ICS 65.020.20
CCS B 05

DB21

辽 宁 省 地 方 标 准

DB 21/ XXXXX—XXXX

玉米单倍体育种技术规程

Technical standard of Haploid breeding technology in Maize

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

（报批稿）

（本稿完成日期：2023 年 02 月）

XXXX-XX-XX发布 XXXX-XX-XX实施

辽宁省市场监督管理局 发布

前　　言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：辽宁省农业科学院、辽宁省农业发展服务中心。

本文件主要起草人：刘欣芳、王延波、孙成韬、马骏、姜敏、齐欣、张默、金迪、孟庆国、贾钰莹、刘晓丽、叶雨盛、张洋、周亚光。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门通讯地址：辽宁省农业农村厅（沈阳市和平区太原北街2号），联系电话：024-23447862。

文件起草单位通讯地址：辽宁省农业科学院玉米研究所（沈阳市沈河区东陵路84号），联系电话：024-31029981。

玉米单倍体育种技术规程

1 范围

本文件规定了玉米单倍体育种的术语和定义、单倍体诱导、单倍体加倍、DH 系鉴定等技术内容。本文件适用于玉米单倍体育种。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 17315 玉米种子生产技术操作规程

DB21/T 2996 玉米农机农艺融合栽培技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

单倍体诱导 haploid inducing

以玉米单倍体诱导系为父本，育种基础材料为母本，杂交产生单倍体籽粒的过程。

3.2

单倍体籽粒 haploid seed

胚的倍性为单倍体的玉米籽粒。单倍体育种应用中表现为糊粉层紫色、胚白色特征的正常成熟籽粒。

3.3

DH 系 double haploid line

由单倍体加倍获得的双单倍体为DH系，基因型高度纯合，具有性状一致性。

4 单倍体诱导

4.1 育种基础材料选择

根据育种目标选择或构建适宜的玉米资源做母本基础材料。

4.2 诱导系选择

根据育种基础材料选择诱导率高、花粉量大、标记明显、抗倒伏、结实性好的诱导系。本地区适宜应用的诱导系有辽诱1号、辽诱2号、辽诱3号、辽诱4号、CHIO3（高油诱导系）等。本文件应用的单倍体诱导系均含有R-nj基因控制的紫色标记性状。

4.3 诱导方法

4.3.1 隔离区诱导

以玉米育种基础材料为母本、单倍体诱导系为父本，杂交制种诱导产生单倍体。隔离区制种按照GB/T 17315执行。

4.3.2 人工诱导

以玉米育种基础材料为母本、单倍体诱导系为父本，花期人工杂交授粉诱导产生单倍体。

4.4 单倍体鉴选

4.4.1 籽粒鉴选

成熟期收获杂交果穗，脱粒后人工鉴选糊粉层紫色、胚白色的籽粒。

4.4.2 油分鉴选

成熟期收获由高油诱导系杂交的果穗，晾干后脱粒，采用核磁共振分选系统鉴选油分低于 4 % 的籽粒。

4.4.3 幼胚鉴选

取人工杂交 15 d~18 d 的果穗，剥去苞叶，转移至超净工作台已灭菌的大烧杯中，放入 75 % 的酒精浸泡 10 min，无菌水冲洗5遍，用刀片切去幼粒表皮，用刀尖挑选发育大小为正常胚 60 %~ 85 % 的幼胚。

5 单倍体加倍

5.1 籽粒自然加倍

选择土壤肥沃、灌排方便、光照充足的地块，播种单倍体籽粒，密度为 8000 株/667m^2~10000 株/667m^2，出苗后，去除粗壮或叶脉紫色的植株，保留常规绿色且矮小的单倍体植株，苗期和大喇叭口期喷施叶面肥，人工自交授粉，获得二倍体果穗。田间管理按照DB21/T 2996的规定执行。

5.2 籽粒药剂加倍

5.2.1 浸种法

用清水冲洗单倍体籽粒 30 min，2%次氯酸钠消毒 15 min 后，将种子浸泡于无菌水中 24 h；沥干水分，用 6 ‰ 秋水仙素加倍溶液（秋水仙素 0.6 g，二甲基亚砜 12.5 mL，1000 mL无菌水）于 25 ℃浸泡单倍体籽粒 20 h，清水冲洗后，坐水播种至大田。田间管理按照DB21/T 2996标准执行。

注：秋水仙素为剧毒有机物，易分解，应现配现用，短期保存应当避光保存于4℃冰箱中，放在安全位置。在配制溶液和使用过程中，须做好防护。废液要及时回收，统一由专业机构处理。如不慎将秋水仙素溶液沾到皮肤上，应迅速用大量清水冲洗。

5.2.2 喷淋法

将籽粒催芽至胚芽 2 cm左右，切去芽尖，装入网袋或网盘中，用6‰秋水仙素加倍溶液循环喷淋 10 h，再用清水喷淋清洗 4 h，移栽至大田，确保芽尖露出土面。田间管理按照DB21/T 2996执行。

5.3 幼胚加倍

将挑选出的幼胚放在 6 ‰ 秋水仙素的MS培养基上，胚面朝下，置培养箱中24℃光培养 1 d~2 d 至显色，淘汰紫色幼胚，挑选白色幼胚转移至MS培养基中，每个幼胚相隔 2 cm，置培养箱中 26 ℃培养，湿度 60 %，16 h光培养、8 h 暗培养，5 d~7 d 幼胚发育成2叶1心幼苗，转苗至塑料培养钵中，缓苗 10 d~15 d，移栽至大田，做好田间管理，自交授粉，收获二倍体果穗。

6 DH 系鉴定

在整个生育期跟踪调查农艺性状，鉴选株型紧凑或半紧凑、株高穗位适中、雌雄协调、果穗均匀、抗逆性强、抗病性好的DH系。

7 品种选育

以综合性状优良的DH系为亲本，依据杂种优势模式，配制杂交组合，选育玉米新品种。

8 田间记载

建立田间技术档案，详细记录各环节采取的具体措施，档案保存至少2年以上。