

分子标记辅助选择定向改良武运粳7号的条纹叶枯病抗性

姚 姝 陈 涛 骆名瑞 张亚东 朱 镇 赵庆勇 周丽慧 王才林

(江苏省农业科学院 粮食作物研究所 江苏省优质水稻工程技术研究中心 国家水稻改良中心南京分中心 江苏 南京 210014)

摘要: 利用分子标记辅助选择技术改良武运粳7号的条纹叶枯病抗性,培育抗条纹叶枯病的粳稻新种质。以日本优质粳稻品种关东194为条纹叶枯病抗性基因 *Stw-bⁱ* 的供体,采用定向回交育种策略,改良高产、感病品种武运粳7号的条纹叶枯病抗性。在连续回交和自交过程中,利用与 *Stw-bⁱ* 紧密连锁的 SCAR 标记进行跟踪检测,并结合条纹叶枯病田间抗性鉴定以及农艺性状的系统选择,将抗性基因 *Stw-bⁱ* 转移到武运粳7号中。采用分子标记辅助选择,从 BC₃F₃ 世代中筛选出14个具有 *Stw-bⁱ* 纯合基因型的改良株系。其综合性状与武运粳7号十分相近,有的性状甚至优于武运粳7号。利用定向回交和分子标记辅助选择相结合的技术体系,可显著提高抗性改良的预见性和准确性,缩短育种年限、加快育种进程。新育成的武运粳7号抗性改良系,为条纹叶枯病抗性育种提供了重要的遗传资源。

关键词: 水稻; 条纹叶枯病; *Stw-bⁱ* 基因; 回交育种; 分子标记辅助选择

中图分类号: S435.111 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)04-0195-09

Improving Resistance of Japonica Variety Wuyunjing 7 to Rice Stripe Virus Disease by Molecular Marker-assisted Selection

YAO Shu, CHEN Tao, LUO Ming-rui, ZHANG Ya-dong, ZHU Zhen,
ZHAO Qing-yong, ZHOU Li-hui, WANG Cai-lin

(Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu High Quality Rice Research & Development Center, Nanjing Branch of China National Center for Rice Improvement, Nanjing 210014, China)

Abstract: To develop new germplasms resistant to rice stripe disease (RSV), the molecular marker-assisted selection (MAS) strategy was applied to improve the resistance of Wuyunjing 7. As the donor parent of resistance gene *Stw-bⁱ*, the japonica rice Kantou 194 with high quality was used to improve the RSV resistance of Wuyunjing 7 with high yield but susceptible to RSV by the breeding strategy of directional backcross. In continuous backcross and selfcross generations, the SCAR (Sequence characterized amplified region) marker tightly linked with *Stw-bⁱ* was used for MAS, by combining with the identifications of field resistance to RSV and agronomic traits analysis. And finally, resistance gene was successfully transferred into Wuyunjing 7. 14 improved rice lines carrying the disease-resistance gene were obtained from BC₃F₃ generation by molecular marker selection. These lines were the same as and even better than donor parent in comprehensive characters, which retained the characteristics of high yield and enhanced obviously the resistance to rice stripe virus. Utilization of technology systems integrating directional backcross and MAS, the predictability, accuracy and efficiency of breeding for disease resistance could be improved prominently. Meanwhile, these RSV-resistant rice lines newly developed could provide important genetic resources for the future resistance breeding.

Key words: Rice; Stripe virus disease; *Stw-bⁱ* gene; Backcross breeding; Molecular marker-assisted selection

条纹叶枯病 (Rice stripe disease) 是由灰飞虱 (*Laodelphax striatellus* fallen, SBPH) 传播条纹叶枯

收稿日期: 2013-05-14

基金项目: 转基因生物新品种培育重点项目 (2009ZX08001-019B); 江苏省农业科技自主创新基金项目 (CX(11)1022); 江苏省科技支撑计划项目 (BE2012303)

作者简介: 姚 姝 (1982-), 女, 江苏镇江人, 硕士, 主要从事水稻遗传育种研究。姚姝、陈涛为同等贡献作者。

通讯作者: 王才林 (1959-), 男, 江苏无锡人, 研究员, 博士生导师, 主要从事水稻遗传育种研究。

病毒(Rice stripe virus, RSV)引起的一种严重的水稻病害^[1]。1998年以来,该病在江苏省内的发生呈猛烈上升趋势,2004年发病面积达52.3万hm²,占全省水稻种植面积的79%,绝收面积6.5万hm²^[2-3],以后年发病面积均在66.7万hm²以上^[4],并向周边上海、浙江、安徽等省(市)蔓延,成为影响长江中下游地区粳稻生产的重要病害。长期以来,化学药剂是防治水稻条纹叶枯病的一项重要措施,但生产上广泛使用的农药只针对介体昆虫,植物一旦染病就没有十分有效的防治措施,所以其防治效果十分有限,而且化学药剂的使用不可避免地对环境造成严重的污染和破坏。已有研究证实,利用水稻品种抗性是防治条纹叶枯病最经济、有效的手段。因此,加强条纹叶枯病抗性品种的选育一直是受灾稻区育种工作的重点^[5]。据Washio等^[6-8]的研究,水稻对条纹叶枯病的抗性主要受2对显性互补基因*Stv-a*、*Stv-b*或1对不完全显性基因*Stv-bⁱ*控制。其中来自巴基斯坦籼稻品种Modan的不完全显性基因*Stv-bⁱ*被公认是对条纹叶枯病最为重要的抗性基因,它不仅能直接提供对病害而不是对传毒昆虫的抗性,而且抗性不容易丧失。因此,我国近年来育成的绝大部分抗病品种如津原45、镇稻88、徐稻3号、淮稻6号、扬粳9538、南粳46等都含有*Stv-bⁱ*基因,并在生产中表现出良好的抗性^[9-11]。随着分子标记技术的发展,条纹叶枯病抗性基因*Stv-bⁱ*的分子定位也取得了重要进展。Hayano-Saito等^[8]最先将*Stv-bⁱ*抗性基因定位于水稻第11染色体长臂2个BAC(Bacterial artificial chromosome)克隆的重叠区,覆盖的距离约为286 kb,并与其中一个RFLP(Restriction fragment length polymorphism)标记ST10完全连锁。Tsuji^[12]进一步将ST10转化成便于操作的SCAR(Sequence characterised amplified region)分子标记。此后,陈峰、李余生等^[13-15]又开发了多个与*Stv-bⁱ*紧密连锁的SSR(Simple sequence repeats)、STS(Sequence-tagged site)标记。在此基础上,不同研究者开始尝试利用这些标记进行改良水稻品种条纹叶枯病抗性的工作。潘学彪等^[16]以镇稻88为抗性基因*Stv-bⁱ*的供体亲本,采用回交育种策略,改良了武育粳3号的条纹叶枯病抗性,育成抗病品种武陵粳1号。陈峰等^[17]以感病品种圣稻13、圣稻14为受体,抗病品种镇稻88、圣稻519为供体,通过回交和自交,利用与*Stv-bⁱ*紧密连锁的分子标记,培育抗条纹叶枯病的粳稻新品种及新种质。张宏根等^[18]用粳稻品种葵风作抗源,利用与条纹叶枯病抗性基因紧密连锁的分子标记,改良了武运粳8号的条纹叶枯

病抗性。

武运粳7号是江苏省常州市武进区农业科学研究所选育的早熟晚粳稻品种,该品种具有丰产性好、抗逆性强、适应性广等特点。1998-2000年相继通过江苏省、上海市和全国农作物品种审定委员会审定,1997-1999年累计推广面积超过123.9万hm²,它不仅是当时苏、沪、浙、皖单季晚粳的主栽品种,也是1999年全国常规粳稻推广面积最大的品种,直至2009年种植面积仍达3.3万hm²以上。但由于高感条纹叶枯病,限制了其进一步推广应用。本研究旨在利用定向回交和分子标记辅助选择相结合的育种方法,将关东194中的*Stv-bⁱ*基因导入感病品种武运粳7号中,改良其条纹叶枯病的抗性,创造抗条纹叶枯病的高产粳稻新资源。

1 材料和方法

1.1 供试材料

抗性供体亲本:高抗条纹叶枯病优质粳稻品种关东194(日本关东地区茨城县作物研究所选育),其抗性基因*Stv-bⁱ*来源于巴基斯坦籼稻品种Modan^[19]。

抗性受体亲本:高感条纹叶枯病的高产粳稻品种武运粳7号(江苏省常州市武进区农业科学研究所),1998-2000年先后通过江苏省、上海市和全国农作物品种审定委员会审定,是当时苏、沪、浙、皖单季晚粳的主栽品种。

武运粳7号抗性改良系:以关东194为条纹叶枯病基因供体,武运粳7号为受体,采用定向回交并结合分子标记辅助选择获得的14个条纹叶枯病得到明显改良的,且农艺性状与武运粳7号基本一致的BC₃F₃株系。

1.2 DNA提取与分子检测

在水稻分蘖盛期,每个单株采取2张新鲜幼嫩叶片,按Dellaporta等^[20]报道的方法提取叶片DNA。条纹叶枯病抗性基因*Stv-bⁱ*检测所使用的SCAR标记,其正向引物序列为5'-CGAAAGATGGTTTCTCCACC-3',反向引物序列为5'-GACCAAGCAACTAATGACGC-3'^[11]。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。PCR反应参照Chen等^[21]的方法,略作改动:20 μL PCR反应体系包括DNA(10 ng/μL) 1 μL, Primer(4 pmol/μL) 0.2 μL, 10 × Buffer(Free MgCl₂) 2 μL, dNTP(2.5 mmol/L) 0.4 μL, MgCl₂(25 mmol/L) 0.6 μL, *Taq* 酶(5 U/μL) 0.2 μL和ddH₂O 15.6 μL。PCR反应在MJ Research PTC-200热循环仪上进行。扩增程序:94℃预变性5 min;每个循环94℃变性

30 s 63 ℃退火 30 s 72 ℃延伸 1 min ,共 35 个循环;最后 72 ℃延伸 10 min 4 ℃下保存待用。取 10 μL 扩增产物,用 1% 的琼脂糖凝胶电泳分离,经溴化乙锭(Ethidium bromide,EB)染色并于凝胶成像系统下观察分析。

1.3 条纹叶枯病抗性鉴定

2010 年正季在南京试验点对 73 个 BC₃F₃ 株系进行了抗病性鉴定;2011 年正季在溧水白马、泰州姜堰试验点,采用田间自然接虫的方法对 14 个 BC₃F₄ 株系、亲本武运粳 7 号以及感病对照武育粳 3 号进行了抗病性鉴定。为确保结果的可靠性,育秧选择在灰飞虱虫源丰富的小麦田边,每天驱虫 3 次,以使秧苗均一受毒,秧田期和移栽后 30 d 内不防治灰飞虱。在分蘖盛期,参照 Washio 等^[22] 制定的标准进行条纹叶枯病的病级调查。0 级,无症状;1 级,有轻微黄绿色斑驳症状,病叶不卷曲,植株生长正常;2 级,病叶上褪绿扩展相连成不规则黄白色或黄绿色条斑,病叶不卷曲或略有卷曲,生长基本正常;3 级,病叶严重褪绿,病叶卷曲呈捻转状,少数病叶出现黄化枯萎症状;4 级,大部分病叶卷曲呈捻转状,叶片黄化枯死,植株呈假枯心状或整株枯死。记录数据,2~4 级直接记为发病,0、1 级记为不发病,并在 7 d 后再次调查确认,同时按周彤等^[23] 的方法计算平均发病率,并做抗性评价。免疫(Immunity I),发病率为 0;高抗(High-resistance,HR),发病率低于 5%;抗病(Resistance R),发病率介于 5.1%~15%;中感(Moderate-susceptible MS),发病率介于 15.1%~30%;感病(Susceptible S),发病率介于 30.1%~50%;高感(High-susceptible HS),发病率高于 50.1%。

1.4 农艺性状及品质测定

在前期分子标记辅助选择、农艺性状观察、条纹叶枯病抗性鉴定的基础上,筛选出 14 个综合性状基

本与武运粳 7 号相同且条纹叶枯病抗性较好的 BC₃F₄ 稳定株系。2011 年正季在溧水白马、张家港农业试验站进行品系比较试验,每个点设置 2 次重复,并以武运粳 7 号作为对照。其中溧水白马试点,每重复小区种植 12 行,每行 60 株,同时另播种一处武育粳 7 号,以防虫网遮盖(防灰飞虱),用作品比试验中产量比较的对照。张家港试点,每重复小区种植 12 行,每行 60 株,株行距均为 13.2 cm×26.4 cm,常规肥水管理,并记载抽穗期和长势。成熟后,从溧水白马试点每个重复株系以及对照武运粳 7 号中取样 10 株进行穗数、每穗实粒数、结实率、千粒质量、单株产量等农艺性状考察,并收获小区测定产量。

品质测定同样以溧水白马收获的小区稻谷为材料,测定糙米率、精米率、整精米率、垩白粒率、垩白度等碾磨品质和外观品质,按农业部部颁标准《优质稻谷 GB/T17891-1999》^[24] 测定糙米率、整精米率、碱消值等理化指标。食味品质评价采用澳大利亚 Newport Scientific 仪器公司生产的 3-D 型粘度速测仪(RVA 仪)进行测定。RVA 谱特征值主要包括最高黏度(Peak viscosity,PKV)、热浆黏度(Hot paste viscosity,HPV)、冷浆黏度(Cool paste viscosity,CPV)、崩解值(Breakdown,BDV,最高黏度-热浆黏度)、消减值(Setback,SBV,冷浆黏度-最高黏度)和回复值(Consistence,CSV,冷浆黏度-热浆黏度)等。

2 结果与分析

2.1 分子标记辅助选择程序

2007 年正季在江苏南京配制杂交组合武运粳 7 号/关东 194,同年冬季在海南种植 F₁,并以武运粳 7 号为母本与 F₁回交,2008 年正季种植 BC₁F₁(武运粳 7 号//武运粳 7 号/关东 194),从 BC₁F₁开始,利用与 *Stv-bⁱ* 基因紧密连锁的 SCAR 分子标记进行检测,从中

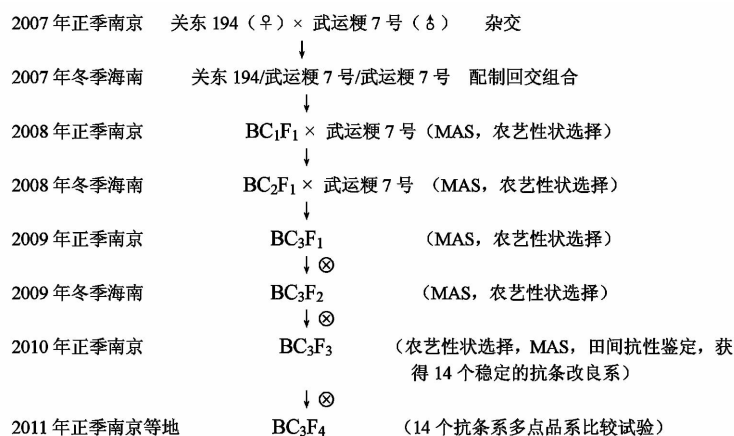


图 1 含有 *Stv-bⁱ* 基因的抗条改良系的选育过程

Fig. 1 The breeding procedures used for improved line with *Stv-bⁱ* gene

选出携带抗病基因 *Stw-bⁱ* 且株叶形态与武运粳 7 号较相似的单株做父本与武运粳 7 号进行连续回交, 至 BC_3F_1 植株农艺性状与轮回亲本基本一致后, 开始连续自交并结合分子标记辅助选择, 最终筛选出 14 个抗病基因纯合的 BC_3F_3 株系。含有 *Stw-bⁱ* 基因改良系的选育过程如图 1。

2.2 条纹叶枯病抗性基因的回交转育及其转育效率

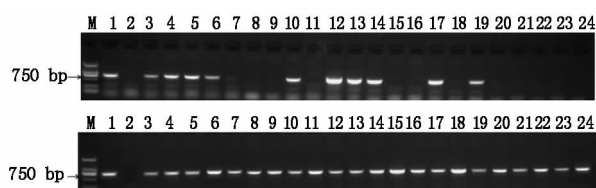
2007 年在南京以感病品种武运粳 7 号为母本, 与抗病品种关东 194 配制杂交组合, 后代以武运粳

7 号作轮回亲本连续回交, 分离世代对条纹叶枯病抗性基因进行分子标记辅助选择, 各回交世代株系数、检测株数及携带抗病基因单株数见表 1, 在回交和自交群体中部分单株的检测结果见图 2。随着回交世代的增加, 回交和自交群体逐渐扩大, 至 2010 年正季, 从 73 个 BC_3F_3 株系中共获得 14 个抗性较好(发病率小于 5%)、农艺性状稳定的优良株系, 有望从这些改良系后代中选育出保持或超于武运粳 7 号的优良抗病新品系。

表 1 武运粳 7 号回交群体分子标记检测结果

Tab. 1 Distribution of individuals with the resistance genes in BC_nF_1 and BC_nF_3

群体	株系数	检测株数/A	携带抗病基因株数/B	B/A/%
Population	Number of lines	Number of plants detected A	Number of plants with the resistance gene B	
BC_1F_1	1	10	3	30.0
BC_2F_1	3	120	63	52.5
BC_3F_1	4	160	71	44.3
BC_3F_2	17	680	519	84.3
BC_3F_3	14	616	616	100



M. DNA 分子量标准; 1~24. 依次为 BC_3F_1 和 BC_3F_3 群体中的部分单株。
M. DNA Ladder; 1-24. Genotype detection of some individuals in BC_3F_1 and BC_3F_3 .

图 2 分子标记 ST-10 在回交群体和自交群体中部分单株的检测结果

Fig. 2 Genotype detection of some individuals in backcross group and self-cross group using marker ST-10

2.3 BC_3F_3 的抗性鉴定与选择效果

2010 年对 73 个抗病基因纯合的 BC_3F_3 株系及感病亲本武运粳 7 号自然接虫进行抗病性鉴定(每系调查 44 株), 待病情稳定后调查发病株数、计算发病率并进行抗性评价, 调查结果如表 2。从表 2 可以看出, 受体亲本武运粳 7 号的发病率为 56.8%, 抗性水平属于高感类型; 73 个携带纯合抗病基因的 BC_3F_3 株系中抗性较好、属于高抗类型的株系共有 14 个, 分别是 L9、L10、L11、L17、L18、L19、L27、L34、L35、L45、L47、L55、L56、L68, 这 14 个改良系的发病率均小于 5%, 充分说明改良系对条纹叶枯病的抗性较原亲本有显著增强。本试验中所选用的抗病基因 *Stw-bⁱ* 的抗性效应非常明显, 显示所利用的与之紧密连锁标记是准确有效的。

2.4 改良系的多点鉴定

2.4.1 改良系的条纹叶枯病抗性 由于 BC_3F_3 后代综合性状尚未恢复到与轮回亲本一致, 因此进行

继续回交结合分子标记辅助选择。至 2010 年正季, 经田间目测结合考种鉴定, 在 73 个 BC_3F_3 株系中筛选到 14 个综合性状与武运粳 7 号基本一致且高抗条纹叶枯病的稳定株系。2011 年将其在溧水白马、姜堰和张家港农业试验站扩大鉴定和示范, 在姜堰进行条纹叶枯病抗性的自然鉴定, 在张家港进行产量和农艺性状鉴定, 溧水白马同时进行条纹叶枯病抗性和产量与农艺性状鉴定。调查 14 个改良系及对照品种武运粳 7 号(CK) 的条纹叶枯病发病率、黑条矮缩病发病率及抽穗期, 具体结果见表 3。

由表 3 看出, 14 个改良系的条纹叶枯病抗性均较对照明显提高, 黑条矮缩病发病率也较低, 其中 C01、C02 的抽穗期比武运粳 7 号早 10 d 左右, 差异较大, 其余改良系抽穗期与对照相近。

2.4.2 改良系的产量性状和品质性状 经过 3 年 6 个世代的回交与自交定向选择, 大部分株系的农艺性状已趋于稳定, 且与武运粳 7 号相似。根据株系内的分离情况和农艺性状及黑条矮缩病抗性等综合性状评判, 选择性状优良并基本稳定的 14 个株系, 进行农艺性状调查和产量、品质分析。

调查溧水和张家港 2 个试验点 14 个改良系和对照亲本武运粳 7 号的穗数、单株产量、千粒质量、结实率、每穗实粒数等产量性状并进行方差分析。由表 4 可以看出, 株系间除了单株产量差异不显著外, 其余 4 个产量性状的差异达到显著或极显著水平; 在试点间, 各产量性状均达显著水平, 结实率和每穗总粒数在株系与试点间的互作也达到显著水平, 表明环境对产量性状表达的影响较大。从表 5

可以看出,14 个改良系中,C01、C02 这 2 个株系在穗数、千粒质量、结实率、每穗实粒数等多个产量性状上与武运粳 7 号存在显著或极显著差异;C03、C05、C08、C09、C10 等株系仅在个别产量性状上与武运粳 7 号存在显著或极显著差异;而 C04、C06、C07、C11、C12、C13、C14 等株系在各产量性状方面与武运粳 7 号均无显著差异,这些株系的产量性状与武运粳 7 号十分接近。

表 2 BC₃F₃株系及对照对 RSV 的抗性表现

Tab. 2 Resistance expression of BC ₃ F ₃ lines with homozygous resistant genotype and CK							
株系 Line	发病株数 No. of Disease plant	发病率/% IR	抗性水平 RDL	株系 Line	发病株数 No. of Disease plant	发病率/% IR	抗性水平 RDL
L1	12	27.3	MS	L38	5	11.4	R
L2	8	18.2	MS	L39	7	15.9	MS
L3	5	11.4	R	L40	8	18.2	MS
L4	7	15.9	MS	L41	4	9.1	R
L5	11	25	MS	L42	6	13.6	R
L6	6	13.6	R	L43	10	22.7	MS
L7	12	27.3	MS	L44	9	20.5	MS
L8	9	20.5	MS	L45	1	2.3	HR
L9	2	4.5	HR	L46	6	13.6	R
L10	0	0	I	L47	1	2.3	HR
L11	1	2.3	HR	L48	3	6.8	R
L12	6	13.6	R	L49	5	11.4	R
L13	5	11.4	R	L50	6	13.6	R
L14	8	18.2	MS	L51	8	18.2	MS
L15	4	9.1	R	L52	4	9.1	R
L16	3	6.8	R	L53	9	20.5	MS
L17	1	2.3	HR	L54	5	11.4	R
L18	1	2.3	HR	L55	2	2.5	HR
L19	2	2.5	HR	L56	1	2.3	HR
L20	6	13.6	R	L57	4	9.1	R
L21	4	9.1	R	L58	6	13.6	R
L22	8	18.2	MS	L59	7	15.9	MS
L23	6	13.6	R	L60	4	9.1	R
L24	11	25	MS	L61	5	11.4	R
L25	3	6.8	R	L62	5	11.4	R
L26	5	11.4	R	L63	3	6.8	R
L27	2	2.5	HR	L64	8	18.2	MS
L28	4	9.1	R	L65	4	9.1	R
L29	7	15.9	MS	L66	3	6.8	R
L30	6	13.6	R	L67	6	13.6	R
L31	10	22.7	MS	L68	2	2.5	R
L32	6	13.6	R	L69	5	11.4	R
L33	5	11.4	R	L70	4	9.1	R
L34	0	0	I	L71	3	6.8	R
L35	0	0	I	L72	3	6.8	R
L36	4	9.1	R	L73	4	9.1	R
L37	3	6.8	R	CK	25	56.8	HS

注: IR. 发病率; RDL. 抗性水平; HR. 高抗; R. 抗病; MS. 中感; S. 感病; HS. 高感。
Note: IR. Infection rate; RDL. Resistant disease level; HR. High-resistance; R. Resistance; MS. Moderate-susceptible; S. Susceptible; HS. High-susceptible.

表 3 14 个改良系及对照在 3 试点 RSD、RBSD 的发病率、始穗期

Tab. 3 IR first heading date of 14 improved lines and CK at three test sites

系号 Line	始穗期 First heading date		条纹叶枯病发病率/% Infection rate of rice stripe disease		黑条矮缩病发病率/% Infection rate of rice black-streaked dwarf disease	
	溧水 Lishui	张家港 Zhangjiagang	溧水 Lishui	姜堰 Jiangyan	溧水 Lishui	姜堰 Jiangyan
C01	08-18	08-26	1.57	1.95	0.86	4.17
C02	08-16	08-24	1.25	1.17	1.31	2.78
C03	08-25	09-02	9.63	2.99	0.73	1.39
C04	08-28	09-05	7.58	2.21	0.4	0.00
C05	08-28	09-05	1.06	2.73	0.93	2.78
C06	08-28	09-05	1.51	1.95	0.39	1.23
C07	08-28	09-05	0.58	1.82	0.73	0.45
C08	08-26	09-04	6.52	2.86	1.12	4.17
C09	08-28	09-07	1.34	1.56	0.45	2.78
C10	08-28	09-06	8.62	4.43	0.25	0.00
C11	08-28	09-06	8.85	3.78	0.57	8.33
C12	08-28	09-05	8.02	3.78	1.36	2.41
C13	08-27	09-05	1.29	1.95	0.92	6.25
C14	08-28	09-05	8.96	5.60	1.1	1.56
CK	08-28	09-06	20.56	11.07	15.31	11.11

表 4 14 个改良系与武运粳 7 号产量性状的方差分析

Tab. 4 Variance analysis of yield traits for 14 improved lines and Wuyunjing 7

变异来源 SOV	自由度 df	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$	穗数 PNP	单株产量/g YP	千粒质量/g GW	结实率/% SP	每穗实粒数 FGNP
株系 Line	14	2.04	2.74	2.4	1.52	6.55	4.39	5.37
试点 Site	1	4.17	7.56	4.56	114.51	22.54	99.89	559.91
株系 × 试点 Line × Site	14	2.04	2.74	0.57	1.31	1.96	5.88	3.78

注: SOV. 变异来源; PNP. 穗数; YP. 单株产量; GW. 千粒重. SP. 结实率; FGNP. 每穗实粒数 表 5 同。

Note: SOV. Source of variability; PNP. Panicle number per plant; YP. Yield per plant; GW. 1000-grain weight; SP. Seed-setting percentage; FGNP. Total grain number per plant the same as Tab. 5.

表 5 14 个改良系及武运粳 7 号产量性状的比较

Tab. 5 Comparison of yield traits for 14 improved lines and Wuyunjing 7

株系 Line	穗数 PNP	单株产量/g YP	千粒质量/g GW	结实率/% SP	每穗实粒数 FGNP
C01	10.95**	30.67	26.21**	86.39%*	123.08**
C02	10.27**	30.84	26.52**	87.46%	135.78**
C03	9.48	35.49	26.78*	89.60%	158.83
C04	9.63	34.66	26.94	88.70%	146.23
C05	9.52	32.61	26.61*	89.24%	142.28
C06	9.70	34.44	27.03	90.18%	150.70
C07	9.73	35.14	27.66	92.64%	146.70
C08	10.32**	35.33	27.39	88.81%	144.80
C09	9.55	32.04	26.20**	90.91%	149.35
C10	9.75	33.24	27.01	86.15%**	138.98
C11	9.38	33.76	27.07	87.81%	149.08
C12	9.80	35.85	27.03	90.59%	154.03
C13	9.45	31.74	27.26	92.22%	140.35
C14	9.65	34.78	27.91	89.56%	144.05
CK	9.29	33.86	27.51	90.46%	153.96

注: * 和 ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著 表 6 同。

Note: * and ** indicate significant difference at the 0.05 and 0.01 probability levels respectively the Same as Tab. 6.

成熟后对 14 个改良系和对照武运粳 7 号进行小区测产,并对结果进行分析。由表 6 可以看出,改良系在溧水点的产量介于 8.29 ~ 9.73 t/hm²,武运粳 7 号的产量为 9.43 t/hm²;而在张家港点改良系的产量介于 7.54 ~ 9.79 t/hm²,武运粳 7 号的产量为 8.70 t/hm²。对 14 个改良系以及武运粳 7 号进行多重比较发现,C01、C02 的产量极显著低于武运粳 7 号,C09、C13 的产量显著低于武运粳 7 号,其他改良系与武运粳 7 号的产量均无显著差异。14 个改良株系中 C04、C11、C12、C14 等株系的产量表现较好,其数值在 2 个点均高于武运粳 7 号,平均增幅为 1.76% ~ 4.85%。

表 7 中列出了 14 个品系及对照武运粳 7 号的碾磨品质、外观品质和 RVA 谱特征值。各改良系的糙米率、精米率和长宽比与武运粳 7 号均无显著差异;C07、C08 等改良系的整精米率显著或极显著高于武运粳 7 号;贾良等^[25]认为,RVA 谱特征值尤其是回复值、消减值和崩解值能够较好地反映水稻品种间蒸煮食味品质的差异,隋炯明等^[26]研究认为,RVA 谱特征值中崩解值高,消减值、回复值低的品种类型,其米饭软而黏、有弹性、适口性好;而崩解值低,消减值、回复值高的品种类型,米饭硬而黏性小,适口性差。从表 7 中的 RVA 谱特征值来看,C08 这

个改良系的崩解值高,冷胶黏度、回复值、消减值显著或极显著低于武运粳 7 号较低,有可能食味品质好,RVA 谱特征值只能作为评价品种蒸煮食用品质的一个参考,从 RVA 谱特征值尚难判断改良系的食味品质优劣,可通过扩大鉴定规模,进行食味品评确定。

表 6 14 个改良株系和武运粳 7 号产量的比较

Tab. 6 Comparison of the yield for 14 improved lines and Wuyunjing 7

株系 Line	产量/(t/hm ²) Yield		
	溧水 Lishui	张家港 Zhangjiagang	平均 Average
C01	8.29	8.25	8.27 ^{**}
C02	8.30	7.54	7.92 ^{**}
C03	9.41	9.41	9.41
C04	9.70	9.11	9.41
C05	8.73	8.93	8.83
C06	9.09	8.94	9.02
C07	8.79	9.21	9.00
C08	8.68	9.79	9.23
C09	9.11	7.91	8.51 [*]
C10	9.64	8.06	8.85
C11	9.63	9.03	9.33
C12	9.73	8.85	9.29
C13	9.09	7.76	8.43 [*]
C14	9.72	9.30	9.51
CK	9.43	8.70	9.07

表 7 14 个 BC₄F₂ 株系及武育粳 7 号(CK)的品质性状

Tab. 7 Quality traits of 14 improved lines BC₄F₂ and Wuyunjing 7(CK)

系号 Line	出糙率/% BRR	精米率/% MRR	整精米率/% HRR	长宽比 AR	垩白粒率/% CP	垩白度/% CH	最高黏度 PKV	热浆黏度 HPV	冷浆黏度 CPV	崩解值 BDV	消减值 SBV	回复值 CSV	碱消值 AVS
C01	87.57	77.78	71.81	2.08	46.00	12.65	2 649.50	2 247.83	3 069.17	401.67	419.67 ^{**}	821.33 [*]	6.50
C02	88.20	77.20	64.05	2.08	48.33	12.66	2 633.83	2 345.00	3 112.67	288.83	478.83	767.67 ^{**}	6.00 [*]
C03	85.74	76.53	62.76 [*]	2.09	43.50 [*]	10.11 [*]	2 500.17	2 077.33	2 940.17 [*]	422.83	440.00 [*]	862.83	6.50
C04	85.93	77.67	72.41 [*]	2.08	48.50	12.08	2 500.33	2 194.50	3 039.00	305.83	538.67	844.50	7.00
C05	84.39	75.57	68.19	2.05	35.17 ^{**}	9.36 [*]	2 542.67	2 189.17	3 076.17	353.50	533.50	887.00	6.50
C06	86.00	77.64	72.12 [*]	2.07	40.50 ^{**}	9.85 [*]	2 627.33	2 260.33	3 170.67	367.00	543.33	910.33	7.00
C07	86.88	78.62	72.87 [*]	2.06	42.83 ^{**}	11.59	2 565.50	2 222.50	3 139.67	343.00	574.17	776.67 [*]	7.00
C08	85.29	77.51	73.71 ^{**}	2.06	46.00	14.71	2 553.00	1 935.50	2 946.67 [*]	617.50 ^{**}	393.67 ^{**}	823.00 [*]	6.50
C09	87.04	79.58	7.95 ^{**}	2.09	45.50	10.36	2 437.67	2 090.67	2 867.33 ^{**}	347.00	429.67 [*]	917.77	7.00
C10	84.69	77.29	74.48 ^{**}	2.07	44.00	14.40	2 472.83	2 208.67	2 904.5 [*]	264.17 [*]	574.17	695.83 ^{**}	6.50
C11	86.41	78.20	72.90 [*]	2.09	38.17 ^{**}	13.30	2 575.50	2 278.50	3 017.00	297.00	441.50 [*]	738.5 ^{**}	7.00
C12	85.40	77.66	71.19	2.11	33.00 ^{**}	12.14	2 642.00	2 337.00	3 112.33	305.00	470.33	775.33 [*]	6.50
C13	86.05	78.20	73.09 [*]	2.08	34.50 ^{**}	11.55	2 637.50	2 269.83	3 142.50	367.67	505.00	872.67	7.00
C14	84.64	77.10	70.79	2.05	47.17	14.90	2 459.50	1 997.00	3 001.00	462.50	541.50	1004.00	6.50
CK	86.03	77.73	67.46	2.08	49.50	13.29	2 577.00	2 112.50	3 153.17	464.50	576.17	1040.67	7.00

注^{*}. 表示显著高于或低于 CK; ^{**}. 表示极显著高于或低于 CK; BRR. 出糙率; MRR. 精米率; HRR. 整精米率; AR. 长宽比; CP. 垩白粒率; CH. 垩白度; PKV. 最高黏度; HPV. 热浆黏度; CPV. 冷浆黏度; BDV. 崩解值; SBV. 消减值; CSV. 回复值; AVS. 碱消值。

Note: ^{*}. Significantly higher or lower than CK at 0.05 probability level; ^{**}. Significantly higher or lower than CK at 0.01 probability level; BRR. Brown rice rate; MRR. Milled rice rate; HRR. Head rice rate; AR. Aspect ratio; CP. Chalky grain rate; CH. Chalkiness; PKV. Peak viscosity; HPV. Hot paste viscosity; CPV. Cool paste viscosity; BDV. Breakdown viscosity; SBV. Setback; CSV. Consistence; AVS. Alkali spreading value.

3 讨论

传统育种是根据表现型间接对基因型进行选择,这给许多受环境条件影响较大性状的选择带来许多困难。如植物的抗病虫等性状由于受接种传毒及环境等发病条件的影响,抗性鉴定较为困难,常规方法选择效率及准确性较低。分子标记辅助选择是利用与目的基因紧密连锁的分子标记来选择基因型,不受环境条件的影响,可以缩短育种年限,提高选择效率,是作物育种的重要手段。伴随水稻功能基因组研究的迅速发展,特别是多种分子标记技术的开发应用、检测技术的简化和试验成本的降低,分子标记辅助选择在水稻育种中得到广泛应用^[27-28]。由于水稻条纹叶枯病是由介体昆虫灰飞虱传毒造成的,也就是说条纹叶枯病涉及到植物、昆虫和病毒三者之间的互作,增强了研究的复杂性和难度。水稻植株感病后产生的症状受到许多因素的影响,对该病的表型鉴定也存在很大的主观性,对于在病虫未危害或发病条件不充分的情况下(例如传毒媒介灰飞虱少、带毒率低等),抗与不抗表现型难以区别。即使在发病条件充分的情况下,根据植株表现型来选择抗病单株也很困难。因此,在一定程度上限制了水稻抗条育种的效率和准确性。为改善某品种的某一性状,常用的方法是以此品种作轮回亲本,以具有目的性状基因的另一品系为供体亲本,经多次回交,将目的基因从供体亲本转入受体亲本,从而使轮回亲本的基因型变得更理想。同时,在回交育种过程中,利用与目的基因紧密连锁的分子标记,可以直接选择在目的基因附近发生重组的个体,快速高效检测到阳性株,确保回交育种时目标基因不丢失,从而避免或显著减少连锁累赘,提高了育种的准确性和效率。

本研究注重理论与生产实践的紧密结合,目的是对高产粳稻品种武运粳7号的条纹叶枯病抗性进行遗传改良以提高其抗病性。武运粳7号为受体亲本,通过杂交和回交,以及利用与条纹叶枯病抗性基因紧密连锁的标记ST-10进行辅助选择,对武运粳7号改良系的鉴定结果表明,其条纹叶枯病的抗性都有了明显提高。说明基于目前的定位结果,用对条纹叶枯抗病基因分子标记辅助选择的技术改良水稻品种抗性是有效、可行的,也证实了ST-10的选择是非常有效的。经继续选择后,有望育成保持或超过武运粳7号的抗条纹叶枯病新品种。

本研究在选育抗条纹叶枯病水稻品种的同时,兼顾了其他重要病虫害抗性,尤其是黑条矮缩病抗

性的选择,以及农艺性状与稻米品质的选拔,注重分子标记选择与常规育种手段的结合,努力使抗性、产量与品质达到同步改良^[29]。

分子标记辅助选择虽然具有得天独厚的优越性,但它毕竟只是一种辅助手段,因此,它必须与常规的育种方法相结合,找到它们之间的最佳结合点,才能达到既加快育种进程又降低劳动强度和费用的理想效果。本试验采用分子标记和回交育种结合,将*Stw-bⁱ*基因导入武育粳7号,获得与轮回亲本相似的纯合抗病单株。其中分子标记选择与表型选择相结合起了重要的作用。

随着更多条纹叶枯病抗性基因的精细定位与克隆,以及分子标记辅助选择技术的日臻成熟,利用分子标记辅助选择改良水稻条纹叶枯病将成为水稻抗性分子育种的主流,并显示出广泛的应用前景。

4 结论

高产粳稻品种武运粳7号从育成品系到年种植面积突破66.7万hm²,仅用了5年时间,其推广速度之快,覆盖范围之广,应用面积之大,创造了同类品种之最^[30]。但该品种高感条纹叶枯病,限制了进一步的推广,因此,将其确定为条纹叶枯病抗性改良的目标品种。本研究以关东194为抗性供体亲本,利用与条纹叶枯病抗性基因紧密连锁的分子标记辅助选择改良武运粳7号的条纹叶枯病抗性,筛选出对条纹叶枯病抗性有明显提高的14个株系,综合比较条纹叶枯病抗性、产量性状和品质性状,获得了2个比较优良的株系,即C08和C14。这2个改良株系其综合性状与武运粳7号已十分相近,保持了武运粳7号丰产性的同时条纹叶枯病抗性有了极显著的提高。

参考文献:

- [1] 白雪亮,王金菊,周维,等.水稻条纹叶枯病的研究进展.生物学通报[J],2007,42(8):4-6.
- [2] 周彤,吉键安,周益军,等.水稻品种(系)田间抗条纹叶枯病的鉴定初报[J],江苏农业学报,2006,22(4):468-469.
- [3] 吴书俊,钟环,左慧,等.水稻抗条纹叶枯病的遗传与育种研究进展[J].中国农学通报,2007,23(1):244-247.
- [4] 杨荣明,刁春友,朱叶芹.江苏省水稻条纹叶枯病上升原因及防治对策[J].植保技术与推广,2002,22(3):9-10.
- [5] 王才林,张亚东,朱镇,等.水稻条纹叶枯病抗性育种研究[J].作物学报,2008,34(3):530-533.
- [6] Washio O, Ezuka A, Sakurai Y *et al.* Testing method for ge-

- netics of and breeding for resistance to rice stripe disease [J]. Bull Chugoku Agr Exp Sta Ser A 1968 16: 39 – 197.
- [7] Hayano Y ,Tsuiji T ,Fujii K *et al.* Localization of the rice stripe disease resistance gene *Stv-bⁱ* by graphical genotyping and linkage analyses with molecular markers [J]. Theoretical and Applied Genetics 1998 96: 1044 – 1049.
- [8] Hayano-Saito Y ,Saito K ,Nakamura S *et al.* Fine physical mapping of the rice stripe resistance gene locus *Stv-bⁱ* [J]. Theoretical and Applied Genetics 2000 101: 59 – 63.
- [9] 姚 姝 陈 涛 张亚东,等. 江苏省部分粳稻品种对条纹叶枯病的抗性鉴定及分子检测 [J]. 江苏农业学报 2009 25(6) : 1201 – 1206.
- [10] 孙林静 冯忠友 苏京平,等. 水稻抗条纹叶枯病基因 *Stv-bⁱ* 的分子标记检测 [J]. 天津农业科学 2007 13(3) : 9 – 11.
- [11] 王 军 杨 杰 曹 卿,等. 分子标记 ST10 对水稻条纹叶枯病抗性基因 *Stv-bⁱ* 的检测 [J]. 分子植物育种 2009 7(5) : 912 – 915.
- [12] Tsuiji N. SCAR marker for selection of the rice stripe resistance gene *Stv-bⁱ* [J]. Japan Breeding Research 2000 (2) : 67 – 72.
- [13] 陈 峰 周继华 张士永,等. 水稻抗条纹叶枯病基因 *Stv-bⁱ* 的分子标记辅助选择 [J]. 作物学报 2009 35(4) : 597 – 601.
- [14] 李余生 陈 涛 虞秋成,等. 水稻抗条纹叶枯病基因 *Stv-bⁱ* 连锁分子标记的鉴定及利用 [J]. 江苏农业学报 2009 25(3) : 459 – 463.
- [15] 张宏根 李 波 朱正斌,等. 分子标记辅助选择改良武育粳 3 号的条纹叶枯病抗性 [J]. 中国水稻科学 2009 23(3) : 263 – 270.
- [16] 潘学彪 陈宗祥 左示敏,等. 以分子标记辅助选择育成抗条纹叶枯病水稻新品种“武陵粳 1 号” [J]. 作物学报 2009 35(10) : 1851 – 1857.
- [17] 陈 峰 张士永 朱文银,等. 分子标记辅助选择改良圣稻 13 和圣稻 14 的条纹叶枯病抗性 [J]. 中国农业科学 2010 43(16) : 3271 – 3279.
- [18] 张宏根 许作鹏 李 鹏,等. 分子标记辅助选择改良武运粳 8 号的条纹叶枯病抗性 [J]. 作物学报 2011 37(5) : 745 – 754.
- [19] Washio O ,Ezuka A ,Sakuragi Y *et al.* Studies on the breeding of rice varieties resistant to stripe disease. Varietal difference in resistance to rice stripe disease [J]. Jpn J Breeding 1967 17(2) : 91 – 97.
- [20] Dellaportia S L ,Wood J ,Hicks J B. A plant DNA mini preparation: Version II [J]. Plant Mol Biol Rep 1983 1: 19 – 21.
- [21] Chen X ,Temnykh S ,Xu Y *et al.* Development of a microsatellite framework map providing genome wide coverage in rice(*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics 1997 95: 553 – 567.
- [22] Washio O ,Ezuka A ,Sakuragi Y. Studies on the breeding of rice varieties resistant to stripe disease I . Varietal difference in resistance to rice stripe disease [J]. Japan J Breeding 1976 17(1) : 91 – 98.
- [23] 周 彤 周益军 程兆榜,等. 粳稻品种对水稻条纹叶枯病的抗性鉴定及抗病品种镇稻 88 的遗传分析 [J]. 植物保护学报 2007 35(5) : 475 – 479.
- [24] 国家质量技术监督局. 中华人民共和国国家标准 GB/T17891 – 1999: 优质稻谷 [S]. 北京: 中国标准出版社 2000.
- [25] 贾 良 丁雪云 王平荣,等. 稻米淀粉 RVA 谱特征及其与理化品质性状相关性的研究 [J]. 作物学报 2008 34(5) : 790 – 794.
- [26] 隋炯明 李 欣 严 松,等. 稻米淀粉 RVA 谱特征与品质性状相关性研究 [J]. 中国农业科学 2005 38(4) : 657 – 663.
- [27] 曹立勇 庄杰云 占小登,等. 抗白叶枯病杂交水稻的分子标记辅助育种 [J]. 中国水稻科学 2003 17(2) : 184 – 186.
- [28] 潘海军 王春连 赵开军,等. 水稻抗白叶枯病基因 *Xa23* 的 PCR 分子标记定位及辅助选择 [J]. 作物学报 2003 29(4) : 501 – 507.
- [29] 景德道 盛生兰 刁立平,等. 水稻抗条纹叶枯病育种实践与策略 [J]. 安徽农业科学 2008 36(3) : 917 – 918 925.
- [30] 钮中一 朱邦辉 石世杰,等. 武运粳 7 号的选育应用及育种技术路线探讨 [J]. 中国稻米 2008 3: 33 – 35.