

7)
53-58

野裁杂交花培育种探讨*

李道远 陈成斌

(广西农科院作物品种资源研究所 南宁 530007)

林世成 阙更生 邢祖颐 章琦

(中国农科院作物育种栽培研究所 北京 100081)

S035.1

摘要 采用花药培养技术对普通野生稻白叶枯病广谱抗源 RBB16 与水稻品种显系 3 号等一批杂交后代进行花培育种。接种花药 79080 个, 平均愈伤组织诱导率 7.94%, 绿苗分化率 15.08%, 从获得一批野裁杂交后代的花培绿苗中选育出 T209-1、14-5 两个高产、或高抗白叶枯病的稳定新品系。研究表明野裁杂交花培育种技术是克服野裁杂交后代稳定难, 育种周期长与加速野生稻资源利用的有效途径。

关键词 野裁杂交 花培育种 愈伤组织诱导率 绿苗分化率

花药培养 ✓

普通野生稻 (*O. rufipogon*) 与栽培稻 (*O. sativa*) 的花药培养均已获得重大进展^[1,2,3], 水稻花培育成的品种在我国已有较大种植面积。我国台湾学者吴旭初 (Woo.S.C., 1978) 对栽培稻和多年生野生稻 (*O. perennis*) 杂种进行花药培养, 指出单交杂种的花药可以产生愈伤组织和白苗, 而回交栽培稻的花药则可产生绿苗^[4]。但对水稻与普通野生稻杂交后代花药培养育成优良品系, 目前尚无报道。本研究为了加速普通野生稻优良种质的利用, 特别是白叶枯病抗性基因在水稻育种中的应用。自 1987 年以来, 进行野裁杂交 26 个组合, 分别对 F1 代及回交后代进行花药培养, 获得一批绿苗, 平均诱导率 7.94%, 绿苗分化率 15.08%, 突破野裁杂交 F1 花培不分化绿苗的难关, 育成含有野生稻白叶枯病抗性基因的新品系, 为野裁杂交花培育种提供有效的技术。现报道其部分结果如下。

1 材料与方法

1.1 供试材料 显系 3 号// 中丹 2 号/RBB16, 显系 3 号// 显系 3 号/RBB16 (RBB16 为普通野生稻白叶枯病广谱抗源) 等共 26 个野裁杂交组合的株系共 178 个。

1.2 试验方法 采用花药培养的方法, 自行设计培养基及对照的培养基 30 余个, 对各野裁杂交后代材料进行花药培养。并对绿苗接种不同的白叶枯病菌系, 鉴定其是否含有普通野生稻的白叶枯病抗性基因。

* 国家自然科学基金资助项目
1992 年 9 月 10 日收稿

2 试验结果

自1990年以来,共采用诱导培养基14个,分化培养基20多个,进行了26个组合的后代株系178个的花药培养。接种花药79080个,平均愈伤组织诱导率7.94%,最高诱导率31.67%。平均绿苗分化率15.08%,最高绿苗分化率45.00%。其中获得稳定的品系T209-1,14-5的愈伤组织诱导率为28.85%和20.10%,绿苗分化率为20.00%和8.00%。

2.1 不同培养基之间诱导率和分化率的差异

2.1.1 诱导率的差异 1990年早造与晚造分别用了7个与8个不同的诱导培养基(其中有3个早晚造相同的培养基),1991年早造增加3个新的培养基并重复3个上年的培养基。从统计结果来看,诱导率最高的是YD2培养基(见表1),平均3造的诱导率高于N6。因此认为它对野栽杂交后代的花药培养较适应。

表1 各培养基中野栽杂交后代花粉愈伤组织诱导率的比较

培养基代号	实验时间	接种花药数	愈伤组织数	诱导率(%)
YD	90年早造	1980	198	10.0
YD2	90年早造	7380	757	10.26
	90年晚造	18360	2182	11.88
	91年早造	5760	1130	19.62
YDA	90年早造	2400	66	2.75
	90年晚造	5400	346	6.41
YDA1	90年晚造	6600	508	7.70
YDA2	90年晚造	5400	259	4.80
YD20	90年晚造	1740	97	5.57
5号	91年早造	4020	103	2.56
5号-2	91年早造	2040	101	4.95
CL	91年早造	360	10	2.78
N6	91年早造	1560	171	10.96
N6A	90年早造	5580	34	0.61
N6A1	90年早造	4920	111	2.26
N6A2	90年早造	780	55	7.05
N6A3	90年晚造	4800	152	3.17
合计		79080	6280	7.94

表1中YDA、YDA1、YDA2、N6A等有A的培养基均是做一次成苗的花药培养基,其中YDA1与N6A2的愈伤组织诱导率较高,分别为7.70%和7.05%,达到较理想水平。

2.1.2 分化率的差异 花粉愈伤组织分化时会有绿苗、白苗、根等分化产物出现。因为野栽杂交后代花药培养的目的是要得到稳定优良品系,所以绿苗分化率才是衡量培养基好坏的指标,白苗与根分化率于育种无用。这几年来我们用了11个分化培养基,总平均绿苗分化率为15.08%,其中1/2YD培养基的绿苗分化率最高,为45.00%(见表2)。

表2 各培养基中野裁杂交后代愈伤组织分化率的比较

培养基代号	分化愈伤组织数	绿苗分化		总分化	
		数	率 (%)	数	率 (%)
NO	100	12	12.00	57	57.00
NY	212	21	9.91	101	47.64
N6O	68	7	10.29	30	44.12
N6-1	52	16	30.77	32	61.54
N6-2	156	19	12.18	84	53.85
YN	93	18	19.35	40	43.01
YD	207	8	3.86	69	33.33
1/2YD	100	45	45.00	59	59.00
MS	99	6	6.06	67	67.68
5号	1123	186	16.56	580	51.65
N6	64	5	7.81	14	21.88
合计	2274	343	15.08	1133	49.82

1990年晚造我们采用正交设计的方法在分化培养基上进行优选, 在各个因子3个含量水平上共设计16个培养基, 选出绿苗分化率达44.68%的5号培养基。在以后的重复试验中, 5号培养基共接分化1123块愈伤组织, 绿苗分化率为16.56%, 比对照N6培养基的绿苗分化率7.81%, 提高了1倍多。表明5号培养基对野裁杂交后代的花粉愈伤组织分化较宜。

1990年野裁杂交后代一次成苗的绿苗分化结果也很理想, 在设计的7个一次成苗的培养基中, 平均愈伤组织诱导率为5.48%、绿苗分化率15.33%。绿苗分化率最高的是N6A2培养基, 达到36.36% (见表3)。有些株系的一次成苗培养已接近二次成苗的水平, 花粉愈伤组织达9.79%, 绿苗分化率达51.06%。

表3 野裁杂交后代花药培养一次成苗试验结果 (1990)

培养基代号	接种花药数 (个)	愈伤组织		绿苗分化		总分化	
		数	诱导率 (%)	数	率 (%)	数	率 (%)
YDA早造	2400	66	2.75	19	28.79	54	81.82
YDA晚造	6000	493	8.22	86	17.81	282	57.20
YDA1	2880	288	10.00	32	11.11	117	40.63
YDA2	4920	253	5.14	21	8.30	100	39.53
NGY	5860	527	8.99	70	13.28	252	47.82
合计	33340	1827	5.48	280	15.33	919	50.30
N6A	5580	34	0.61	4	11.76	19	55.88
N6A1	4920	111	2.26	28	25.23	60	54.05
N6A2	780	55	7.05	20	36.36	35	63.64

2.2 两个花培稳定品系 T209-1、14-5 的培育情况

T209-1、14-5 分别是在 T209 与 14-5 的花培绿苗中选出来的稳定品系。从 1990 年试验情况看, T209 在 YD2 培养基上接种 2340 个花药, 愈伤组织诱导率达 28.85%。在 5 号分化培养基上, 在正交设计试验中绿苗分化率达 48.65%, 总分化率为 62.16%; 在重复试验中转分化愈伤组织 180 块, 绿苗分化率为 20.00%, 总分化率为 52.78%。

T209 在一次成苗的 YDA 中接种花药 1020 个, 愈伤组织诱导率为 7.84%, 绿苗分化率为 35.00%; 在 YDA1 中接种花药 660 个, 愈伤组织诱导率为 12.73%, 绿苗分化率为 28.57%, 表现出不同培养基的花培效果差异。

14-5 在 YD2 培养基上接种花药 1020 个, 愈伤组织诱导率为 20.10%。在 5 号分化培养基中转分化愈伤组织 125 块, 绿苗分化率为 8.00%, 总分化率为 42.40%, 获得了一批绿苗。

14-5 在一次成苗的 YDA1 中接种花药 360 个, 愈伤组织诱导率为 16.67%, 绿苗分化率为 8.33%, 总分化率为 40.00%。就 14-5 的花培来讲一次培养成苗的水平比较接近于二次成苗的方法。从 14-5 与 T209 的试验情况看, 14-5 在二次成苗的诱导率与分化率均比 T209 低, 看到不同株系的花培效果的差异, 这种差异可能与品系的基因型有关。

2.3 农艺性状与白叶枯病抗性鉴定

获得花药培养绿苗后, 移于盆栽或移植于田间, 经自然加倍后收获种子, 分株系种植, 进行农艺性状与多菌系的白叶枯病抗性鉴定, 选出抗性强, 性状优良的株系。其中 T209-1 与 14-5 的性状优, 抗性好, (见表 4)。

表 4 花培稳定品系及亲本的性状与抗性表现

品系名称	组合名称	类型	生育期(天)	株高(cm)	穗长(cm)	每穗粒数	谷粒		白叶枯病抗性
							长(mm)	宽(mm)	
T209-1	垦系 3 号// 垦系 3 号/RBB16	粳	120	99.0	18.4	176.0	7.4	3.3	S
14-5	垦系 3 号// 中丹 2 号/RBB16	粳	115	94.0	20.1	125.0	7.3	3.4	R
垦系 3 号	(亲本)	粳	110	94.5	15.3	139.0	6.8	3.7	S
中丹 2 号	(亲本)	粳	120	95.0	23.1	157.0	-	-	S
RBB16	(亲本)	籼	感光型	128	20.1	52.0	8.4	2.6	R

T209-1 是来自垦系 3 号// 垦系 3 号/RBB16 的 F4 的花培稳定品系, 茎秆粗壮, 着粒密, 穗大粒多, 结实率高, 米质优, 抗倒性强。在南宁种植晚造小区亩产 448 kg, 比亲本垦系 3 号增产 59.30%, 比对照粳稻品种中作 180 增产 15.2%, 是极有前途的新品系。14-5 的株高 94 cm, 穗粒较少, 米质优, 具有野生稻亲本的白叶枯抗病性。但丰产性不够, 只能做改良型白叶枯病抗源。其他组合的花培绿苗还有一些农艺性状优良, 抗性强的株系。表明野裁杂交后代花药培养方法是杂交育种的有效手段。

3 结论与讨论

目前以育种目的为主的普通野生稻与栽培稻杂交后代花药培养研究较少, 本研究在较短时间

内(从配组至花培出品系仅4年)培育出具有野生稻白叶枯病抗性及其优良农艺性状的品系,证明野裁杂交花培单倍体育种是极其有效的途径。

本研究接种野裁杂交后代花药79080个,平均愈伤组织诱导率为7.94%,最高诱导率达31.67%,平均绿苗分化率为15.08%,最高达44.68%。并首次成功地实现野裁杂交后代花药培养一次成苗,平均愈伤组织诱导率5.48%,平均绿苗分化率为15.33%,初步解决了野裁杂交后代花药培养的技术难题。并在绿苗中选育成T209-1与14-5两个稳定品系,有效地缩短野裁杂交育种年限,证明野裁杂交后代花药培养是野裁杂交育种的有效方法。

本研究在许多野裁杂交后代花培绿苗中筛选出具有野生稻白叶枯病抗性的株系,证明野裁杂交后代花药培养方法能有效地把野生稻的抗性稳定在花培后代品系中。

野裁杂交后代花药培养白苗分化率较高,不管在二次成苗或一次成苗中均相似。有些培养基或有些株系的白苗分化率是绿苗的几倍,甚至全部为白苗。这是今后值得重视的问题。

野裁杂交后代花药培养还有很多问题需要解决,如野生稻抗性在花培后代的遗传规律如何、取哪一世代的材料花培效果最好、怎样进一步提高绿苗分化率与愈伤组织诱导率等均有待进一步探讨。

4 主要参考文献

- 1 陈成斌等. 野生稻花药一次培养成苗初报. 广西农业科学, 1986(2):8~10
- 2 陈成斌. 不同生态类型的普通野生稻花药培养研究. 广西农业科学, 1989(5):1~6
- 3 陈英. 水稻花粉植株的遗传与作物改良. 植物体细胞遗传与作物改良. 北京大学出版社, 1988
- 4 Woo S C, T. Mok and C Y Huang: Anther culture of *Oryza sativa* L. and *O. perennis* Moench hybrids. Bull Acad Sinica, 1978, 53(4): 251 ~ 255

Study on Rice Breeding of Anther Culture from the Hybrid Between Wild and Cultivated Rice

Li Daoyuan Chen Chengbin

(Institute of Crop Genetic Resources, Guangxi Academy
of Agricultural Sciences, Nanning 530007)

Lin Shicheng, Que Gengsheng, Xing Zuyi, Zhang Qi

(Institute of Crop Breeding and Cultivation, Chinese
Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract Anther culture breeding of progenies of the hybrid between varieties Kenxi No.3 and so on and common wild rice RBB16(*O.rufipogon*) which has broad spectrum resistance to bacterial blight have been conducted with the techniques of anther culture. Inoculated 79080 anthers, the average induction frequencies of callus and the differentiation frequencies of green plantlets are 7.94% and 15.08% respectively. T209-1, 14-5 two stable lines of higher yield or high resistance to bacterial blight are selected from a lot of pollen plants of the crossed progeny. The results indicated the techniques of anther culture on the hybrid between wild and cultivated rice is one of the most effective way to overcome the unsteady of the hybrid progenies, long breeding cycle and to quicken the utilization of wild rice resources.

Key words Anther culture breeding; Hybrid; Cultivated rice; Callus; Induction; Green plantlet