

植物雄性不育系的选育与杂交制种技术

王林生^{1,2}, 李毓珍³, 马晓玉⁴ (1. 河南科技大学农学院, 河南洛阳471003; 2. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 细胞遗传研究所, 江苏南京210095; 3. 河南省许昌市种子管理站, 河南许昌461000; 4. 河南省民权县农业局, 河南民权476800)

摘要 植物雄性不育是高等植物的一种普遍现象, 是植物杂种优势利用的工具, 具有重要的生产利用价值。植物雄性不育可从自然突变中发现, 也可通过远缘杂交、人工诱变、细胞工程和基因工程等方法来创造。植物雄性不育系的选育则可通过远缘杂交和回交转育, 回交转育和保持类型品种、品系间杂交选育。为了保证杂交种的强大杂种优势, 杂交制种技术是关键, 因此, 在杂交种制种过程中, 应选择严密的隔离区, 确定适宜的父母本播期及行比, 严格去杂去劣, 及时去雄及人工辅助授粉, 适时收获、晾晒及储藏。

关键词 植物; 雄性不育系; 选育; 杂种制种技术

中图分类号 S334 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)11-2362-02

1 植物雄性不育概述

植物雄性不育是指植物雄性生殖器官不能产生正常功能的雄配子——花粉的现象, 如植物花药中无花粉、花粉败育和不裂药等均属雄性不育。在高等植物中, 雄性不育是一种普遍现象, 早在1763年德国学者Kilrcute就观察到植物雄性不育现象, 达尔文(1890)对植物雄性不育现象作了报道, 以后Correns(1904)、Bateson(1908)、Rhoades(1933)、Owen(1940)、Stephens(1954)、木原均(1951)、袁隆平(1964)等分别在欧洲夏季薄荷、甜菜、烟草、玉米、高粱、小麦、水稻等作物中发现雄性不育并开展系统研究。Kaul(1988)在“高等植物雄性不育”专著中, 综述了2989篇论文, 报道了植物43个科162个属617个物种中有雄性不育现象, 其中单子叶植物禾本科、双子叶植物茄科、豆科和十字花科中的植物雄性不育现象引起了人们的重视, 这些植物具有重要的经济价值。发现雄性不育株可以培育成不育系, 利用不育系生产杂交种子, 为增加农作物产量、改进品质、增加抗性和适应性提供优异种源^[1]。

2 植物雄性不育系的产生

2.1 自然突变雄性不育系的发现 洋葱质核互作型雄性不育系的发现是典型例子。1925年Jones在意大利红品种中发现了1棵自交不结实的雄心不育株13-53, 在该株的5个头状花序上收获了136个小鳞茎, 这些小鳞茎移栽下去长成的鳞茎, 抽出的头状花序是雄性不育的, 用其他植株给这些花序授粉, 能结出大量的种子。1944年利用洋葱不育系13-53与劳德豪岛杂交, 其杂交种被命名为加利福尼亚1号, 产量高达81000 kg/hm²。

2.2 远缘杂交创造雄性不育 远缘杂交是产生植物雄性不育系既简单又有效的方法。小麦T型细胞雄性不育系就是通过远缘杂交和连续回交, 把普通小麦的核移入到提莫菲维小麦的细胞质中而形成的。在棉花中, 同样通过远缘杂交, 将异源四倍体陆地棉的核置换到野生二倍体棉种的异源细胞质中, 产生了陆地棉核背景下的核质互作型雄性不育系。在水稻生产上大面积应用的水稻雄性不育系, 几乎都是由远缘杂交和连续回交转育而成的。

2.3 人工诱变创造雄性不育系 采用射线, 如X射线、 γ 射线、 α 射线等物理诱变因素, 或者甲基磺酸乙酯(EMS)等化学诱变剂, 可以诱变出能遗传的雄性不育性。然而, 通过人工

诱变产生的雄性不育, 大部分是由细胞核内基因突变产生的核雄性不育, 容易找到恢复系却很难找到保持系; 而通过人工诱变使细胞质突变产生细胞质雄性不育, 容易找到保持系却很难找到恢复系。关于人工诱变创造雄性不育的事例, 在番茄、高粱、烟草、大麦、小麦和水稻上均有报道。Cano(1960)用射线处理葡萄品种“Perlette”, 获得了花粉部分不育的新品系, 有自然疏果作用, 可使果穗上的浆果发育更好。第1个人工诱变的水稻雄性不育突变体出现在1935年, 由Imai利用X射线照射水稻获得。第1个报导人工诱变产生的水稻光(温)敏感型雄性不育系, 是由福建农业大学杨仁崔等于1989年得到的^[2]。

2.4 细胞工程创造雄性不育系

2.4.1 离体培养创造雄性不育系。早在1967年Butenko等在烟草体细胞无性系的变异中, 发现了雄性不育株, 此后, 报道过许多植物体细胞无性系变异产生的雄性不育株, 1978年日本的大野等首次报道了水稻体细胞无性系在育性上的变异; 中国科学院华南植物研究所的凌定厚等(1984)用幼穗、幼胚和花药作外质体, 通过离体培养获得了多个水稻雄性不育株; 四川农业大学李平(1991)和戚秀芳(1997)等选用优异的水稻种质, 分别以幼穗、胚作外质体诱导出多个雄性不育株; 美国的Rutger(1990), 用水稻品种Calrose76的花药作外质体, 培养出了一个对环境敏感的雄性不育体细胞无性变异株, 该变异株在美国加利福尼亚长日照条件下表现雄性不育, 而在夏威夷短日照特定条件下育性得以恢复。因此, 离体培养是产生植物雄性不育系的一条有效途径。

2.4.2 原生质体融合创造雄性不育系。1972年, Carlson等将粉蓝烟草和郎氏烟草的原生质体融合, 首次获得了植物体细胞杂种植株, 实现了种、属甚至科间的原生质体融合的遗传重组, 转移了许多由细胞质基因控制的性状, 植物雄性不育就是其中一种。1978年, Zelcer等将用X射线处理的雄性不育烟草的原生质体与育性正常烟草原生质体融合, 获得了胞质杂种, 首次成功通过原生质体融合实现了雄性不育性的转移。随后, 在油菜和白菜上也有相同的报道, 日本的Mitsui Toatsu化学公司生命科学研究所以Akagi等(1989), 选用粳型水稻雄性不育系MTC-9A作为雄性不育胞质基因的供体, 农林8号的突变系N8作基因受体, 于1995年培育大量的雄性不育株; 日本横滨植物技术研究所的Kyojuka等(1989), 用相同的方法成功将籼稻品种Chirsurah Bro(CB)的细胞质雄性不育性转移到粳稻品种日本晴中, 获得了雄性不育株811-75-6。

作者简介 王林生(1965-), 男, 河南民权人, 副教授, 从事植物遗传育种研究。

收稿日期 2006-03-11

2.5 通过基因工程创造雄性不育系 通过基因工程创造雄性不育系的方法很多,归纳起来无外乎两个方面:一是核雄性不育系的创造,主要通过细胞毒素基因的特异空间表达^[3]、影响小孢子发育^[4]、借助反义基因^[5]、破坏胼胝质壁^[6]、转座子突变^[7]、组成型表达等方法获得植物雄性不育系^[8];二是细胞质雄性不育系的创造,主要通过扰乱线粒体功能^[9]、导入与细胞质雄性不育相关的基因等方法创造雄性不育系^[10]。

3 雄性不育系的选育方法

3.1 核质互作型雄性不育系的选育 雄性不育系选育是杂种优势利用的基础性研究工作,目前,在生产上大面积应用的雄性不育系都具有农艺性状优良、不育性稳定、配合力高且能实现三系配套。例如,高粱中的迈罗高粱细胞质类型不育系,玉米种的T型不育系,籼稻中的野败型不育系等。

3.1.1 远缘杂交、回交转育法。利用远缘杂交是选育不育系的一个主要方法,水稻、小麦等作物常采用这种方法。如水稻上利用野败选育不育系,首先选择优良品种作父本与野败杂交,筛选出保持野败不育性的优良株系,然后选择优良株系进行连续回交,以完成核置换的过程,选育出优良的不育系。此外,利用普通野生稻与栽培稻杂交、回交也能选出不育系。在高粱上利用类型间杂交,如西非高粱与南非高粱杂交也选育出不育系。

3.1.2 回交转育法。首先利用现有的雄性不育系作母本与已知是保持类型的优良品种或品系作父本杂交,选典型的父母本成对单株套袋,进行成对杂交,成熟后成对收获,分别脱粒、保存。然后将收获的成对种子相邻种植,从中选育不育程度高或完全不育的穗,用成对种植的父母本进行回交,并将回交的父母本种子分别脱粒,成对保存。翌年,再将回交得到的种子和对应的父本种子相邻种植,开花后选育不育程度高、类似轮回父本性状的植株与对应的父本进行再次回交。当这种回交连续进行5代左右时,使母本达到完全不育,农艺性状和物候期性状等都与父本相似,新不育系就转育成功。

3.1.3 保持类型品种或品系间杂交选育不育系。通过杂交将保持类型不同品种间的优良性状组合到一起,从而选育出具有更多优良性状的新不育系。对杂交材料的要求,一是用来杂交的双亲最好都是具有稳定保持能力的品种,因为具保持能力的品种细胞核内的育性基因都是隐性的,这样杂交后代细胞核内的育性基因仍是隐性的,对不育系才具有保持能力。二是用来杂交的双亲最好在亲缘关系上与未来杂交的恢复系有较大的遗传距离,这样才能组配出杂种优势强的杂交种。三是用来杂交的双亲,综合农艺性状要优良,或者在主要农艺性状上优点互补。

3.2 核型雄性不育系的选育 核型雄性不育系是指由细胞核基因控制的雄性不育系,一般都是天然突变的,有的是隐性不育,有的是显性不育。迄今为止在高粱上已发现8个核型雄性不育系。1964年,湖南黔阳农业学校在水稻胜利籼中发现天然不育株,之后,又在籼稻洞庭早稻籼、南特号、粳稻早粳4号等品种中发现了天然不育株。1981年,石

明松在农垦58中发现了核不育株,称为光敏核不育系。1966年,Chowdhury在萝卜型油菜黄萨逊中发现了天然不育株。20世纪50年代,美国在棉花中先后发现7个核型不育系。1972年,山西省太谷县高忠丽在小麦大田中发现了1棵天然不育株,后经鉴定为显性核不育。

4 杂交制种技术

4.1 隔离区选择 隔离区选择包括地块的选择和隔离的选择。地块要选择土壤肥沃、地势平坦、肥力均匀、灌排方便、旱涝保收的地块,以保证制种田的产种量。为了保证杂交种子的纯度,防止非父本的花粉进入隔离区,必须有足够的隔离。隔离的方法有4种。

4.1.1 空间隔离。要求在制种田周围一定范围内不种非父本品种。一般,异交或常异交作物制种田要求的空间隔离距离为300~400 m,不育系繁育田500 m以上,原种要在1 000 m以上。根据当地授粉季节常见风向可作适当调整,迎风面延长距离,背风面缩短距离。

4.1.2 时间隔离。在无霜期比较长的地区,如空间隔离有一定困难,可以采取时间隔离。时间隔离就是生产田与制种田的播期错开,以使其开花期错开。

4.1.3 自然屏障隔离。自然屏障隔离是一种经济有效的方法,利用村庄、水库、大坝、树林、山峰、高地等自然屏障隔离。

4.1.4 高秆作物隔离。在无山区、高地的地方,空间隔离又有一定的困难的时候,可采取高秆作物隔离,制种田要求隔离200行以上,不育系繁殖田要求300行以上。

4.2 制种技术

4.2.1 确定父母本的播期和行比。确定好父母本的播期以使父母本花期相遇良好,这是杂交制种的关键。一般确定父母本播期的原则是使父母本同期开花,或母本比父本早开花1~2 d。若父母本花期相同,可同期或母本浸种后同播;若母本比父本早开花2~3 d,也可同播。如父母本花期相差较大,则应错期播种。

4.2.2 去杂去劣。去杂去劣是保证杂交种子质量的基础,对父母本都要去杂去劣。首先,结合间定苗拔除优势苗、劣势苗、异型苗、异色苗和病虫害苗。其次,在拔节至抽雄期,双亲中杂株表现最为明显,应彻底拔除,保证父、母本均匀一致。另外,在收获脱粒前,根据母本穗部性状将异型穗、异色穗和异轴穗捡除。

4.2.3 去雄及人工辅助授粉。去雄是保证种子质量的关键,必须认真对待。对玉米而言要求不管什么品种,采取摸苞带叶去雄,在母本的雄穗手摸成包状、未见雄穗花尖时,带1~3片叶把雄穗去掉,将抽掉的雄穗带出地外深埋。

人工辅助授粉是提高结实率、增加产种量的基础。上午10:00前可用竹杆摇晃父本,使其花粉扩大散粉面积,以利受精结籽,增加产量。授粉结束后应及时割除父本,这样不仅能够避免父本混到杂交种中,而且还能减轻病害,增加通风透光,利用光合作用,提高产量。

4.2.4 收获、晾晒及储藏。为防止种子发生冻害、霉烂、发芽率降低,种子成熟后及时收获、晾晒。为了保证种子纯度,父母本应分期收获,一般先收父本后收母本,也有先收

(上接第2363页)

母本后收父本的。在收割、装运、脱粒过程中应严格掌握操作规程,严防混杂,特别是父母本之间的混杂。

参考文献

- [1] 朱英国. 水稻雄性不育生物学[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2000.
- [2] 卢庆善, 孙毅, 华泽田, 农作物杂种优势[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2001.
- [3] MARIANI C. Induction of the male sterility in plants by a chimeric ribonuclease gene[J]. *Nature*, 1990(347): 737 - 741.
- [4] SCHOENBECK MA, TEMPLES SJ, TREPP GB, et al. Decreased NADH glutamate synthase activity in nodules and flowers of alfalfa (*Medicago sativa* L.) transformed with an antisense glutamate synthase transgene[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(342): 29 - 39.

- [5] WORRALL D, HRD D L, HODGE R, et al. Premature dissolution of the microspore callose wall causes male sterility in transgenic tobacco[J]. *Plant Cell*, 1992(4): 759 - 771.
- [6] ARIS, DIRKSE WG, SIEKMA WJ, et al. Transposon tagging of a male sterility gene in *Arabidopsis*[J]. *Nature*, 1993(363): 715 - 717.
- [7] SINKAR VP, PYTHOUD F, WHITE FF, et al. The R plasmid directs developmental abnormalities in transgenic tobacco plants[J]. *Ceres & Development*, 1988(2): 688 - 697.
- [8] HANSON MR. A rare mitochondrial mutation and male sterility[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1991(25): 461 - 486.
- [9] WALLACE DC. Mitochondrial DNA mutation and neuromuscular disease[J]. *Trends Genetics*, 1989(5): 9 - 11.
- [10] HE S, ABAD A R, GELMINS B, et al. A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial protein causes pollen disruption in transgenic tobacco[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1996, 93(21): 11763 - 11768.