

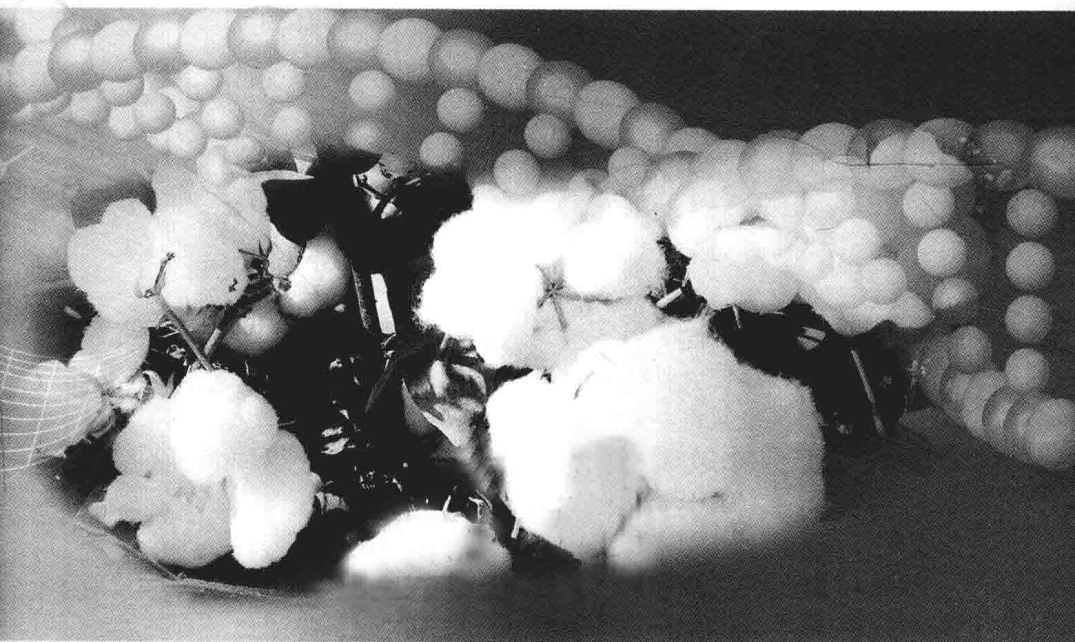
棉花细菌人工染色体 文库的构建与研究



郭红媛 著

中国农业科学技术出版社

棉花细菌人工染色体 文库的构建与研究



郭红媛 著

中国农业科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

棉花细菌人工染色体文库的构建与研究 / 郭红媛著. —北京:
中国农业科学技术出版社, 2014. 5
ISBN 978 - 7 - 5116 - 1631 - 9

I. ①棉… II. ①郭… III. ①抗虫性 - 棉花 - 作物育种 - 研究
IV. ①S562. 034

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 080722 号

责任编辑	徐 毅
责任校对	贾晓红
出 版 者	中国农业科学技术出版社 北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081
电 话	(010)82106631 (编辑室) (010)82106624 (发行部) (010)82109709 (读者服务部)
传 真	(010)82106631
网 址	http://www.castp.cn
经 销 者	各地新华书店
印 刷 者	北京富泰印刷有限责任公司
开 本	880 mm × 1 230 mm 1/32
印 张	5. 125
字 数	150 千字
版 次	2014 年 5 月第 1 版 2014 年 5 月第 1 次印刷
定 价	15. 00 元

————— 版权所有 · 翻印必究 —————

前 言

棉花，作为一种重要的经济作物，无论在国内还是国际进出口贸易中，都占有十分重要的地位。特别是近年来，随着经济发展和人类生活水平的提高，对棉花的需求也在不断增加。传统的棉花育种虽经长期的科学研究取得了一定进展，但仍存在育种周期长、制种程序繁杂等问题，因此，分子育种成为培育高产、优质棉花新品种的重要途径。我国作为一个产棉大国，选育优质、高产和抗逆的棉花新品种尤为重要。2005年，中国农业科学院抗虫棉研究课题组在郭三堆研究员的带领下，率先研究转基因抗虫棉的生产并获得巨大成功，转抗虫基因三系杂交棉技术新体系的研发成功，成为棉花育种的一大突破，从而使棉花产量大大增加，制种成本大大降低。但由于对三系杂交棉遗传基础和分子机理研究的匮乏，从分子水平上分析棉花育性相关机理，就显得尤为重要。

作者曾在郭三堆研究员带领的中国农业科学院抗虫棉研究课题组学习多年，对文库构建中高质量大片断 DNA 的提取，部分酶切最佳条件的筛选，大片断 DNA 与载体的高效连接、转化体系的建立，连接产物脱盐处理等进行

了大量研究。本书作者总结自己多年的研究经验和研究内容，从优良抗虫棉的细菌人工染色体（BAC）文库研究的意义，并重点以高配合力的优良雄性不育恢复系 18R 为试验材料，对构建优良棉花恢复系 BAC 文库的方法、操作技术要点以及棉花和其他植物的叶绿体、线粒体 BAC 文库构建进行介绍。旨在为分离棉花育性相关基因、其他功能基因及转抗虫基因三系杂交棉质核互作不育、质核互作不育的恢复以及杂种优势等方面的遗传基础和分子机理的研究提供基础。希望与广大读者交流学习。

由于本书内容涉及多个研究领域，加之作者水平有限，错误和疏漏之处在所难免，恳请读者多多指正。

作 者

2014 年 1 月

目 录

第一章 杂交棉生产与发展概况	(1)
第一节 国内外杂交棉的发展概况	(2)
一、杂交棉的发展状况	(2)
二、杂交棉的生产与繁育	(6)
三、棉花杂交制种方法	(9)
四、国内外三系杂交棉研究状况	(19)
第二节 细菌人工染色体 (BAC) 文库的研究状况	(24)
一、大片断 DNA 插入文库的发展	(24)
二、克隆载体的发展概况	(25)
三、大片断 DNA 插入文库的种类	(31)
四、BAC 文库的优、缺点	(34)
五、BAC 文库在基因组学上的研究进展	(36)
六、棉花 BAC 文库构建的研究进展	(40)
第二章 陆地棉 18R 核基因组 BAC 文库的构建	(53)
第一节 陆地棉 18R 高效 BAC 文库构建体系的建立	(53)
一、试验材料的准备与处理	(53)
二、高质量、高分子量细胞核 DNA 的制备	(66)
三、大片断 DNA 的获得	(70)
四、大肠杆菌感受态细胞的制备	(77)
五、大片断 DNA 与载体的连接与转化	(79)
六、转化子的大批量转化、存储	(83)
七、BAC 文库的复制与保存	(86)
第二节 陆地棉 18R BAC 文库的质量评估	(86)
一、插入片断的评估	(86)
二、BAC 克隆稳定性的检测	(88)

三、其他细胞器对 BAC 文库污染状况的检测	(90)
四、文库覆盖率的确定	(93)
五、PCR 法检测 BAC 混合池	(94)
第三章 陆地棉 18R 核基因组 BAC 文库构建的技术要点 ..	(97)
第一节 高质量、高分子量棉花核 DNA 提取的技术 要点	(97)
第二节 高效 BAC 文库体系构建的技术要点	(99)
一、BAC 载体与大片段 DNA 的连接	(99)
二、转化与克隆的技术要点	(100)
第三节 BAC 文库储存方法的比较	(101)
第四章 线粒体、叶绿体 DNA 的 BAC 文库	(107)
第一节 高等植物线粒体基因组文库	(108)
一、线粒体的基本特点	(108)
二、线粒体与细胞质雄性不育	(110)
三、线粒体 BAC 文库的构建	(123)
第二节 叶绿体基因组文库	(130)
一、植物叶绿体的基本特点	(130)
二、叶绿体 BAC 文库的构建	(132)
第三节 叶绿体、线粒体大片段 DNA 提取方法	(135)
一、叶绿体大片段 DNA 的提取	(135)
二、线粒体大片段 DNA 的提取	(138)
缩略词表	(144)
参考文献	(145)

第一章 杂交棉生产与发展概况

棉花是一种重要的经济作物，是人类社会中主要的生活物资之一。随着社会的发展和人类生活水平的提高，对原棉的需求也在逐年增长。我国是世界上最大的棉花生产国和消费国，也是最大的纺织品、服装生产国和出口国。棉花总产量占世界棉花产量的25%。棉产品的销售已成为我国出口创汇的主要渠道。

据报道，棉纺织物及服装出口在中国进出口贸易中占有十分重要的地位，是我国重要的出口创汇产品。2003年，中国出口贸易总额为4382.3亿美元，其中，纺织纱线、织物及制品和服装两项合计出口788.44亿美元，占中国出口贸易总额的18%。我国2004年棉纺织品和服装出口总值就超过950.9亿美元，同比增长20.6%。“九五”期间，纺织品服装累计出口2215亿美元，净创汇1700亿美元，占全国的70.6%，是我国净创汇的主要行业。2004年，全国棉花生产总量处于“紧平衡”状态：棉花种植面积约569万 hm^2 ，总产约632万t，是我国棉花总产第二次迈上600万t的高产年。近年来，在纺织品出口的带动下，棉花需求继续增长。2002年、2003年、2004年全国棉花需求分别为680万t、730万t、770万t。2005年棉纱产量预测增长10%~12%，需原棉850万~865万t，棉花生产按照2004年632万t产量计算，进口配额总量145万t，棉花库存将大大下降。据中国海关统计，2002—2004年，3年内我国分别出口棉花16.8万t、11.2万t和0.9万t；分别进口棉花17.23万t、87万t和190.4万t；3年年均进口量为98万t，占世界同期平均总量的14%。其中，2003年中国进口贸易量占世界当年进口贸易总量的27.1%。国内棉花进口大幅增加，出口急剧萎缩，棉花缺口也将继续扩大。

我国是一个人口大国，存在粮、油、棉争地等矛盾。棉花生产

不能满足实际需求。然而,随着棉纺工业的发展,棉花供求矛盾更显突出。另外,棉花的增产对调整农业生产结构、增加农民收入、增强民族棉业的国际竞争力等同样具有十分重要的意义。因此,在有限的土地资源条件下,培育高产、优质的棉花新品种是解决这一问题的有效途径。

杂种优势是生物界普遍存在的现象,它可以表现在各种经济性状、生长发育、生理生化以及分子水平等各个层次上。利用杂种优势是现代农业提高农作物产量、品质和抗逆性的有效途径。

棉花具有明显的杂种优势,利用杂种优势种植杂交棉可以大幅度提高皮棉产量,改善纤维品质,增强抗逆性,同时,产生巨大的经济效益和社会效益。因此,杂交化是棉种发展的必然方向。

第一节 国内外杂交棉的发展概况

一、杂交棉的发展状况

杂种优势是指两个遗传组成不同的亲本通过杂交,其后代(主要指 F₁) 性状较亲本表现某种优势的现象,通常表现为经济产量高的生殖生长优势、植株营养体生长强盛引起的营养生长优势和适应性优势。杂种优势有强有弱、有正有负,因组合而异。杂交育种是一个筛选高配合力的亲本,并配制出高产、优质、抗逆性强的杂交组合的过程。

棉花杂种优势的研究早在 20 世纪初就已开始,但制种仅从 20 世纪 60 年代开始。美国是研究棉花杂种优势最早的国家,50 年代由 Eaton 发现杀雄配子剂,随后选育和创造了一批棉花雄性不育系材料,如双隐性雄性不育系(ms5ms6、ms8ms9)和单隐性雄性不育系(ms)以及三系配套的哈克尼西棉胞质不育系 Hark277A 和三裂棉胞质不育系 D8 等,组合涉及陆陆杂种、陆海杂种、F₂ 代利用和三交组合等。但这些不育系农艺性状较差或恢复源狭窄,没有筛选出强优势杂交组合。1978 年发现化学杀雄剂 TD-1123,1992 年发放了第一个可以利用 F₂ 的组合 Acala-CB305,但因母本基因型的不同,使这项工作难以进展,至 1995 年基本停止。美国还试验利

用昆虫传粉生产杂交种，但这因要求不用杀虫剂而受到很大限制。利用人工杂交制种选育强优势杂交组合比较容易，但因劳动力昂贵，未能得到大面积推广应用。

印度是世界上第一个大规模应用杂交棉的国家，自 1970 年第一个杂交种 H4 在古吉拉特邦发放以后，一系列杂交种相继培育成功。杂交棉种植面积占印度植棉面积的 40%，产量占印度棉花总产的 48%，被称为印度植棉史上的一次革命，对印度棉产业的发展做出了重要贡献。印度的杂交棉研究开始于 1930 年，印度著名棉花专家 C. T. Patel 博士率领一个课题组，在古吉拉特邦棉花试验站，首先开展了这方面研究。当时的初衷是想利用杂种优势培育高产、优质的杂交种，提高棉花产量和品质以满足印度国内对棉花的需求。与我国早期研究相似，首先开展了海陆杂交研究，希望将陆地棉的高产潜力和海岛棉优异的纤维品质结合起来，做了大规模的杂交组合比较试验和品质测定。第一个陆海杂交种 H1 在 1956—1957 年进行试种，由于杂交种价格太高，产量不稳定，未能成功；1961—1962 年，另一个陆海杂交种 H2 在生产上试种，但由于种间杂种的棉结问题未能发放；1963 年陆地棉间杂交种 H3 开始在生产上试种，但由于父本为多年生陆地棉半野生种，亲本开花期相差很大，影响制种而未能成功。当然上述杂交种未能成功也与产量优势不够大有关。经过 40 年的不懈努力，C. T. Patel 博士终于在 1970 年发放了著名的陆地棉杂交种 H4，该杂交种以其显著的产量潜力和广泛的适应性取得了成功，时至现在，杂交种 H4 仍在生产上有一定种植面积。两年以后第一个陆海杂交种“Varalaxmi”在印度南部棉区卡那塔克邦成功发放。随着这两个杂交种的培育成功，印度掀起了杂交棉研究热潮，一系列四倍体杂交种，甚至二倍体杂交种相继获准发放。但二倍体杂交种存在的问题是：杂交制种成铃率很低，大约只有 25%，严重影响制种产量和制种成本。

越南杂交棉研究始于 1984 年，杂交棉植棉面积占总植棉面积的 90% 左右。每公顷皮棉产量由原来不足 600kg 增加到 1 000kg 以上。种植杂交棉的国家还有巴基斯坦、澳大利亚、以色列、乌兹别

克斯坦、埃及、苏丹等，其中，一些国家以陆海杂交种为主，种植面积较小。

我国杂交棉研究始于20世纪20年代，从50年代末到60年代初集中于种间杂种优势。70年代品种间杂种优势利用研究进展较大，当时四川省发现洞A核雄性不育系。70年代主要以中棉所7号为亲本的杂交组合，在河南省南阳、商丘、周口等地区种植，在山东省种植渤优1号、渤优2号组合。80年代以来，较大面积种植的组合有中杂829、中杂019、中杂028、冀杂29等，主要分布于山东省滨州、江苏省靖江、河南省睢县及河北省晋县等地，其中，山东省滨州地区连续20年进行杂交棉制种和种植。90年代主要推广的品种有中棉所28（中杂028）、苏杂16、湘杂棉1号、湘杂棉2号和皖杂40等杂交种二代。1998年以来，河北省的超级标杂棉的选育得到显著成效，多种杂交棉也不断出现。90年代以来，棉铃虫在我国，特别是北方棉区连年暴发，其为害严重程度为植棉史上罕见。造成黄淮棉区棉花减产20%~30%，有的地方甚至绝收。1993年国务院和农业部提出，3年内基本控制棉铃虫为害战略方针。中国农业科学院生物研究所围绕这一指示，在综合治理棉铃虫方面做了大量研究工作，率先将抗棉铃虫*Bt*基因转育到生产上并大面积推广，同时，开展了抗虫杂交棉高优势组合的选育研究。该项研究进展较快，已有多个组合参加全国抗虫棉区域试验，杂种优势明显。

在这期间多种杂交棉不断育成。其中，“九五”以来由安徽省农业科学院棉花研究所育成并通过审定的棉花新品种就有很多种，如皖棉10号、皖棉13号（皖杂40）、皖棉16号、皖棉17号、皖棉24号（皖杂3号）。以皖杂40为例，它是安徽省农业科学院棉花所育成的强优势杂交棉，具有显著的丰产性以及良好的早熟性、抗病性和优良品质。结铃率高，铃大，单铃重5g左右，衣分高，平均41.5%左右。皖杂40在各试点表现现蕾早，果枝节位低，吐絮早，生育期较短，霜前花率高，属中熟偏早类型，全生育期130天，产量高，耐水耐肥。皖杂40叶色较淡，叶片中等大小，前期

结铃性特强，但后期生长势稍弱，茎秆软，结铃较多时易于弯腰和倒伏。

标记杂交棉一号是由石家庄市农业科学院科研人员根据生物杂交优势原理，进行人工组配而成的一代标记抗虫杂交棉。在我国棉花杂交优势利用上是一个不多见的具有标记性状的杂交种。全生育期 120 天左右，属中早熟品种。杂交优势明显，茎秆粗壮，植株高大，株型松散，一般株高 1.2 ~ 1.5m，叶枝发达，赘芽再生能力差，叶型为鸡脚叶，吐絮肥畅，易采收。成铃均匀一致，结铃性强，桃大，单铃重 5.5g 以上。纤维品质及光泽度好，全株少腺体，抗枯萎，耐黄萎病。适宜采用宽、稀、简的种植方式。标记杂交棉一号具有鸡脚叶的明显标记，与常规棉区别较大，在苗期达到 4 片真叶时鸡脚叶性状出现，即可鉴别真伪，识别假冒。但二代种子分离严重，产量减退率为 40% 以上，因此，生产中严禁使用二代种子。

中棉 52（国审棉：2005006）：长江、黄淮流域棉区作春棉种植，全生育期 120 ~ 129 天，植株塔形、较紧凑，株高 105cm，茎秆青紫色、茸毛多，叶片中等大小、叶色稍浅，铃卵圆形，单株结桃 60 个以上，单铃重 6.25g，吐絮畅，子指 10.2g，衣分 40.2%。抗枯萎病，耐黄萎病，抗棉铃虫、盲椿象。该品种是中国农业科学院棉花研究所培育的转基因抗虫杂交棉一代种子，2005 年通过国审。该品种在示范生产中，表现出多抗、高产、稳产等特性。

2013 年 11 月，科技日报报道，中国农业科学院棉花研究所研究员张永山分析，病虫害和纤维品质是长期困扰我国棉花产业发展的两大顽疾。20 世纪 90 年代，我国科学家联合攻关，成功研制了具有自主知识产权的第一代转基因棉花，有效遏制了棉铃虫的为害，使国产转基因抗虫棉的市场占有率从 5% 提高到 95% 以上。由于我国棉花纤维内在品质相对较差，特别是机械采收对棉花纤维品质提出了更高的要求。以改善纤维品质、提高作物产量、增强抗逆性等为主要目标的第二代转优质基因品种培育及材料创制已取得突破性进展。第二代转基因棉花纤维品质改良及应用，使我国棉花优

质纤维转基因研究与利用达到国际先进水平。以改良纤维品质、提高产量，增加抗旱性和提高抗病性为代表的新型转基因棉花表现出良好的效果和广阔的应用前景。利用转基因技术，结合常规育种和分子标记辅助育种等手段，加快这些新型基因的生产应用，将会促进我国转基因棉花的全面快速发展，为棉花生产的可持续发展提供战略支撑。

二、杂交棉的生产与繁育

杂交棉一般指杂交生产的棉花种子，有时也指用杂交种子种植的棉花。目前，生产上的杂交棉种的生产方式主要有3种，即人工去雄授粉法、核不育一系两用法和质核互作三系不育系法。

人工去雄授粉法。是目前生产杂交种的最主要方法，市场上销售和应用的品种90%以上是应用这种方法生产的。父母本均为普通的棉花品系。在开始授粉之前要清理底部的花蕾抑制自交成铃；在每天下午和第二天早上6:00之前，需要将即将开放的花蕾去雄并且在早6:00离开制种田；离开制种田后要组织人员清理是否漏掉了需要去雄的花蕾；要检查去雄是否彻底，有无遗漏雄蕊；整个授粉结束后要连续一周清理无效蕾；要清理授粉期间产生的自交铃。

核不育一系两用法。这种方法母本田中可育株和不育株各占约50%，将母本田中的可育株和不育株兄妹交子代仍产生可育株和不育株各占约50%，这样可以生产母本；将母本田中的可育株拔除，剩余不育株和父本（即恢复系）杂交，可以生产应用于生产的杂交种。

质核互作三系不育系法。所谓三系指不育系、保持系、恢复系三系。不育系和保持系杂交子代仍为不育系，这样可以生产母本；不育系和恢复系杂交，可以生产应用于生产的杂交种。这种方法中的不育系不育株率和不育度均为100%。

不同的方法各有利弊。人工去雄法：组合自由度高，任何品系均可测交筛选组合；生产工序繁杂，需要清除漏花、清除自交铃、检查去雄是否干净；用工量多，每公顷日用工50~60人，仅授粉

期间需用工 1 500 ~ 1 900 个；劳动强度高，每天工作时间 12 个小时，人员难组织；产量高，一般毛籽产量为 $1\,650 \sim 2\,250 \text{ kg/hm}^2$ ；成本高，毛籽回收价格 37 ~ 40 元/kg；纯度较高，因存在剥大花、自交铃等问题，纯度较难保证；亲本不易保密，亲本容易流失，在播种收获各环节都可能出现亲本流失问题；监管难度大，监管时间长，工作程序多。核不育一系两用法：自由组合度中等，任何品种均可作父本测交筛选组合，但仍需转育新的不育系，组合仍受一定限制；生产工序繁杂程度中等，在现蕾 15 天之后才可以拔除母本田中可育株；不用去雄，仅需授粉；用工量中等，每公顷拔除可育株需用工 100 个左右，授粉期间用工 30 ~ 45 人/日，折合 15 ~ 23 个工，总用工 550 ~ 700 个；劳动强度低，一般毛籽产量为 $1\,300 \sim 1\,600 \text{ kg/hm}^2$ ；成本比人工去雄法低；纯度较高，可育株拔除不干净 F1 可能出现不育株；亲本不易流失；监管难度中等，拔除可育株是关键环节，必须多次拔除。质核互作不育系：自由组合度低，需转育新的不育系或（和）新的恢复系；生产工序繁杂程度简单，不用去雄，直接授粉；用工量少，授粉期间每公顷日用工 30 ~ 45 人，折合 15 ~ 23 个工，总用工 450 ~ 600 个；劳动强度低，仅上午授粉 3 个小时，人员易组织；产量高，一般毛籽产量为 $1\,500 \sim 2\,250 \text{ kg/hm}^2$ ；成本低，毛籽回收价格 26 ~ 30 元/kg；纯度高，不存在杂交铃等纯度问题；亲本（配套亲本）不可能流失，3 个材料不在一地制种，基本不可能流失配套亲本；监管难度容易。

棉花是我国主要农作物，皮棉是纺织业的主要原料，纺织业是我国重要的创汇产业。在国家大力支持下，纺织工业快速发展，需棉量急剧增加。目前，国内棉花满足不了企业需求，棉花进口量快速增加，2006 年进口 364 万 t，纺织业对皮棉需求量的加大，必然拉动植棉面积的增加。

我国常年植棉面积在 8 000 万 ~ 10 000 万亩（1 亩 $\approx 116 \text{ m}^2$ ；15 亩 = 1 hm^2 ，全书同），目前，长江流域 90% 以上种植杂交棉品种，基本实现杂交棉化，约需杂交棉种 1 500 万 kg；黄河流域棉区达 30%，约需杂交棉种 1 200 万 kg；新疆维吾尔自治区（全书称新

疆)棉区2007年播种面积达10万 hm^2 ,约需杂交棉种450万kg。杂交棉种年需求量稳定在3500万kg以上,并且随着棉农对杂交棉增产增收的逐步认识和国家及种业企业的大力推广,用量还将增加。

杂交棉种的市场销售价格一般在80~100元/kg,随着生产企业的增多,销售价格将持稳或略有下降,而随着人工费用的增加,种子生产成本必将逐年上升,河北邯郸繁殖的杂交棉种子成本价达55元/kg,种子生产销售企业和各级经销商的利润空间变小。

应用不育系生产杂交种子,不用去雄直接授粉,节省人工,目前,成本仅为35~40元/kg,如利用蜜蜂授粉生产杂交棉种子,成本将更低,种子生产销售企业和经销商的利润空间较大。

近几年来,杂交棉花品种的种植面积有迅猛扩大的趋势,特别是杂交抗虫棉品种的面积在杂交棉的面积中又占据着主导地位。杂交棉与常规棉比较,增产优势十分明显,一般增产10%以上,高的达15%~20%,其中,杂交抗虫棉又有抗棉铃虫、红铃虫等鳞翅目害虫的优势,更受广大农民的青睐。因此,杂交棉和杂交抗虫棉在不少主产棉区已占棉田面积的80%左右,逐渐替代了常规棉。但是,从近两年大面积种植杂交棉和杂交抗虫棉的情况来看,绝大部分种植农户达到了增产增收的目的,但也有的不尽如人意,有的产量平平,有的甚至减产,其中原因之一,就是种植方式不合理。有的宽行过宽,有的窄行过窄;有的株距过大,有的株距太小;有的棉田每亩密度达1700~1800株,有的不足1100株。由于杂交棉个体发育旺盛,密度过大的棉田田间荫蔽大,通风透光差,棉株下部蕾铃脱落严重,结桃少,烂桃多,还易诱发其他病虫害;密度过稀的棉田,棉花单株结桃虽然较多,但每亩总桃数减少。可以说,过稀过密都会使杂交棉的产量受到制约。为此,必须着手抓好棉花种植方式的改进。第一要把握时机,改革沟厢。一是好多棉花前茬为春季花地,休闲地便于改厢;二是前茬作物苗子小,也便于改厢;三是冬季雨水少,好改厢;四是改厢后翻耕预留棉行,土壤翻晒易于疏松;五是可以杀灭部分杂草和害虫。第二要明确方式,

确定密度棉花的产量结构,是由每亩种植株数、单株桃数、亩产总桃数和单铃重、衣分构成的。合理的种植方式和密度是杂交棉高产的重要基础。从当前大面积种植杂交棉的状况来看,杂交棉宜于宽行控株种植,要根据各地土壤肥力和肥料投入水平,敲定种植方式和密度,棉花厢宽宜于2~2.4m(含沟),种植两行棉花,即行距1~1.2m,株距0.45~0.5m,每亩密度1300株左右。这样的方式和密度,有利于充分利用空间和地力;有利于棉花田间操作管理;有利于通风透光;有利于棉株个体发育和群体发育,一般每亩总桃数可达55000~60000个,每亩籽棉产量可达300kg左右。第三要抓好配套,共促高产杂交棉。抓住了种植方式改革和合理的密度,就为棉花高产创造了一定的条件,但夺取高产还须抓好综合配套措施:一是要相应改善棉田水系设施,开好棉田厢沟、腰沟、围沟和排水大沟,做到能排能灌;二要积造有机肥,改善棉田土壤;三要在棉花生长期,科学施肥、化学调控,塑造稳健株型;四要防治好病虫。只有这样,种植杂交棉和杂交抗虫棉品种才有把握夺取高产丰收。

杂交棉的种植使棉花产量大幅度增加。但由于棉花制种大多采用人工去雄授粉的方法,这种方法费时、费工,使得制种受到限制。因此,降低人工去雄授粉的劳动强度,提高棉花制种效率是棉花育种学家研究的主要方向。

综上所述,杂交棉的种植可以大幅度提高皮棉产量,改善纤维品质,增强抗逆性。然而,杂交棉的选育及生产存在两大难题,即胞质雄性不育恢复源狭窄、高优势杂交组合选育难和种子生产成本低、效率低。近年来,在抗虫杂交棉(转*Bt*基因抗虫棉)的选育取得巨大成功的同时,育种学家也致力于解决棉花制种难的问题。

三、棉花杂交制种方法

(一) 三系杂交育种史

以杂交稻为例,1958年,日本东北大学胜尾清发现中国的红芒野生稻能导致藤板5号产生雄性不育。1966年,日本琉球大学新城长友以钦苏拉包罗Ⅱ为母本与台中65杂交,育成BT型不育

胞质台中 65A，并将该杂交组合后代的部分可育株经自交选出了 BT 型不育系的同质恢复系，于 1968 年实现粳型杂交稻三系配套。我国杂交水稻的研究始于 1964 年，当时在湖南安江农校任教的袁隆平从洞庭早粳、胜利粳和矮脚南特等粳稻品种中找到 6 株雄性不育株，并根据花粉败育情况分为无花粉型、败育型和退化型 3 种。随后进行的遗传和数以千计的测交试验表明：这些材料属于单基因控制的隐性核不育；找不到能完全保持其不育特性的品种，利用价值不大。1970 年 11 月，李必湖等在海南省三亚市南红农场的水沟边发现了 1 株花粉败育的野生稻（简称野败），为雄性不育系的选育打开了突破口。次年春季的试验就表明广场矮 3784、6044、二九南等品种（系）对野败不育株具有很好地保持能力。经过随后两年全国各育种单位的通力合作，到 1972 年冬在海南省冬繁时就获得了农艺性状一致、不育株率和不育度均达到 100% 的不育系群体，如珍汕 97A 和 B、二九南 1 号 A 和 B 等。至此，我国第一批野败细胞质不育系宣告育成。水稻雄性不育系育成以后，1973 年原广西农学院等单位陆续筛选出 IR24、IR26、泰引 1 号、古 154 等一批强优恢复系，并选配出汕优 2 号、南优 2 号等系列强优势杂交稻组合。从此，以我国粳型三系杂交水稻实现配套为标志，宣告杂交水稻选育成功。

1. 雄性不育系与保持系的选育

选育水稻雄性不育系首先要获得能稳定遗传的雄性不育株，其次是有能把雄性不育株的不育特性传递下去的保持材料，然后通过测交和连续成对回交，完成全部核置换之后就可育成三系雄性不育系及其相应的同型保持系。

（1）雄性不育株的获得：获得原始的雄性不育株，可从大田自然群体中寻找或通过远缘杂交产生。前者如袁隆平早期从胜利粳、洞庭早粳、矮脚南特等粳稻品种中发现的 C 系统不育材料；后者如李必湖等发现并被试验证实由野生稻与栽培稻天然杂交产生的野败雄性不育株；四川农业大学通过地理生态远缘杂交获得的用于培育冈 46A 等不育系的不育株，湖南杂交水稻研究中心用于培