

粳稻台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系和它们的 F_1 花药培养特性

姚 焱, 卢永根, 刘向东, 冯九焕, 张桂权

(华南农业大学 植物分子育种研究中心, 广东 广州 510642)

摘要:利用粳稻台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系和它们的 F_1 作研究材料,对这些遗传背景基本相同但具有不同 F_1 花粉不育基因座位材料进行花粉愈伤组织诱导率及花药开裂性的研究. 结果为:亲本与杂种在离体条件下的花粉愈伤组织诱导率无显著差异,杂种 F_1 花粉部分败育并未导致花粉愈伤组织诱导率下降,表明 F_1 花粉不育基因与花粉愈伤组织诱导能力性状无直接联系;但亲本与杂种间的花药裂药性却存在显著差异,并随着花粉败育率的提高花药开裂率下降,表明 F_1 花粉不育基因与花药开裂性状有关.

关键词:水稻 *Oryza sativa*; F_1 花粉不育基因; 花药培养; 花粉愈伤组织; 裂药性

中图分类号:S330

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2004)01-0001-04

Anther culture characteristics of *japonica* rice Taichung 65 and its pollen sterile near-isogenic lines as well as their F_1

YAO Yan, LU Yong-gen, LIU Xiang-dong, FENG Jiu-huan, ZHANG Gui-quan

(Plant Molecular Breeding Research Center, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: *Japonica* rice Taichung 65 and its pollen sterile near-isogenic lines were used to study the function of specific-compatibility gene *in vitro* in order to further perfect the academic viewpoint. By the studies, the main results were as follows: During the anther culture, there were no obvious differences in the pollen callus induction ability between the recurrent parent and their F_1 . It meant that the pollen sterility genes which lead to the pollen abortion *in vivo* might not lead to the decrease of the pollen callus induction ability *in vitro*. But there was a distinct difference in anther dehiscence between the recurrent parent and their F_1 . The lower the pollen fertility was, the worse anther dehiscence was. The character of anther dehiscence might connect with the pollen abortion.

Key words: rice (*Oryza sativa*); F_1 pollen sterility gene; anther culture; pollen callus; anther dehiscence

栽培稻 *Oryza sativa* 籼粳亚种间杂种一代具有显著的生物学优势,但普遍存在不育性,影响了杂种优势的利用. 张桂权和卢永根^[1-3]利用台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系对栽培稻杂种不育的遗传学基础进行研究,提出了“特异亲和基因”的新学术观点,

认为栽培稻杂种不育性主要表现为花粉不育,至少由 *S-a*、*S-b*、*S-c*、*S-d*、*S-e* 和 *S-f* 等 6 个 F_1 花粉不育基因座位控制. 在这些基因座位上,籼稻基因型多为 S^iS^i ,粳稻基因型多为 S^jS^j ,亲本台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系为纯合基因型,花粉表现正常可育,

收稿日期:2003-09-18

作者简介:姚 焱(1972-),女,讲师,博士,现在广州大学生物与化学工程学院任教. 通讯

作者:卢永根(1930-),男,教授, E-mail: yglu@scau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(39970048);广东省自然科学基金(990707);霍英东教育基金(71021)

杂种 F_1 为杂合型(S^iS^j),花粉表现部分败育,且不同杂合 F_1 花粉不育基因座位的花粉败育类型及程度不同.同时由于 F_1 花粉不育基因座位的差异,还造成亲本与杂种材料的花药开裂性的差异,表现为育性越低,花药开裂性越差^[4].为进一步丰富“特异亲和基因”的新学术观点,本文对梗稻台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系和它们的 F_1 进行花药培养,以明确 F_1 花粉不育基因与离体培养条件下的花粉愈伤组织诱导特性及花药裂药性是否存在相关性.

1 材料与方法

1.1 供试材料

梗稻台中 65(简称 T65,在 F_1 花粉不育基因座位 $S-a$ 、 $S-b$ 和 $S-c$ 上均携带 S^iS^j),与其 F_1 花粉不育近等基因系 TISL2(简称 E_2 ,在 $S-b$ 座位上携带 S^iS^i)、TISL4(简称 E_4 ,在 $S-a$ 座位上携带 S^iS^i)、TISL5(简称 E_5 ,在 $S-c$ 座位上携带 S^iS^i)和 TISL245(简称 E_{245} ,在 $S-a$ 、 $S-b$ 和 $S-c$ 上均携带 S^iS^i)杂交,杂种 F_1 分别表示为:T65 $\times$ TISL4(简称 E_{14} ,在 $S-a$ 座位携带

杂合 S^iS^j),花粉败育率 47.9%;T65 $\times$ TISL2(简称 E_{12} ,在 $S-b$ 座位携带杂合 S^iS^j),花粉败育率 76.9%;T65 $\times$ TISL5(简称 E_{15} ,在 $S-c$ 座位携带杂合 S^iS^j),花粉败育率 54.6%;T65 $\times$ TISL245(简称 E_{1245} , $S-a$ 、 $S-b$ 和 $S-c$ 座位均携带杂合 S^iS^j),花粉败育率 94.7%^[4].如表 1 所示.台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系和它们的 F_1 于 2001 年种植在华南农业大学教学实验农场,常规方法管理.

1.2 方法

1.2.1 花药培养 依据穗的外部特征和镜检核对,在晴天露水干后采取单核小孢子晚期稻穗,取花药直接接种培养,每种材料每次接种花药 3 000 枚左右.培养基为 $N_6 + 2,4-D 2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{NAA } 3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{KT } 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{麦芽糖}(w)5\% + \text{水解乳蛋白 } 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $26\sim 28\text{ }^\circ\text{C}$ 下暗培养,诱导产生花粉愈伤组织.接种第 7 d 统计花药开裂率(经观察,自然条件下单核晚期花粉发育至花药开裂,时间为 1 周左右).培养第 30 d 统计花粉愈伤组织的出愈率.

表 1 台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系和它们的 F_1 的花粉育性及花粉不育基因座位的基因型

Tab. 1 Pollen fertility and genotype of pollen sterility gene loci of Taichung 65 and its pollen sterile near-isogenic lines as well as their F_1

材料 materials	代号 code	花粉不育基因座位的基因型 genotype of pollen sterility locus			S^i/S^i 纯合基因	S^i/S^j 杂合基因	败育花粉率
		$S-a$	$S-b$	$S-c$	座位 homozygous	座位 heterozygous	abortive
					S^i/S^i locus	S^i/S^j locus	pollen rate / %
T65	E_1	S^j/S^j	S^j/S^j	S^j/S^j			4.2
TISL4	E_4	S^i/S^i	S^j/S^j	S^j/S^j	$S-a$		
TISL2	E_2	S^j/S^j	S^i/S^i	S^j/S^j	$S-b$		
TISL5	E_5	S^j/S^j	S^j/S^j	S^i/S^i	$S-c$		
TISL245	E_{245}	S^i/S^i	S^i/S^i	S^i/S^i	$S-a, S-b, S-c$		
T65 $\times$ TISL4	E_{14}	S^i/S^j	S^j/S^j	S^j/S^j		$S-a$	47.9
T65 $\times$ TISL2	E_{12}	S^j/S^j	S^i/S^j	S^j/S^j		$S-b$	76.9
T65 $\times$ TISL5	E_{15}	S^j/S^j	S^j/S^j	S^i/S^j		$S-c$	54.6
T65 $\times$ TISL245	E_{1245}	S^i/S^j	S^i/S^j	S^i/S^j		$S-a, S-b, S-c$	94.7

1.2.2 统计分析方法 统计数据经 $\sin^{-1}\sqrt{p}$ (p 为 0 时,采用 $\sin^{-1}\sqrt{p+1}$),转换后进行方差分析.多重比较采用新复极差测验.

2 结果与分析

分别在水稻种植的早季和晚季将台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系和它们的杂种 F_1 进行花药离体培养,统计材料间的花粉愈伤组织诱导率及花

药开裂率.结果如表 2.

材料间花粉愈伤组织诱导率方差分析的 F 值为 0.901($F_{0.05} = 3.230$),表明各材料间花粉愈伤组织诱导率无显著差异,但早季与晚季间方差分析的 F 值为 10.236($F_{0.01} = 8.530$),差异极显著;

材料间花药开裂率方差分析的 F 值为 17.476($F_{0.01} = 5.467$),差异极显著,早季晚季间方差分析的 F 值为 1.210($F_{0.05} = 4.494$),无显著差异.

表 2 台中 65 及其 F₁ 花粉不育近等基因系和它们的 F₁ 花粉愈伤组织诱导率、花药开裂率比较

Tab. 2 A comparison of pollen callus induction rate and anther dehiscence rate among Taichung 65 and its F₁ pollen sterile near-isogenic lines as well as their F₁

材料 materials	花粉愈伤组织诱导率		花药开裂率	
	pollen callus induction rate / %		anther dehiscence rate / %	
	早季 early season	晚季 late season	早季 early season	晚季 late season
E ₁	0.31	6.69	26.7	28.5
E ₄	0.36	5.99	15.3	26.8
E ₂	4.89	7.50	20.1	30.8
E ₅	0.80	4.46	21.4	25.1
E ₂₄₅	0.43	3.29	21.1	20.1
E ₁₄	1.19	1.65	13.6	9.8
E ₁₂	2.48	4.83	3.9	1.6
E ₁₅	0.67	4.76	8.8	15.7
E ₁₂₄₅	0.12	0.45	0.0	0.6

材料间花药开裂率的多重比较结果见表 3。表 3 表明,亲本与杂种间花药开裂率呈现极显著或显著差异。杂种花药开裂率均低于亲本,且花药开裂率的下降幅度与杂种 F₁ 的花粉不育基因座位有关:E₁₂是 S-b 座位 Sⁱ/S^j 互作,花药开裂率极显著低于亲本 E₁、E₂,还显著低于 S-a、S-c 座位内互作材料 E₁₄和 E₁₅; E₁₅是 S-c 座位 Sⁱ/S^j 互作,花药开裂率显著低于亲本

E₁、E₅,与 S-a 座位内互作材料 E₁₄差异不显著;E₁₄是 S-a 座位 Sⁱ/S^j 互作,花药开裂率下降程度介于 S-b 座位材料 E₁₂与 S-c 座位材料 E₁₅之间,显著低于亲本 E₁;当 S-a、S-b 和 S-c 座位均为 Sⁱ/S^j 杂合状态时(即 E₁₂₄₅),花药开裂率下降到最低点。比较各材料的花药开裂率,由高至低可表示为:E₁ = E₂ = E₄ = E₅ = E₂₄₅ > E₁₄ ≈ E₁₅ > E₁₂ > E₁₂₄₅。

表 3 台中 65 及其 F₁ 花粉不育近等基因系和它们的 F₁ 的花药开裂率的多重比较¹⁾

Tab. 3 Multiple comparisons based on the anther dehiscence rate of Taichung 65 and its F₁ pollen sterile near-isogenic lines as well as their F₁

材料 materials	Ei-E ₂	Ei-E ₄	Ei-E ₅	Ei-E ₂₄₅	Ei-E ₁₂	Ei-E ₁₄	Ei-E ₁₅	Ei-E ₁₂₄₅
E ₁	1.51	4.58	2.87	4.65	22.36**	11.75**	11.39**	29.45**
E ₂		3.07	1.36	3.14	20.85**	10.24*	9.88*	27.94**
E ₄			1.71	0.07	17.78**	7.17	6.81	24.87**
E ₅				1.78	19.49**	8.88*	8.52*	26.58**
E ₂₄₅					17.71**	7.09	6.74	24.79**
E ₁₂						10.61*	10.97*	7.09
E ₁₄							0.36	17.72**
E ₁₅								18.06**
E ₁₂₄₅								

1) n = 2, LSD_{0.05} = 7.731, LSD_{0.01} = 11.106 (t_{0.05} = 2.262, t_{0.01} = 3.249)

3 讨论

3.1 F₁ 花粉不育基因与花粉愈伤组织诱导率及花药裂药性的关系

台中 65 及其 F₁ 花粉不育近等基因系和它们的 F₁ 之间遗传背景基本相同,仅存在 F₁ 花粉不育基因座位的差异,因此材料间在性状表现的差异可以追

溯至 F₁ 花粉不育基因座位的根源。

在自然条件下,杂合 F₁ 花粉不育基因互作造成了 F₁ 花粉不同程度的败育;但离体培养条件下,台中 65 及其 F₁ 花粉不育近等基因系和它们的 F₁ 之间,花粉愈伤组织诱导率却无显著差异。这表明了 F₁ 花粉不育基因虽然决定了花粉的育性,但与离体培养下的花粉诱导能力无直接关系;

在自然条件下,杂合 F_1 花粉不育基因互作引起了不同材料间花药裂药性的差异^[4];在离体培养条件下,各材料的花药裂药性表现与自然条件下基本一致,且早、晚季表现无差异. 这表明 F_1 花粉不育基因决定了花药开裂性状,且此性状表现不易受培养环境等外在因素的影响.

分析花粉愈伤组织诱导率及花药裂药性2种性状与 F_1 花粉不育基因的关系,可以认为, F_1 花粉不育基因与花药裂药性性状有关,可能与花粉愈伤组织诱导性状无关.

3.2 花粉育性与花粉诱导能力的关系

台中 65 及其 F_1 花粉不育近等基因系和它们的 F_1 之间,花粉愈伤组织诱导率虽无差异,但早季与晚季间却存在显著差异,表现为晚季显著高于早季. Herberle-Bors^[5]认为低温、短日照和营养缺乏等环境因素会有助于花粉孢子体途径的发育. 水稻种植晚季由于光周期渐缩短、生长条件较早期差,形成较多发育异常的花粉,而这些异常花粉反而较易脱分化形成花粉愈伤组织,造成诱导率高于早季的现象.

异常花粉增多,导致花粉育性下降,但花粉愈伤诱导能力并未下降的现象,有诸多类似报道:番茄花粉不育突变体^[6]和光敏雄性不育水稻^[7]等花药培养研究中发现,不育材料的花培诱导能力不一定显著低于可育材料. 在小麦的细胞质雄性不育系与其等基因雄性可育系花药培养时发现,不育系的花培能力明显高于可育系^[8];大麦、马铃薯中出现低育性花粉具有高胚胎发生能力的现象^[5]. 这些均说明育性不是衡量花粉诱导能力的指标. Herberle-Bor^[9]认为花粉脱分化能力高低的关键因素是由花药中的部分异常花粉——胚性花粉(P-花粉)的数量决定,其数量会影响花粉的育性及花粉脱分化能力,而 P-花粉

的形成与遗传因素及环境因素均有关. 因此会出现相同材料在不同种植条件和培养条件下的培养差异现象.

参考文献:

- [1] 张桂权, 卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究:(I)等基因 F_1 不育系杂种不育性的双列杂交分析[J]. 中国水稻科学, 1989, 3: 97-101.
- [2] 张桂权, 卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究:(II) F_1 花粉不育性的基因模式[J]. 遗传学报, 1993, 20(3): 222-228.
- [3] 张桂权, 卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究:(IV) F_1 花粉不育性的基因型[J]. 遗传学报, 1994, 21(1): 34-41.
- [4] 张志胜. 栽培稻亚种间杂种不育性的细胞学研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2002.
- [5] HEBERLE-BORS E. Isolated pollen culture in tobacco: plant reproductive development in a nutshell[J]. Sex Plant Reprod, 1989, 2: 1-10.
- [6] ZAMIR D, JONES R A, KEDAR N. Anther culture of male-sterile tomato (*Lycopersicon esculentum* mill) mutants[J]. Plant Science Letter, 1980, 17: 353-361.
- [7] 凌定厚, 陈梅芳. 光敏感雄性不育水稻的体细胞与花药培养及再生植株性状表现研究[J]. 遗传学报, 1991, 18(3): 244-247.
- [8] PICARD E, HOURS C, GREGOIRE S, et al. Significant improvement of androgenetic haploid and doubled haploid induction from wheat plants treated with a chemical hybridization agent[J]. Theor Appl Genet, 1987, 74: 289-297.
- [9] HEBERLE-BORS E. *In vitro* pollen embryogenesis in *Nicotiana tabacum* L and its relation to pollen sterility, sex balance and floral induction of the pollen donor plants[J]. Planta, 1982, 156: 393-401.

【责任编辑 周志红】