

DOI: 10.19462/j.cnki.zgzy.20240301006

红莲型不育系绿 3A 原种商业化提纯繁殖技术研究

高胜从 吕加林 崔会会 刘明健 苏祥忠 朱昌栋 王传军 潘 华 李 涛 史 昆
(安徽荃银高科种业股份有限公司 / 农业农村部杂交稻新品种创制重点实验室, 合肥 230088)

摘要:针对红莲型不育系绿 3A 在大规模繁殖时可能遇到的亲本种子纯度问题, 创新地融合了“株系循环法”和“三系七圃法”进行提纯, 并开展了后期繁殖的商业化配套技术研究, 成功实现了年产亲本原原种 10 万 kg 的目标, 不仅解决了提纯的技术难题, 更为红莲型不育系的大规模商业化原种提纯繁殖提供了宝贵的参考。

关键词:红莲型; 绿 3A; 提纯复壮; 商业化; 株系循环; 动态平衡

Research on Commercial Purification and Propagation Techniques of Original Seeds of Honglian-Type Sterile Line Lv3A

GAO Shengcong, LYU Jialin, CUI Huihui, LIU Mingjian, SU Xiangzhong,
ZHU Changdong, WANG Chuanjun, PAN Hua, LI Tao, SHI Kun
(Anhui Win-All Hi-Tech Seed Co., Ltd. / Key Laboratory of Hybrid Rice New Variety
Creation of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Hefei 230088)

20 世纪 70 年代开始, 中国农业科技人员相继成功实现“三系法”育种技术, 促进了杂交水稻的大面积推广种植, 取得了举世瞩目的成就。由朱英国院士团队育成的红莲型、野败型和包台型不育系被国际公认为杂交水稻三大细胞质雄性不育类型。近年来, 红莲型杂交水稻在基础研究、应用研究和产业化等方面均有突破^[1], 但仍然面临着亲本提纯制约大规模商业化推广的问题。

红莲型三系中籼稻不育系绿 3A (原名 9912A) 是安徽省农业科学院绿色食品工程研究所于 2002 年育成, 并在安徽适宜地区建立了相应的原原种、原种和良种繁育体系, 但只具有年产 2 万 kg 的供种能力^[2]。随着繁育世代的增加, 特别是用种量急剧增加后, 绿 3A 种子出现了育性不稳定现象, 变异株和同形可育株等杂株比例超标, 影响了其商业化应用。本文针对绿 3A 在大规模繁殖时亲本种子可能存在的纯度问题, 对其采用多方法集成的不育性提纯及

配套繁殖技术研究, 成功地实现了亲本原原种年产 10 万 kg。

1 绿 3A 提纯的方法与基地选择

1.1 提纯与检测的方法 绿 3A (由安徽荃银种业科技有限公司提供, 以下简称荃银科技公司), 经多点田间鉴定纯度为 97.5%~98.9%, 进行绿优 1 号 (绿 3A/绿稻 24) 等品种试制, 收获 F₁ 种子, 纯度为 90.0%~94.8%, 因此, 绿 3A 亲本质量的提升迫在眉睫。“简易法”“株系循环法”和“三系七圃法”都是原种提纯的经典方法, 经过多年摸索, 本文采用了“株系循环法”和“三系七圃法”的融合, 同时将“简易法”设为对照, 并开展了后期繁殖的商业化配套技术研究^[3]。采用 NY/T 1433—2014《水稻品种鉴定技术规程 SSR 分子标记法》中的 48 个水稻 SSR 标记, 对水稻样品进行 DNA 分析^[4]。

1.2 基地的选择与播期安排 基地选择在江西省抚州市宜黄县, 利用春繁季节 (7 月 12—20 日) 高温时段, 更有利于检测淘汰和选择高质量个体。春繁试验播种时间: 不育系播种时间 (A): 4 月 8 日; 保

基金项目: 合肥市重大专项 (2021DX012)

通信作者: 史昆

持系 I 期与 II 期播种时间分别为 (B_1): 4 月 11 日、(B_2): 4 月 15 日; 移栽时间: 5 月 10 日; 抽穗时段: 7 月 12–17 日; 收割时间: 8 月 5 日。

2 不同方法提纯的结果与比较

2.1 “三系七圃法”融合“株系循环法”实现对原种的精准提纯 利用大批量成对杂交株对, 通过株行和株系淘汰、选择和鉴定, 以动态平衡的方式, 获得合格的混系株对种子, 从而稳定质量(纯度), 达到提纯繁殖目标。第 1 轮筛选: 2019 年建立选种圃, 经过典型性状和育性检测, 完成成对交 123 对(编码: 绿 3A19-n/ 绿 3B19-n)。2020 年正季种植株行圃选留 29 对。2021 年种植株系圃, 选留 19 对收获株系种子(分系), 于海南种植鉴定质量(纯度), 同年, 抽穗前 10d 于分系田间取叶片进行室内真实性检测; 见穗前在田间进行 A、B 套袋自交; 花期分系测交绿 3A/R9311, 收获种子。第 2 轮筛选: 2020 年同步从第 1 轮株行圃和株系圃中选择优良单株, 建立选种圃, 进行“株系循环法”第 2、3……N 轮筛选, 截至 2023 年已经完成 3 轮筛选。3 轮提纯株系圃分系海南种植纯度鉴定情况具体见表 1。

具体结果: 第 1 轮筛选: 完成成对交 123 对(编码: 绿 3A19-n/ 绿 3B19-n); 株行圃当选比率(合格比例) 23.5%; 株系圃成对交当选比率(合格比例) 15.4%; 收获株系种子(分系) 数量绿 3A/ 绿 3B:

300kg/60kg, 海南种植鉴定质量(纯度) 99.95%/100%。2021 年分系 DNA 检测全部合格, 田间检测不育株率 100%, 不育度 99.83%, 套袋自交结实 0.17%; 2022 年种植测交种子, 株系(19 个混系) 恢复度 86%~94%, 恢复株率达 100%。持续用“株系循环法”进行第 2 轮、第 3 轮筛选, 提纯原种, 结果均较满意(表 2)。

2.2 “简易法”繁殖原种, 种子纯度不稳定 2019–2021 年连续 3 年安排进行小面积的原种繁殖, 绿 3A 和绿 3B 同步进行(表 3)。技术程序:(1) 在当年的亲本繁殖基地选择肥力水平均匀、条件好的繁殖田 0.13~0.20hm², 严格按照单株种植繁殖;(2) 在苗期、分蘖期、生殖生长始期、见穗期、抽穗期至种子收割前, 多次进行严格除杂除劣, 将一切可疑的植株全部除掉, 混收种子, 作为原种;(3) 在实施的过程中, 注意对单株的选择比较, 严格把握亲本的典型性标准, 严禁肥水、激素、农药和除草剂对性状的影响, 规避人为误差^[5]。通过技术人员持续的田间努力, 混收种子质量(纯度) 较繁殖前有显著提升, 增幅较大, 但是几代循环叠加, 获得纯度 99.8% 以上的高质量亲本难度较大。

2.3 两种方法结果比较 前者方法提纯原种, 能够精准获得高质量种子, 可控制性较强, 从成对交株对至株系(分系), 直观掌握每一系的质量情况, 方便

表 1 3 轮提纯株系圃分系海南种植纯度鉴定

品种	株系	总株数	同形可育株	紫稃尖	异型株	杂株合计	纯度(%)
绿 3A (2019)	19	19278	7	1	2	10	99.95
绿 3B (2019)	19	20320	0	0	0	0	100
绿 3A (2020)	23	25465	10	0	3	13	99.95
绿 3A (2021)	40	45000	12	0	0	12	99.97

表 2 株系循环法提纯效果汇总

品种	成对交	株行圃	当选比率(%)	株行 A、B (kg)	株系圃	当选比率(%)	株系 A、B (kg)	纯度(%)
绿 3A、3B (2019 年)	123	29	23.5	–	19	15.4	300.0/60.0	99.95
绿 3A、3B (2020 年)	95	40	42.1	60/100	29	30.5	362.0/277.5	99.94
绿 3A、3B (2021 年)	90	53	58.8	223/86	49	54.4	633.0/665.0	99.97

表 3 简易法绿 3A 原种繁殖质量情况汇总

品种	种子来源	面积 (hm ²)	入库原种 (kg)	海南纯度(%)	正季纯度(%)
绿 3A (2019 年)	繁殖大田留种	0.20	584	98.7	97.7
绿 3A (2020 年)	繁殖大田留种	0.40	1311	99.7	99.1
绿 3A (2021 年)	繁殖大田留种	2.40	11050	99.7	99.5

淘汰不合格成对交,混合保留的株系种子作为大田繁殖用种种源;操作过程中,每一季涵盖成对交、株行和株系(分系)试验圃。相比较后者简便易于操作,但是无法收到高质量(纯度)原种,而且存在高世代个体出现“同质恢”转育结实的质量风险。

3 “三系七圃法”融合“株系循环法”需注意问题

3.1 选择比率波动 第1轮2019年成对交株行圃淘汰比率大于70%,分析原因是选种圃筛选时亲本种源的纯度较低,母本选种圃种植3200株,杂株达80株,比例达2.5%,杂株类型有早熟、晚熟、紫色稃尖、圆粒形、长粒形和同形可育株。第2轮、第3轮趋于稳定,每一阶段逐步淘汰和修整轻微变异的成对株对,株行圃和株系圃的选择比例大于50%,达到正常标准。

3.2 高温敏感株的自交结实 红莲型不育系属于配子体不育,花粉表现为二核期败育,败育花粉粒呈现出中空圆形,1%碘—碘化钾溶液下不着色,属圆败类型。几年来,在27.03°~27.43°N区域开展提纯研究,为筛选出高温转育株,通过分析该区域多年的气象资料,7月中下旬会有35~40℃高温天气,所以母本的抽穗扬花期安排在7月下旬,使得母本育性敏感期处于高温天气,母本就会出现不同程度的高温转育,转育个体俗称同形可育株,人工套袋自交试验,结实比例达1‰~2.5‰,而且自交后代为正常结实的早熟类型杂株。

3.3 选择方法由传统的限值选择改进为众数选择^[6] 育种上常用优中选优方法进行系统选择,其田间淘汰率较高,操作时人为因素影响很大。利用“株系循环”良种繁育方法,以维持优良群体的稳定性为主要目标,掌握稳步求进的思路,可以使种子的质量和数量得到提高。在大田正常环境下选择植株,务必注重品种的典型性和群体性,只要不是杂株、劣株和病株都可以选用。

3.4 降低不育系用种代数 株系圃鉴定后的种子(原原种)混合后繁殖原种,将原种种子直接作为大田用种亲本用于制种生产,可以减少亲本中“同质恢”恢复基因的可育个体,随着F₁杂株及其分离后代的花粉进一步渗入到不育系和保持系中,产生大量的“同质恢”杂株,造成生物学混杂,导致恢复基因进一步扩散^[7]。实践中,采取循环进行“选择—

种植鉴定—选择”的提纯繁殖方式,持续获得原种,提供合格大田用种供制种生产环节使用,是一种可行的策略。

3.5 建立基础群体,用“株系循环法”逐步淘汰育种剩余变异^[6] 根据单株选择理论,自花授粉作物只须进行一次单株鉴定选择,就可最大程度地除杂去劣,对生育期、株高等数量性状加以有效控制,就能选留到具有品种典型性和整齐一致的数个株行小区。工作人员在操作的过程中,首先将成对交进行株行比较鉴定试验,合格后的成对株行,再进行一季株系试验,就建立了株系循环基础群体。株系循环基础群体的株系数量一般不低于100个,以保证基因库的完整和稳定。依据该品种在一定的栽培条件和生态条件下自然形成的特性,田间选择时,保留群体中符合本品种典型性的多数或大多数个体,通过逐年的少量淘汰,有目的地提高有利基因频率。

4 商业化配套技术研究

4.1 增加专业技术力量,持续开展亲本育性研究 稳定在高温生态区域建立和发展原种提纯繁殖试验基地,利用高温气候环境诱导不育系中高温敏感株个体表现型显现,逐步淘汰不利基因型,稳步年产优良株系种650kg,分系海南种植鉴定检测,混系使用,繁殖用种纯度99.95%,制种用种纯度99.80%。

4.2 稳固适宜的生态繁殖基地 依托国家政策农业项目支撑,在江西省抚州市发展1~2个县、4~5个乡镇,建立起稳固的水稻亲本种子提纯繁殖基地,不育系年繁殖面积133.3hm²。

4.3 采用“公司+基地+农户”的产业化模式 派驻专业技术人员全程督导;基地组建除杂专业队伍,人均除杂面积小于0.26hm²,保障繁殖质量;对农户进行繁殖过程技术监控和技术指导,确保环节合格。

4.4 繁殖过程中严格把关 抽穗授粉期安排在低温季节,以春繁、秋繁和海南春繁为主;实施空间隔离,杜绝用时间和距离隔离;及时清除田间再生苗;抽穗前组织人员去除明显杂株;花期重点拔除同形可育株,务必在散粉前完成,当天露杂当天去除;父本授粉完成立即低位割除,反复检查直至验收合格;收割母本前进行最后验收;收割机械仔细检查,防止机械混杂。

(下转第79页)

5.2 主要栽培季节及地区 大理州客土栽培方式主要集中在弥渡县弥城镇夹石洞村一带,当地栽培的马铃薯为小春马铃薯。

5.3 优缺点分析 弥渡县客土主要为玄武岩风化形成的金沙土^[7],在和农田原生土壤混合后,改善了土壤结构和物理性状,增加了透性,改变了土壤的板结状况。同时客土中富含丰富的矿质元素和微量元素,提高了土壤有机质含量和土壤肥力,改善了马铃薯生长的土壤条件,有利于马铃薯块茎膨大生长,使其产量和品质都得到较大提升。通过增加客土的方式可调整土壤 pH 值,将土壤酸碱度控制在适合马铃薯生长的范围内。但薯农每隔 2~3 年都要从附近山上取土,土量大且重,增加了薯农的工作量,且长期的客土搬移,改变了当地的地形地貌,对生态环境存在一定影响。

栽培方式的演进是人与自然博弈的过程,是农耕文明的一个缩影,是几千年来农民在农业生产中认识自然、改造自然的结果,是劳动人民集体智慧的结晶。农业生产向前发展离不开栽培方式的不断调整和改进,马铃薯作为我国第四大主粮作物,不仅承担着粮食安全重任,还肩负着蔬菜、饲料、工业原

料等使命,调整和改进栽培方式对提升马铃薯产能具有重要意义。随着生态文明建设、美丽乡村建设等理念的提出,在今后的农业生产中,栽培方式更应该抓实效、重长远,向着尊重自然、顺应自然、人与自然和谐共生的方向发展。马铃薯的生产也应该向着绿色、环保、健康、高效的方向迈进,这就要求科研人员在栽培方式、栽培技术上多思考、提炼、总结和提升,以适应生产发展和社会进步的需要。

参考文献

- [1] 秦剑, 琚建华, 解明恩. 低纬高原天气气候. 北京: 气象出版社, 1997
- [2] 大理州气象局. 大理州气候图集. 云南: 大理州气象局, 2017
- [3] 谢春霞, 杨雄, 尹明芳, 刘国扬, 冯丽萍, 陶彩丽. 大理州小春马铃薯品种比较试验. 中国马铃薯, 2015, 29 (2): 65-70
- [4] 谢春霞, 杨雄, 赵彪, 陶彩丽. 大理州小春马铃薯新品种(系)评价. 云南农业科技, 2018 (3): 53-56
- [5] 谢春霞, 杨雄, 李灿辉, 段晓燕, 陶彩丽, 谢时杨, 郝大海. 大理州马铃薯四季种植情况. 中国马铃薯, 2023, 37 (1): 89-93
- [6] 许祯, 陈先刚, 罗明忠, 杨寿荣. 滇西山地土壤有机碳储量及其分布特征. 福建林学院学报, 2010, 30 (1): 82-87
- [7] 王春香. 客土改良土壤栽培早产马铃薯. 云南农业, 2017 (2): 85-86

(收稿日期: 2024-03-21)

(上接第 75 页)

5 总结和展望

绿 3A 原种大规模商业化提纯繁殖遇到的问题, 是很多红莲型杂交水稻同样面临的问题, 也反映出当前我国杂交水稻研究重育种、轻提纯繁殖的现状。以产业化思维为引领, 通过对亲本特征特性及前人相关研究进行深入了解, 并脚踏实地去投入、去攻关, 才能保质保量生产出合格种子, 才能实现大规模产业化推广。当前, 红莲型杂交稻在国内种植面积已达 200 多万 hm^2 , 并已逐步打开国外市场, 在越南、老挝、孟加拉、非洲几内亚等国家种植均表现优异^[8]。希望通过本文的研究, 能够为大家提供一些借鉴, 共同实现杂交水稻产业未来更大的发展。

参考文献

- [1] 黄文超, 胡骏, 朱仁山, 李绍清, 王坤, 余金洪, 李阳生, 章志宏, 朱英国. 红莲型杂交水稻的研究与发展. 中国科学: 生命科学, 2012, 42

(9): 689-698

- [2] 朱启升, 杨前进. 安徽红莲型细胞质的应用研究 // 中国科协, 湖北省人民政府. 2007 中国科协年会专题论坛“红莲型杂交水稻学术专题研讨会”论文汇编. 北京: 中国科协, 2007: 179-182
- [3] 陆作楣, 陶瑾, 孙荣才. 论我国杂交稻亲本繁育技术的演变. 杂交水稻, 1993 (2): 1-3
- [4] 国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 39917—2021 主要农作物品种真实性和纯度 SSR 分子标记检测 稻. 北京: 中国标准出版社, 2021
- [5] 张春庆. 玉米水稻杂交种子生产技术. 济南: 山东科学技术出版社, 2015
- [6] 陆作楣, 陶瑾. 论“株系循环法”. 种子, 1999 (4): 3-5, 8
- [7] 王际凤, 陆作楣. 恢复基因的渗入对红莲型不育系粤泰 A 纯度的影响. 中国水稻科学, 2007, 21 (5): 500-506
- [8] 朱仁山, 余金洪, 丁俊平, 杜成波, 李绍清, 胡骏, 黄文超, 王坤, 李阳生, 杨代常, 章志宏, 朱英国. 红莲型杂交水稻的研究与实践. 杂交水稻, 2010, 25 (S1): 12-16

(收稿日期: 2024-03-01)