

# 水稻同源四倍体杂种优势 利用技术新体系的研究\*

涂升斌 孔繁伦 徐琼芳 何涛

(成都生物研究所 成都 610041)

**摘要** 运用遗传育种、细胞工程及分子生物学等技术手段对同源四倍体水稻开展了多方面的研究。取得成果如下:创制了同源四倍体水稻材料近 1 000 份。选育出同源四倍体水稻雄性不育系 6 份、不育系材料 46 份;保持系 22 份、保持系材料 100 多份;恢复系 28 份、恢复系材料 500 多份;成功地实现了四倍体水稻杂种优势利用三系配套。培育出 T462A×T4509 等四倍体杂交稻新组合。三系及杂种的细胞学研究表明,其染色体数为 48 条,为二倍体水稻染色体数的 2 倍,证明是同源四倍体。并初步开展了分子生物学的研究。

**关键词** 水稻,同源四倍体,杂种优势利用

## 1 前言

水稻是重要的粮食作物。杂交水稻的培育成功是水稻育种上的一项重大突破,对解决我国和世界粮食问题做出了巨大的贡献。但随着经济的发展,人口增加,土地面积减少以及环境的恶化,使粮食问题显得十分突出。另据联合国粮农组织分析预测,到 2025 年世界人口将达到 85 亿人,粮食缺口将达到 8 亿吨。因此,要彻底解决全球粮食危机,特别是中国等发展中国家的粮食问题,杂交水稻的产量还远远不够,还必须培育出产量更高的优质新品种或新组合<sup>[1]</sup>。

自然界广泛存在植物多倍体现象,多倍体具有繁茂性、硕大性、适应力强、生物产量高等优点,一直是育种家长期追求的目标<sup>[2,3]</sup>。1937 年秋水仙碱加倍作用的发现,为人工诱导和利用多倍体敞开了大门。在许多作物如高粱、玉米、甜菜、荞麦、黄花以及多种花卉上都曾开展了四倍体的诱导和研究。就水稻而言,我国学者鲍文奎早在上世纪 50 年代初就开展了水稻同源四倍体的研究。到目前为止,对同源四倍体的主要利用途径是:通过对同源四倍体的染色体降倍方法选育二倍体水稻新材料、新品种或直接进行水稻四倍体杂种后代的常规育种<sup>[4-7]</sup>。另一

方面水稻杂种优势利用就其倍性而言,基本上停留在二倍体水平上,一直未能突破倍性水平的限制。有关水稻同源四倍体杂种优势利用技术新体系的研究,目前国内外未见报道。

## 2 研究成果

课题组从 1995 年开始在这方面进行了大胆的尝试和探索,综合运用植物遗传育种、细胞工程、细胞遗传及分子生物学等技术手段对同源四倍体水稻开展了多方面的研究,取得主要研究成果如下:

(1)水稻同源四倍体种质材料的创制与改良。水稻同源四倍体种质材料的创制是利用二倍体材料采取细胞水平染色体加倍的方法。其程序是:二倍体材料→幼穗→愈伤组织→秋水仙碱处理→植株分化再生→生根液处理→大田→四倍体选择→细胞学鉴定。现已成功地创制同源四倍体水稻材料近 1 000 份,经遗传改良后,其结实率得到显著提高,最高结实率为 97%,结实率超过 70%的占 1/3 以上,并成功地解决了饱满度及农艺性状不佳等问题,部分同源四倍体材料能够满足实际生产的需要。

(2)水稻同源四倍体雄性不育材料创制、选育和保种研究。以优良二倍体雄性不育系以及后代分离和自然不育株经细胞水平染色体加倍获得同源

\* 参加本项研究的人员还有:高朝龙,叶彦,刘刚,张健,栾丽等  
收稿日期:2003 年 10 月 20 日

四倍体雄性不育材料。采用与其对应的较高世代四倍体保持材料或非同一系统的同源四倍体保持材料对加倍当代的同源四倍体雄性不育材料授粉保种获得一定程度的成功,随着世代的提高保种工作则能较为顺利进行。现在我们育成的同源四倍体雄性不育系,其保种结实情况已接近或达到一般二倍体雄性不育系的保种结实水平。

(3)同源四倍体雄性不育三系材料的育性特征研究。通过套袋自交和杂交试验表明,恢复系和保持系加倍的四倍体材料表现自交和杂交可育、花药、花粉粒正常开花和散粉正常和比较正常。但也出现例外,如:江农早 2B 四倍体,自交套袋 157 穗,总计结实率在 0.5% 以下,几乎不育,其原因有待进一步研究。同源四倍体不育材料经套袋自交和杂交试验,一般表现自交不育,杂交可育,花药虽然增大变长,但多成矢型,甚至退化为线型,花药呈白色或透明,无花粉或少量败育花粉,开花比较正常。结果表明,三系亲本染色体加倍后其育性特征,基本上保持不变。但并非杂交水稻三系亲本加倍后均能成为或等于同源四倍体杂交水稻的亲本,还需要进一步改造和选择,有些材料可能需要较长的改良过程。

(4)同源四倍体雄性不育三系的改良与三系配套研究。同源四倍体三系材料的改良,主要采用“强化”选择,同时对恢复系和保持系采取“恢×恢”,“保×保”等组合形式进行遗传改良,对不育系则采取连续回交转育;结合组织培养技术的运用,加快了同源四倍体三系亲本的改良,改进了农艺性状,进一步提高了结实率。现已获得不育系 6 个、不育系材料 46 份;保持系 22 个、保持系材料 100 多份;恢复系 28 个、恢复系材料 500 多份。成功实现了水稻同源四倍体雄性不育三系的配套。

(5)水稻同源四倍体杂交组合的配制与杂种优势研究。从创制四倍体材料开始,我们就结合测交进行了组合试配。已试制出同源四倍体杂交组合 100 个以上,其中有的组合表现出明显杂种优势,其着粒数、实粒数增加,结实率明显高于其亲本,千粒重最高可达 58 克。培育出一批 T462A×T4509、T461A×T4002 等超强优势同源四倍体杂交水稻组合,其中前者 2002 年在成都其小区产量折合亩产

812 公斤,比对照 D 优 527 亩产 609 公斤增产 33%,2003 年在海南理论亩产为 887 公斤,同源四倍体杂交水稻表现出较大的增产潜力。

(6)同源四倍体杂交稻繁殖制种及后代利用。通过开展小区隔离制种实验,发现同源四倍体恢复系花粉量充足,颖颖角度大,花期相对较长,有利于同源四倍体杂交组合的制种,但需在二倍体杂交稻繁殖制种技术基础上作适当改进。对 F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 代种植的植株进行观察,发现不同组合表现不同,有的组合分离较严重,且不育株多,不宜使用 F<sub>2</sub> 代。但有的组合如 T461A×T4237 等,杂种二代仍然较整齐一致,不育株少,能基本保持 F<sub>1</sub> 的优势,有使用 F<sub>2</sub> 代的可能性,这方面值得进一步研究。

(7)水稻同源四倍体细胞学和分子生物学初步研究。通过加倍材料根尖细胞染色观察统计其染色体数为 48,证明是同源四倍体。花粉母细胞减数分裂观察结果表明,同源四倍体杂种减数分裂行为比同源四倍体亲本更为正常,出现单价体和落后染色体的现象的频率低于亲本,这可能与杂种细胞内遗传平衡状态更佳有关。随机选用分布于水稻 12 条染色体上的 15 对 SSR 引物,对 18 种四倍体水稻和 9 种二倍体水稻进行了 SSR 多态性分析,初步揭示了同源四倍体水稻的基因组与二倍体水稻之间的关系,发现二者的基因结构大部分相同,只是在某些位点上具有差异,并可以用这些 SSR 标记来区分二倍体与其同源四倍体。

另外,2002 年 9 月申报了同源四倍体水稻杂种优势利用及其繁殖制种技术发明专利。

### 3 专家鉴定意见

2003 年 9 月由四川省科技厅主持,邀请了国内同行专家对该成果进行了鉴定。专家认为:

(1)成功地创制了同源四倍体水稻材料近 1 000 份,经遗传改良后,其结实率和千粒重得到显著提高,成功地解决了饱满度及农艺性状不佳等问题,部分同源四倍体材料有可能满足实际生产的需要。

(2)选育出同源四倍体水稻雄性不育系 6 份、不育系材料 46 份;保持系 22 份、保持系材料 100 多份;恢复系 28 份、恢复系材料 500 多份。实现了四倍体水稻杂种优势利用三系配套。

(3)试制组合 100 多个,培育出 T462A×T4509

等超强优势的四倍体杂交水稻新组合,其结实率高,种子饱满度好,千粒重大,抗倒伏,初步显示出较大的产量潜力。

(4)三系及杂种一代的细胞学研究表明,其染色体数为 48 条,为二倍体水稻染色体数的 2 倍,证明是同源四倍体。三系亲本及杂种均有正常减数分裂行为。利用微卫星标记分析技术研究进一步验证了细胞学的研究结果,并与其田间表现结果一致。

综上所述,该课题组经过 8 年多的科研攻关,初步攻克了同源四倍体结实率低、饱满度差和主要农艺性状欠佳三大难题;首次选育出同源四倍体水稻雄性不育系、保持系及恢复系;实现了水稻同源四倍体雄性不育三系配套;初步培育出同源四倍体杂交水稻新组合,显示出较大的产量潜力。形成了一个切实、有效的多倍体杂种优势利用技术新体系,为我国超级稻开辟了一条新的育种途径,研究成果总体达同类研究的国际先进水平,同源四倍体三系配套研究达国际领先水平。

另外,鉴定委员会的专家们还提出了很好的建议:进一步加大工作力度,扩大种质资源,加快育种进程,尽早选育出具有应用前景的四倍体杂交水稻新组合,研究制种技术,同时加强有关细胞学和分子方面的基础研究。

**致谢** 该项工作得到中国科学院“西部之光”人才培养计划、四川省科学技术厅、成都生物研究所的支持,特此致谢!

#### 主要参考文献

- 1 蔡得田,袁隆平等.二十一世纪水稻育种新战略Ⅱ.利用远缘杂交和多倍体双重优势进行超级稻育种.作物学报,2001,(27),(1).
- 2 Virmani S S. Heterosis breeding in rice (*Oryza sativa* L.) Hybrid vigour. Theoretical and applied genetics, 1982, 63 (4): 373-380.
- 3 Yasui H. Detection of alien *Oryza punctata* Kotschy chromosomes in rice, *Oryza sativa* L. by genomic in situ hybridization. Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu-University, 1997, 42: 1-2, 63-68.
- 4 黄慧君. 水稻体细胞同源四倍体的人工诱导及遗传特性研究. 广东农业科学, 1995,(1).
- 5 秦瑞珍. 同源四倍体水稻花药培养在育种中的应用. 中国农业科学, 1992,(25),(1).
- 6 黄群策等. 同源四倍体水稻的诱导技术研究. 湖南农业科学, 1997,(3): 17-18.
- 7 刑少辰等. 特异同源多倍体水稻自交后代的遗传研究. 四川农业大学学报, 2000,(18),(4): 308-310,314.

## Breakthrough in Hybrid rice Breeding with Autotetraploid

Tu Shengbin *et al.*

(Institute of Optics and Electronics, CAS, 610041 Chengdu)

Rice is the leading crop in the world. To increase the yield of the rice is the main purpose for rice scientists. In the past decades, the success achieved in the development of hybrid rice was a technological innovation in rice production. But it has been carried out at the diploid level only. We try to utilize polyploidy, heterosis and biotechnology to exploit a new approach for super rice breeding. Up to now, a number of autotetraploid rice lines have been induced. Furthermore, restorer lines, male sterile lines and their maintainers of autotetraploid rice have been selected. It is the first time in the world that autotetraploid three parental lines were developed in rice. New hybrid combinations with potential of higher yield have been made. A new technology of system was made which has merit of heterosis and polyploidy.

**Keywords** rice autotetraploid, heterosis breeding

**涂升斌** 男,成都生物研究所副研究员,农业生物高新技术与育种研究室副主任。1969 年出生。植物遗传学在职博士。主要从事水稻遗传育种及分子生物学研究工作。发表学术论文 10 余篇,专利 2 项。曾经从事过化学诱导玉米无融合生殖的研究,曾参加中-法合作项目—玉米花药培养及生物技术育种的研究,与法国 USTICA 公司交换了近 200 个来自花粉植株的玉米纯系。

(相关图片请见彩插二)