



# 杂交水稻育种将迎来新时代

邓兴旺<sup>①②\*</sup>, 王海洋<sup>②</sup>, 唐晓艳<sup>②</sup>, 周君莉<sup>②</sup>, 陈浩东<sup>①</sup>, 何光明<sup>①</sup>, 陈良碧<sup>③</sup>,  
许智宏<sup>①\*</sup>

① 北京大学生命科学学院, 北京 100871;

② 深圳市作物分子设计育种研究院, 深圳 518107;

③ 湖南师范大学生命科学学院, 长沙 410081

\* 联系人, E-mail: deng@pku.edu.cn; xuzh@pku.edu.cn

收稿日期: 2013-09-03; 接受日期: 2013-09-18

doi: 10.1360/052013-299

**摘要** 杂种优势是生物界一种普遍的现象, 在许多作物中得到应用. 杂交水稻自 20 世纪 70 年代开始在中国大规模种植, 对于粮食生产具有举足轻重的作用. 现有的“三系法”和“两系法”杂交育种技术对粮食增产贡献巨大, 但它们的技术缺陷也非常明显. 本文在总结已有杂交育种技术的操作流程及优缺点的基础上, 阐述了利用智能不育杂交育种技术, 实现隐性雄性核不育材料在杂交水稻中应用的技术流程. 这种飞跃性技术的运用将推动杂交水稻的生产进入一个新的时代.

**关键词**

雄性不育

杂交水稻

分子设计育种

杂种优势是指在生物界中, 两个遗传基础不同的品种间或相近物种间进行杂交, 其杂交子一代在生长势、生活力、适应性和产量等性状上优于双亲的现象. 杂种优势现象在生物界普遍存在, 其最早于 1717 年被 Thomas Fairchild<sup>[1]</sup>发现, Joseph Koelreuter<sup>[2]</sup>于 1761 年利用. 自 20 世纪 30 年代成功应用于杂交玉米的大规模生产以来, 杂种优势现象已经被广泛地运用到农作物及家禽家畜的品种培育和和生产实践中.

对于杂种优势在农业生产中的应用, 一个重要环节是进行杂交种的高效制种. 杂交玉米种子的通用制种方法是利用雌雄异花特性实现的, 即人工(或利用机械)去除母本自交系的雄花, 以另一自交系(父本)的花粉进行授粉获得杂交种子, 其操作相对简单易行. 故玉米的杂种优势利用得早, 且体系成熟, 应

用广泛. 而雌雄同花植物(如水稻(*Oryza sativa* L.)、小麦(*Triticum aestivum*)等)无法通过去除母本的花粉途径实现大规模制备杂交种子, 因此, 利用具有花粉不育特性的植株作为母本制备杂交种子的技术体系成为雌雄同花植物杂种优势利用的唯一途径. 以雄性不育为技术核心的杂种优势利用体系中, 技术关键是解决不育系种子的批量繁殖和杂交种子的规模化生产. 对于水稻、小麦这两大人类主要粮食作物来说, 围绕以雄性不育为技术核心的杂种优势利用体系中的任何技术革新对世界粮食生产和粮食安全都有举足轻重的影响.

目前, 中国杂交水稻种植面积约占水稻总种植面积的 50%~60%. 其中 80%的籼稻为杂交稻品种, 主要在中国南方种植. 而粳稻的总种植面积中以常规稻为主, 杂交粳稻仅占不到 3%, 主要分布在中国

引用格式: 邓兴旺, 王海洋, 唐晓艳, 等. 杂交水稻育种将迎来新时代. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 864-868

Deng X W, Wang H Y, Tang X Y, et al. Hybrid rice breeding welcomes a new era of molecular crop design. SCIENTIA SINICA Vitae, 2013, 43: 864-868, doi: 10.1360/052013-299

北方以及江浙一带。目前, 水稻杂种优势的利用分为两个技术途径, 一是以核质互作花粉不育为技术核心的“三系法”杂交技术, 二是以受自然光周期、温度调控的光温敏核不育为技术核心的“两系法”杂交技术。尽管中国杂交水稻的研究与应用在国际上占领先地位, 但是“三系法”受恢保关系的制约而对种质资源利用率低; “两系法”受自然温光影响, 不育系的繁殖产量不稳定、杂交制种期间存在低温诱导不育系自交结实导致杂交种子纯度不达标的风险。因此, 如何在“三系法”和“两系法”的基础上, 研究出对资源利用率高、杂交制种安全、更易于培育高产、优质、多抗杂交水稻的新技术已成为杂交水稻发展的迫切要求。利用现代分子生物技术, 开发新型的分子设计杂交育种途径, 是杂交水稻发展的必然趋势。

### 1 “三系法”杂交育种技术

要在生产上有效利用水稻杂种优势, 首先必须选育出雄性不育系。水稻中最早在生产上应用的雄性不育系属核质互作不育。所谓“三系法”中的三系就是指核质互作雄性不育系、保持系和恢复系。“三系法”杂种优势利用的技术途径是: 利用核质互作雄性不育系为母本、以保持系为父本批量化繁殖仍保持不育特性的种子; 用不育系为母本、以恢复系为父本大规模生产恢复花粉可育性且具杂种优势的杂交种子, 该杂交种子用于生产杂交稻(图 1A)。

1966年, 袁隆平先生在《科学通报》上发表了第一篇杂交水稻的研究论文《水稻的雄性不孕性》<sup>[3]</sup>, 该文阐述了利用雄性不育株为母本与正常可育株杂交可获得具有杂种优势的杂交稻, 从此, 拉开了中国杂交水稻研究的序幕。但早期发现的不育株的不育性都受 1 对隐性核基因控制, 与常规水稻杂交, 其杂交 F1 都为可育株, 这类不育株虽然很容易配制出高产组合, 但因无法实现不育系的种子繁殖而不能应用于生产。1970年, 在袁隆平先生指导下, 李必湖先生在海南三亚普通野生稻中发现了 1 株花粉败育的不育株(核质互作不育), 为中国“三系法”杂交水稻研究和应用奠定了基础。通过全国育种家们的团结合作, 实现了三系配套, 率先在世界上实现大面积利用自花授粉植物的杂种优势。尤其是杂交稻“汕优 63”的育成, 使杂交水稻种植面积迅速扩大, 至 1984 年, 全国杂

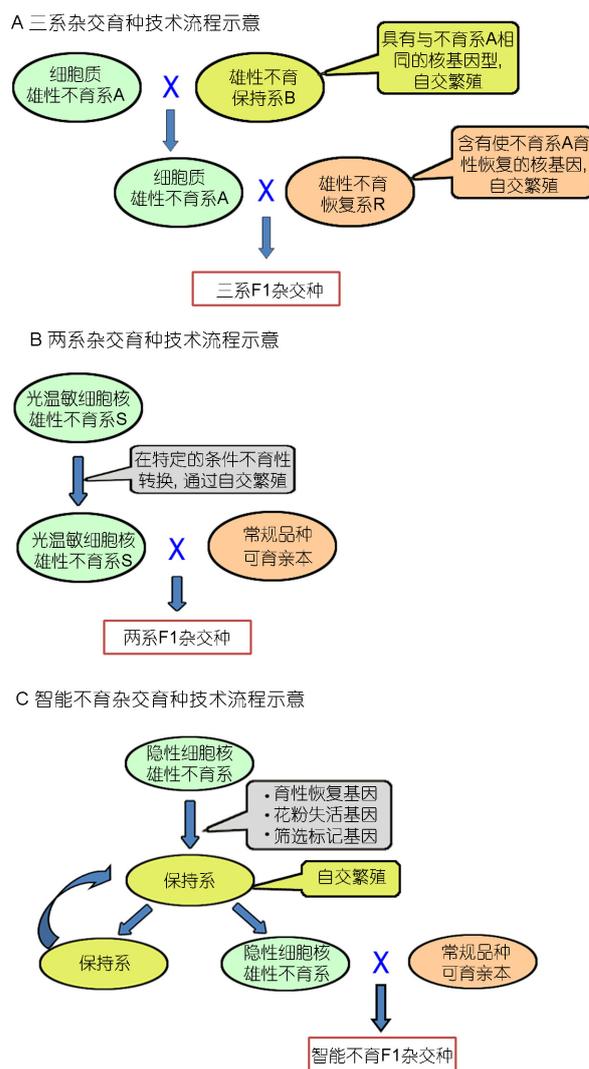


图 1 “三系”、“两系”和智能不育杂交育种技术简要路线

交水稻种植面积达到 1.33 亿亩。随着更多优良组合的出现推动了全国杂交水稻的发展, 至 1991 年达到 2.64 亿亩, 占水稻总种植面积的 55%。然而, 随着研究和应用的不断深入, 三系杂交育种的技术缺陷逐步显现出来: (i) 对种质资源利用的范围窄。不育系资源本身非常少, 同时, 中国稻种资源中能用作保持系的品种不到 1%, 在东南亚籼稻资源中能用作恢复系的品种不到 5%, 不易开展不育系和恢复系的有利资源的聚合育种, 导致不育系和恢复系遗传多态性不高, 杂交组合同质化程度过高; (ii) 受恢保关系的制约, 培育优质、高产、多抗的杂交组合周期长、难度大。

## 2 “两系法”杂交育种技术

“两系法”杂交育种技术的基本原理是: 同一水稻株系, 在一定条件下花粉可育, 利用其可育性繁殖不育系种子; 在另一特定条件下花粉不育, 利用其不育性与父本杂交, 制备杂交种子。

1981年, 石明松先生报道, 晚粳农垦 58 不育株(农垦 58S)在湖北 9 月 3 日前抽的穗其花粉不育, 随后抽的穗为可育, 并提出利用其不育性进行杂交制种, 利用可育性繁殖不育系的“两用系”概念<sup>[4]</sup>。1987年, 在袁隆平先生和李必湖先生的指导下, 邓华凤先生发现了籼型温敏核不育系安农 S-1。随着这两种新型不育材料的发现, 开启了杂交水稻研究与应用的新篇章。随后研究证明, 光温敏不育材料在长日高温条件下不育, 在短日低温条件下可育, 改变光温度条件即可实现不育系的繁殖或制备杂交种子, 大大简化了育种的流程(图 1B)。两系杂交育种技术具有显著的优点: (i) 不育性受隐性核基因控制, 不受恢保关系的约束, 较易于快速培育出新不育系, 易于开展杂交水稻有利性状的聚合育种, 拓宽了资源利用范围, 提高了选育不同生态类型高产、优质、多抗组合的机率; (ii) 避免了“三系法”雄性不育细胞质单一化的潜在危害和对某些经济性状的负效应; (iii) 一系两用, 简化了种子生产程序。但研究与应用证明, “两系法”的技术缺陷也很明显: 由于两系不育系育性的转换受环境条件控制, 因而制种和繁殖都受到时空条件的制约, 不育系繁殖产量低和杂交种子纯度不达标的现象时有发生。此外, 光温敏核不育系因繁殖代数的增加, 其临界不育温度会发生漂移, 如果不严格开展核心不育株的筛选, 就会造成大规模制种的安全风险。“两系法”杂交水稻制种的安全性也是束缚“两系法”杂交水稻目前仅适于在长江中下游和华南稻区发展的根本原因。

## 3 分子设计杂交育种技术

作物杂种优势利用是提高粮食生产最有效的途径。“三系法”杂交水稻对资源利用率低以及“两系法”杂交水稻杂交制种安全性约束是影响杂交水稻种植面积进一步扩大的重要因素。引入新的育种技术, 研创出对资源利用率高、杂交制种安全的水稻杂种优势

利用方法是杂交水稻发展的方向, 分子设计杂交育种取得的突破性进展已向人类展示了杂交水稻育种的新途径。

### 3.1 分子设计杂交育种技术的前期探索

自 1966 年袁隆平先生报道隐性核不育水稻后, 相继发现了许多同类不育材料。这类不育系的共同特点是不育性稳定、杂交制种安全, 易于配制高产、优质、多抗组合; 共同的缺点是无法实现批量繁殖不育系种子。针对这一问题, 科学家们一直在研究利用分子设计方法, 解决不育系繁殖的难题, 也先后提出了多种解决方案, 主要包括: (i) 将显性不育基因与抗除草剂基因连锁转入受体作物品种中, 利用除草剂筛选, 即可得到雄性不育系, 利用正常植株给不育系授粉, 即可繁殖不育系<sup>[5]</sup>; (ii) 分离得到雄性不育株, 如果雄性不育是由于代谢过程的关键基因突变导致花粉功能异常所致, 则可通过外界添加突变造成的缺失的代谢中间物质(如氨基酸、黄酮等物质), 使突变不育株恢复育性而得以繁殖, 而不添加这些缺失的代谢必需物质时, 即可得到不育系<sup>[6-9]</sup>; (iii) 分离得到雄性不育株后, 确定育性恢复基因, 利用条件控制(如诱导性)启动子驱动育性恢复基因的表达, 并将其作为互补基因转入雄性不育株中, 不给予适合的启动子表达条件时, 育性恢复基因不表达, 即得到不育系; 而给予适合启动子表达的条件时, 育性恢复基因表达, 雄性不育株育性恢复而得以繁殖; 此外, 也可以利用条件控制启动子驱动作物内源育性基因的抑制因子表达而达到上述同样的目的<sup>[10,11]</sup>。以上这些方案在不同作物的实际生产中得到了不同程度的应用, 但是, 由于不育系的育性转换不能被完全精确地控制, 或者不育系中含有转基因并因而造成杂交种中含有转基因等问题, 它们都没有得到广泛的应用。随着分子设计育种思想和技术的进步, 开发能够精确控制的不带转基因的不育系的繁殖技术, 成为分子设计杂交育种技术领域亟需解决的问题。

### 3.2 智能不育杂交育种技术

针对解决隐性核雄性不育材料的繁殖问题, 1993年 6 月 11 日, PLANT GENETIC SYSTEM 公司提出了一项 PCT 专利申请<sup>[12]</sup>, 该专利提出了一种技术思

想: 在纯合的雄性不育植株中转入连锁的育性恢复基因、花粉失活(败育)基因以及用于筛选的标记基因, 可以获得该雄性不育植株的保持系, 保持系通过自交就可以实现不育系和保持系的繁殖. 2002年, Perez-Prat 等人<sup>[13]</sup>提出, 除了利用上述三套元件的思想可以实现不育系创制和繁殖以外, 还可以通过在纯合的雄性不育植株中转入连锁的育性恢复基因和用于筛选的标记基因两套元件, 由此也可以获得该雄性不育植株的保持系, 并进一步繁殖不育系. 这些报道提出了利用精确的分子生物技术手段, 解决隐性核雄性不育基因及不育材料的应用问题, 为开展分子设计杂交育种提供了新的思想.

2006年, 美国杜邦先锋公司在上述技术思想的基础上, 率先在玉米中实现了基于核不育突变材料的种子生产技术, 并命名为 Seed production technology(SPT)技术. 这种新的生物技术可以用来繁殖隐性核不育突变材料, 其基本原理是将花粉育性恢复基因、花粉失活(败育)基因和标记筛选基因作为紧密连锁的元件导入隐性核雄性不育突变体中, 获得核雄性不育突变体的保持材料, 可用于生产制种<sup>[14]</sup>. 具体操作方法是含有上述元件的载体转入隐性核不育突变体, 获得保持系, 其转基因后代育性可以恢复. 保持系自交可以产生两种花粉, 一种含有突变基因但不含转基因元件, 另一种同时含有突变基因和转基因元件, 其比例为 1:1. 因为转基因元件上带有花粉失活(败育)基因, 花粉将不能正常发育和受精, 只有不含转基因元件的花粉可以正常发育和受精. 由此, 保持系会结出保持花粉不育特性的非转基因种子和恢复花粉育性的转基因种子, 通过标记筛选(如荧光分选)等技术, 可以将这两种类型的种子区分开. 其中, 不育的不带转基因元件的种子即为不育系, 用于杂交制种; 可育的带有转基因元件的种子即为保持系, 用于不育系的繁殖.

2010年9月, 在中国科技部“国家高技术研究发展计划”(批准号: 2009AA101201 和 2011AA10A107)的支持下, 上述技术思想在水稻中率先得到了证实和应用, 并被称之为“智能不育杂交育种技术”或“第三代杂交水稻技术”, 其利用可以稳定遗传的隐性核雄性不育材料, 通过转入育性恢复基因恢复花粉育性, 同时使用花粉失活(败育)基因使含转基因成分的花粉失活(败育), 并利用荧光分选技术快速分离不育

系与保持系两种类型的种子(图 1C). 中国科技部网站对该重要技术突破进行了报道([http://www.most.gov.cn/kjbgz/201009/t20100920\\_82153.htm](http://www.most.gov.cn/kjbgz/201009/t20100920_82153.htm)). 智能不育技术将现代生物技术与传统育种方法成功结合, 使得大量水稻雄性隐性核不育基因的利用成为了可能. 利用智能不育源可将优良常规稻及“三系”、“两系”不育系(或父本)快速改造成智能不育系. 利用智能不育系杂交制种安全, 配组自由. 与常规杂交育种和常规转基因育种相比, 智能不育给杂交水稻育种带来的突破包括: (i) 智能不育系不育性稳定, 不受环境和遗传背景影响, 克服了三系不育系因高温诱导花粉可育、两系核不育系因低温诱导可育的育性不稳定给杂交制种造成的安全风险; (ii) 智能不育系不育性状遗传行为简单, 不受遗传背景影响, 易于开展优良性状的聚合育种, 快速选育出优质、高产、多抗、适宜于各种生态条件的杂交组合, 有利于扩大杂交水稻适应区域; (iii) 育性恢复基因与花粉失活(败育)基因在转基因过程中紧密连锁, 阻断了转基因成分通过花粉漂移; 实现了用转基因手段生产非转基因的不育系种子和杂交稻种子; (iv) 该技术体系对未成功应用“三系法”和“两系法”的作物开展杂种优势利用提供了可能.

## 4 展望

中国是一个人口和农业大国, 保障粮食安全始终是农业科技的一项重要任务. 目前农作物育种中应用最广泛、最有效的技术是杂交育种技术. 智能不育分子设计育种技术将现代生物技术和传统杂交育种方法相结合, 是一项有效利用隐性细胞核不育特性进行杂种优势利用的全新方法. 由于智能不育技术具有克服“三系法”和“两系法”杂交水稻育种存在的技术缺陷, 这种技术的运用将成为杂交水稻领域的一次新的技术飞跃, 推动杂交水稻研究与生产应用进入一个新的时代, 其在杂交水稻上的成功应用, 将为在其他自花授粉作物中开展杂交育种提供一个很好的范例. 该杂交育种技术在多种作物的广泛应用, 必将带来粮食作物和经济作物的大规模增产, 为确保世界粮食安全和提高人们的生活质量提供技术支持.

## 参考文献

---

- 1 Zirkle C. The beginnings of plant hybridization. Philadelphia: University of Pennsylvania Press, 1935
- 2 Reed H S. A short history of the plant sciences. Literary Licensing, LLC, 1942
- 3 袁隆平. 水稻的雄性不孕性. 科学通报, 1966, 17: 185-188
- 4 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
- 5 Mariani C, Leemans J, De Greef W, et al. Plants with modified stamen cells. Patent No. WO 89/10396, 1989
- 6 Dirks R, Trinks K, Uijtewaal B, et al. Process for generating male sterile plants. Patent No. WO 94/29465, 1994
- 7 Derksen J, van Wezel R, Knuiman B, et al. Pollen tubes of flavonol-deficient *Petunia* show striking alterations in wall structure leading to tube disruption. *Planta*, 1999, 207: 575-581
- 8 Taylor L, Mo Y. Methods for the regulation of plant fertility. Patent No. WO 93/18142, 1993
- 9 Van Tunen A J, Van Der Meer I M, Mol J N M. Male-sterile plants, methods for obtaining male-sterile plants and recombinant DNA for use therein. Patent No. EP0513884, 1992
- 10 Knight M E, Jepson I, Daly A, et al. Hybrid seed production. Patent No. WO 99/42598, 1999
- 11 Bridges I G, Bright S W J, Greenland A J, et al. Plant gene construct encoding a protein capable of disrupting the biogenesis of viable pollen. Patent No. US6172279, 2001
- 12 Williams M, Leemans J. Maintenance of male-sterile plants. Patent No. WO93/25695, 1993
- 13 Perez-Prat E, van Lookeren Campagne M M. Hybrid seed production and the challenge of propagating male-sterile plants. *Trends Plant Sci*, 2002, 7: 199-203
- 14 Albertsen M C, Fox T W, Hershey H P, et al. Nucleotide sequences mediating plant male fertility and method of using same. Patent No. WO2007002267, 2006

## Hybrid Rice Breeding Welcomes a New Era of Molecular Crop Design

DENG XingWang<sup>1,2</sup>, WANG HaiYang<sup>2</sup>, TANG XiaoYan<sup>2</sup>, ZHOU JunLi<sup>2</sup>,  
CHEN HaoDong<sup>1</sup>, HE GuangMing<sup>1</sup>, CHEN LiangBi<sup>3</sup> & XU ZhiHong<sup>1</sup>

*1 College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China;*

*2 Shenzhen Institute of Molecular Crop Design, Shenzhen 518107, China;*

*3 College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, China*

Heterosis, or hybrid vigor, is a general phenomenon in biology. Harvest of heterosis has been succeeded in a number of crop species. Hybrid rice was first adapted in China in large scale in the middle of 1970s, and two generations of hybrid seed production technology based on distinct male sterility mutations have been employed. New hybrid seed production systems have been reported lately using the modern biotechnology and molecular crop design, which may lead to a new era of hybrid rice practice.

**male sterility, hybrid rice, molecular crop design**

doi: 10.1360/052013-299