

## 转 *bar* 基因水稻在杂种优势育种中的利用

段发平 黎垣庆 梁承邺

(中国科学院华南植物研究所, 广东 广州 510650)

**摘要:** 以 3 个美国转 *bar* 基因水稻抗除草剂品种 Bengal Hu-10、Cypress PB-6 和 Gulfmont 为父本, 分别与三系、两系不育系及人工去雄恢复系杂交。考种结果发现: 这 3 个抗性亲本所配组合杂种优势不明显。通过杂交将抗除草剂亲本中的 *bar* 基因转移到常规恢复系, 已经培育出 3 个抗除草剂恢复系明恢 63-B、测 64-B 和特青-B; 且已选配出 5 个抗性杂交组合, 它们能保持原组合的产量水平。还讨论了水稻杂种优势利用面临的问题和转 *bar* 基因水稻抗性亲本在杂种优势上的应用前景。

**关键词:** 转 *bar* 基因水稻; 杂种优势; 雄性不育; 除草剂

**中图分类号:** S511.035.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-3395(2001)04-0329-06

## APPLICATION OF *BAR*-TRANSGENIC RICE IN BREEDING FOR HETEROSIS

DUAN Fa-ping LI Yuan-qing LIANG Cheng-ye

(South China Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** Three *bar*-transgenic rices, Bengal Hu-10, Cypress PB-6, and Gulfmont as male parents, were crossed with 6 male sterile lines: Zhenshan 97A, Bo A, Pei-ai 64S, Nanxiang 95S, Xi 217S and GD1-S. Eight restorers emasculated were crossed with the three herbicide-resistant sources. Forty-eight  $F_1$  hybrids were obtained totally. The results indicated that heterosis in these  $F_1$  hybrids were not obvious. By transferring herbicide (Liberty)-resistant *bar* gene into conventional restorer lines, 3 restorer lines (Minghui 63-B, Ce 64-B, and Teqing-B) were developed via crossing, and 5 resistant combinations, i.e. Zhenshan 97A/Minghui 63-B( $B_2F_1$ -B), Zhenshan 97A/Ce64-B( $B_2F_1$ -G), Zhenshan 97A/Ce 64-B( $B_2F_1$ -C), Pei-ai 64S/Teqing-B( $B_1F_2$ -C), and Pei-ai 64S/Teqing-B ( $B_2F_1$ -B), had been bred, which retained the same yielding level of their original combinations. The problems of heterosis application, and the prospect of *bar*-transgenic rice parents in breeding for heterosis are discussed.

**Key words:** *bar*-transgenic rice; Heterosis; Cytoplasmic male sterility; Herbicide

*bar* 基因(bialaphos resistance gene)能使植物抵抗以 Phosphiothricin (PPT, 麟丝菌素)为活性成份的除草剂, 如 Bialaphos (双丙氨麟)和 Glufosinate(草丁麟)<sup>[1]</sup>。德国 Aventis 公司(前身为艾格福公司 AgrEvo)拥有 *bar* 基因和相应的除草剂草丁麟。该公司培育的商品化抗草丁麟作物品种有大豆、玉米、油菜、甜菜、棉花、水稻等<sup>[2]</sup>。严文贵<sup>[3]</sup>提出了将抗除草剂特性应用于作物杂种优势利用中的设想。肖国樱<sup>[4]</sup>、黄大年<sup>[5]</sup>等提出利用抗除草剂基因解决两系杂交稻在制种过程中出现的纯度问题。黎

收稿日期: 2001-03-09

基金项目: 国家转基因植物研究与产业化开发项目基金资助

恒庆等实验证明美国抗除草剂水稻品种 Bengal Hu-10、Cypress PB-6 和 Gulfmont 中 *bar* 基因的遗传模式是受一对显性核基因控制,并与细胞质无关<sup>[1]</sup>。本文旨在研究上述 3 个美国转 *bar* 基因水稻品种在水稻杂种优势上的利用前景。

## 1 材料和方法

**材料** 3 个美国抗除草剂 (Liberty) 转 *bar* 基因水稻品种: Bengal Hu-10、Cypress PB-6 和 Gulfmont, 由美国阿肯色严氏杂种优势与除草剂公司提供。2 个三系不育系: 珍汕 97A 和博 A, 2 个三系保持系: 珍汕 97B 和博 B, 4 个两系不育系: 培矮 64S、南香 95S、西 217S 和 GD1-S, 8 个恢复系: R122、R1345、71、223、416、特三矮、粤马占和 02428。对照组合为汕优 63。除了 R122、R1345 和特三矮来自广东省农业科学院外, 其它材料均由中国科学院华南植物研究所提供。

**方法** 6 个不育系材料作母本, 分别与 3 个转 *bar* 基因水稻抗性品种杂交; 同时对 8 个恢复系人工去雄后分别与 3 个转基因水稻抗性品种杂交, 共获得 48 个杂种 F<sub>1</sub>。上述材料种植在中国科学院华南植物研究所试验农场, 每小区种植 30 株, 单株植 (20 cm × 25 cm)。收获时每小区随机选取 5 株考种。考种性状为株高、每株穗数、每穗实粒数、结实率、单株产量。

平均优势 =  $(F_1 - MP) / MP \times 100\%$ , MP 为中亲值。

竞争优势 =  $(F_1 - CK) / CK \times 100\%$ , CK 为对照组合的性状值。

## 2 结果和分析

### 2.1 抗除草剂品种与三系不育系杂交组合主要农艺性状的杂种优势表现

从表 1 可知, 除 Gulfmont 与珍汕 97A 杂交组合的株高竞争优势高于对照汕优 63 外, 其它 5

表 1 抗除草剂品种与三系不育系杂交组合主要农艺性状的杂种优势 (%) 表现

Table 1 Heterosis (%) for agronomic traits of F<sub>1</sub> hybrids crossed by herbicide-resistant varieties with CMS lines

杂交组合 Combinations	株高 Plant height	每株穗数 Panicles per plant	每穗实粒数 Full grains per panicle	结实率 Seed set	单株产量 Yield per plant
珍汕 97A/Bengal Hu-10 (Zhenshan 97A/Bengal Hu-10)					
竞争优势 Competitive heterosis (%)	-3.9	13.2	-99.6	-93.7	-98.9
平均优势 Average heterosis (%)	5.3	-2.8	-99.4	-92.4	-98.4
珍汕 97A/Cypress PB-6 (Zhenshan 97A/Cypress PB-6)					
竞争优势 Competitive heterosis (%)	-3.2	13.2	-99.3	-90.5	-95.4
平均优势 Average heterosis (%)	2.2	-2.8	-99.0	-88.4	-92.7
珍汕 97A/Gulfmont (Zhenshan 97A/Gulfmont)					
竞争优势 Competitive heterosis (%)	15.8	42.1	-94.2	-81.1	-77.6
平均优势 Average heterosis (%)	21.0	24.9	-91.5	-76.2	-64.5
博 A/Bengal Hu-10 (Bo A/Bengal Hu-10)					
竞争优势 Competitive heterosis (%)	-5.3	28.3	-99.2	-88.4	-94.4
平均优势 Average heterosis (%)	6.0	6.0	-98.9	-86.9	-91.7
博 A/Cypress PB-6 (Bo A/Cypress PB-6)					
竞争优势 Competitive heterosis (%)	-4.1	13.2	-99.3	-91.6	-95.2
平均优势 Average heterosis (%)	3.3	-6.5	-99.0	-90.4	-91.9
博 A/Gulfmont (Bo A/Gulfmont)					
竞争优势 Competitive heterosis (%)	-2.9	32.9	-99.0	-86.3	-91.4
平均优势 Average heterosis (%)	3.6	12.2	-98.6	-84.0	-85.4

个杂交组合均低于对照组合;但所有 6 个组合的株高平均优势均为正值,其中最高的达 21.0%。6 个组合的每株穗数的竞争优势也都高于对照,平均优势则因组合不同差异较大,表现为正优势或负优势。所有 6 个组合的每穗实粒数、结实率和单株产量的竞争优势以及平均优势全部为负值。从考种数据来看,6 个组合的结实率仅为 0.9%~13%(数据未列出)。这说明 3 个美国抗除草剂品种缺乏强恢复基因,难以直接应用于三系杂交育种。

## 2.2 抗除草剂品种与两系不育系杂交组合主要农艺性状的杂种优势表现

12 个两系杂交组合株高的竞争优势高于或接近对照汕优 63,最高达 36.5%。每株穗数的优势率最高为 57.9%,最低为-21.1%。但是,12 个组合的每穗实粒数、结实率和单株产量的杂种优势均低于对照(表 2)。虽然其中有些组合的结实率高达 87.0%(表中未列出),但是这些组合综合性状差,在生产上的利用价值不大。

表 2 抗除草剂品种与两系不育系杂交组合主要农艺性状的竞争优势(%)表现  
Table 2 Competitive heterosis (%) for agronomic traits of  $F_1$  hybrids crossed by three herbicide-resistant varieties with photo(thermo)-sensitive male sterile lines

杂交组合 Combinations	株高 Plant height	每株穗数 Panicles per plant	每穗实粒数 Full grains per panicle	结实率 Seed set	单株产量 Yield per plant
GD1-S/Bengal Hu-10	19.3	9.6	-27.0	-45.4	-35.8
GD1-S/Cypress PB-6	24.0	40.4	-37.0	-51.3	-27.2
GD1-S/Gulfmont	36.1	-3.5	-17.6	-36.6	-39.2
南香 95S/Bengal Hu-10 (Nanxiang 95S/Bengal Hu-10)	16.2	5.3	-43.5	-55.8	-50.4
南香 95S/Cypress PB-6 (Nanxiang 95S/Cypress PB-6)	26.7	-7.9	-9.3	-32.6	-42.2
南香 95S/Gulfmont (Nanxiang 95S/Gulfmont)	32.5	-3.6	-11.1	-33.7	-38.5
西 217S/Bengal Hu-10 (Xi 217S/Bengal Hu-10)	20.5	-3.6	-25.5	-20.0	-35.2
西 217S/Cypress PB-6 (Xi 217S/Cypress PB-6)	20.5	5.3	-5.0	-12.6	-21.7
西 217S/Gulfmont (Xi 217S/Gulfmont)	36.5	-21.1	0.0	-8.4	-34.4
培矮 64S/Bengal Hu-10 (Peiai 64S/Bengal Hu-10)	0.0	57.9	-49.1	-40.0	-46.9
培矮 64S/Cypress PB-6 (Peiai 64S/Cypress PB-6)	18.1	5.3	-26.6	-32.6	-40.8
培矮 64S/Gulfmont (Peiai 64S/Gulfmont)	22.0	-7.9	-31.1	-44.2	-54.9

## 2.3 抗除草剂品种与恢复系杂交组合主要农艺性状的杂种优势表现

8 个恢复系分别与 3 个转 *bar* 基因水稻品种杂交共获得 24 个杂种  $F_1$  代。按这些杂交组合的优势表现进行分类,统计每种类型的组合数,结果列于表 3。可以看出,24 个杂交组合的株高优势表现绝大多数属于正向平均优势和正向竞争优势类型。而每株穗数和结实率的杂种优势率大部分组合为负值。每穗实粒数的竞争优势和平均优势多数表现为正向优势。多数组合单株产量的平均优势为正值,但是竞争优势的优势率除两个组合稍高于对照外,其它组合均低于对照组合。

从 24 个杂交组合中选出综合农艺性状较好的组合,列于表 4。223/Gulfmont、R122/Cypress PB-6、223/Bengal Hu-10 和 R122/Bengal Hu-10 的单株产量接近或略高于对照组合汕优 63,但是前 3 个组合的植株偏高。组合 R122/Bengal Hu-10 的株高较接近对照,但是结实率偏低。

## 2.4 抗除草剂恢复系的转育和抗性组合的选育

以美国抗除草剂品种为父本与明恢 63、溇 64 和特青杂交,子一代喷药后,选成活单株作母本,以常规恢复系为父本回交,如此回交 2-3 代,选育出 3 个同型抗性恢复系。由表 5 看出,除珍汕

表 3 24 个杂交组合中有优势表现的杂交组合数的分布  
Table 3 Frequency distribution of the numbers of crosses with different heterosis from 24 combinations \*

杂种优势 Heterosis	株高 Plant height	每株穗数 Panicles per plant	每穗实粒数 Full grains per panicle	结实率 Seed set	单株产量 Yield per plant
正平均优势和正竞争优势 Positive average heterosis & positive competitive heterosis	22	0	12	0	2
负平均优势和正竞争优势 Negative average heterosis & positive competitive heterosis	0	9	0	0	0
正平均优势和负竞争优势 Positive average heterosis & negative competitive heterosis	0	0	5	6	12
负平均优势和负竞争优势 Negative average heterosis & negative competitive heterosis	2	15	7	18	10

\* Figures in the table are the numbers of  $F_1$  hybrids with various trait heterosis

表 4 综合性状较好的几个杂交组合主要农艺性状的表现  
Table 4 Agronomic traits of herbicide-resistant  $F_1$  hybrids with better traits

杂交组合 Combinations	株高 Plant height (cm)	每株穗数 Panicles per plant	每穗实粒数 Full grains per panicle	结实率 Seed set (%)	单株产量 Yield per plant (g)
珍汕 97A/ 明恢 63 (对照) Zhenshan 97A/Minghui 63 (Control)	85.5	7.6	119.6	95	25.67
223/Gulfmont	112.0	6.8	160.3	72	26.05
R122/Cypress PB-6	100.7	8.9	125.9	68	26.23
223/Bengal Hu -10	98.8	9.0	116.9	77	25.56
R122/Bengal Hu -10	93.3	8.3	137.3	68	25.64

97A/ 测 64 的每株穗数平均优势为-10.4%外,5 个三系组合的主要农艺性状均超过或接近中亲值;其中 3 个抗性组合单株理论产量的平均优势较强,最高达到 91.3%。若以汕优 63 为对照,珍汕 97A/ 明恢 63-B ( $B_2F_1$ -B)、珍汕 97A/ 测 64-B ( $B_2F_2$ -G)、珍汕 97A/ 测 64-B ( $B_2F_1$ -C)、培矮 64S/ 特青 -B ( $B_2F_2$ -C) 和培矮 64S/ 特青 ( $B_2F_1$ -B) 5 个抗性组合的株高、每株穗数和结实率的竞争优势则表现为正值和负值。7 个组合千粒重的竞争优势表现为负向优势。除组合珍汕 97A/ 测 64-B ( $B_2F_2$ -G) 外,每穗实粒数均表现为正向优势;单株产量的竞争优势和平均优势与每穗实粒数表现一致(表 5)。还可以看出,同型抗性恢复系配制的杂交组合的单株产量均比原始恢复系配制的杂交组合要高。

### 3 讨论

#### 3.1 水稻杂种优势利用面临的问题

目前广泛使用的水稻三系雄性不育系珍汕 97A 和 V20A 的抗性退化,种性变劣,异交率又不高,只因其不育系育性稳定,才在生产上继续使用。近年育成的一批不育系如 II-32A、优 1A 和香 2A 等配合力好,米质优,抗性强;但因含弱恢复因子,在高温期制种常有少量自交结实,因而大面积制种要冒风险。两系法杂交水稻的母本雌性不育性是由隐性核基因控制,恢复谱广。它克服了三系法的缺陷,组配优势组合机率高,能较易利用亚种间杂种优势,显示出高产或超高产的潜力,但其不育系育性易受光照与温度等环境因子的影响,种子纯度难以保证。化学杀雄法不需培育不育系,配组自由,只要父母本产量或品质等方面的配合力好,对其中一个实施杀雄,即可利用其杂种

表 5 几个抗除草剂杂交组合主要农艺性状杂种优势(%)的表现  
Table 5 Heterosis(%) for agronomic traits in several herbicide-resistant hybrids  $F_1$

杂交组合 Combinations	株高 Plant height	每株穗数 Panicles per plant	每穗实粒数 Full grains per panicle	结实率 Seed set	千粒重 1000-grain weight	单株产量 Yield per plant
珍汕 97A/ 明恢 63(对照)[Zhenshan 97A/Minghui 63 (Control)]						
平均优势 Average heterosis	-0.2	1.8	58.5	9.3	10.3	75.8
珍汕 97A/ 明恢 63-B ( $B_2F_1$ -B)[Zhenshan 97A/Minghui 63-B( $B_2F_1$ -B)]						
竞争优势 Competitive heterosis	3.4	3.6	7.2	0.9	-2.1	8.8
平均优势 Average heterosis	3.3	5.5	69.9	10.3	8.1	91.3
珍汕 97A/ 测 64(对照)[Zhenshan 97A/Ce 64 (Control)]						
竞争优势 Competitive heterosis	0.0	-1.2	0.4	4.1	-14.4	-15.1
平均优势 Average heterosis	5.5	-10.4	48.9	15.6	7.2	41.3
珍汕 97A/ 测 64-B ( $B_2F_2$ -G)[Zhenshan 97A/ Ce 64-B( $B_2F_2$ -G)]						
竞争优势 Competitive heterosis	-6.3	10.8	-3.0	1.8	-13.4	-6.9
平均优势 Average heterosis	-1.2	0.5	43.8	13.0	8.5	55.0
珍汕 97A/ 测 64-B ( $B_2F_1$ -C)[Zhenshan 97A/Ce 64-B( $B_2F_1$ -C)]						
竞争优势 Competitive heterosis	-5.7	27.7	2.8	0.3	-14.1	12.8
平均优势 Average heterosis	-0.5	15.8	52.5	11.4	7.6	87.8
培矮 64S/ 特青(对照)[Peiai 64S/Teqing (Control)]						
竞争优势 Competitive heterosis	9.2	-20.5	37.5	-6.5	-15.5	-7.6
培矮 64S/ 特青-B( $B_1F_2$ -C)[Peiai 64S/Teqing-B( $B_1F_2$ -C)]						
竞争优势 Competitive heterosis	2.3	-9.6	55.8	-10.5	-16.5	17.6
培矮 64S/ 特青-B( $B_2F_1$ -B)[Peiai 64S/Teqing-B( $B_2F_1$ -B)]						
竞争优势 Competitive heterosis	1.1	-6.0	72.6	-14.5	-14.8	38.2

明恢 63-B( $B_2F_1$ -B)表示转 *bar* 基因明恢 63,括号内  $B_2F_1$  表示回交 2 次子一代,后面连接的大写英文字母表示除草剂抗性的供体品种,如 B 为 Bengal Hu-10, C 为 Cypress PB-6, G 为 Gulfmont,其它类推。Minghui 63-B( $B_2F_1$ -B) represents *bar*-transgenic Minghui 63;  $B_2F_1$ -B in brackets means  $F_1$  hybrid of second backcross generations for herbicide-resistant donor Bengal Hu-10. If the donor is Bengal Hu-10, Cypress PB-6 or Gulfmont, it will be written as B, C or G, respectively. The others are analogized by this rule.

优势,但是杂种纯度仅为 80%–90%左右。若杂交稻纯度不高,伪杂种往往表现出株高、抽穗期不一致,早熟的往往易倒伏与落粒,迟熟的在收割期未开花或未成熟,其中雄性不育株的自交种子根本不结实。这样对杂交水稻产量影响极大。因此要培育出突破性的新品种,大幅度提高水稻的产量,急需新的切实可行的育种技术。

美国转 *bar* 基因水稻抗性基因源在杂种优势上的应用可望解决如下问题。第一,简化水稻杂交种子生产程序,可望获得超净杂交稻种。将转 *bar* 基因水稻恢复系与不育系组配杂交组合,对秧苗喷草丁磷药剂可彻底清除伪杂种,保证大田生产纯度达到 100%。第二,简化水稻杂交种子纯度的鉴定方法,有效地防止假冒伪劣种子坑农、害农。以往异地种植鉴定花费时间过长,而遗传分析法(如酯酶法)耗资太多。采用抗除草剂水稻恢复系生产的杂交种子,只需一个简单的发芽试验,在苗期喷药就能区别出真假杂种。第三,有利于选配强优势或优质杂交组合,防止生产上的遗传脆弱性。超净杂交育种技术的应用可以重新启用曾经被摒弃的一些配合力好但育性有欠缺的水稻不育系(II-32A、优 1A 和香 2A 等),有利于杂交组合的自由选配和提高杂交水稻的产量;其次,因亲本选择范围的扩大,能增加群体的遗传多样性,防止生产上的遗传脆弱性和流行病的发生;第三,超净强优势杂交水稻的抗性恢复系导入美国热带粳稻的优质米基因,与国内优质米不育系相结合,

使杂交水稻的米质大幅度提高。第四,使用与抗除草剂基因相对应的除草剂,能有效除去杂草,大大减少劳动力,且能解决直播(或抛秧)秧田的草荒问题。第五,开拓了水稻杂种优势利用的新途径。以往用于优势预测的材料多为不育系配制的杂交种,而把抗性恢复系作为化杀父本,有望获得大量正常品种间的杂交组合,用于杂种优势的预测,可拓宽优势预测的选材范围<sup>[7]</sup>。

### 3.2 抗除草剂品种在水稻杂种优势上利用的现状与展望

3个美国抗除草剂品种 Bengal Hu-10、Cypress PB-6 和 Gulfmont 因缺乏强恢复基因,与三系不育系杂交的组合表现为高不育或低不育,产量杂种优势表现为负优势。它们与两系不育系配制的杂交组合的产量杂种优势亦表现为负优势。但是,其中部分组合的结实率已经达到正常水平,进一步扩大杂交组合,有望获得强优势组合。用这3个抗除草剂品种与生产上利用的强恢复系组配的24个杂交组合中半数以上单株产量平均优势为正值,有4个组合的竞争优势接近或略超过对照汕优63。若扩大杂交组合,有可能获得在生产上可利用的组合。但是总的看来,这3个抗性品种在生产上直接应用仍存在一定困难,最有希望的途径是通过杂交将它们的单个显性 *bar* 基因转移到我国的优良恢复系中,然后利用转育成功的同型抗性恢复系来选配杂交组合。目前,利用该技术已培育出3个三系抗除草剂杂交组合和2个两系抗性组合。这些抗除草剂组合能保持原组合的产量水平,苗期喷除草剂可淘汰假杂种,说明外源 *bar* 基因的转入与原品种内恢复基因是协调的。同时,从美国抗性品种引进的热带粳稻成分可提高恢复系的配合力,能选育出比原组合优势更强的组合,如组合珍汕97A/明恢63-B(B<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-B)<sup>[8]</sup>。此外,我们可以利用转育成功的抗性恢复系测64-B、明恢63-B和特青-B作为抗性供体,利用其亲和性好、产量高等优点与其他优良恢复系杂交转育新的抗除草剂同型恢复系,也可以将抗性基因转入02428等广亲和亲本,把它作为父本与化杀去雄的籼稻或粳稻品种杂交,有望利用亚种之间的杂种优势,培育出超级杂交稻。

**致谢:** 感谢美国阿肯色严氏杂种优势与除草剂公司严文贵博士提供的抗除草剂材料 Bengal Hu-10, Cypress PB-6, Gulfmont。

### 参考文献:

- [1] Thompson C J, Movva N R, Tizard R, et al. Characterization of the herbicide-resistance gene *bar* from *Streptomyces hygroscopicus*. [J]. EMBOJ, 1987, 6:2519-2523.
- [2] 苏少泉. 转基因抗除草剂作物品种的现状与展望 [J]. 世界农业, 1998, 8:21-23.
- [3] Yan W G. Crop heterosis and herbicide [P]. U. S. Patent 6 066 779 (PTO), 2000.
- [4] 肖国樱. 作物对除草剂的抗性及其在杂种优势利用中应用策略的探讨 [J]. 杂交水稻, 1997, 12(5):1-3
- [5] Huang D N, Zhang S Q, Xue R, et al. A new method to identify and improve the purity of hybrid rice with herbicide resistant gene [J]. Chinese Rice Res Newsletter, 1998, 6(1):1.
- [6] 黎垣庆, 刘刚, 严文贵, 等. 除草剂(草丁膦)抗性基因的遗传与利用 [J]. 植物学报, 1999, 41(12):1348-1350.
- [7] 段发平, 黎垣庆, 梁承德. 水稻杂种优势预测方法的现状、问题与对策 [J]. 杂交水稻, 2000, 15(2):1-3.
- [8] 黎垣庆, 许秋生, 段发平, 等. 抗除草剂杂交稻的选育 [J]. 杂交水稻, 2000, 15(6):9-11.