

一个植物无性生殖遗传规律的发现

陈建三

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 为了固定植物杂种优势, 克服杂交水稻必需年年制种, 杂种只能利用一次等缺点, 本研究进行了固定水稻杂种与遗传育种研究。考察了 30 个野生稻种, 其中西非长雄蕊野生稻 80-001 (A^sA^s , *O. longistaminata*) 受到重视, 为根茎繁殖, 大花药、长柱头、花粉粒小而均匀, 但自交不亲和。用长野 80-001 与亚洲栽培稻 (*O. sativa*, AA) 杂交, 在杂种 F_2 、 F_3 出现了农艺性状整齐一致并能连续遗传的群体, 并称此为群体分离和固定杂种。这种群体分离和固定杂种不符合孟德尔氏生物有性生殖遗传规律, 故称此为植物无性生殖规律, 表达该规律的遗传模式是 $F_1 = F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$, $F_1 \cong F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$ 。这一发现揭示了植物无性生殖遗传规律, 填补了植物无性生殖遗传空白, 且应用于植物育种能固定种间、亚种间、品种间的杂种优势, 节约 2/3 以上的育种时间、人力、物力, 是一个植物快速育种的新途径。选育的梗稻中新一号 (梗稻 84-15/喜峰 F_2) (93) 京审粮字第 9 号、粳稻杂交稻一号 (90-3027/坊迪 F_2), 已通过北京市和海南省审定推广。

关键词: 水稻; 无性生殖; 群体分离; 固定杂种; 二倍体孤雌生殖; 珠心胚生殖

Discovery of the Asexual Reproduction Genetic Law of Plant

CHEN Jian-san

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

Abstract: The new type rice named hybrid rice that can be used for generations but do not need seed production every year was developed because of fixing heterosis and the fixing heterosis of genetic and breeding. 30 wild species were enrolled in this study, *O. longistaminata* 80-001 A^sA^s had been interested that was rhizome reproduction, big anther with long stigma, small with uniformity for pollen grain and with viability but self-incompatibility. The genetic of the hybrid of F_2 and F_3 population with uniformly agronomic traits were continuous when developed from the cross of *O. longistaminata* 80-001 A^sA^s and *O. sativa* AA, the author called population segregation and fixing hybrid that were very different from the inheritance which F_2 and F_3 generation separate individually and homozygosis after several generation of continuous self pollination named as Mendelian inheritance. The expression pattern of genetics was $F_1 = F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$, $F_1 \cong F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$. The discovery was the first world record, and this discovery showed the rule of inheritance of plant asexual reproduction, and application of the genetic law of Fixing heterosis to plant breeding would be save more than 2/3 time and material resources when hybridization between *indica*/wild rice, hybridization between subspecies *Japonica* and *indica* and hybridization between cultivars of *Japonica* rice. This was the new way for plant breeding, for instance, *Japonica* Zhongxin NO. 1 (developed from F_2 population of the *Japonica* 84-15/Xingfeng cross) and *Indica* hybrid rice NO. 1 (developed from F_2 population of the *Indica* 90-3027/Fangdi cross) were recommended for commercialization in Beijing city and Hainan province.

Key words: rice; asexual reproduction; population segregation; fixed hybrid; double parthenogenesis; nuclear proembryo

收稿日期: 2013-12-05 修回日期: 2014-01-03 网络出版日期: 2014-02-18

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/10.13430/j.cnki.jpgr.2014.02.034.html>

基金项目: 国家科技攻关计划 (85-002-01-03-1); 农业结构调整重大技术研究 (专项 2002-04-02B); 2009 年科技部“863”计划 (2009AA102113); 2009 年国家自然科学基金项目 (10087101-235-63)

第一作者研究方向为水稻遗传育种。E-mail: CHEN NA@MAIL.CMEC.COM

研究植物无融合生殖固定杂种的目的是探索植物无性生殖遗传规律,开发无性生殖基因在植物遗传与育种上的应用,并提供一个植物快速育种新途径^[1-3]。

前人对植物无融合生殖的研究已经取得了有益的进展,认为稳定的无融合生殖是远缘杂交的直接后果^[4-6]。H. K. Hayes 等^[7]提出:从植物育种家看来,无融合生殖阻碍基因分离与重组,然而如果无融合生殖的后代发生比重大,那么优良基因型一旦被选拔出来后,就可以保持相对稳定性。U. R. Murty 等^[8]和 J. S. Chen 等^[9]提出高粱固定杂种优势的新概念 hybrid (syngaryon genesis) 和筛选理想 hybrids 农艺性状步骤。USDA-ARS 在牧草无融合生殖研究上取得成功。E. C. Bashaw^[10]总结了无融合生殖育种经验后认为,一些兼性无融合生殖育种进展是鼓舞人心的。80 年代报道植物无融合生殖资源有:玉米鸭茅摩擦禾、小麦冰草、大黍^[11]、牧草巴费尔、高粱 R473 等^[12],但没有水稻无融合生殖固定杂种优势的育种报道。笔者从 1977 年开始研究水稻无融合生殖固定杂种优势育种。1984 年、1989 年从非洲长雄蕊野生稻 80-001 与亚洲栽培稻杂交杂种 F₂、F₃ 选育出梗稻 84-15、籼稻 3027。该项研究在植物杂种 F₂ 已选育出遗传稳定的合核品种并推广利用,如(93)京审粮字第 9 号梗稻中新一号、海南省农作物品种合格证书籼稻杂交稻一号等^[13],解决了植物杂种后代多次分离、多次自交才能纯合的育种难题,实现了杂交水稻勿需年年制种、杂种又能多次利用的育种目标^[14-15]。

1 材料与方法

1.1 试验材料 1980 年在本所网室种植长雄蕊野生稻 80-001 (以下简称长野 80-001),不能正常抽穗,必需短日照处理(每天 8h 黑暗)30d 才能抽穗,抽穗后用梗稻恢复系 80-6195 杂交获得种子 5 粒。1987 年用籼稻恢复系明恢 63 与长野 80-001 杂交获得杂种 20 粒。用梗稻 84-15、籼稻 90-3027、籼稻 89-63 与黑谷、矮秆紫稻、日本晴、鄂宜 105、32 矮、海台一号、84-01、80-6195、明恢 63 杂交获得杂交种子。2009 年夏天在湖北省通城县用籼稻 90-3027 (绿苗)与矮秆紫稻(紫苗、柱头外露)杂交获得杂种 30 粒。2009 年冬季在三亚南滨农场种植杂种 F₁ 13 株,成熟时按株按穗收获、保存。2010 年 5 月 10 日在通城县按穗播种 F₂,水稻齐穗后分离出 4 个农艺性状整齐一致群体,每个类型取样 30~60 株,对照是金优 725。考察株高和穗长,统计其杂种 F₂ 株高和穗长的平均数、标准差、变异系数。成熟时,每个类型

收 40 穗于 11 月在南滨农场播种杂种 F₃。2011 年 4 月下旬,每个类型收 40 株并考察株高、穗长。2011 年 5 月 10 日播种杂种 F₄,成熟时,每个类型收 40 株并考察株高、穗长,统计方法同上。

1.2 长野 80-001 遗传规律的研究

1.2.1 群体分离 种间杂交:1980 年,长野 80-001 × 栽培稻 80-6195 杂交获得杂交种子 5 粒。1981 年种植杂种 F₁ 5 株。1983 年种植杂种 F₂ 500 株,其疯狂分离,随机选 29 株,分别脱粒、装袋、保存。1984 年,每袋种子种植 1 小区,每区 150~200 株,共 29 个小区。1987 年,用明恢 63 号与长野 80-001 杂交获得杂交种子 20 粒。1988 年种植杂种 F₁ 14 株。1989 年种植杂种 F₂ 190 株。1990 年种植杂种 F₃ 1000 株。

1.2.2 固定杂种 粳籼亚种间杂交:1987 年用梗稻 84-15 与籼稻密阳 23 杂交,获得杂交种子。1988 年冬季在三亚种植杂种 F₁。1989 年在北京种植杂种 F₂。1989 年冬季在三亚种植杂种 F₃。1990 年在北京种植杂种 F₄。

品种间杂交:1987 年用梗稻 84-15 与梗稻鄂宜 105 杂交,得到杂交种子。1988 年在三亚种植杂种 F₁。1989 年在北京种植杂种 F₂。1989 年冬季在三亚种植杂种 F₃。1990 年在北京种植杂种 F₄。

1.3 3027 × 矮紫 F₂ SSR 标记

用 21 对引物对母本 3027 × 父本矮秆紫稻的杂种 F₂ 迟熟型(20 叶片)、矮秆丰产型(20 叶片)、高秆丰产型(20 叶片)、叶色深柱头外露型(19 叶片)在不同染色体上进行 SSR 标记。

1.4 84-15 细胞胚胎学研究

取 84-15 根尖用醋酸洋红染色,用刀片把根尖切成薄片,在高倍显微镜下观察染色体数目和随体染色体数目。取幼嫩 84-15 胚乳,用醋酸洋红染色在高倍显微镜下观察胚乳细胞染色体对数。在 84-15 零位叶至灌浆 7~8 d 取幼穗并将其置 FAA 液固定 24h,子房用石蜡切片法切片在显微镜下观察。

1.5 调查与统计方法

上述供试材料:F₁ 取样 10 株,F₂ 取样 20~30 株,F₃ 取样 30~100 株,并对株高、穗长、有效穗数、每穗总粒数、每穗实粒数进行调查。用统计学的方法计算变异系数 $C.V = \frac{s}{x} \times 100$ 和 2 个不同样本平均数方差的差异显著性测验。

$$K = \frac{Sx^2}{Sx_1^2 + Sx_2^2}, V' = \frac{1}{\frac{k^2}{v_1} + \frac{(1-k)^2}{v^2}}, TV' = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

2 结果与分析

2.1 长野 80-001 植物学性状的观察 植物进化链是无性生殖→无融合生殖→有性生殖。长野 80-001 有无性生殖的特点也有有性生殖的特征。长野 80-001 起源于非洲尼日尔和刚比亚河流域^[16], 多年生根茎繁殖、分蘖旺盛、叶片绿色、叶耳和叶舌均长、株高 150 ~ 180 cm, 穗长 15 ~ 20 cm, 小穗无第三枝梗, 雌蕊发达二裂羽毛状, 雄蕊花药长而肥大、花粉粒小而均匀, 有生活力, 但自交不亲和, 不能结实, 表现了很强的生殖隔离的特性。长野 80-001 的染色体组为 A^sA^s与亚洲栽培稻(*O. Sativa*)的染色体组 AA 有同源性也有区别。长野 80-001 × 栽培稻作正反杂交, 均出现栽培稻排除野生稻性状的表达, 杂种后代消除了野生稻大花药、长柱头、根茎繁殖的性状, 但保留长野 80-001 无性生殖基因遗传功能, 是基因遗传, 而在育种上笔者把该基因称为固优基因。

2.2 长野 80-001 遗传规律的研究

2.2.1 群体分离 种间杂交: 1984 年, 长野 80-001/栽培稻 80-6195 杂种 F₃ 分离出了 3 个群体即

84-01、84-23、84-15。84-01 占全部群体 13.7%, 全生育期 135 d, 株高 119.5 cm、C. V 为 4.8%, 穗长 20.2 cm、C. V 为 9.0%。84-23 占全部群体 3.5%, 全生育期 145 d, 株高 80.4 cm、C. V 为 11.2%, 穗长 15.1 cm、C. V 为 10.3%。84-15 占全部群体 82.8%, 全生育期 175 d, 株高 81.2 cm、C. V 为 7.5%, 穗长 17.2cm、C. V 为 8.1%。以上 3 个群体株高、穗长 C. V 数值较小, 经过显著性测定和全生育期评价: 84-01、84-23 和 84-15^[17] 各自农艺性状是整齐一致的, 三者的差异是显著的(表 1)。1988 年, 栽培稻明恢 63/长野 80-001 杂种 F₁ 14 株, 株高 70.0cm、C. V 为 7.0%, 穗长 20.1 cm、C. V 为 10.5%。1989 年该组合 F₂ 分离出高秆株和矮秆株, 其中高秆株 20 个, 株高 120 cm, 矮秆株 160 个。对矮秆株的农艺性状进行调查, 株高 71.3cm、C. V 为 6.7%, 穗长 21.6cm、C. V 为 10.1%。1990 年, 该组合 F₃, 株高 73.1cm、C. V 为 7.3%, 穗长 20.9 cm、C. V 为 8.0%。以上 3 个世代的株高、穗长 C. V 数值较小。经过显著性测验, 每个群体农艺性状是整齐一致的, 3 个世代差异是不显著的(表 2), 该品系称为 90-3027^[12, 18-19]。

表 1 长野 80-001/栽培稻 80-6195 F₃ 农艺性状的差异显著性比较(1984 年)

Table 1 Significant difference comparison of agronomic traits between <i>O. longistaminate</i> 80-001 and <i>O. sativa</i> 80-6195 F ₃ (1984)									
品系 Lines	株高 (cm) Plant height	显著性 Significance		<i>C. V</i> (%)	穗长 (cm) Panicle length	显著性 Significance		<i>C. V</i> (%)	全生育期 (d) Full growth period
		5%	1%			5%	1%		
84-01	119. 5	a	A	4. 8	20. 2	a	A	9. 0	135
84-15	81. 2	b	B	7. 5	17. 2	b	B	8. 1	175
84-23	80. 4	c	C	11. 2	15. 1	c	C	10. 3	145

表 2 栽培稻明恢 63/长野 80-001F₁、F₂、F₃ 农艺性状的差异显著性测验比较(1988-1990 年)

Table 2 Significant difference comparison of agronomic traits between the F₁, F₂, and F₃ of *O. longistaminata* 80-001 and *O. sativa Minghui* 63 (1988-1990)

世代 Generations	株高 (cm) Plant height	C. V (%)	显著性		穗长 (cm) Panicle length	C. V (%)	显著性		有效穗数 Effective panicle number	调查株数 Investigated plants
			Significance				Significance			
			5%	1%			5%	1%		
F ₁	70. 0	7. 0	a	A	20. 1	10. 5	a	A	7. 5	14
F ₂	71. 3	6. 7	a	A	21. 6	10. 1	a	A	7. 9	25
F ₃	73. 1	7. 3	a	A	20. 9	8. 0	a	A	7. 0	100

通过以上 2 个试验证明长野 80-001 与栽培稻杂交, 不管长野 80-001 作母本或作父本在杂种 F₂、F₃ 均能出现群体分离, 由此说明长野 80-001 含有固定杂种基因并且杂种后代符合 F₁ = F₂ = F₃…… = F_n

模式。这样, 笔者把杂种后代分离农艺性状整齐一致的现象称为群体分离。

2.2.2 固定杂种

2.2.2.1 籼稻/粳稻杂交 粳稻 84-15/籼稻密阳

23 杂种 F_1 、 F_2 、 F_3 、 F_4 调查结果,株高 70.3 ~ 92.4cm、 $C. V$ 为 4.1% ~ 6.1%,穗长 19.7 ~ 27.5cm、 $C. V$ 为 5.6% ~ 8.6%,其株高和穗长 $C. V$ 数值较小(表 3),并对其中 2 个籼粳杂交群体进行显著性调查,结果

显示:株高 70.3cm、71.9cm、 $C. V$ 为 5.1%、7.8%,穗长 21.1cm、21.6cm、 $C. V$ 为 7.7%、7.9%,其株高和穗长 $C. V$ 数值较小。经过显著性测验 2 个群体之间的差异是不显著的(表 4)。

表 3 84-15/密阳 23 杂种 $F_1 \sim F_4$ 固定杂种比较

Table 3 Comparison of F_1 - F_4 fixed hybrid between 84-15 and Miyang 23

世代 Generations	株高 (cm) Plant height	$C. V$ (%)	穗长 (cm) Panicle length	$C. V$ (%)	有效穗数 Effective panicles	$C. V$ (%)	调查株数 Investigated plants	地点 Location	时间 Year
F_1	70.9	6.1	19.7	8.6	11.4	31.0	10	三亚	1988-1989
F_2	92.4	5.5	27.5	7.4	6.2	40.0	30	北京	1989
F_3	70.3	5.1	21.1	6.7	11.2	7.4	30	三亚	1989-1990
F_4	78.1	4.1	21.7	5.6	6.1	36.7	100	北京	1990

表 4 84-15/密阳 23 二个杂种 F_2 固定杂种显著性测验的比较 (1989 – 1990 年)

Table 4 Significant test comparision of F_2 fixed hybrid between 84-15 and Miyang 23 (1989 – 1990)

株高 (cm) Plant height	<i>C. V</i> (%)	显著性		穗长 (cm) Panicle length	<i>C. V</i> (%)	显著性		有效穗数 Effective panicles	调查株数 Investigated plants
		Significance				Significance			
		5%	1%			5%	1%		
(1)70.3	5.1	a	A	21.1	7.7	a	A	11.2	23
(2)71.9	7.8	a	A	21.6	7.9	a	A	3.3	28

以上试验说明,杂种 $F_1 \sim F_4$ 株高 $C. V$ 为 4.1% ~ 6.1%,穗长 $C. V$ 为 5.6% ~ 8.6%,因为数值较小所以农艺性状是整齐一致的,证明长野 80-001 的衍生系 84-15 具有固定杂种特性并含有固定杂种基因,符合 $F_1 = F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$ 模式。

2.2.2.2 粳稻 84-15/粳稻杂交 84-15/鄂宜 105 杂种 F_1 、 F_2 、 F_3 、 F_4 的农艺性状调查结果:株高

53.1 ~ 97.5cm、 $C. V$ 为 5.1% ~ 8.0%,穗长 12.1 ~ 17.5cm、 $C. V$ 为 5.8% ~ 7.1%,其株高和穗长 $C. V$ 数值较小,说明不同世代的杂种群体农艺性状是整齐一致的,符合 $F_1 = F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$ 模式(表 5)。由此说明长野 80-001 及其衍生系 84-15 具有固定杂种特性并含有固优基因。作者把保持群体农艺性状整齐一致并能代代遗传的现象称为固定杂种。

表 5 84-15/鄂宜 105 杂种 $F_1 \sim F_4$ 农艺性状稳定性的比较

Table 5 Stability comparision of agronomic traits of F_1 - F_4 hybrids between 84-15 and Eyi 105

世代 Genera- tions	株高 (cm) Plant height	$C. V$ (%)	穗长 (cm) Panicle length	$C. V$ (%)	有效 穗数 Effective panicle	$C. V$ (%)	穗总 粒数 Total grain number	$C. V$ (%)	穗实 粒数 Filled grain number	$C. V$ (%)	调查株数 Investigated plants	地点 Location	时间 Year
F_1	90.0	7.0	17.0	7.0	7.0	20.2	172.4	13.6	157.9	14.9	15	三亚	1988
F_2	93.2	8.0	17.9	7.1	6.7	36.3	171.3	19.5	152.9	19.9	30	北京	1989
F_3	53.1	5.1	12.1	6.9	6.7	20.5	67.8	18.2	58.8	11.7	37	三亚	1989-1990
F_4	97.5	6.9	17.5	5.8	6.7	41.1	180.2	17.5	174.5	17.6	100	北京	1990

2.2.2.3 90-3027 × 紫稻杂交 杂种 F_2 株高变异系数在 2.90% ~ 7.09%,穗长变异系数为 3.87% ~ 6.06%,由于株高和穗长变异系数较小,因此 F_2 和

F_4 植株群体是整齐一致的(表 6),说明高秆株型、矮秆株型、叶色深柱头外露型、迟熟型的农艺性状已经固定,表达模是 $F_1 \cong F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$ 模式。

表 6 90-3027/紫稻不同世代固定杂种的比较(2011 年)

Table 6 Comparison of fixed hybrids between different generation of 90-3027 and Zidao(2011)

类型 Type	世代 Generation	株高 (cm) Plant height	C. V(%)	穗长 (cm) Panicle length	C. V(%)	调查株数 Investigated plant	备注 Remarks
高秆丰产型 High stalked high yield	F ₂	118. 4	2. 90	28. 3	3. 87	62	2010,通城
	F ₃	99. 05	3. 00	20. 1	4. 99	39	2011, 三亚
	F ₄	134. 33	2. 58	26. 5	4. 15	35	2011,通城
矮秆丰产型 Short-stalked high yield	F ₂	100. 70	4. 11	28. 7	5. 75	32	2010,通城
	F ₃	87. 28	4. 31	21. 70	4. 80	40	2011, 三亚
	F ₄	111. 22	2. 60	27. 85	4. 38	35	2011,通城
叶色深柱头外露型 Green leaves pistil reveal	F ₂	97. 2	7. 09	25. 3	6. 06	33	2010,通城
	F ₃	76. 40	4. 67	21. 98	6. 05	40	2011, 三亚
	F ₄	96. 94	2. 63	22. 91	2. 63	35	2011,通城
迟熟型 Late-maturity	F ₂	131. 6	4. 31	39. 6	5. 32	35	2010,通城
	F ₃	101. 60	3. 02	26. 08	3. 06	40	2011, 三亚
	F ₄	129. 38	1. 71	31. 52	4. 82	35	2011,通城

2.2.2.4 日本晴/矮秆紫稻与 90-3027/紫稻的比较 用常规稻日本晴、隐性(叶、茎为绿色,种皮为黄皮)与紫稻、显性(叶、茎呈紫色,柱头外露,种皮为浅红色)杂交,F₁叶呈浅红色,茎秆为紫色,种皮为浅紫色,可称半显性。F₂植株疯狂分离株高 78 ~ 142cm,平均株高 112. 23cm,变异系数较大为 16. 92%,穗长 13 ~ 28cm,平均 22. 69cm,变异系数大为 13. 03%,其中有 3 株为紫稻(显性株),这种分离属于孟德尔氏遗传。其主要特点是每个单株都是不相同,属于个体分

离并出现显性个体。用籼稻 90-3027 隐性(叶和茎呈绿色,种皮为黄色)与紫稻杂交,杂种 F₁呈隐性,F₂分离 4 个隐性类型:株高 111. 97cm,变异系数 4. 60%,穗长 30. 47cm,变异系数 5. 25%,没有出现显性株。这样,孟德尔氏分离株高变异系数比固优稻分离变异系数大 12. 32%,穗长变异系数大 7. 78%(表 7)。由此,孟德尔氏遗传分离是个体分离,通常 F₇ ~ F₈才能纯合遗传稳定;固优稻 F₂、F₃遗传分离为群体分离和固定杂种^[20]。

表 7 孟德尔遗传分离与固优稻遗传分离变异系数差异(2011 年)

Table 7 Genetic variation coefficient difference between Mendel and fixed heterosis rice segregation(2011)

类型 Type	世代 Generation	株高 (cm) Plant height	C. V(%)	穗长 (cm) Panicle length	C. V(%)	调查株数 Investigated plant
孟德尔分离 Mendel's segregation (日本晴/矮紫)	F ₂	112. 23	16. 92	22. 69	13. 03	40
固优稻分离 Fixed heterosis rice segregation (3027/矮紫 4 个类型平均值)	F ₂	111. 97	4. 60	30. 47	5. 25	162
差数 Differ from		0. 26	12. 32	- 8. 39	7. 78	

通过上述各种遗传试验证明长野 80-001 及其衍生系含有固优基因,这样笔者把群体分离和固定杂种称为植物无性生殖遗传规律,其表达模式是:F₁ = F₂ = F₃ = F_n或 F₁⊆F₂ = F₃ = F_n^[21]。

2.3 3027 × 矮紫 F₂ 分子标记调查

3027 × 矮紫 F₂ SSR 标记结果见表 8,调查 1659 株叶片其中迟熟型出现 2M 新基因位点占总数的

0. 5%,矮秆丰产型出现 1N 新基因位点占总数的 0. 25%,高秆丰产型出现 11M 新基因位点占总数的 2. 75%,叶色深柱头外露型出现新基因位点 18D 占总数的 4. 5%,出现新基因位点 7C 占总数 1. 75%,出现新基因位点 17N 占总数的 4. 23%。这些出现新基因位点均小于统计学上 1% ~ 5% 概率值。由此证明杂种 F₂ 四个群体农艺性状之间差异是不相

同的,但每个群体农艺性状是整齐一致的。这一结果与农艺性状调查结果是相同的。由于迟熟型、矮秆丰产型、高秆丰产型属于偏父型,而叶色深柱头外露型属于偏母型,所以杂种优势是没有丢失的。固定杂种的原因是在不同染色体上相同基因位点是纯合的,不同基因位点是杂合的简称纯合固杂。

表 8 3027 × 矮紫 F₂ 不同染色体上 SSR 标记 (2013 年)

Table 8 SSR marker on the different chromosomes of 3027 × Aizi F₂ (2013)

项目 Item 引物	矮紫 Aizi	3027 3027	迟熟型株数 No. of late ripe type	矮秆丰产型 株数 No. of dwarf and high-yield type	高秆丰产型 株数 No. of high stalk and yield type	叶色深柱头外露 型株数 No. of deep leaf color and exposed stigma type	调查株数 Investigated number
1	A	B	20B	20A	20A	19A	79
2	A	B	18B2M	20B	19B1M	19B	79
3	A	B	20A	20A	19A1M	3B9D7N	79
4	A	B	20A	20A	20A	19B	79
5	A	B	20B	20A	20B	19B	79
6	A	B	20A	20A	19A1M	19A	79
7	A	B	20A	20A	19A1M	3A7C9N	79
8	A	B	20A	20A	20B	19B	79
9	A	B	20A	20B	19A1M	19B	79
10	A	B	20B	20A	19A1M	9B9D1N	79
11	A	B	20A	20B	19A1M	19B	79
12	A	B	20A	20A	19A1M	19A	79
13	A	B	20A	20A	19A1M	19A	79
14	A	B	20B	19A1M	19B1M	19B	79
15	A	B	20A	20A	19B1M	19A	79
16	A	B	20B	20B	20A	19B	79
17	A	B	20A	20A	20A	19B	79
18	A	B	20A	20A	20A	19B	79
19	A	B	20A	20A	20A	19B	79
20	A	B	20A	20B	20B	19B	79
21	A	B	20A	20A	20A	19A	79
总基因位点数 Total number of gene loci	21	21	300A118B2M	319A100B1M	292A117B11M	117A240B18D7C17N	1659
新基因位点占 总基因位点的 比例(%) Proportion of new genetic loci ac- count for total genetic loci			0.5	0.25	2.75	4.5 1.75 4.23	

该资料来自黎志康教授的研究生章绿标同志

The data was provided by lvbiao zhang that was the graduate student of professor zhikang li

2.4 84-15 细胞胚胎学研究

细胞学表现:84-15 有卵器,2 个极核和反足细胞(图 6、图 7)。长野 80-001 有 2 对随体染色体搭在 1 个核仁上(图 1),80-6195 有 1 对随体染色体搭在 1 个核仁上(图 2),84-15 有 3 条随体染色体搭在 1 个核仁上(图 3)。从长野 80-001、80-6195、84-15 的随体染色体数目的差异,证明了 84-15 是一个真的野栽杂种。水稻是双受精植物,其种子主要有胚乳和胚组成。84-15 的胚乳细胞染色体数目 2n = 24,证明 2 个极核没有一个精核融合而自主发育成胚乳

称为“二融合”(图 4),是无融合生殖胚乳。胚来自珠心胚(不定胚)和单倍体自然加倍二倍体孤雌生殖胚。1991 年,中国农科院作物科学研究所蒋婉如教授用组织培养方法研究出 84-15 愈伤组织分化的稻苗根尖染色体数目 2n = 24,进一步证明了 84-15 胚乳是无融合生殖胚乳。80-6195 胚乳细胞染色体数目 3n = 36,证明 2 个极核与另外 1 个精核融合称为“三融合”(图 5)^[18,22]。

胚胎学表现:梗稻 84-15 无融合生殖胚来自两个方面:一是 84-15 开花 1d 后胚囊呈现珠孔端存

在单倍体卵细胞自然加倍成纯合二倍体孤雌生殖胚(图 8-图 10),2 个极核自主发育成胚乳;二是 84-15 开花 4 ~ 5d 胚囊壁和珠心组织交界处珠心细胞十分活跃以有丝分裂方式繁殖体细胞,穿至

胚囊形成珠心胚生殖或不定胚生殖(图 11-图 15),2 个极核自主发育成胚乳^[23]。这两种生殖方式的基因型和表现型是完全相同的。因此,称为固定杂种优势^[24]。

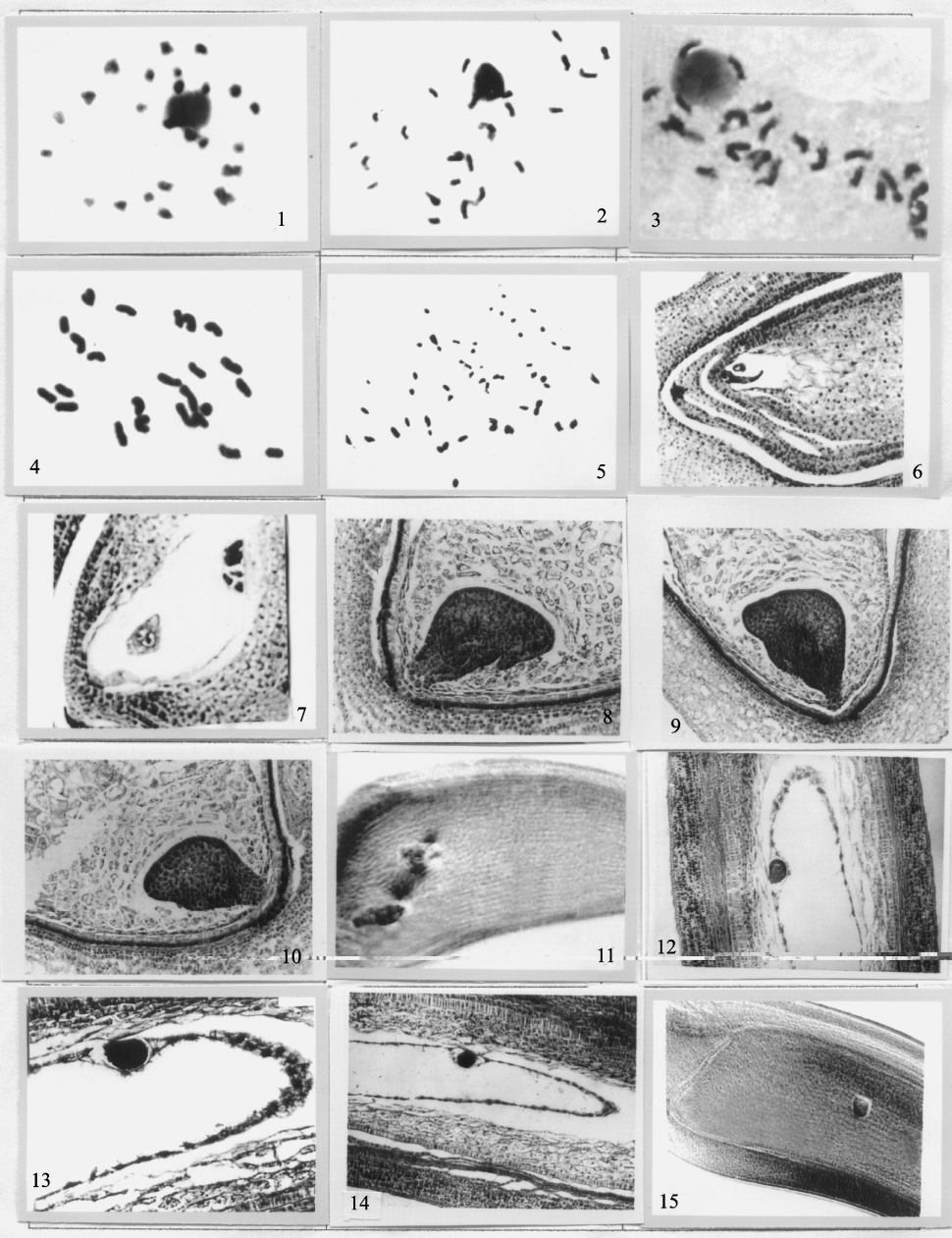


图 1 长野 80-001 根尖染色体形态;图 2 栽培稻 80-6195 根尖染色体形态;图 3 粳尖 84-15 根稻染色体形态;
图 4 粳稻 84-15 胚乳细胞染色体形态(2n=24);图 5 栽培稻 80-6195 胚乳细胞染色体形态(3n=36);
图 6 粳稻 84-15 卵器;图 7 粳稻 84-15 极核和反足细胞;图 8-10 粳稻 84-15 的二倍体孤雌生殖过程;
图 11-15 粳稻 84-15 的珠心胚

Fig. 1 Root tip sat-chromosomes of *O. longistaminata* 80-001 Fig. 2 Root tip sat-chromosomes of *O. sativa* 80-6195
Fig. 3 Root tip sat- chromosomes of *japonica* rice 84-15 Fig. 4 Endosperm chromosomes of *japonica* rice 84-15(2n=24)
Fig. 5 Endosperm chromosome of *O. sativa* 80-6195(3n=36) Fig. 6 Egg apparatus of *japonica* rice 84-15
Fig. 7 Central cell and antipodel cell of *japonica* rice 84-15 Fig. 8-10 Haploid double parthenogenesis of *japonica* rice 84-15
Fig. 11-15 Nuceller proembyo of *japonica* rice 84-15

3 讨论

远缘杂交杂种后代是非常难以稳定的,如高粱与水稻杂交种 F₃₀ 还有分离,小麦与黑麦杂交种 F₂₅ 还有分离,普通野生稻与栽培稻杂交种 F₁₅ 还有分离,籼稻与粳稻杂交种 F₁₀ 还有分离,但是笔者研究的远缘杂交如长野 80-001 与栽培稻和籼稻与粳稻杂交均能在杂种 F₂ 遗传稳定。北京市农科院和天津市农学院也发现了杂种水稻“齐二代”现象。中国农科院作物所也发现了杂种小麦“齐二代”等。对于这些奇怪的遗传现象,科学家要研究它,利

用它。

3.1 遗传学分析 植物无性生殖遗传规律包括群体分离和固定杂种,用纯合 80-6195 和杂合 84-15 均与显性标记性状黑谷杂交,观察 F₁→F₃ 遗传表现,以进一步说明 2 个遗传材料之间的区别(表 9)。84-15/黑谷 F₂、F₃ 均为黄谷,株高 C. V 为 4.6%,穗长 C. V 为 3.5%~4.3%;而 80-6195/黑谷 F₂、F₃ 均为黄谷+黑谷,株高 C. V 为 15.2%~18.6%,穗长 C. V 为 11.2%~12.5%,说明 84-15 有固优基因,80-6195 没有固优基因。

表 9 84-15 杂种和常规稻杂种差异显著性比较(1990 年)

Table 9 Significant difference comparision of hybrids between 84-15 and conventional rice(1990)

组合		84-15/黑谷	84-15/黑谷	80-6195/黑谷	80-6195/黑谷
Combinations		84-15/Heigu	84-15/Heigu	80-6195/Heigu	80-6195/Heigu
世代		F ₂ 黄谷	F ₃ 黄谷	F ₂ 黄谷+黑谷	F ₃ 黄谷+黑谷
Generation					
株高 (cm)		78.2	78.0	108.2	98.1
Plant height					
C. V(%)		4.6	4.6	18.6	15.2
t 测验	5%	a	a	a	b
T-test	1%	A	A	A	B
穗长		19.9	20.7	23.9	21.6
Panicle length					
C. V(%)		3.5	4.3	12.5	11.2
t 测验	5%	a	a	a	b
T-test	1%	A	A	A	B
调查株数		14	11	100	50
Investigated plants					

杂种 F₁ 的区别是 80-6195 × 黑谷呈显性,84-15 × 黑谷呈隐性。杂种 F₂ 的区别是 80-6195/黑谷性状分离较大,有黄谷株、黑谷株、麻谷株;84-15 × 黑谷 F₂ 有 2 个黄谷群体即高秆株和矮秆株。80-6195/黑谷 F₃~F₈ 是个体分离连续多代选择的黄谷单株纯合农艺性状整齐一致。符合孟德尔氏 F₂ 两对基因分离定律 9:3:3:1 模式,84-15 × 黑谷 F₂ 是由 2 对隐性基因控制的分离是 2:2:1:1 模式。这说明粳稻 84-15 的雌雄性配子有明显的选择性阻碍有性生殖基因的分离和重组^[7]。

3.2 细胞胚胎学分析 84-15 是合子胚有性生殖还是无融合生殖,这个问题必须从胚的发育过程研究。首先,84-15 减数分裂,小孢子和大孢子发育是

基本正常的,胚囊里卵细胞、极细胞、反足细胞是单倍体。开花 1d 后如果珠孔端进行合子胚生殖;这说明 84-15 是有性生殖,有性生殖的杂种后代是要分离的,这种分离是单株分离即每一个单株都是不相同的。这与 84-15 的群体分离和固定杂种是不相同的。也就是说不能用合子胚有性生殖方式解释 84-15 的生殖现象。只能用单倍体卵细胞自然加倍成二倍体孤雌生殖(图 8 – 图 10)来解释群体分离和固定杂种现象。另一方面,开花 4~5d 胚囊壁和珠心组织交界处珠心细胞十分活跃以有丝分裂方式繁殖体细胞(图 11 – 图 15)。它们的染色体数目是 2n=24。因此 84-15 也存在珠心胚无融合生殖。分子标记实验结果也证明 3027 能固定 F₂ 杂种。这样,

84-15 和 3027 的群体分离和固定杂种就迎刃而解了。因为在开花前存在单倍体卵细胞孤雌生殖,开花后单倍体卵细胞有丝分裂自然加倍成二倍体孤雌生殖和珠心胚(不定胚生殖)其基因型是杂合的,所以,能固定杂种优势。因为 84-15 开花前曾经是有性生殖,在人工强制授粉能够得到杂交种子;开花后期在自然条件下进行无融合生殖,所以,84-15 是二倍体兼性无融合生殖。如前所述,84-15 的胚乳是无融合生殖,胚是单倍体卵细胞自然加倍成二倍体孤雌生殖和珠心胚(不定胚生殖)无融合生殖,因此,84-15 的种子是无性种子生殖。

4 结论

(1)西非长雄蕊野生稻 80-001 是根茎繁殖,具有大花药、长柱头、花粉粒小、形状均匀,但自交不亲和、不结种子,是一个无性生殖植物,人工强制授粉能够得到杂交种子,其后代遗传表现不符合孟德尔遗传规律。

(2)西非长雄蕊野生稻 80-001 及其衍生系是单倍体自然加倍成二倍体孤雌生殖和珠心胚生殖的兼性无融合生殖,有阻碍有性生殖基因分离和重组现象,因此 2 对隐性基因控制的杂种 F_2 分离为 2:2:1:1,而不是孟德尔氏杂种 F_2 2 对基因分离律 9:3:3:1。

(3)西非长雄蕊野生稻 80-001 及其衍生系杂种 F_2 是群体分离和固定杂种,已被分子标记实验结果所证实,这与孟德尔氏杂种 F_2 个体分离,纯合稳定是截然不同的。

(4)群体分离和固定杂种是一个植物无性生殖遗传规律;其统计学表达模式是 $F_1 = F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$ 或 $F_1 \cong F_2 = F_3 \cdots \cdots = F_n$ 。此遗传规律的发现填补了植物无性生殖遗传的空白。

(5)群体分离和固定杂种指导的植物育种能固定种间、亚种间、品种间的杂种优势,节约育种时间、人力、物力 2/3 以上,是一个植物快速育种技术路线。杂种 F_2 选育的粳稻中新一号和籼稻杂交稻一号,通过北京市和海南省审定已大面积推广应用。

参考文献

[1] Rutger J N. Needed applications of biotechnology in rice genetics and breeding[J]. World Biotech Rep, 1986

[2] Asker S. Gametophytic apomixes; element and genetic regulation [J]. Hereditas,1980,93:277-293

[3] Khokhlov S S. Evolutionary-genetic problems of apomixis in angio-

sperms[J]. Apomixis Breeding,1970:9-11

[4] 赵世绪. 作物生殖生物学 [M]. 北京:北京农业大学出版社, 1987:283-284

[5] Dujardin M, Hanna W. Cytology and reproduction of reciprocal backcrosses between pearl millet and sexual and apomictic hybrids of pearl millet $\times$ *Pennisetum squamulatum* [J]. Crop Sci, 1985,25:59-62

[6] Burtom G W. *Bahiagrass* germplasm reproductive characterization, and breeding at the tetraploid level [J]. Crop Sci, 1986, 26:1254-1256

[7] Hayes H K. 植物育种学 [M]. 北京:农业出版社,1960:73-77

[8] Murty U R, Kirti P B, Bharathi M, et al. The nature of apomixis and its utilization in the production of hybrids(“hybrid”) in *Sorghum bicolor* (L.) Moench [J]. J Plant Breeding, 1984, 92: 361-372

[9] Chen J S, Jia Q S, Yin L, et al. Study on fixing heterosis in hybrid rice [C]//Collection of papers on breeding of apomictic rice. Beijing:China Science and Technology Press,1992:69-82

[10] Bashew E C. Challenges to apomictic breeding of warm season grasses [C]//Proceedings of 14th International on Symposium Grassland, 1958:209-210

[11] Seviden Y H. Genetic of apomixes and its utilization in the improvement of panceam maximum Jacq [C]//Proceedings of 14th International Symposium on Grassland,1985

[12] 陈建三,尹林,曹婉君,等. 非洲长雄蕊野生稻的遗传特性及其固定杂种优势研究探讨[J]. 中国农业科学,1995,28(5): 22-28

[13] Asker S. Gametophytic apomixes; element and genetic regulation [J]. Hereditas,1980,93:277-293

[14] Chen J S. Fixing heterosis breeding of *O. longistaminata* in rice [C]//An international conference to address a topic of far-reaching significance Harnessin Apomixis A new frontier in plant Science, 1995

[15] Chen J S. Studies progress on genetic & breeding new path of fixing heterosis in rice [C]//Beijing:Eighteenth International Congress of Genetics, 1998

[16] Nayar N M. Origin and cytogenetics of rice [J]. Adv Genet, 1973,17:153-292

[17] Chen J S, Yin L, Cao W J. The pedigree and genetic performance of apomictic rice 84-15 [C]//Collection of papers on breeding of apomictic rice. Beijing: China Science and Technology Press, 1992:42-50

[18] 陈建三. 水稻无融合生殖育种论文集 [M]. 北京:中国科学技术出版社,1992

[19] Chen J S, Yin L, Cao W J. A study on the apomixis in rice [C]//Collection of papers on breeding of apomictic rice. Beijing:China Science and Technology Press,1992:1-9

[20] Hanna W W, Bashaw E C. Apomixis; its identification and use in plant breeding [J]. Crop Sci,1987, 27:1136-1139

[21] 陈建三,李昌发,李科祥,等. 固定第二代水稻杂种优势的研究 [J]. 中国农业科学,1992,25(2):90-92

[22] 陈建三,赵世绪. 水稻 84-15 细胞胚胎学的研究 [J]. 植物学通报,1999,16(3):284-287

[23] Chen J S. Study of the sporophytic apomixes in rice 84-15 [C]//Collection of papers on breeding of apomictic rice. Beijing:China Science and Technology Press,1992:64-68

[24] 杨瑶君,汪旭东,吴先军,等. 一种新型水稻的研究进展(综述) [J]. 作物学报,2003,29(5):719-724

[25] Chen J S. Discovery of the genetic law fixing heterosis [C]//Wernigerode:3rd International Apomixis Conference, 2007

[26] Chen J S. New progress on faculties apomictic rice breeding [C]//Italy:2nd International Apomixis Conference, 2001