

利用普通野生稻褐飞虱抗性改良水稻恢复系的研究

郭辉, 冯锐, 张晓丽, 秦学毅

(广西农业科学院水稻研究所/广西水稻遗传改良重点实验室, 南宁 530007)

摘要:褐飞虱是我国水稻主要害虫之一, 挖掘和利用稻飞虱抗性基因, 选育抗稻飞虱的水稻品种是目前防治褐飞虱最科学、安全的一种措施。本研究利用具有高抗褐飞虱显性基因的抗源材料 HS204 作为抗源供体, 以恢复系明恢 65、582、MR 等作为轮回亲本, 通过回交、苗期群体鉴定和成株期农艺性状选择, 成功地将高抗褐飞虱基因转育到轮回亲本中, 获得 45 份抗性纯合株系, 同时其配合力、米质等其他农艺性状也得到了相应改善。

关键词:聚合回交; 抗褐飞虱; 恢复系

Improvement of Restorer Line of Rice Common Wild Rice Brown Planthopper Resistant Resources

GUO Hui, FENG Rui, ZHANG Xiao-li, QIN Xue-yi

(Guangxi Rice Genetic Improvement Key Lab / Rice Research Institute,
Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007)

Abstract: Brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens* Stål) is one of main insect pests of rice (*Oryza sativa* L.). The most scientific and safest measure of breeding BPH resistant cultivars is identification and using BPH resistance genes. In this study, HS204 that carries a dominant gene for resistance to BPH was used as the resistance donor, and the restorer lines Minghui 65, 582, and MR were used as the recurrent parent. By means of backcrossing, seedling detection, and selection of agronomic traits at adult stage, the gene for resistance to BPH was transferred into the recurrent parent, resulting in 45 homozygous resistant lines. The combining ability, grain quality, and other agronomic traits were also improved accordingly.

Key words: Polymerization backcrossing; resistance to BPH; restorer line

褐飞虱 (*Nilaparvata lugens* Stål) 是我国南方水稻种植区及东南亚水稻生产国的主要害虫之一, 由于具有远距离迁飞性、繁殖力强、生长周期短和很强的适应力及暴发性等特点, 对水稻生产构成极大的威胁; 褐飞虱是典型的吸食维管束液的昆虫, 同时还存在传播草状矮缩病 (GSV)、高低矮缩病 (RSV) 以及通过产卵器划破穗颈产卵等危害^[1], 造成减产, 严重时甚至绝收。化学防治在减轻褐飞虱危害中一直发挥着重要作用, 但也同时杀死了害虫的天敌, 而且有

些杀虫剂还刺激褐飞虱产卵^[2], 诱导产生抗药性而导致再度猖獗。此外, 化学药剂的使用不可避免地对自然环境造成污染和破坏。因此, 挖掘和利用稻飞虱抗性基因, 选育抗稻飞虱的水稻品种是目前最科学、安全的一种措施。20 世纪 70 年代国际水稻研究所 (IRRI) 就相继育成含 *Bph1*、*bph2* 基因的抗虫品种 IR26、IR36, 可随后又发现危害这些品种的褐飞虱种群; 80 年代 IRRI 又育成含 *Bph3* 基因的抗虫品种 IR56 等品种, 但近年的研究表明, 这些品种也逐渐丧

收稿日期: 2011-09-10 修回日期: 2012-02-05

基金项目: 广西壮族自治区科技计划项目 (桂科攻 0992016)

作者简介: 郭辉, 硕士, 实习研究员, 研究方向为水稻抗性育种。E-mail: ggh@gxaas.net

通讯作者: 秦学毅, 研究员, 稻种资源抗性遗传及利用研究。E-mail: qxueyi@gxaas.net

失了抗性^[3]。我国也先后育成一系列含 *Bph1* 的品种(组合), 对防治褐飞虱起到积极作用, 但 1986—2000 年间, 我国水稻新品种抗性呈下降趋势^[4], 而目前我国褐飞虱以生物型 II 为主, 出现以 5 种生物型混合发生的态势^[5], 原来含 *Bph1* 的抗性品种已逐渐丧失抗性, 因此迫切需要培育新的抗虫品种(组合)。

野生稻是水稻育种的宝贵种质资源, 由于经历了长期的各种灾害和恶劣环境的自然选择, 拥有丰富的遗传多样性和无数的特异基因^[6-7]。经过多年研究, 本试验从广西普通野生稻中筛选出褐飞虱显性抗源, 经杂交转育, 获得高抗褐飞虱近等基因系 HS204。利用该材料, 采用回交法结合抗性鉴定, 通过 6 年的研究, 成功将抗虫基因转育到明恢 65、R98、GHG 等优良恢复系中, 育成了具有抗性高、配合力和恢复力均强的新恢复系, 现着重报道抗褐飞虱恢复系选育研究的结果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 供体抗源材料为 HS204, 其抗褐飞虱基因来源于广西普通野生稻, 是经多年杂交选育而成的近等基因系, 具有自主知识产权。受体材料为对褐飞虱表现敏感的明恢 65、582、R98、桂 R106 等恢复系和 GHG、Mg3、MR、M 软 G、MM、m218 恢、524R、紫 RB、药恢、测 258 等自育优良恢复系材料。

1.1.2 供试虫源 所用虫源为 2011 年在广西南宁田间采集、在网室用 TN1 饲养繁殖的褐飞虱混合生物型, 以褐飞虱生物型 II 为主, 部分为越南九龙江型、孟加拉型和生物型 I。

1.2 方法

1.2.1 配组设计 利用抗源材料 HS204 作母本, M 软 G、明恢 65、MR、MM、m218 恢等作父本进行杂交, 用父本作轮回亲本对抗株回交 1~2 代, 然后自交若干代; 另用 582、桂 R106、GHG、M 软 G、Mg3、524R、紫 RB、药恢、测 258、R98 等作母本, 用 HS204 作父本进行杂交, 再用母本为轮回亲本对抗株连续回交 1~2 代, 然后自交若干代; 待种性基本稳定后, 与不育系进行测配, 以特优 63 作对照, 对其杂种进行配合力、恢复力、抗褐飞虱及农艺性状等方面作综合测定和评价。

1.2.2 褐飞虱抗性鉴定 将供试种子分播于瓷盘内, 每份种子播 1 行 20~25 苗, 设 3 次重复, 到 3

叶期时平均每株接入褐飞虱 1~2 龄若虫 8~10 头, 以 TN1 死苗超过 95% 作为抗感分离的临界点进行统计^[8], 抗性分级标准按国际水稻所标准执行, 1 级: 不受损害或第一叶梢变黄, 3 级: 第一、二叶变黄, 5 级: 第一至三叶变黄或植株呈矮化, 7 级: 植株开始凋萎, 9 级: 植株死亡。

2 结果与分析

2.1 杂种 F_1 抗性表现

抗褐飞虱材料 HS204 的抗性基因来源于广西普通野生稻, 是经过多年杂交选育而成的抗性近等基因系, 用抗源材料 HS204 与恢复系材料明恢 65、R98、GHG、258、Mg3、3B、MR、桂 R106 等进行配组杂交, 杂交所获种子分别进行抗褐飞虱鉴定, 结果表明, 15 个组合杂种 F_1 都表现出 1 级高抗性水平, 无感虫株出现, 说明抗源基因为显性基因, 显性抗性基因有利于在杂交水稻充分发挥其独特优势。

由于鉴定抗源采用褐飞虱混合生物型, 未用这些组合做抗性遗传分析, 其遗传模式有待进一步研究。

2.2 回交与抗性选育

将 F_1 自交获得 F_2 , 进行抗褐飞虱鉴定, 选出抗苗, 单株编号, 自交获得 $F_{2:3}$ 株系。随机取部分 $F_{2:3}$ 株系种子进行抗性鉴定, 取抗株用各轮回亲本回交, 回交抗株为各鉴定株系中挑选出的 1~3 级抗苗(主要从抗性纯合株系中选), 根据抗性基因的遗传表现, 在进行抗褐飞虱基因/恢复基因//恢复基因聚合回交时, 其回交 1 代 $BC_1F_{(2:3)}$ 无需进行抗性鉴定, 抗性鉴定着重放在 $BC_1F_{(2:3)2}$ 。组合 HS204/明恢 65 部分鉴定结果如表 1 所示, 其结果表明, 用轮回亲本与 M204-1、M204-9、M204-12、M204-16、M204-19 等株系号的 1 级抗苗进行回交, 由于这些株系有可能为杂合体, 其后代对褐飞虱抗性不纯合, 后代分离世代很长, 利用抗性有分离的抗苗株系进行回交, 在后代群体中选择对褐飞虱抗性纯合的株系难度就大大增加。而轮回亲本与 M204-8 号全抗株系进行回交, 在 $BC_1F_{(2:3)2}$ 就获得了较多的抗性株系。因此, 在 F_2 就应开始选择和建立抗性株系, 选择抗性基本一致或无分离的株系与轮回亲本杂交, 淘汰有分离的株系, 是抗性聚合育种的关键。一般经过 1 次回交即可, 回交世代越多, 其抗性纯合的时间就越长。

表 1 回交株系抗性鉴定

Table 1 Resistance identification of backcrossing strains

回交株系号 No. of backcrossing line	抗性级别 Resistance grade	鉴定株系数 No. of lines tested	BC ₁ F _{(2:3)2}		BC ₁ F _{(2:3)3} 抗性株系数 Resistant lines in BC ₁ F _{(2:3)3}	BC ₁ F _{(2:3)4}	
			抗性株系数 No. of resistant lines	感性株系数 No. of susceptible lines		抗性纯合株系数 Homozygous resistant lines	强恢复力株系数 No. of strong restore lines
M204-1-15-6-3	1	25	8	17	8	0	2
M204-1-5-12-7	1	25	5	20	5	0	1
M204-8-8-14-9	1	25	15	10	15	6	1
M204-8-2-3-6	1	25	19	6	19	8	2
M204-9-14-9-11	1	25	18	7	18	5	2
M204-9-8-14-9	1	25	10	15	10	3	1
M204-12-5-6-3	1	25	9	11	9	0	1
M204-12-7-1-5	1	25	13	12	13	0	1
M204-16-8-12-6	1	25	9	14	9	0	1
M204-19-1-16-9	3	25	6	19	6	0	2
M204-19-8-14-5	3	25	15	10	15	0	2

在 BC₁F₂ 抗性纯合后代的群体中同步进行测恢试验, 以确保在低世代就可以淘汰配合力低的株系。从表 1 中可以看出, 几乎所有回交株系中都能选择到恢复力较强的株系, 其中有 6 个株系的抗褐飞虱水平达到高度纯合, 说明聚合回交育种可以将抗褐飞虱显性基因导入到恢复系中, 获得创新性的高抗褐飞虱恢复系。

用恢复系作轮回亲本与抗褐飞虱纯合株系进行聚合回交, BC₁F₁ 可以不进行抗性鉴定, 在抽穗期选择

株型、叶及穗部与轮回亲本相似的单株进行自交收种, 扩大回交后代的植株, BC₁F_{2:3} 同样按株系进行种植和抗性鉴定, 选择抗性没有分离或少分离的株系, 淘汰有分离的株系, 自交 3~4 代, 期间不做抗性鉴定, 只选择农艺性状较好的单株, 直至各性状基本稳定后, 再进行抗性鉴定, 由表 2 可以看出, 从 15 个杂交组的 122 份农艺性状表现较好株系中选出 45 份抗性纯合株系。除了 2 个组合没有得到抗性纯合株系外, 其余 13 个组合都至少获得 1 个抗性纯合株系。

表 2 各组合抗褐飞虱鉴定结果

Table 2 Identification of resistance to brown planthopper in different combinations

序号 No.	组合 Combination	鉴定株系数 No. of resistant lines	抗性纯合株系数 No. of homozygous resistant lines	序号 No.	组合 Combination	鉴定株系数 No. of resistant lines	抗性纯合株系数 No. of homozygous resistant lines
1	HS204/M 软 G	3	1	9	M 软 G/HS204	1	1
2	HS204/明恢 65	23	18	10	Mg3/HS204	12	4
3	HS204/MR	21	2	11	524R/HS204	2	1
4	HS204/MM	2	0	12	紫 RB/HS204	2	1
5	HS204/m218 恢	1	1	13	药恢/HS204	2	1
6	582/HS204	12	6	14	测 258/HS204	1	1
7	桂 R106/HS204	17	0	15	R98/HS204	6	3
8	GHG/HS204	17	5	合计 Total		122	45

2.3 抗性恢复株系的配组效果

待种性基本趋于稳定时再进行恢复力和配合力的测定,组合明恢 65/HS204 后代选出的株系测交结果见表 3,由表 3 可看出,在下列 2 个入选的新恢复系材料中,都来源于抗性纯合的 M204-8 株系,这些材料首先不仅仅是对褐飞虱具有很好的抗性,新配组合抗性都在 3 级以上的水平,在选配的 7 个组

合中有 3 个组合表现 3 级抗性水平,有 4 个组合表现出 1 级高抗水平。而且这些组合同时表现出较强的恢复力,主要表现在穗子较大,结实率也较高,丰产性能优。在与不同的不育系配组时均表现出很好的恢复能力,其中 14A × M204-8-2-3-6-5 表现尤为突出,产量性状均超过特优 63 和金优 207 对照种,且抗性亦达到高抗水平。

表 3 与不同三系不育系配组 F₁ 表现

Table 3 Performance of F₁ hybrids derived from different CMS lines

组合名称 Combination	株高(cm) Plant height	有效穗数 Effective panicles	穗长(cm) Panicle length	穗粒数 Grains per panicle	结实率(%) Seed set	千粒重(g) 1000-grain weight	长宽比 L/W ratio	产量(kg) Yield	抗性级别 Resistant grade
14A × M204-8-2-3-6-5	99.50	11.67	27.18	358.4	90.99	19.43	3.57	624.81	1
6A × M204-8-2-3-6-5	102.75	11.00	28.25	402.4	89.74	19.32	3.86	613.56	1
博 IIA × M204-8-2-3-6-5	115.00	13.00	26.31	244.8	88.97	22.41	3.21	553.09	1
特优 63CK	106.33	12.67	27.38	200.0	90.47	27.73	3.09	611.70	9
14A × M204-8-2-3-6-5	101.30	8.00	26.24	357.4	90.36	21.59	3.89	582.59	1
吉 A × M204-8-8-14-9-9	104.33	12.22	25.68	236.3	87.12	22.19	3.49	570.72	3
13A × M204-8-8-14-9-9	96.30	9.80	26.00	285.0	88.66	21.37	3.28	560.42	3
178A × M204-8-8-14-9-9	109.40	7.00	29.40	397.5	83.19	21.29	3.66	568.07	3
金优 207(CK)	98.30	8.90	26.61	236.2	91.53	24.60	3.96	526.78	9

3 讨论

3.1 来自普通野生稻抗褐飞虱显性基因的转育

普通野生稻在长期自然选择过程中,产生对病虫害较强的抗性和对环境较强的适应性,而且普通野生稻与栽培稻同为 AA 染色体组型,相互之间可以自由杂交,因此从普通野生稻中寻找和挖掘抗褐飞虱基因,尤其是显性抗性基因对其在育种上的利用具有特别的意义。李容柏等^[9-10]从普通野生稻 94-42-5-1 中鉴定出一对隐性基因 *bph14(t)*,并利用此材料和其他抗性普通野生稻材料初步选育出 5 个具有生产应用价值的高产(或优质)抗褐飞虱育种品系和杂交稻组合。之后李容柏等^[11]又从普通野生稻材料中鉴定出 5 对隐性抗性基因 *bph20(t)*、*bph21(t)*、*bph22(t)*、*bph23(t)*、*bph24(t)* 并将其分别定位在第 6、10、4、4、4 号染色体上。Deen 等^[12]从普通野生稻的转育品系 IR73678-6-9-B 中鉴定出 *bph-24(t)*。虽然目前从普通野生稻已经发现报道抗褐飞虱主效基因 7 个,但由于都为隐性基因,在生产上尤其是杂交稻育种上不能发挥出最好的优势。本研究材料 HS204 是来源于广西普通野生稻转育的近等基因系,携带抗褐飞虱显性

基因,用此材料与明恢 65 等恢复系杂交,选育出高抗褐飞虱优良恢复品系,测交结果表明,其杂种 1 代亦具高抗性。因此该显性抗性基因的发现与利用,对水稻育种特别是杂交稻抗褐飞虱育种具有重要意义。

3.2 分子标记辅助育种的利用

抗虫鉴定受环境的影响较大,且费时费力,各育种单位受技术条件等限制,不适合大范围推广应用,而分子标记辅助选择不受虫源的影响,且在苗期既可大规模选择,是一条行之有效的方法。孙立宏^[13]利用分子标记对 ASD7/C418 的后代进行分析,结合抗虫表现,其选择正确率在 89.9%~95.1% 之间。李进波等^[14]通过分子标记辅助选择 *Bph14*、*Bph15* 得到 30 余份抗性纯合株系。阳海宁等^[15]通过回交与分子标记辅助选择相结合的方法,得到抗稻白叶枯病基因 *Xa23* 和抗褐飞虱基因 *Bph3* 双抗性基因聚合系 144 份。本研究对抗源 HS204 中抗性基因的定位工作正在进行,以期加快在抗褐飞虱育种上的应用。

4 结论

研究结果表明,采用聚合回交法,通过先聚合再回交,减少回交次数,增大回交群体,最大限度

地在 $F_{2:3}$ 的群体中选择出抗性纯合株系或分离最少的株系,用纯合株系与轮回亲本进行回交是选育成功的关键,在回交后代选择的关键时期 BC_1F_2 ,除选择抗性纯合的株系外,其农艺性状尽量选择与轮回亲本的形态特征近似或超亲的某些性状,这样就有可能选育出综合性状超越轮回亲本的新恢复系。

目前在杂交水稻方面开展抗褐飞虱研究的不是很多,主要原因是受抗性亲本所限制,到目前为止,世界各国在水稻和野生稻资源上发现了 27 个抗褐飞虱基因,其中能用于杂交水稻育种的显性基因只有 16 个,隐性基因 11 个,而多数抗性基因来源于国外,一方面抗性基因不具备有自主知识产权,另一方面这些显性抗性基因来源于南亚稻区,与我国的很多品种的配合力不是很好,很难用其培育出新品种。HS204 来源于广西普通野生稻培育而出的近等基因系,是具有自主知识产权的显性基因,如能利用到杂交水稻育种上,其价值是无法估量的。

参考文献

- [1] Jena K K, Jeung J U, Lee J H, et al. High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112: 288-297
- [2] 王荫长, 范加勤, 田学志, 等. 溴氰菊酯和甲胺磷引起稻飞虱再猖獗问题的研究[J]. 昆虫知识, 1994, 31(5): 257-262
- [3] 吴荣宗, 江志强, 张良佑. 褐飞虱生物型的研究进展[J]. 华南农业大学学报, 1992, 13(4): 113-120
- [4] 吕仲贤, 俞晓平, 陶林勇, 等. 水稻新品种(系)对褐飞虱抗性的评价[J]. 中国农业科学, 2002, 35(2): 225-229
- [5] 王彦华, 王鸣华. 近年来我国水稻褐飞虱暴发原因及治理对策[J]. 农药科学与管理, 2007, 25(2): 49-54
- [6] 李书柯, 江川, 王金英. 用 SSR 标记分析福建漳浦野生稻的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(1): 75-79, 85
- [7] 王述民, 李立会, 黎裕, 等. 中国粮食和农业植物遗传资源状况报告: II [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 167-177
- [8] 刘光杰, 付志红, 沈君辉, 等. 水稻品种对稻飞虱抗性鉴定方法的比较研究[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(1): 52-56
- [9] 李容柏, 秦学毅, 韦素美, 等. 普通野生稻抗源 94-42-5-4 对稻褐飞虱的抗性评价及其遗传研究[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(2): 18-21
- [10] 李容柏, 秦学毅, 韦素美, 等. 普通野生稻稻褐飞虱抗性在水稻改良中的利用研究[J]. 广西农业生物科学, 2003, 22(2): 75-83
- [11] 李容柏, 杨朗, 陈英之, 等. 稻褐飞虱抗性基因分子标记及互作关系研究[C]//全国植物分子育种研讨会摘要集. 北京: 全国植物分子育种学术研讨会, 2009: 98
- [12] Deen R, Ramesh K, Gautam S K, et al. Identification of new gene for BPH resistance introgressed from *O. rufipogon* [J]. Rice Genet Newsl, 2010, 25: 70-71
- [13] 孙立宏. 水稻品种抗褐飞虱基因的定位及分子标记辅助选择[D]. 南京: 南京农业大学, 2005
- [14] 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, 39(10): 2132-2137
- [15] 阳海宁, 韦绍丽, 李孝琼, 等. 标记辅助培育水稻抗稻褐飞虱和稻白叶枯病基因聚合系[J]. 分子植物育种, 2010, 8(1): 11-19