

杨瑰丽, 张瑞祥, 王慧, 等. 利用分子标记辅助选择改良水稻保持系香味和稻瘟病抗性 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(3): 9-17.
YANG Guili, ZHANG Ruixiang, WANG Hui, et al. Improving rice blast resistance and fragrance of rice maintainer through marker-assisted selection[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(3): 9-17.

利用分子标记辅助选择改良水稻保持系香味和稻瘟病抗性

杨瑰丽, 张瑞祥, 王 慧, 陈 淳, 黄翠红, 郑陶陶, 刘永柱
(华南农业大学 农学院/国家植物航天育种工程技术研究中心, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】优质抗病水稻保持系的获得是改良不育系品质与抗性的前提, 利用分子标记辅助选择技术进行定向改良, 可以加速优异水稻保持系的改良进程。【方法】以‘恒丰 B’、‘广 8B’为轮回亲本, 利用携带香味基因 *Badh2* 和抗稻瘟病基因 *Pita* 的‘B39’作为供体亲本, 利用分子标记开展连续回交育种, 定向改良‘恒丰 B’、‘广 8B’的品质和抗性性状。【结果】通过多代回交选育, 获得了 14 份 BC₃F₂ 改良材料。利用改良单株系与对应的不育系测交, 测保对应的小区不育等级为全不育和高不育; 通过品质和抗性鉴定, 改良后的目标株系香味评级为香味较浓; 稻瘟病抗性均有进一步提高, 经病圃鉴定表现为抗或高抗稻瘟病; 稻米品质表现为米粒细长、低直链淀粉、低垩白; 其他农艺经济性状与轮回亲本相似; 改良后的株系遗传背景回复率在 80%~90% 之间, 达到预期回复效果。【结论】结合分子标记辅助选择的定向改良缩短了优质抗性保持系改良的育种进程, 在较短时间内获得了在稻米品质、抗病性、香味性状上具有改良的新保持系, 实现了‘恒丰 B’、‘广 8B’在香味性状和稻瘟病抗性方面的定向改良, 为进一步协同改良三系杂交水稻的稻米品质和抗性提供了新的材料基础。

关键词: 水稻; 保持系; 分子标记辅助选择; 稻瘟病抗性; 稻米品质

中图分类号: S435.111.41

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2022)03-0009-09

Improving rice blast resistance and fragrance of rice maintainer through marker-assisted selection

YANG Guili, ZHANG Ruixiang, WANG Hui, CHEN Chun, HUANG Cuihong, ZHENG Taotao, LIU Yongzhu
(College of Agriculture, South China Agricultural University/ National Engineering Research Center of Plant Space Breeding, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】The acquisition of high quality disease-resistant rice maintainers is the premise of improving the quality and resistance of sterile lines. The molecular marker-assisted selection (MAS) can be used for oriented breeding and accelarating the breeding process of elite rice maintainers. 【Method】‘Hengfeng B’ and ‘Guang 8B’ were used as recurrent parents, and ‘B39’ carrying fragrance gene *Badh2* and rice blast resistance gene *Pita* was used as donor parent. The successive backcross breeding and MAS technology was combined to improve the quality and resistance traits of these two maintainer lines. 【Result】Through multi-generation backcross breeding, 14 samples of BC₃F₂ improved materials were obtained. The improved single-

收稿日期: 2021-10-01 网络首发时间: 2022-03-28 11:16:26

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20220325.1411.004.html>

作者简介: 杨瑰丽, 助理研究员, 博士, 主要从事作物遗传育种研究, E-mail: yanggl@scau.edu.cn; 通信作者: 刘永柱, 副研究员, 博士, 主要从事作物遗传育种研究, E-mail: lively@scau.edu.cn

基金项目: 广东省重点领域研发计划 (2018B020202004-01)

plant line was tested with the corresponding sterile line, and the sterility grades of the corresponding plot were fully sterile and high sterile. Through quality and resistance identification, most of improved target strains were rated as strong aroma. The resistance to rice blast significantly improved and the disease nursery identification showed that they were resistant or highly resistant to rice blast. Rice quality was characterized by slender rice grains with low amylose content and low chalkiness. Other agronomic and economic characteristics were similar to the recurrent parent. The genetic background recovery rates of most strains were 80% to 90% which met the estimated recovery effect. 【Conclusion】MAS shortens the process of trait improving for maintainer lines, helps acquiring improved maintainers with better quality, stronger blast resistance and fragrance, and realizes the oriented genetic improvement of ‘Hengfeng B’ and ‘Guang 8B’, which lays a foundation for further integrated improvement in rice quality and resistance of three-line hybrid rice.

Key words: *Oryza sativa*; Maintainer line; Molecular marker assisted selection; Blast resistance; Rice quality

水稻 *Oryza sativa* 是我国的主要粮食作物之一, 是保障我国粮食安全的压舱石。随着生活水平和人民生活水平的提高, 稻米品质越来越成为人们关注的重点, 稻米的食味品质、香味等性状越来越成为影响消费者喜好的重要因素^[1], 具有香味的稻米尤其更具有市场优势。除优质外, 高抗病性也是好的杂交稻品种的必备品质, 而稻瘟病是我国水稻主要病害之一, 近年来我国稻瘟病年发生面积约 5×10^6 hm²^[2]。聚合多个稻瘟病抗性基因、培育高抗水稻品种是防控稻瘟病最经济有效的途径。分子标记辅助选择 (Molecular marker-assisted selection, MAS) 技术通过与传统杂交育种相结合, 可快速聚合和转移有利基因, 进而提高选择效率, 缩短育种年限, 成为重要的育种辅助手段^[3-7]。‘恒丰 B’和‘广 8B’是具有优良育种潜力的保持系材料, 所分别对应的‘恒丰 A’和‘广 8A’育成的一系列三系杂交稻品种, 丰产性好, 优势明显^[8], 但是在抗病性上还有改良的空间, 同时这 2 个保持系稻米缺乏香味。本研究以‘恒丰 B’和‘广 8B’为材料, 利用前期所创制的携带有 *Pita*、*Badh2* 等优异等位基因的保持系材料‘B39’, 结合分子标记辅助选择, 对 2 个保持系稻瘟病抗性和米质相关性状进行定向改良, 以期得到优质、高抗的新保持系, 为培育新的优质不育系和综合性状优良的杂交稻组合奠定材料基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

轮回亲本: 保持系材料‘恒丰 B’(广东省农科院水稻研究所利用‘黄壳香选’与保持系种质‘113B’杂交选育); 保持系材料‘广 8B’(广东省农

科院水稻研究所由‘增城丝苗-8 选’和‘1325B’杂交选育)。“恒丰 B”和“广 8B”稻米无香味; ‘恒丰 B’稻瘟病抗性表现为中抗, ‘广 8B’稻瘟病抗性为抗。

供体亲本: 国家植物航天育种工程技术研究中心选育的保持系材料‘B39’。该保持系材料具有香味, 稻瘟病抗性表现为高抗。前期基因背景分析表明, ‘B39’携带 *Pita*、*badh2* 等优异等位基因。本研究重点为对以上基因位点进行定向筛选。

1.2 群体构建与后代筛选路线

在 2017 年早造, 分别以‘恒丰 B’和‘广 8B’为母本, 以‘B39’为父本进行杂交; 2017 年晚造, 种植相应 F₁, ‘恒丰 B’和‘广 8B’分别作为轮回亲本, 进行回交获得回交一代 (BC₁F₁); 2018 年早造, 种植相应 BC₁F₁, ‘恒丰 B’和‘广 8B’分别作为轮回亲本, 进行回交获得回交二代 (BC₂F₁); 2018 年晚造, 种植相应 BC₂F₁, ‘恒丰 B’和‘广 8B’分别作为轮回亲本, 进行回交获得回交三代 (BC₃F₁)。每个回交世代中, 根据株叶形态选择外观与轮回亲本相似性最高的个体筛选目标基因型, 再根据株高、抽穗期和粒型等农艺性状, 确定改良单株, 继续与轮回亲本回交。2019 年早造种植相应 BC₃F₁; 2019 年晚造种植相应 BC₃F₂, 并对 F₂ 群体的单株进行稻米品质、稻瘟病抗性 & 农艺性状考察。具体流程见图 1。

1.3 水稻农艺性状调查与稻米品质性状鉴定

供试材料于 2017 年至 2019 年早、晚季种植于广州市华南农业大学国家植物航天育种工程技术研究中心试验基地, 田间管理 (水、肥、病虫害防治等) 按当地大田常规栽培要求实施。籽粒完熟期调查水稻主要农艺性状, 稻谷收获烘干后放置 3 个

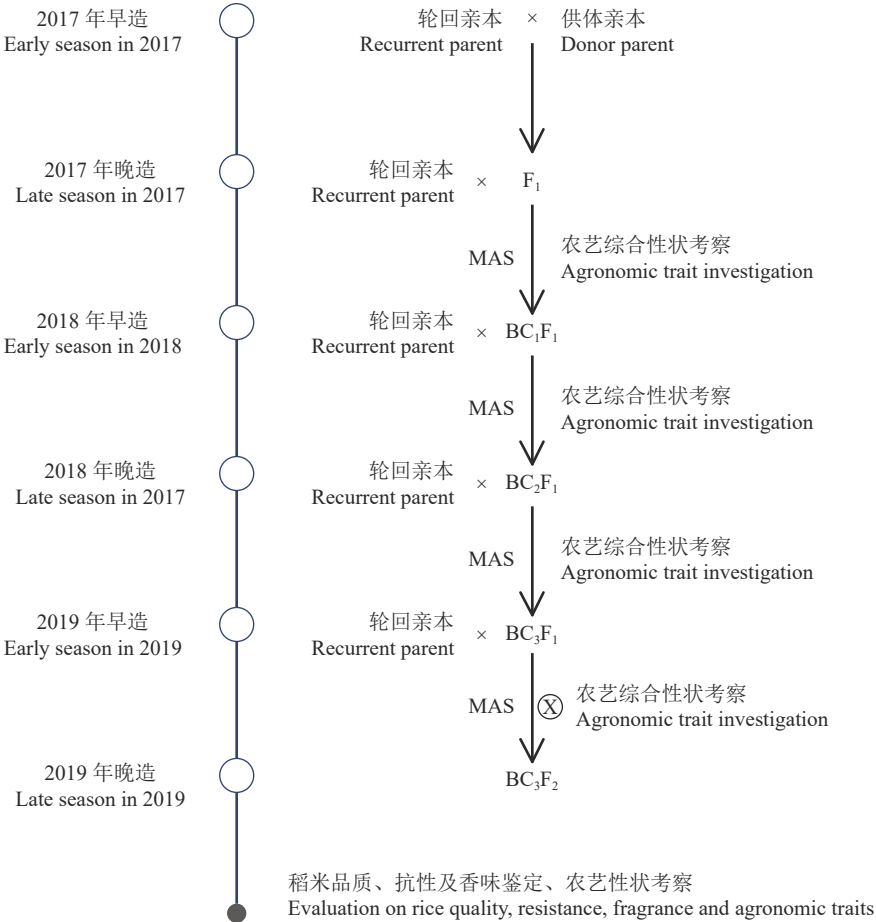


图 1 分子标记辅助选择 (MAS) 改良水稻保持系香味和稻瘟病抗性技术流程图

Fig. 1 Process scheme of improving rice fragrance and blast resistance of rice maintainer through molecular marker-assisted selection(MAS)

月,按照农业部标准米质测定方法 NY147—88^[9]进行碾磨品质、外观品质、直链淀粉含量 (Amylose content, AC)、胶稠度 (Gel consistency, GC) 和碱消值 (Alkali spreading value, ASV) 等理化指标的测定。稻米香味的测定采用较为便捷和准确的 KOH 浸泡法,称取 2 g 糙米放入试管中,加入 10 mL 0.3 mol/L KOH 溶液,加盖振荡使溶液和米粒充分接触,放入 50 ℃ 烘箱加热 10 min 后,根据标准香味样品,打开试管进行香味鉴别,每个样品设置 3 个重复。

1.4 分子标记检测

采用 CTAB 法提取水稻幼嫩叶片基因组 DNA。目标基因 *Badh2* 的基因分型采用毛细管电泳分析,PCR 扩增产物检测采用自动荧光毛细管电泳 (Fragment Analyzer™, USA),利用 PROSize 3.0 对电泳结果进行分析,确定基因型。抗性基因 *Pita* 的基因分型采用高分辨率溶解曲线分析 (High-resolution melting analysis, HRM) 技术,该技术利用基因组单碱基差异对目的基因型进行区分,具体分析方法参考 Luo 等^[10]。本试验中所涉及的引物由生

工生物技术有限公司合成,具体序列信息见表 1。

1.5 抗稻瘟病测定

水稻材料的稻瘟病抗性鉴定采用病区自然诱发病鉴定方法^[11]。2019 年晚造亲本和 6 份 ‘恒丰 B’ 的 BC₃F₂ 改良株系以及 8 份 ‘广 8B’ 的 BC₃F₂ 改良株系种植于位于从化吕田的典型稻瘟病代表性自然诱发病圃,在该病圃进行田间穗颈瘟抗性测验。每品系种 5 行,每行 5 穴,每穴 2~3 苗,周边插植 2 行高感稻瘟病品种 CO39。

1.6 改良株系测保

测定改良的后代株系对于相应不育系的雄性不育保持力。2019 年早造分别选取 ‘恒丰 B’ 的 BC₃F₁ 和 ‘广 8B’ 的 BC₃F₁ 株系进行单株测保检测,2019 年晚造套袋后调查单株不育系自交结实率。同时,利用碘-碘化钾染色法鉴定水稻花粉育性,最终根据自交结实率及育性检测结果保留测保全不育和高不育的保持系株系。

1.7 改良株系的遗传背景回复率测定

选取 7 份 BC₃F₂ 改良材料,利用水稻 20K SNP 芯片对改良材料的遗传背景回复率进行分析。该

表 1 目标检测基因及引物序列
Table 1 Target genes and molecular marker sequences

分型方法 Genotyping method	靶基因 Target gene	基因型 Allele	表型 Phenotype	扩增产物/bp Amplicon	退火温度/℃ Annealing temperature	正向/反向引物 Forward/reverse primer	引物序列 Primer sequence
毛细管电泳 Capillary electrophoresis	<i>Badh2</i>	第7外显子	香 Fragrant	360+215	57	正向 Forward	GGGAGTTATGAA
		8 bp缺失					ACTGGTAAAAAGA
		8 bp deletion				反向 Reverse	AACCATAGGAG
		in the					CAGCTGAAATA
		7 th exon					
高分辨率溶 解曲线分析 HRM	<i>Pita</i>	无8 bp缺失	不香	368+188	57	正向 Forward	CTTCCTTCAGG
		No 8 bp	Not fragrant				TGTGCTAAACA
		deletion				反向 Reverse	GAATGATGCTCA
							AAGTGTCTTGA
							CCCAGGTTACAA
						反向 Reverse	CTTACAAGGA
							CTCTGAAGACG
							TGAAGAGGATT
						正向 Forward	CTTCTTTCTTT
						反向 Reverse	CTCTGCCGTGG
							TCATCAAGTCAG
							GTTGAAGATGC

部分分析工作由石家庄博瑞迪生物技术有限公司完成。

2 结果与分析

2.1 回交后代的分子标记辅助筛选

对改良群体进行抗病基因 *Pita* 和香味基因 *Badh2* 的分子标记检测, 其中 *Pita* 利用 HRM 进行基因分型分析, *Badh2* 采用毛细管电泳进行基因分

型分析。每造选取杂合基因型的材料与轮回亲本回交, BC₃F₂ 选取纯合抗病基因型的单株进行下一步筛选。香味基因分型结果显示, BC₃F₂ 改良材料均为携带优异香味基因 *Badh2*(图 2)。对抗病基因 *Pita* 的 HRM 基因分型分析可以对亲本及后代改良株系进行有效鉴定与筛选(图 3)。“恒丰 B”与“广 8B”的改良后代 BC₃F₂ 株系在该位点均携带有 *Pita* 抗性基因。

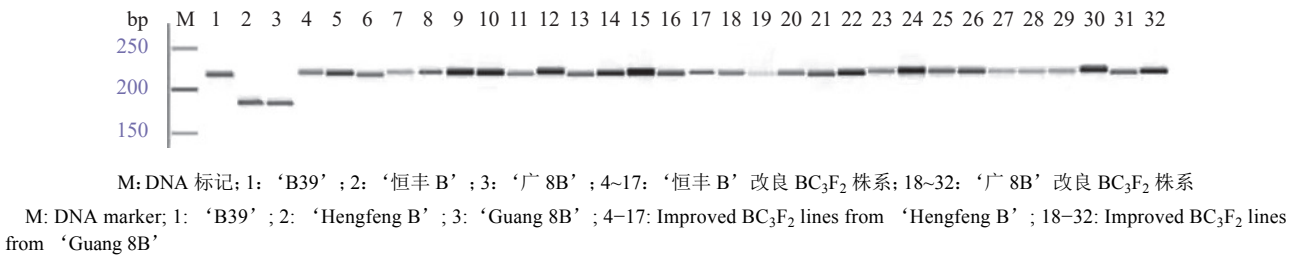


图 2 亲本和改良后代 BC₃F₂ 株系 *Badh2* 基因分型毛细管电泳结果

Fig. 2 Genotyping of *Badh2* of parents and the genetically-improved BC₃F₂ lines detected by capillary electrophoresis

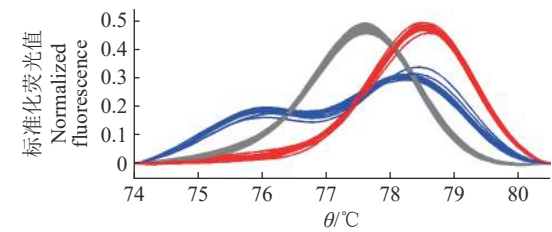
2.2 回交后代株系的稻瘟病抗性鉴定

2019 年晚造送测“恒丰 B”的 BC₃F₂ 改良材料 6 份、“广 8B”的 BC₃F₂ 改良材料 8 份, 并进行病区自然诱发病鉴病圃测定。测抗结果显示, 与轮回亲本“恒丰 B”相比, 改良后代材料发病率为 5%~20%, 穗瘟病级分布 1~3 级, 80% 改良材料稻瘟病抗性评价为“抗”, 20% 表现为“高抗”, 抗病表现明显优于“恒丰 B”(表 2)。与轮回亲本“广 8B”相比, 改良后代材料发病率为 5%~20%,

穗瘟病级分布 1~3 级, 75% 改良材料稻瘟病抗性评价为“抗”, 25% 表现为“高抗”, 抗病表现较亲本略有提升(表 3)。

2.3 改良后代株系主要农艺性状、稻米品质性状及香味鉴定结果

对“恒丰 B”和“广 8B”相应的 BC₃F₂ 改良单株系主要农艺性状、稻米品质性状等进行了调查, 结果显示, BC₃F₂ 改良单株系株高、剑叶长宽性状、结实率和长宽比等性状与原轮回亲本都较



灰色曲线表示位点含纯合有利等位基因 (‘B39’ 为此基因型); 红色曲线表示位点不含抗性有利等位基因; 蓝色曲线表示位点杂合

Grey lines represent the rice lines harboring elite homozygous allele(‘B39’ has the genotype), red lines represent the rice lines not carrying the elite allele, and blue lines represent the rice lines harboring heterozygous alleles

图 3 亲本和改良后代 BC₃F₂ 株系 *Pita* 基因分型 HRM 分析结果

Fig. 3 HRM genotyping of *Pita* of parents and the genetically-improved BC₃F₂ lines

为相似。‘恒丰 B’ 的 BC₃F₂ 改良单株系虽然有效穗数均减少, 但每穗粒数增加, 因此千粒质量相对于亲本反而表现出一定优势; 而 ‘广 8B’ 的 BC₃F₂ 改良单株系则相反, 有效穗数均表现为增加, 每穗粒数较亲本有的增加、有的减少, 但总体而言千粒质量相对于亲本也表现出一定优势 (表 4)。改良后代株系在穗型方面较亲本相比, 部分表现出穗长增加、着粒更密 (图 4、图 5); 而在株型方面, 大多数改良后代株型比亲本更紧凑 (图 6、图 7)。

‘恒丰 B’ 和 ‘广 8B’ 的 BC₃F₂ 改良株系在稻米垩白和碾磨品质方面与相应轮回亲本差别不大; ‘恒丰 B’ 的 BC₃F₂ 改良株系直链淀粉含量平

表 2 ‘恒丰 B’ 改良后代 BC₃F₂ 稻瘟病抗性鉴定结果

Table 2 Rice blast resistance identification of the genetically-improved BC₃F₂ lines from ‘Hengfeng B’

材料 Material	来源 Origin	<i>Pita</i> 基因分型 Genotyping of <i>Pita</i>	阳江穗瘟感病级数 Disease grade of neck blast in Yangjiang	发病率/% Incidence	评价 Evaluation
H1	BC ₃ F ₂ (恒丰B/B39)	纯合 Homozygous	3	10	抗 Resistant
H2	BC ₃ F ₂ (恒丰B/B39)	纯合 Homozygous	3	5	抗 Resistant
H3	BC ₃ F ₂ (恒丰B/B39)	纯合 Homozygous	1	5	高抗 Highly resistant
H4	BC ₃ F ₂ (恒丰B/B39)	杂合 Heterozygous	3	20	抗 Resistant
H5	BC ₃ F ₂ (恒丰B/B39)	纯合 Homozygous	3	10	抗 Resistant
H6	BC ₃ F ₂ (恒丰B/B39)	纯合 Homozygous	3	20	抗 Resistant
A1	恒丰B	无 None	5	20	中抗 Medium resistant
A3	B39	纯合 Homozygous	1	1	高抗 Highly resistant

表 3 ‘广 8B’ 改良后代 BC₃F₂ 稻瘟病抗性鉴定结果

Table 3 Rice blast resistance identification of the genetically-improved BC₃F₂ lines from ‘Guang 8B’

材料 Material	来源 Origin	<i>Pita</i> 基因分型 Genotyping of <i>Pita</i>	阳江穗瘟病级 Disease grade of neck blast in Yangjiang	发病率/% Incidence	评价 Evaluation
G1	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	纯合 Homozygous	3	5	抗 Resistant
G2	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	纯合 Homozygous	1	5	高抗 Highly resistant
G3	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	杂合 Heterozygous	3	20	抗 Resistant
G4	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	纯合 Homozygous	3	20	抗 Resistant
G5	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	纯合 Homozygous	3	10	抗 Resistant
G6	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	纯合 Homozygous	3	10	抗 Resistant
G7	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	杂合 Heterozygous	3	5	抗 Resistant
G8	BC ₃ F ₂ (广8B/B39)	纯合 Homozygous	1	5	高抗 Highly resistant
A2	广8B	无 None	3	20	抗 Resistant
A3	B39	纯合 Homozygous	1	1	高抗 Highly resistant

表 4 亲本和改良后代 BC₃F₂ 株系的主要农艺性状

Table 4 Main agronomic characteristics of parents and the genetically-improved BC₃F₂ lines

材料 Material	株高/cm Plant height	剑叶长/cm Leaf length	剑叶宽/cm Leaf width	单株穗质量/g Panicle weight per plant	有效穗数 Effective panicle number	穗长/cm Panicle length	每穗粒数 Grains per spike	结实率/% Seed setting rate	长宽比 Grain length-to-width ratio	千粒质量/g 1 000-seed weight
恒丰B	108.6±0.07	37.3±2.78	2.3±0.06	27.2±1.42	9.0±0.00	22.4±0.33	180.4±8.80	80.3±0.67	4.5±0.02	19.7±0.23
H1	109.8	36.8	2.3	28.5	7	20.95	207.25	79.32	4.56	19.79
H2	108.7	38.5	2.3	29.1	7	24.12	199.42	81.15	4.33	19.56
H3	109.8	39.8	2.2	31.2	8	24.01	201.17	79.65	4.35	19.96
H4	111.3	35.8	2.4	27.6	8	20.62	197.25	81.02	4.34	19.71
H5	112.3	36.7	2.3	27.5	7	23.63	210.71	80.62	4.27	20.09
H6	106.5	40.6	2.3	29.8	7	21.71	198.60	80.31	4.32	20.11
广8B	109.9±0.75	37.3±0.34	1.9±0.03	30.8±2.52	7.6±0.33	22.2±0.43	206.5±3.40	73.0±1.15	4.1±0.12	15.8±0.03
G1	110.9	37.4	1.8	34.1	8	25.95	207.11	74.15	4.16	14.63
G2	111.3	38.5	1.9	28.8	8	23.36	196.75	75.03	4.14	14.93
G3	112.3	36.7	1.9	31.6	7	22.97	187.00	71.98	4.20	15.24
G4	111.2	35.7	2.0	32.8	9	22.33	195.08	71.65	4.06	15.61
G5	113.7	36.5	1.8	27.9	8	22.44	214.22	72.81	4.08	17.08
G6	112.8	38.5	1.8	28.5	8	21.83	202.88	76.01	4.12	16.08
G7	110.6	39.2	2.1	29.2	9	22.22	196.75	69.98	4.04	15.96
G8	112.4	37.5	1.9	28.9	8	23.14	189.64	71.65	4.16	16.15
B39	98.9±1.02	41.1±0.50	1.9±0.03	24.3±0.73	8.6±0.33	22.9±0.64	166.4±24.88	79.0±8.51	3.7±0.77	19.2±0.19



图 4 ‘恒丰 B’ 及其后代改良株系 H2 和 H4 穗型对比
Fig. 4 Panicles of ‘Hengfeng B’ and its genetically improved lines, H2 and H4

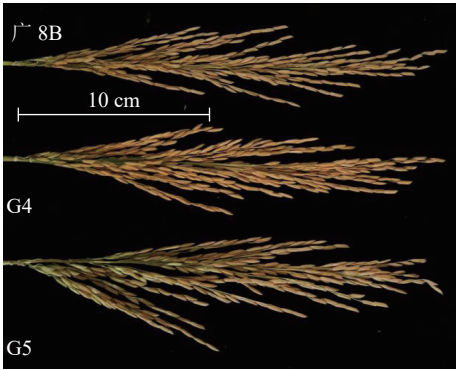


图 5 ‘广 8B’ 及其后代改良株系 G4 和 G5 穗型对比
Fig. 5 Panicles of ‘Guang 8B’ and its genetically improved lines, G4 and G5



图 6 ‘恒丰 B’ 及其后代改良株系 H2 和 H4 株型对比
Fig. 6 Plant types of ‘Hengfeng B’ and its genetically improved lines, H2 and H4



图 7 ‘广 8B’ 及其后代改良株系 G4 和 G5 株型对比
Fig. 7 Plant types of ‘Guang 8B’ and its genetically improved lines, G4 and G5

均约为 18.4%，‘广 8B’ 的 BC₃F₂ 改良株系直链淀粉含量平均约为 17.5%，基本保持了各自亲本的低直链淀粉含量特性；在胶稠度方面，2 个改良后代群体株系均表现出长胶属性，胶长在 60 mm 以上，碱消值在 5.7 左右；香味鉴定结果显示，所有改良材料均表现为有香味 (表 5)。

表 5 亲本和改良后代 BC₃F₂ 株系的稻米品质性状

Table 5 Rice quality traits of parents and the genetically-improved BC₃F₂ lines

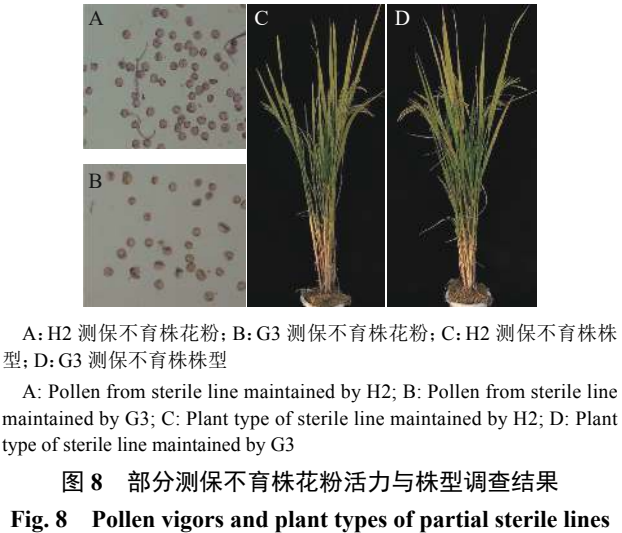
材料 Material	垩白粒率/% Chalky grain percentage	垩白度/% Chalk degree	糙米率/% Brown rice rate	精米率/% Milled rice ratio	整精米率/% Head yield	w(直链淀粉)/% Amylose content	胶稠度/mm Gel consistency	碱消值 Alkali spreading value	香味性状 Fragrance
恒丰B	4.3±0.16	13.8±0.12	73.8±0.48	62.7±0.61	50.1±0.64	18.6±0.41	61.7±0.26	5.7±0.17	不香
H1	4	13.67	72.97	63.14	50.91	18.54	63.4	5.74	香
H2	3	12.57	74.55	63.25	49.67	17.56	62.9	5.68	香
H3	3	14.52	74.96	63.21	51.34	19.45	63.7	5.64	香
H4	4	11.54	73.53	64.50	50.29	18.21	61.7	5.24	香
H5	5	13.24	71.97	61.34	51.98	17.96	62.8	5.36	香
H6	5	12.47	72.58	62.25	50.47	18.47	63.7	5.28	香
广8B	3.9±0.64	19.7±0.25	71.6±0.67	61.8±0.94	51.5±0.47	17.9±0.28	63.8±0.54	5.6±0.23	不香
G1	4	18.45	71.45	61.47	51.74	17.58	64.5	5.91	香
G2	3	17.21	70.86	60.57	51.02	17.12	65.3	5.64	香
G3	4	16.84	70.67	60.97	50.86	18.56	64.1	5.17	香
G4	5	19.57	71.96	61.56	50.34	18.23	65.8	5.87	香
G5	3	16.58	71.54	61.32	51.21	17.56	64.7	5.63	香
G6	4	18.59	71.61	61.87	51.23	16.87	65.9	5.67	香
G7	4	15.34	70.34	60.25	50.67	17.54	66.7	5.85	香
G8	3	18.57	72.47	62.19	51.11	16.98	64.8	5.47	香
B39	3.1±0.25	12.9±0.64	75.4±0.23	64.9±0.47	53.8±0.96	16.4±0.84	65.9±0.78	5.4±0.36	香

2.4 改良材料测保结果

在 2019 年早造对 ‘恒丰 B’ 和 ‘广 8B’ 的 BC₃F₁ 进行了单株测保检测。2019 年晚造测保结果显示，23 个 BC₃F₁ 代材料对应的测保小区中，16 个小区不育等级为全不育和高不育、4 个小区为半不育等级，3 个小区材料为正常可育等级。BC₃F₁ 测保材料中 69.57% 不育等级为全不育和高不育，17.39% 为半不育，13.04% 为正常可育，可育率达到 30.43%。测保成功的株系花粉活力分析结果显示，花粉染色为典型败育类型 (图 8A、8B)；测保不育株株型调查显示，不育株株型正常 (图 8C、8D)。

2.5 改良材料遗传背景回复率

利用分布于水稻 12 条染色体上共 26 170 个



SNP 标记探针,检测改良后代材料的遗传背景回复率。结果显示,改良材料的平均遗传背景回复率达到 86.16%,其中最高达到 89.16%,最低为 81.29% (表 6)。以上研究结果表明,经过三代回交后改良材料的遗传背景回复率达到预期目标。杂合 SNP 位点所占比例约为 3%,表明染色体上还存在一定比例的杂合位点。

表 6 部分改良 BC₃F₂ 株系遗传背景回复率
Table 6 Genetic background reversion rate of some genetically-improved BC₃F₂ lines

材料 Material	遗传背景回复率/% Genetic background reversion rate	杂合SNP位点 比例/% Percentage of heterozygous SNP loci
H1	85.64	3.16
H2	83.71	5.19
H3	86.96	2.17
G1	89.14	3.67
G2	87.23	2.96
G3	89.16	1.39
G4	81.29	4.61
平均 Average	86.16	3.31

3 讨论与结论

3.1 稻瘟病抗性和稻米香味性状改良

水稻稻瘟病是水稻产区最主要的病害,培育稻瘟病抗性品种是育种专家的重要育种目标。目前已经报道了 100 多个主效抗病基因,其中 36 个已经成功克隆,如 *Pi-ta*、*Pi2*、*Pi9*、*Piz-t*、*Pigm*、*Pik*、*Pi5*、*Pi1* 等^[12]。利用分子标记辅助选择技术将稻瘟病抗性基因聚合是防治稻瘟病害最经济、最有效的途径^[13]。通过传统育种方法与分子标记辅助选择方法的有机结合,可克服传统表型鉴定的局限性,能够快速准确地对基因型进行直接选择,聚合多个有利基因,加快育种进程^[14-16]。本研究中,‘恒丰 B’和‘广 8B’的稻瘟病抗性分别为中抗与抗级别,通过聚合 *Ptia* 后,部分改良材料表现出高抗水平。对稻瘟病抗性基因进行聚合选择,可以进一步提高改良品种在广东地区表现出普适的稻瘟病抗性。

另外,随着优质香米市场需求的不断增加,育种家对稻米香味性状的培育也日益重视。已有研究表明,香味性状的主效基因是位于水稻第 8 号染色体上的 *Badh2* 基因,该基因编码甜菜碱醛脱氢酶,当 *Badh2* 基因突变,突变类型中甜菜碱醛脱氢酶活

性丧失,可能导致 γ -氨基丁醛在体内积累,进而使 γ -氨基丁醛转化为 1-吡咯啉,最终合成大量的 2-AP 积累,进而使稻米产生香味^[17-19]。用基于该香味基因设计的分子标记进行辅助选择,为进一步提高香稻育种选择效率和准确性提供了可能^[20]。本研究中,利用香味分子标记对改良材料进行筛选,携带有 *Badh2* 有利等位基因的材料,经香味鉴定稻米都具有香味,表明该分子标记在香味性状筛选中起到了有力的作用。

在保持系的改良中,对于供体亲本的选择,除了考虑是否携带控制目标性状的目的基因外,同时应考虑对轮回亲本保持力的影响,否则会对保持系的背景产生一定的干扰^[21]。本研究中,BC₃F₁ 测保材料中还存在有部分半不育及可育现象,原因可能是供体亲本‘B39’携带了恢复基因。因此,定向改良育种中,需要考虑供体亲本的背景对改良对象的影响,否则可能会影响定向改良成功率。

通过分子标记辅助筛选,结合抗病性鉴定、香味鉴定和农艺性状的选择,本研究成功获得 14 份含有目标基因的 BC₃F₂ 改良材料(其中,‘恒丰 B’的改良材料 6 份,‘广 8B’的改良材料 8 份);且多数株系的遗传背景回复率在 80%~90% 之间,基本达到预期回复效果。改良后的目标株系中 87.5% 香味评级为香味较浓;稻瘟病抗性有显著提高,病圃抗性鉴定抗稻瘟病等级为抗或高抗稻瘟病;稻米品质表现为米粒细长、低直链淀粉、低垩白;其他农艺经济性状与轮回亲本相似。分子标记辅助筛选与传统选、育种的结合,切实地缩短了育种进程、提高了种质改良的成功率。

参考文献:

[1] 高维维,陈思平,王丽平,等. 稻米蒸煮品质性状与分子标记关联研究[J]. 中国农业科学, 2017, 50(4): 599-617.
[2] 吴婷婷,陈海龙,黄俊,等. *Pi9* 基因分子标记辅助选择改良水稻不育系丰源 A 的稻瘟病抗性[J]. 华北农学报, 2021, 36(5): 191-197.
[3] 张菊萍,郝明,曾盖,等. MAS 聚合 *Pi9* 和 *Pi49* 位点改良水稻两系不育系创 5S 稻瘟病抗性[J]. 分子植物育种, 2018, 16(22): 7372-7379.
[4] 陈立凯,郭涛,刘永柱,等. 基于“多基因聚合-早世代组配”策略的水稻分子改良研究[J]. 华北农学报, 2017, 32(3): 77-84.
[5] 孙大元,周丹华,肖武名,等. 利用 MAS 技术培育高抗稻瘟病的杂交水稻恢复系航恢 1173[J]. 华北农学报, 2014, 29(6): 121-125.
[6] 肖武名,罗立新,孙大元. 分子标记辅助选择培育抗稻

瘟病恢复系 R1198[J]. *中国稻米*, 2014, 20(1): 57-59.

[7] YANG G L, CHEN S P, CHEN L K, et al. Development and utilization of functional KASP markers to improve rice eating and cooking quality through MAS breeding [J]. *Euphytica*, 2019, 215(4): 1-12.

[8] 陈达刚, 刘传光, 周新桥, 等. 优质三系杂交稻新组合 广 8 优 798 的选育与应用[J]. *中国种业*, 2019(1): 75-76.

[9] 中华人民共和国农业部. 米质测定方法: Ny147—88[S]. 北京: 中国标准出版社, 1988: 4-6.

[10] LUO W L, GUO T, YANG Q Y, et al. Stacking of five favorable alleles for amylase content, fragrance and disease resistance into elite lines in rice (*Oryza Sativa*) by using four HRM-based markers and a linked gel-based marker[J]. *Molecular Breeding*, 2014, 34(3): 805-815.

[11] 孙大元. 航恢 173 稻瘟病抗性和直链淀粉含量的分子改良及育种评价[D]. 广州: 华南农业大学, 2011.

[12] 曹妮, 陈渊, 季芝娟, 等. 水稻抗稻瘟病分子机制研究进展[J]. *中国水稻科学*, 2019, 33(6): 489-498.

[13] 杜雪树, 夏明远, 李进波, 等. 水稻抗瘟性分子标记辅助育种的实践和策略[J]. *分子植物育种*, 2019, 17(13): 4383-4389.

[14] 刘凯, 宛柏杰, 赵绍路, 等. 利用分子标记辅助选择聚合水稻 *Pi-ta*, *Pi-B* 和 *Pi-9* 基因[J]. *西南农业学报*, 2021, 34(5): 926-931.

[15] 吕军, 蒋洪波, 姜秀英, 等. 利用分子标记辅助选择聚合水稻 *Pi-ta* 和 *fgr* 基因[J/OL]. *分子植物育种*, 2020 [2022-02-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20201105.1514.010.html>.

[16] 易懋升, 丁效华, 张泽民, 等. 水稻抗白叶枯病恢复系的分子育种[J]. *华南农业大学学报*, 2006, 27(2): 1-4.

[17] CHEN S H, WU J, YANG Y, et al. The *Fgr* gene responsible for rice fragrance was restricted within 69 kb[J]. *Plant Science*, 2006, 171(4): 505-514.

[18] CHEN S H, YANG Y, SHI W, et al. *Badh2*, encoding betaine aldehyde dehydrogenase, inhibits the biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline, a major component in rice fragrance[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(7): 1850-1861.

[19] BRADBURY L M T, GILLIES S A, BRUSHETT D J, et al. Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, 68(4/5): 439-449.

[20] 王丰, 李金华, 柳武革, 等. 一种水稻香味基因功能标记的开发[J]. *中国水稻科学*, 2008, 22(4): 347-352.

[21] PRIYADARSHI R, ARREMSETTY H P S, SINGH A K, et al. Marker-assisted improvement of the elite maintainer line of rice, IR 58025B for wide compatibility (*S5n*) gene[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1051. doi: 10.3389/fpls.2018.01051.

【责任编辑 庄 延】