

茶陵普通野生稻种质资源评价及其利用进展

王志龙, 伍丹丹, 郭崇炎, 杜 强, 胡方志, 陈秋红

(水稻油菜抗病育种湖南省重点实验室/湖南农业大学农学院, 长沙 410128)

摘要:茶陵普通野生稻在恶劣的环境中进化获得了许多栽培稻不具有的优良性状,是栽培稻品种遗传改良可以利用的优异种质资源。从野生稻中发掘和利用优异基因是当前水稻研究的热点。本文综述了茶陵野生稻种质资源评价及其抗病、抗寒等优异基因的研究利用情况,探讨了茶陵野生稻在今后水稻育种研究中的利用潜力,为更好地利用茶陵野生稻提供依据。

关键词:茶陵野生稻;种质资源;光合特性;抗病基因;抗寒基因;遗传标记

Evaluation and Utilization of Germplasm Resources of Chaling Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.)

WANG Zhi-long, WU Dan-dan, GUO Chong-yan, DU Qiang, HU Fang-zhi, CHEN Qiu-hong

(Hunan Provincial Key Laboratory of Rice and Rapeseed Breeding for Disease Resistance/

College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)

Abstract: Chaling wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) is a valuable wild resource in genetic improvement of elite rice. Due to germplasm resource, which had grown in the harsh environment, retained and obtained many elite traits that are not found in cultivated rice. It can be utilized in genetic improvement of cultivated rice. Excavation and utilization of elite genes from wild rice is the hotspot of rice research nowadays. Here, we reviewed the current progress on evaluation of Chaling wild rice germplasm resources as well as identification of elite disease-resistance and cold-tolerance genes and provided the future prospective and discussion on better application of this wild resource valuable in rice breeding.

Key words: Chaling wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.); germplasm resource; photosynthetic characteristics; disease-resistance gene; cold-tolerance gene; genetic marker

稻属 (*Oryza* L.) 野生种广泛分布于亚洲、非洲、拉丁美洲和大洋洲的 77 个国家,目前全世界已发现的野生稻种共有 20 多个,因其丰富的遗传多样性被视为水稻遗传改良的宝贵资源^[1-4]。1978-1982 年,全国野生稻资源普查结果表明我国野生稻有 3 种类型,分别是普通野生稻 (*O. rufipogon* Griff.)、药用野生稻 (*O. officinalis* Wall ex Watt.) 和疣粒野生稻 (*O. meyeriana* (Zoll. & Moritz) Baill.), 广泛分布于广西、广东、海南、云南、江西、湖南、福建和台湾等地^[2-3],均被列为国家二级保护植物^[5]。1982 年湖南省农业科学

院张榜全省各地,广泛发动全省搜寻野生稻。茶陵县的尹武,在该县的尧水公社艾里大队发现了野生稻的踪迹,经湖南省农业科学院派员鉴定,认定该处野生稻为普通野生稻,由于在茶陵县发现,故将其命名为茶陵野生稻。茶陵野生稻及同时期江永野生稻的发现打破了湖南没有野生稻分布的错误结论^[6]。茶陵野生稻生长在茶陵县尧水乡湖里沼泽地,地处 113°40'E、26°50'N,沼泽地海拔 150 m 左右,该地气候温和,土壤肥沃,有机质含量丰富,大量三菱草、莎草、野茭白、野莲等杂草与野生稻混生,全年平均气

收稿日期:2017-10-30 修回日期:2017-11-26 网络出版日期:2018-04-27

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180427.1454.002.html>

基金项目:国家自然科学基金(31371927,31401699);教育部创新团队发展计划项目(IRT1239)

第一作者研究方向为作物遗传育种与水稻抗逆分子生物学, E-mail: zhilongwang@126.com。伍丹丹为共同第一作者

通信作者:陈秋红,研究方向为作物遗传育种与水稻抗逆分子生物学。E-mail: cqh924@163.com

温为 17.9℃,比同纬度的安仁、攸县及江西省的莲花气温高 0.2~0.8℃,极端最低气温为 -9℃,最高气温为 40℃^[7-9]。20 世纪 80 年代末,由于蓄水养鱼导致茶陵野生稻濒临灭绝,在该地进行种群恢复及后来野生稻保护区的建立才使茶陵野生稻种群保存至今^[9]。

1 茶陵野生稻生物学与生态学特征

茶陵野生稻为多年生水生植物,宿根性强,具有地下部稻芽萌发、多年生缩根越冬、黑色柱头外露、喜潮湿温和环境等特性。3 月上旬从越冬茎节上的蘖芽长出新苗,9 月中旬始穗,10 月中旬成熟,终花期在 10 月中旬,全生育期约 195~200 d^[8,10]。刘贵华等^[11]对茶陵野生稻种子进行发芽试验,发现其种子具有高度的休眠特性。种子的休眠与多种因素有关,Wu 等^[12]认为稃和种皮是两个主要因素;Roberts^[13]认为野生稻的稃和种皮对种子的休眠作用机理在于阻碍了气体和水分的渗透。在自然环境中野生稻种子发芽率和成苗率都较低^[14]。与现代栽培籼稻和粳稻相比,茶陵野生稻颖果表现为长、窄、薄、轻、长宽比值高的特征,稃尖角度和退化外稃角度较小^[15];稻株株型较直立,高达 160 cm 左右;根系极发达,节间紫色,茎节隆起明显,茎秆粗壮坚硬,基部节上有气生不定根;穗大小差别较大,每穗 60~150 粒,穗形散而直立;落粒性强,轻轻触碰便会掉落,谷粒瘦长、灰褐色,颖尖具 6 cm 以内的长芒;种皮红色,种胚较小,胚乳蜡质透明,无腹白,米质好,碘反应呈深蓝色^[6]。万常焰等^[16]对野生稻的蒸煮品质进行了分析,发现茶陵野生稻的直链淀粉含量是所测普通野生稻中最低的,为 14.37%,另外其糊化温度中等,具有较软的胶稠度,展示出优良的蒸煮品质。刘贵华等^[9]对湖南茶陵野生稻的保护区群落进行调查,绘制了群落优势种水平分布图,发现各物种斑块在群落中呈异质分布,出现现实生态位分离,这种分离主要是由生境条件特别是生境水位决定。茶陵野生稻分布于 10~20 cm 的中水位生境,因此在茶陵野生稻的保护工作中,适宜生境尤其是适宜水位的维持十分重要。2001 年农业部启动了野生稻原生地保护工作,在湖南茶陵建立了茶陵野生稻原生地保护区,大大加强了当地居民对野生稻的保护意识,但是目前的保护措施能否使野生稻居群持续产生相当程度的适应变异而长久生存和持续进化还有待监测和评价。

2 茶陵野生稻的光周期与光合特性

光合作用是植物获得生物能源的最主要途径,研究水稻的光周期反应特性、通过提高光合效率来提高水稻产量是近年来水稻研究的重要领域。王国昌等^[17]报道了稻属 20 个种在广州自然条件下的光周期反应特性,20 个种的抽穗期从 7 月一直延续到 11 月,根据抽穗的早、晚,出穗期日长从长到短,可分为钝感型、敏感型、极敏感型。湖南、江西的本地普通野生稻属于敏感型^[18-19]。王明全等^[20]对各类野生稻材料进行光周期反应试验,发现这些野生稻的地理分布与短日性强弱有关,愈南愈强。茶陵野生稻属于光周期反应差异很大的一类,其短日性较药用野生稻及泰国 *O. rufipogon* L. 弱。康公平等^[21]研究表明,茶陵野生稻的净光合速率(P_n)在下午极显著高于超高产或高产栽培稻,在高温(40℃、45℃)胁迫下亦是如此;光饱和点与对照 9311 无显著差异,极显著高于两优培九、汕优 63、威优 46; CO_2 饱和点(644.5 $\mu\text{mol/mol}$)明显高于对照(521.1~581.3 $\mu\text{mol/mol}$);羧化效率(0.1511 $\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$)显著高于对照(0.1277~0.1384 $\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$);叶绿素含量极显著高于对照。这说明茶陵野生稻的光合性能强于目前的超高产或高产栽培稻,且在高温下表现更为突出。Mo 等^[22]对分蘖期的茶陵野生稻和籼稻品种广陆矮 4 号、Y 两优一号、粳稻品种日本晴进行冷处理(15℃)和正常处理(28℃),之后测定叶片光合参数,结果表明冷害处理条件下,茶陵野生稻的净光合速率、总叶绿素和总类胡萝卜素含量、PSII 的最大量子产量、表观量子产量和羧化效率都明显高于栽培稻品种。从冷处理到正常处理,茶陵野生稻中这些参数的比率为 47.9%~84.9%,显著高于常规栽培稻品种(3.1%~73.8%)。易向军^[23]以湖南茶陵普通野生稻和对照栽培稻为材料,测定了各品种叶片在低温、高温和干旱等逆境及非逆境下的净光合速率、叶绿素荧光参数等光合生理指标,结果表明,茶陵野生稻在非逆境条件下表现出优良的光合生理性状,在低温、高温和干旱等逆境条件下亦具有较强的光合作用能力。康公平等^[24]发现以准 S 为核背景、茶陵野生稻为细胞质源的温敏核不育水稻的光合效率相较于对照优势明显。以上研究表明茶陵野生稻光合特性优良。

3 茶陵野生稻的遗传标记

欧立军等^[25]以典型籼稻、典型粳稻、普通野生

稻以及 1 个超级稻父本为材料,采用 ISSR 分子标记对水稻籼粳性和广亲和基因进行分析,以便根据得到的结果选择含粳稻血缘的亲本应用于杂交育种,提高杂交水稻的产量,结果表明,茶陵野生稻主要含粳型血缘,属于偏粳型。黄光文^[26]利用 ISSR 和 SSR 分子标记发现野生稻的核 DNA 有籼粳分化趋势,茶陵野生稻粳型特异性标记比籼型特异性标记多,结果与欧立军等^[25]研究一致。高健^[27]以茶陵野生稻、安仁野生稻及籼亚种(*subsp. indica* S. Kato)栽培稻 9311、南京 11 号、广陆矮 4 号和粳亚种栽培稻秋光、日本晴、爪哇稻为试验材料,利用 ITS(Internal transcribed spacer)序列构建分子系统进化树,开发区分籼、粳亚种的分子标记,发现水稻 rDNA 的 ITS 序列的长度和 G/C 含量的变化规律与其传统亚种分类和生态型分类具有高度的一致性,在遗传距离上茶陵野生稻近于粳稻而远于籼稻。孙传清等^[28]对来自亚洲各国的 122 份普通野生稻和 76 份栽培稻的核 DNA 进行 RFLP 分析,探讨它们之间以及籼粳稻之间的遗传进化情况,结果表明江西东乡、湖南茶陵及部分云南元江野生稻未与籼稻、粳稻聚在一起,而单聚为一亚组,此亚组形态上较为原始,属于水稻原始祖先种。蒋斌元等^[29]对茶陵野生稻及其导入后代间的遗传差异性进行了 RAPD 分析,研究结果表明,茶陵野生稻在进化上处于比较原始的位置,导入后代在遗传上则发生了较大的改变,这些变化可能是由于 DNA 片段的随机插入而引起。朱世华等^[30]对东乡、茶陵、江永的普通野生稻群体间遗传分化和亲缘关系的研究结果显示,不同群体以地理位置相聚,按由南向北的地理梯度,线粒体 DNA 遗传变异从少到多,rDNA 间隔序列长度由长变短,表明地理隔离导致遗传分化,即地区间环境条件的差异必然导致基因型向地理生态型的分化。东乡、茶陵、江永野生稻都有自己独特或主要的类型。陈觉梁等^[31]通过 RMAPD 分子标记对不同野生稻基因组进行遗传多样性分析,发现茶陵野生稻归属于 AA 基因组,认为普通野生稻比同样 AA 基因组的栽培稻具有更多的基因,非 AA 基因组野生稻又含有 AA 基因组野生稻没有的基因,表明野生稻是一个丰富的“基因库”。李小湘等^[32]利用 SSR 分子标记分析普通野生稻自然居群交配系统,湖南茶陵野生稻居群的异交率低,母代居群的观察杂合度小于预期杂合度,表现为纯合子过剩。同时湖南茶陵野生稻居群内存在亚结构,这与 Xu 等^[33]报道的茶陵原位普通野生稻存在 4 个地理并不隔离的亚居群

的结果相符。

4 茶陵野生稻优异基因的发掘

野生稻在长期的进化过程中经受各种环境的自然选择,形成了丰富有利的基因变异类型,育种家们已从野生稻中发掘了抗病、抗虫、耐冷、耐旱、高产、细胞质雄性不育及其他许多优异性状和基因^[1,34-36],茶陵普通野生稻作为湖南的野生稻资源,株洲农业科学研究所、湖南农业大学、湖南师范大学等科研机构纷纷对其进行了优异基因的挖掘,并取得了一定的成果。

4.1 抗病基因

4.1.1 稻瘟病抗性基因 稻瘟病是水稻的三大病害之一。李友荣等^[37]对 68 份茶陵野生稻和 28 份江永野生稻材料进行了稻瘟病抗性研究,结果表明,茶陵野生稻较抗稻瘟病,其中有 28 份表现出中抗叶稻瘟,占 41.2%。王胜利^[38]利用 SSR 分子标记分析茶陵野生稻、受体栽培稻 R9810 以及导入后代之间的遗传差异,发现后代材料与受体材料相比,抗稻瘟病遗传特性有了明显变化,通过同源克隆的方法,从茶陵野生稻及导入后代中获得了 2 个抗稻瘟病基因的同源序列,与抗稻瘟病基因 *Pita* 比对,同源性高达 92.49% 和 92.74% (两条同源序列之间同源性高达 99.55%),但仍存在不少碱基的差异,说明很可能是一个新的稻瘟病抗性基因。李强等^[39]利用抗病基因的 NBS 保守区域设计兼并引物对茶陵野生稻的同源基因进行克隆和分析,获得了 2 个能推导出完整氨基酸序列并具有 NBS-LRR 类抗病基因保守区域的基因,且与水稻抗病基因 *RPR1* 具有较高的同源性,利用电子定位将获得的基因定位在水稻基因组 11 号染色体上 *RPR1* 基因附近,根据序列比对结果,认为这些克隆的基因可能是新的抗病基因。徐庆国等^[40]利用现有已经克隆的抗性基因的保守序列合成引物(WR-1、WR-2)对茶陵野生稻总 DNA 进行扩增、回收 PCR 产物、克隆及测序分析,初步得到 4 类不同的 NBS-LRR 抗性候选基因。

4.1.2 白叶枯病抗性基因 白叶枯病亦是水稻三大病害之一。李友荣等^[37]连续两年在苗期和剑叶期用白叶枯病菌株 *HX043* 对 68 份茶陵野生稻进行接种,结果发现茶陵野生稻 C₁₅ 材料表现出全生育期抗病,C₅₄ 全生育期中抗,C₄、C₉、C₄₁ 和 C₅₇ 表现成株期抗性。继续将抗白叶枯病的茶陵野生稻 C₁₅ 和感病品种湘晚籼 1 号杂交,F₂ 抗性性状表现的遗传分离比为 3:1,表明茶陵野生稻对白叶枯病的抗性由

一对显性基因控制。进一步选择 F_3 抗病的栽培型单株与优质晚粳品系 HA89-165 复交及逐代定向选择,育成了具有湖南野生稻白叶枯病抗性基因、外观和蒸煮品质良好的栽培稻新种质 6 个。蒋斌元^[41]通过同源克隆法在茶陵野生稻、受体 R9810 及导入后代 ys09004 中均获得 *Xa26* 抗白枯叶病家族基因的片段。将所得片段与 Sun 等^[42]从粳稻 Minghui 63 获得的基因家族进行对比,片段 26LRR15 与 *MRKa* 同源性为 99%,片段 26LRR16 与 *MRKb* 同源性为 97%,其中 *MRKb* 即 *Xa26* 抗白枯叶病基因,并且对比不同材料所得的类似片段发现都存在多个碱基位点上的差异,推测可能是新的抗白枯叶病基因,这有待进一步分析与验证。

4.2 抗寒基因 在我国南方双季稻地区,早稻时常遭遇寒潮袭击,大部分水稻品种的幼苗不能适应这种变化无常的不良气候。寻找耐冷遗传资源、选育耐冷性强的品种,对水稻高产、稳产具有重要意义^[43]。茶陵野生稻是我国分布最北的两个居群之一,其地下茎在极低的温度下仍然保持着十分旺盛的活力,表明其具有较好的抗寒性。通过自然冷胁迫与人工冷处理试验发现,茶陵野生稻苗期的耐冷性优于粳稻和爪哇稻,但弱于粳稻^[44-45]。刘静雅等^[46]在低温胁迫条件下分离克隆了茶陵野生稻中的 DREB 转录因子基因,其全长有 958 bp,编码 218 个氨基酸,经 BLAST 及蛋白质同源性分析表明其与水稻基因的同源性高达 98%。DREB 类转录因子参与调控植物抗旱、耐低温和高盐等信号途径,对植物逆境胁迫下的抗性极其重要^[47-48]。此 DREB 转录因子具有一个典型的与抗逆性密切相关的 AP2 结构域,说明该转录因子可能与抗冻相关基因的表达调控有关。陈淑媛^[49]采用水稻全基因组表达芯片分析以及生物信息学分析从茶陵野生稻中鉴别出 3 个受低温诱导而显著上调的耐冷候选基因 *OrCr1*、*OrCr2* 及 *OrCr3* (*Oryza rufipogon* cold responsive gene 1, 2, 3),分别构建其超表达载体转化拟南芥,对获得的转基因拟南芥纯系进行了耐冷性鉴定,结果表明 *OrCr1*、*OrCr2* 及 *OrCr3* 基因在拟南芥中的异位表达均能提高拟南芥的耐冷性,在 *OrCr3* 基因启动子序列区还发现了低温响应元件 LTR。植物体内的抗氧化酶类物质主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)以及抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POX)^[50]。生物体一般通过 SOD、POD 和 CAT 三者协同作用,使活性氧自由基维持在一个低水平,从而

防止自由基伤害,使生物在逆境中仍能健康生存^[51]。陈志等^[52]对茶陵野生稻及对照材料进行冷胁迫处理,发现茶陵野生稻苗期耐冷性强于冷敏感对照及部分耐冷品种,与部分耐冷对照相当。其体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性以及抗坏血酸(ASA)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量随着冷处理的增加幅度大于冷敏感对照,而下降幅度又小于冷敏感对照,阐明了茶陵野生稻苗期耐冷性与其抗氧化系统在冷胁迫后的适应性变化密切相关。

5 茶陵野生稻的利用

普通野生稻与栽培稻亲缘关系较近,二者的基因组、基因表达与调控机制亦比较接近。鉴于茶陵普通野生稻种质资源的特异性和优良性,湖南一些科研院所开展了利用茶陵野生稻改良栽培稻的育种工作的尝试,主要是利用花粉管通道法将茶陵野生稻的 DNA 导入栽培稻,获得大量变异后代,经过多代选育,在导入后代中选择性状优良的材料。湖南农业大学和株洲市农业科学研究所将茶陵野生稻总 DNA 采用花粉管通道法导入受体栽培稻 R9810,在 D2 中发现有 23 株株高超过 150 cm 未见倒伏,3 株分蘖能力与茶陵野生稻相似,分蘖达到 50 根/蔸以上,并且所有材料的抗寒性明显优于对照栽培稻^[41];在 D3 植株中植株株型趋向于受体 R9810,但是在抗性、分蘖、结实、米质各方面都优于栽培稻对照;D4 又出现一部分性状的分离,但大部分的植株仍然表现出野生稻的优良性状。李颖邦等^[53]对表型各异的导入后代进行 RAPD 多态性分析,筛选出了一份具有明显耐寒能力的后代材料 Km16, Km16 对低温胁迫响应更快,在低温胁迫时,其体内 SOD 和 CAT 酶活性都高于受体材料 R9810。湖南农业大学对导入后代材料进行稻瘟病抗性鉴定,获得了对稻瘟病菌生理小种 0-249 和 e046A2 表现为高抗的 K3 株系,表现为低抗的 K17 株系;K3 株系同时还对稻瘟病菌生理小种 195-2-2 表现为抗^[54]。株洲市农业科学研究所发现在当年诱发品种每蔸每穗全数发病的气候条件下,茶陵野生稻的导入后代株系 Km2012-3、Km2012-4、Km2012-16 表现高抗稻瘟病。株洲市农业科学研究所还在晚稻抽穗扬花期用 18 ~ 20 °C 的温度处理茶陵野生稻导入后代,发现在受体材料(普通栽培稻)基本不结实的情况下,导入后代 D4 的结实率达到 80% 左右,这表明茶陵野生稻的抗寒基因在导入材料中得到了充分表达并遗传。此

外,龚曼^[44]利用茶陵野生稻中克隆的两个低温响应基因 *OrCr1* 和 *OrCr2* 进行了转基因育种尝试。分别构建了 *OrCr1* 和 *OrCr2* 基因的超表达载体转化水稻品种中花 11, 获得转基因水稻植株, 试验结果表明低温逆境时转基因植株中的脯氨酸含量较对照明显更高, 而脯氨酸是植物抵御逆境及寒冷的重要物质, 说明转基因水稻植株的耐冷性得到了加强。

6 展望

近 20 年来, 利用茶陵野生稻改良栽培稻种质的工作一直都在进行, 但至今还未有育成可供应用的稳定材料及推广品种。相比部分其他野生稻资源, 其真正应用的成果甚少。如利用东乡野生稻培育出了强耐冷水稻新品种东野 1 号, 并实现大面积推广; 育成了早熟、抗稻瘟病、抗白叶枯病、抗早衰的优良品种赣 D 早和耐寒、可越冬的 4193-1 等系列品系; 利用其雄性不育基因, 育成了协青早 A、国际油粘 A、东 B11A、中早 35A 等三系不育系^[55-56]。利用普通野生稻中高抗白叶枯病基因 *Xa23* 育成了 3 个包含 *Xa23* 的新保持系。小粒野生稻中克隆的广谱抗稻瘟病基因 *pi9* 已广泛用于栽培稻品种中抗稻瘟病性状的遗传改良。药用野生稻中克隆的 *Bph14* 和 *Bph15* 已广泛用于褐飞虱的抗性育种工作。国际水稻研究所利用尼瓦拉野生稻育成了抗草状矮缩病的 IR 系列品种^[1,36,57-58]。分析茶陵野生稻资源利用成果不显著的原因, (1) 是由于利用野生稻改良栽培稻存在的通病, 即有利基因与不利基因连锁、栽野杂交后代遗传不稳定、分离世代长等问题; (2) 是对茶陵野生稻的遗传背景了解较薄弱, 没有高密度的遗传图谱, 通过图位克隆技术获得基因较困难; (3) 是对茶陵野生稻优势性状及基因的认识和挖掘不够深入, 前期研究投入力度不够, 优势性状和基因是利用的基础, 对于茶陵野生稻很多性状的评价及利用只是浅尝辄止, 没有持续更多面及深层次的挖掘。

茶陵野生稻是分布在我国第二靠北位置的普通野生稻, 抗寒性是其可供利用的重要性状。将茶陵野生稻北移至长沙, 超过我国普通野生稻自然分布的最北限(江西东乡), 其宿根依然连续多年成功越冬。2007 年冬季我国南方出现罕见冰灾天气, 在供试的日本晴、秋光等 7 个粳稻品种全部死亡的情况下, 经过低温胁迫的茶陵野生稻依然能够存活, 这说明茶陵野生稻种茎具有极强的耐冷性^[45]。同时, 前人研究表明茶陵野生稻还具有不少其他优异性状, 有待进一步评价、挖掘和利用。茶陵野生稻归

属于 AA 型基因组, 与栽培稻的亲缘关系最近, 杂交亲和性好, 这给茶陵野生稻栽野杂交提供了有利的条件, 应合理利用其特性广泛构建群体, 结合其他方法, 大量选育优良材料。虽然野生稻资源利用困难重重, 但正是野生稻资源的利用实现了全球水稻种质改革的飞跃。随着野生稻种质资源研究的深入以及生物技术的发展, 野生稻资源的利用手段将更加多样化。高代回交 QTL (AB-QTL, advanced back-cross QTL) 分析是将 QTL 的分析推迟到回交的高代群体(如 BC₂ 或 BC₃ 等), 在回交一、二代群体时不进行选择, 这样不会让有利基因随着选择而被淘汰, 此方法非常适用于野生资源中有利基因的研究和利用^[59]。另外大量建立含野生稻有利基因的短片段渗入系结合 DNA 分子标记辅助选择是改良栽培稻品种个别性状的好方法^[1,60]。随着基因克隆方法的发展, 大批量克隆野生稻有利基因将变得更加便捷, 尤其是测序技术的快速发展, 未来野生稻全基因组测序将更加经济、高效, 这将加速野生稻资源挖掘工作的进程。这些技术的发展和利用将对茶陵野生稻资源的利用产生巨大促进作用。

参考文献

- [1] 鄂志国, 王磊. 野生稻有利基因的发掘和利用. 遗传, 2008, 30(11): 1397-1405
- [2] 汤圣祥, 魏兴华, 徐群. 国外对野生稻资源的评价和利用进展. 植物遗传资源学报, 2008, 9(2): 223-229
- [3] 高立志, 张寿洲, 周毅, 葛颂, 洪德元. 中国野生稻的现状调查. 生物多样性, 1996, 4(3): 38-44
- [4] 云勇, 韩义胜. 我国野生稻资源的抗病性鉴定与利用研究进展. 植物遗传资源学报, 2014, 15(3): 472-476
- [5] 傅立国. 中国植物红皮书: 第 1 册, 北京: 科学出版社, 1992: 314-316
- [6] 湖南省稻种资源普查考察组. 湖南江永、茶陵发现野生稻初报. 湖南农业科学, 1983(1): 44
- [7] 张公武, 邹培云. 茶陵野生稻与稻作起源发展关系初探. 株洲工学院学报, 1999, 13(6): 38-41
- [8] 孙桂芝. 湖南野生稻的生境及其特征特性研究. 作物研究, 1988, 2(2): 14-16
- [9] 刘贵华, 王海洋, 周进, 郭友好. 湖南茶陵普通野生稻保护区优势种的空间分布和生态位分析. 植物生态学报, 2001, 25(1): 65-70
- [10] 雷驰, 刘丽. 湖南野生稻原生境现状及其保护对策. 作物研究, 2006, 20(2): 187-189
- [11] 刘贵华, 周进, 王海洋, 郭友好. 不同处理对普通野生稻种子萌发及水位对幼苗存活的影响. 武汉植物学研究, 2000, 18(2): 146-150
- [12] Wu L. Seed dormancy of a Taiwan wild rice population and its potential for rice breeding. Botanical Bulletin Academia Sinica, 1978, 19(1): 1-12
- [13] Roberts E H. Dormancy in Rice Seed: III. The influence of temperature, moisture, and gaseous environment. Journal of Experimental Botany, 1962, 13(37): 75-94
- [14] 高立志, 张寿洲, 周毅, 葛颂, 洪德元. 中国野生稻的现状调查. 生物多样性, 1996, 4(3): 160-166
- [15] 张文绪. 湖南茶陵普通野稻(*O. rufipogon*)的特征观察. 株洲工

- 学院学报,1999(5):46-48
- [16] 万常昭,范洪良,陆家安,邹馥梅. 我国三个野生稻种的稻米蒸煮品质. 上海农业学报,1993,9(2):37-42
- [17] 王国昌,卢永根. 稻属植物种在广州自然条件下的光周期反应和分系研究. 华南农业大学学报,1995,16(2):12-18
- [18] 孙桂芝. 湖南野生稻的生境及其特征特性研究. 作物研究,1988,2(2):14-16
- [19] 潘熙淦,饶宪章. 江西东乡野生稻考察及特性鉴定报告. 城乡致富,1982(7):5-8
- [20] 王明全,唐明. 野生稻光周期反应研究. 武汉植物学研究,1998,16(3):213-218
- [21] 康公平,徐国云,陈志,徐孟亮,陈良碧. 茶陵普通野生稻光合特性研究. 作物学报,2007,33(9):1558-1562
- [22] Mo X, Xu M. The Photosynthetic characteristics of 'Chaling' common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) under cold stress. Not Bot Horti Agrob, 2016, 44(2):404-410
- [23] 易向军. 茶陵野生稻逆境下的光合特性研究. 长沙:湖南师范大学,2010
- [24] 康公平,戴小军,欧立军,李文嘉,梁满中,陈良碧. 同核异质温敏核不育水稻光合特性的细胞质效应. 杂交水稻,2016,31(5):65-69
- [25] 欧立军,许栋,廖亚西. 水稻籼粳亚种 ISSR 遗传差异分析. 怀化学院学报,2009,28(11):22-25
- [26] 黄光文. 运用分子标记对水稻遗传多样性的研究. 长沙:湖南农业大学,2006
- [27] 高健. 野生稻与栽培稻 rDNA 的 ITS 序列分析及系统学意义. 长沙:湖南师范大学,2003
- [28] 孙传清,王象坤,吉村淳,土井一行,岩田伸夫. 普通野生稻和亚洲栽培稻核基因组的 RFLP 分析. 中国农业科学,1997,30(4):37-44
- [29] 蒋斌元,张齐,康敏,王胜利,龚建华,洪亚辉. 茶陵野生稻及其导入后代间的遗传差异 RAPD 分析. 湖南农业科学,2012(13):5-7
- [30] 朱世华,汪向明,王明全. 中国普通野生稻线粒体 DNA 的限制性片段长度多态性. 宁波大学学报:理工版,1998(4):11-16
- [31] 陈觉梁,欧立军,刘平,陈良碧. 不同基因组野生稻随机微卫星扩增多态 DNA (RMADP) 遗传分析. 生命科学研究,2007,11(3):248-252
- [32] 李小湘,刘勇,段永红,王淑红,詹庆才,孙桂华,高立志. 利用 SSR 分析普通野生稻自然居群交配系统. 中国水稻科学,2010,24(6):601-607
- [33] Xu X, Lu B R, Chen Y H, Xu M, Rong J, Ye P, Chen J, Song Z. Inferring population history from fine-scale spatial genetic analysis in *Oryza rufipogon* (Poaceae). Molecular Ecology, 2006, 15(6):1535-1544
- [34] 张祥喜,罗林广. 野生稻优异基因分子标记定位与利用研究进展. 生物技术通报,2002(6):1-4
- [35] 张明伟,徐飞飞,郝巍,王春连,赵开军. 野生稻基因导入系 W6023 对白叶枯菌的抗谱及转录组差异表达基因分析. 植物遗传资源学报,2017,18(2):298-309
- [36] 潘英华,陈成斌,梁世春,黄娟,徐志健,曾华忠,梁云涛. 野生稻优异基因挖掘及其在水稻育种中的利用研究进展. 安徽农业科学,2013,41(24):9908-9910,10009
- [37] 李友荣,候小华,魏子生,孙桂芝. 湖南野生稻抗病性评价与种质创新. 湖南农业科学,2001(6):14-18
- [38] 王胜利. 茶陵野生稻抗稻瘟病基因的克隆. 长沙:湖南农业大学,2013
- [39] 李强,李磊,田志坚,邢俊杰,崔玲玲,曹孟良. 三种野生稻候选抗病基因的克隆与分析. 分子植物育种,2007,5(5):704-708
- [40] 徐庆国,杨剑,曹孟良. 野生稻抗性候选基因筛选和克隆. 江苏农业学报,2008,24(S):5-11
- [41] 蒋斌元. 茶陵野生稻总 DNA 导入栽培稻后代的遗传差异研究. 长沙:湖南农业大学,2012
- [42] Sun X, Cao Y L, Wang S P. Point mutations with positive selection were a major force during the evolution of a receptor-kinase resistance gene family of rice. Plant Physiology, 2006, 140(3):998-1008
- [43] 黄力士,刘凌峰,刘之熙. 水稻耐冷性研究进展与前景. 湖南农业科学,2008(1):3-6
- [44] 龚曼. 茶陵野生稻中两个低温诱导基因 *OrCr1* 与 *OrCr2* 的克隆与功能分析. 长沙:湖南师范大学,2012
- [45] 徐孟亮,陈志,肖媛,崔延春,徐国云,夏新界. 茶陵野生稻苗期耐冷性研究. 激光生物学报,2009,18(6):805-809
- [46] 刘静雅,程建强,龚建华,康敏,洪亚辉. 茶陵野生稻 DREB 类转录因子的克隆及植物表达载体的构建. 湖南农业大学学报:自然科学版,2010,36(6):630-633
- [47] Guo Z J, Chen X J, Wu X L. Overexpression of the AP2/EREBP transcription factor OPBP1 enhances disease resistance and salt tolerance in tobacco. Plant Molecular Biology, 2004, 55(4):607-618
- [48] Tang W, Charles T M, Newton R J. Overexpression of the pepper transcription factor CaPF1 in transgenic Virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.) confers multiple stress tolerance and enhances organ growth. Plant Molecular Biology, 2005, 59:603-617
- [49] 陈淑媛. 转茶陵野生稻三个耐冷候选基因拟南芥的创制及其表型分析. 长沙:湖南师范大学,2014
- [50] 刘少华,陈国祥,胡艳,吕川根,吴国荣,杨艳华. 高产杂交稻“两优培九”功能叶抗氧化系统对水分胁迫的响应. 作物学报,2004,30(12):1244-1249
- [51] 李海林,殷绪明,龙小军. 低温胁迫对水稻幼苗抗寒性生理生化指标的影响. 安徽农学通报,2006,12(11):50-53
- [52] 陈志,易向军,张俊,徐孟亮,陈良碧. 茶陵野生稻苗期耐冷性与抗氧化系统的关系. 生命科学研究,2010,14(1):67-72
- [53] 李颖邦,康敏,宋伟,程鹏,洪亚辉. 低温对茶陵野生稻总基因组导入栽培稻后代耐冷性生理指标的影响. 作物研究,2015,29(1):1-4
- [54] 杨永红,龚建华,康敏,洪亚辉,张学文. 茶陵野生稻资源保存保护和开发利用现状及建议. 大科技,2015(27):203-204
- [55] 陈大洲,张巴克,熊文华. 东乡野生稻种质资源研究与利用进展. 江西农业学报,2008,20(12):12-16,19
- [56] 盛文涛,柏斌,吴俊. 东乡野生稻有利性状鉴定与育种利用研究进展. 杂交水稻,2016,31(6):1-6
- [57] 周起先,姜明松,陈峰,朱文银,朱其松,徐建第. 野生稻主要抗病虫基因的发掘与利用研究概况. 山东农业科学,2013,45(12):112-116,122
- [58] 郭嗣斌,韦宇,李孝琼,高国庆,邓国富. 小粒野生稻优异基因的挖掘与利用研究进展. 植物遗传资源学报,2016,17(2):371-376
- [59] 李德军,孙传清,付永彩,李晨,朱作峰,陈亮,才宏伟,王象坤. 利用 AB-QTL 法定位江西东乡野生稻中的高产基因. 科学通报,2002,47(11):854-858
- [60] 阿新祥,熊华斌,徐福荣,汤翠凤,张恩来,杨雅云,戴陆园. 转移定位野生稻优异基因的主要技术与方法. 分子植物育种,2011,9(11):1071-1082