

余波,林添资,景德道,等. 花药培养在粳型不育系快速选育上的应用[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):63-65.

花药培养在粳型不育系快速选育上的应用

余波,林添资,景德道,龚红兵,钱华飞,李 闯,周义文,曾生元,于苗苗,盛生兰

(江苏丘陵地区镇江农业科学研究所,江苏句容 212400)

摘要:花药培养具有加速杂种性状稳定、缩短育种周期、提高选择效率等效应。为了解决目前粳型不育系进展缓慢这一现状,研究如何利用花药培养技术,借助分子标记辅助选择,达到快速而高效地选育粳型不育系的目的。

关键词:水稻;花药培养;粳型不育系;常规育种

中图分类号: S511.2⁺20.352 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-00 -

多年来,我国杂交粳稻新组合选育与生产应用进展滞缓,种植面积仅占到粳稻面积的 3% 左右。从表面来看,仅占这么小的应用面积的主要原因在于全优杂交粳稻组合少;但从本质上来看,则在于时间的漫长性。杂交粳稻不育系的选育从保持系配组、选育,再到不育系的转育,需要 6 年(12 个世代)左右的时间,使得杂交粳稻的选育同常规粳稻相比,需要付出双倍的时间和精力,制约了杂交粳稻的迅速发展,这就迫切需要改良当前杂交粳稻(尤其是粳型不育系)的选育模式。

花药培养是将成熟或未成熟的花药从母体植株上取下,在无菌条件下,使其去分化生成愈伤组织,进一步生长、发育成完整植株的技术。在水稻花药培养过程中,花粉细胞处于

单核期是其去分化的临界期,过早过晚都不能去分化生成愈伤组织,水稻不育系的花粉败育是发生在单核后期或双核期之后,选择细胞处于单核早、中期的花药培养仍能获得不育系的花粉植株^[1]。通过花药培养,无论是野败型不育系^[2]、BT 型不育系^[1]还是光敏核不育系^[3-9],都能经过花药培养形成愈伤组织并分化成花粉植株,同时保持其雄性不育特性,这就为水稻雄性不育系的快速选育提供了一条新途径。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料是镇稻 14 号、镇稻 88、镇稻 88A。镇稻 14 号是江苏丘陵地区镇江农业科学研究所新育成的一个品质优、产量高、抗性好的迟熟中粳稻品种;镇稻 88 是江苏丘陵地区镇江农业科学研究所早期育成的一个抗条纹叶枯病、丰产性好的中熟中粳稻品种;镇稻 88A 是江苏丘陵地区镇江农业科学研究所早期转育的不育系材料。

1.2 选育方法

选育流程见图 1。

2 选育流程

以下结合表 1、表 2 说明粳型不育系的选育流程。

收稿日期:2013-01-05

基金项目:江苏省科技成果转化资金(编号:BA2010140);江苏省科技支撑计划(编号:BE2010364);江苏省镇江市国际合作项目(编号:GJ2010001);镇江农业科学研究所基金(编号:ZJS2008001)。

作者简介:余波(1981—),男,江苏仪征人,硕士,助理研究员,主要从事水稻育种研究。E-mail:yubo1981212@yahoo.com.cn。

通信作者:盛生兰,男,江苏丹阳人,研究员,从事水稻新品种选育。Tel:(0511)87265433。

4.7.2 纹枯病 发病初期用井冈霉素兑水喷雾,本田期防治 3~4 次。

4.7.3 稻瘟病 破口期用三环唑或稻瘟灵乳油兑水喷雾防治,连续防治 2 次。

4.7.4 螟虫 在卵孵盛期用杀虫单粉剂兑水喷雾或泼浇。

4.7.5 稻飞虱 在 2、3 龄若虫高峰期,用噻嗪酮或吡虫啉兑水喷雾。

4.7.6 草害 机插稻秧苗小,缓苗期长,大田空间大,加之前期又以浅水层为主,光温水气等条件有利于杂草滋生。未进行栽前封杀杂草的田块在栽插后 5~7 d 结合施返青分蘖肥,使用除草剂化除,化除后田间保持水层 3~5 d,水层以不淹没心叶为准。

5 收获

成熟期有 85%~91% 谷粒呈金黄色、穗枝梗已变黄时收割,田间晒稻铺,小机脱粒。

6 加工

应按照 NY/T 5190—2002《无公害食品 稻米加工技术规范》“大米加工”的规定,依拖具有先进加工设备的优质米加工厂,精细加工成整精米率 62% 以上、不完善粒少于 5%、水分低于 14.5%、黄粒少于 0.5%、杂质少于 1.0% 的精度高、质量可靠的无公害优质大米。

参考文献:

- [1]王才林,张亚东,朱 镇,等. 优质水稻新品种南粳 46 的选育与应用[J]. 中国稻米,2008(3):38-40.
- [2]魏海燕,张洪程,戴其根,等. 施氮量对优质粳稻南粳 46 产量及品质的影响[J]. 江苏农业科学,2012,40(11):50-52.
- [3]王才林,张亚东,朱镇,等. 水稻优质抗病高产育种的研究与实践[J]. 江苏农业学报,2012,28(5):921-927.
- [4]张益彬,杜永林,苏祖芳. 无公害优质稻米生产[M]. 上海:上海科学技术出版社,2003:1-8.

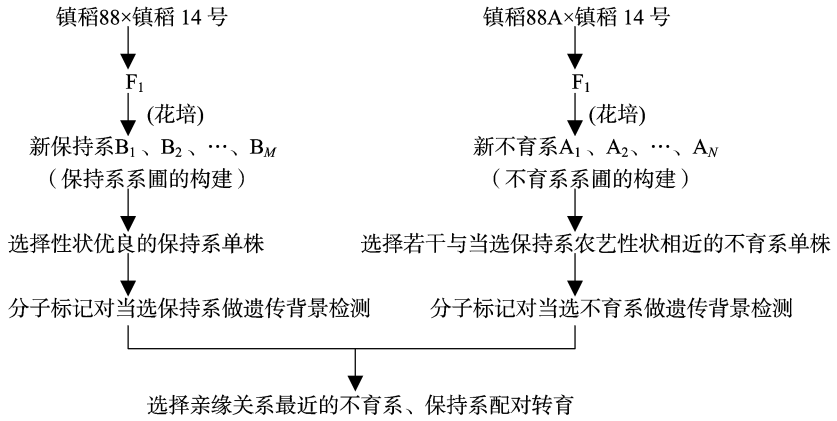


图1 不育系、保持系选育流程

表 1 粳型不育系花培快速选育流程

时间	地点	世代	系谱	处理	说明
2008 年春	海南陵水		镇稻 88 × 镇稻 14 号	配组	得 36 粒保持系种子(下个世代编号:B001)
			镇稻 88 A × 镇稻 14 号		得 28 粒不育系种子(下个世代编号:A001)
2008 年正季	江苏句容	F ₁	B001(保持系组合)	种植 B001 花药培养	取 B001 孕穗期剑叶叶枕距 2 ~ 5 cm 的幼穗进行花药培养
2008 年冬 —2009 年春	海南陵水	花培一代	B1001 ~ B1018	保持系花培苗 大田移植	将保持系花培苗移植到大田,构建保持系系圃(2007 株),其中当选保持系 18 株(编号:B1001 ~ B1018)
		F ₁	A001(不育系组合)	种植 A001 花药培养	取 A001 孕穗期剑叶叶枕距 2 ~ 5 cm 的幼穗进行花药培养
2009 年正季	江苏句容	花培二代	B2001 ~ B2013 (保持系组合)	加代	种植上代当选 18 份保持系,田选 13 份(编号:B2001 ~ B2013)
		花培一代	A1001 ~ A1065	不育系花培苗 大田移植	将不育系花培苗移植到大田,构建不育系系圃(1981 株),结合当选保持系性状,田间目测初选 65 株不育系
		BC ₁ F ₁	A2001/B2001 ↓ A2013/B2013	转育	通过分子标记辅助选择,从田间初选的不育系(65 株)中选择亲缘关系最近的不育系单株(编号:A2001 ~ A2013)与当选保持系(B2001 ~ B2013)配对转育
2009 年冬 —2010 年春	海南陵水	BC ₂ F ₁	A3001/B3001 ↓ A3013/B3013	成对转育	根据分子标记的选择结果,选择亲缘关系最近的不育系、保持系进行配对转育
2010 年正季	江苏句容	BC ₃ F ₁	A4001/B4001 ↓ A4013/B4013	成对转育	借助分子标记辅助选择,进一步转育,得到稳定的可以利用的不育系及其配对的保持系

表 2 分子标记辅助选择流程表

时间	地点	世代	材料处理	分子标记检测结果
2008 年正季	江苏句容	P	DNA 提取(镇稻 88,镇稻 14 号)	通过均匀分布在水稻 12 对染色体上的 120 对引物对镇稻 88,镇稻 14 号进行分子标记的多态性检测,共找到了可供利用的分子标记 58 个
2009 年正季	江苏句容	BC ₁ F ₁	通过可供使用的 58 对引物对当选的保持系(13 份)以及当选不育系(65 株)做遗传背景的检测	3 份保持系能找到与其遗传背景吻合度达 90% 的不育系,还有 5 份保持系找到与其遗传背景吻合度达 85% 的不育系
2009 年冬 —2010 年春	江苏句容	BC ₂ F ₁	用 58 个分子标记对配对的不育系与保持系继续检测	4 对不育系保持系吻合度达到 93%,3 对不育系保持系吻合度达到 90%
2010 年正季	江苏句容	BC ₃ F ₁	用 58 个分子标记对配对的不育系与保持系继续检测	不育系、保持系遗传背景高度吻合

2.1 杂交粳稻保持系花培快速选育

2008 年春,在海南选择具有品质优、丰产性好、抗条纹叶

枯病和稻瘟病、熟相佳的亲本镇稻 14 号与粳型保持系镇稻 88 杂交,得杂交种 F₀。

2008 年正季在江苏种植保持系杂交种 F_1 (编号: B001)。

2008 年 7 月下旬, 取孕穗期剑叶叶枕距 2 ~ 5 cm 的幼穗, 低温预处理 7 ~ 10 d, 消毒, 接种在合适的诱导培养基上 21 ~ 35 d, 转接到分化 (再生) 培养基上 15 d, 移到生根 (绿苗) 培养基。同年 11 月, 将花培苗移植到海南大田 (保持系系圃), 选优良保持系 18 株 (编号: B1001 ~ B1018)。

2.2 杂交粳稻不育系花培快速选育

2008 年春, 在海南选择具有品质优、丰产性好、抗条纹叶枯病和稻瘟病、熟相佳特性的亲本镇稻 14 号与粳型不育系镇稻 88A 杂交, 得杂交种 F_0 。

2008 年冬季, 海南种植不育系杂交种 F_1 (编号: A001)。

2009 年 2 月中下旬, 取孕穗期剑叶叶枕距 2 ~ 5 cm 的幼穗, 低温预处理 7 ~ 10 d, 消毒, 接种在合适的诱导培养基上 21 ~ 35 d, 转接到分化 (再生) 培养基上 15 d, 移到生根 (绿苗) 培养基。2009 年 6 月, 在江苏移植花培苗, 构建不育系系圃。

2.3 杂交粳稻不育系、保持系高效配对

2009 年正季, 种植上代当选保持系株系 18 份, 结合抗性及其他农艺性状选留 13 份株系 (编号: B2001 ~ B2013)。根据当选保持系性状, 从不育系系圃中初选农艺性状相近的不育系相匹配 (每 1 份当选保持系相匹配 5 株不育系)。

通过分子标记对镇稻 14 号与镇稻 88 进行遗传背景的筛选, 共使用均匀分布在水稻 12 对染色体上的 120 个分子标记进行多态性检测, 共找到了 58 个具有多态性的分子标记。

2009 年正季, 用这 58 个分子标记对当选的 13 份保持系 (B2001 ~ B2013) 以及当选不育系 (65 株) 进行遗传背景的检测, 其中有 3 份保持系能找到与其遗传背景吻合度达 90% 的不育系, 还有 5 份保持系找到与其遗传背景吻合度达 85% 以上的不育系 (如果通过正常转育至少需要 3 代), 当选的 13 份保持系 (B2001 ~ B2013) 相应匹配的不育系编号为 A2001 至 A2013。在 8 月进行初次转育 BC_1F_1 (A2001/B2001 ~ A2013/B2013)。2009 年冬, 借助分子标记辅助选择, 在海南加代转育得到 BC_2F_1 (A3001/B3001 ~ A3013/B3013), 2010 年正季, 在江苏句容继续转育 BC_3F_1 。经分子标记鉴定, 不育系、保持系遗传背景已经高度吻合, 得到稳定可以利用的成对不育系、保持系 (A4001/B4001 ~ A4013/B4013)。

3 小结与讨论

3.1 粳型不育系花培快速选育的优点

同常规粳型不育系选育相比, 花药培养具有以下优点。

(1) 效率高, 速度快。常规田间工作, 从保持系选育到不育系转育需要 6 年以上的时间, 而花培法在 F_1 代就实现了不育系、保持系的稳定; 经过分子标记辅助选择, 当选不育系和保持系之间的亲缘关系高度接近, 基本上在 3 年左右时间就可以选育出一批成对的不育系、保持系。

(2) 工作量小, 收效显著。通过花培进行不育系的选育, 无论是前期的田间杂交工作, 还是后期的田间选育, 都节约了大量的时间、精力。

(3) 综合性状稳定, 克服 F_2 的衰退现象。通过田间杂交选育的 F_2 群体, 在发生性状分离和重组的同时, 会随着世代

的增加而发生衰退, F_2 生长势、生活力、抗逆性和产量等方面均明显低于 F_1 , 尤其到了高世代, 优良性状已消失殆尽, 而花培法得到的则是纯合的后代, 不会发生衰退现象, 保证了性状的稳定。

(4) 不育系败育彻底。随着不育系转育世代的增加, 基因迁移、突变生物混杂、机械混杂等因素会引起变异、退化, 逐步产生可育的花粉, 出现不育系结实现象。而不育系花药培养获得的是纯合的二倍体, 不育系的不育特性和纯度都得到极大的提高。

3.2 粳型不育系花培快速选育的注意事项

为了选育出性状优良的不育系, 需要注意以下几点: (1) 首先要选择具有丰产性好、品质优、抗性好、熟相佳特性的亲本与粳型不育系、保持系杂交。(2) 应使用处于单核早中期的小孢子花粉细胞进行不育系花药培养, 此时花粉尚未发生败育。(3) 分子标记辅助选择使用的分子标记数量要足够多, 在染色体上的分布要均匀, 才能更好的对不育系和保持系的遗传背景进行检测, 更准确的选择不育系、保持系配对转育。(4) 花药培养的不育系系圃和保持系系圃的群体要足够大, 才容易选到性状优良的保持系单株, 找到与保持系亲缘关系接近的配对不育系。

4 结论

粳型不育系花培快速选育法, 其特征在于通过分子标记辅助选择、花药培养加速稳定的同时实现保持系和不育系的快速选育, 提高选择效率, 从而在短期内培育出性状优良的粳型不育系, 实现“优质、高产、高效”的发展目标。

参考文献:

- [1] 张承妹, 陆家安, 袁 勤, 等. 粳稻 BT 型三系花药培养提纯复壮 [J]. 上海农业学报, 2002, 18(3): 7 ~ 12.
- [2] 葛美芬, 谭长乐, 白和盛, 等. 花药培养在籼稻野败型细胞质雄性不育系提纯复壮中的应用 [J]. 江苏农业学报, 1985, 1(1): 25 ~ 32.
- [3] 蔡得田, 陈冬玲, 祝 虹, 等. 湖北光敏感核不育水稻的未受精子房和花药培养出单倍体 [J]. 实验生物学报, 1988, 2(4): 401 ~ 407.
- [4] 肖国樱, 舒理慧. 光敏核不育水稻花药培养研究 [J]. 湖南农业科学, 1990(6): 10.
- [5] 凌定厚, 陈梅芳, 马镇荣. 光敏感雄性不育水稻的体细胞与花药培养及再生植株性状表现研究 [J]. 遗传学报, 1991, 18(3): 244 ~ 251.
- [6] 吴永忠, 凌定厚. 籼型光敏感雄性不育水稻杂种花粉植株游离小孢子培养成植株 [J]. 植物学报, 1993, 35(3): 242 ~ 245.
- [7] 凌定厚, 陈梅芳, 马镇荣, 等. 提高光敏感雄性不育水稻花粉单倍体育种效率及不育花粉植株育性转换特点的研究 [J]. 遗传学报, 1993, 20(2): 167 ~ 173.
- [8] 张能义, 薛庆中. 应用花培技术选育水稻光敏核不育系 [J]. 浙江农业大学学报, 1996, 22(5): 474 ~ 480.
- [9] 邱东峰, 马云峰, 杨金松, 等. 水稻籼型光敏核不育系 HN5S 的花培改良 [J]. 湖北农业科学, 2007(2): 174 ~ 176.