

吴昊,陈涛,姚姝,等. 分子标记辅助选择技术及其在水稻定向改良上的应用研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):22-27.

分子标记辅助选择技术及其在水稻定向改良上的应用研究进展

吴昊^{1,2}, 陈涛¹, 姚姝¹, 张亚东¹, 朱镇¹, 赵庆勇¹, 周丽慧¹, 于新¹, 赵凌¹, 王才林¹

(1. 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;

2. 南京农业大学农学院, 江苏南京 210095)

摘要:综述了分子标记的概念、特点、种类,对分子标记辅助选择技术的优势和影响因素进行了介绍,同时对其在质量性状(稻米品质、抗病、抗虫性等)改良和数量性状(稻米产量、抗逆性、株型等)改良两方面的研究进展进行了归纳,并对研究中出现的问题进行了分析,对其应用前景进行了展望。

关键词:分子标记辅助选择;水稻;质量性状;数量性状;定向改良;研究进展

中图分类号: S511.035 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)02-0022-06

水稻(*Oryza sativa* L.)是世界上大多数人的主要食物,在除南美洲和北极洲之外的各大洲均有种植,面积超过 1.5 亿 hm^2 ^[1],但主要产区在亚洲。20 世纪 60 年代,国际水稻研究所(IRRI)推动的“绿色革命”以及我国杂交水稻的研制成功大幅度提高了水稻产量。然而在过去的 10 多年里,水稻产量停滞不前。为了填补不断增加的世界人口所造成的粮食缺口,进一步提高水稻产量是育种工作者们刻不容缓的任务。但是,传统的育种方法主要是依据作物在田间的表现进行评价和选择,要求育种工作者具有非常丰富的育种经验,而且需要长达数年的时间。另外,对一些数量性状的直接选择还受到许多条件的限制。因此,提高选择效率并减少育种过程中的盲目性成为进一步拓展品种生产力的关键^[2]。

近 20 年来迅速发展起来的基于 DNA 的分子标记技术为育种工作提供了崭新的途径。国内外育种工作者对分子标记辅助选择技术(molecular marker-assisted selection, MAS)做了很多有益的尝试,并以此改良或育成了不少品种,其中一些已开始在生产上应用。本文综述了分子标记辅助选择的概念、特点、种类,重点介绍了分子标记辅助选择技术在改良水稻质量性状、数量性状两方面的研究进展和利用现状,同时讨论了该技术存在的问题,并展望了其应用前景。

1 DNA 分子标记和分子标记辅助育种技术

1.1 DNA 分子标记的概念及特点

在遗传学的发展中,先后出现了形态标记、细胞标记、生

化标记和分子标记^[3]。相对于传统的形态标记来说,分子标记有着众多的优势。最近利用分子标记进行水稻品种的改良上有很多报道,这些报道主要涉及强调了分子标记在一般作物改良及杂种优势育种中的应用及其使用限制^[4-9]。DNA 分子标记较以往的形态标记具有减少育种时间、表现为中性、操作简便高效、能更准确地选择复杂性状等特点。

1.2 DNA 分子标记的种类

根据王军等的研究^[10-13],并作部分增添和删改,将分子标记划分为 3 代 4 类(表 1)。第 1 代分子标记是以 Southern 杂交为核心的分子标记技术。第 2 代分子标记技术主要分为 2 类:第 1 类为基于 PCR(polymerase chain reaction,多聚链式反应)的 DNA 分子标记,根据所用引物的差异,该类标记又分为随机引物 PCR 标记、特异引物 PCR 标记 2 种;第 2 类为基于 PCR 与限制性酶切技术结合的 DNA 标记。第 3 代分子标记技术是基于单核苷酸多态性的 DNA 分子标记。

1.3 分子标记辅助选择技术

分子标记辅助选择技术是将上述分子标记应用于作物育种或改良的一种手段^[14],其基本原理是利用与目标基因紧密连锁或共分离的分子标记对选择个体进行目标基因以及全基因组筛选,从而减少连锁累赘,以获得所需的个体,达到提高育种效率的目的^[15-16]。主要分子标记原理及特点见表 2。MAS 是分子标记技术用于作物改良的重要领域,是常规育种技术和现代生物技术相结合的产物。

1.3.1 分子标记辅助选择技术的优越性 通过大量理论研究发现,相比常规的育种技术, MAS 有很大的优越性。辅助选择可以在植物发育的任何阶段进行,而且不受基因表达和环境因素的影响;共显性标记可区分纯合基因型和杂合基因型,所以能在分离世代的早期进行选择;对一些表型鉴定困难的性状(如抗病性、抗逆性等)也可进行基因型鉴定;可聚合多个控制不同性状的基因以提高育种效率,延长品种使用年限^[17]。

1.3.2 影响分子标记辅助选择技术的主要因素 MAS 虽是提高选择效率的一种有效方法,但由于其研究设计的内容广泛,有很多遗传和生物学的因素影响其效率,如基因与标记间

收稿日期:2013-07-02

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-01-47);农业部超级晚稻新品种选育和示范项目;江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(12)1003];江苏省科技支撑计划(编号:BE2013301)。

作者简介:吴昊(1988—),男,河南驻马店人,硕士,主要从事水稻遗传育种研究。E-mail:wuhao11219@gmail.com。

通信作者:王才林(1959—),男,江苏无锡人,博士,研究员,博士生导师,主要从事水稻遗传育种研究。Tel:(025)84390307;E-mail:clwang@jaas.ac.cn。

表 1 分子标记的分类及名称

代别	类别	种类	缩写	全称
第 1 代	第 1 类	第 1 种	RFLP	restriction fragment length polymorphism, 限制性内切酶片段长度多态性
第 2 代			RAPD	random amplified polymorphic DNA, DNA 随机扩增多态性
			ISSR	inter – simple sequence repeats, 内部简单重复序列
			AP – PCR	arbitrarily primed polymerase chain reaction, 任意引物 PCR
		第 2 种	DAF	DNA amplification fingerprinting, DNA 扩增指纹印记
			SSR	simple sequence repeats, 简单重复序列
			STS	sequence – tagged site, 序列标记位点
			SCAR	sequence – characterized amplified region, 序列特异性扩增区
			SPAR	single primer amplification reaction, 单引物扩增反应
			SSCP	single strand conformation polymorphism, DNA 单链构象多态性
			ddF	dideoxy fingerprints, 双脱氧化指纹法
		第 2 类	AFLP	amplified fragment length polymorphism, 扩增片段长度多态性
			CAPS	cleaved amplified polymorphic sequence, 酶切扩增多态性序列
第 3 代			SNP	single nucleotide polymorphisms, 单核苷酸多态性

表 2 主要分子标记原理及特点

标记名称	主要原理	核心技术	探针/引物来源	检测基因组区域	基因组丰富度	遗传特性	DNA 质量要求	多态性水平	重演性	放射性同位素	开发成本
RFLP	限制性酶切 Southern 杂交	电泳分子杂交	特定序列 DNA 探针	单/低拷贝区	中等	共显性	高	中	高	通常用	高
RAPD	随机 PCR 扩增	电泳、PCR	9 ~ 10 pb 随机引物	整个基因组	很高	显性	中	较高	中	不用	低
ISSR	PCR 扩增	电泳、PCR	重复序列设计引物	重复序列间隔单拷贝区	高	显性/共显性	中	高	高	不用	低
SSR	PCR 扩增	电泳、PCR	重复序列设计引物	重复序列	高	共显性	中	高	高	不用	高
STS	特异 PCR 扩增	电泳、PCR	FELP 探针序列等	单拷贝区	中等	显性	高	中	高	不用	高
AFLP	限制性酶切 PCR 扩增	电泳、PCR	特定引物	整个基因组	高	共显性/显性	很高	非常高	高	不用	高
CAPS	PCR 产物	电泳、PCR	特异引物	整个基因组	高	显性	高	中	高	不用	高

的连锁程度、性状的遗传效率、选用分子标记数目和类型、世代的影响、性状的遗传率和控制性状基因的数目等。

2 分子标记辅助选择技术在水稻品种改良上的应用

2.1 分子标记辅助选择技术在水稻质量性状改良上的应用

2.1.1 稻米食味品质改良 刘巧泉等经过回交转育并结合分子标记辅助选择技术向特青品种导入 *Wx* 基因,在保持原有亲本主要农艺性状的基础上选育了 3 个优质品系,改良品系胚乳突变基因表达量明显下降,稻米中直链淀粉含量减少^[18]。周屹锋等以具有中等直链淀粉含量的优质保持系宜香 1B 为优质源,与协青早 B 杂交、回交和自交,在分离早世代以特异性分子标记对直链淀粉含量进行检测和选择,最终选育出具有中等直链淀粉含量的的粳型三系不育系浙农 3A^[19]。许勇等以分子标记辅助选择对协优 57 的父母本的 *Wx* 基因进行改良,利用改良后的亲本进行配组,其后代杂交稻米的 AC 值降到中等偏低水平,蒸煮食味品质明显改善^[20]。夏明元等利用 *Wx* 基因的 CAPS 标记对 4384/舟 903//4384 的杂交后代进行单株选择,经过 7 代的选育,获得 92 个 *Wx* 基因纯合的株系,从中选出 2 个产量较高及直链淀

粉含量适中的品系^[21]。李浩杰等以美国光身稻 Lemont 为优质基因供体亲本,优良保持系冈 46B 为轮回亲本,利用与 *Wx* 基因紧密连锁的分子标记 484/485 进行目标基因型选择,同时进行冈 46B 的背景选择,选出具有中等直链淀粉含量且综合性状与轮回亲本冈 46B 相似的个体,从而提高育种效率^[22]。

2.1.2 抗病性 水稻条纹叶枯病(rice stripe disease, RSD)是由灰飞虱作为传毒媒介的水稻条纹叶枯病毒(rice stripe virus, RSV)引起的病毒病。因此水稻对该病的抗性可分为对病毒的抗性和对介体昆虫的抗性,其中对病毒的抗性更为重要^[23]。目前,已经定位的水稻条纹叶枯病抗性相关的 QTL 有 40 多个,它们分布于第 1、2、3、5、6、7、8、10、11 等 9 条染色体^[24~33]。然而这些 QTL 中能实际用于生产的却很少,目前国内生产上应用的条纹叶枯病抗性品种大多是利用来自粳稻 Modan 的位于第 11 染色体上的 *Stw - bⁱ* 基因^[34]。潘学彪等为了改良武育梗 3 号的条纹叶枯病抗性,在连续回交和自交过程中,以紧密连锁的双侧分子标记 *Stw - bⁱ* 对其进行选择,在短期内育成抗条纹叶枯病的武陵梗 1 号,大幅度提高了其条纹叶枯病抗性水平^[35]。陈峰等利用与 *Stw - bⁱ* 紧密连锁

的分子标记进行辅助选择,结合条纹叶枯病田间抗性鉴定及农艺性状分析,通过回交改良,获得携带 *Stv-b¹* 的改良品系 6 个^[36]。李波利用与抗病基因 *qSTV-11b*、*qSTV-11c* 连锁的分子标记对武育梗 3 号、武运梗 8 号和武运梗 7 号进行辅助选择,改良受体亲本的抗性,并选育对条纹叶枯病具有抗性的新品种^[37]。马宁以抗病品种镇稻 88 为供体亲本、武育梗 3 号为轮回受体亲本,采用连续回交并结合分子标记辅助选择的方法,将抗条纹叶枯病基因转移到武育梗 3 号中,育成武育梗 3 号改良系^[38]。

水稻白叶枯病 (bacterial leaf blight, BB) 是由革兰氏阴性菌黄单胞菌水稻变种 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) 引起的细菌性病害,化学方法难以奏效,种植抗病品种则是最经济、有效的防治方法。目前已有 32 个抗白叶枯病基因被鉴定,分别位于第 1、4、5、6、8、11、12 染色体上^[39]。其中, *Xa1*、*Xa5*、*Xa13*、*Xa21*、*Xa26*、*Xa27* 已被克隆。王兴春等以受微效多基因控制白叶枯病抗性的五丰占 2 号和主基因 *Xa5* 控制的 IRBB5 为材料,成功地聚合了白叶枯病抗性主基因和微效多基因^[40]。薛庆中等利用 MAS 成功地选育了抗白叶枯病的水稻恢复系^[41]。彭应财等把白叶枯病抗性基因 *Xa21* 导入到强优恢复系辐恢 838 中,选育出抗白叶枯病恢复系中恢 218^[42]。兰艳荣等利用抗性基因 *Xa21*、*Xa7*,成功改良了华 201S 的白叶枯病抗性^[43]。

稻瘟病是由子囊菌引起的真菌性病害,是世界性的主要稻病之一。应用抗病品种防治相对化学防治来说不会污染环境,是如今防治稻瘟病的主要方法。自 20 世纪 60 年代日本开展稻瘟病基因的遗传研究以来,至今水稻中已经有 80 多个抗稻瘟病基因被标记定位,其中 13 个已经克隆^[44]。被鉴定的广谱抗性基因包括 *Pi1*、*Pi2*、*Pi3*、*Pi9*、*Pi33*、*Piz*、*Piz-t*、*Pigm(t)* 等^[45]。利用与这些基因连锁的分子标记,通过 MAS 已经培育成了许多抗病品种。王忠华等应用与 *Pi-ta* 连锁的共显性标记对 350 个杂交 F_3 代株系进行早期筛选,得到 118 个含 *Pi-ta* 的抗病纯合株系^[46]。刘士平等利用位于第 11 染色体上的与 *Pi1* 紧密连锁的 SSR 标记对保持系珍汕 97 进行改良,得到 17 株含 *Pi1* 的纯合株系^[47]。倪大虎等分别将 *Pi9* 导入不同水稻恢复系 M12 和闽恢 3139 中。这些育成的改良品系经抗性鉴定,抗瘟性均得到显著提高^[48-49]。陈志伟等将稻瘟病抗性基因 *Pi1* 导入受体亲本珍汕 97B、金山 B-1、金山 S-1 等保持系中,与 *Pi1* 基因紧密连锁的分子标记 RM224 和 MRG4766 同时对杂种后代 *Pi1* 基因进行 MAS 选择的准确率达 100%,中选单株抗病性明显提高^[50]。

2.1.3 抗虫性 不同生物型的稻褐飞虱在侵染具有不同抗性基因的水稻时会表现出不同程度的致害性。迄今为止,已报道的水稻抗褐飞虱基因共 27 个,定位的有 21 个,其中 *Bph14* 已被成功克隆^[51]。胡杰等利用分子标记辅助选择将水稻抗褐飞虱基因 *Bph14*、*Bph15* 同时导入到汕优 63 的亲本明恢 63、珍汕 97B 中,以改良汕优 63 的褐飞虱抗性^[52]。李信通过分子标记辅助选择技术将抗褐飞虱基因 *Qbp1*、*Qbp2* 导入到明恢 63、珍汕 97 中,提高明恢 63、珍汕 97 对稻褐飞虱的抗性^[53]。梁云涛利用 MAS,将对我国稻褐飞虱生物群体表现为高抗的 *Bph18(t)* 基因导入到优质杂交水稻恢复系 9311、测 253 中,选育优质高抗的水稻中间材料^[54]。李进波等以药用

野生稻渗入系 B5 为供体亲本,以 9311、1826 为受体亲本,利用 MAS 结合田间农艺性状的选择,获得了目标基因 *Bph14*、*Bph15* 纯合的稳定株系^[55]。孙荣科等以携带 *Bph2*、*Bph3* 的水稻品系 ME1 为供体亲本与杂交稻亲本进行杂交、回交和自交,结合分子标记辅助选择,成功获得了双基因纯合的株系^[56]。

稻瘰蚊同样具有不同的生物型。目前国际上已鉴定出 9 个稻瘰蚊抗性基因,分别命名为 *Gm1* 至 *Gm9*,不同的基因抗不同的生物型。目前抗性育种进程中主要利用的是 *Gm6* 基因。柳武革等通过杂交、多次回交和自交结合分子标记辅助选择技术,将 *Gm6* 基因导入广恢 998 中,筛选获得 6 个抗性株系^[57]。黄炳超等利用与 *Gm6* 紧密连锁的分子标记,成功从丰银占/大秋其 F_3 家系中,鉴定出 15 个抗稻瘰蚊的株系,随后从抗蚊青占/桂 99 的 F_4 和 F_6 家系中分别鉴定出 21 个和 7 个抗稻瘰蚊株系,并成功地将 *Gm6* 基因转入杂交稻的恢复系^[58]。

稻螟虫 (包括二化螟、三化螟、稻纵卷叶螟) 是水稻的主要害虫,但由于自然界缺乏优良的抗虫资源,水稻抗螟虫育种研究进展不大。近年来,随着转基因技术的成功应用,抗螟虫水稻品种培育已成为可能。研究表明,种植带有 *Bt* 基因的品种可以有效控制螟虫的危害。杨子贤等利用常规回交育种方法并结合分子标记辅助选择将 *Bt* 基因导入 9311 中,在 BC3F3 家系中筛选到 8 个家系含纯合的 *Bt* 基因。抗性鉴定结果表明,带有 *Bt* 基因的株系及其杂交种没有受到螟虫危害^[59]。沈圣泉等以克螟稻为 *Bt* 抗虫基因供体,采用杂交、回交转育方法,结合 GUS(β -葡萄糖苷酸酶)分子标记辅助选择和田间抗螟虫性选择技术,选育出首个转 *Bt* 抗螟虫基因籼型水稻不育系科龙 A,其所配杂种 F_1 代仍保持了高抗螟虫特性^[60]。

2.1.4 多个质量性状基因的聚合 基因聚合是将多个有利基因通过选育途径聚合到一个品种中,这些基因可以控制相同的性状,也可控制不同的性状,基因聚合突破了回交育种改良个别性状的局限,使品种在多个性状上同时得到改良,产生更具有实用价值的育种材料^[61]。随着利用水稻抗病虫基因育成水稻品种的不断推广,新的病原菌小种或害虫生物型不断出现,促使抗病虫品种需要不断更新^[62]。但由于各种病原微生物和害虫类型的易变性,采用单基因品种控制病虫害就存在较大的风险,容易因单基因抗性丧失带来较大的病虫害发生;而且不同抗病虫基因间还存在一定的协同作用,聚合多个不同类型的抗病虫基因将是解决水稻病虫害问题的切实有效的方法^[63]。

王春连等利用与抗白叶枯病基因 *Xa23* 紧密连锁的 EST (expressed sequence tag, 表达序列标签) 标记,培育出了 3 个含 *Xa23* 的水稻恢复系^[64]。Yoshimura 等通过 RFLP 和 RAPD 标记将来自不同组合的 5 个白叶枯病抗性基因 *Xa1*、*Xa3*、*Xa4*、*Xa5*、*Xa10* 聚合在一起^[65]。Hittalmani 等利用分子标记辅助选择技术将抗稻瘟病基因 *Pi1*、*Pi-z5*、*Pi-ta* 聚合到同一个水稻品系 BI124 中,含有 2 个或 3 个抗性基因的植株比含单个基因的抗性更强^[66]。Narayanan 等先通过分子标记辅助选择将稻瘟病抗性基因 *Pi1*、*Pi-z5* 聚合到 C039 中,再将白叶枯病抗性基因 *Xa21* 转到已经聚合了稻瘟病抗性基因的

C039 植株中,最后得到同时含有 *Pil*、*Pi-z5*、*Xa21* 的植株,这些植株对稻瘟病和白叶枯病的抗性有很大提高^[67]。陈圣等利用分子标记辅助选择将高抗水稻白叶枯病的 *Xa23* 基因、广谱高抗稻瘟病的 *Pi9* 基因、抗水稻螟虫和稻纵卷叶螟的 *Bt* 基因聚合到同一株系中,获得了与 3 种基因抗性水平相当的纯合株系^[68]。

2.2 分子标记辅助选择在改良水稻数量性状上的应用

2.2.1 产量性状

庄杰云等应用两种定位方法,比较了不同世代水稻产量性状的 QTL 检测结果,结果显示对产量这一性状而言,重要的加性效应的 QTL 能够在不同世代得到稳定检测^[69]。中国水稻研究所通过分子标记辅助选择与常规测恢相结合,选育出强优恢复系 R8006;应用籼粳特异标记检测,选育出籼粳中间型恢复系 R9308^[70]。国家杂交水稻工程中心在马来西亚普通野生稻中鉴定出 2 个主效高产 QTL *Yld1.1* 和 *Yld1.2* 的单株作基因供体,经连续回交并多代自交,采用分子标记辅助选择与田间选择相结合,育成携带野生稻高产 QTL 的强优晚稻恢复系 Q611^[71]。Tanksley 等利用分子标记辅助选择实现了多个 QTL 从野生近缘种向优良的栽培稻品种的转移^[72]。

2.2.2 水稻抗逆性状的改良

随着全球变暖等气候条件变化的加剧,中国旱灾发生的频率和范围也在加大,干旱已成为制约中国水稻生产的重要因素^[73],因此,水稻抗旱品种的培育对减少旱灾的影响、提高水稻产量具有十分重要的意义。迄今为止,已定位出水稻抗旱性相关的 QTL 超过 680 个,其中与根形态性状相关的 QTL 有 228 个,与生理特征(脱落酸、渗透调节、相对含水量)相关的 QTL 有 40 个,其他与植株抗旱性相关的 QTL 有 418 个^[74-75]。Li 等描述了通过建立等基因导入系进行抗旱性基因定位和利用分子技术进行抗旱性品种选育的方法,如 DTY3.1、DTY1.1、DTY12.1 等与干旱胁迫下产量性状紧密连锁的标记被有效用于抗旱分子辅助育种中,可以对杂交后代进行有效抗旱分子筛选^[76]。刘立峰对定位群体中的粳型抗旱供体亲本 IRAT109 与粳型早敏感的水稻品种越富、津稻 1187 进行杂交、回交,并利用分子标记辅助选择对其产生的 4 个低世代育种群体进行筛选,获得了抗旱相关性状 QTL 的优良近等基因系^[77]。

水稻的多个生长期都是低温敏感期,如芽期、苗期、孕穗期和抽穗期等。全国低温、冷害造成的损失每年大概 30 亿~50 亿 kg。近几十年来,随着分子生物学的发展,水稻耐冷性 QTLs 分析有了较大进展,成为了一种进行耐冷性基因定位的主要方法^[78]。刘之熙等以北海 PLS(孕穗期耐冷性极强)为供体亲本,与晚稻品种湘晚粳 29 号、湘晚粳 31 号及台中 101 号(孕穗期不耐冷)杂交,在 F₃ 代利用 CAPS 标记进行辅助选择,从 3 个 F₃ 群体中,共选出携带纯合耐冷基因的个体 12 株,并将其作为改良晚粳稻孕穗期耐冷性的中间材料^[79]。

盐害是导致水稻减产的重要原因之一,而我国土壤的盐碱化直接制约了水稻生产的稳定发展。培育耐盐水稻品种,深入开展水稻耐盐性研究,通过遗传改良提高水稻的耐盐性,是保证盐碱稻作区粮食的安全生产和改善生态环境的有效途径之一。目前,已定位的耐盐性 QTL 达 70 多个^[80]。已经克隆的抗盐性基因包括有抗水分胁迫基因 *CMO*、*BADH*、*mlD*、

gutD、*SAMDC*; 另一类是抗离子毒害的基因 *SKCI*^[81]。2005 年,中国水稻研究所开始通过转基因和常规育种相结合的方法在水稻中聚合这两类耐盐基因,已获得一系列的含不同抗盐途径的耐盐水稻品系越光-SKCI/BADH-12、秀水 11-SKCI/BADH-23,能在 1.0% 的 NaCl 浓度胁迫后恢复正常生长^[82]。

2.2.3 其他数量性状的改良

水稻的株型是其产量的影响因素之一,而直立密穗是高产的合适株型。程朝平等以优良籼稻品种东南恢 602(弯穗型)为母本、DW135(直立密穗)为父本配制杂交组合,设计合成 InDel(insertion deletion length polymorphism,插入缺失长度多态性)标记,通过该标记进行辅助选择,最终选出了含有直立密穗基因的纯合株系^[83]。

为了选育香稻恢复系,杜雪树等以广东香稻品种美香占为香味基因供体、自育抗性恢复系丰 986 和 R476 为受体,通过比较编码 BAD2(betaine-aldehyde dehydrogenase,甜菜碱醛脱氢酶)的 *fgr* 基因序列和 9311 序列设计功能性 STS 标记 Aro,并在回交和复交的分选世代利用 Aro 标记开展香味基因分子标记辅助选择育种,最终选育出农艺性状较好的香型恢复系 C349 和 C354^[84]。

3 分子标记辅助选择的问题与展望

分子标记辅助选择是当今水稻育种中不可或缺的一部分,在培育超级稻、抗病虫害及稻米品质、农艺性状改良等方面表现出了极大的潜力。从上述的例子也可以看到,分子标记辅助选择能够达到较高的准确性。但从某些方面来说,分子标记辅助选择在现阶段也显露出了一些不足。首先,目前基因定位的工作进度还不够快,育种工作者准备用分子标记辅助选择的基因有些尚未定位或连锁并不紧密;已经精确定位的,随即可用的以 PCR 为基础的标记还不多,而且也不一定在群体的双亲间表现多态。其次,分子标记辅助选择在改良数量性状方面的应用不如最初设想的那么广泛,主要是因为水稻农艺性状基因发掘不足,大量的遗传信息处于零散的状态,而且对不同遗传背景和环境条件下的 QTL 研究不够系统全面,如今已定位的 DNA 分子标记与目的基因间的遗传距离多数超过 5.0 cM, QTL 定位的准确性和精确度达不到分子标记辅助选择的要求。针对这些问题,在今后的育种工作中所构建的群体要尽可能既是遗传研究群体,又是育种群体实现基因定位与育种同步进行;寻找与目标基因紧密连锁的两侧分子标记;充分发掘 QTL 的信息等。

我们相信,在不远的将来,随着分子生物学新成果和新技术的不断出现以及基因组学、生物信息学等研究的深入发展,分子标记辅助选择将会在品种改良中大展宏图,这必将对我国的作物改良作出革命性的贡献。

参考文献:

- [1] Khush G S. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030[J]. Plant Mol Biol, 2005, 59(1): 1-6.
- [2] 方宣钧, 吴为人, 李维明. 作物 DNA 标记辅助选择育种[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 11-84.
- [3] 周宇燧. 分子标记发展简史[J]. 现代农业科技, 2009(11): 264-270.

- [4]白 玉. DNA 分子标记技术及其应用[J]. 安徽农业科学,2007, 35(24):7422-7425.
- [5]关 强,张月学,徐香玲,等. DNA 分子标记的研究进展及几种新型分子标记技术[J]. 黑龙江农业科学,2008(1):102-104.
- [6]阮成江,何祯祥,钦 佩. 中国植物遗传连锁图谱构建研究进展[J]. 西北植物学报,2002,22(6):1526-1536.
- [7]贾继增. 分子标记种质资源鉴定和分子标记育种[J]. 中国农业科学,1996,29(4):2-11.
- [8]何风华. DNA 分子标记及其在植物遗传育种上的应用[J]. 生物学教学,2004,29(1):8-10.
- [9]白建荣,郭秀荣,侯变英. 分子标记的类型、特点及在育种中的应用[J]. 山西农业科学,1999,27(4):33-38.
- [10]王 军,谢 皓,郭二虎,等. DNA 分子标记及其在谷子遗传育种中的应用[J]. 北京农学院学报,2005,20(1):76-80.
- [11]王晓梅,杨秀荣. DNA 分子标记研究进展[J]. 天津农学院学报,2000,7(1):21-24.
- [12]吴春太,叶水英,李 雄,等. 新型的分子标记——SNPs[J]. 景德镇高专学报,2003,18(4):8-9,49.
- [13]邹喻苹,葛 颂. 新一代分子标记——SNPs 及其应用[J]. 生物多样性,2003,11(5):370-382.
- [14]Dudley J W. Molecular markers in plant improvement; manipulation of genes affecting quantitative traits[J]. Crop Science,1993(33): 660-668.
- [15]Lee M. DNA markers and plant breeding programs[J]. Advances in Agronomy,1995,55:265-344.
- [16]Mohan M, Nair S, Bhagwat A, et al. Genome mapping molecular markers and marker - assisted selection in crop plants[J]. Mol Breeding,1997(3):87-103.
- [17]张文龙,陈志伟,杨文鹏,等. 分子标记辅助选择技术及其在作物育种上的应用研究[J]. 种子,2008,27(4):39-43.
- [18]刘巧泉,蔡秀玲,李钱峰,等. 分子标记辅助选择改良特青及其杂交稻米的蒸煮与食味品质[J]. 作物学报,2006,32(1): 64-69.
- [19]周屹峰,赵 霏,任三娟,等. 具中等直链淀粉含量的粳型优质不育系浙农3A的选育[J]. 杂交水稻,2010,25(4):14-17,95.
- [20]许 勇,倪大虎,陆徐忠,等. 分子标记辅助改良杂交稻协优57及其父母本的蒸煮食味品质[J]. 生物学杂志,2011,28(2): 9-12.
- [21]夏明元,李进波,张建华,等. 利用分子标记辅助选择技术选育具有中等直链淀粉含量的早稻品种[J]. 华中农业大学学报, 2004,23(2):183-186.
- [22]李浩杰,李 平,高方远,等. SSR 标记辅助改良冈46B 直链淀粉含量的研究[J]. 作物学报,2004,30(11):1159-1163.
- [23]Chen T, Zhang Y D, Zhu Z, et al. Research progress of resistant genetics and breeding against rice stripe disease[J]. Jiangsu Agric Sci,2006(2):1-4.
- [24]Washio O, Toriyama K, Ezuka A, et al. Studies on the breeding of rice varieties resistant to stripe disease: II. genetic study on resistance to stripe disease in Japanese upland rice[J]. Ikushugaku zasshi,1968,18(2):96-101.
- [25]林含新,林奇田,魏太云,等. 水稻品种对水稻条纹叶枯病毒及其介体灰飞虱的抗性鉴定[J]. 福建农业大学学报,2000,29(4):452-455.
- [26]Nemoto H, Ishikawa K, Shimura E. The resistance to rice stripe virus and small brown plant hopper in rice variety IR50[J]. Breeding Science,1994,44(1):13-18.
- [27]陈 涛,朱 镇,张亚东,等. 水稻品种爱知106 抗条纹叶枯病性的遗传分析[J]. 江苏农业学报,2007,23(1):11-14.
- [28]周 彤,范永坚,程兆榜,等. 水稻抗条纹叶枯病鉴定方法的研究[J]. 植物保护,2008,34(6):77-80.
- [29]邢祖颐,何家齐,刘志武,等. 粳梗稻杂交种的研究——抗条纹叶枯病育种[J]. 作物学报,1985,11(1):1-7.
- [30]Hayano - Saito Y, Tsuji T, Fujii K, et al. Localization of the rice stripe disease resistance gene, *Stu - bⁱ*, by graphical genotyping and linkage analyses with molecular markers[J]. Theoretical and Applied Genetics,1998,96(8):1044-1049.
- [31]Maeda H, Nemoto H, Yagi T, et al. QTL analysis for rice stripe disease resistance using recombinant inbred lines (RILs) derived from crossing between Milyang23 and Akihikari [C]//Prospects of rice genetics and breeding for the 21st Century - Paper collection of international rice genetics and breeding symposium, Beijing: China Agricultural Science Technology Press,1999:53-57.
- [32]Hayano - Saito Y, Satio K, Nakamura S, et al. Fine physical mapping of the rice stripe resistance gene locus, *Stu - bⁱ* [J]. Theoretical and Applied Genetics,2000,101:59-63.
- [33]丁秀兰,江 玲,张迎信,等. 利用回交重组自交群体检测水稻条纹叶枯病抗性位点[J]. 作物学报,2005,31(8):1041-1046.
- [34]潘学彪,梁国华,陈宗祥,等. 江苏抗水稻条纹叶枯病育种策略[J]. 江苏农业科学,2005(5):22-23.
- [35]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“武陵梗1号”[J]. 作物学报,2009,35(10):1851-1857.
- [36]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.
- [37]李 波. 分子标记辅助选择改良梗稻条纹叶枯病抗性[D]. 扬州:扬州大学,2008.
- [38]马 宁. 水稻抗条纹叶枯病分子标记辅助选择育种研究[D]. 扬州:扬州大学,2008.
- [39]毛凌华,聂元元,李 瑶,等. 水稻白叶枯病抗性基因及其分子标记辅助选择育种研究进展[J]. 江西农业学报,2011,23(8): 115-117.
- [40]王兴春,杨长登,李西明,等. 分子标记辅助选择与花药培养相结合快速聚合水稻白叶枯病抗性基因[J]. 中国水稻科学, 2004,18(1):7-10.
- [41]薛庆中,张能义,熊兆飞,等. 应用分子标记辅助选择培育抗白叶枯病水稻恢复系[J]. 浙江农业大学学报,1998,24(6): 19-20.
- [42]彭应财,李文宏,樊叶扬,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[J]. 杂交水稻,2003,18(5):5-7.
- [43]兰艳荣,王俊义,王 弋,等. 分子标记辅助选择改良水稻光温敏核不育系华21S的白叶枯病抗性[J]. 中国水稻科学,2011, 25(2):169-174.
- [44]杨勤忠,林 菲,冯淑杰,等. 水稻稻瘟病抗性基因的分子定位及克隆研究进展[J]. 中国农业科学,2009,42(5):1601-1615.
- [45]吴 俊,刘雄伦,戴良英,等. 水稻广谱抗稻瘟病基因研究进展[J]. 生命科学,2007,19(2):233-238.
- [46]王忠华,贾育林,吴殿星,等. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi - ta* 的分子标记辅助选择[J]. 作物学报,2004,30(12):1259-1265.
- [47]刘士平,李 信,汪朝阳,等. 利用分子标记辅助选择改良珍汕

- 97 的稻瘟病抗性[J]. 植物学报, 2003, 45(11): 1346–1350.
- [48] 倪大虎, 易成新, 李 莉, 等. 利用分子标记辅助选择聚合水稻基因 *Xa21* 和 *Pi9(t)* [J]. 分子植物育种, 2005, 3(3): 329–334.
- [49] 陈建民, 付志英, 权宝权, 等. 分子标记辅助培育双抗稻瘟病和白叶枯病杂交稻恢复系[J]. 分子植物育种, 2009, 7(3): 465–470.
- [50] 陈志伟, 官华忠, 吴为人, 等. 稻瘟病抗性基因 *Pi-1* 连锁 SSR 标记的筛选和应用[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2005, 34(1): 74–77.
- [51] 杨 震, 彭选明, 彭伟正, 等. 水稻褐飞虱抗性基因研究进展[J]. 生物技术通报, 2011(8): 15–20.
- [52] 胡 杰, 李 信, 吴昌军, 等. 利用分子标记辅助选择改良杂交水稻的褐飞虱和稻瘟病抗性[J]. 分子植物育种, 2010, 8(6): 1180–1187.
- [53] 李 信. 应用分子标记辅助选择改良水稻对稻瘟病、褐飞虱的抗性[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.
- [54] 梁云海. 水稻抗白叶枯病基因 *Xa30(t)* 分子标记定位和抗病虫基因聚合研究[D]. 南宁: 广西大学, 2008: 1–69.
- [55] 李进波, 夏明元, 戚华雄, 等. 水稻抗褐飞虱基因 *Bph14* 和 *Bph15* 的分子标记辅助选择[J]. 中国农业科学, 2006, 9(10): 2132–2137.
- [56] 孙荣科, 陈 乔, 李孝琼, 等. 分子标记辅助聚合抗褐飞虱基因选育杂交水稻抗性品种初步研究[J]. 广西农业科学, 2009, 40(6): 654–657.
- [57] 柳武革, 王 丰, 肖汉祥, 等. 利用分子标记辅助选择改良水稻恢复系的稻瘰蚁抗性[J]. 中国水稻科学, 2010, 24(6): 581–586.
- [58] 黄炳超, 肖汉祥, 吕利华, 等. 抗稻瘰蚁新基因 *Gm6* 在分子标记抗性育种中的应用[J]. 中国农业科学, 2004, 37(1): 76–80.
- [59] 杨子贤, 姜恭好, 徐才国, 等. 利用分子标记辅助选择改良 9311 对白叶枯病和螟虫抗性[J]. 分子植物育种, 2004, 2(4): 473–480.
- [60] 沈圣泉, 舒庆尧, 吴殿星, 等. 利用分子标记辅助选择育成抗螟虫籼稻不育系科龙 A[J]. 杂交水稻, 2008, 23(2): 15–18.
- [61] 苟作旺, 杨芳萍, 杨文雄. 作物分子标记辅助选择育种研究进展[J]. 甘肃农业科技, 2007(1): 21–24.
- [62] 章 琦. 水稻白叶枯病抗性基因鉴定进展及其利用[J]. 中国水稻科学, 2005, 19(5): 453–459.
- [63] 张启军, 吕川根, 虞德容, 等. 水稻抗病基因聚合育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(8): 57–62.
- [64] 王春连, 戚华雄, 潘海军, 等. 水稻抗白叶枯病基因 *Xa23* 的 EST 标记及其在分子育种上的利用[J]. 中国农业科学, 2005, 38(10): 1996–2001.
- [65] Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, et al. Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers[J]. Molecular Breeding, 1995, 1(4): 375–387.
- [66] Hittalmani S, Parco A, Mew T V, et al. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100: 1121–1128.
- [67] Narayanan N N, Baisakh N, Oliva N P, et al. Molecular breeding: marker-assisted selection combined with biolistic transformation for blast and bacterial blight resistance in Indica rice (cv. CO39) [J]. Mol Breeding, 2004, 14(1): 61–71.
- [68] 陈 圣, 倪大虎, 陆徐忠, 等. 分子标记辅助选择聚合 *Xa23*、*Pi9* 和 *Bt* 基因[J]. 生物学杂志, 2009, 26(3): 7–9.
- [69] 庄杰云, 郑康乐. 水稻产量性状遗传机理及分子标记辅助高产育种[J]. 生物技术通报, 1998(1): 1–9.
- [70] 程式华, 庄杰云, 曹立勇, 等. 超级杂交稻分子育种研究[J]. 中国水稻科学, 2004, 18(5): 3–9.
- [71] 杨盖善, 邓启云, 陈立云, 等. 野生稻高产 QTL 的分子标记辅助育种进展[J]. 杂交水稻, 2005, 20(5): 1–5.
- [72] Tanksley S D, Nelson J C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 92(2): 191–203.
- [73] Zhang Q. Strategies for developing Green Super Rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(42): 16402–16409.
- [74] 聂元元, 蔡耀辉, 付 红, 等. 栽培稻抗旱性相关性状 QTL 定位及分子育种研究进展[J]. 江西农业学报, 2011, 23(7): 89–92, 101.
- [75] Atlin G N, Kumar R, Venuprasad R. Genetic analysis of rain fed lowland rice drought tolerance under naturally-occurring stress in eastern India: Heritability and QTL effects [J]. Field Crops Research, 2007, 103(1): 42–52.
- [76] Li Z K, Luo L J, Mei H W, et al. A “defeated” rice resistance gene acts as a QTL against a virulent strain of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* [J]. Mol Gen Genet, 1999, 261(1): 58–63.
- [77] 刘立峰. 早稻抗旱相关性状 QTL 的分子标记辅助选择研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [78] Zhang Z H, Su L, Li W, et al. A major QTL conferring cold tolerance at the early seedling stage using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Science, 2005, 168(2): 527–534.
- [79] 刘之熙, 刘云开, 詹德才. 水稻孕穗期耐冷基因的 CAPs 标记辅助选择[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2008, 34(2): 127–131.
- [80] 陈永华, 严钦泉, 肖国樱. 水稻耐淹涝的研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 21(12): 151–153, 159.
- [81] Fukao T, Bailey-Serres J. Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLR1L1 restriction of gibberellin responses in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(43): 16814–16819.
- [82] 胡时开, 陶红剑, 钱 前, 等. 水稻耐盐性的遗传和分子育种的研究进展[J]. 分子植物育种, 2010, 8(4): 629–640.
- [83] 程朝平, 刘成德, 杨德卫, 等. 分子标记辅助选择籼型直立恢复系[J]. 分子植物育种, 2011, 9(5): 561–566.
- [84] 杜雪树, 夏明元, 李进波, 等. 分子标记辅助选择选育香稻恢复系[J]. 华中农业大学学报, 2009, 28(6): 651–654.