

张红芳, 向爱慧, 郝敬伟, 等. 甜糯玉米诱导山西省小麦双单倍体育种技术的优化[J]. 山西农业科学, 2025, 53(2): 159-165.
ZHANG H F, XIANG A H, XI J W, et al. Optimization of wheat double haploid breeding technology induced by sweet-waxy maize in shanxi province[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(2): 159-165.

doi:10.3969/j.issn.1002-2481.2025.02.19

甜糯玉米诱导山西省小麦双单倍体育种技术的优化

张红芳, 向爱慧, 郝敬伟, 乔 玲

(山西农业大学 小麦研究所, 山西 临汾 041000)

摘 要: 小麦、玉米远缘杂交极大地缩短了育种进程, 是获得双单倍体植株的重要途径之一。研究通过培养基成分、培养条件和秋水仙素加倍试验比较获得适合山西省玉米诱导小麦单倍体产生的技术体系, 并筛选出具有优异性状的品系。结果表明, 每年1月15—22日将甜糯玉米品种白甜糯种植在温室可以与大田小麦临汾5064和晋麦84杂交的F₁花期相遇; 将去雄授粉后24 h的小麦杂交穗, 离体培养在磷酸二氢钾3 g/L+亚硫酸8 mL/L+硝酸银10 mg/L+2, 4-D 100 mg/L+蔗糖40 g/L培养液中, 14 d后剥胚培养, 得胚率达到34.08%; 将胚培养在添加了0.1 mg/L 2, 4-D和0.2 mg/L 6-BA激素的1/2 MS培养基中, 幼胚快速萌动生长, 幼苗粗状根数较多, 萌发率(84.36%)及成苗率(72.04%)都达到最高。将单倍体植株用500 mg/L的秋水仙素处理5 h, 并持续通气的幼苗成活率和加倍率均最高, 分别为79.52%和55.42%。最终得到155个DH系, 从中鉴定出8个含有优质亚基、农艺性状优良的小麦品系, 可应用于山西省小麦遗传育种的实际工作中。

关键词: 小麦; 玉米; 远缘杂交; 双单倍体

中图分类号: S512.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-2481(2025)02-0159-07

Optimization of Wheat Double Haploid Breeding Technology Induced by Sweet-Waxy Maize in Shanxi Province

ZHANG Hongfang, XIANG Aihui, XI Jingwei, QIAO Ling

(Institute of Wheat, Shanxi Agricultural University, Linfen 041000, China)

Abstract: Wheat-maize distant hybrid technique is one of the important way to produce double haploid plants, which can shorten the breeding process. In this study, by comparing culture medium composition, culture conditions, and colchicine doubling experiments, an optimal technical system for maize induced wheat haploid production in Shanxi was obtained, and lines with excellent traits were select. The results showed that white sweet-waxy maize was planted in the greenhouse from January 15th to 22nd, coinciding with the flowering period of the wheat F₁ generation of Linfen 5064×Jinmai 84 in the field. The wheat hybrid spikes 24 hours of post-emasculatation were cultured in a medium containing 3 g/L of KH₂PO₄+8 mL/L of H₂SO₃+10 mg/L of AgNO₃+100 mg/L of 2, 4-D+40 g/L of sucrose for 14 days. The embryo rate reached 34.08%. Then the embryos were transferred to 1/2 MS medium supplemented with 0.1 mg/L of 2, 4-D and 0.2 mg/L of 6-BA, resulting in rapid germination and growth of young embryos, and a higher number of thick roots, with the highest germination rate(84.36%) and seedling survival rate(72.04%). The haploid plants were treated with 500 mg/L of colchicine for 5 hours with aeration, resulting in the highest survival rate and doubling rate of 79.52% and 55.42%, respectively. Ultimately, 155 DH lines were obtained, from which 8 lines with high-quality subunits and excellent agronomic traits were identified and the lines could be applied to the practical work of wheat genetic breeding.

Keywords: wheat; maize; distant hybridization; double haploid

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 是世界三大作物 之一, 如何快速有效地培育高产优质的小麦新品

收稿日期: 2024-12-13

基金项目: 山西省重点研发计划(202102140601001-1); 山西农业大学引进人才科研启动工程(2023BQ109)

作者简介: 张红芳, 副研究员, 主要从事农作物栽培研究, E-mail: zhhf2582@163.com

通信作者: 乔 玲, 副研究员, 博士, 主要从事小麦遗传育种研究, E-mail: qiaoling@163.com

种是一个巨大的挑战^[1]。常规杂交育种技术周期长,效率低,而双单倍体(Double haploid, DH)技术可使杂交植株只需一代就能获得纯合自交系,大大缩短育种年限,成倍提高育种效率^[2]。此外, DH技术在遗传图谱构建、基因定位、染色体工程、转基因和基因编辑等研究中都具有重要应用价值^[3-4]。

建立高效DH生产技术体系是实现DH技术在作物育种中广泛应用的前提。目前,小麦单倍体植株主要通过花药培养、小孢子培养和小麦-玉米远缘杂交等3种途径获得^[5-7]。这些方法各有优缺点,花药培养具有强烈的基因型依赖性,多数小麦品种难以获得愈伤组织和再生植株;小孢子培养对基因型的依赖性小,但操作复杂,周期长,易受污染^[8]。而用玉米与普通小麦杂交诱导小麦单倍体不会产生白化幼苗,没有严格基因型限制,并且遗传稳定性很高^[9-10],因此,被广泛用于新品种选育。陈新民等^[11]通过小麦与玉米杂交创制小麦DH群体,选育出了高产、节水、抗条锈病和白粉病的中麦533。蔡华等^[12]利用SE008×宁麦9号构建的DH群体,选育出了高产、抗病新品种苏隆128。赵远玲等^[13]利用人工合成的小麦资源与普通小麦杂交,通过小麦与玉米远缘杂交的单倍体育种技术,育成春小麦品种龙春1号。陆维忠等^[14]利用小麦×玉米诱导单倍体技术培育出适宜江苏淮南麦区种植的高产、抗赤霉病的优质小麦新品种宁麦20。王德森等^[15]利用高产、稳产、品质优良的济麦19和广适、节水、抗三锈和白粉病的鲁麦21杂交,结合小麦玉米杂交技术培育出中麦155。丁明亮等^[16]采用太谷核不育群体改良获得的优异单株,再通过双单倍体技术快速纯化选育出云麦112。王子宁等^[17]利用DH远缘杂交技术获得了6个纯合的糯性小麦株系,为小麦品质育种研究提供了试验材料。

山西省小麦分子育种起步较晚、育种技术方法落后、种质原创力度不够,必须强化科技创新、突破关键技术,由此提出开展小麦单倍体技术研究,并在此基础上进行种质创新和品种选育,促进山西小麦种业高质量可持续发展。本研究采用我国小麦优质骨干亲本临汾5064和晋麦84杂交的F₁植株为试验材料,通过不同培养基成分和培养条件、不同秋水仙素处理试验来筛选出适合山西省小麦-玉米远缘杂交技术体系,并培育出可以稳定遗传的纯合群体,从中选出优质和农艺性状优良的株系,旨在为后续的高产优质小麦品种选育

及遗传研究提供材料。

1 材料和方法

1.1 试验材料

通过优质骨干亲本临汾5064与晋麦84进行杂交得到F₁。临汾5064作为我国优质骨干亲本衍生出80多个优质高产的品种,对我国的小麦优质育种进程起到了关键作用^[18]。晋麦84是山西省农业科学院棉花研究所选育的山西省南部中熟冬麦区高肥水地主栽品种^[19]。玉米品种为白甜糯,能诱导小麦产生较高频率的单倍体胚^[20]。

1.2 试验方法

1.2.1 小麦玉米的种植 小麦杂交组合F₁种子于2018年10月15日种植在山西省临汾市尧都区山西农业大学小麦研究所试验基地。为调节玉米和小麦花期相遇,玉米于2019年1月1日开始分期播种在温室花盆内,每7d播种一次,共设置7个播期。

1.2.2 不同培养条件对单倍体胚的影响 2019年4月25日小麦抽穗后人工去雄套袋,3~5d后收集新鲜的玉米花粉授在小麦柱头上。授粉后24h,将一部分杂交穗沿基部剪下插入清水中带回实验室,喷施100 mg/L 2,4-D,将穗子平均分成3份,每份30穗,分别插在3种离体培养液中:蔗糖40 g/L+亚硫酸8 mL/L+2,4-D 100 mg/L(A1)^[21];蔗糖40 g/L+亚硫酸8 mL/L+2,4-D 100 mg/L+硝酸银10 mg/L(A2)^[22];蔗糖40 g/L+亚硫酸8 mL/L+硝酸银10 mg/L+2,4-D 100 mg/L+磷酸二氢钾3 g/L(A3)^[23]。置于人工气候箱中培养(温度23℃,相对湿度80%,光照8 000 lx, 14 h/d),每隔3d换一次培养液。剩余的穗子喷施100 mg/L 2,4-D套袋保湿,在田间环境条件下完成培养(CK)。14d后,将授粉穗所结颖果剥下,用75%的乙醇进行消毒30 s,0.1%氯化汞灭菌15 min,再用无菌水冲洗3次。在超净工作台内的解剖镜下无菌剥取幼胚,统计颖果数和得胚数,计算颖果率和得胚率。

$$\text{颖果率} = \text{颖果数} / \text{授粉小花数} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{得胚率} = \text{得胚数} / \text{颖果数} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.3 不同培养基成分对幼胚成苗率的影响 将无菌幼胚分别接种于3种培养基上。B1.1/2 MS(无激素)+蔗糖30 g/L+琼脂7.5 g/L, pH值为5.8; B2.1/2 MS+蔗糖30 g/L+琼脂7.5 g/L+2,4-D 0.1 mg/L, pH值为5.8; B3.1/2 MS+蔗糖30 g/L+

琼脂 7.5 g/L+2,4-D 0.1 mg/L+6-BA 0.2 mg/L, pH 值为 5.8。接种后黑暗培养 2~3 d 后,在 25 °C 光照培养箱中培养 20~25 d,光照强度 1 500 lx,统计萌发数和成苗数,计算萌发率和成苗率。

萌发率=幼胚萌发数/接种胚数×100% (3)

成苗率=幼胚成苗数/接种胚数×100% (4)

1.2.4 染色体加倍方法 当单倍体植株在培养基中显示出良好的根和芽时,进行 4 °C 春化处理 28 d 后转移到花盆种植。当达到 5~6 叶时取出洗净后,将根系及分蘖节置于不同质量浓度(750、500 mg/L)秋水仙素液面下 2~3 cm,不同的技术措施(不通 O₂和通 O₂)处理 5 h,分别记为 C1~C4,然后用自来水冲洗 4~5 h,重新栽入花盆,待完全成活后移栽至大田,进入常规管理。统计移栽成活率和加倍成活率。

成活率=加倍成活株数/加倍处理的单倍体苗数×100% (5)

加倍率=加倍后结实株数/加倍处理的单倍体苗数×100% (6)

1.2.5 DH 株系的农艺性状鉴定和筛选 DH 株系于 2020—2021 年度在山西省临汾市尧都区(36°08'N,111°52'E,海拔 450 m)、韩村(36°25'N,111°67'E,海拔 450 m)和运城市盐湖区(35°15'N,110°98'E,海拔 369 m)种植。每行播种 21 粒,播种 2 行,行长 1.5 m,行距 0.3 m。按照大田常规管理标准进行。每个株系随机选择 10 株,进行株高

(Plant height, PH)、千粒质量(Thousand grain weight, TGW)、小穗数(Spikelet number per spike, SN)、穗粒数(Grain number per spike, GNS)和抽穗期(Heading data, HD)的调查。

1.2.6 HMW-GS 鉴定 随机选取各个 DH 株系 3~5 粒种子提取麦谷蛋白^[24],以中国春(N,7+8,2+12)、师栾 02-1(1,7+9,5+10)、陕 225(1,14+15,2+12)和烟农 19(1,17+18,5+10)为对照,用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测定 HMW-GS 组成^[25]。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 19.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同培养条件对单倍体胚诱导率的影响

本研究采用离体培养和大田生长 2 种不同方式对杂交穗进行培养,对得到的单倍体胚的颖果数和得胚数进行统计分析发现(表 1),离体培养液的平均颖果率(A1:90.57%、A2:87.34%和 A3:89.24%)与大田生长(CK:91.27%)的差异不大,但是平均得胚率(A1:21.59%、A2:25.18%和 A3:34.08%)均显著高于自然条件下的得胚率(10.65%)($P<0.05$),前者约为后者的 2~3 倍,其中,A3 离体培养液的得胚率最高,为 34.08%,并且离体培养的颖果饱满程度明显优于自然条件下。

表 1 不同培养条件下小麦单倍体的得胚率

Tab.1 Comparison of haploid embryo rate of wheat among different culture conditions

处理 Treatment	授粉穗数 Pollinated spike	授粉小花数/朵 Pollinated floret	颖果数/个 Number of caryopsis	颖果率/% Caryopsis rate	得胚数/个 Number of embryos	得胚率/% Embryo Rate
A1	30	721	653	90.57a	141	21.59b
A2	30	782	683	87.34a	172	25.18b
A3	30	799	713	89.24a	243	34.08a
CK	30	813	742	91.27a	79	10.65c

注:表中同列不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平上差异显著。表 3 同。

Note: The lowercase letters in the same column of the table indicated significant differences between treatment at the 0.05 level. The same as Tab.3.

2.2 不同培养基对小麦单倍体胚萌发及成苗的影响

小麦单倍体幼胚在不同培养基上幼胚萌发数及成苗数进行统计,共接种 635 个小麦单倍体幼胚,萌发了 398 个,萌发率为 62.68%;成苗 329 株,成苗率为 51.81%(表 2)。不同培养基上小麦单倍

体胚萌发率和成苗率都表现为 B3>B2>B1,三者之间的差异都达到极显著水平($P<0.01$)。与无激素的 1/2 MS B1 培养基相比,添加了 0.1 mg/L 2,4-D 和 0.2 mg/L 6-BA 激素的 B3 培养基的萌发率(84.36%)及成苗率(72.04%)最高,幼胚快速萌动生长,根系的粗状根数较多(图 1),因此,可以初

步得出 B3 培养基对幼胚的萌发及其成苗的效果 是最好的。

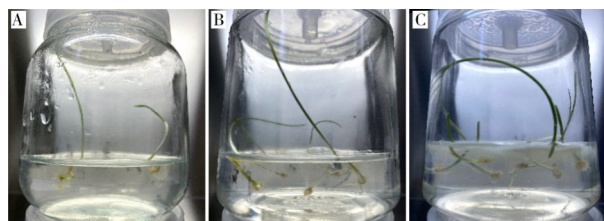
表 2 不同培养条件小麦单倍体成苗率的比较

Tab.2 Comparison of haploid seeding survival rate of wheat among different culture conditions

处理 Treatment	接种胚数/个 Number of cultured embryos	萌发胚数/个 Number of germinated embryos	成苗数/株 Number of survival seeding	萌发率/% Germination rate	成苗率/% Seeding survival rate
B1	212	96	73	45.28C	34.43C
B2	212	124	104	58.49B	49.06B
B3	211	178	152	84.36A	72.04A
Total	635	398	329	62.68	51.81

注:表中同列不同大写字母表示不同处理在 0.01 水平上差异显著。

Note: The capital letters in the same column of the table indicated significant differences between treatment at the 0.01 level.



A、B 和 C 分别代表单倍体胚在 B1、B2 和 B3 培养基的幼苗生长情况
A, B and C represented the growth of haploid embryos in B1, B2, and B3 media, respectively

图 1 不同培养基中单倍体胚的萌发与成苗

Fig.1 Germination and survival seedling of haploid embryos in different media

2.3 小麦单倍体植株加倍

临汾 5064/晋麦 84 的 F₁ 材料经玉米花粉诱导共得到 329 株小麦单倍体幼苗,对其进行 2 种方式 2 个质量浓度的秋水仙素加倍处理,分析不同质量浓度秋水仙素对单倍体幼苗加倍效率的影响,共有 155 株小麦单倍体植株加倍成功(表 3)。其中,500 mg/L 的秋水仙素处理 5 h 并通气的幼苗成活率和加倍率最高,分别为 79.52% 和 55.42%,显著高于其他处理方式($P < 0.05$)。在同一质量浓度的秋水仙素处理下,通气和不通气有显著差异($P < 0.05$),通气的成活率和加倍率效果较好。

表 3 不同秋水仙素加倍处理结果

Tab.3 Results of different colchicine doubling treatment

处理 Treatment	秋水仙素质量浓度/(mg/L) Mass concentration of colchicine	技术措施 Technical measure	处理株数 Number of plants	成活株数 Number of surviving plants	结实株数 Number of fertile plants	成活率/% Survival rate	加倍率/% Doubling rate
C1	750	不通气	82	43	30	52.44c	36.58c
C2	750	通气	82	50	39	60.97c	47.56b
C3	500	不通气	82	55	40	67.07b	48.78b
C4	500	通气	83	66	46	79.52a	55.42a
Total			329	214	155	65.05	47.11

2.4 DH 群体的表型鉴定和筛选

由 155 个株系组成的临汾 5064/晋麦 84 DH 群体中,每个株系的长势一致,没有出现性状分离,表明每个株系的性状已经稳定。对亲本及 DH 株系的 HMW-GS 进行了鉴定,临汾 5064 的 *Glu-1* 位点有 1,7+8 和 2+12 亚基,晋麦 84 的 *Glu-1* 位点有 1,7+9 和 5+10 亚基,后代中有 8 种组合类型,分别为(1,7+8,2+12)、(1,7+8,5+12)、(1,7+8,2+10)、(1,7+8,5+10)、(1,7+9,2+12)、(1,7+9,5+12)、(1,7+9,2+10)、(1,7+9,5+10)(表 4)。DH 群体 HMW-GS 组成成分未出现偏亲现象,(1,7+9,2+10)组合最多(占 18.71%)。根

据不同 HWM-GS 组合类型的品质得分来看^[25], (1,7+8,5+10)和(1,7+8,5+12)的品质得分为 10,共有 34 份(占 21.94%),初步推断这些材料具有较好的加工品质。

对这 34 份小麦材料进行 3 个地点农艺性状的综合分析,发现有 8 个材料 DH-41、DH-64、DH-68、DH-83、DH-91、DH-103、DH-112 和 DH-135 的株高较低(67.48~77.21 cm),抽穗期适中,千粒质量较高(45.69~49.21 g),穗粒数较多(47.59~53.13 粒),小穗数中等(19.58~21.46 穗)(表 5),是潜在的优质新品系。

表 4 DH 株系 HMW-GS 组成
Tab.4 Composition of HMW-GS in DH lines

<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	样本数	Sample size	比例/%	Ratio	品质得分	Quality score
1	7+8	5+10	13		8.39		10	
1	7+8	5+12	21		13.55		10	
1	7+9	5+10	25		16.13		9	
1	7+9	5+12	16		10.32		9	
1	7+8	2+12	23		14.84		8	
1	7+9	2+12	17		10.97		7	
1	7+8	2+10	11		7.10		-	
1	7+9	2+10	29		18.71		-	

注:品质得分中“-”表示该HMW-GS组成中某个亚基的品质评分标准尚未确定。

Note: "-" in the quality score indicated that the quality scoring criteria for a certain subunit in the HWM-GS composition had not been determined yet.

表 5 具有优质亚基株系的农艺性状

Tab.5 Agronomic traits of lines with superior subunits

株系	Line	PH/cm	HD/d	TGW/g	SN	GNS
DH-41		72.68	185	48.26	21.32	53.13
DH-64		69.32	184	46.57	19.58	49.42
DH-68		77.21	184	47.51	20.35	52.32
DH-83		72.86	185	45.69	21.27	49.74
DH-91		67.48	186	46.53	20.38	47.59
DH-103		68.20	184	47.18	20.11	48.42
DH-112		73.82	184	48.42	21.46	52.59
DH-135		70.45	185	49.21	20.85	48.52

3 结论与讨论

在小麦育种中,通过单倍体技术可以得到稳定遗传的纯合株系,大大提高植物育种效率,为小麦新品种的培育提供了捷径。而通过小麦×玉米杂交产生小麦双单倍体技术,因产生的单倍体胚频率较高、稳定性较好、不产生白化苗等优点,被广泛应用于国内外小麦育种^[9-10]。目前,其基本原理和操作规程已有大量研究,但整个操作规程涉及众多技术细节,仍需要大量研究和实践验证。该技术主要受杂交后培养条件、培养基成分、秋水仙素的处理方式和浓度等因素的影响^[26-27]。

利用玉米花粉诱导小麦单倍体的产生首先要解决的是花期不遇问题,本研究每隔 7 d 种一批甜糯玉米,共种植 7 个播期,发现在 1 月 15—22 日播种的玉米,通过对温室光照和温度等的调控,可以与小麦的花期相遇。玉米花期主要集中在 4 月 20 日至 5 月 2 日,可持续 10 d 左右,有效保障了花粉的

获取。大量的研究表明,杂交穗割穗离体培养的得胚率显著高于田间自然条件下^[23,28],前者是后者的 3 倍以上,与本研究的结果一致,可能的原因是室内温度和湿度变幅小,生长条件稳定,避免雨水造成子房霉变。而离体培养的培养基成分对单倍体的得胚率有较大影响。蔡华等^[21]利用人工控制环境的室内培养法,在蔗糖 40 g/L+亚硫酸 8 mL/L+2,4-D 100 mg/L(A1)培养液中单倍体得胚率为 23.62%;顾坚等^[23]利用 4 种穗培养液配方进行杂交穗的培育发现,在 2,4-D 100 mg/L+蔗糖 40 g/L+硝酸银 10 mg/L+亚硫酸 8 mL/L+磷酸二氢钾 3 g/L(A3)中的效果较佳,得胚率较高,为 35.5%。因此,本研究利用 3 种培养液进行了杂交穗的离体培养试验,发现在 A3 培养液中的颖果率、得胚率最高,均显著高于 A2 和 A1,并且颖果饱满较大,与顾坚等^[23]的结果一致,因此,为提高得胚率选用 A3(2,4-D 100 mg/L+蔗糖 40 g/L+硝酸银 10 mg/L+亚硫酸 8 mL/L+磷酸二氢钾 3 g/L)培养液效果最佳。

由于远缘杂交导致种子败育,无胚乳可供单倍体幼胚发育,因此,需通过体外培养对幼胚进行挽救,而所用培养基对幼胚的成苗率影响较大。大量研究表明,最为常用的为 1/2 MS 培养基和 B5 培养基,并且在此基础上添加其他激素的成苗率较高,植株生长健壮,根系发达,如 2,4-D^[29]、BA^[30]和 KT^[31]。本研究在 1/2 MS 培养基的基础上分别添加了 2,4-D 和 6-BA,结果发现,同时添加 2 种激素培养基(B3)的幼胚萌发率和成苗率高于只添加或不添加 2,4-D 的培养基,并且植株生长旺盛,根系发达,与陈淑萍等^[30]的结果一致,但与杨雁^[1]的

结果不一致,可能的原因是不同大小的幼胚需要添加不同激素的培养基发挥促进作用。本试验的单倍体胚的直径大于500 μm,加入2,4-D和BA可以增加成苗率和植株丛生苗数量^[30]。

在对获得的小麦单倍体植株进行加倍时,秋水仙素的使用浓度、处理时间和处理方法对加倍效率有明显影响。有研究表明,秋水仙素处理通常采用低浓度长时间和高浓度短时间这2种方法,其中高浓度的加倍效率要高,但植株的死亡率也较高,可通过持续供应O₂来降低死亡率^[32-33]。陈新民等^[32]用不同浓度的秋水仙素对小麦单倍体进行处理,结果表明,500 mg/L的秋水仙素溶液浸根5 h进行加倍处理,持续供应O₂的加倍率可以达到89.6%,加倍效率最高。蔡华^[34]用750 mg/L的秋水仙素溶液并持续通O₂ 5 h处理小麦单倍体,加倍率可以达到86.4%。而本试验分别用500、750 mg/L等2个质量浓度的秋水仙素进行通O₂和不通O₂处理,结果表明,500 mg/L的秋水仙素处理5 h并持续通气的条件下加倍率达到55.42%。

小麦双单倍体技术与分子标记辅助育种结合,是提高植物育种效率的重要工具。运用标记辅助育种对小麦进行品质评估,对加速小麦品质育种具有重要意义。相关研究表明,小麦HMW-GS亚基与小麦的加工品质存在密切联系^[25,35]。而SDS-PAGE凝胶电泳是鉴定HMW-GS亚基的常用方法。毕珍珍等^[36]利用花药培养法创制了33个小麦DH系,共鉴定出16个株系携带优质亚基组合,且具有较好的烘培品质。本研究利用小麦玉米远缘杂交技术共获得了155个DH株系并进行HMW-GS检测,从中筛选出34个具有优质亚基组合的材料,并进行农艺性状的调查,最终筛选出8个农艺性状优良和含有优质高分子量麦谷蛋白亚基的株系,这将为小麦优质种质资源的创制提供材料。

本试验总结了一套适合山西自然条件的小麦-玉米远缘杂交单倍体育种体系,利用临汾5064/晋麦47、临汾5064/农大3338、晋麦47/晋麦84和晋春7号/金麦919等大量杂交组合进行了验证试验,平均得胚率约为31%,成苗率和加倍率大于50%,为该技术的推广应用奠定了基础。

参考文献:

[1] 杨雁. 玉米诱导小麦双单倍体育种技术的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2023.
YANG Y. Study on breeding technology of wheat double hap-

loid induced by corn[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2023.

[2] KELLIHER T, STARR D, SU X J, et al. One-step genome editing of elite crop germplasm during haploid induction[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(3): 287-292.

[3] BUDHAGATAPALLI N, HALBACH T, HIEKEL S, et al. Site-directed mutagenesis in bread and durum wheat *via* pollination by cas9/guide RNA-transgenic maize used as haploidy inducer[J]. Plant Biotechnology Journal, 2020, 18(12): 2376-2378.

[4] FERRIGO D, RAIOLA A, CAUSIN R. *Fusarium* toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management[J]. Molecules, 2016, 21(5): 627.

[5] CISTUÉ L, SORIANO M, CASTILLO A M, et al. Production of doubled haploids in durum wheat (*Triticum turgidum* L.) through isolated microspore culture[J]. Plant Cell Reports, 2006, 25(4): 257-264.

[6] TOURAEV A, PFOSSER M, HEBERLE-BORS E. The microspore: a haploid multipurpose cell[J]. Advances in Botanical Research, 2014, 35: 53-109.

[7] ZHU H C, LI C, GAO C X. Applications of CRISPR-Cas in agriculture and plant biotechnology[J]. Nature Reviews. Molecular Cell Biology, 2020, 21(11): 661-677.

[8] WEIGT D, KIEL A, SIATKOWSKI I, et al. Comparison of the androgenic response of spring and winter wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Plants, 2019, 9(1): 49.

[9] NIU Z X, JIANG A X, ABU HAMMAD W, et al. Review of doubled haploid production in durum and common wheat through wheat×maize hybridization[J]. Plant Breeding, 2014, 133(3): 313-320.

[10] NIROULA R, BIMB H P. Overview of wheat×maize system of crosses for dihaploid induction in wheat[J]. World Applied Sciences Journal, 2009, 7: 1037-1045.

[11] 陈新民, 何中虎, 刘春来, 等. 利用小麦×玉米诱导单倍体技术育成小麦新品种中麦533[J]. 麦类作物学报, 2011, 31(3): 427-429.
CHEN X M, HE Z H, LIU C L, et al. New wheat variety Zhongmai 533 developed by wheat×maize cross[J]. Journal of Triticeae Crops, 2011, 31(3): 427-429.

[12] 蔡华, 司红起, 赵维萍, 等. 高产抗病小麦新品种—苏隆128[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(10): 1409.
CAI H, SI H Q, ZHAO W P, et al. Sulong 128, a new wheat variety with high yield and disease resistance[J]. Journal of Triticeae Crops, 2016, 36(10): 1409.

[13] 赵远玲, 孙连发, 高凤梅, 等. 人工合成小麦衍生春小麦新品种龙春1号[J]. 黑龙江农业科学, 2020(11): 128-131.
ZHAO Y L, SUN L F, GAO F M, et al. A new spring wheat variety Longchun 1 derived from synthetic hexaploid wheat[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2020(11): 128-131.

[14] 陆维忠, 姚金保, 马鸿翔. 抗赤霉病小麦新品种宁麦20的选育[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7): 86-87.
LU W Z, YAO J B, MA H X. Breeding of a new wheat variety Ningmai 20 with scab resistance[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(7): 86-87.

[15] 王德森, 陈新民, 刘建军, 等. 高产稳产小麦新品种中麦155的选育[J]. 农业科技通讯, 2013(2): 130-131.
WANG D S, CHEN X M, LIU J J, et al. Breeding of a new wheat variety Zhongmai 155 with high and stable yield[J]. Bul-

- letin of Agricultural Science and Technology, 2013(2):130-131.
- [16] 丁明亮, 杨忠慧, 崔永祯, 等. 多抗旱地小麦新品种云麦 112 [J]. 中国种业, 2022(5):115-117.
DING M L, YANG Z H, CUI Y Z, et al. A new dry-land wheat variety Yunmai 112 with multiple disease-resistance [J]. China Seed Industry, 2022(5):115-117.
- [17] 王子宁, 张艳敏, 郭北海, 等. 利用单倍体育种技术快速培育糯性小麦新品系[J]. 华北农学报, 2001, 16(1):1-6.
WANG Z N, ZHANG Y M, GUO B H, et al. Waxy wheat production by haploid plant production[J]. Acta Agriculturae Borealis-Sinica, 2001, 16(1):1-6.
- [18] 乔玲, 刘成, 郑兴卫, 等. 小麦骨干亲本临汾 5064 单元型区段的遗传解析[J]. 作物学报, 2018, 44(6):931-937.
QIAO L, LIU C, ZHENG X W, et al. Genetic analysis of haplotype-blocks from wheat founder parent Linfen 5064[J]. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(6):931-937.
- [19] 席吉龙, 王珂, 杨娜, 等. 施氮量对晋麦 84 号产量及土壤硝态氮、铵态氮的影响[J]. 山西农业科学, 2018, 46(10):1663-1667.
XI J L, WANG K, YANG N, et al. Effect of nitrogen fertilizer on yield and soil nitrate nitrogen and ammonium nitrogen of Jinmai 84 winter wheat[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2018, 46(10):1663-1667.
- [20] 顾坚, 田玉仙, 李绍祥, 等. 小麦小花穗位及发育进度对小麦×玉米单倍体胚诱导率的影响[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(1):30-32.
GU J, TIAN Y X, LI S X, et al. Effects of wheat floret position and development status on haploid embryo rate of wheat×maize crosses[J]. Acta Triticeal Crops, 2005, 25(1):30-32.
- [21] 蔡华, 马传喜, 司红起, 等. 提高小麦×玉米产生的单倍体成胚率的研究[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(6):28-32.
CAI H, MA C X, SI H Q, et al. Study on increasing frequency of haploid embryo production through wheat×maize[J]. Acta Triticeal Crops, 2005, 25(6):28-32.
- [22] INAGAKI M, TAHIR M. Comparison of haploid production frequencies in wheat varieties crossed with *Hordeum bulbosum* L. and maize[J]. Japanese Journal of Breeding, 1990, 40(2):209-216.
- [23] 顾坚, 刘琨, 李绍祥, 等. 小麦×玉米杂交诱导小麦单倍体的割穗离体培养研究[J]. 麦类作物学报, 2008, 28(1):1-5.
GU J, LIU K, LI S X, et al. Study on the *in vitro* culture of cut plant in wheat haploid embryo induction by wheat×maize cross[J]. Journal of Triticeal Crops, 2008, 28(1):1-5.
- [24] SINGH N K, SHEPHERD K W, CORNISH G B. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin[J]. Journal of Cereal Science, 1991, 14(3):203-208.
- [25] PAYNE P I, LAWRENCE G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat[J]. Cereal Research Communications, 1983, 11(1):29-35.
- [26] CHERKAOUI S, LAMSAOURI O, CHLYAH A, et al. Durum wheat×maize crosses for haploid wheat production: Influence of parental genotypes and various experimental factors [J]. Plant Breeding, 2000, 119(1):31-36.
- [27] BALLESTEROS J, GARCÍA-LLAMAS C, RAMÍREZ M C, et al. Low relative humidity increases haploid production in durum wheat×maize crosses[J]. Plant Breeding, 2003, 122(3):276-278.
- [28] 来长凯. 普通小麦与玉米杂交产生小麦 DH(Double Haploid)材料的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2007.
LAI C K. Study on wheat DH(double haploid) material produced by crossing common wheat with maize[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2007.
- [29] 王重, 樊哲儒, 张跃强, 等. 不同培养基对春小麦×玉米单倍体胚分化成苗的影响[J]. 新疆农业科学, 2018, 55(11):1988-1993.
WANG Z, FAN Z R, ZHANG Y Q, et al. Effects of different media on haploid plantlets production from the spring wheat×maize cross[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2018, 55(11):1988-1993.
- [30] 陈淑萍, 王雪征, 崔银辉, 等. 不同培养基对小麦×玉米杂种胚离体培养成苗的影响[J]. 核农学报, 2013, 27(6):758-762.
CHEN S P, WANG X Z, CUI Y H, et al. Effect of different culture media on haploid plantlets production from the wheat×maize cross[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(6):758-762.
- [31] 高艳, 唐建卫, 殷贵鸿, 等. 培养基对小麦单倍体胚成苗率的影响[J]. 中国农学通报, 2015, 31(21):107-110.
GAO Y, TANG J W, YIN G H, et al. Effect of culture media on seedling rate of wheat haploid[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(21):107-110.
- [32] 陈新民, 张文祥, 崔淑兰, 等. 小麦×玉米产生小麦单倍体的染色体加倍研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(4):447-450.
CHEN X M, ZHANG W X, CUI S L, et al. Study on methods of chromosome doubling for haploid produced by wheat×maize crossing[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(4):447-450.
- [33] 赵翠荣. 利用染色体消失法诱导小麦产生单倍体和双单倍体技术研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2013.
ZHAO C R. Study on the technology of inducing wheat to produce haploid and double haploid by chromosome disappearance method[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.
- [34] 蔡华. 利用小麦与玉米远缘杂交诱导小麦双单倍体的研究[D]. 合肥:安徽农业大学, 2004.
CAI H. Study on producing double haploid of wheat between wheat and maize by wide hybridization[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2004.
- [35] WU J S, LU X B, YU Z T, et al. Effects of glu-1 and glu-3 allelic variations on wheat glutenin macropolymer(GMP) content as revealed by size-exclusion high performance liquid chromatography(SE-HPLC)[J]. ABI Genetika, 2017, 49(2):677-691.
- [36] 毕珍珠, 郑艳, 李辉, 等. 小麦 DH 系创制中培养基、秋水仙浓度的筛选及其 HMW-GS 组成分析[J/OL]. 麦类作物学报, 2024: 1-8[2025-03-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1359.S.20240819.1404.010.html>.
BI Z Z, ZHENG Y, LI H, et al. Screening of culture medium and colchicine concentration and HMW-GS composition analysis in the creation of wheat DH line[J/OL]. China Industrial Economics, 2024: 1-8[2025-03-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1359.S.20240819.1404.010.html>.