

中国两系法杂交水稻研究进展和展望

牟同敏

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070

E-mail: tongminmou@126.com

2016-09-19 收稿, 2016-09-20 修回, 2016-09-20 接受, 2016-10-20 网络版发表

国家高技术研究发展计划(2014AA10A604)资助

摘要 基于水稻光温敏核不育系的发现而建立起来的两系法杂交水稻技术是继三系法杂交水稻成功以后又一个水稻杂种优势利用的有效途径。水稻光温敏核不育系的雄性育性转换是受到幼穗分化期环境光温调控的孢子体阴性核基因控制的。用于水稻杂种优势利用的有利条件是, 配组自由容易选配到强优势组合, 育种程序简化、育种周期缩短、可以快速育成新的杂交水稻新品种, 不育系类型丰富易于培育多样化的杂交水稻类型。本文对水稻光温敏核不育系的资源、育性转换特性、遗传、分子生物学研究进展, 以及不育系和组合培育、制种技术、推广等进行了综述, 并对进一步发展两系杂交水稻提出了展望, 以期为水稻光温敏核不育系和两系法杂交水稻的研究以及其他作物的两系法杂种优势利用提供参考。

关键词 水稻, 光温敏核不育系, 育性转换特性, 基因定位与克隆, 两系法杂交水稻, 组合选育, 制种技术

以湖北光敏核不育水稻农垦58S发现为起点而发展起来的两系法杂交水稻, 已经历了30多年的研究历史。从最初的形态观察、育性的光温反应特性、不育系转育、组合选育、生理生化特性、遗传分析和基因定位, 到近几年的基因克隆和分子机理研究等, 中国许多科学家都进行了深入的研究, 尤其是在新组合的选育、基因克隆和分子机理研究等方面处于国际领先水平。1996~2014年, 中国有900多个两系法杂交水稻品种通过审定, 累计推广面积5000万公顷, 目前年推广面积550万公顷左右, 占全国杂交水稻播种面积的35%左右, 已经成为水稻杂种优势利用的主要途径。两系法杂交水稻的发展为我国的粮食安全起到了关键性的作用。

1 水稻光、温敏核不育系种质资源的发现

光温敏核不育水稻的特点是雄性的育性表达受控于雄性器官发育过程中的温度高低和光照长度的

控制。因而, 在一定的光温(如长光、高温)条件下, 表现雄性不育、可以用于杂交制种、生产杂交稻种子; 当光温发生变化(如短光、低温), 表现雄性可育、可以自身繁殖种子。基于这种特性的发现, 提出了水稻两系法杂种优势利用的设想。

1.1 湖北光敏核不育水稻的发现

1970年11月, 袁隆平研究小组在海南岛崖县的野生稻中发现了花粉败育的雄性不育野生稻(简称野败), 使三系法杂交水稻育种取得重大突破^[1]。湖北省沔阳县(现仙桃市)沙湖原种场技术员石明松在袁隆平发现野败的启发下, 也在水稻生产田中寻找雄性不育材料。于1973年在一季晚粳稻品种农垦58的大田中, 根据自然不育株结实少、老来青、不低头的特点, 选择了三株自然不育株。1974年分株行单本移栽比较, 其中1个株行有48株, 没有形态变异、没有杂种优势、表现早熟整齐, 但表现为不育株(小花药)和

引用格式: 牟同敏. 中国两系法杂交水稻研究进展和展望. 科学通报, 2016, 61: 3761-3769

Mou T M. The research progress and prospects of two-line hybrid rice in China (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 3761-3769, doi: 10.1360/N972016-01045

可育株(大花药)两种类型,部分不育株有少量的结实现象,收获种子.1975~1979年每年选择小花药植株和大花药植株进行姊妹交,利用育性分离,保持不育株和可育株的同时存在.但是,年度之间不育株的比例和不育度表现出差异,主要是由于播种期不同造成的,迟播的不育株少、有少量结实,不育株割茬再生时、结实率更高.收获不育株上自交结实的种子,第二年种植时,表现出高度的不育.据此推测,这种材料的育性表现与播种期相关,分期播种实验结果表明,5月20日前播种,9月3日前抽穗的、均表现不育,不育株率98%以上、不育度100%;而6月10日以后播种或早播割茬再生的植株,在9月8~20日抽穗、结实率在70%以上.对30多个测配组合的优势鉴定表明,具有一定的杂种优势,用迟播或割茬再生收获的种子进行制种,纯度可以达到生产要求.总结以上的实验结果,石明松^[2]于1981年在《湖北农业科学》上发表了题为“晚粳自然两用系选育及应用初报”的论文,首次提出了用农垦58大田中发现的自然不育株,进行一系两用的水稻杂种优势途径.1982~1985年,湖北省农业科学院、华中农学院(华中农业大学的前身)和武汉大学的相关研究人员,对石明松发现的农垦58自然不育株进行了生理、生态、遗传和育种研究,结果表明光照长度是调控育性转换的主要因素、温度起辅助作用^[3~5].1985年10月,湖北省科学技术委员会(湖北科学技术厅的前身)、湖北省农业厅组织专家对农垦58不育材料进行了技术鉴定,正式命名为“湖北光敏感核不育水稻(Hubei Photoperiod-sensitive Genic Male Sterile Rice)”,并建议用于培育两系法杂交水稻.为了有别于三系杂交水稻的不育系A,袁隆平建议两系不育系用S表示,因而将农垦58不育材料定名为农垦58S^[6].

1.2 温敏核不育水稻的发现

受到石明松发现湖北光敏感核不育水稻的启发,湖南省安江农业学校邓华凤,1987年7月在3个籼稻材料的三交组合(超40B/H285//6209-3)F₅代群体中发现了1株天然的雄性不育株.该不育株在长日高温条件下表现雄性不育,在短日低温条件下表现雄性可育,于1988年7月27日通过技术鉴定,定名为安农S-1^[7].福建农学院杨仁崔1988年秋季在IR54的辐射突变早熟株5460的群体中发现了一株雄性育性有季节性转换特性的变异株,定名为5460S.以上两个材料,经

人工气候箱处理实验和不同生态条件下的育性转换特性研究,结果表明,温度高低是影响育性变化的主要因素,而光照长度的变化作用非常有限^[7,8].该研究还表明,用农垦58S作供体,通过籼粳杂交和回交选育的多数粳型不育系也表现出温度为主的育性转换特性.

2 水稻光、温敏核不育系的选育

2.1 水稻光、温敏核不育水稻的育性转换特性

元生朝等人^[5]以及朱英国和杨代常^[9]的研究表明,湖北光敏核不育水稻农垦58S的育性对光照长度的敏感期是在第二次枝梗原基及颖花原基分化期(幼穗分化Ⅲ期)、雌雄蕊形成期(幼穗分化Ⅳ期)和花粉母细胞形成期(幼穗分Ⅴ期).在日平均温度26~27℃的条件下,晚粳型品种农垦58S及其衍生系鄂宜105S的育性转换临界光长是13.75~14.00 h,有效光强是≥50 lx^[5,10].石明松^[2]首次报道时提出在长光高温条件下两用不育材料农垦58表现不育,以后的研究表明温度的高低直接影响农垦58S的育性转换和临界光长的变化.当日平均温度≤24℃时,在长光和短光条件下、农垦58S都表现可育、不表现育性的转换.当日平均温度在26~27℃时,育性转换的临界光长是13.75~14.00 h,即强于50 lx的光长<13.75 h时表现可育,强于50 lx的光长>14.00 h时表现不育.当日平均温度>30℃时,则不管光照长短、都表现雄性不育^[11].由此,出现了光温敏核不育(系)水稻的专用名词,并建立起光温敏核不育水稻育性转换的光温作用模式(图1).当温度高于生殖生长上限温度或低于生殖生长下限温度时,水稻不能正常形成花粉导致生理不育.当温度低于生殖生长上限温度而高于光温敏核不育系育性转换上限临界温度时,高温作用掩盖了光周期的作用,光温敏核不育水稻在任何光长下均表现为不育,而常规品种在这一温度范围可以正常开花结实.当温度低于光温敏核不育系育性转换下限温度而高于生殖生长下限温度时,较低温度可掩盖光周期的作用,光温敏核不育水稻在任何光长下均表现为可育.当温度处于光敏温度范围时,光温敏核不育水稻表现为长日光周期诱导花粉败育,短日光周期诱导花粉可育,光温敏核不育系表现部分可育,在光敏温度范围内光周期诱导花粉育性转换的作用与温度存在着互补效应,即温度升高,临界光长

可缩短;反之,温度降低,临界光长可延长^[11]。袁隆平^[12]认为,从选育实用不育系的角度出发,育性转换的临界温度比临界光长更重要,在选育不育系过程中,首先要选择育性转换的临界温度。不同水稻生态区对光温敏核不育系的育性转换下限温度要求不同,长江流域稻区,要求日平均温度23℃,而华南稻区要求平均温度24℃。目前两系法杂交水稻中,用于生产的光温敏核不育系类型是长光、高温不育,短光、低温可育。在自然界中也发现了短光、低温不育,长光、高温可育的类型,但是还没有应用于生产^[13]。

2.2 光、温敏核不育水稻育性转换特性的遗传和分子生物学

王斌等人^[14]对2000年以前的光温敏核不育水稻的遗传研究进行了比较全面的总结,认为国内发现的农垦58S, 安农S-1, 5460S, 衡农S-1和国外发现的PL-12, IR32364, TGMS-VN1等材料均属于隐性核基因控制的孢子体雄性核不育,是一种典型的基因与环境相互作用而产生的遗传现象,在雄性器官发育敏感期受到光、温等条件诱导后发生的育性转换会涉及到复杂的信号传导和生理生化过程。农垦58S的雄性核不育受控于7, 3和12号染色体上的 $pms1$, $pms2$ 和 $pms3$ 基因。安农S-1的雄性核不育受控于2号染色体的 $tms5$ 基因。5460S的雄性核不育受控于8号染色体的 $tms1$ 基因。日本的PL-12的雄性核不育受控于7号染

色体的 $tms2$ 基因。国际水稻研究所的IR32364的雄性核不育受控于6号染色体的 $tms3$ 基因。越南的TGMS-VN1的雄性核不育受控于2号染色体的 $tms4$ 基因。

Liu等人^[15]完成了 $pms1$ 基因区域物理图谱的构建,并将其定位在1个BAC克隆的85kb范围内。於金生^[16]将 $pms1$ 定位在分子标记Rssr和N6B5之间21 kb的范围内。李香花等人^[17]将 $pms3$ 基因定位在12号染色体上的RFLP标记M36和RZ261之间,遗传距离分别为1.5和3.05 cM。Lu等人^[18]将 $pms3$ 进一步定位在标记LJ25和LK40之间28.4 kb的区间范围内,与LJ47和LJ265共分离。Ding等人^[19]克隆了 $pms3$ 基因,研究表明,控制农垦58S不育的 $pms3$ 是一种长链非编码RNA,一个长度为1236 bp的RNA分子(LDMAR)的足量转录是维持花粉在长日照条件下正常发育所必需,但由于1个单碱基突变造成农垦58和农垦58S在此区间的甲基化程度有明显差异,导致LDMAR在长日照下转录量降低,从而造成农垦58S花药程序化死亡提前,导致雄性不育。在短日照条件下, LDMAR并不是维持花粉正常发育必需的,所以在短日照条件下,农垦58S表现为可育,即产生长日不育、短日可育的光敏雄性不育现象。Zhou等人^[20]在农垦58S的衍生系培矮64S得出相似的结果。Wang等人^[21]将安农S-1的温敏不育基因 $tms5$ 定位于STS标记C365和CAP标记G227之间,遗传距离分别为1.04和2.08 cM。Zhou等人^[22]克隆了 $tms5$ 基因, $tms5$ 编码一个保守的RNA酶Z^{S1}, RNA酶Z^{S1}能够在体外和体内把3个泛素核糖体L40融合蛋白基因(Ub_{L40}) mRNA加工成多个片段。在 $tms5$ 突变体中,高温导致 Ub_{L40} mRNA水平上升,其过量积累导致花粉量降低,从而导致雄性不育。

2.3 水稻光、温敏核不育系的选育

水稻光温敏核不育系的人工选育始于1982年,这是在石明松1981年首次报道“晚粳自然两用系选育及应用初报”^[2]并将该材料分发给全国多家育种单位的第二年。通过人工杂交转育,于1988年育成了第一批不育系,如W6154S, WD1S, N5047S和3111S等。1987年,两系法杂交水稻研究项目列入国家高技术发展计划(“863”计划)以后,全国主要水稻科研育种单位都开展了水稻光温敏核不育系的选育。除了以农垦58S作为不育基因供体开展广泛的转育以外,还从不同的途径发掘新的不育系资源,先后发现了安农S-1, 5460S, 衡农S-1等。但是1989年长江中下游稻

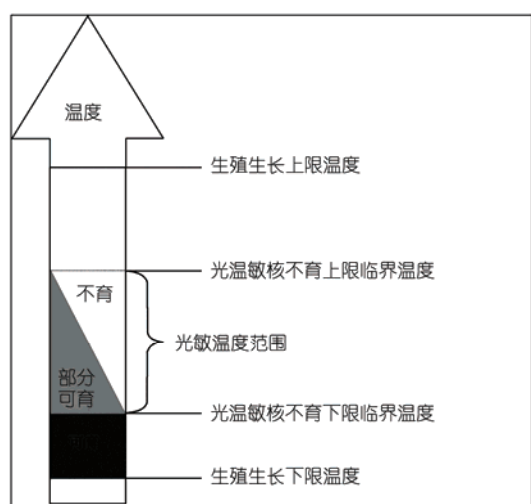


图1 光温敏核不育水稻育性转换的光温作用模式(根据张自国等人^[11]修改)

Figure 1 Photo-thermo-sensitive model of fertility alteration of PTGMS rice (revised from ref. [11])

区出现盛夏低温,导致了之前选育的不育系在不育期出现了育性恢复^[23],不能有效地应用于两系杂交稻制种.从而认识到光温敏核不育系的育性转换临界温度是非常重要的指标.袁隆平^[12]1992年提出了选育水稻光温敏核不育系的技术策略,要求湖南的不育系不育起点温度为日平均23℃,广西为24℃.杂交转育、低温环境选择、人工气候箱鉴定和多生态点育性动态观察成为选育实用型光温敏核不育系的重要技术措施.

截至2010年,全国通过审定和获得新品种保护权的水稻光温敏核不育系有130个^[24].根据国家水稻数据中心(<http://www.ricedata.cn/variety/index.htm>)统计,全国有文献报道、已经育成的水稻光温敏核不育系有354个.用于两系杂交稻组合选育应用面积在10万公顷以上的不育系有23个^[24],100万公顷以上的不育系有培矮64S,广占63S,广占63-4S,新安S,Y58S,株1S等6个不育系.其中前5个不育系都有农垦58S的亲缘.以培矮64S作母本选育的两系杂交稻组合有62个,其次是广占63S及其衍生系广占63-4S,新安S,新强03S,选69S,丰39S等配制的组合超过50多个,Y58S配制的组合超过40多个.

2.4 水稻光、温敏核不育系的繁殖技术

水稻光温敏雄性核不育系的特点是花粉育性的转换受控于育性敏感期(即第二次枝梗原基分化期至花粉母细胞减数分裂期)^[5,9],敏感部位是水稻幼穗,目前生产上已经应用的不育系是低温、短光表现雄性可育,高温、长光表现雄性不育.根据这个特性,目前研究成功并广泛使用的繁殖技术有4种:第一种是长江中下游稻区秋繁,光敏性比较强的粳型不育系适合使用,抽穗期安排在9月10~20日,一般自然结实率可以达到40%以上^[2,25],该方法简单,技术要求低;第二种是育性敏感期冷水串灌繁殖,利用山区水稻田或水库下游的水稻田,在不育系育性敏感期,稻田灌溉15~20 cm深的19~21℃的冷水,灌溉期10~15 d,不同类型的不育系都可以繁殖、尤其适宜温敏为主的不育系,一般结实率可以达到30%以上^[26,27],该方法对自然条件和技术要求较高;第三种是在海南陵水和三亚的冬季繁殖,利用冬季短光照和低温条件,抽穗期安排在2月下旬至3月上旬,正常年份结实率可以达到60%以上,而且可以大面积繁殖,是目前应用最成功也是最成熟的方法之一^[28,29];第四种是

在云南保山市海拔1500~1600 m的稻区繁殖,利用夏季高海拔的低温条件,抽穗期安排在8月上旬,一般结实率可以达到60%以上,可以大面积繁殖,农民易于掌握技术,种子生产成本较低,已逐步成为国内水稻光温敏核不育系繁殖的主要方法^[30,31].

3 两系法杂交水稻的选育与制种技术

3.1 两系法杂交水稻的选育与推广

与三系法杂交水稻相比,两系法杂交水稻的优点是配组自由、育种程序简化、育种周期缩短、不育系多样化,缺点是不育系繁殖和组合制种受到时空条件的限制.在1987年两系法杂交水稻研究列入国家“863”计划和袁隆平^[32]发表“杂交水稻育种的战略设想”以后,两系法杂交水稻的育种在全国广泛展开.1988年第一个进入生产性实验的两系杂交粳稻组合是N5047S/R9-1^[25],到2000年全国通过省级和地市级审定的两系法杂交稻品种只有27个,累计推广面积在300万公顷左右,是一个发展比较慢的时期^[33].2001年以两优培九为代表的4个两系法杂交水稻品种通过国家审定^[34]以后,两系法杂交水稻进入快速发展的时期.到2015年,通过国家审定的两系法杂交水稻135个、通过省级审定的两系法杂交稻品种816个(次)(<http://www.ricedata.cn/variety/>).从图2的数据可以看出,1996年推广面积18.05万公顷,占杂交水稻种植面积的0.92%,到2013年推广面积发展到544.04万公顷,占杂交水稻种植面积的33.59%,18年间两系杂交稻面积扩大了30倍.其中推广面积最大的组合是两优培九(培矮64S/9311),累计推广面积超过800万公顷^[35].广占63S及其衍生系配制的系列组合,如丰两优1号、扬两优6号、丰两优4号、丰两优香1号、两优6326、新两优6号等,累计推广面积超过1000万公顷^[24,36].目前,全国20个水稻种植省市,都有两系杂交水稻种植,主要是籼型两系杂交稻,年推广面积超过100万公顷的有湖南、湖北、安徽三省,其中安徽和湖北,两系杂交稻面积已经超过三系杂交稻面积^[36].

3.2 两系法杂交水稻制种技术

通过20多年的生产实践,两系法杂交水稻制种技术已经基本成熟.首先是掌握了水稻光温敏核不育系的育性转换特性,在制种技术中称为制种育性

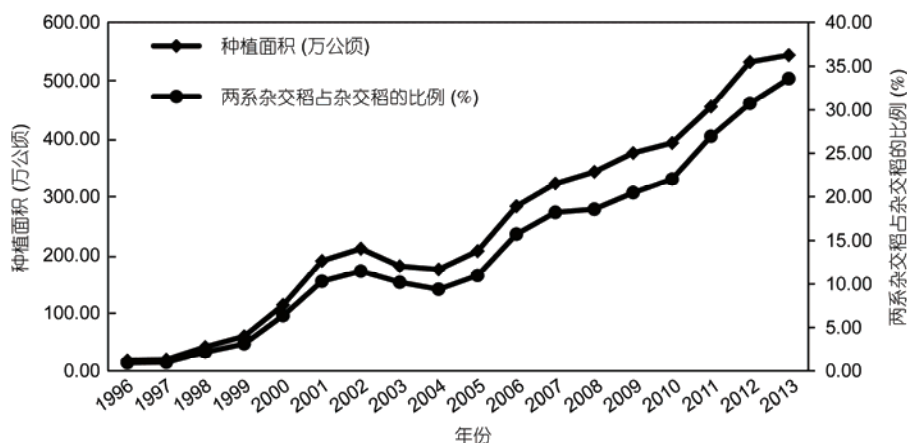


图2 1996~2013年中国两系法杂交水稻推广面积^[36]

Figure 2 Planting area of two-line hybrid rice from 1996 to 2013 in China

安全期,这是两系法杂交水稻制种的核心技术.目前生产上应用的水稻光温敏核不育系的育性转换临界温度(也称不育起点温度)多在日均温 23°C 左右,育性对温度的敏感期一般在幼穗分化的二次枝梗原基分化期(Ⅱ期)至花粉母细胞减数分列期(Ⅳ期),也就是抽穗前的5~20 d,群体内不同分蘖之间的发育差异5~7 d.因而,如果以抽穗期(50%的分蘖见穗)为观察指标,那么抽穗前2~25 d都是育性的敏感期,在此期间不能连续3 d低于日均温 23°C ^[5,37].所以,在两系法杂交水稻制种时,最重要的是把不育系的幼穗分化期安排在不出现连续3 d日均温低于 23°C 的环境条件下,这是两系法杂交水稻制种的核心技术.一般在安排制种计划时,要非常明确所用不育系的幼穗分化期的具体时间,再检索该区域30年的气温数据,在保证过去30年不出现连续3 d日均温低于 23°C 的条件下,才可以安排制种^[38].抽穗扬花期和种子收获期对气温的要求与三系法杂交水稻制种相似,如果在抽穗扬花期遇到连续3 d以上日最高温度高于 35°C 或连续3 d低温阴雨,制种产量会明显降低,在种子收获期出现连续3 d以上的阴雨天气,种子质量就会降低.易著虎等^[39]提出了在大陆南方稻区两系杂交稻制种的3种季节和相应的地理位置:一是早夏制,在北纬 $23^{\circ}\sim 24^{\circ}$ 的地区,将幼穗分化期安排在6月下旬,7月5日以后抽穗扬花;二是夏制,在北纬 $23^{\circ}\sim 28^{\circ}$ 、海拔350~450 m的地区,将幼穗分化期安排在7月中旬,7月下旬抽穗扬花;三是早秋制,在北纬 $23^{\circ}\sim 24^{\circ}$ 的地区,将幼穗分化期安排在8月中、下旬,9月上旬抽穗扬花.国内已经形成规模的两系杂交水稻制种区域

主要有湖南中南部、福建西北部、四川南部、广西西北部和广东西南部^[38,40].

4 两系法杂交水稻展望

4.1 进一步改良水稻光、温敏核不育系是加速发展两系杂交水稻的关键

不育系是任何作物杂种优势利用的基础,野败不育系的发现突破了籼型三系杂交稻的瓶颈^[1],而培矮64S,广占63S,株1S, Y58S等光温敏核不育系的育成使两系法杂交水稻得到迅速大面积推广^[24,34~36].与三系不育系相比,两系不育系的最大改进是稻米品质提高和类型多样化.但是,病虫害抗性、生育期、抗倒性、制种产量等方面并没有大的改进.稻瘟病已经成为我国全部六大稻区的共性病害,国家农作物品种审定委员会和多数省级农作物品种审定委员会将稻瘟病列入水稻品种审定一票否决的性状,而目前大面积应用的光温敏核不育系都不抗稻瘟病,导致大多数组合也不抗稻瘟病,例如大面积推广的扬两优6号、丰两优4号、丰两优香1号、Y两优1号等都高感稻瘟病,近几年推广面积大幅度下降.因而,改良和培育抗稻瘟病的光温敏核不育系成为近期的主攻目标.基于分子育种技术的稻瘟病抗性改良,已经取得了一些进展^[41~43],但还需要进一步完善.由于水稻生产方式的改变,直播和机械化种植规模的迅速扩大,需要早熟、抗倒伏的水稻品种,相应地急需培育生育期短、抗倒性强的不育系.光温敏核不育系在高温、长光条件下雄性不育、用于杂交制种^[39],但是当日最

高温达到35℃时, 现有不育系闭颖严重, 制种产量降低, 需要培育在高温条件下开花正常的不育系。

4.2 籼粳亚种间杂种优势利用是进一步提高两系法杂交稻产量的发展方向

研究表明, 籼粳亚种间杂交稻比品种间杂交稻具有更强的杂种优势, 可以比现有的杂交稻增产15%~20%^[44], 而两系法杂交稻由于不受恢保关系制约更有利于进行籼粳亚种间杂种优势的利用^[32]。在过去近30年的两系法杂交水稻育种中, 曾经把籼粳亚种间杂种优势利用列入重要的研究内容, 但是由于籼粳交F₁代结实率低、生育期偏长、植株偏高的问题至今没有完全克服, 从而导致两系法籼粳亚种间杂种优势并没有得到很好的利用。虽然有人把两优培九列入籼粳亚种间杂交组合^[35], 但是从两优培九的株叶形态、粒型、稻米理化特性以及亲本系谱分析, 并不是真正的籼粳亚种间杂交稻。在过去的10多年中, 以宁波市农业科学院为代表的三系法亚种间杂种优势利用取得了很好的进展, 甬优系列组合大面积比现有的品种间组合增产15%~20%^[45]。基于水稻广亲和基因S₅的克隆和其他广亲和基因的发掘以及精细定位^[46,47], 为广亲和系的培育奠定了分子生物学基础。将理想株型和亚种杂种优势相结合进一步提高两系法杂交水稻的产量将是今后的发展方向。

4.3 建立安全、稳定的种子生产基地是保持和扩大两系法杂交水稻的技术保障

两系法杂交稻制种的最大特点是制种受到时空条件的限制, 现有的不育系是当孕穗期处于长光照、高温条件下表现雄性不育, 处于短光照、低温条件下表现雄性可育。所以两系法杂交稻的制种需要在夏季长光照时间和相对高温(高于不育系育性转换临界温度)的地区(空间)进行。过去15年, 江苏省的盐城市是两系法杂交水稻制种的重要基地(占全国60%), 但是该地区处于北纬33°左右, 夏季光照时间长、有效高温期短, 2009~2015年有4年因为温度偏低, 造成大面积两系法杂交稻制种失败、损失严重^[48], 因而今后不适宜继续作为两系法杂交水稻的制种基地。近几年, 两系杂交稻的制种基地逐步南移到湖南中南部、福建西北部、四川南部、广西西北部和广东西南部^[38,40]。南方水田不平坦、单块面积小, 农户分散, 不利于机械化操作, 夏季雨水多、台风频繁, 劳动力不足, 造成种子成本高。在相同栽培条件下, 杂交水稻比常规水稻增产15%~20%, 两系法杂交水稻配组自由、育种周期短、类型多样化已经得到实践的证明, 发展两系法杂交水稻将继续是我国今后水稻育种和生产的方向, 也是保障我国粮食安全的战略措施。因而需要建立安全、稳定的两系法杂交稻种子生产基地, 将是继续保持和扩大两系法杂交水稻的技术保障。

参考文献

- 1 Yuan L P. A report on development of three lines in hybrid rice through wild abortive rice (in Chinese). In: Yuan Longping's Collection Works. Beijing: Science Press, 2010. 9–13 [袁隆平. 利用野败育成水稻三系的情况汇报. 见: 袁隆平论文集. 北京: 科学出版社, 2010. 9–13]
- 2 Shi M S. Breeding and using of a two-usage natural mutant in late japonica rice (in Chinese). Hubei Agric Sci, 1981, 7: 1–3 [石明松. 晚粳自然两用系选育及应用初报. 湖北农业科学, 1981, 7: 1–3]
- 3 Feng Y Q, Wang C Y, Li C X. Studies on the utilization of the Hubei long-day nuclear male sterility rice (in Chinese). Acta Agron Sin, 1985, 11: 227–233 [冯云庆, 王长义, 李全新. 湖北长日核不育水稻的研究与利用. 作物学报, 1985, 11: 227–233]
- 4 Shi M S. The discovery and study of the photosensitive recessive male-sterile rice (*Oryza sativa* L. Subsp. *japonica*) (in Chinese). Sci Agric Sin, 1985, 2: 44–48 [石明松. 对光照长度敏感的隐性雄性不育水稻的发现与初步研究. 中国农业科学, 1985, 2: 44–48]
- 5 Yuan S C, Zhang Z G, Xu C Z. Studies on the critical stage of fertility change induced by light and its phase development in HPGMR (in Chinese). Acta Agron Sin, 1988, 14: 7–13 [元生朝, 张自国, 许传祯. 光照诱导湖北光敏感核不育水稻育性转变的敏感期及其发育阶段的探讨. 作物学报, 1988, 14: 7–13]
- 6 Yuan L P. Progress of two-line system hybrid rice breeding (in Chinese). Sci Agric Sin, 1990, 23: 1–6 [袁隆平. 两系法杂交水稻研究的进展. 中国农业科学, 1990, 23: 1–6]
- 7 Deng H F, Shu F B, Yuan D Y. An overview of research and utilization of Annon S-1 (in Chinese). Hybrid Rice, 1999, 14: 1–3 [邓华凤, 舒福北, 袁定阳. 安农 S-1 的研究及其利用概况. 杂交水稻, 1999, 14: 1–3]
- 8 Sun Z X, Cheng S H, Si H M, et al. Fertility of photoperiod-sensitive genic male sterile lines of early *indica* rice under photo- and thermo-period control conditions (in Chinese). Acta Agric Zhejiang, 1991, 3: 101–105 [孙宗修, 程式华, 斯华敏, 等. 在人工控制光温条件下早籼光敏核不育系的育性反应. 浙江农业学报, 1991, 3: 101–105]

- 9 Zhu Y G, Yang D C. Study and Application on Photoperiod-sensitive Genic Male-sterile Rice (in Chinese). Wuhan: Wuhan University Press, 1992. 29–32 [朱英国, 杨代常. 光周期敏感核不育水稻研究与利用. 武汉: 武汉大学出版社, 1992. 29–32]
- 10 Zhang Z G, Yuan S C. Effects of twilight on two photoperiod reactions in Hubei Photoperiod-sensitive Genic Male-sterile Rice (HPGMR) (in Chinese). Chin J Rice Sci, 1989, 3: 107–112 [张自国, 元生朝. 曙暮光在光敏感核不育水稻两个光周期反应中的作用. 中国水稻科学, 1989, 3: 107–112]
- 11 Zhang Z G, Zeng H L, Yuan S C, et al. Studies on the response to photoperiod and temperature of photoperiod sensitive genic male sterile rice (PGMR) (in Chinese). J Huazhong Agric Univ, 1992, 11: 1–6 [张自国, 曾汉来, 袁生朝, 等. 再论光敏核不育水稻育性转换的光温作用模式. 华中农业大学学报, 1992, 11: 1–6]
- 12 Yuan L P. Technical strategies to breed for temperature- and photoperiod-genic-male sterile rice (TGMS, PGMS)(in Chinese). Hybrid Rice, 1992, 1: 1–4 [袁隆平. 选育水稻光温敏核不育系的技术策略. 杂交水稻, 1992, 1: 1–4]
- 13 Chen L Y. The principles and techniques of two-line hybrid rice (in Chinese). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2001. 102–105 [陈立云. 两系法杂交水稻的理论与技术. 上海: 上海科学技术出版社, 2001. 102–105]
- 14 Wang B, Mou T M, Chen Y H. Progress of genetics and biology of photo-thermo-sensitive genic male sterile rice (in Chinese). In: Lu X G, Gu M H, Li C Q, eds. Principles and Technology of Two-Line Hybrid Rice. Beijing: Science Press, 2001. 39–60 [王斌, 牟同敏, 陈一华. 水稻光、温敏核不育的遗传学和分子生物学研究. 见: 卢兴桂, 顾铭洪, 李成荃, 等, 编. 两系法杂交水稻理论与技术. 北京: 科学出版社, 2001. 39–60]
- 15 Liu N, Shan Y, Wang F P, et al. Identification of an 85-kb fragment containing *pms1*, a locus for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice. Genet Genomics, 2001, 266: 271–275
- 16 Yu J S. Fine mapping of the rice photoperiod-sensitive genic male-sterile gene *pms1* and sequence analysis of *pms1* candidate region (in Chinese). Doctor Dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007 [於金生. 水稻光敏核不育基因 *pms1* 的精细定位以及候选基因区段序列分析. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学, 2007]
- 17 Li X H, Wang F L, Lu Q, et al. Fine mapping of PSGMS gene *pms3* in rice (*Oryza sativa* L.) (in Chinese). Acta Agron Sin, 2002, 28: 310–314 [李香花, 王伏林, 陆青, 等. 水稻光敏核不育基因 *pms3* 的精细定位. 作物学报, 2002, 28: 310–314]
- 18 Lu Q, Li X H, Guo D, et al. Localization of *pms3*, a gene for photoperiod-sensitive genic male sterility, to a 28.4-kb DNA fragment. Mol Genet Gen, 2005, 273: 507–511
- 19 Ding J, Lu Q, Ouyang Y, et al. A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: 2654–2659
- 20 Zhou H, Liu Q, Li J, et al. Photoperiod- and thermo-sensitive genic male sterility in rice are caused by a point mutation in a novel noncoding RNA that produces a small RNA. Cell Res, 2012, 22: 649–660
- 21 Wang Y G, Xing Q H, Deng Q Y, et al. Fine mapping of the rice thermo-sensitive genic male-sterile gene *tms5*. Theor Appl Genet, 2003, 107: 917–921
- 22 Zhou H, Zhou M, Yang Y Z, et al. RNase Z^{S1} processes *Ubl40* mRNAs and controls thermosensitive genic male sterility in rice. Nat Commun, 2014, 5: 4884
- 23 Bi C Q, Li Z B, Wan J M. Effect of the lower temperature in mid-summer on the fertility stability of HPGMR (in Chinese). Chin J Rice Sci, 1990, 4: 181–184 [毕春群, 李泽炳, 万经猛. 盛夏低温对光敏核不育水稻育性稳定性的影响. 中国水稻科学, 1990, 4: 181–184]
- 24 Si H M, Fu Y P, Liu W Z, et al. Pedigree analysis of photoperiod-thermo sensitive genic male sterile rice (in Chinese). Acta Agron Sin, 2012, 38: 394–407 [斯华敏, 付亚萍, 刘文真, 等. 水稻光温敏雄性核不育系的系谱分析. 作物学报, 2012, 38: 394–407]
- 25 Feng Y Q, Wang C Y, Qi H X, et al. Breeding and utilization of new two-line system *japonica* rice combination N5047S/R9-1 (in Chinese). J Huazhong Agric Univ, 1990, 9: 435–439 [冯云庆, 王长义, 戚华雄, 等. 两系杂交粳稻 N5047S/R9-1 的选育和应用. 华中农业大学学报, 1990, 9: 435–439]
- 26 Zhou C S, Liu J B. Multiplication and hybrid seed production of two-line hybrid rice (in Chinese). Hunan Agric Sci, 1993, 2: 11–13 [周承恕, 刘建兵. 两系法杂交水稻的繁殖与制种. 湖南农业科学, 1993, 2: 11–13]
- 27 Lin K F, Liang J W. Multiplication of Peiai64S by cold water irrigation at Beiliu of Guangxi (in Chinese). Hybrid Rice, 2000, 15: 11–12 [林开富, 梁家伟. 培矮 64S 在北流市冷水繁殖初探. 杂交水稻, 2000, 15: 11–12]
- 28 Zhang Z G, Yang J, Yuan S C, et al. Studies on the exploitation and fertility alteration of photoperiod sensitive male sterile rice in the tropic (in Chinese). Acta Agron Sin, 1995, 21: 485–491 [张自国, 杨静, 元生朝, 等. 光敏核不育水稻在热带稻区的育性转换特性与利用研究. 作物学报, 1995, 21: 485–491]
- 29 Dai Y, Duan H B, Jin L, et al. Feasibility, problems and proposals of the construction of two-line hybrid rice seed production bases in Hainan (in Chinese). Hybrid Rice, 2013, 28: 26–29 [戴杨, 段洪波, 金良, 等. 建设海南两系杂交水稻种子生产基地的可行性、问题与建议. 杂交水稻, 2013, 21: 26–29]
- 30 Jing L. Researches on the multiplying characteristics of PTGMS line C815S in rice in Yunnan Baoshan City (in Chinese). Master Thesis.

- Changsha: Hunan Agricultural University, 2012 [敬烈. 云南保山市水稻两用核不育系 C815S 繁殖相关研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2012]
- 31 Chuan X K, Li G S, Kang H C, et al. Research and practice of multiplying rice PTGMS lines in the low-latitude area with high altitude of Baoshan, Yunnan (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2016, 31: 22–26 [钊兴宽, 李国生, 康洪灿, 等. 水稻两用核不育系在云南保山低纬度高海拔地区繁殖的研究与实践. *杂交水稻*, 2016, 31: 22–26]
 - 32 Yuan L P. Strategies of the development of hybrid rice breeding (in Chinese). *Hybrid Rice*, 1987, 1: 1–3 [袁隆平. 杂交水稻育种的战略设想. *杂交水稻*, 1987, 1: 1–3]
 - 33 Mou T M. Two-line hybrid rice breeding and principles in subspecies (in Chinese). In: Lu X G, Gu M H, Li C Q, eds. *Principles and Technology of Two-line Hybrid Rice*. Beijing: Science Press, 2001. 85–99 [牟同敏. 两系法品种间杂交水稻育种及其理论基础. 见: 卢兴桂, 顾铭洪, 李成荃, 等, 编. *两系法杂交水稻理论与技术*. 北京: 科学出版社, 2001. 85–99]
 - 34 Yang S H, Cheng B Y, Shen W F, et al. Progress of application and breeding on two-line hybrid rice in China (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2009, 24: 5–9 [杨仕华, 程本义, 沈伟峰, 等. 中国两系杂交水稻选育与应用进展. *杂交水稻*, 2009, 24: 5–9]
 - 35 Lü C G, Zou J S. Theory and practice on breeding of two-line hybrid rice, Liangyoupeijiu (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 2016, 49: 1635–1645 [吕川根, 邹江石. 两系法杂交稻两优培九育种的理论与实践. *中国农业科学*, 2016, 49: 1635–1645]
 - 36 Hu Z X, Tian Y, Xu Q S. Review of extension and analysis on current status of hybrid rice in China (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2016, 31: 1–8 [胡忠孝, 田妍, 徐秋生. 中国杂交水稻推广历程及现状分析. *杂交水稻*, 2016, 31: 1–8]
 - 37 Zhou C S, Li C Q, Peng H P, et al. The technology of two-line hybrid rice seed production (in Chinese). In: Lu X G, Gu M H, Li C Q, eds. *Principles and Technology of Two-line Hybrid Rice*. Beijing: Science Press, 2001. 171–194 [周承恕, 李成荃, 彭惠普, 等. 两系杂交水稻种子生产技术. 见: 卢兴桂, 顾铭洪, 李成荃, 等, 编. *两系法杂交水稻理论与技术*. 北京: 科学出版社, 2001. 171–194]
 - 38 Zhang G L, Xu J P, Zhou G X, et al. High purity seed production techniques for two-line hybrid rice Fengliangyou 1 (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2007, 22: 34–37 [张国良, 徐继平, 周桂香, 等. 两系杂交稻丰两优 1 号安全制种技术. *杂交水稻*, 2007, 22: 34–37]
 - 39 Yi Z H, Hugu J L T, Chen Z, et al. Research progress of two-line hybrid rice seed production techniques (in Chinese). *Crop Res*, 2008, 22: 386–389 [易著虎, 呼格吉乐图, 陈詹, 等. 两系法杂交水稻制种技术研究进展. *作物研究*, 2008, 22: 386–389]
 - 40 Chen H G, Zhou M, Wu X X, et al. High-yielding production techniques for new two-line hybrid rice combination Nongliangyou62 (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2010, 25: 23–24 [陈红光, 周成, 吴旭祥, 等. 两系杂交水稻新组合农两优 62 高产制种技术. *杂交水稻*, 2010, 25: 23–24]
 - 41 Jiang J F, Mi J M, Ali J, et al. Development of broad-spectrum bacterial blight resistance into thermo-sensitive genic male sterile lines. *Plant Breed*, 2016, 135: 73–79
 - 42 Jiang J F, Mou T M, Yu H H, et al. Molecular breeding of thermo-sensitive genic male sterile (TGMS) lines of rice for blast resistance using *Pi2* gene. *Rice*, 2015, 8: 11
 - 43 Jiang J F, Yang D B, Ali J, et al. Molecular marker-assisted pyramiding of broad-spectrum disease resistance genes, *Pi2* and *Xa23*, into GZ63-4S, an elite thermo-sensitive genic male-sterile line in rice. *Mol Breed*, 2015, 35: 83
 - 44 Yuan L P. Prospects of rice yield potential from the view point of plant breeding (in Chinese). *Hybrid Rice*, 1996, 4: 1–2 [袁隆平. 从育种角度展望我国水稻的增产潜力. *杂交水稻*, 1996, 4: 1–2]
 - 45 Ma R R, Wang X Y, Lu Y F, et al. Breeding and application of late japonica CMS line Yongjing 2A and its late *indica-japonica* hybrid rice combinations (in Chinese). In: *Proceedings of the first hybrid rice congress in China*. Changsha: Hybrid Rice office, 2010. 185–198 [马荣荣, 王晓燕, 陆永发, 等. 晚粳不育系甬粳 2 号 A 及其籼粳杂交稻组合的选育及应用. 见: 第一届中国杂交水稻大会论文集. 长沙: 杂交水稻编辑部, 2010. 185–189]
 - 46 Yang J Y, Zhao X B, Cheng K, et al. A killer-protector system regulates both hybrid sterility and segregation distortion in rice. *Science*, 2012, 337: 1336–1340
 - 47 Mi J M. Evolutionary analysis in *indica-japonica* hybrid sterility locus *S₅* and its application in wide-compatibility breeding (in Chinese). Doctor Dissertation. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016 [米甲明. 水稻籼粳杂种不育位点 *S5* 演化机制分析及广亲和基因应用研究. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学, 2016]
 - 48 Lei D Y, Chen L Y. Analysis and think of meteorolical safety for two-line hybrid rice seed production in Yancheng, Jiangsu (in Chinese). *Hybrid Rice*, 2015, 30: 18–20 [雷东阳, 陈立云. 江苏盐城两系杂交稻制种气象安全分析与思考. *杂交水稻*, 2015, 30: 18–20]

The research progress and prospects of two-line hybrid rice in China

MOU TongMin

National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Two-line hybrid rice is new technology for exploiting rice heterosis established based on the discoveries of photo-thermo-sensitive genic male sterile (PTGMS) rice in China. The male fertility alteration of PTGMS line was controlled by recessive nuclear genes in sporophyte and induced by day-length and temperature during young panicle differentiation stage. Compared with three-line hybrid rice technology, it has three advantages: (1) The sterility is controlled by recessive nuclear genes. Any genotype with good combining ability can be used as a male parent. The frequency of obtaining heterotic hybrids in testcrosses is higher than in three-line system. (2) It simplifies the process of hybrid breeding program and shortens the breeding period for rapidly developing new hybrid rice. (3) It provides more kinds of sterile lines for diversifying hybrid rice. More than 300 PTGMS lines and over 900 two-line hybrid rice hybrids were developed and certificated in past three decades, and released in twenty provinces of China. The area covered under two-line hybrid rice was 5.5 million hectares yearly on the average, occupying 35% of total area of hybrid rice planting. Developing PTGMS lines with resistances to multiple-diseases and insect pests, short growth duration and lodging tolerance, exploiting indica-japonica heterosis for increasing yield, and ensuring safe and stable two-line hybrid rice seed production, will be the tasks for further maintaining and expanding two-line hybrid rice in future.

rice, photo-thermo-sensitive genic male sterile lines, characterization of fertility alteration, gene mapping and cloning, two-line hybrid rice, breeding, techniques of seed production

doi: 10.1360/N972016-01045