配的2个组合，CN1015/CAU5的诱导率仅为2.97%，而CN1015/UH400的诱导率却达到了6.00%，两者相差3.03%。在所有25个不同材料中，所组配的相应2个组合之间诱导率相差达到1.00%以上材料的数目达到了9个，占到总体材料数目的36%。可见不同材料特殊配合力的差异较显著，表明针对诱导系间杂交种展开专门的选育工作很有必要。

2.3 杂交组合的农艺性状分析

在农艺性状方面，各杂交组合的杂种优势体现较明显，所有杂交组合的平均株高达到207.3cm，平均雄穗长度达到31.1cm，较亲本CAU5与UH400显示出明显的杂种优势(表3)。综合看来，无/高组合农艺性状方面的杂种优势表现更加突出。在无/高组合中，平均株高达到233.8cm，显著超出了其余类型组合。

2.4 选育出的优良单倍体诱导组合

综合诱导率以及农艺性状等因素，以高/高组合表现最佳。本研究中CAU5组配的组合诱导率最高的为CAU5×LN09620，其诱导率可以达到10.67%，UH400组配的组合诱导率最高的为UH400×LN09620，诱导率能够保证在8.50%以上。这2个组合的农艺性状较双亲显著提升。

3 讨论

随着对单倍体诱导性状的深入研究，诱导性状的遗传特点已经被逐步解析开来。Prigge等^[5]利用诱导系UH400(8%)与无诱导率自交系1680及低诱导率材料CAUHOI(2%)组配了1680-UH400群体与CAUHOI-UH400群体，在这2个群体的多个世代中分别检测到了控制单倍体诱导能力的主效QTL位点 $qhir1$ 与 $qhir8$ 。该研究发现 $qhir1$ 能控制单倍体诱导能力的有无，并可以解释表型变异的62.24%~66.41%，且在诱导系UH400及CAUHOI中都具有该位点；但是UH400除了 $qhir1$ 这个主效位点以外，相较于CAUHOI还具有 $qhir8$ 这个位点， $qhir8$ 能解释表型变异的20.36%~31.04%。除以上2个位点以外，单倍体诱导性状还

表3 不同杂交组合的F₁代农艺性状表现

Table 3 Agronomic performance for different cross combinations

材料 Material	CAU5				UH400			
	株高/cm Plant height	穗高/cm Ear height	雄穗分支数 Tassel branch number	雄穗长/cm Tassel length	株高/cm Plant height	穗高/cm Ear height	雄穗分支数 Tassel branch number	雄穗长/cm Tassel length
B73	256.8	90.2	10.2	35.7	237.6	124.4	9.2	32.4
C7-2	248.8	130.0	14.0	38.4	235.4	102.8	14.4	36.2
Z58	223.0	70.8	11.4	35.2	237.6	124.4	9.2	33.0
1680	256.6	97.0	15.6	34.2	231.0	77.8	12.8	34.6
M017	214.6	57.6	10.2	33.4	229.0	91.2	8.4	32.3
A188	214.0	66.0	9.4	31.9	220.6	67.0	11.0	29.8
平均 Mean	235.6	85.3	11.8	34.8	231.9	97.9	10.8	33.1
CN987	201.6	56.0	8.8	32.6	203.8	57.6	13.0	32.6
CN1016	206.4	63.2	8.6	30.2	202.6	62.4	11.2	33.6
CN1010	205.0	52.0	8.0	30.6	171.0	42.3	8.5	29.0
CN1012	192.0	52.2	8.2	29.0	198.4	47.0	8.0	28.8
CAU	224.6	64.8	11.6	36.4	213.3	64.0	11.5	35.8
平均 Mean	205.9	57.6	9.0	31.8	197.8	54.7	10.4	32.0
CN1015	193.5	60.0	15.0	30.0	195.6	58.2	8.0	28.6
CN1018	210.0	54.2	11.8	29.2	198.0	39.6	10.6	30.0
CN1020	204.6	62.6	9.0	29.8	199.0	55.8	8.0	30.0
CN1014	216.4	74.0	6.8	30.2	210.2	52.8	8.2	31.6
CN1017	212.8	59.6	9.0	29.8	197.8	56.4	10.2	28.2
LN09613-2	158.5	35.3	7.8	28.8	171.8	38.0	8.4	26.4
平均 Mean	199.3	57.6	9.9	29.6	195.4	50.1	8.9	29.1
CN1013	203.4	55.8	10.6	26.8	202.6	50.8	10.2	28.6
LN09619-1	202.0	49.6	11.6	30.4	178.0	44.4	9.8	27.0
LN79	195.4	41.2	12.4	30.8	196.5	59.0	12.8	29.8
LN0876-1	188.8	66.4	6.6	31.1	193.8	54.8	5.6	30.2
LN09612	204.6	62.6	9.0	29.8	199.0	55.8	8.0	30.0
LN09620	190.8	47.0	11.2	28.4	187.0	48.0	14.0	30.0
平均 Mean	197.5	53.8	10.2	29.6	192.8	52.1	10.1	29.3
UH400	—	—	—	—	137.0	35.9	10.6	26.2
CAU5	145.7	30.0	12.1	23.7	—	—	—	—

受较多的微效 QTL 位点的影响。从本试验中,也发现单倍体诱导性状主要受加性效应位点控制,同时还受显性及上位性效应的影响。回顾诱导系的选育历程,最初的诱导系 Stock6 只携带 *qhir1* 位点,其诱导率较低(3.2%),通过多年的连续选择,更多的调控 *qhir1* 位点的基因(如 *qhir8* 等)被导入到诱导系中,使诱导系的诱导率逐步提高。

当前,几乎所有的单倍体诱导材料均来源于 Stock6^[4]。由于控制单倍体诱导性状的主效数量性状位点(*qhir1*) 在分离群体中的传递效率低,造成该位点在自然选择中很容易丢失^[5],加之单倍体诱导性状除受主效位点控制以外,还受许多微效基因控制^[5],更增加了优良单倍体诱导材料的选育难度。因此,当前适于商业化应用的单倍体诱导材料仍然较少。为了保证单倍体诱导材料的诱导率,在单倍体诱导系选育方面,较普遍的方法是利用 2 个单倍体诱导系组配二环系来选育诱导系,或利用诱导系作轮回亲本与普通材料进行回交选育^[1]。利用这些方法,不可避免的会造成诱导系选育的遗传基础较为狭窄农艺性状难以得到改善。本研究表明,利用诱导系杂交组合可以在保证较高诱导率的情况下明显改进诱导材料的农艺性状,有利于规模化诱导实施和利用,特别是 CAU5×LN09620 可以作为优异诱导系组合规模化应用于自交系选育。

参 考 文 献

- [1] 陈绍江,黎亮,李浩川,等. 玉米单倍体育种技术 [M]. 2 版. 北京:中国农业大学出版社,2012
- [2] Coe E H. A line of maize with high haploid frequency[J]. The American Naturalist,1959,93: 381-382
- [3] Lashermes P, Gaillard A, Beckert M. Gynogenetic haploid plants analysis for agronomic and enzymatic markers in maize (*Zea mays* L)[J]. Theor Appl Genet,1988,76:570-572
- [4] Röber, F K, Gordillo G A, Geiger H H. *In vivo* haploid induction in maize-performance of new inducers and significance for doubled haploid lines in hybrid breeding[J]. Maydica,2005,50:275-283
- [5] Prigge V, Xu X, Li L, et al. New insights into the genetics of *in vivo* induction of maternal haploids, the backbone of doubled haploid technology in maize[J]. Genetics,2012,190:781-793
- [6] 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
- [7] 刘纪麟. 玉米育种学[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,2001
- [8] 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,2011,180:219-226
- [9] 徐玉波,任保财,张宝石,等. 玉米单倍体诱导系的杂种优势利用研究[J]. 辽宁农业科学,2010(3):40-43
- [10] Li L, Xu X, Jin W, et al. Morphological and molecular evidences for DNA introgression in haploid induction via a high oil inducer CAUHOI in maize[J]. Planta,2009,230:367-376

责任编辑:袁文业