

现代生物技术前沿

钱 前 主 编
郭龙彪 杨长登 副主编

水稻基因设计育种



科学出版社

www.sciencep.com

现代生物技术前沿

钱前 主编
郭龙彪 杨长登 副主编

水稻基因设计育种

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书系统地介绍了水稻转基因技术、花药培养、分子标记辅助育种和基因组辅助育种的基本原理和方法,阐述了水稻产量性状、抗虫性、抗逆性状、营养品质和特异种质的遗传研究及分子育种的最新进展、水稻基因设计育种数据库建设和水稻基因设计育种的展望,反映了在水稻分子育种方面获得的成果。全书共分12章,各章节前后呼应,又独立成章,是一本涵盖了水稻遗传学、分子标记辅助选择及水稻重要性状的分子育种等多方面理论和实践知识的最新参考书。

本书可供作物遗传育种、分子遗传学、生物学、农学和生物工程等专业的教师、学生及相关领域的科研人员及管理工作者阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

水稻基因设计育种/钱前主编. —北京:科学出版社,2007

ISBN 978-7-03-020098-3

I. 水… II. 钱… III. ①水稻-基因-研究②水稻-作物育种-研究
IV. S511.032

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第176139号

责任编辑:王 静 李 悦 刘 晶/责任校对:朱光光

责任印制:钱玉芬/封面设计:王 浩

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年12月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2007年12月第一次印刷 印张:33 1/4

印数:1—2 500 字数:769 000

定价:98.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

《水稻基因设计育种》编写人员

主 编 钱 前

副主编 郭龙彪 杨长登

各章编写人员

- | | | | | |
|------|-----|-----|-----|-----|
| 第一章 | 朱旭东 | 黄大年 | | |
| 第二章 | 杨长登 | 樊龙江 | | |
| 第三章 | 钱 前 | 胡兴明 | 马丽莲 | |
| 第四章 | 吴建利 | 马良勇 | 刘 坚 | |
| 第五章 | 曾大力 | 杨宝军 | 胡 江 | |
| 第六章 | 庄杰云 | 张光恒 | 陆 斌 | 朱克明 |
| 第七章 | 高振宇 | 薛大伟 | 程海涛 | |
| 第八章 | 郭龙彪 | 姜 华 | 王丹英 | |
| 第九章 | 曹立勇 | 朱旭东 | 樊叶杨 | |
| 第十章 | 薛大伟 | 张光恒 | 曾龙军 | 邵国胜 |
| 第十一章 | 王 磊 | 鄂志国 | | |
| 第十二章 | 薛勇彪 | 韩 斌 | 钱 前 | |

序

水稻是世界上最重要的粮食作物之一，全球一半以上的人口以稻米为主食。以矮秆育种和杂种优势利用为特征的水稻品种改良使我国水稻单产发生了两次飞跃，为解决我国的粮食问题作出了巨大贡献。然而，近年来出现了水稻单产水平徘徊不前和水稻品种产量潜力难以提高的局面，再加上耕地面积减少、全球变暖等环境变化也正威胁着水稻生产的可持续发展，水稻生产面临严峻挑战。自1997年稻谷总产达到2亿吨历史峰值之后，我国稻谷总产量连年下降。面对人口不断增加、耕地面积减少、生态环境恶化的压力，要保障我国的粮食供给，迫切要求水稻单产有新的突破。

为争取早日实现我国水稻单产的第三次飞跃，1996年，我国提出了实施超级稻育种设想，采用理想株型塑造与籼粳杂种优势利用相结合的技术路线，来大幅度提高水稻单产。近些年，随着水稻基因组研究的发展，分子技术在水稻育种上的应用逐步得到发展和完善。2003年，中国水稻研究所组织中外科学家进行学术研讨，首次提出“基因设计育种将成为水稻育种第三次飞跃的突破口”的新观点，为水稻的品种改良指明了新的方向。

常规育种要有新的技术平台，生物技术需要新的载体，而“基因设计育种”就是两者的结合点。中国水稻研究所正在参与国家水稻功能基因组计划研究，主要负责水稻突变体的创制和重要农艺性状基因的功能分析，已成功地参与了 *MOC1*、*Gnl*、*BC1* 和 *ALK* 等一系列基因的克隆；同时，也正在主持国家超级稻育种计划，通过分子技术育成了超级杂交稻协优9308和优质、抗病恢复系R218、R8006及其系列组合。此外，还选育出了转 *Bar* 基因和耐盐转基因水稻。因此，中国水稻研究所成为具有常规育种和生物技术两者“最佳结合点”的单位之一。该书的主编是长期与我合作研究的同事，而编写人员多为科研骨干，他们在水稻遗传学和分子育种方面积累了丰富的第一手资料，并且思想活跃，富有朝气。由他们编写的《水稻基因设计育种》以较为翔实的资料阐述了水稻遗传学、分子标记辅助选择和转基因育种等多方面的理论和实践知识，展示出“基因设计育种”的良好开端。

《水稻基因设计育种》的出版，为水稻遗传育种提供了一本全面了解应用分子技术进行“基因设计育种”的参考书，值得一读。该书特别适合年轻的水稻科技工作者与高等院校研究生参考。我荣幸地把此书推荐给大家，并希望该书的出版能促进水稻分子遗传、功能基因组、生物信息学和生物技术研究成果尽早应用于实践，推动我国水稻育种的理论和方法取得新突破，在保障我国粮食安全中发挥积极的作用。

程式华

2007年3月

前 言

2003年10月,国内外专家云集中国水稻研究所,提出了“水稻基因设计育种将成为第三次水稻育种突破口”的新观点。目前,水稻作为人类半数人口的主食和单子叶作物的模式植物,其基因组的测序已完成,60多个水稻突变体基因也已被克隆或鉴定,这标志着水稻科学的研究进入了“功能基因组时代”。

“水稻基因设计育种”就是建立在水稻全基因组测序工作已经完成的基础上,在主要农艺性状基因功能明确的前提下,对有利基因进行剪切、聚合和改良,以培育在产量、品质、抗逆性等多方面都具有极大优势的超级稻新品种。然而,目前水稻界尚缺少一本系统地介绍水稻基因设计育种的参考书。为此,我们编写了本书,旨在使读者对水稻基因设计育种有全局性的认识。

全书共12章。第一、二章综合论述了水稻品种改良技术的变革及水稻分子育种技术和原理;第三章至第十章分别从水稻产量、抗病虫性、生理性状、营养品质、抗逆性、杂种优势和优异水稻种质等方面介绍了其遗传和分子育种进展;第十一章论述了水稻基因设计育种数据库的建设;第十二章是对水稻基因设计育种前景的展望。

本书编写人员均是长期奋战在水稻遗传育种、种质创新、分子遗传和基因组学等研究领域的科研骨干。他们站在学科发展的前沿,热衷实践,学术思想活跃,富有开拓进取的精神。作为编者,我期望本书能够开拓读者视野,活跃读者思想,为我国水稻育种事业的发展、解决我国21世纪粮食问题尽微薄之力。

在本书编写和出版的过程中,科学出版社李悦编辑和《中国水稻科学》编辑部李建副编审付出了大量劳动,同时还得到了科学出版基金、国家“973”项目、“863”计划、国家自然科学基金和浙江省科技项目等的资助,在此一并表示衷心的感谢。

由于目前的分子标记辅助选择和转基因育种只是“基因设计育种”的开始,基因设计育种尚处于初级阶段,加上本书涉及水稻经典遗传学、分子遗传学、基因组学、转基因技术及品种选育等领域,学科面广,尽管我们尽最大努力对全书进行了仔细地审校,力保其科学性和准确性,然而疏漏之处在所难免,敬请广大读者批评和指正。

钱 前

2007年3月

目 录

序

前言

第一章 水稻品种改良技术的变革	1
第一节 水稻的常规育种技术	2
第二节 杂交稻育种技术	5
第三节 水稻远缘杂交技术	9
第四节 花药培养育种技术	16
主要参考文献	26
第二章 水稻分子育种技术和原理	29
第一节 水稻遗传转化技术	29
第二节 分子标记辅助育种技术	40
第三节 全基因组辅助育种技术	54
第四节 花药培养结合分子标记辅助育种技术	61
主要参考文献	63
第三章 水稻产量性状的分子育种	69
第一节 水稻株高的分子育种	69
第二节 水稻分蘖的分子育种	79
第三节 水稻粒重基因的分子育种	87
第四节 水稻穗形的分子育种	99
主要参考文献	107
第四章 抗病性分子育种	111
第一节 水稻的抗白叶枯病分子育种	111
第二节 水稻的抗稻瘟病分子育种	128
第三节 水稻的抗纹枯病分子育种	139
第四节 水稻的抗病性聚合分子育种	147
主要参考文献	156
第五章 抗虫性分子育种	165
第一节 水稻的抗白背飞虱分子育种	165
第二节 水稻抗褐飞虱分子育种	176
第三节 水稻的 Bt 杀虫蛋白基因	183
第四节 水稻的其他抗虫基因工程	192
主要参考文献	197
第六章 水稻生理性状的分子育种	205
第一节 水稻生育期的分子育种	205

第二节	水稻的高光效分子育种	212
第三节	水稻储藏活力的分子育种	223
第四节	水稻根系活力的分子育种	234
	主要参考文献	243
第七章	水稻营养品质分子育种	248
第一节	水稻淀粉品质的分子育种	248
第二节	水稻蛋白质成分分子育种	260
第三节	水稻微量营养的分子育种	271
	主要参考文献	291
第八章	水稻抗逆性状分子育种	297
第一节	水稻抗旱、耐涝性状的分子育种	297
第二节	水稻耐寒性分子育种	313
第三节	水稻抗除草剂的分子育种	325
第四节	水稻耐盐性的分子育种	336
	主要参考文献	350
第九章	杂交稻若干性状的分子育种	357
第一节	杂交稻恢复基因的分子育种	357
第二节	水稻柱头外露分子育种	363
第三节	杂交稻制种的 EUI 分子育种	376
第四节	水稻广亲和性的遗传及分子标记辅助育种选择	383
	主要参考文献	398
第十章	优异水稻种质的分子育种	404
第一节	低纤维素水稻分子育种	404
第二节	环境友好型水稻分子育种	414
第三节	水稻叶片形态及活力分子育种	426
第四节	水稻花发育的分子育种	434
	主要参考文献	442
第十一章	水稻基因设计育种数据库建设	448
	主要参考文献	480
第十二章	水稻基因设计育种展望	482
第一节	水稻功能基因组研究与分子育种	482
第二节	后基因组时代的基因型鉴定	490
第三节	育种材料创新与基因设计育种	497
第四节	水稻株型的分子设计育种策略	506
	主要参考文献	516

第一章 水稻品种改良技术的变革

众多考古发现表明,人类在1万年前就有了对动植物的驯化活动,驯化物种的目的是为获得更丰富、更稳定的食物来源。人类早期驯化动植物活动是利用自然界的恩赐,自发地应用物种的变异和遗传规律,是原始品种改良的雏形。而其后的农作物品种改良历史,无不反映出科学理论的发现和新技术的发明,推动着农作物品种改良技术的革新。

1857~1864年,孟德尔发现遗传因子独立分配规律,提出了遗传因子的概念。继而,1909年约翰逊提出“基因”名称。不过那时“基因”或“遗传因子”都只是遗传性状的符号,还没有具体的物质概念。20世纪初,摩尔根首次将代表某一性状的遗传因子即基因同细胞内染色体物质联系起来,为“遗传因子”或“基因”寻找到真实的、独立的、可以看得到的物质要素。从而进一步充实和完善了基因学说;成为科学界普遍接受的孟德尔遗传原理,即基因学说。从1864年提出遗传因子后的100年间,基因学说为植物育种提供了科学依据,也一直有效地指导着水稻育种实践,创造出许许多多优良的水稻新品种。20世纪60年代矮秆品种的培育成功标志着这一理论的应用发展到顶峰,迎来了第一次绿色革命,并陆续培育出高产、抗病、优质的水稻新品种。特别值得指出的是,以基因学说为指导的杂种优势理论在异花授粉作物玉米上成功应用之后,在自花授粉作物水稻上同样获得了成功。我国于20世纪70年代首创的杂交水稻三系法制种体系和随后创造的两系法制种体系,配制出大量强杂种优势的杂交水稻新组合,在生产上大面积应用,为我国粮食增产做出重大贡献。我国杂交水稻育种新技术的创新,又一次给世界带来了绿色革命风暴。

自20世纪50年代科学家发现DNA双螺旋结构之后,继而又发现了质粒DNA(1959),建立了限制性内切核酸酶(1970)、植物组织培养再生技术(1970)、DNA重组技术(1971)和Ti质粒(1973)等重大新技术,为植物育种革命奠定了基础。在1983年成功诞生了第一个转基因植株,出现了外源转基因牵牛花和烟草。转基因植株的出现象征着植物育种革命——基因革命时代到来。基因革命技术是指在DNA水平上对基因的结构和功能进行加工,使农作物品种改良较传统育种技术更快捷、更精确、更有效、更符合人类的需要。基因革命宣告着传统杂交育种技术正向基因精细加工改良品种过渡。

纵观植物育种技术的发展历程,植物育种方法的演变都是从简单到复杂的,育种效率逐步提高,并经历了两个阶段:第一阶段从孟德尔的遗传因子独立分配规律提出到第一次绿色革命出现,花费了100多年的时间,包括纯系选育、杂交育种、杂种优势利用、诱变育种等技术方法应用;第二阶段由DNA双螺旋结构等多项发现到第一株转基因植株诞生产生了基因革命,只花费了25年时间,包括了一系列生物技术的应用,尤其是基因工程技术。这充分说明水稻育种技术的革新不仅决定于一项科学技术的发明,而且依赖于多学科多技术的进步。

第一节 水稻的常规育种技术

一、纯系育种技术

回顾世界各国水稻育种技术的发展过程,都是从简单的选择和利用自然突变开始的。自然变异现象在农作物中普遍存在,水稻纯系育种方法就是利用品种原始群体中发生的自然变异类型,挑选优良个体,并对其后代株系进行鉴定,挑选出的优良株系使其同质纯合,纯系选育的概率取决于水稻天然变异的频率。由于水稻的天然杂交率约为1%,自然突变率很低,为 $10^{-8} \sim 10^{-5}$,故虽然纯系选育方法方便简单,但局限性也显而易见。在人类文明发展早期和现今经济不发达的国家或地区,水稻纯系育种占重要的地位。

我国是稻作古国之一,稻作区域广阔,地理差异较大,经历几千年的选择、分化积累起丰富的稻种资源,不仅类型丰富,品种也多种多样。据统计,我国收集保存的水稻地方品种在8万份以上,其中不少具有大穗、大粒、耐盐、耐瘠、矮秆、抗病虫等优良农艺性状和特性。但这些地方品种基本上都是经过长期种植,在一定的选择压力下形成的复合群体。当外界生态条件变化时必定会出现各种新的变异类型,故原始的地方品种资源中隐藏着丰富的遗传上异质的突变个体,为纯系选育提供了物质基础和可能性,只要设定育种目标和要求,纯系选育就能取得成效。

我国水稻纯系育种研究始于20世纪初,在此后几十年间从地方品种中选育出一批优良水稻品种,推动了水稻生产发展,并产生了重要的影响。早在1924年育成的改良江宁洋粳和改良东莞白两个品种,经长江中下游地区推广试种,产量和品质均优于当地原栽培品种(曹幸穗 2004)。1933~1936年间系选出的早熟水稻品种“南特号”,在生产上推广应用了30多年,曾是我国有重要利用价值的杂交亲本之一。又例如,1932年从湘潭农家品种选黏中选育成的“胜利粳”(中粳品种),在湖南、湖北、四川等十多个省大面积种植。据统计,全国现有育成的704个粳稻品种中,有308个品种具有胜利粳的血缘,占43.8%(段传喜 1997)。20世纪50年代中后期,广东省从高秆品种南特16号的大田中选育出矮秆变异株,后定名为“矮脚南特”,因矮秆、早熟、高产而获得大面积推广应用。继而又从矮脚南特中系选出11个衍生的新品种,如更早熟的矮南早1号、青小早,抗病性更强的南早1号(闵绍楷 1992)。矮秆种质的发现为我国早稻实现矮秆良种化奠定了资源基础。同期育成并推广种植的品种还有矮仔占4号、青秆黄、木泉种、华南15号等优良品种。

20世纪60~70年代,从国外引种经系统选择也育成许多优良的新品种(袁世传等 1992)。例如,由日本引入的晚粳农垦58,选育成27个新品种,如沪选19、双丰1号、武农早、晚粳105等;从斯里兰卡引入的粳稻BG90-2,在南京地区生态条件下出现变异,系统选育出杨凌1号、杨凌2号、杨凌3号和金陵57四个高抗白叶枯病新品种;由国际水稻研究所引种的粳稻品种IR8,在国内不同地区引种试种过程中,精心挑选该群体中优良变异株系,共育成11个新品种。引种结合系统选育新品种的成功事例不计其数,其方法简便有效,成本较低。

二、品种间杂交育种技术

随着杂交育种方法的兴起,以纯系育种技术为主的状况逐步被其他育种手段替代,杂交育种成为水稻育种最主要的方法。杂交育种通过有性杂交在两个不同基因型的亲本之间实现遗传重组,按育种目标对其后代进行选择 and 鉴定,形成综合双亲优良性状的新品种。水稻杂交育种最常见的为品种间杂交,较之系统育种技术有了质的飞跃。杂交育种能自觉地、主动地应用基因学说基本原理,从纯系育种的单纯利用自然界恩赐过渡到通过基因资源重组创造新的遗传种质材料。然而,尽管品种间杂交创造出一些新的水稻品种,提高了水稻产量水平,但育种经验表明,品种间杂交双亲遗传重组有局限性,农艺性状的改良和产量的提高只能达到有限的期望值。因此,供试的杂交双亲的选择至关重要,挑选地理上远缘、不同生态类型、农艺性状互补有差异的双亲进行组合配对,是品种间杂交成功的决定性因素。

20 世纪 50~70 年代,我国矮化育种方面成绩斐然,使我国水稻单产出现了一次飞跃。矮化育种的兴起得益于矮秆品种矮脚南特、矮仔占和低脚乌尖等种质资源的发现和利用。在 20 世纪 40~50 年代生产上推广的良种几乎都是高秆品种,虽然品种的熟期满足了生产上的要求,可是高秆进一步限制了产量的提高。为满足不同熟期对矮秆良种的需求,选择了优良品种与矮秆品种互补杂交,从中育成了一大批矮秆、半矮秆良种,如广场矮(矮仔占 $\times$ 高秆广场 13)、台中再来 1 号(低脚乌尖 $\times$ 高秆菜园种),这些矮秆品种的单产潜力比原有高秆品种增加 30%。另外,我国在 20 世纪 60~70 年代从国外引入几千份稻种资源,根据我国各地的育种要求,挑选其中优异品种作为杂交亲本利用,也育成了许多优良品种,如农虎 6 号(农垦 58 $\times$ 平湖老虎稻)、湘矮早 9 号(IR8 $\times$ 湘矮早 4 号)、二九丰(IR8 $\times$ 原丰早)、湘早籼 3 号(IR36 $\times$ 广解 9)、洞庭晚粳(IR8 $\times$ 江 1696)、吉粳 53(松辽 4 号 $\times$ 拾和田)等。

在杂交方式上,随着育种目标的多样化,经历了由单交向复交的发展。在早籼稻品种改良上,多使用单交方式就能达到育种要求。而粳稻品种或晚籼稻品种的改良,要求达到多项综合育种要求,仅使用单交方式难以实现高产、多抗、优质的目标,必须采用回交或复交方式,综合多个亲本的优良特性于一体,如湘晚籼 1 号[(IR32 $\times$ 红米冬粘) $\times$ 广秋矮] $\times$ AS07、秀水 63[(善抗 $\times$ 秀水 61) $\times$ 秀水 61]、赣晚籼 30[连选粒 $\times$ (莲塘早 $\times$ IR36) F_6 $\times$ 外 3] F_1 。

三、亚种间杂交育种技术

籼稻和粳稻属栽培稻的两个亚种,这两个亚种的演化关系尚存在争论,但籼稻和粳稻的生理、形态、遗传等方面都有明显的差异。水稻 DNA 限制片段长度多态性(RFLP)研究指出,同一亚种内的 RFLP 多态性较低,而不同亚种间的 RFLP 多态性较高,籼稻和粳稻之间的 RFLP 能明显分成两组(郑康乐等 1990)。由于籼粳亚种有极丰富的遗传变异,它们之间杂交不仅会出现多种多样的遗传重组,而且会产生强的杂交优势,国内外学者一直致力于籼粳亚种间杂种优势的利用研究,以大幅度提高杂交水

稻的产量。然而,籼粳亚种间杂种一代往往伴随结实率偏低,以及生育期长、植株偏高、千粒重低等缺点,表现出两者在遗传、生理上不亲和障碍,不利于籼粳亚种间杂交技术的直接、有效应用。育种实践表明,籼粳亚种间杂交后代经反复回交或复交,最终也能选育出优良品种直接用于生产。例如,籼粳杂种后代经粳稻多次反复改良育成的辽粳 5 号,是我国第一个推广种植的籼粳交品种,其后育成了一系列籼粳交品种,如粳 326、矮粳 23、T209、城特 232、沈农 1033、沈农 1071、紫金粳、鄂晚 5 号等。在国外,籼粳交育种也取得了举世瞩目的成就(孙宗修等 1994)。例如,韩国育成了籼粳交新品种统一、水原、密阳等,这些品种比一般粳稻品种增产 20%~40%;在日本育成了超高产品种明之星、秋力、星斗、大力等。很显然,籼粳交直接选育品种的产量潜力明显超过品种间杂种交育成的品种,但是其选育的程序相对复杂,周期较长,费时、费工。

自从 20 世纪 70 年代中期籼型杂交稻推广以来,一方面,发现籼型杂交组合双亲之间的遗传差异较近,其杂种优势有限,而粳型杂交稻,因粳稻亚种内缺乏足够的遗传多样性而优势不强;另一方面,籼粳交杂种一代结实率偏低,但籼粳交后代的杂种优势强大。因此,实现籼粳交杂种一代的正常结实率是生产上直接将籼粳交优势应用于杂交稻的关键。20 世纪 80 年代初,相继开展的水稻广亲和性及其广亲和性资源的筛选研究,为籼粳亚种间杂种优势利用带来新的机遇。在水稻种质资源中存在一类中间地位的特殊类型,它们对籼稻和粳稻都有较好的亲和性,这些具有广亲和性的材料可作为“媒介品种”,既克服了籼粳交杂种一代不育(结实率低)的障碍,又可以使两个亚种的不同品种间的有利基因能顺利地相互渗透和重组。事实上,具有广亲和性的资源可以从原始的籼稻、粳稻、籼粳稻中间型和籼粳杂交后代中获得,通过广泛的测交,已筛选出一批这类“媒介品种”,如 SMR、02428、轮回 422、T984、秀水 117、Kentan Nangka、日本晴、秋光、中 413 等(罗利军等 1996)。上述具有广亲和性的品种可转育成具有广亲和性恢复系,用以配制三系和两系杂交组合,其杂交后代结实率高,并表现出强大的杂种优势。已配制成功并在生产上推广应用的组合有协优 9308、常规品种、两优培九等一系列超高产优良组合,大大提高了杂交水稻产量。它们在生产示范中每公顷产量达 11~12t。

四、理化诱变育种技术

理化诱变育种是利用物理、化学因素诱发作物基因组中基因发生突变,从中挑选出突变体,经过选拔、鉴定育成优良品种。理化诱变育种是水稻育种上较好又简便的辅助育种手段,也包括遗传变异的发生、有益基因型的选择和比较试验三个重要环节。理化诱变所产生的变异同水稻在自然界进化过程中自发突变所产生的变异并没有本质上的差异,只不过自然界植物发生的自发突变频率很低,一般仅在 10^{-6} 左右。自从发现了 X 射线、 β 射线、 γ 射线等电离射线及各种高效化学诱变剂后,这些理化诱变因子很快被用于处理农作物种子、器官和组织,以及细胞,以期产生更高频率的突变体。由于上述物理和化学诱变因子都能引起遗传物质 DNA 链上四个碱基的置换或 DNA 损伤、DNA 损伤后修复的错排,从而大大提高水稻突变频率,产生许多有用的突变体。从这些突变

体中一方面筛选出优良品种，直接应用于生产；另一方面，新突变体可为杂交育种提供丰富的新种质，作为杂交的亲本材料。

1934年，日本首次报道利用X射线处理水稻种子后出现了新突变类型水稻，引起了各国科学家的关注。在我国，诱变育种始于20世纪50年代，80年代后我国一跃成为水稻诱变育种的先进国家（张铭铎等 1989）。我国在水稻诱变育种的辐射源、辐射剂量、辐射材料和辐射时期的选择方面积累了丰富的经验，建立了系统的诱变育种程序和方法，提高了诱变育种效率，创制出大批优良的水稻品种，在水稻生产上发挥了重要作用。这些改良品种主要包括四个类型。①生育期明显缩短。例如，“原丰早”较亲本科字6号提早4~5天成熟。此外，还有浙辐802、光丰一号、辐育一号、辐756、辐769、辐竹、珍辐一号、卷叶白、激光2号、早叶青、郴州5号等都是由迟熟品种诱变成的早熟突变品种。②矮秆突变品种。例如，“辐莲矮”的株高较原亲本莲塘早缩短35~40 cm。其他诱变育成的矮秆品种还有黄破矮1号、辐陆早1号、津辐8号、辐包201、辐香1号、水辐17。③“202”改良品种等。④抗病突变品种。如高抗稻瘟病和白叶枯病的辐桂1号和辐包201。统计资料表明，在1957~1989年的33年间，全球诱变育成水稻品种252个，我国在1966~1989年的24年间就育成110个。在我国，年种植面积在50万亩（1亩=666.67 m²）以上的诱变育成品种有16个；100万亩以上的有7个；种植面积超过1300万亩和1600万亩的各有1个。据估计，在1989年前后，我国水稻突变品种年种植在5000万亩以上，约占全国水稻种植面积的10%。

近年来，水稻航天育种技术在我国有了快速发展（郑家团等 2003）。水稻航天育种研究主要借助返回式卫星和“神舟”飞船搭载水稻种子，经多年地面种植筛选，创造出特异种质材料。据报道，我国航天水稻育种成功培育出了7个水稻新品种，如特优航1号、II优航1号、培杂泰斗、华航1号等，已通过国家品种审定，进入全国生产试验，现已推广百万亩以上。同时，航天育种技术在抗病、粒型改良、品质改善和培育早熟高产方面也显示出独特优势。

第二节 杂交稻育种技术

一、杂交水稻的发展历程

杂种优势是生物界普遍存在的一种现象，是指两个遗传背景不同的亲本杂交时，杂种第一代个体表现出较双亲更强的生活力。早在1908年，Shull报道了两个玉米自交系分别经连续几代自交后，其植株的生活力表现出严重的衰退。而这样的两个自交系玉米相互杂交所产生的第一代个体却表现了植株强壮，生长势旺盛，产量增加了4倍，由此提出杂种优势的概念。直到1919年美国配制出第一个杂交玉米品种后，杂种优势理论在玉米生产中才得到了快速的应用，玉米单位面积产量有了大幅度提高，促进了玉米生产大发展。然而，一般学者对自花授粉作物是否存在杂种优势持有怀疑。1926年，Jones首次指出水稻具有杂种优势现象，引起育种界的注意。1966年，日本新城长友以钦苏拉包罗II为母本与台中65杂交育成BT型台中65不育系，1968年实现该杂交粳稻三系配套，但因缺乏明显杂种优势未能应用于生产。

我国杂交水稻研究始于1964年。1970年,在海南发现一株花粉败育野生稻材料(“野败”),之后发现一些品种对野败不育株有保持能力,进一步转育成稳定的不育系;1973年,我国籼型杂交水稻实现了三系配套;1974年,成功地选育出第一批籼型杂交水稻强优势组合;1975年,研制出一整套籼型杂交水稻制种技术;1976年开始大面积推广杂交水稻品种。我国是第一个将杂交水稻大面积应用于生产的国家(徐匡迪等2002)。

1965年前后,我国开始杂交水稻粳型三系的研究。首先,选育成功的不育系是细胞质为台北8号的红帽缨不育系(定名为滇一型);其次,利用从日本引入的BT型不育系,进行改造和转育,选育出一大批新的BT型不育系。1975年,实现粳型杂交水稻三系配套。

我国杂交水稻育种实践表明,正是因为我国广大育种家突破“水稻是自花授粉作物,异交一般不表现杂种优势”的旧观念,长期坚持以发掘不育系细胞质源为突破口,用回交转育质核互作不育系为主要方法,才使籼型杂交稻率先在我国获得成功。特别需要指出的是,始于1974年的印水型不育系研究,经三十多年的努力探索,终于培育出集多种优良性状的三个新的细胞质源印水型不育系(II-32A、优IA和中9A),其配制的杂交稻组合在1998年种植面积居全国杂交稻第二位,2004年全国种植面积达4700万亩,到2004年累积推广3.65亿亩以上;在2005年全国主推的19个籼型超级杂交稻组合中有9个是印水型杂交组合,并创下世界水稻最高产量纪录,亩产达1231.17kg。在杂交水稻发展史上,野败和印水型不育系的发现和应用具有里程碑意义。前者打开了杂交水稻成功的突破口,后者在制种产量、米质、杂种产量等方面将杂交水稻推向更高的水平。杂交水稻技术的推广应用为我国粮食总产的提高和保障粮食安全作出了巨大贡献。如果说水稻矮化育种实现了我国水稻单产的第一次飞跃,那么杂交水稻技术的推广,为我国水稻单产水平实现了第二次飞跃。

二、杂种优势的机制推断

杂交水稻表现出来的强大杂种优势是一种极为复杂的遗传生理现象。对这种杂种优势形成的原因,国内外学者曾提出了许多假说和推断,尽管累积了不少杂种优势相关的生理、生化的实验数据,但仍然缺乏全面的、系统的科学数据。目前,用显性假说和超显性假说解释杂种优势已为许多学者所接受。显性假说认为杂种优势来自提供亲本双方中有利显性基因汇集一起后共同互作的结果;超显性假说则认为杂种优势源自双亲基因型不同配合结合后产生一种刺激发育的效应。前者强调显性基因之间相互作用,后者重视基因之间的互作。虽然这些假设的解释理由基本上符合杂种优势现象,但杂种优势现象十分复杂,不仅涉及核内基因的互作,而且核基因和细胞质基因之间也密切相关,同时各种互作对杂种优势的贡献大小也是不均等的。杂种优势的形成绝不是一两个简单原因所致,可能是显性作用、累加效应、互作和超显性效应的综合行为。要揭示杂种优势的实质,还有待补充更多的与杂种优势相关的生理、生化和分子生物学证据。

三、三系杂交水稻的研究和应用

(一) 水稻雄性不育系

不育系是由细胞质和细胞核基因相互作用产生的,即质-核互作型不育系,单纯由细胞核一对隐性基因控制的不育系不能完全保持育性不育,难以实现配套。怎样有效地获得水稻雄性不育株呢?实践表明,雄性不育株的产生以野生稻和栽培稻杂交的后代中出现的概率最高,其次是在籼稻和粳稻杂交的后代中,再次是在亚种内品种间杂交的后代中。由雄性不育株选育成雄性不育系,通常采用不断地轮回杂交核置换的遗传重组方法。现有三种选育水稻雄性不育系的方法:一是以野生稻为母本,长江流域的籼稻品种为父本,获得雄性不育株后,用父本品种对其进行轮回杂交,实现核置换后育成,如野败型不育系的珍汕 97A、V20A、协青早 A 等;二是在以籼稻品种为母本,粳稻品种为父本的杂交后代中出现的不育株,同样进行轮回杂交和核置换成粳型不育系,如 BT 型六千辛 A、滇一型、滇二型;三是选择亚种内遗传差异较大的品种杂交,育成了如冈 46A、II-31A、马协 A 不育系。

我国选育出的质-核互作不育系类型很多,按细胞质来源不同主要可划分为野败型、印水型、同型、D 型、矮败型、红莲型、BT 型、滇型等。

(二) 水稻雄性不育保持系

只要一个水稻品种与不育系杂交产生的种子能保持其完全不育的特性,那么该品种就成为不育系的保持系,在与常规稻品种测交筛选时,同步获得了保持系。保持系是不育系的同核异质体,其细胞核与不育系的相同,除育性外,其他特性与不育系基本相同。

(三) 水稻雄性不育恢复系

凡与不育系杂交后能使杂种 F_1 代恢复正常育性、自交能结实的水稻品种均可作为恢复系。不同类型的不育系对应有不同的恢复系品种(系),一个优良的恢复系必须具备恢复能力强、配合力强、开花习性好、花期集中、花粉量大等优点。

恢复系可以通过测交筛选和杂交改良选育而得。在我国杂交水稻研究初期,多采用测交直接筛选方法获得优良的恢复系品种,如 IR24、IR26、泰引 1 号等,它们是野败型和同冈型不育系的强恢复系。然而,随着育种水平的提高,对恢复系的综合要求越来越高,直接测交筛选所得的恢复系品种,除恢复能力外,其他农艺性状尚待改良。因此,还得采用杂交改良技术,将带有恢复基因的品种和丰产性好、配合力强、抗病、品质更优的其他品种结合,选育出理想的恢复系品种,例如,明恢 63、桂 33 等恢复系品种就是经杂交改良综合塑造出的优秀恢复系品种,用它们配制出了许多高产优质的杂交稻组合。

(四) 优良三系杂交组合一览

全国各地配套的三系杂交稻组合不计其数, 以下是部分强优势杂交组合: 汕优 6 号 (珍汕 97A/IR26)、汕优 63 (珍汕 97A/明恢 63)、汕优 10 号 (珍汕 97A/密阳 46)、汕优 64 (珍汕 97A/测 64-7)、汕优桂 99 (珍汕 97A/桂 99)、汕优 85 (珍汕 97A/台 8-5)、汕优 92 (珍汕 97A/20964)、威优辐 26 (V20A/26 窄早辐射后代突变体)、威优 402 (V20A/R402)、威优 77 (V20A/明恢 77)、威优 63 (V20A/明恢 63)、协优 432 (协青早 A/432)、协作 2374 (协青早 A/2374)、D 优 63 (D 汕 A/明恢 63)、D 优 46 (D 汕 A/密阳 46)、II 优 46 (II-32A/密阳 46)。

四、两系杂交水稻的研究和应用

(一) 光敏核不育系的选育

水稻属短日照植物, 其抽穗特性受光周期支配, 已证明光敏核不育水稻的育性受光敏色素调控。1973 年, 石明松在农垦 58 种植大田中发现了一株不育植株 (称为农垦 58S), 其后证实其育性变化的主要因子是日照长度, 这一不育株具有长日照高温不育、短日照低温可育的特性。正是这一新种质资源的发现, 开创了一系两用的两系杂交稻新思路, 利用其不育性可进行杂交制种, 而利用其可育性又可繁殖种子 (石明松 1981)。为丰富光敏核不育系的资源, 以农垦 58 不育系统 (农垦 58S) 为原始材料, 开展了一系列农垦 58S 转育研究, 相继转育成粳型光敏核不育系 31111S、WD1S、N5074S 和籼型光敏核不育系 W6154S、培矮 64S、湖农 5S 等。据不完全统计, 截止到 1993 年, 全国各地通过省级或省级以上技术鉴定的光敏核不育系共 26 个, 其中籼稻 14 个, 粳稻 12 个, 极大地充实了两系杂交稻育种的物质基础。

(二) 两系杂交稻配组和制种上存在的风险及解决方法

两系杂交稻种子生产由光敏不育系和恢复系品种组合而成, 两系法所用的不育系为光敏核不育系, 其育性受光调控。实际上, 在现有育成的光敏核不育系中, 还没有一个真正的、纯粹的、只受光调控的光敏核不育系, 而只有称为光温互作的不育系, 其育性的转换以光长为主, 同时温度也起协调作用, 因而育性常常因每年的气温变化而波动, 出现了育性转换的不稳定现象, 在制种过程中因育性恢复产生了一定比例自交结实的假杂种, 降低了杂种的纯度, 给生产带来了风险。尤其用现有的籼型光敏核不育系配制杂交组合时, 制种纯度低的比率十分突出。如果籼型光敏不育系对温度的敏感性问题没解决好, 籼型两系杂交稻的选育将非常困难, 相比之下, 粳型光敏核不育系的育性相对稳定。

为了避免两系杂交水稻制种纯度低的风险, 从遗传、生化和栽培途径研究出了许多行之有效的解决方法, 可以及早地识别、发现和剔除混在杂交稻中的假杂种。其一, 在

光(温)敏核不育系制种时,采用低温冷水灌溉措施,防止花期不育系育性恢复,以降低自交结实产生假杂种的频率,提高杂交种子纯度;其二,选育带有淡绿色叶片的隐性标记性状的籼型温敏核不育系,如光亚2号(M2S),借助标记性状在苗期检验和剔除因自交结实的、呈现淡绿叶的不育系植株,保证两系杂交稻纯度;其三,选育带紫色叶色性状标记的光(温)敏不育系,利用这一标记识别并剔除因育性恢复自交结实、呈现紫色的假杂种植株;其四,选育带转绿型白化突变(隐性白化突变)的叶色特征的光(温)敏不育系,根据杂交稻苗期叶片颜色识别,例如,若叶色呈现白色者,则断定为不育系自交结实者,将其剔除达到去杂保纯效果;其五,选育带苯达松敏感标记基因(隐性)的光(温)敏不育系(如苯88S),杂交稻秧田中喷施苯达松农药后,假杂种植株因对苯达松敏感而被杀死,提高了杂交稻纯度;其六,利用转基因技术,将抗除草剂基因(*Bar*)作为标记基因转入恢复系品种,用以配制杂交组合,在杂交稻秧苗期喷施除草剂草丁膦(*basta*),不带有*Bar*基因的假杂种幼苗将被杀死,而留下对除草剂有抗性的真杂交稻植株,保证杂交稻纯度达到100%。

1995年,我国宣告两系杂交稻技术获得成功,育成的第一个两系杂交稻先锋组合两优培九,在1999~2001年3年试种示范中,亩产超过300 kg。经过多年的努力,我国已配制出不少优势较强的两系杂交水稻组合,如N5088S/R9-1、7001S/皖恢9号、7001S/秀水04、KS-14/03、培矮64S/湘早籼1号、培矮64S/特青。截止到1999年,全国两系杂交稻种植面积已达1100万亩,到1999年全国累计种植面积近3000万亩。实践表明,两系法品种间杂交组合一般比同熟期三系法品种间杂交组合增产5%~10%,而且两系法较三系法具有在育种程序、生产环节上更简便,选育周期短,效率高等方面的优越性,显示出两系法杂交水稻更好的应用前景。

第三节 水稻远缘杂交技术

一、远缘杂交的概念、意义

在植物学的发展历程中,植物的分类曾占有重要的地位,地球上纷繁复杂的植物种类经分类后变得章法有序。植物分类的方法大致可分为两种。①人为的分类方法。人们选择植物的几个特征、特点作为分类的标准,从“纲”的分类单位来看,按植物各器官变异的丰富程度大致以茎、叶、花、果、根等进行分类。②自然的分类方法。根据植物之间血缘的亲疏程度、染色体的数目和结构进行分类。

随着现代分子生物学的进步,人们已经按植物基因组的同源性,对植物物种之间的关系和演变重新进行认识。然而在植物分类单位上,人们依然沿用“种”(species)为植物物种最基本的单位。如果在种内的某些植物个体之间还存在显著的差异,视差异的大小分为亚种(subspecies)、变种(varieties)等,如亚洲栽培稻中就有籼亚种、粳亚种之分。品种(cultivar)不是植物分类学上的分类单位。

植物之间的血缘关系从植物分类学的角度来看,达到何种程度才谓之“远缘”?一般还是将“种”之间的差异作为远缘的起点。因此,植物种间、属间或者更高级别的分类单位之间的物种杂交,才称之为远缘杂交(实际上是种间、属间近缘物种的相互杂