

水稻花培育种研究及新进展*

陈银全 沈汉清 柯 日方

(福建省农科院地热研究所, 福州 350003)

摘 要 结合作者多年水稻花培育种的实践, 论述该育种特点、程序、培养条件及其效率比较。认为花培育种既继承杂交、诱变育种等经验, 又吸收了细胞生物学、胚胎学、遗传学等生物科学的新成就。是产生“纯系”的捷径, 能控制杂种分离, 克服杂交育种选择效率低、时间长、品种易退化等问题, 是快速、高效培育水稻新品种较好方法之一。

关键词 水稻; 花培育种; 愈伤组织; 花粉绿苗

中图分类号 S 511.035.3

Studies and Advances on Rice Anther Culture Breeding

Chen Yinquan, Shen Hanqing and Ke Fang

(Geothermal Agricultural Application Institute, Fujian Academy of
Agricultural Sciences Fuzhou 350003)

Abstract The paper dealt with the character, procedure, cultural condition and breeding efficiency of rice anther culture on the basis of the several years' practice. Rice anther culture breeding is the development of modern breeding, which inherits the experience of cross-breeding and mutation breeding, adopts the new achievements of biological science, such as cytobiology, embryology and genetics etc. It is a high speed and efficiency method of rice breeding, can control hybrid separating and resolve the problems of cross-breeding.

Key Words Rice; Anther culture breeding; Callus; Pollen green plantlet

水稻花培育种是近代育种学的发展, 它继承了杂交育种、诱变育种等经验, 又吸收了细胞生物学、胚胎学、遗传学等生物科学的新成就。

1 花培育种特点

水稻花培育种具有快速、高效之优点, 是水稻较好的育种法之一。

1.1 能有效控制杂种分离, 缩短育种年限 杂交育种后代的细胞里有来自双亲不同的两套遗传物质, 由于基因交换和重组结果, 后代会不断产生分离, 要得到一个稳定品系, 一般要经过 4~6 代时间。这是由于杂种 F_1 在形成性细胞时, 杂结合的等位基因的两个成员要随着同源染色体分离, 各进入一个子细胞, F_1 产生异质配子(卵和精子)结合, 形成了性状不同的杂合 F_2 , 由同样原因在 F_3 、 F_4 ……继续分离, 随着代数的增加, 产生的配子间的遗传差异逐渐缩小, 同质配子结合的机率增加。因此, 只有在 4 代以后才有可能出现同质结合得到稳定个体或株系。然后经品比试验肯定为新品种, 大致要 8~10 年时间, 其中大部分时间用于克服杂种分离和选育性状优良稳定的个体或品系^[1]。如果采用花培育种法, 将杂种 F_1 或 F_2 的花药进

* 收稿日期: 1996-02-02

行培养, 诱导其花粉发育成单倍体植株, 经染色体自然或人工加倍后, 就可以得到纯合二倍体, 这样纯合二倍体在遗传上稳定, 不会发生性状分离, 相当于同质配子结合的纯系。这样从杂交到获得不分离的品系, 只需两年时间, 大大缩短育种年限。

1.2 提高了选择效率 1978 年澳大利亚的 W. Rscowcroft 根据常规育种和单倍体育种遗传方差的分析估算, 提出了由于单倍体选择的显性方差减少, 加性遗传方差成倍增加, 在同一选择周期中, 单倍体选择效率要比二倍体高 6 倍, 假定杂交亲本是二对遗传因子, 我们要选择 AABB 类型的植株, 在花粉植株中占 $1/4$, 而在常规杂交的 F_2 只占 $1/16$, $1/4$ 和 $1/16$ 相比选择效率提高了四倍, 如果是 11 对遗传因子, 花粉植株中可能出现 $2^{11} = 2048$ 个纯合遗传体, 即某一种特定遗传只占总植株的 $1/2048$ 。而常规育种 F_2 有 $2^{11 \times 2} = 4194304$ 种杂合和纯合遗传型, 某种特定遗传型占植株的 $1/4194304$ 。 $1/2048$ 和 $1/4194304$ 相比选择效率提高了 2000 倍。因花培的植株是单倍体或纯合二倍体, 没有杂合体表现型存在, 而造成选择中的干扰, 因而提高了选择效率。

1.3 排除显隐性干扰, 提高了选择的准确性和可靠性 假定要选择 AABB 类型, 在花培育种中根据 AABB 遗传因子的形态表现一选就准。而在常规育种, 由于显性因子掩盖隐性因子, 所以 AABb、AaBb、AaBB 一样具有相同形态, 这种形态类型在 F_2 代占 $9/16$, 因此九株同样形态的植株中只有一株是我们真正需要的 AABB 纯合类型。实际情况还要复杂得多, 因此, 常规育种的早代, 要想选定一种类型是很难做到的。

1.4 简化育种程序, 减少试验用地和劳力 用杂种花药培养, 可以节省杂交育种中从 F_2 到获得纯系止, 4~6 代的连续选择期间所需的全部土地和劳力。

1.5 愈伤组织常发生自然加倍, 能直接得到纯合二倍体植株进行选择 自然加倍途径有二: ①主要通过细胞核内有丝分裂过程实现。即花粉愈伤组织阶段有些单倍体细胞染色体复制速度超过了细胞分裂速度, 当染色体复制数目增加了一倍时, 细胞来不及一分为二, 结果这个细胞就成了二倍体细胞, 二倍体细胞进一步繁殖分化, 就长出二倍体花粉植株; ②在某些情况下也可能由于花粉内的营养核和生殖核的融合而实现的, 即单倍体营养核和生殖核同时进入有丝分裂, 两群染色体在分裂时, 可能有一个共同的纺锤体, 这样使一组营养核的染色单体和一组生殖核的染色单体共同融合在一个子核中, 其余两组的染色单体融合到相对一个子核中去, 结果形成两个相似的二倍体核, 从这样的二倍体花粉发生的花粉植株是二倍体。

1.6 倍性多样性 花培后代中除单倍体、二倍体外, 还有多倍体和非整倍体, 为染色体工程研究, 提供丰富的材料。

1.7 花粉植株当代产生多样性 花粉植株无论来源 F_1 或 F_2 , 其当代株系表现丰富的多样性, 例如株高、生育期、芒、皮色、颖尖、株型、穗型、粒型、孕性及抗性等方面形形色色, 这些变异性状相互交叉, 组成了具有多种型态特征特性的花培株系。花粉植株当代产生的纯合多样性, 可以稳定地传给后代, 为育种创造丰富的材料来源。但是, 这些多样性和一般杂交育种 F_2 代的分离是完全不同的, 杂交育种 F_2 代的分离是雌雄配子重组的杂合体(即异配子结合)。花粉植株的分离是不同基因型单性配子经加倍的纯合体(即同配子结合), 它不受显性和隐性基因的相互掩盖和干扰, 当代能表现出优势、劣势或超亲、近亲等多样性, 下一代不再分离。我们还发现花培当代性状超亲个体较多, 这对提高选择效果有重要意义。

1.8 花粉植株二代以后性状表现整齐一致和稳定 例如我们育成的“中花 9 号”和“闽花 1

号”的不同世代,在相同的栽培条件,比较 H_3 至 H_8 的株高、穗长、每穗粒数、千粒重等主要农艺性状,结果均差异不明显,并没有随世代演变而发生退化或分离,也没有出现育性逆转现象,其主要农艺性状是整齐一致和稳定的。

2 水稻花培育种程序及培养条件

2.1 程序 有性杂交 —— 杂种花培 —— 株系选择 —— 品系鉴定

2.1.1 离体培养杂种花药(花粉)诱导并发育植株。

2.1.2 花粉植株后代选择和鉴定 花粉植株 H_1 一般是非生长季种植(温室或海南岛)和受绿苗移栽先后不同影响,生育期、分蘖力、育性和穗部性状等不能作依据,可选择是株型,一般温室栽培的株型多数比露地正季栽培好,如果植株过高,叶片披散,叶角大,茎节外露的可以淘汰,其余材料即使来源于同一块愈伤组织的绿苗,表现一致,均以单株收获,出现嵌合体的单株以单穗收获,以防后代混杂(分离)。试验证明,同一丛绿苗不同株系间,绝大多数的株高、穗长、千粒重、剑叶长和宽等性状的变异系数,与常规品种相近或略小,说明同丛绿苗的不同株系,其主要农艺性状的表现是一致的,在田间鉴定选择中,可以按绿苗丛建立区系进行比较。花粉植株 H_2 的选择鉴定是最关键的一代,是决定取舍的世代,要严格精选,大胆淘汰,防止混杂。若 H_2 代无良好育种性状,其后代多不能出现好的性状,应以组合为单位按绿苗丛分株系种植,同一丛绿苗的不同株系二代表现一致的优良株系的,可以混收,来年直接参加品比和各种鉴定,群体表现优异的而有简单分离,可以继续单株选择, H_2 代种子量少而优异株系要加快扩繁^[1]。

2.2 培养条件

2.2.1 花培选材是关键 育种成败的关键是选材。近年来我们选用杂优籼稻优良组合 F_1 花药为供体,是培育水稻新品种的捷径之一,因杂优籼稻的双亲有较远的亲缘和地理(生态)远缘,基因交换重组较复杂,后代变异范围较广,出现的变异类型就较多,有利于选择。杂种 F_1 花药因具有双亲性状的各种重组类型的物质基础,由此而来的纯合二倍体也直接表现这些类型,从中选出我们所需的新品系。再者,在目前诱导率和绿苗率不高的情况下,杂优籼稻组合可提供丰富的花药。

2.2.2 下列因素能促进诱导率和绿苗率的提高 ①选用正季栽培和生长健壮材料接种。花粉发育正常,生活力强,诱导和分化率均较高,反之则低。②要选用单核靠边期接种。单核靠边期的花粉具有最大形成愈伤组织的能力。③材料低温预处理。其原理, Sunderland 认为预先冷冻处理使花药的占绒层提供高水平的丝氨酸、谷氨酰胺和激素,推迟体细胞的败育作用; Nitch 指出,小孢子经胚胎发育途径长成小植株时,需要花药或有关组织中的某些物质,如丝氨酸、谷氨酰胺和一些生理活性物质;赵成章认为低温预处理^[2]会降低花药呼吸强度,因而减少营养物质的消耗,延长药壁细胞和花粉细胞的生命,增强药壁细胞对花粉细胞的影响使水稻的有关器官向花粉细胞供给营养物质,因此,能大幅度地提高愈伤组织诱导率。1991~1993 年我们做了材料(籼稻)低温($8\sim 10^\circ\text{C}$)预处理时间对诱导率的影响试验,从 13 个籼稻材料进行统计分析,结果预处理 3~4 周的材料,接花药 4.52 万个,出愈伤组织 3719 块,诱导率为 8.22%,而预处理 1~2 周的材料,接花药 4.26 万个,出愈伤组织 1587 块,诱导率为 3.70%。预处理最佳时间为 3 周左右,诱导率最高,三年平均为 8.23%。处理时间相同,材料不同,诱

导率差异十分明显, 以同样预处理 3 周为例, 汕优桂 32 诱导率仅为 0. 10%, 而特优 63 高达 16. 88%, 说明材料的诱导率高低受材料异质性(遗传性)的影响极为显著。④培养基选择。培养基选择当否直接影响水稻诱导率和绿苗率, 我们的材料为杂优籼稻组合, 培养基选用改良 N₆^[8]和改良通用培养基^[6], 试验三年(1991~1993 年), 结果改良 N₆ 略高于改良通用培养基, 诱导率平均分别为 6. 23% 和 5. 38%, 效果基本相同, 说明这两种培养基均适用于杂优籼稻的基本培养基, 而且是当前较好的培养基。分化培养基仍是 N₆ 培养基。⑤胰岛素对水稻花培诱导的影响。胰岛素作为一种激素在动物组织和细胞培养中研究较多, 它能刺激细胞生长和分化, 但胰岛素作为一种激素应用于植物组织和细胞培养还未见过。我们在 N₆ 基本培养基, 每升加入 2 mg 胰岛素的试验中, 发现比对照(未加)愈伤组织诱导率平均提高 67. 24%, 在 21 个材料中, 加胰岛素除一个诱导率略低于对照和一个没有出愈伤组织外, 其余 19 个材料都高于对照, 其中有 5 个材料提高一倍多, 两个材料提高 2 倍多。我们还发现胰岛素不仅能提高愈伤组织的诱导率, 而且还能促进愈伤组织的提早形成, 例如在 21 个材料试验中, 除一个没有出愈伤组织和一个略晚几天外, 其余 19 个材料均比对照提早 5~42 d, 平均提早 19. 8 d。从试验中可以看出胰岛素对于提高水稻花培的诱导率和促进愈伤组织提早形成有明显效果。⑥温湿度。花粉由正常发育条件转变到胚的发育途径, 温度是一个重要条件, 愈伤组织的诱导和分化的温度 24~30 之间, 相对湿度 60%~80%。⑦光对诱导效果不明显, 暗培养比散光好; 绿苗分化前暗后光(即转移后 3~5 d 不给光, 待愈伤组织增大一倍时给 1 000~2 000 Lx 的人工光照), 可减少愈伤组织老化, 有利于绿苗分化; 绿苗生长以强光为好。⑧pH 值。培养基的 pH 值以 5. 8~6. 0 为宜。

3 实 例

3. 1 育种效率比较 1976 年 8 月取组合(丰锦 京丰 5 号/C4- 63)的 F₂ 花药接种, 获得 11 丛绿苗, H₁ 代 42 株, 从中选出“中花 5 号”, 1978 年参加品比试验, 产量居首位。而杂交育种组用同样组合, 经七个世代选择, 以大量群体中选出“10- 6”这个品系, 性状、产量与“中花 5 号”相似, 1980 年才参加品比试验, 详见表 1^[6]。又如扬州葛美英以“晚粳 87/ 美国稻- 1”这个组合作花培和杂交育种法的比较(表 1)。

表 1 花培和杂交育种效率比较

杂 交 组 合	育种法	育成品种(系)	选择周期	群体规模(株)	整齐度
丰锦 京丰 5 号/C4- 63	花培	中花 5 号	H ₂	42	齐
丰锦 京丰 5 号/C4- 63	杂交	10- 6	F ₇	大量群体	较齐
晚粳 87/ 美国稻- 1	花培	花育 78- 246	H ₂	17	齐
晚粳 87/ 美国稻- 1	杂交	1246	F ₄	200 多	较齐
晚粳 87/ 美国稻- 1	花培	花鉴 7910	H ₂	17	齐
晚粳 87/ 美国稻- 1	杂交	1251- 1	F ₄	200 多	较齐

1979 和 1980 年以两种途径得到后代中, 分别选得了性状比较好的 2 个稳定株系。杂交的 1246、1251- 1 和花培的花育 78- 246, 花鉴 7910, 其中杂交的 1246 和花育 78- 246, 杂交的 1251- 1 和花鉴 7910, 性状基本一致。但从两种途径取得同样结果, 所花的时间、群体规模和品系整齐度看, 杂交法用去 4 个周期(从 F₂~F₅), 200 多个株系群体中选出这两株系, 而花培法只花了一个选择周期, 在 17 个株系的 H₂ 代的群体中就选得了 2 个同样株系。以杂交的 F₆

和花培 H₃ 相同株系作统计分析, 进一步比较它们的整齐度, 花育 78-246 和花鉴 7910 主要性状的变异系数都小于 1246 和 1251-1^[1]。

3.2 “中花”和“闽花”系列品种(系)的简介(表 2) 1975~1983 年我们开展粳稻花培育种, 先后培育出“中花 2 号、5 号、8 号、9 号”等品种, 其中大面积推广应用的有中花 9 号和中花 8 号, 这两个品种曾先后分别获得中国农业部和中国农业科学院的“科技进步二等奖”。

1991~1995 年我们利用杂优籼稻的优良组合的 F₁ 花药作为花培材料, 已从后代陆续选育出优良品(株)系, 为了方便记忆, 暂定名为“闽花”系列品系(种), 例如: 闽花 1 号(9121)为早稻中熟种; 闽花 2 号(93466)为早稻早熟种(香米); 闽花 3 号(93410)为早稻晚熟种(香米)。这些“闽花”系列品系(种)某些性状表现超亲现象, 这些材料正在参加区试和扩繁中。

我们认为花培 H₁ 群体不在于多大规模, 而关键在于材料个体的优良, 绿苗似经“过关斩将”的考验, 如经愈伤组织、绿苗分化、绿苗逆境(温室)的土培等自然选择过程, 幸存下来的绿苗不多, 务必精心管理, 总之, 不能用杂交育种群体规模去衡量, 否则, 就会导致否定花培育种的实用价值^[1]。从花培育种实践中, 体会到只要认真按照

表 2 “中花”及“闽花”系列品种(系)的选育

中花或闽花系 列品种(系)	花药供体 F ₂ 或 F ₁	绿苗丛 (株)	可育二倍体 (株)	选择代数 (H)
2 *	F ₂	71	5	H ₃
5 *	F ₂	11	42	H ₂
8 *	F ₂	40	42	H ₂
9 *	F ₂	40	42	H ₂
1 (9121) **	F ₁	84	61	H ₂
2 (93466) **	F ₁	67	18	H ₂
3 (93410) **	F ₁	71	14	H ₂

注: * 为中花系列品种; ** 为闽花系列品系。

上述育种程序和条件进行技术操作, 无论是粳稻还是籼稻育成一个新品种, 比杂交育种至少要快 2~3 年。因它能有效控制杂种分离, 提高选择效率, 缩短育种年限等优点, 正是这些优点克服了杂交育种选择效率低、时间长、品种易退化的问题。

4 结束语

水稻花培育种是近代育种学的发展, 它是产生“纯系”的捷径, 缩短获得纯合二倍体(遗传纯)的时间, 能克服杂交育种长期存在的选择效率低、时间长、品种易退化等问题, 因此, 水稻花培育种具有快速高效之优点, 是水稻新品种选育较好方法之一。

参考文献

- [1] 中国科学院北京植物研究所, 黑龙江农科院编著. 植物单倍体育种. 北京: 科学出版社, 1977, 16~30
- [2] 李梅芳, 陈银全, 沈锦骅. 应用花药培养选育抗稻瘟病品种的研究. 作物学报, 1983, 9 (3): 173~178
- [3] 沈锦骅, 章振华, 史锁达编. 水稻花培育种研究. 北京: 农业出版社, 1983
- [4] 朱至清. 通过氮源比较试验建立一种较好水稻花药培养基. 中国科学, 1975 (5): 484~490
- [5] 杨学荣, 王建华, 李还林. 禾谷类作物通过诱导培养基提高籼稻花培绿苗频率的研究. 沈锦骅等编. 水稻花培育种研究. 北京农业出版社, 1983, 61~69