

马来西亚普通野生稻增产 QTL 的分子标记辅助选择及其育种效果

邓化冰¹ 邓启云^{2,*} 陈立云¹ 杨益善² 熊跃东² 孔凡娜³ 王斌³ 袁隆平²

(¹ 湖南农业大学 农学院, 湖南 长沙 410128; ² 国家杂交水稻工程技术研究中心, 湖南 长沙 410125; ³ 中国科学院 遗传与发育生物学研究所, 北京 100101; * 通讯联系人, E-mail: dqy@hhrc.ac.cn)

Marker Assisted Selection for Yield Enhancing QTLs in the Progeny of “9311 × *Oryza rufipogon*” and Its Effects in Rice Breeding

DENG Hua bing¹, DENG Qi yun^{2,*}, CHEN Li yun¹, YANG Yi shan², XIONG Yue dong², KONG Fan na³, WANG Bin³, YUAN Long ping²

(¹ College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; ² China National Hybrid Rice Research and Development Center, Changsha 410125, China; ³ Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; * Corresponding author, E-mail: dqy@hhrc.ac.cn)

Abstract: A weedy relative of cultivated rice, *Oryza rufipogon* from Malaysia, contains two favorable yield enhancing QTLs (*yld1.1* and *yld2.1*) on chromosomes 1 and 2, which are capable of improving the yield of rice by 18% and 17% respectively. To transfer the two QTLs into cultivated rice, a restorer line of two line hybrid rice, 9311, was used as a recurrent parent, and *Oryza rufipogon* as a donor parent of yield enhancing QTLs. Four molecular markers, RM166, RM208, RM9 and RM5, which linked to the two yield enhancing QTLs (*yld1.1* and *yld2.1*), were used to identify the individuals possessing the *Oryza rufipogon* markers and good agronomic characters in the advanced backcrossed population from “9311” and *Oryza rufipogon* based on the genotype and phenotype, and some improved 9311 lines containing the two yield enhancing QTLs were developed. The yield potential of the improved 9311 lines with more numbers of effective panicles and total grains was higher than that of 9311. Some promising hybrid had been developed with super high yielding potential. The results indicated that the two yield enhancing QTLs were expressed well in genetic background of 9311 and its hybrids.

Key words: marker assisted selection; *Oryza rufipogon*; yield enhancing genes; hybrid rice; yield; quantitative trait loci

摘要: 位于马来西亚普通野生稻 (*Oryza rufipogon*) 第 1 和第 2 染色体上的两个主效增产 QTL (*yld1.1* 和 *yld2.1*) 分别具有 18% 和 17% 的增产效果。为探明野生稻增产 QTL 对杂交水稻产量性状改良的效果, 以超级杂交稻亲本 9311 为受体和轮回亲本, 马来西亚普通野生稻为增产 QTL 供体进行杂交和连续回交, 并利用与这两个增产 QTL 紧密连锁的 4 个 SSR 分子标记对回交群体进行分子鉴定和辅助选择。产量比较试验结果显示, 育成的携带野生稻增产 QTL 的 9311 改良系比受体 9311 增产, 主要表现为有效穗数和每穗总粒数显著增加; 携带野生稻增产 QTL 的稳定株系所配杂交组合也比对照显著增产。研究表明野生稻增产 QTL-*yld1.1* 和 QTL-*yld2.1* 导入栽培水稻品种的遗传背景后能显著提高产量潜力, 可作为超级杂交稻育种重要资源。

关键词: 分子标记辅助选择; 普通野生稻; 增产基因; 杂交水稻; 产量; 数量性状座位

中图分类号: Q943; S511.035.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2007)06-0605-07

越来越多的研究表明, 水稻野生近缘种中蕴藏着许多有利基因资源。Xiao 等^[1] 以马来西亚普通野生稻 (*Oryza rufipogon*, 简称野生稻) 作父本与 V20A 杂交, 然后与 V20B (作父本) 回交, 从 BC₁ 中 (共 52 株) 选 10 个单株再与 V20B 回交, 得到 3 000 株以上的 BC₂ 群体。在 BC₂ 中选单株与恢复系测 647 配制 300 个测交组合, 以威优 64 作对照, 对包括单株产量在内的 12 个重要农艺性状进行田间评价, 并选择在野生稻、V20A、测 647 中具有多态性的 102 个 RFLP 标记和 20 个 SSR 标记对这 12 个农艺性状进行 QTL 鉴定, 结果在检测到的 68 个 QTL 中, 有 35 个 (51%) 有利等位基因来自野生稻,

在生育期、穗长、单株穗数、每穗总粒数、每穗实粒数、单株颖花数、单株实粒数、结实率、千粒重和产量等性状中, 均存在数目不等的有利等位基因来自野生稻; 在显著影响产量的 7 个 QTL 中, 4 个来自野生稻的等位基因表现增产, 其中位于第 1 染色体 RM5 的 *yld1.1* 和第 2 染色体 RG256 附近的 *yld2.1* 分别具有 18.26% 和 17.07% 的增产效

收稿日期: 2006-11-29; 修改稿收到日期: 2007-09-24。

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2006CB101700); 国家科技支撑计划资助项目 (2006BAD01A012)。

第一作者简介: 邓化冰 (1973-), 女, 博士, 讲师。

果^[1-2]。此外,目前分子标记辅助选择 (marker-assisted selection, MAS) 在水稻抗白叶枯病的改良^[3-7]、水稻苯达松敏感致死基因辅助选择^[8]等方面已有成功的报道。本研究为了探明野生稻增产 QTL *yld1.1* 和 *yld2.1* 导入栽培稻后是否具有增产效应,对以 9311 为受体和轮回亲本,野生稻 (*O. rufipogon*) 为增产 QTL 供体获得的回交群体进行田间农艺性状和分子标记辅助选择,研究野生稻增产 QTL 的分子标记辅助选择效果及其增产效应,以期野生稻增产 QTL 在水稻超高产育种中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以 9311 为受体,野生稻 (*Oryza rufipogon*) (编号 IRGC105491, 来自国际水稻研究所种质资源中心,由美国康奈尔大学提供) 为增产 QTL 供体;以 9311 作母本,野生稻为父本进行杂交,再以杂种 F₁ 为母本,9311 为轮回亲本进行连续回交。

1.2 DNA 提取

采用 SDS 法提取亲本及群体的幼叶 DNA。取幼叶放入已编号的 1.5 mL eppendorf 离心管中,加入液氮,用电动竹杆碾碎,加入 650 μ L 提取液 (100 mmol/L pH 8.0 Tris HCl, 50 mmol/L pH 8.0 EDTA, 500 mmol/L NaCl, 36.0 mmol/L NaHSO₃, 1.25% SDS) β 5 下温浴 30 min,后置于冰浴中,加氯仿 异戊醇 (体积比 24 : 1) 650 μ L,颠倒混匀,13 000 r/min 下离心 10 min,取上清液,加预冷异丙醇 600 μ L,放于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中 1~2 h,13 200 r/min 下离心 10 min,弃上清,用 70% 乙醇清洗 DNA 沉淀,吹干,加适量 TE 缓冲液溶解后,用作 SSR 分析模板。

1.3 SSR 标记辅助选择及 SSR 反应

1.3.1 SSR 标记辅助选择

利用在遗传图上定位于野生稻增产 QTL *yld1.1* 和 *yld2.1* 附近且在亲本间具有多态性的 4 个 SSR 标记 (参照梁凤山等^[10]) RM166、RM208、RM9 和 RM5 (RM166 和 RM208 与 *yld2.1* 的遗传距离分别为 3.1 cM 和 6.5 cM, RM9 与 *yld1.1* 的遗传距离为 2.5 cM, RM5 位于 *yld1.1* 中) 进行辅助选择。其中早期世代用 RM166、RM9 两个标记进行辅助选择 (因 RM208 和 RM5 的扩增产物在琼脂糖凝胶上表现亲本间多态性不明显), BC₆F₂ 及以后世代和测交组合用 RM166、RM9、RM208、

RM5 等 4 个标记进行辅助选择。

1.3.2 SSR 反应体系

SSR 标记 RM166、RM208、RM5、RM9 优化后的反应体系总体积为 20 μ L, 包括 10 \times PCR 缓冲液 2 μ L, 0.025 mol/L MgCl₂ 3.4 μ L, 25 mmol/L dNTPs 1 μ L, 引物 (16.5 ng/ μ L) 1 μ L, 20 ng/L 模板 DNA (RM166、RM208、RM5 为 1 μ L, RM9 为 1.5 μ L), 5 U/ μ L Taq 酶 (RM166、RM208、RM5 为 0.2 μ L, RM9 为 0.3 μ L), 加去离子水至 20 μ L。

1.3.3 优化后的 PCR 反应程序

优化后的 PCR 反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 下预变性 4 min, 然后 94 $^{\circ}$ C 下变性 1 min, 60 $^{\circ}$ C (RM166 和 RM9) 或 55 $^{\circ}$ C (RM208 和 RM5) 下复性 1.25 min, 72 $^{\circ}$ C 下延伸 1.50 min, 共 32 个循环, 随后 72 $^{\circ}$ C 下延伸 5 min。PCR 反应在 MJPTG-100 扩增仪上进行。RM166 和 RM9 的扩增产物在 3% 琼脂糖凝胶上进行电泳分离, RM208 和 RM5 的扩增产物在 3% 琼脂糖凝胶上表现亲本间多态性不明显, 故用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 快速银染显色观察。

1.4 转育株系与轮回亲本的遗传背景比较

在水稻 12 条染色体上共选择亲本间具多态性的 49 个 SSR 标记进行背景分析, SSR 标记的引物序列参照 <http://www.gramene.org/microsat/ssr.html> 网上公布的序列设计, PCR 反应体系和程序与 RM166 相同。

1.5 回交后代与杂交组合的田间种植及性状考查

12 个 9311 \times 野生稻 BC₆F₃ 株系和对照 9311 于 2005 年种植于国家杂交水稻工程技术研究中心试验农场, 试验按完全随机区组设计, 3 次重复, 每小区 5 行, 每行 10 株, 单本插, 规格为 16.7 cm \times 20.0 cm, 5 月 24 日播种, 6 月 12 日移栽。成熟后统计小区 20 株的有效穗数, 计算小区平均每株有效穗数, 取与平均有效穗数一致的小区中间 5 个单株考查株高、穗长、有效穗数、每穗总粒数、实粒数、结实率、千粒重, 计算理论产量。选择携带野生稻两个增产 QTL 且田间表现整齐一致的株系 B163 (9311 \times 野生稻 BC₆F₃ 株系)、B023 (9311 \times 野生稻 BC₆F₃ 株系) 与培矮 64S 配制杂交组合。将所配组合及对照两优培九于 2005 年和 2006 年种植于国家杂交水稻工程技术研究中心试验农场, 试验按完全随机区组设计, 3 次重复, 每小区 10 行, 每行 10 株, 单本插, 规格为 23.3 cm \times 23.3 cm, 5 月 25 日播种, 6 月 14 日移栽。成熟后统计小区 20 株的有效穗数, 计算小区平均每株有效穗数, 取与平均有效穗数一致的

小区中间 5 个单株 ,考查株高、穗长、剑叶长、剑叶宽、有效穗数、每穗总粒数、实粒数、结实率、千粒重 ,并计算理论产量。

1.6 统计分析

试验中涉及的方差分析和多重比较均采用 SAS V 9.0 统计分析软件进行。

2 结果与分析

2.1 野生稻增产 QTL 的分子鉴定及辅助选择

以 9311 作受体和轮回亲本 ,野生稻为供体亲本构建回交群体 ,用 RM166(图 1)和 RM9(图 2)两个标记进行分子标记辅助选择(表 1) ,在 BC₂F₁、BC₃F₁、BC₄F₁、BC₅F₁、BC₆F₁、BC₄F₂、BC₅F₂ 群体中 ,分别选择农艺性状与轮回亲本 9311 相似且同时具有野生稻 RM166、RM9 特异标记的个体与 9311 回交或自交。各世代分子标记辅助选择群体的大小 ,具有野生稻 RM166 或 RM9 特异标记以及同时具有野生稻 RM166、RM9 特异标记的个体数及比例列于表 1。根据分子标记辅助选择结果 ,已获得一些田间农艺性状优良且基本整齐 ,并携带野生稻增产 QTL 特异标记的株系。

从表 1 可以看出 ,野生稻增产 QTL 在各回交世代能稳定遗传。其中回交自交群体 BC₄F₂、BC₅F₂、BC₄F₃、BC₆F₂ 中 ,具野生稻 RM166 特异标记个体的比例为 50% 左右 ,低于理论值(75%) ;回交群体 BC₂F₁、BC₃F₁、BC₄F₁、BC₅F₁、BC₆F₁ 中 ,同时具野生稻 RM166、RM9 特异标记个体的比例为 12% ~ 18% ,也低于理论值(25%)。总的来看 ,

表 1 9311 × 野生稻各回交世代用 RM166、RM9 标记选择的结果

Table 1 . Marker-assisted selection results of RM166 and RM9 in 9311 × *Oryza rufipogon* population .

回交世代 Generation of backcross	群体大小 No . of lines	具野生稻 RM166 特异标记 Containing RM166 <i>yl</i> d		具野生稻 RM9 特异标记 Containing RM9 <i>yl</i> d		同时具野生稻 RM166、RM9 特异标记 Containing RM166 <i>yl</i> d and RM9 <i>yl</i> d	
		占群体比例 Percentage /%	纯合基因型 占群体比例 Homozygous genotype percentage/%	占群体比例 Percentage /%	纯合基因型 占群体比例 Homozygous genotype percentage/%	占群体比例 Percentage /%	纯合基因型 占群体比例 Homozygous genotype percentage/%
BC ₂ F ₁	1102	49.5	-	-	-	16.8	-
BC ₃ F ₁	400	34.3	-	-	-	13.8	-
BC ₄ F ₁	400	43.3	-	-	-	18.0	-
BC ₅ F ₁	200	23.5	-	27.5	-	12.0	-
BC ₆ F ₁	160	42.5	-	14.4	-	14.4	-
BC ₄ F ₂	657	52.5	21.0	51.8	23.4	40.0	7.6
BC ₅ F ₂	300	55.7	20.0	44.7	25.0	28.3	9.3
BC ₄ F ₃	570	49.3	36.1	36.7	30.7	19.3	11.8
BC ₆ F ₂	550	48.4	20.4	41.6	25.3	22.0	6.7

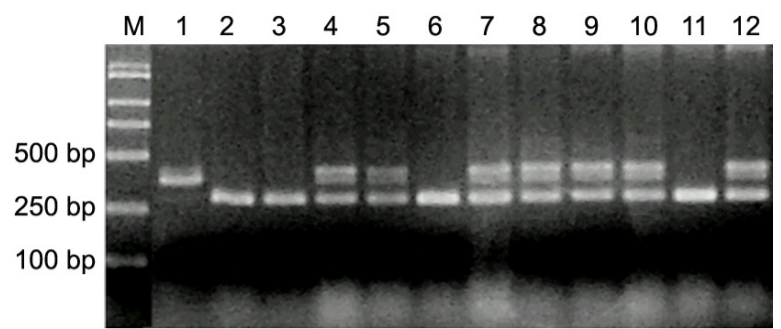


图 1 9311 × 野生稻 BC₄F₂ 群体 RM166 的扩增结果

Fig. 1 . mplification results of RM166 in 9311 × *Oryza rufipogon* BC₄F₂ population .

M - Marker DGL2000 ; 1 - 野生稻 ; 2 - 9311 ; 3 ~ 12 - 9311 × 野生稻 BC₄F₂ 个体。

M , Marker DGL2000 ; Lane 1 , *Oryza rufipogon* ; Lane 2 , 9311 ; Lanes 3 to 12 , Different individuals in 9311 × *Oryza rufipogon* BC₄F₂ population .

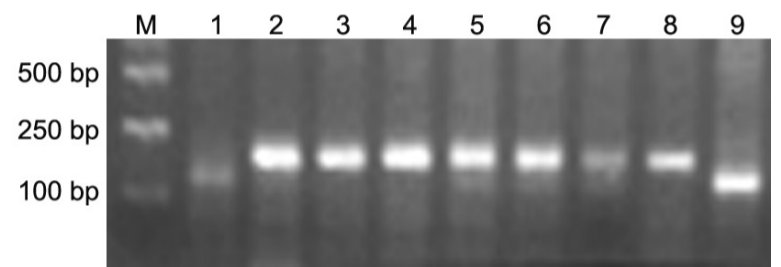


图 2 9311 × 野生稻 BC₄F₂ 群体 RM9 的扩增结果

Fig. 2 Amplification results of RM9 in 9311 × *Oryza rufipogon* BC₄F₂ population .

M - Marker DGL2000 ; 1 - 9311 ; 2 - 野生稻 ; 3 ~ 9 - 9311 × 野生稻 BC₄F₂ 个体。

M , Marker DGL2000 ; Lane 1 , 9311 ; Lane 2 , *Oryza rufipogon* ; Lanes 3 to 9 , Different individuals in 9311 × *Oryza rufipogon* BC₄F₂ population .

回交自交群体中具野生稻特异标记个体的比例明显高于回交群体。

2.2 9311 × 野生稻高世代回交后代 BC₄F₄ 和 BC₆F₃ 株系的遗传背景分析

从 9311 × 野生稻高世代回交群体 BC₄F₄ 和 BC₆F₃ 中分别随机取 1 个携带野生稻两个增产 QTL 且田间表现较整齐的株系,采用相对均匀分布于 12 条染色体上的双亲间具多态性的 49 个 SSR 标记对它们进行遗传背景分析(表 2),其中 9311 与 9311 × 野生稻 BC₄F₄ 后代在 RM341、RM6、RM233B、RM2、RM219、RM242 等 6 个标记上具有多态性,其遗传背景回复率为 87.8%,低于理论值 93.75%;9311 与 9311 × 野生稻 BC₆F₃ 后代在 RM237、RM341、RM13 等 3 个标记上具有多态性,

其遗传背景回复率为 93.9%,也稍低于理论值 96.56%。结果表明,回交 4 代后,导入野生稻增产 QTL 的 9311 改良系与 9311 的遗传背景还存在一定的差异,但回交 6 代后,导入野生稻增产 QTL 的 9311 改良系绝大部分农艺性状与轮回亲本基本一致,基本恢复为轮回亲本的遗传背景。

2.3 携带野生稻增产 QTL 的 9311 改良系产量表现

在 9311 × 野生稻 BC₆F₂ 群体中选择同时携带纯合 QTL-*yld1.1* 和 QTL-*yld2.1* 的单株、携带纯合 QTL-*yld1.1* 的单株、携带纯合 QTL-*yld2.1* 的单株,自交分别收获种子。在 3 种类型中分别随机选择 4 个单株的种子种植,获得 BC₆F₃ 株系,并考查 BC₆F₃ 株系的产量性状(表 3)。从表 3 可以看

表 2 9311 × 野生稻高世代回交群体 BC₄F₄ 和 BC₆F₃ 株系遗传背景分析

Table 2. Genetic background analysis of 9311 × *Oryza rufipogon* BC₄F₄ and BC₆F₃ lines.

世代 Generation	检测位点总数 No. of tested loci	差异位点数目 No. of differential SSR	差异标记 Differential SSR	差异位点在染色体上的分布 Distribution of differential loci on chromosome	与 9311 的相似度 ¹⁾ F ¹ / %
BC ₄ F ₄	49	6	RM341、RM6、RM233B、RM2、RM219、RM242	2、2、5、7、9、9	87.8
BC ₆ F ₃	49	3	RM237、RM341、RM13	1、2、5	93.9

¹⁾ 相似度为被测株系与 9311 无差异的位点数与检测位点总数的百分比。

¹⁾ Findicates the rate of the number of SSRs without polymorphism between tested lines and 9311 to the number of total tested loci.

表 3 携带野生稻增产 QTL 9311 改良系的农艺性状

Table 3. Agronomic traits of some BC₆F₃ lines with the markers of yield enhancing QTL from *Oryza rufipogon*.

材料编号 Code	所含 QTL QTL(s) contained	播齐历期 Days to heading ¹⁾ /d	株高 Plant height/cm	单株有效穗数 Panicle number per plant	穗长 Panicle length/cm	每穗总粒数 Total grain number per panicle	每穗实粒数 No. of filled grains per panicle	千粒重 1000 grain weight/g	结实率 Seed setting rate/%	理论产量 Theoretical yield/(kg·hm ⁻²)	增产幅度 Yield increased rate/%
25B673	<i>yld1.1</i> + <i>yld2.1</i>	85.00 ab	121.00 ab	6.65 f	25.31 a	210.05 a	169.00 a	30.59 g	80.46 e	10313.57 a	21.86 a
25B676	<i>yld1.1</i> + <i>yld2.1</i>	85.67 a	116.20 def	7.05 c	24.00 bcd	193.38 d	159.62 b	30.13 h	82.54 b	10171.72 b	20.18 b
25B559	<i>yld1.1</i> + <i>yld2.1</i>	84.67 ab	113.00 f	7.25 b	22.74 e	166.21 i	128.89 h	32.29 c	77.55 g	9052.37 e	6.96 e
25B584	<i>yld1.1</i> + <i>yld2.1</i>	85.33 ab	116.70 cde	7.00 c	24.35 bc	187.00 ef	148.67 c	32.85 a	79.50 f	10255.77 ab	21.18 ab
25B635	<i>yld2.1</i>	85.67 a	114.80 ef	6.90 d	24.09 bcd	199.44 c	131.72 g	32.85 a	66.05 j	8957.05 e	5.83 e
25B640	<i>yld2.1</i>	85.00 ab	120.30 abc	6.55 g	22.93 e	165.16 i	147.79 c	31.10 f	89.48 a	9031.64 e	6.71 e
25B643	<i>yld2.1</i>	85.00 ab	117.30 cde	6.90 d	23.38 de	204.05 b	143.52 d	32.18 c	70.34 i	9560.24 d	12.96 d
25B644	<i>yld2.1</i>	85.67 a	119.20 abcd	7.45 a	24.66 ab	190.27 de	135.05 f	32.58 b	70.98 i	9833.84 c	16.19 c
25B660	<i>yld1.1</i>	84.33 b	112.90 f	6.80 e	22.52 e	178.00 g	137.14 ef	31.45 de	77.05 g	8798.81 f	3.96 f
25B677	<i>yld1.1</i>	84.33 b	122.70 a	6.50 g	23.52 cde	173.95 h	141.16 d	30.89 f	81.15 d	8502.72 g	0.46 g
25B552	<i>yld1.1</i>	84.67 ab	116.20 def	7.00 c	23.01 e	173.50 h	129.45 gh	31.62 d	74.61 h	8595.74 g	1.56 g
25B570	<i>yld1.1</i>	85.67 a	117.50 bcde	7.00 c	22.97 e	183.43 f	137.86 e	31.02 f	75.16 h	8980.29 e	6.11 e
	9311(CK)	85.33 ab	115.40 ef	6.55 g	23.04 e	167.70 i	137.30 ef	31.37 e	81.87 c	8463.45 g	0.00 g
	<i>yld1.1</i> + <i>yld2.1</i> (Average)	85.17 aA	116.73 abA	6.99 aA	24.10 aA	189.16 aA	151.55 aA	31.47 bB	80.01 bB	9948.36 aA	17.54 aA
	<i>yld2.1</i> (Average)	85.33 aA	117.90 aA	6.95 aA	23.77 aAB	189.73 aA	139.52 bB	32.18 aA	74.21 dD	9345.69 bB	10.42 bB
	<i>yld1.1</i> (Average)	84.75 aA	117.33 abA	6.83 bB	23.01 bB	177.22 bB	136.40 cC	31.25 cC	76.99 cC	8719.39 cC	3.02 cC
	9311(CK)	85.33 aA	115.40 bA	6.55 cC	23.04 bB	167.70 cC	137.30 cBC	31.37 bcBC	81.87 aA	8463.45 dD	0.00 dD

同一栏内,数据后跟相同小写和大写字母者分别表示差异未达 0.05 和 0.01 显著水平。

Within a column, data followed by the same lowercase and uppercase letters indicate no significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively.

¹⁾ Days to heading indicates days from sowing to heading. The same as in the tables below.

出,携带野生稻增产 QTL BC₆F₃ 株系的理论产量均比受体 9311 高,增产幅度为 0.46% ~ 21.86%; 12 个株系中有 10 个株系的理论产量较受体 9311 极显著增加。按携带野生稻增产 QTL 的类型分类进行多重比较可知(表 3),携带野生稻增产 QTL BC₆F₃ 株系的平均理论产量均比受体 9311 极显著增加,且携带野生稻两个增产 QTL BC₆F₃ 株系的平均理论产量极显著高于携带野生稻增产 QTL-*yld2.1* 和 QTL-*yld1.1* 的株系,而携带野生稻增产 QTL-*yld2.1* 株系的平均理论产量又极显著高于携带野生稻增产 QTL-*yld1.1* 的株系。从产量构成因素分析,携带野生稻增产 QTL 株系主要表现为单株有效穗数和每穗总粒数比受体 9311 极显著增加,而结实率却极显著低于受体 9311。

2.4 携带野生稻增产 QTL 株系所配组合的产量表现

携带野生稻两个增产 QTL 且田间表现整齐一致的株系 B163 和 B023 与培矮 64S 配制的 2 个组合用 RM166 (图 3)、RM9 (图 4)、RM208 (图 5)、RM5 (图 6) 4 个标记进行检测,结果表明这 2 个组合均携带野生稻两个增产 QTL 的 4 个特异标记,说明野生稻增产 QTL-*yld1.1* 和 QTL-*yld2.1* 已存在于所配杂交组合中。对所配 2 个杂交组合及对照组合两优培九进行两年田间试验,结果见表 4。从表 4 可以看出,所配的 2 个杂交组合于 2005 年和 2006 年的田间试验中有效穗数和理论产量均比对照组合极显著增加,且理论产量年份间的差异不显著。上述结果表明野生稻增产 QTL-*yld1.1* 和 QTL-*yld2.1* 能提高杂交稻的产量潜力。此外,从表 4 还可看出,所配 2 个杂交组合的剑叶比对照的

更长、更宽,这可能是野生稻增产 QTL 导入 9311 后的多效性表现,结果增加了单株有效光合面积。这种特性或许对于增加穗粒数和千粒重,进而提高所配组合的产量具有重要的光合生理意义,有关研究尚需进一步的直接试验验证。

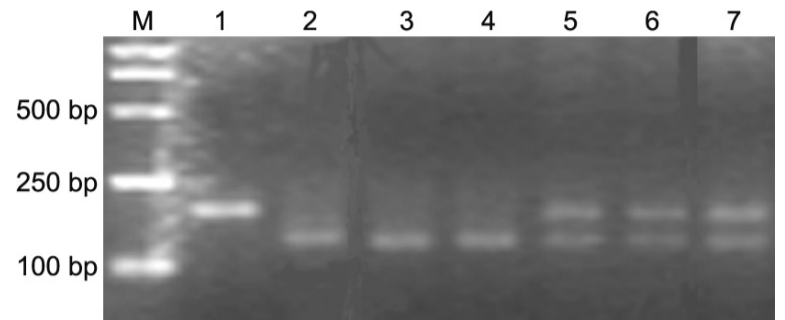


图 4 测交组合 RM9 的检测结果

Fig 4. Amplification results of RM9 in two combinations.

M - Marker DGL2000; 1 - 野生稻; 2 - 9311; 3~4 - 培矮 64S; 5 - 培矮 64S/B163; 6~7 - 培矮 64S/B023.

M, Marker DGL2000; Lane 1, *Oryza rufipogon*; Lane 2, 9311; Lanes 3 and 4, Pei ai 64S; Lane 5, Pei ai 64S/B163; Lanes 6 and 7, Pei ai 64S/B023.

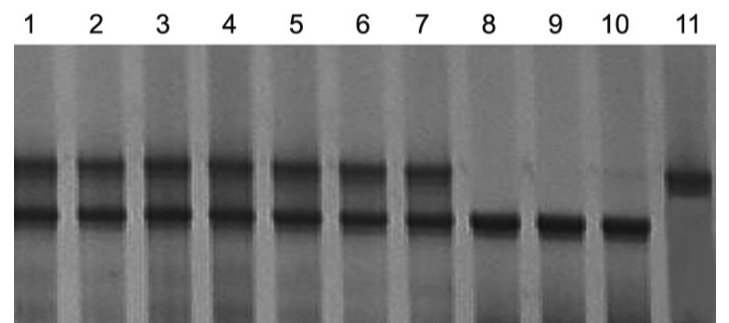


图 5 测交组合 RM208 的检测结果

Fig 5. Amplification results of RM208 in two combinations.

1~3 - 培矮 64S/B163; 4~7 - 培矮 64S/B023; 8 - 9311; 9~10 - 培矮 64S; 11 - 野生稻。

Lanes 1 to 3, Pei ai 64S/B163; Lanes 4 to 7, Pei ai 64S/B023; Lane 8, 9311; Lanes 9 and 10, Pei ai 64S; Lane 11, *Oryza rufipogon*.

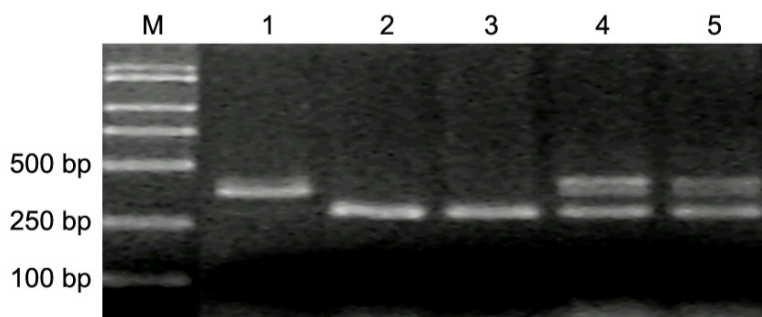


图 3 测交组合 RM166 的检测结果

Fig 3. Amplification results of RM166 in two combinations.

M - Marker DGL2000; 1 - 野生稻; 2 - 9311; 3 - 培矮 64S; 4 - 培矮 64S/B163; 5 - 培矮 64S/B023.

M, Marker DGL2000; Lane 1, *Oryza rufipogon*; Lane 2, 9311; Lane 3, Pei ai 64S; Lane 4, Pei ai 64S/B163; Lane 5, Pei ai 64S/B023.

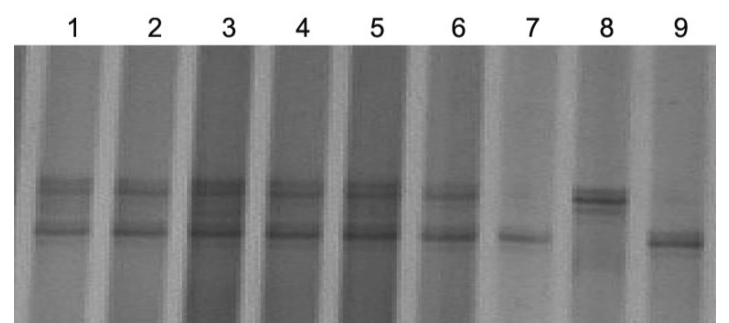


图 6 测交组合 RM5 的检测结果

Fig 6. Amplification results of RM5 in two combinations.

1~3 - 培矮 64S/B163; 4~6 - 培矮 64S/B023; 7 - 9311; 8 - 野生稻; 9 - 培矮 64S。

Lanes 1 to 3, Pei ai 64S/B163; Lanes 4 to 6, Pei ai 64S/B023; Lane 7, 9311; Lane 8, *Oryza rufipogon*; Lane 9, Pei ai 64S.

表 4 携带野生稻两个增产 QTL 株系所配两个杂交稻组合两年的农艺性状表现

Table 4 . Agronomic traits of two combinations with two yield enhancing QTLs (*yld1 .1* and *yld2 .1*) from *Oryza rufipogon* in two years .

性状 Trait	培矮 64S/B163		培矮 64S/B023		两优培九	
	Pei ai 64S/B163		Pei ai 64S/B023		Liangyoupei jiu	
	2005	2006	2005	2006	2005	2006
播齐历期 Days to heading/d	89 .67 abA	89 .33 abA	89 .33 abA	89 .00 bA	90 .00 aA	89 .67 abA
株高 Plant height/cm	112 .47 dD	113 .24 dD	134 .79 aA	119 .89 cC	129 .15 bB	120 .17 cC
剑叶长 Flag leaf length/cm	46 .77 aA	46 .97 aA	40 .00 bB	46 .71 aA	34 .85 cC	41 .99 bB
剑叶宽 Flag leaf width/cm	2 .13 aA	2 .14 aA	2 .05 aAB	2 .09 aA	1 .79 cC	1 .92 bBC
有效穗数 Panicle number/($\times 10^4 \cdot \text{hm}^{-2}$)	249 .92 bB	260 .39 aA	250 .19 bB	264 .84 aA	220 .07 cC	246 .10 bB
穗长 Panicle length/cm	28 .04 aA	27 .06 bA	25 .39 cB	24 .76 cB	25 .28 cB	24 .68 cB
每穗总粒数 Total grain number per panicle	214 .32 abAB	203 .11 bcBC	207 .37 bABC	191 .18 cC	228 .51 aA	198 .51 bcBC
每穗实粒数 No . of filled grains per panicle	159 .44 bB	151 .70 cC	152 .06 cC	138 .48 eE	165 .20 aA	146 .16 dD
千粒重 1000 grain weight/g	26 .95 cBC	27 .28 bcB	27 .47 bB	28 .01 aA	25 .91 eD	26 .47 dC
结实率 Seed setting rate/%	74 .40 aA	74 .69 aA	73 .33 aA	72 .43 aA	72 .29 aA	73 .63 aA
理论产量 Theoretical yield/($\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)	10734 .46 abA	10773 .58 aA	10450 .55 bcAB	10272 .59 cB	9419 .73 dC	9521 .42 dC

同一栏内 ,数据后跟相同小写和大写字母者分别表示差异未达 0 .05 和 0 .01 的显著水平。

Within a column , data followed by the same lowercase and uppercase letters indicate no significant difference at $P < 0 .05$ and $P < 0 .01$ levels , respectively .

3 讨论

分子标记辅助选择不仅对质量性状基因有效 ,而且对数量性状位点也有效^[9-10]。许多研究表明 ,分子标记与目标基因的遗传距离愈近 ,选择的可靠性愈高^[11-12]。本研究利用的 SSR 标记 RM166 与 *yld2 .1* 的遗传距离 , RM9、RM5 与 *yld1 .1* 的遗传距离均小于 5 cM ,且 RM5 位于 *yld1 .1* 中 ,因此 ,辅助选择的结果是可靠的。

用 RM166 和 RM9 两个标记对 9311 与野生稻回交群体进行分子标记辅助选择的结果表明 ,野生稻增产 QTL 在各回交世代能稳定遗传 ,回交 F₁ 群体中具野生稻 RM166 特异标记个体比例均低于理论值 (50%) ;自交群体 BC₄F₂、BC₅F₂、BC₄F₃、BC₆F₂ 中 ,具野生稻 RM166 特异标记个体的比例为 50% 左右 ,也低于理论值 (75%)。究其原因 ,可能主要有以下两个方面 :1) 分子标记分析群体的大小。用于分子标记分析的群体越大 ,具野生稻 RM166 特异标记个体比例就越接近理论值 ,如 BC₂F₁ ,用于分子标记分析的群体较大 ,达 1102 株 ,其中具野生稻 RM166 特异标记个体比例为 49 .5% ,与理论值 (50%) 基本一致。2) 田间选择。本研究是在各回交群体中选择具有野生稻增产 QTL 特异标记且农艺性状与 9311 相似的单株进行回交或自交 ,田间选择时注重农艺性状的选择 ,而不是随机地选择具野生稻增产 QTL 特异标记的单株进行回交或自交。此外 ,通过比较回交群体和回交自交群体中具野生稻特异标记个体的比例 ,发现回

交自交群体中具野生稻特异标记个体的比例明显高于回交群体 ,符合孟德尔遗传学规律。

将控制同一性状的多个基因聚合在一起 ,用常规育种表型选择的方法很难实现 ,运用分子标记可以有效地对多个基因同时进行选择 ,目前最成功的例子是抗病基因的聚合 ,如 Huang 等^[13] 运用 RFLP 和 PCR 标记筛选到同时含 4 个白叶枯病抗性基因 *Xa4*、*Xa5*、*Xa13* 和 *Xa21* 的单株。本研究运用 SSR 标记将两个野生稻主效增产 QTL (*yld1 .1* 和 *yld2 .1*) 聚合到 9311 中 ,获得同时携带野生稻两个增产 QTL 的改良 9311 ,表现出比受体 9311 显著增产 ;具野生稻两个增产 QTL 株系所配的杂交组合也比对照显著增产 ,表明野生稻增产 QTL- *yld1 .1* 和 QTL- *yld2 .1* 导入杂交稻亲本后 ,能提高亲本的产量 ,从而使杂交 F₁ 的产量提高 ;同时也说明运用分子标记辅助选择进行产量性状 QTL 的聚合是可行的。本研究运用分子标记辅助选择获得的 9311 改良系 B163 与 Y58S 所配组合 Y 优 7 号即将通过湖南省品种审定委员会审定。

通常有效的回交育种方法是在对目标基因分子标记前景选择的同时对阳性单株进行遗传背景选择^[14] ,但不管选用何种分子标记方法 ,每个世代进行单株遗传背景选择都需要很多的人力、物力和财力。本研究在回交育种的早期世代没有进行遗传背景分析 ,而是在前期选择的基础上 ,凭借传统育种方法和经验 ,参照轮回亲本选择农艺性状优良的单株回交 ,直至 BC₄F₄ 和 BC₆F₃ 才进行遗传背景的比较 ,分析野生稻增产 QTL 导入系遗传背景回复至

轮回亲本的程度。结果表明,回交 4 代后,导入野生稻增产 QTL 的 9311 改良系回复至轮回亲本的程度为 87.8%,说明它与轮回亲本的遗传背景还存在一定的差异,但这种差异与产量性状改良并无很大关系。而回交 6 代后,9311 改良系绝大部分农艺性状与轮回亲本基本一致,并基本恢复为轮回亲本的遗传背景。尽管此方法需较多次的回交且各导入株系间的遗传背景可能会存在一定差异,但大大节约了研究成本且优良变异不易丢失。本研究运用此方法已筛选到一些农艺性状优良,并携带野生稻增产 QTL 的株系和杂交组合,说明这种分子标记辅助选择与田间选择相结合的高世代回交育种方法在农作物农艺性状特别是产量等复杂农艺性状遗传改良方面是十分有效和可行的。

谢辞:马来西亚普通野生稻材料由美国康奈尔大学 Susan McCouch 实验室提供,该实验室访问学者李继明先生参与了前期部分工作,谨致谢忱!

参考文献:

- [1] Xiao J H, Grandillo S, Ahn S N, et al. Genes from wild rice improve yield. *Nature*, 1996, 384: 223-224.
- [2] Xiao J H, Li J M, Grandillo S, et al. Identification of trait improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative *Oryza rufipogon*. *Genetics*, 1998, 150: 889-909.
- [3] 张欣,施利利,陈玉桂,等.抗白叶枯病水稻近等基因系的选育.天津农学院学报,2003,10(2):5-8.
- [4] 周元飞,戚华雄,万丙良,等.运用分子标记辅助选择技术改良 9311 的白叶枯病抗性的研究.分子植物育种,2003,1(3):343-349.
- [5] 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.中国水稻科学,2003,17(2):184-186.
- [6] 罗彦长,王守海,李成荃,等.应用分子标记辅助选择培育抗白叶枯病光敏核不育系 3418S.作物学报,2003,29(3):402-407.
- [7] 彭应财,李文宏,樊叶杨,等.利用分子标记辅助选择技术育成抗白叶枯病杂交稻协优 218.杂交水稻,2003,18(5):5-7.
- [8] 向太和,杨剑波,杨前进,等.SCAR 标记对水稻苯达松敏感致死基因的辅助选育.中国水稻科学,2003,17(2):113-117.
- [9] Kwon Y S, Eun M Y, Sohn J K. Marker-assisted selection for identification of plant regeneration ability of seed derived calli in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Cells*, 2001, 12(1):103-106.
- [10] Visscher P M, Haley C S, Thompson R. Marker assisted introgression in backcross breeding programs. *Genetics*, 1996, 144: 1923-1932.
- [11] Hospital F, Charcosset A. Marker assisted introgression of quantitative trait loci. *Genetics*, 1997, 147: 1469-1485.
- [12] Spelman R, Bovenhuis H. Genetic response from marker assisted selection in an outbred population for differing marker bracket sizes and with two identified quantitative trait loci. *Genetics*, 1998, 148: 1389-1396.
- [13] Huang N, Angeles E R, Domingo J, et al. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: Marker assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 313-320.
- [14] Chen S, Xu C G, Lin X H, et al. Improving bacterial blight resistance of "6078", an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker assisted selection. *Plant Breeding*, 2001, 120: 133-137.