

聚合水稻温敏核不育基因和反温敏核不育基因创制永久核不育系

江建华 倪金龙 吴爽 王德正*

(安徽省农业科学院 水稻研究所/国家水稻改良中心合肥分中心/安徽省水稻遗传育种重点实验室, 合肥 230031; *通讯联系人, E-mail: wdzhengqin@163.com)

Development of Permanent Genic Male Sterile Line by Pyramiding Thermo-sensitive Genic Male Sterile Genes and Reverse Temperature Induced Genic Male Sterile Genes in Rice (*Oryza sativa* L.)

JIANG Jianhua, NI Jinlong, WU Shuang, WANG Dezheng*

(Institute of Rice Research, Anhui Academy of Agricultural Sciences/Hefei Sub-center of China National Rice Improvement Center/Anhui Key Laboratory of Rice Genetics and Breeding, Hefei 230031, China; *Corresponding author, E-mail: wdzhengqin@163.com)

Abstract: 【Objective】The security problem of seed production has seriously hampered the steadily and sustainable development of two-line hybrid rice. 【Method】Aizi S (thermo-sensitive genic male sterile, TSGMS) and Aiyan s (reverse temperature sensitive genic male sterile line, RTSGMS) were screened as the original parents to develop permanent genic sterile line (PGSL) according to the F_1 fertility of crosses among 16 (light-) TSGMS and 4 RTSGMS. The fertility genes were introduced into the near isogenic lines Tianfeng S and Tianfeng s by backcrossing Aizi S and Aiyan s with the bridge parent Tianfeng B, respectively. Then, Tianfeng Ss, the PGSL, was observed from the cross between Tianfeng S and Tianfeng s. The fertility, restoration, competitive advantage of yield-related traits and reproductive characteristics of Tianfeng Ss were investigated. 【Result】Tianfeng Ss was completely sterile under natural long day with high temperature and short day with low temperature. And no obvious difference was noted among the F_1 crosses from Tianfeng Ss and its three parents and five restorers in spikelet fertility percentage. 【Conclusion】The results showed that the newly developed PGSL might solve the security problem of seed production in two-line hybrid rice fundamentally.

Key words: rice; thermo-sensitive genic male; reverse thermo-sensitive genic male; permanent genic sterile line

摘要: 【目的】制种安全是影响两系杂交稻持续健康发展的关键问题。本研究旨在探索解决两系杂交水稻的制种安全隐患途径。【方法】以 16 个（光）温敏核不育系与 4 个反温敏核不育系配组并对 F_1 育性进行观察，选择矮紫 S（温敏核不育系）和矮雁 s（反温敏核不育系）为构建永久核不育系的供源亲本。通过回交将矮紫 S 和矮雁 s 的育性基因导入到桥梁亲本天丰 B 中，分别育成天丰 B 的近等基因系天丰 S 和天丰 s。【结果】天丰 S 和天丰 s 杂交获得的天丰 Ss 即为永久核不育系。对天丰 Ss 的育性、可恢性等特性的研究表明，天丰 Ss 在自然长日高温和短日低温下均表现不育；天丰 Ss 及其 3 个亲本与 5 个恢复系杂交的 F_1 组合结实率无明显差异。【结论】永久核不育系的创制有望从根本上解决两系杂交水稻的制种安全问题。

关键词: 水稻；温敏核不育；反温敏核不育；永久核不育系

中图分类号: Q786; S511.0351

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2017)04-0371-08

两系法杂种优势的利用不受恢保关系限制，配组自由，与三系法相比能更广泛地利用水稻种质资源中存在的杂种优势^[1-2]。近 40 年来，随着研究的深入和种子生产技术的完善，高产优质多抗组合不断育成并得到大面积推广，为我国的粮食安全做出

了重要贡献^[3]。虽然目前两系杂交水稻育种技术亦趋于成熟^[4-5]。但是，频繁发生的两系杂交稻大面积制种失败事件，已成为影响国家粮食安全和社会稳定的隐患^[6-7]。如何有效解决两系杂交稻制种安全问题已成为摆在我国水稻育种家及研究者面前的重

收稿日期: 2017-02-14; 修改稿收到日期: 2017-03-30。

基金项目: 安徽省科技计划资助项目(1501031096); 国家重点研发计划资助项目(2016YFD0101105)。

要课题。为此,研究者提出了诸多解决方案,主要可以概括为以下三点:一是降低水稻两用核不育系不育起点温度以及延长其耐低温时间^[7];二是注重两系制种基地和时段的选择^[8];三是严格控制水稻两用核不育系不育起点温度的漂变^[9]。以上方案能在一定程度上降低制种风险,然而并不能从根本上解决问题。

目前报道的水稻两用核不育系主要可以分为光温敏(长日高温不育型)、温敏(高温不育型)、反光温敏(短日低温不育型)和反温敏(低温不育型)4种类型^[6-7,10]。但当前生产上大面积应用的均为温敏或光温互作类型,对于反(光)温敏核不育系的研究很少。自1991年李训贞等^[11]对反温敏核不育系N-10s和N-13s的育性鉴定以来,目前仅有几篇关于反温敏核不育系研究的报道,且主要集中于反温敏核不育系本身对温、光反应特性的研究^[12-13],尚未见反(光)温敏核不育系育种利用的报道。梁满中等^[14]以反温敏核不育系go543S与光温敏核不育系农垦58S、7001S、培矮64S和长选3S配制杂交F₁,发现这4个组合的F₁在自然长日高温、短日低温和不同人工光、温处理条件下花粉均表现不育,自交结实率为0,并未出现像go543S或农垦58S那样的育性转换现象。本课题组多年来一直从事两系杂交水稻的育种研究工作^[15-16],受梁满中等^[14]反温敏核不育系与光温敏核不育系杂交F₁不育的启发,本研究利用桥梁亲本构建了温敏核不育和反温敏核不育的近等基因系,通过对近等基因系杂交F₁的育性、可恢性、产量竞争优势及繁殖特性进行系统研究,以期为解决两系杂交水稻的制种安全问题提供些许参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料包括20个不育系,其中籼型温敏核不育系9个,粳型光温敏核不育系7个,籼型反温敏核不育系3个以及粳型反温敏核不育系1个;恢复系5个和桥梁亲本1个。详细信息见表1。

1.2 试验方法

1.2.1 永久核不育系供源亲本的筛选

2008年夏在安徽庐江基地、2009年春在海南陵水基地利用9个籼型温敏核不育系与3个籼型反温敏核不育系以及7个粳型光温敏核不育系和1个粳型反温敏核不育系进行正反交两两配组,共配制了68个组合。2009年夏将配制成功的59个F₁组

合及其亲本种植于庐江基地,5月8日播种,6月7日移栽。各材料种植3行,每行9株,株行距16.7 cm×26.7 cm。以各组合中50%的植株幼穗中部露出剑叶叶鞘时记为该组合的抽穗期;于抽穗20 d后调查各F₁组合中间5株的总有效穗数、总粒数和总实粒数,计算单穗总粒数、单穗实粒数以及结实率;对于不结实的杂交组合割茬再生,并调查再生植株抽穗15 d后的单穗总粒数、单穗实粒数和结实率,方法同上。

1.2.2 永久核不育系直接亲本的选育

以优质、多抗、综合性状优良的骨干亲本三系保持系天丰B为桥梁亲本,分别利用筛选到的供源亲本矮紫S和矮雁s与其杂交、自交以及回交,直至获得除育性外,其余性状与天丰B基本一致的温敏核不育系(天丰S)和反温敏核不育系(天丰s),选育过程如图1。

1.2.3 永久核不育系育性调查

2015年4月30日起将永久核不育系天丰Ss、直接亲本天丰S、天丰s以及供源亲本矮紫S分8期播种于庐江基地,每10 d一期,25 d后移栽。自始穗期开始,每隔2~4 d各材料分别取5穗,每穗取上、中、下3个部位已成熟但尚未开花的花药1个,用1%的碘-碘化钾溶液染色,镜检3个视野中的花粉染色情况,统计不同播期各材料的花粉败育率,直至抽穗结束;同时每次镜检时各材料均选5个已抽穗但尚未开花的花穗套自交袋并标注日期,成熟后考查单穗总粒数和实粒数,计算自交结实率。

1.2.4 永久核不育系的可恢性、产量竞争优势及繁殖特性调查

可恢性和产量竞争优势的测定:2016年春在海南陵水以永久核不育系及其3个亲本为母本与5个籼稻恢复系按 $p \times q$ 模式配制20个杂交组合;2016年正季将上述所配组合及其亲本种植于安徽庐江基地,5月10日播种,6月10日移栽。单本种植,各材料均种植3行,每行9株,株行距16.7 cm×26.7 cm。3次重复,随机区组排列,常规栽培管理。成熟时,各小区取第2行中间5株调查单株有穗数、总粒数和实粒数,晒干脱粒扬净后称重,计算单株总粒数、单株实粒数、结实率和单株产量;从各重复中随机取出饱满稻谷1000粒称重,3次重复的均值即为该材料(组合)的千粒重。

繁殖特性调查:2016年7月10日将天丰S和天丰s播种于庐江基地,7月29日移栽,株行距13.3 cm×13.3 cm,父母本间距26.7 cm,天丰S与天丰s行数比为10:2,栽插面积0.09 hm²,父母本开花

表 1 试验材料
Table 1. The experimental materials.

材料类型与名称 Material type and name	系谱来源 Pedigree and origin	选育单位 Breeding institution
籼型温敏核不育系 <i>indica</i> thermo-sensitive genic male sterile line		
广荣 S Guangmo S	广占 63-4S/茉莉新占 Guangzhan 63-4S/Molixinzhan	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
2301S	浙农 40/安农 S-1 Zhenong 40/Annong S-1	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
1892S	培矮 64S 突变系选 Peiai 64S mutant	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
矮紫 S Aizi S	1892S/紫恢 100 1892S/Zihui 100	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
新二 S Xin'er S	新安 S/2301S Xin'an S/2301S	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
矮占 43S Aizhan 43S	培矮 64S/广占 63-4S/Kitaake Peiai 64S/Guangzhan 63-4S/Kitaake	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
P88S	株 173S/培矮 64S Zhu 173S/Peiai 64S	湖南杂交水稻研究中心 Hunan Hybrid Rice Research Center
培矮 64S Peiai 64S	农垦 58S/培矮 64 Nongken 58S/Peiai 64	湖南杂交水稻研究中心 Hunan Hybrid Rice Research Center
广占 63S Guangzhan 63S	N422S/广占 63 N422S//Guangzhan 63	辽宁省农业科学院、丰乐种业 Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Fengle Seed Co. Ltd
粳型光温敏核不育系 <i>indica</i> photo- and thermo-sensitive genic male sterile line		
7001S	农垦 58S/917 Nongken 58S/917	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
2304S	7001S/双九 7001S/Shuangjiu	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
2312S	7001S/双九 7001S/Shuangjiu	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
粳 518S Jing 518S	7001S/C418	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
粳 519S Jing 519S	7001S/C418//3402S	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
20672S	—	云南省农业科学院 Yunnan Academy of Agricultural Sciences
云粳 202S Yunjing 202S	N5088S/合系 34 N5088S/Hexi 34	云南省农业科学院 Yunnan Academy of Agricultural Sciences
粳型反温敏核不育系 <i>japonica</i> reverse thermo-sensitive genic male sterile line		
粳 5278s Jing 5278s	—	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
籼型反温敏核不育系 <i>indica</i> reverse thermo-sensitive genic male sterile line		
矮雁 s Aiyan s	雁农 s/矮占 43S//R998 Yannong s/Aizhan 43S//R998	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
雁 78s Yan 78s	雁农 s/R998 Yannong s/R998	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
雁农 s Yannong s	3714 突变不育株 Sterile mutant from 3714	衡阳农业科学研究所 Agricultural Institute of Hengyang
籼稻恢复系 <i>indica</i> rice restorer line		
R727	R933/9311//9311-Pi9	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
R998	9311/Pi9 供体 9311/Pi9 donor	安徽省农业科学院 Anhui Academy of Agricultural Sciences
华占 Huazhan	SC2-S6	中国水稻研究所 China National Rice Research Institute
扬稻 6 号 Yangdao 6	扬稻 4 号/盐 3021 Yangdao 4/Yan 3021	里下河地区农业科学研究所 Lixiahe Regional Agricultural Research Institute
中粳 WH26 Zhongxian WH26	2707/209512	宣城农业科学研究所 Agricultural Institute of Xuancheng
桥梁亲本 Bridge parent		
天丰 B Tianfeng B	博 B/G9248 Bo B/G9248	广东省农业科学院 Guangdong Academy of Agricultural Sciences

期喷施赤霉素调节株高，并辅以人工赶粉，成熟时收种，晒干扬净称重。

2 结果与分析

2.1 永久核不育系供源亲本的筛选

7 个粳型光温敏核不育系与 1 个粳型反温敏核不育系成对正反交配制了 14 个 F₁ 组合，同一组合正反交抽穗期基本一致。其中，粳 518S/粳 5278s F₁ 正反交组合 8 月 2 日抽穗，粳 519S/粳 5278s F₁ 正反交组合抽穗期分别为 8 月 9 日和 11 日，其余 10 个粳型正反交组合的抽穗期介于 8 月 24—28 日。

由表 2 可知，14 个粳型 F₁ 正反交组合的结实率为 68.99%~88.26%，表现正常可育。说明反温敏核不育系粳 5278s 可以恢复本研究所用的 7 个粳型核不育系的育性，反之亦然。

籼型温敏核不育系 2301S、广荣 S、广占 63S 和新二 S 与 3 个籼型反温敏核不育系所配 24 个正反交组合的抽穗期介于 8 月 11—23 日；24 个正反交组合结实率为 65.71%~86.52%，表现正常结实(表 2)。说明上述 4 个温敏核不育系可以恢复这 3 个籼型反温敏核不育系的育性，这 3 个籼型反温敏核不育系也可以恢复以上 4 个籼型温敏核不育系的育性。

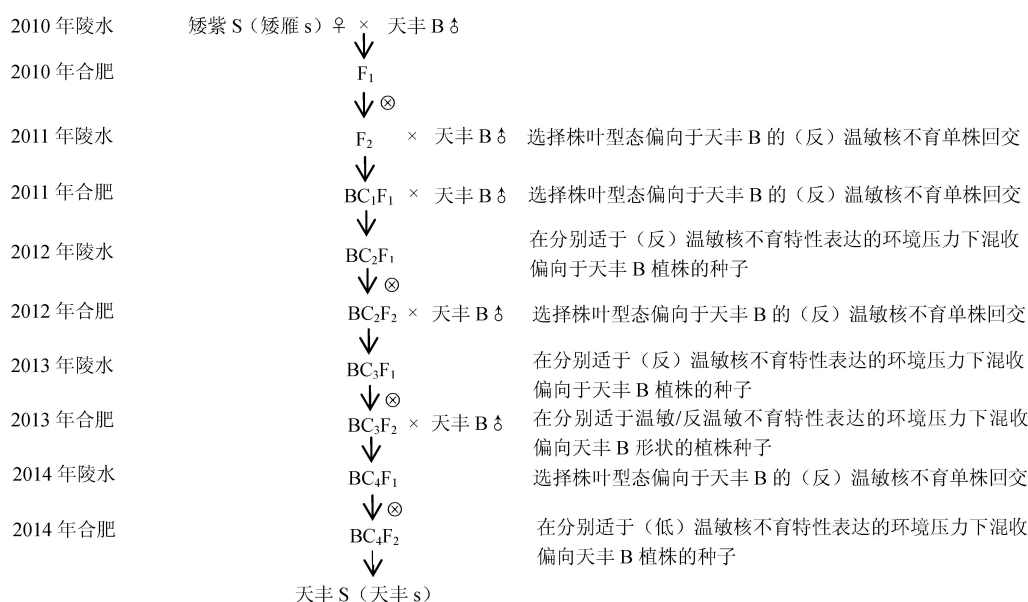


图 1 利用天丰 B 为桥梁亲本选育正反温敏核不育近等基因系天丰 S 和天丰 s

Fig. 1. Breeding procedures of near iso-genic lines Tianfeng S with thermos-sensitive genic male and Tianfeng s with reverse thermos-sensitive genic male by using bridge parent of Tianfeng B.

1892S、P88S、矮占 43S、矮紫 S 和培矮 64S 与 3 个粳型反温敏核不育系所配 21 个正反交组合的抽穗期介于 8 月 21—28 日, 所有 21 个正反交组合的自交结实率均低于 1.24%, 表现不育 (表 2)。将上述 21 个组合的 F₁ 植株割茬再生, 再生植株抽穗期为 9 月 25 日至 10 月 5 日, 各组合再生植株抽穗 15 d 后的低温自交结实率均为 0, 表现彻底不育。其中, P88S/雁农 s、矮紫 S/雁农 s 和矮紫 S/矮雁 s 3 个正反交组合不同时期均彻底败育, 是创制永久核不育系供源亲本的理想材料。结合表 2 不同组合每穗总粒数来看, 矮紫 S/矮雁 s 正反交组合的每穗总粒数多于 P88S/雁农 s 和矮紫 S/雁农 s 组合, 且矮紫 S 和矮雁 s 均是本课题组自行选育、含有新型矮秆基因的 2 个核不育材料。基于此, 本研究将矮紫 S 和矮雁 s 作为创制永久核不育系的供源亲本。

2.2 永久核不育系的育性观察

利用供源亲本矮紫 S 和矮雁 s 分别与桥梁亲本杂交并不断回交, 获得除育性外其余性状与天丰 B 一致的 2 个近等基因系天丰 S (温敏核不育系) 和天丰 s (反温敏核不育系)。2015 年春将天丰 S 和天丰 s 种植于海南陵水基地并杂交, 获得天丰 S 与天丰 s 的 F₁ (天丰 Ss), 天丰 Ss 即为创制的永久核不育系。2015 年夏将天丰 Ss 及其 3 个亲本 (矮紫 S、天丰 S 和天丰 s) 种植于安徽庐江基地以观察其育性。由表 3 可知, 4 个不育系花粉败育率与

套袋自交结实率结果一致。3 种类型的不育系在不同温度条件下, 育性表现不同。温敏核不育系矮紫 S 和天丰 S 长日高温表现不育, 其中供源亲本矮紫 S 不育期从 8 月 1 日持续至 9 月 9 日, 花粉败育率达 99.94%, 套袋自交结实率不超过 0.38%; 而利用矮紫 S 选育的温敏核不育系天丰 S 的不育期更长, 从 7 月 27 日一直持续至 9 月 12 日, 花粉败育率高于 99.61%, 套袋自交结实率小于 0.36%。可见, 创制永久核不育系的直接亲本天丰 S 比供源亲本矮紫 S 的不育性更好。

反温敏核不育系天丰 s 在 8 月 1 日至 9 月 9 日间花粉败育率为 0.33%~78.56%, 套袋自交结实率在 6.78%~86.54%, 说明天丰 s 长日高温下表现可育。

永久核不育系天丰 Ss 从始穗期 (7 月 25 日) 至调查结束 (9 月 19 日), 其花粉败育率均达到 99.51% 以上, 套袋自交结实率更是低于 0.20%, 说明永久核不育系天丰 Ss 无论是长日高温还是短日低温下均表现不育。

2.3 永久核不育系天丰 Ss 的可恢性及产量竞争优势的测定

永久核不育系天丰 Ss 及其 3 个亲本与扬稻 6 号等 5 个籼稻恢复系测配, 成熟期调查所配组合的结实率及产量相关性状。由表 4 可知, 20 个组合的结实率为 69.8%~86.7%, 其中利用永久核不育系天丰 Ss 所配 5 个组合的结实率更是高达 82.6%, 说明

表 2 水稻温敏核不育系与反温敏核不育系正反交 F₁ 每穗粒数和结实率的调查
Table 2. Spikelet number and spikelet fertility percentage of F₁ by reciprocal cross with thermo-sensitive genic male sterile line and reverse thermo-sensitive genic male sterile line in rice.

组合 Cross	正交 Forward hybridization			反交 Reverse hybridization		
	每穗总粒数 SNP	每穗实粒数 FGP	结实率 SSR/%	每穗总粒数 SNP	每穗实粒数 FGP	结实率 SSR/%
20672S/粳 5278s 20672S/Jing 5278s	140	112	79.86	172	143	83.24
2304S/粳 5278s 2304S/Jing 5278s	160	141	88.26	161	128	79.16
2312S/粳 5278s 2312S/Jing 5278s	155	123	79.15	146	123	84.28
7001S/粳 5278s 7001S/Jing 5278s	140	120	85.49	133	103	77.32
粳 518S/粳 5278s Jing 518S/Jing 5278s	202	146	72.53	232	164	70.64
粳 519S/粳 5278s Jing 519S/Jing 5278s	212	148	69.88	201	138	68.99
云粳 202S/粳 5278s Yunjing 202S/Jing 5278s	153	126	82.44	153	119	77.81
2301S/矮雁 s 2301S/Aiyan s	129	109	84.35	136	110	81.15
2301S/雁农 s 2301S/Yannong s	122	106	86.52	120	94	78.02
2301S/雁 78s 2301S/Yan 78s	116	98	84.87	128	100	78.61
广茱 S/矮雁 s Guangmo S/Aiyan s	156	94	60.57	163	115	70.75
广茱 S/雁农 s Guangmo S/Yannong s	127	100	78.46	130	98	75.35
广茱 S/雁 78s Guangmo S/Yan 78s	147	108	73.86	168	116	68.95
广占 63S/矮雁 s Guangzhan 63S/Aiyan s	162	108	66.81	157	103	65.92
广占 63S/雁农 s Guangzhan 63S/Yannong s	143	111	77.23	162	119	73.23
广占 63S/雁 78s Guangzhan 63S/Yan 78s	167	138	82.29	166	124	74.40
新二 S/矮雁 s Xin'er S/Aiyan s	164	116	70.48	170	115	67.51
新二 S/雁农 s Xin'er S/Yannong s	149	129	86.31	159	137	85.82
新二 S/雁 78s Xin'er S/Yan 78s	145	109	75.24	139	92	65.71
1892S/矮雁 s 1892S/Aiyan s	141	1	0.42	130	1	0.54
1892S/雁农 s 1892S/Yannong s	123	1	0.82	132	1	0.76
1892S/雁 78s 1892S/Yan 78s	140	2	1.24	-	-	-
P88S/矮雁 s P88S/Aiyan s	142	1	0.21	162	1	0.18
P88S/雁农 s P88S/Yannong s	124	0	0.00	139	0	0.00
矮占 43S/矮雁 s Aizhan 43S/Aiyan s	146	1	0.69	129	1	0.31
矮占 43S/雁农 s Aizhan 43S/Yannong s	151	1	0.27	159	2	1.00
矮紫 S/矮雁 s Aizi S/Aiyan s	144	0	0.00	164	0	0.00
矮紫 S/雁农 s Aizi S/Yannong s	129	0	0.00	137	0	0.00
培矮 64S/矮雁 s Peiai 64S/Aiyan s	138	1	0.29	138	1	0.44
培矮 64S/雁农 s Peiai 64S/Yannong s	136	1	0.15	154	1	0.52

温敏核不育系(♀)×反温敏核不育系(♂)为正交，反之为反交。

Forward hybridization, thermo-sensitive genic male sterile line (female) × reverse thermo-sensitive genic male sterile line (male), on the contrary, reverse hybridization. SNP, No. of spikelets per panicle; FGP, No. of filled grains per panicle; SSR, Seed-setting rate.

天丰 Ss 的育性可恢复。从另外 4 个产量相关性状来看，除千粒重外，利用永久核不育系的 3 个亲本所配 15 个组合的单株有效穗数、每穗总粒数和单株产量中分别有 14 个、10 个和 12 个，小于利用天丰 Ss 所配相应组合。由上可知，本研究创制的永

久核不育系天丰 Ss 的育性是可恢的，且其所配组合具有一定的产量竞争优势。

2.4 永久核不育系天丰 Ss 的繁殖特性

温敏核不育系天丰 S 和反温敏核不育系天丰 s 是创制永久核不育系天丰 Ss 的直接亲本。天丰 S

表 3 永久核不育系天丰 Ss 及其 3 个亲本自然条件下的育性表现

Table 3. The fertility performance of permanent genic male sterile lines and parents under natural conditions.

调查日期 Date(month-day)	花粉败育率 Pollen sterility/%				套袋自交结实率 Seed setting rate of bagged panicles/%			
	矮紫 S Aizi S	天丰 S Tianfeng S	天丰 s Tianfeng s	天丰 Ss Tianfeng Ss	矮紫 S Aizi S	天丰 S Tianfeng S	天丰 s Tianfeng s	天丰 Ss Tianfeng Ss
07-25	-	-	100.00	100.00	-	-	0.00	0.00
07-27	97.43	100.00	100.00	100.00	5.79	0.00	0.00	0.00
07-29	99.82	100.00	99.53	100.00	0.75	0.00	0.00	0.00
08-01	100.00	100.00	78.56	100.00	0.00	0.00	6.78	0.00
08-03	100.00	100.00	66.88	100.00	0.00	0.00	36.45	0.00
08-05	100.00	100.00	36.33	99.87	0.00	0.00	51.33	0.18
08-08	100.00	100.00	9.28	99.55	0.00	0.00	74.37	0.12
08-10	100.00	99.97	3.67	100.00	0.00	0.00	84.38	0.00
08-12	100.00	100.00	0.33	100.00	0.00	0.00	53.18	0.00
08-15	100.00	100.00	1.23	100.00	0.00	0.00	73.65	0.00
08-17	100.00	99.97	8.28	100.00	0.00	0.00	77.22	0.20
08-19	100.00	99.97	6.54	100.00	0.00	0.00	86.32	0.15
08-22	100.00	100.00	12.36	100.00	0.12	0.00	86.54	0.00
08-24	99.97	99.61	23.57	100.00	0.25	0.00	78.46	0.00
08-26	99.94	100.00	43.65	100.00	0.29	0.00	31.28	0.00
08-29	99.99	99.97	23.65	100.00	0.14	0.10	42.33	0.00
08-31	100.00	99.97	55.46	100.00	0.38	0.36	26.78	0.00
09-02	100.00	99.93	47.21	99.51	0.11	0.21	29.64	0.00
09-05	100.00	100.00	86.34	99.63	0.00	0.00	0.18	0.00
09-07	100.00	100.00	99.83	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
09-09	100.00	100.00	97.88	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
09-12	98.92	99.93	99.54	100.00	54.46	0.00	0.00	0.00
09-16	91.26	98.07	99.67	100.00	58.52	10.46	0.00	0.00
09-19	94.41	99.27	100.00	100.00	31.88	16.93	0.00	0.00

和天丰 s 在相同温度条件下,育性表现相反。因此,永久核不育系天丰 Ss 的繁殖较当前生产上应用的温敏核不育系如矮紫 S 等更加容易。如既能以天丰 S 为母本、天丰 s 为父本进行高温夏繁繁殖天丰 Ss,也能以天丰 s 为母本、天丰 S 为父本进行低温秋繁或海南冬繁繁殖天丰 Ss。2016 年夏在安徽庐江基地以天丰 S 为母本,天丰 s 为父本制种 0.09 hm²,收获天丰 Ss 种子 97.5 kg,平均 1083 kg/hm²。产量较低可能与抽穗扬花期遇到长时间异常高温导致父本天丰 s 花粉活力不足、异交结实率较低有关。

3 讨论

本研究利用 7 个粳型温敏核不育系与 1 个粳型反温敏核不育系以及 9 个籼型温敏核不育系与 3 个籼型反温敏核不育系杂交配制了 59 个正反交 F₁ 组

合。其中,所有 14 个粳型 F₁ 正反交组合以及 2301S 等 4 个籼型温敏核不育系与 3 个籼型反温敏核不育系所配的 24 个 F₁ 正反交组合的结实率为 65.71%~88.26%,表现正常可育,说明上述所用的(光)温敏核不育系中的不育基因与反温敏核不育系中的不育基因聚合可以相互恢复育性。而 1892S 等另外 5 个籼型温敏核不育系与矮雁 s 等 3 个籼型反温敏核不育系所配 21 个正反交组合的自交结实率不超过 1.24%,且这些组合的再生植株自交结实率为 0,表现不育,这与梁满中等^[14]研究结果一致。通过系谱分析发现,9 个籼型温敏核不育系中,除 2301S 和新二 S 的育性基因(可能)来源于安农 S-1 外,其余 7 个温敏核不育系的育性基因均来源于农垦 58S。说明安农 S-1 的育性基因与雁农 s 的育性基因可以相互恢复育性;但来源于农垦 58S 的育性基因与来自雁农 s 的育性基因聚合却出现可育与不

表 4 永久核不育系天丰 Ss 及其 3 个亲本与 5 个籼稻恢复系配组 F₁ 产量相关性状的表现

Table 4. Yield-related traits of F₁ derived from Tianfeng Ss and its parents with five indica restorer lines.

组合 Cross	单株有效穗 Productive panicle number per plant	每穗总粒数 No. of spikelets per panicle	结实率 Seed-setting rate/%	千粒重 1000-grain weight /g	单株产量 Grain weight per plant /g
矮紫 S/R998 Aizi S/R998	11.2	202.6	85.6	27.3	53.2
天丰 S/R998 Tianfeng S/R998	12.0	198.4	85.1	27.0	54.7
天丰 s/R998 Tianfeng s/R998	13.3	189.2	86.7	26.5	57.8
天丰 Ss/R998 Tianfeng Ss/R998	12.5	210.6	84.7	26.3	58.6
矮紫 S/R727 Aizi S/R727	11.4	253.8	74.2	27.6	59.3
天丰 S/R727 Tianfeng S/R727	10.8	248.5	85.2	27.8	63.6
天丰 s/R727 Tianfeng s/R727	12.3	210.9	86.3	26.6	59.5
天丰 Ss/R727 Tianfeng Ss/R727	13.4	221.8	82.6	26.5	65.1
矮紫 S/扬稻 6 号 Aizi S/Yangdao 6	8.0	238.9	82.5	27.8	43.8
天丰 S/扬稻 6 号 Tianfeng S/Yangdao 6	9.4	207.4	85.4	26.9	44.8
天丰 s/扬稻 6 号 Tianfeng s/Yangdao 6	10.6	203.0	86.1	26.4	48.9
天丰 Ss/扬稻 6 号 Tianfeng Ss/Yangdao 6	10.8	256.0	83.4	25.2	58.1
矮紫 S/中籼 WH26 Aizi S/Zhongxian WH26	10.0	208.2	69.8	28.0	40.7
天丰 S/中籼 WH26 Tianfeng S/Zhongxian WH26	10.0	234.0	84.5	26.9	53.2
天丰 s/中籼 WH26 Tianfeng s/Zhongxian WH26	10.4	253.0	82.1	26.2	56.6
天丰 Ss/中籼 WH26 Tianfeng Ss/Zhongxian WH26	11.4	203.5	85.3	25.8	51.1
矮紫 S/华占 Aizi S/Huazhan	13.5	157.2	83.9	28.0	49.9
天丰 S/华占 Tianfeng S/Huazhan	12.8	144.9	83.6	26.1	40.5
天丰 s/华占 Tianfeng s/Huazhan	12.6	150.7	85.7	26.3	42.8
天丰 Ss/华占 Tianfeng Ss/Huazhan	13.8	169.8	82.9	24.4	47.4

育两种类型，如广莱 S 和广占 63S 与雁农 s 等配组子代是可育的，而 1892S、矮紫 S、矮占 43S、P88S 和培矮 64S 与雁农 s 等配组则出现永久不育的现象。说明农垦 58S 可能含有 2 个以上的育性基因，从而导致其衍生后代含有不同的育性基因，即广莱 S、广占 63S 与 1892S 等分别含有农垦 58S 中不同的育性基因。这需要我们进一步从分子层面上对温敏和反温敏核不育系的育性遗传机理及两者之间的作用方式进行遗传解析。

本研究将温敏核不育系矮紫 S 和反温敏核不育系矮雁 s 中的育性基因导入到桥梁亲本天丰 B 中，育成分别只含有矮紫 S 和矮雁 s 育性基因而其他性状均与天丰 B 一致的近等基因系天丰 S 和天丰 s。天丰 S 与天丰 s 杂交子代天丰 Ss 无论是长日高温还是短日低温均表现不育，且天丰 Ss 与籼稻恢复系所配组合结实率正常并表现出一定的产量竞争优势。因此，生产上利用永久核不育系天丰 Ss 进行两系杂交稻制种时将不会出现由于温度的异常变化而导致的“打摆子”现象，为解决当前两系杂交稻制种安全问题提供了一条新的思路。但是，本研

究大部分内容均是通过试验设计进行的理论上的研究，生产上无论是永久核不育系天丰 Ss 的繁殖还是利用天丰 Ss 进行制种之前，不仅要明确创制永久核不育系的 2 个直接亲本（天丰 S 和天丰 s）的育性转换临界温度以及天丰 S、天丰 s 和天丰 Ss 的特征特性，特别是与制种产量紧密相关的开花习性，同时还要进行不同生态环境中的小规模制种试验，为永久核不育系生产上大规模的应用与推广奠定基础。

参考文献：

[1] 袁隆平. 两系法杂交水稻研究论文集. 北京：农业出版社, 1992: 1-5.
Yuan L P. Two-line Hybrid Rice Research Papers. Beijing: Agricultural Press, 1992: 1-5. (in Chinese)

[2] 肖层林, 张海清, 刘爱民, 余雪晴. 两系法杂交水稻制种风险产生的原因及其控制对策. 杂交水稻, 2010(S1): 462-464.
Xiao C L, Zhang H Q, Liu A M, She X Q. Causes of the risk in seed production of two-line hybrid rice and its

- controlling strategy. *Hybrid Rice*, 2010(S1): 462-464. (in Chinese)
- [3] 斯华敏, 刘文真, 付亚萍, 孙宗修, 胡国成. 我国两系杂交水稻发展的现状和建议. *中国水稻科学*, 2011, 25(5): 544-552.
- Si H M, Liu W Z, Fu Y P, Sun Z X, Hu G C. Current situation and suggestions for development of two-line hybrid rice in china. *Chin J Rice Sci*, 2011, 25(5): 544-552. (in Chinese with English abstract)
- [4] Chen L Y, Xiao Y H, Lei D Y. Mechanism of sterility and breeding strategies for photoperiod/thermo-sensitive genic male sterile rice. *Rice Sci*, 2010, 17(3): 161-167.
- [5] Chloupek O, Forster B P, Thomas W T B. The effect of semi-dwarf genes on root system size in field-grown barley. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(5): 779-786.
- [6] Chen L Y, Lei D Y, Tang W B, Xiao Y H. Thoughts and practice on some problems about research and application of two-line hybrid rice. *Rice Sci*, 2011, 18(2): 79-85.
- [7] 唐文帮, 陈立云, 王建龙, 刘海, 肖应辉, 邓化冰, 刘国华. 水稻温敏型两用核不育系繁殖存在的问题及解决办法. *杂交水稻*, 2011, 26(1): 25-29.
- Tang W B, Chen L Y, Wang J L, Liu H, Xiao Y H, Deng H B, Liu G H. Problems of and solutions to multiplication of TGMS line in rice. *Hybrid Rice*, 2011, 26(5): 25-29.
- [8] 武小金. 两系法杂交水稻安全高效种子生产技术. 北京: 中国农业出版社, 2005: 24-31.
- Wu X J. The Seed Production Technology with Safe and Efficient of Two-line Hybrid Rice. Beijing: China Agricultural Press, 2005: 24-31. (in Chinese)
- [9] 雷东阳, 唐文帮, 解志坚, 刘海, 陈立云. 两系法杂交水稻制种不安全问题的解决途径. *作物学报*, 2013, 39(9): 1569-1575.
- Lei D Y, Tang W B, Xie Z J, Liu H, Chen L Y. How to tackle insecurity problems in seed production of two-line hybrid rice. *Acta Agron Sin*, 2013, 39(9): 1569-1575. (in Chinese with English abstract)
- [10] 陈立云. 两系法杂交水稻的理论与技术. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 102-105.
- Chen L Y. The Principles and Techniques of Two-line Hybrid Rice. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press, 2001: 102-105. (in Chinese)
- [11] 李训贞, 陈良碧, 周庭波. 新型低温不育水稻(N-10s, N-13s)育性的初步鉴定. *湖南师范大学自然科学学报*, 1991, 14(2): 376-378, 382.
- Li X Z, Chen L B, Zhou T B. Preliminary observation of fertility changes in the new type low temperature sensitive male sterile rice N-10s and N-13s. *Acta Sci Nat Univ Norm Hunan*, 1991, 14(2): 376-378, 382. (in Chinese with English abstract)
- [12] 吴厚雄, 李必湖, 向阳, 梁满中, 徐孟亮, 陈良碧. 低温敏核不育水稻 go543S 育性对温, 光的反应. *生态学报*, 2003, 23(3): 463-470.
- Wu H X, Li B H, Xiang Y, Liang M Z, Xu M L, Chen L B. Effects of temperature and photoperiod on the fertility of low temperature sensitive genic male sterile rice. *Acta Ecol Sin*, 2003, 23(3): 463-470. (in Chinese with English abstract)
- [13] 徐孟亮, 张俊, 龚曼, 梁满中, 陈良碧. 一个反向水稻两用核不育系育性对温度与光周期的反应. *湖南师范大学自然科学学报*, 2010, 33(4): 85-88.
- Xu M L, Zhang J, Gong M, Liang M Z, Chen L B. Response of fertility of a new reverse P(T)GMS line to temperature and photoperiod in rice. *J Hunan Norm Univ: Nat Sci*, 2010, 33(4): 85-88. (in Chinese with English abstract)
- [14] 梁满中, 王晓辉, 吴厚雄, 陈良碧. 低温敏核不育系与光温敏核不育系杂交后代育性遗传的初步研究. *作物学报*, 2006, 32(10): 1537-1541.
- Liang M Z, Wang X H, Wu H X, Chen L B. Preliminary studies on heredity of fertility for low temperature induced genic male sterile line and photoperiod (thermo)-sensitive genic male sterile line in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agron Sin*, 2006, 32(10): 1537-1541. (in Chinese with English abstract)
- [15] 王德正, 王辉, 吴爽, 杜士云, 江建华. 利用智能水温控制系统鉴定水稻雄性核不育起点温度. *中国稻米*, 2015, 21(1): 24-29.
- Wang D Z, Wang H, Wu S, Du S Y, Jiang J H. Identification of the critical sterility-inducing temperature of genic male sterile lines with intelligent water-temperature control system in rice. *China rice*, 2015, 21(1): 24-29. (in Chinese with English abstract)
- [16] 吴爽, 江建华, 汤修竹, 王德正. 水稻温敏核不育系广莱 S 的异交特性研究. *杂交水稻*, 2015, 30(3): 35-38.
- Wu S, Jiang J H, Tang X Z, Wang D Z. Studies on outcrossing characteristics of TGMS line Guangmo S in rice. *Hybrid Rice*, 2015, 30(3): 35-38. (in Chinese with English abstract)