

分子标记辅助选择改良水稻不育系 臻达 A 及其杂交种的稻瘟病抗性

董瑞霞¹, 王洪飞¹, 董练飞^{1,2}, 周鹏¹, 涂诗航¹, 游晴如¹, 廖发炼¹, 黄庭旭¹

(¹福建省农业科学院水稻研究所/福州国家水稻改良分中心, 福州 350018; ²中国海峡人才市场人才服务中心, 福州 350001)

摘要:水稻抗稻瘟病基因 *Pi25* 是一个遗传传递能力强的广谱抗性基因。本研究以携带抗稻瘟病基因 *Pi25* 的 BL27 为抗源供体, 与优质、配合力强、感稻瘟病的水稻保持系臻达 B 为受体亲本进行杂交、回交创制水稻抗病保持系新种质, 再与臻达 A 测交和回交进行不育系转育, 结合分子标记辅助选择和农艺性状筛选, 获得 3 个抗性基因纯合、农艺性状和开花习性均与臻达 A 相似的改良不育系株系。利用福建省近年来致病性代表的 22 个稻瘟病菌株对 3 个改良不育系及其 15 个杂交种进行抗性鉴定, 3 个改良不育系的抗性频率为 95.45% ~ 100%, 15 个杂交种的抗性频率均达 75% 以上, 而原始对照臻达 A 及其杂交种的抗性频率仅为 54.55% 和 40.91% ~ 63.64%。自然病菌诱发鉴定表明, 3 个改良不育系的叶瘟和穗颈瘟均为 0 级, 表现高抗, 而对照臻达 A 的叶瘟为 5 级, 穗颈瘟为 7 级, 表现感病; 15 个杂交种均表现良好的稻瘟病抗性。进一步分析比较 15 个杂交种的产量、农艺性状和稻米品质表现, 结果表明臻达 A-*Pi25*-3 改良不育系的综合性状表现最优, 继续回交转育, 于 2015 年育成了稻瘟病抗性强、配合力好、群体整齐和性状稳定的不育系, 命名为 157A。研究表明, 抗稻瘟病基因 *Pi25* 不仅在水稻不育系臻达 A 的遗传背景下的抗性表达完全, 且在不同水稻恢复系测交种的背景下同样表现出较高水平的抗性, 说明抗性基因 *Pi25* 对不育系稻瘟病改良的效果明显。创制的新不育系 157A 的稻瘟病抗性显著提高, 还基本保留了原来不育系高配合力等优良特性, 为选育高产、优质、抗病杂交稻新品种提供了不育系新种质。

关键词:水稻不育系; 臻达 A; 稻瘟病; *Pi25* 基因; 抗性改良; 标记辅助选择

Improving the Rice Blast Resistance for a CMS Line of Rice Zhenda A and its Hybrids Using Molecular Marker-assistant Selection

DONG Rui-xia¹, WANG Hong-fei¹, DONG Lian-fei^{1,2}, ZHOU Peng¹, TU Shi-hang¹,
YOU Qing-ru¹, LIAO Fa-lian, HUANG Ting-xu¹

(¹Rice Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fuzhou Branch, National Rice Improvement Center of China, Fuzhou 350018; ²China Strait Talent Market, Fuzhou 350001)

Abstract: *Pi25*, rice blast resistance gene, is a broad-spectrum resistance gene with high genetic transmission capacity. In this paper, the indica rice parent BL 27 with *Pi25* was as the gene donor and was introgressed into Zhenda B, the maintainer line of the CMS line Zhenda A, and then improved new maintainer lines with homozygous gene of *Pi25* and agronomic traits similar to the Zhenda B was successfully developed. The improved maintainer lines were crossed and backcrossed with CMS line Zhenda A for transformation of CMS line. By molecular marker-assisted selection combined with phenotype-based visual selection, three improved CMS lines were developed with homozygous geno-type of *Pi25*, overall agronomic traits and flowering habit similar to the Zhenda A. By artificially inoculating 22 representative blast isolates collected in Fujian province, the resistance frequency of 3 improved CMS lines and 15 hybrids were found to be 95.45% to 100% and more than 75%, respectively, whereas that of original

收稿日期: 2016-08-09 修回日期: 2016-10-14 网络出版日期: 2017-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170417.0850.012.html>

基金项目: 福建省科技厅省属公益类科研专项(2015R1021-12, 2016R1020-3); 农业部公益性行业(农业)科研专项(201403002-7); 福建省科技重大专项(2015NZ0002-3)

第一作者研究方向为水稻抗性育种。E-mail: dongruixia@qq.com

通信作者: 黄庭旭, 研究方向为水稻遗传育种。E-mail: Txhuang@sina.com

control, Zhenda A and its hybrid combinations derived from the original control, Zhenda A was only 54.55% and its hybrids were 40.91% to 63.64% respectively. Three improved CMS lines also displayed high resistance to leaf blast (level 0) and panicle neck blast (level 0) when grown in the epidemic areas field, whereas the original control was susceptible to leaf blast (level 5) and panicle neck blast (level 7). Those 15 hybrid combinations displayed high resistance to rice blast. Furtherly, the results of comparison of yield, agronomic characters and quality among 15 hybrid combinations showed that Zhenda A-*Pi25*-3 improved CMS line showed best comprehensive characteristics and was backcrossed with improved maintainer line Zhenda B-*Pi25*-3. Thus a new CMS line was bred with strong blast resistance, good combining ability, population uniformity and the stability characteristics, named 157A. The results indicated that the *Pi25* gene could completely express its dominant resistance in background of CMS line Zhenda A during different growth stages, and also showed higher levels of resistance in backgrounds of the hybrid combinations derived from different restorer lines, suggesting its immense breeding value in blast resistance improvement for hybrid rice. Compared with Zhenda A, the 157A showed blast resistance increased significantly, but also fundamentally retained excellent properties of high combining ability of CMS line, and provided a new male sterile germplasm for breeding of hybrid rice with high yield, high quality and disease resistance.

Key words: rice CMS line; Zhenda A; rice blast; *Pi25* gene; resistance improvement; marker assisted selection

稻瘟病是目前水稻生产上最具毁灭性的真菌性病害之一,在世界种植水稻的各稻区均有分布并持续发生,严重影响水稻产量,给粮食的安全带来了极大的隐患。实践表明,培育和推广抗稻瘟病品种是防治稻瘟病最为经济、有效、安全和环保的措施。由于稻瘟病致病的遗传机理非常复杂,病菌生理小种繁多且变异迅速,容易导致抗病品种的抗性丧失,通过传统的常规育种方法培育广谱持久性抗病品种十分困难。近年来,随着植物分子生物学的迅猛发展,分子标记辅助选择(MAS, marker-assisted selection)在作物优异资源创制^[1-5]、抗病^[6-15]、抗虫^[16-18]、品质^[19-23]和产量^[24-25]及相关农艺性状改良^[26-28]等方面得到广泛应用,加快了作物育种中间材料的选育进程。

我国抗稻瘟病育种的分子标记辅助改良主要集中在杂交稻亲本的改良方面,截至2015年3月,已至少有69个抗稻瘟病位点共84个抗病主效基因被鉴定和报道,其中24个主效基因已被成功克隆^[29],较多已知功能的抗稻瘟病主效基因被成功用于稻瘟病抗性的分子标记辅助遗传改良^[6],大大提高了水稻抗病育种的选择效率,促进了水稻抗稻瘟病育种的发展。源自籼稻品种谷梅2号的抗性基因*Pi25*是克隆的24个稻瘟病抗性基因之一,对稻瘟病具有广谱抗性^[30],目前已开发与*Pi25*紧密连锁的分子标记^[31],为利用分子标记辅助选择改良稻瘟病抗性提供了条件。

我国杂交水稻利用研究取得了举世瞩目的成就,为我国粮食稳产、保障国家粮食安全发挥了极其

重要的作用。不育系是杂交水稻新组合选育的基础,不育系的选育和改良利用促进了我国杂交水稻的不断发展。然而,我国三系杂交水稻生产中主要应用的不育系,如金23A、II-32A和龙特甫A等,在稻瘟病抗性上普遍较差,从而影响配制品种的稻瘟病抗性。臻达A是本课题组育成的优质不育系,2016年通过福建省农作物品种审定委员会审定(闽审稻2016013),该不育系具有分蘖力强、配合力好、米质优等特点,已成功选配出臻优177、臻优178、臻优727和臻优H130等一批优质、高产杂交水稻新品种,进入2016年福建、贵州和浙江省水稻生产试验,有望2017年通过省级品种审定。然而,臻达A不抗稻瘟病,其稻瘟病抗性还需进一步改良。本研究选用导入抗稻瘟病基因*Pi25*的BL27为供体亲本,通过杂交、回交与分子标记辅助选择技术相结合的方法将抗性基因转入臻达A中,并对获得的改良株系进行稻瘟病自然病圃鉴定、人工接种鉴定以及农艺性状筛选、育性鉴定和分析,培育带有抗性基因且农艺性状优良、育性稳定的不育系,评价抗性改良效果,以为杂交稻抗稻瘟病育种提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 供试材料

选用本课题组育成的优良保持系臻达B和不育系臻达A分别为受体亲本和不育质供体,来源于中国水稻研究所带有抗稻瘟病基因*Pi25*的亲本品系BL27为抗源供体亲本。利用本课题保存的恢复

系闽恢 3301、成恢 727、南恢 183、明恢 86 和粤恢 9802 用于抗性改良不育系杂交种的杂种优势鉴定和稻瘟病抗性评价。

用于水稻稻瘟病抗性接种和抗性评价的菌株为福建省农业科学院植物保护研究所分离保存的 22 个菌株,其中 5 个菌株来源于福建将乐,包括 JL13058-1、JL14026-2、JL14031-2、JL14031-3、JL14063-1;5 个菌株来源于福建宁化,包括 NH12040C、NH13084-1、NH13086-1、NH13100-1、NH13112-1;5 个菌株来源于福建上杭,包括 SH10161-1、SH11007A、SH12010-4、SH12045A、SH13074-1;4 个菌株来源于福建建阳,包括 JY11009A、jy12023-18、JY12023-32、jy12023-32;1 个菌株来源于福建南靖,为 NJ10015B;另有 2 个菌株为以上菌株的混合菌株 HH14001-1、HH14001-2,以上均为福建省近年来生产上具有代表性的稻瘟病菌株。

1.2 分子标记检测

在水稻分蘖盛期采取新鲜幼嫩叶片,并按卢扬江等^[32]的方法提取水稻叶片基因组 DNA。利用与抗性基因 *Pi25* 紧密连锁的分子标记 Si13070D 进行分子标记辅助选择,标记上游引物序列为 5'-CAAGTTTTACTCTCCCGTT-3',下游引物序列为 5'-CCAGCTAGATTAATGACTCG-3'^[29-30],引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

PCR 反应总体积 10 μ L,其中 100 ng 的 DNA 模板 1 μ L,2 \times *Taq* PCR Master Mix 混合酶 5 μ L,10 μ mol/L 的正反向引物各 0.5 μ L,加 ddH₂O 补足 10 μ L。PCR 反应程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,55 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,35 个循环,72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min,4 $^{\circ}$ C 保存。产物通过 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,用 GetRed 核酸染料染色,用 BIO-RAD Imaging System 成像系统成像分析。

1.3 分子标记辅助抗性改良

以臻达 B 为母本与 BL27 杂交获得 F₁,选择真杂种 F₁ 单株与臻达 B 回交得到 BC₁F₁,将 BC₁F₁ 移栽返青后分单株取叶片提取 DNA,利用抗病基因 *Pi25* 的连锁标记 Si13070D 鉴定基因型,选择标记带型杂合且与臻达 B 农艺性状相仿的单株继续回交得到 BC₂F₁。按上述方法筛选带有抗性基因且农艺性状与臻达 B 相似的单株自交至 BC₂F₃,从中选择抗性基因纯合且株叶型、柱头外露率、分蘖力近似臻达 B、稃尖紫色的优良单株与臻达 A 测交和连续回交进行不育系转育。从不育系成对测交 F₁ 开始连续对不育系植株进行花粉育性鉴定和田间自然异交

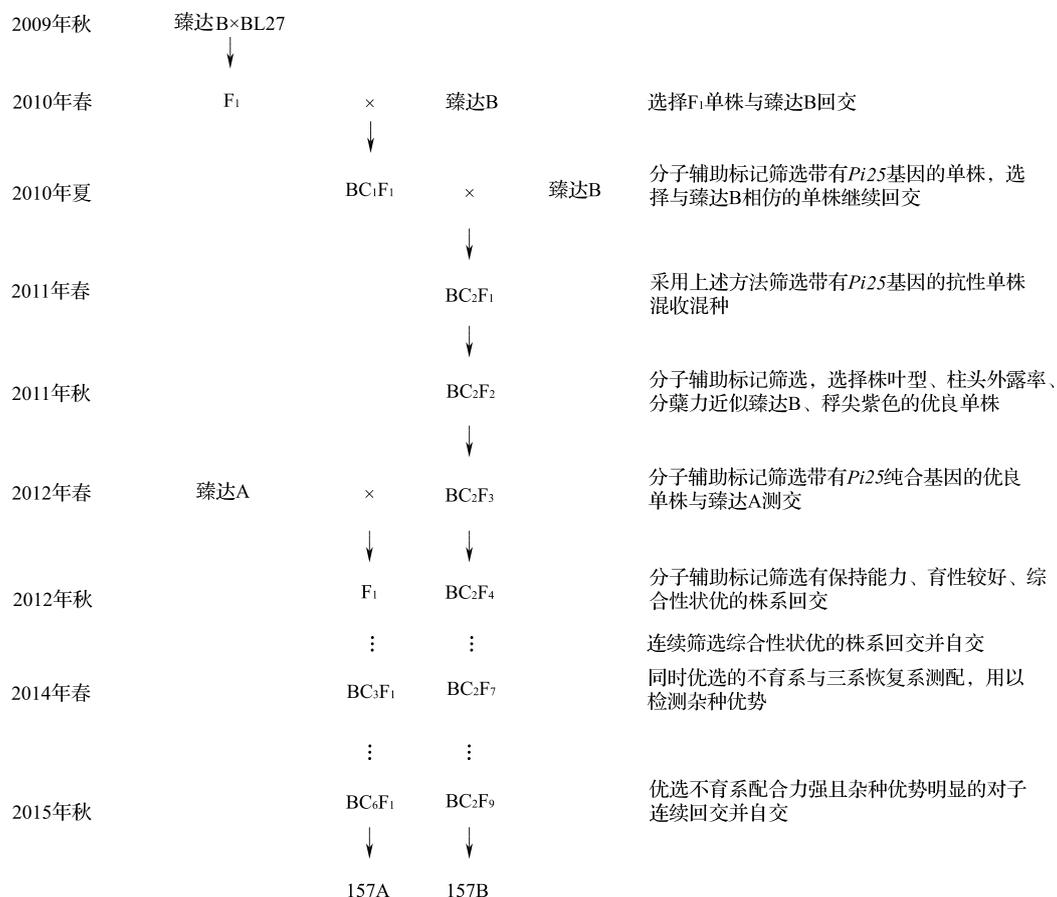
结实筛选,并在上杭茶地稻瘟病重发区对保持系(从 BC₂F₄ 开始)连续进行稻瘟病自然诱发鉴定,及时淘汰不育系花粉粒黑染、自然结实率低和感病的株系。经 3 次回交后,从不育系 BC₃F₁ 群体中获得 3 个含纯合 *Pi25* 基因、农艺性状和开花习性均与臻达 A 相似的不育株系,分别命名为臻达 A-*Pi25*-1、臻达 A-*Pi25*-2 和臻达 A-*Pi25*-3。选择恢复系闽恢 3301、成恢 727、南恢 183、明恢 86 和粤恢 9802 与 3 个改良不育系测交配组,并采用人工接菌和病区自然诱发鉴定对 3 个改良不育系及其 15 个杂交种进行抗瘟性鉴定,同时对 15 个杂交种进行农艺性状、产量和稻米品质的综合评价,筛选出臻达 A-*Pi25*-3 不育株系表现抗病、配合力强、综合性状好,继续回交,于 2015 年秋育成稻瘟病抗性强、配合力好、群体整齐和性状稳定的改良不育系,定名为 157A (图 1)。

1.4 抗性改良不育系及杂交种的抗性鉴定

2014 年春在海南三亚以含有 *Pi25* 抗性基因的 3 个改良不育系臻达 A-*Pi25*-1、臻达 A-*Pi25*-2 和臻达 A-*Pi25*-3 以及对照臻达 A 作母本,分别以闽恢 3301、成恢 727、南恢 183、明恢 86 和粤恢 9802 为父本配制杂交组合。2014 年夏,将 3 个改良不育系和对照臻达 A 及配制的 20 个杂交组合种子,委托福建省农业科学院植物保护研究所和上杭县茶地乡科协抗病选育良种研究会分别进行苗期稻瘟病接种鉴定和自然病圃鉴定。

苗期接种鉴定在福建省农业科学院植物保护研究所温室大棚内进行,菌株培养选用米糠培养基,接菌后于 25~30 $^{\circ}$ C 下培养 6~8 d,中间用黑光灯照射和振荡培养诱发产孢,无菌水洗下培养成熟的菌孢,配制成浓度约为 1 \times 10⁵ cfu/mL 的菌液。将待鉴定种子和对照臻达 A 的种子消毒并挑选饱满的种子催芽后播种于带孔塑料盘中,每盘约 100 株苗,2 次重复。待秧苗 3 叶 1 心时用配制好的孢子液进行人工喷雾接种,控温、控湿促进发病,接菌处理后 7~10 d 调查每个材料的发病情况。随机查 3 丛,共查 50 株苗,记载病苗数,计算株发病率和叶片病情级别。病级调查参照国际水稻研究所制定的 0~9 级稻瘟病抗性分级标准^[33]。

自然病圃鉴定选择在福建省上杭县茶地国家和福建省水稻新品种稻瘟病抗性区试点进行,每份材料种植 20 株,株行距 16.7 cm \times 16.7 cm,每份材料四周种植感病诱发品种广陆矮 4 号,叶瘟、穗颈瘟调查参照陈锦文等^[34]的调查方法进行。

图 1 分子标记辅助选择具抗稻瘟病基因 *Pi25* 的育种程序Fig. 1 Breeding procedure of blast resistance gene *Pi25* by molecular marker-assisted selection

1.5 抗性改良不育系及其杂交种农艺性状、产量和稻米品质评价

2014年秋季在福建省农业科学院水稻研究所建阳试验基地,种植上述3个改良不育系和臻达A与5个恢复系的杂交种,6月15日播种,7月10日移栽,随机区组排列,3次重复,每个小区种5行,每行12株,行株距20.0 cm×16.7 cm。大田常规水肥管理,试验期间防虫不防病。记载抽穗期(d),成熟后取中间5株调查株高、单株穗数、每穗粒数、结实率和千粒重,小区人工收割测产,并按实收产量折算亩产。数据采用DPS v7.05软件进行显著性测验。将收获晒干的稻谷室温贮藏3个月后进行稻米品质检测,各项指标检测按照NY 147-88米质测定方法^[35]在福建省水稻研究所水稻品质改良实验室进行。

1.6 157A与臻达A的农艺性状、稻米品质及其配制组合的杂种优势评价

为探讨新育成的抗病不育系157A的改良效果,2015年夏在建阳试验基地种植157A和臻达A,观察比较157A与臻达A生育期、叶色、株高、穗粒

数、柱头外露率、异交结实率等重要农艺性状,检测不育系(保持系)稻米品质。同时,种植157A和臻达A分别与恢复系蜀恢527、闽恢3301、成恢727和明恢86配制的杂种一代,进行小区品比试验,考察其杂种优势的表现。每个材料种植6行,每行26株,行株距26.7 cm×20.0 cm。记载全生育期(d),成熟后取中间5株调查株高、穗长、单株穗数、每穗粒数、结实率和千粒重,小区人工收割测产,并按实收产量折算亩产。

2 结果与分析

2.1 抗性基因 *Pi25* 连锁标记 Si3070D 在亲本间的多态性分析

利用与抗稻瘟病基因 *Pi25* 紧密连锁的分子标记 Si3070D,对供体亲本 BL27 与受体亲本臻达 B 及其部分 F₂ 单株进行多态性分析显示,分子标记 Si3070D 在 BL27 与臻达 B 之间及部分 F₂ 分离群体中抗病和感病单株的扩增产物存在明显的多态性,说明该标记可以有效地应用于 BL27 与臻达 B 及其杂交后代的分子标记辅助选择(图2)。

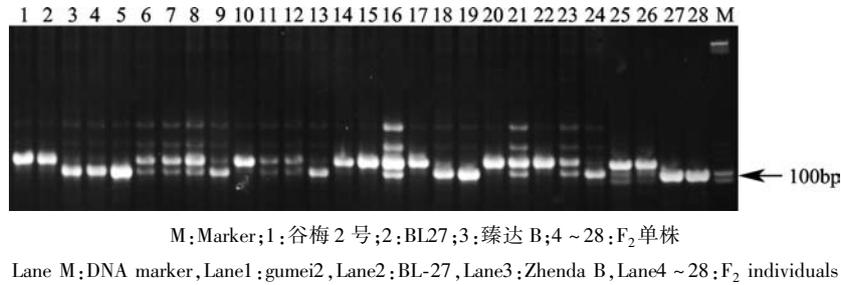


图 2 分子标记 Si13070D 在亲本间的多态性及部分 F₂ 代单株的扩增结果

Fig. 2 The polymorphism between the parents of marker Si13070D and PCR results in some F₂ individuals

2.2 改良不育系及其杂交种的稻瘟病抗性表现

改良不育系及其杂交种稻瘟病抗性的室内

人工接菌鉴定和田间自然诱发鉴定的结果列于表 1。

表 1 改良不育系及杂交种的抗性表现

Table 1 Performance of blast resistance for the improved CMS lines and its hybrids

不育系或组合 CMS line or combinations	室内人工接菌 Artificial inoculation of magnaporthe grisea in greenhouse			田间自然诱发 Natural induced bioassay for rice blast at the reproduction area field		
	侵染菌株数 No. of infected strains	抗性频率 (%) Frequency of resistance	抗性评价 Comprehensive evaluation of resistance	叶瘟 (级) Leaf blast	穗颈瘟 (级) Panicle neck blast	抗性评价 Comprehensive evaluation of resistance
臻达 A-Pi25-1 Zhenda A-Pi25-1	0	100.00	HR	0	0	HR
臻达 A-Pi25-2 Zhenda A-Pi25-2	1	95.45	HR	0	0	HR
臻达 A-Pi25-3 Zhenda A-Pi25-3	0	100.00	HR	0	0	HR
臻达 A Zhenda A (CK)	10	54.55	S	5	7	S
臻达 A-Pi25-1/闽恢 3301 Zhenda A-Pi25-1/Minhui 3301	3	86.36	R	1	3	MR
臻达 A-Pi25-2/闽恢 3301 Zhenda A-Pi25-2/Minhui 3301	5	77.27	MR	3	5	MS
臻达 A-Pi25-3/闽恢 3301 Zhenda A-Pi25-3/Minhui 3301	0	100.00	HR	0	1	HR
臻达 A/闽恢 3301 Zhenda A/Minhui 3301 (CK1)	12	45.45	HS	5	7	S
臻达 A-Pi25-1/成恢 727 Zhenda A-Pi25-1/Chenghui 727	2	90.91	HR	1	3	MR
臻达 A-Pi25-2/成恢 727 Zhenda A-Pi25-2/Chenghui 727	4	81.82	R	1	5	MS
臻达 A-Pi25-3/成恢 727 Zhenda A-Pi25-3/Chenghui 727	0	100.00	HR	0	1	HR

表 1(续)

不育系或组合 CMS line or combinations	室内人工接菌 Artificial inoculation of magnaporthe grisea in greenhouse			田间自然诱发 Natural induced bioassay for rice blast at the reproduction area field		
	侵染菌株数 No. of infected strains	抗性频率(%) Frequency of resistance	抗性评价 Comprehensive evaluation of resistance	叶瘟(级) Leaf blast	穗颈瘟(级) Panicle neck blast	抗性评价 Comprehensive evaluation of resistance
臻达 A/成恢 727 Zhenda A/Chenghui 727 (CK2)	8	63.64	MS	5	5	MS
臻达 A-Pi25-1/南恢 183 Zhenda A-Pi25-1/Nanhui 183	3	86.36	R	1	3	MR
臻达 A-Pi25-2/南恢 183 Zhenda A-Pi25-2/Nanhui 183	4	81.82	R	3	5	MS
臻达 A-Pi25-3/南恢 183 Zhenda A-Pi25-3/Nanhui 183	2	90.91	HR	3	1	MR
臻达 A/南恢 183 Zhenda A/Nanhui 183 (CK3)	11	50.00	S	5	7	S
臻达 A-Pi25-1/明恢 86 Zhenda A-Pi25-1/Minghui 86	3	86.36	R	3	5	MS
臻达 A-Pi25-2/明恢 86 Zhenda A-Pi25-2/Minghui 86	5	77.27	MR	5	3	MS
臻达 A-Pi25-3/明恢 86 Zhenda A-Pi25-3/Minghui 86	1	95.45	HR	1	3	MR
臻达 A/明恢 86 Zhenda A/Minghui 86 (CK4)	13	40.91	HS	9	7	HS
臻达 A-Pi25-1/粤恢 9802 Zhenda A-Pi25-1/Yuehui 9802	1	95.45	HR	1	3	MR
臻达 A-Pi25-2/粤恢 9802 Zhenda A-Pi25-2/Yuehui 9802	3	86.36	R	3	3	MR
臻达 A-Pi25-3/粤恢 9802 Zhenda A-Pi25-3/Yuehui 9802	0	100.00	HR	0	1	HR
臻达 A/粤恢 9802 Zhenda A/Yuehui 9802 (CK5)	8	63.64	MS	3	5	MS

利用 22 个近年来福建省生产上具有代表性的稻瘟病菌株对 3 个改良不育系与臻达 A 进行人工接菌鉴定。结果表明,22 个菌株对导入 *Pi25* 抗病基因的臻达 A-*Pi25-1* 和臻达 A-*Pi25-3* 的侵染菌株数均为 0,抗性频率均为 100%,表现出高水平的抗性;22 个菌株对导入 *Pi25* 抗病基因的臻达 A-*Pi25-2* 的侵染菌株数仅有 1 个,抗性频率为 95.45%,也表现出高水平的抗性。而对照臻达 A 仅对供试的 22 个菌株中的 12 个菌株表现抗病,10

个菌株表现感病,抗性频率为 54.55%,表现感病。为进一步确定改良不育系的抗性情况,在上杭茶地稻瘟病重发区进行田间自然诱发鉴定,3 个改良不育系的叶瘟和穗颈瘟均为 0 级,表现高抗,而对照臻达 A 的叶瘟为 5 级,穗颈瘟为 7 级,表现感病。

利用上述 22 个菌株对 3 个改良不育系和臻达 A 与 5 个恢复系的杂交种进行人工接菌鉴定。结果表明,22 个菌株对 3 个改良不育系杂交种的侵染菌

株数为 1~5 个,抗性频率均达 75% 以上,表现中感或中抗以上水平;而 22 个菌株对对照臻达 A 杂交种的侵染菌株数为 8~13 个,抗性频率为 40.91%~63.64%,表现中感以下水平。田间自然诱发鉴定表明,3 个改良不育系杂交种除臻达 A-*Pi25-2*/明恢 86 的叶瘟为 5 级外,其他杂交种的叶瘟介于 0~3 级之间,所有杂交种的穗颈瘟均介于 1~5 级之间,抗性评价为中感至高抗;而对照臻达 A 杂交种的叶瘟为 3~9 级,穗颈瘟为 5~7 级,抗性也表现中感以下水平。

上述结果表明,抗稻瘟病基因 *Pi25* 不仅在感病臻达 A 的遗传背景下的抗性表达彻底,而且在不同恢复系测交种的背景下同样表现出较高水平的抗性,说明抗性基因 *Pi25* 对不育系稻瘟病改良的效果明显,进一步证实了其对稻瘟病的广谱抗性,表明通过分子标记辅助选择抗性基因 *Pi25* 导入水稻不育系提高其稻瘟病抗性是可行的。

2.3 改良不育系杂交种的农艺性状、产量和稻米品质表现

将上述 3 个改良不育系分别与 5 个恢复系配组,对杂交种主要农艺性状、产量和稻米品质进行鉴定,并以臻达 A 与相应恢复系杂交种为对照,结果列于表 2 和表 3。

从表 2 可以看出,3 个改良不育系分别与 5 个恢复系的杂交种,除在始穗期上与同组相应恢复系杂交种对照没有明显差异外,在株高、单株穗数、每穗实粒数、结实率与千粒重等性状和产量上与同组相应恢复系杂交种对照相比存在不同程度的差异。在株高和各产量相关性状中,多数改良不育系杂交种的株高增加,单株穗数减少,千粒重增大,结实率有提高的趋势,而每穗粒数有增有减。在产量上,臻达 A-*Pi25-1* 和臻达 A-*Pi25-2* 两个改良不育系的杂交种,除臻达 A-*Pi25-2*/粤恢 9802 比臻达 A/粤恢 9802 略有增产外,其余组合均比同组相应对照显著或极显著减产;而臻达 A-*Pi25-3* 的杂交种均比同组臻达 A 的杂交种增产,增产幅度为 0.52%~5.96%,但增产均没有显著差异。臻达 A-*Pi25-3* 与 5 个恢复系杂交种产量增加的主要原因在于改良不育系杂交种的结实率、千粒重和株高的增加以及穗粒数增多或相仿,但多数杂交种的穗数减少,在抽穗期上变化不明显。表明臻达 A-*Pi25-3* 的杂交种的结实率、千粒重、株高和穗粒数有提高的趋势,导致杂交种产量的增加。

在稻米品质检测指标上,从表 3 可以看出,3 个改良不育系和原不育系分别与 5 个恢复系的杂交种,在糙米率、精米率、透明度、碱消值、直链淀粉和胶稠度等性状上与对照相当,在整精米率、垩白率、垩白度 3 个性状上存在不同程度的差异。臻达 A-*Pi25-1* 杂交种除臻达 A-*Pi25-1*/成恢 727、臻达 A-*Pi25-1*/粤恢 9802 的整精米率高于对照、垩白率低于对照外,其余 3 个组合的整精米率均低于对照、垩白率均高于对照,而在垩白度上除了臻达 A-*Pi25-1*/闽恢 3301、臻达 A-*Pi25-1*/明恢 86 高于对照外,其余 3 个组合均低于对照;臻达 A-*Pi25-2* 杂交种除臻达 A-*Pi25-2*/闽恢 3301 的整精米率略低于对照、垩白度高于对照外,其余 4 个组合的整精米率均高于对照、垩白度均低于对照,而在垩白率上除臻达 A-*Pi25-2*/闽恢 3301 高于对照、臻达 A-*Pi25-2*/南恢 183 与对照相当外,其余 3 个组合均低于对照;臻达 A-*Pi25-3* 杂交种除臻达 A-*Pi25-3*/成恢 727 的垩白度略低于对照外,其余 4 个组合均高于对照,而所有组合的整精米率均低于对照、垩白率均高于对照。

上述分析表明,3 个改良不育系中,臻达 A-*Pi25-3* 杂交种的产量和主要农艺性状表现最好,稻米品质除整精米率、垩白率和垩白度稍差外,其余性状比臻达 A 的杂交种较优或与之相仿。由此确定其为继续回交转育抗病不育系的优良株系,于 2015 年建阳育成稻瘟病抗性强、配合力好、群体整齐和性状稳定的不育系,命名为 157A。

2.4 新不育系 157A 与臻达 A 的主要特性比较

对新不育系 157A 与臻达 A 的生育期和主要农艺性状进行分析比较,从表 4 可以看出,157A 的主茎叶片数、叶色、柱头颜色与臻达 A 一致,生育期、株高、剑叶长、剑叶宽、穗长、每穗粒数等性状与臻达 A 相仿,而单株有效穗数减少和千粒重增大。在柱头外露率、开花时间以及异交结实率等开花习性与异交特性等方面,157A 与臻达 A 也相近,与成恢 727、成恢 177 等恢复系小面积试制种,157A 制种产量可达 3.0 t/hm² 左右,比原不育系臻达 A 的制种产量 2.8 t/hm² 略高(表 5);在稻米品质方面,157A(B)的各项米质检测指标与臻达 A(B)也相似(表 6 和图 3)。结果表明,157A 与臻达 A 相比,除千粒重增大外,主要农艺性状、株叶形态和开花、异交特性及稻米品质基本保留了臻达 A 的特征特性。

表 2 (续)

组合 Combinations	抽穗期(d) Heading date	株高(cm) Plant height	单株穗数 No. of panicles per plant	每穗粒数(粒/穗) No. of grains per panicle	结实率(%) Seed-set percent	千粒重(g) 1000-grain weight	产量 (kg/667m ²) Grain yield	比 CK ± (%)
臻达 A-Pi25-3/明恢 86 Zhenda A-Pi25-3/Minghui 86	89.0	123.0 ± 1.05aA	8.7 ± 0.40dC	134.9 ± 5.95aA	88.3 ± 2.80aA	32.0 ± 0.59aA	652.3 ± 19.61aA	3.90
臻达 A/明恢 86 Zhenda A/Minghui 86(CK4)	88.0	117.6 ± 1.49bB	11.3 ± 0.53bB	130.2 ± 5.20aA	76.5 ± 1.06cB	27.2 ± 0.40dC	627.8 ± 20.10aAB	/
臻达 A-Pi25-1/粤恢 9802 Zhenda A-Pi25-1/Yuehui 9802	91.0	132.0 ± 0.70aA	11.3 ± 0.70cB	149.6 ± 4.42bB	84.5 ± 1.21aA	26.2 ± 0.30bB	598.3 ± 12.89bB	-6.16
臻达 A-Pi25-2/粤恢 9802 Zhenda A-Pi25-2/Yuehui 9802	91.0	133.6 ± 2.43aA	12.7 ± 0.56bAB	203.2 ± 12.11aA	84.1 ± 1.16aA	26.4 ± 0.40bB	662.1 ± 20.65aA	3.84
臻达 A-Pi25-3/粤恢 9802 Zhenda A-Pi25-3/Yuehui 9802	89.0	133.6 ± 1.34aA	14.3 ± 0.30aA	150.5 ± 10.45bB	77.3 ± 0.60bB	31.4 ± 0.57aA	642.8 ± 22.22aAB	0.82
臻达 A/粤恢 9802 Zhenda A/Yuehui 9802(CK5)	89.0	131.3 ± 2.00aA	12.7 ± 0.36bAB	166.0 ± 9.30bB	86.7 ± 1.57aA	27.0 ± 0.20bB	637.6 ± 19.73aAB	/

小、大写字母分别表示改良不育系测交种与原不育系测交种性状在 0.05 和 0.01 水平上的差异显著性

Small and capital letters show significant differences at $P \leq 0.05$ and 0.01 levels, respectively, for differences of traits between hybrids of the 3 improved CMS lines and the hybrids of the original Zhenda A

表 3 改良不育系杂交种的稻米品质

Table 3 Grain quality of the hybrids of the improved CMS lines (Fuzhou, 2015)

组合 Combinations	糙米率(%) Brown rice	精米率(%) Milled rice	整精米率(%) Head rice	垩白率(%) Chalky rice	垩白度(%) Chalkiness degree	透明度(级) Transparency	碱消值(级) Alkali-spreading value	直链淀粉 含量(%) Amylose content	胶稠度(mm) Gel consistency
臻达 A-Pi25-1/闽恢 3301 Zhenda A-Pi25-1/Minhui 3301	82.6	72.4	53.6	44	13.4	2	5.0	15.3	97
臻达 A-Pi25-2/闽恢 3301 Zhenda A-Pi25-2/Minhui 3301	82.5	72.7	52.3	30	8.8	2	4.0	15.0	90
臻达 A-Pi25-3/闽恢 3301 Zhenda A-Pi25-3/Minhui 3301	81.7	69.8	45.1	45	8.8	1	4.0	15.8	93
臻达 A/闽恢 3301 Zhenda A/Minhui 3301(CK1)	82.0	71.5	54.5	20	4.8	1	4.0	15.3	98
臻达 A-Pi25-1/成恢 727 Zhenda A-Pi25-1/Chenghui 727	81.3	73.1	51.9	35	8.9	2	4.0	12.8	96

表 4 157A 与臻达 A 的主要农艺性状比较

Table 4 Comparison of major agronomic traits between 157A and Zhenda A (Jianyang, 2015)

亲本 Parent	播始历 期(d) Duration from sowing to heading	株高(cm) Plant height	主茎叶 片数 Leaf no. of the main culm	剑叶长 (cm) Flag leaf length	剑叶宽 (cm) Flag leaf width	单株穗数 No. of panicles per plant	穗长(cm) Panicule length	每穗粒数 (粒/穗) No. of grains per panicle	千粒重(g) 1000-grain weight	叶色 Leaf color	柱头 颜色 Stigma color
157A	95	88.9	16~17	30.6	2.1	10.2*	23.0	136.8	30.2**	绿色	紫黑色
臻达 A Zhenda A(CK)	94	88.6	16~17	28.7	2.0	12.6	22.8	139.6	25.2	绿色	紫黑色

* 和 ** 分别表示 157A 与臻达 A 性状在 0.05 和 0.01 水平上的差异显著性

* and ** represent significance levels at $P \leq 0.05$ and 0.01 , respectively, for differences of traits between 157A and the original Zhenda A

表 5 157A 与臻达 A 的开花习性 & 异交特性比较

Table 5 The characters of flowering and outcrossing in 157A and Zhenda A (Jianyang, 2015)

亲本 Parent	花粉不育 度(%) Pollen sterility	柱头总 外露率(%) Total exposure rate of stigma	双边外 露率(%) Bilateral exposure rate	盛花时间 Flowering time	开颖角度(°) Glume opening degree	异交结 实率(%) Outcrossing rate	制种产量 Yield of hybrid seed production
157A	99.99	66.2	31.6	10:30-12:30	29.6	49.6	3.0 t/hm ² 左右
臻达 A Zhenda A(CK)	99.99	65.8	30.5	10:30-12:30	29.2	48.3	2.8 t/hm ² 左右

表 6 157B 与臻达 B 的稻米品质比较

Table 6 Comparison of rice quality between 157 B and Zhenda B (Fuzhou, 2015)

亲本 Parent	糙米率 (%) Brown rice	精米率 (%) Milled rice	整精米 率(%) Head rice	垩白率 (%) Chalky rice	垩白度 (%) Chalkiness degree	透明度(级) Transparency	碱消值(级) Alkali spreading value	直链淀粉 含量(%) Amylose content	胶稠度 (mm) Gel consistency
157B	80.8	69.8	62.7	3.2	0.5	2	4.5	13.6	85
臻达 B Zhenda B(CK)	80.2	70.6	63.8	2.2	0.2	2	3.5	13.0	83

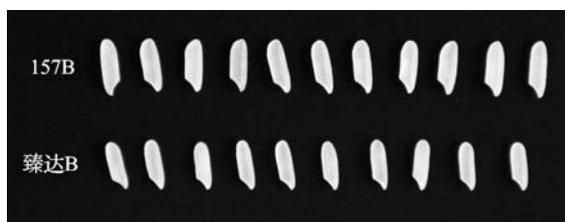


图 3 157B 与臻达 B 的精米米样

Fig. 3 Milled rice samples of 157B and Zhenda B

2.5 新不育系 157A 与臻达 A 配制组合的杂种优势表现

对新不育系 157A 与臻达 A 分别与蜀恢 527、闽恢 3301、成恢 727 和明恢 86 配制杂交组合进行简比试验,分析不育系配组的杂种优势表现。结果表明,157A 杂交种的产量与对照原不育系杂交种的产量相当,157A 杂交种的产量在 612.6~656.6 kg/667 m²之间,臻达 A 杂交种的产量在 615.8~645.8 kg/667m²

之间。在所考察的 7 个性状上,157A 多数杂交种除穗数减少外,株高、穗长、每穗粒数、结实率和千粒重有所增加,而生育期基本一致。说明 157A

与臻达 A 和相同恢复系配组,基本保留了臻达 A 高配合力的优良特性。

表 7 157A 与臻达 A 所配组合的产量性状比较

Table 7 Comparison of yield related traits between the F_1 derived from 157A and Zhenda A (Jianyang,2015)

组合 Combinations	生育期(d) Growth duration	株高(cm) Plant height	穗长(cm) Panicle length	单株穗数 Panicles per plant	每穗粒数 (粒/穗) No. of grains per panicle	结实率(%) Seed-set percent	千粒重(g) 1000-grain weight	产量 (kg/667m ²) Grain yeild
157A/蜀恢 527 157A/Shuhui527	138	122.3	23.8	9.7	162.3	88.2	32.6	638.7
臻达 A/蜀恢 527 ZhendaA/Shuhui527	137	120.6	23.6	10.2	158.6	87.8	29.5	632.6
157A/闽恢 3301 157A/Minhui3301	137	123.8	25.2	10.6	156.7	86.6	32.8	656.6
臻达 A/闽恢 3301 ZhendaA/Minhui3301	139	121.7	25.1	11.8	138.9	82.8	29.6	645.8
157A/成恢 727 157A/Chenghui727	139	121.8	24.6	13.9	153.8	88.9	31.3	621.5
臻达 A/成恢 727 ZhendaA/Chenghui727	138	120.6	24.8	13.6	160.6	89.2	29.4	617.2
157A/明恢 86 157A/Minghui86	137	122.3	24.2	8.6	159.1	86.3	31.8	612.6
臻达 A/明恢 86 ZhendaA/Minghui86	136	119.2	23.9	9.2	139.6	86.5	28.2	615.8

3 讨论

近年来,我国部分地区稻瘟病发生十分严重,给水稻的安全生产带来了极大的隐患。目前,在全国及各省水稻品种审定过程中,已将稻瘟病抗性评价摆在突出位置,严格实行稻瘟病抗性一票否决制,较多优质高产品种,因稻瘟病抗性较差这一单一因素而未能通过品种审定,限制了其推广应用。研究表明,杂交水稻组合的稻瘟病抗性与不育系的抗病性呈极显著正相关^[36];在杂交水稻抗瘟性育种中,尤其要选用抗病性好的不育系作亲本配组^[37]。因此,提高不育系稻瘟病抗性水平至关重要。

抗稻瘟病主效基因的精细定位、克隆和分子标记辅助选择技术的日臻成熟,为通过标记辅助选择培育抗病不育系和广谱、持久抗性品种奠定了基础。本研究选用的抗源亲本 BL27 携带有已克隆的抗稻瘟病主效基因 *Pi25*^[29],抗性基因源自籼稻品种谷梅 2 号,对稻瘟病具有广谱抗性^[30],开发了与 *Pi25* 紧密连锁分子标记 Si13070D^[31],为利用分子标记辅助选择改良不育系的稻瘟病抗性提供了条件。王惠梅等^[38]经过对稻种资源分析后发现 *Pi25* 基因在育种实践中仅被成功用于改良少数的三系杂交水稻恢复系^[39]、不育系^[40]以及两系杂交水稻不育系^[41-43],具有很好的利用价值。涂诗航等^[40]利用分子标记辅助选择将 *Pi25* 基因导入福稻 B 中,通过与谷丰 A

测交和连续回交选育出抗稻瘟病不育系 CP4A。袁定阳等^[41]通过杂交转育和利用分子标记选择相结合的途径将 *Pi25* 和 *Pi-d(t)* 基因成功聚合于两系不育系培矮 64S 中,获得了稻瘟病抗性显著提高的光温敏不育系新材料。余守武等^[42]利用分子标记辅助选择技术将 *Pi25* 基因导入光温敏核不育系浙科 22S 中,改良了浙科 22S 的稻瘟病抗性。在今后相关工作中,可以通过开发 *Pi25* 基因内功能标记,进一步提高 MAS 育种效率。本研究选择 *Pi25* 基因改良不育系臻达 A 的稻瘟病抗性,通过杂交、2 次回交和 2 次自交并结合分子标记辅助选择,创制出抗性基因纯合且农艺性状与臻达 B 相似的保持系新种质,再与臻达 A 进行测交和回交,经分子标记检测、农艺性状筛选和开花习性考察,从不育系回交 BC₃F₁ 群体中获得 3 个带有纯合 *Pi25* 抗性基因、农艺性状和开花习性均与臻达 A 相似的不育系臻达 A-*Pi25*-1、臻达 A-*Pi25*-2 和臻达 A-*Pi25*-3。通过人工接菌和田间自然诱发鉴定及与恢复系测交,筛选出臻达 A-*Pi25*-3 改良不育系的抗性、配合力及综合性状表现最优,继续回交转育,于 2015 年育成了稻瘟病抗性强、配合力好、群体整齐和性状稳定的不育系,命名为 157A。

研究表明,创制的 3 个改良不育系对福建的 22 个稻瘟病菌及田间鉴定均表现高抗,与 5 个恢复系配组的 15 个杂交种对稻瘟病的抗性也达到中感或中抗以上水平。抗稻瘟病基因 *Pi25* 不仅在不育系臻达 A 的遗传背景下的抗性表达完全,而且在不同恢复系测交种的背景下同样表现出较高水平的抗性,说明抗性基因 *Pi25* 对不育系稻瘟病改良的效果明显,表明 *Pi25* 是一个遗传传递能力强的广谱抗性基因,该基因在杂交稻稻瘟病抗性改良上具有很好的应用价值。创制的新不育系 157A 不仅稻瘟病抗性显著提高,而且对 157A 与臻达 A 主要性状进行比较表明,157A 除千粒重变大和单株有效穗数减少外,主要农艺性状、株叶形态和开花、异交特性及稻米品质基本保留了臻达 A 的特征特性。与蜀恢 527 等恢复系配制组合的杂种优势表现进一步证明 157A 基本保留了臻达 A 高配合力的优良特性。目前,利用臻达 A 已成功培育出臻优 177、臻优 178、臻优 727 和臻优 H130 等多个优质、高产杂交稻新组合参加 2016 年福建、贵州、浙江等省水稻生产试验和区试。因此,本研究育成的抗病、高配合力的 157A 不育系新种质可望替代臻达 A 培育高产、优质、抗病杂交稻新品种,具有较好的应用前景。

本研究利用标记辅助选择改良臻达 A 稻瘟病抗性,实际上是同时对保持系和不育系的抗性进行双重选择。而在保持系转育成的不育系,存在配制的组合是否具有杂种优势的问题。因此,在不育系较早世代 BC₃F₁ 进行稻瘟病抗性、杂种优势鉴定和稻米品质检测,可以提前预判改良的不育系的综合水平,及时淘汰劣势材料,在此基础上,对中选材料继续进行不育系转育,可以大大减少工作量。本研究在不育系回交群体的较早世代对不育系进行育性镜鉴发现,其育性败育不彻底,我们分析可能原因是导入 *Pi25* 基因的同时转入其连锁的对育性不利的基因,在育种中可以通过多代连续回交的方式,同时扩大群体的方法来打破这种不利基因的连锁关系。

致谢:中国水稻研究所庄杰云和朱玉君先生提供水稻抗性亲本 BL27 和 *Pi25* 检测标记,特致谢忱!

参考文献

- [1] 邱东峰,张再君,辜大川,等. 水稻 R7606、229A 系列优异资源的创制[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(5):918-924
- [2] 冯慧,吴孝波,刘育生,等. 耐高温抗稻瘟病水稻新材料 14-4606 与 14-4625 的创制[J]. 分子植物育种,2015,13(8):1710-1718
- [3] 赵志鹏,李刚,施标,等. 利用分子标记辅助选育香型优质粳稻新种质[J]. 上海农业学报,2015,31(5):1-5
- [4] 崔彩红,房伟强,李兴锋,等. 携带抗秆锈病基因 Sr25、Sr26 小麦新种质的分子标记辅助选育[J]. 山东农业科学,2015,47(4):14-17
- [5] 王玉海,何方,鲍印广,等. 高抗白粉病小麦-山羊草新种质 TA002 的创制和遗传研究[J]. 中国农业科学,2016,49(3):418-428
- [6] 徐未未,王兴,黄永相,等. 水稻抗稻瘟病基因的分子标记与标记辅助育种研究进展[J]. 江苏农业学报,2013,29(4):898-906
- [7] 张荟,周鹏,涂诗航,等. 利用分子标记辅助选择技术创制抗稻瘟病水稻新恢复系[J]. 分子植物育种,2015,13(9):1918-1922
- [8] 王研,郑文静,王辉,等. 辽宁省主栽水稻品种抗稻瘟病基因的鉴定及分析[J]. 植物遗传资源学报,2015,16(3):640-648
- [9] 向小姣,张建,郑天清,等. 应用分子标记技术改良京作 1 号的稻瘟病抗性[J]. 植物遗传资源学报,2016,17(4):773-780
- [10] 刘峰,梁青,陈伟雄,等. 分子标记技术改良水稻白叶枯病抗性研究进展[J]. 安徽农业科学,2015,(21):36-37,128
- [11] 潘晓曦,陈凯,张强,等. 分子标记辅助选育水稻抗白叶枯病和稻瘟病多基因聚合恢复系[J]. 作物学报,2013,39(9):1582-1593
- [12] 朱玉君,樊叶杨,王惠梅,等. 应用分子标记辅助选择培育兼抗稻瘟病和白叶枯病的水稻恢复系[J]. 分子植物育种,2014,12(1):17-24
- [13] 楼珏,杨文清,李仲惺,等. 聚合稻瘟病、白叶枯病和褐飞虱抗性基因的三系恢复系改良效果的评价[J]. 作物学报,2016,42(1):31-42
- [14] 许峰,闫素辉,张从宇,等. 基于 MAS 的小麦抗赤霉病育种材料抗性评价[J]. 植物遗传资源学报,2016,17(1):132-139
- [15] 姚姝,陈涛,张亚东,等. 分子标记辅助选择改良宁恢 8 号的条纹叶枯病抗性[J]. 中国水稻科学,2013,28(1):85-91

- [16] 张建福,曾大力,朱永生,等. 分子标记辅助选择创制抗白背飞虱水稻恢复系[J]. 中国水稻科学,2013,27(3):329-334
- [17] 罗世友,陈红萍,吴小燕,等. 应用分子标记辅助选育抗褐飞虱水稻恢复系[J]. 分子植物育种,2015,13(11):2404-2415
- [18] 赵越,张石来,胡建,等. 利用分子标记辅助选择技术培育抗虫水稻品种的研究[J]. 中国农业科技导报,2016,18(3):25-31
- [19] 朱霁晖,张昌泉,顾铭洪,等. 水稻 *Wx* 基因的等位变异及育种利用研究进展[J]. 中国水稻科学,2015,29(4):431-438
- [20] 朱速松,施文娟,张玉珊,等. 利用分子标记辅助选择选育中等直链淀粉含量的籼型三系不育系 H22A[J]. 杂交水稻,2010,25(1):9-12
- [21] 蒋开锋,郑家奎,杨乾,等. 中低直链淀粉含量优质不育系沪香 618A 的选育与应用[J]. 中国稻米,2009,15(1):20-22
- [22] 王才林,陈涛,张亚东,等. 通过分子标记辅助选择培育优良食味水稻新品种[J]. 中国水稻科学,2009,23(1):25-30
- [23] 杨瑞芳,白建江,方军,等. 分子标记辅助选择选育高抗性淀粉水稻新品种[J]. 核农学报,2015,29(12):2259-2267
- [24] 吴俊,庄文,熊跃东,等. 导入野生稻增产 QTL 育成优质高产杂交稻新组合 Y 两优 7 号[J]. 杂交水稻,2010,25(4):20-22
- [25] 圣忠华,朱子亮,马宁,等. 超级稻品种中嘉早 17 产量相关性状 QTL 定位研究[J]. 中国水稻科学,2016,30(1):35-43
- [26] 蔡之军,李金军,周德银,等. 利用分子标记技术改良粳稻不育系的柱头外露率[J]. 生物技术通报,2016,32(3):52-57
- [27] 程灿,刘斌美,周继华,等. 分子标记辅助选育显性半矮秆粳稻不育系 177A 及特性分析[J]. 上海农业学报,2016,32(3):14-17
- [28] 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
- [29] 国家水稻数据中心. 稻瘟病主效抗性基因列表 [DB/OL]. [2016-5-24]. http://www.ricedata.cn/gene/gene_pi.htm
- [30] 吴建利,柴荣耀,樊叶杨,等. 抗稻瘟病水稻材料谷梅 2 号中主效抗稻瘟病基因的成簇分布[J]. 中国水稻科学,2004,18(6):567-569
- [31] 朱玉君,庄杰云,樊叶杨,等. 检测抗稻瘟病等位基因的特异性 PCR 分子标记:中国,200910155609[P]. 2010-11-10
- [32] 卢扬江,郑康乐. 提取水稻 DNA 的一种简易方法[J]. 中国水稻科学,1992,6(1):47-48
- [33] IRRI. Standard evaluation system for rice [M]. Manila, Philippines: IRRI, 2002
- [34] 陈锦文,谢旺有,王天生,等. 人工注射接种及田间病圃鉴定水稻对稻瘟病的抗病性[J]. 广西植保,2015,28(4):6-10
- [35] 中华人民共和国农业部标准. NY147-88 米质测定方法[S]. 北京:中国标准出版社,1988
- [36] 赵明富,张锦花,黄珊,等. 杂交水稻主要亲本和抗源及其相互双列杂交组合的抗性评价[J]. 福建稻麦科技,2008,26(4):4-7
- [37] 郑轶,涂诗航,周鹏,等. 杂交水稻稻瘟病抗性鉴定及其与父母本抗性的相关性[J]. 杂交水稻,2010,25(4):75-77
- [38] 王惠梅,陈洁,施勇烽,等. 稻瘟病抗性基因 *Pi25* 特异性 CAPS 标记的开发与验证[J]. 作物学报,2012,38(11):1960-1968
- [39] 周海鹏,占小登,柴荣耀,等. 具抗稻瘟病基因 *Pi25* 杂交稻恢复系的分子标记辅助选育[J]. 中国水稻科学,2008,22(6):590-596
- [40] 涂诗航,周鹏,郑轶,等. 分子标记辅助选择 *Pi25* 基因选育抗稻瘟病三系不育系[J]. 分子植物育种,2015,13(9):1911-1917
- [41] 袁定阳,谭炎宁,余东,等. 分子标记辅助改良培矮 64S 稻瘟病抗性[J]. 分子植物育种,2012,10(3):278-284
- [42] 余守武,郑学强,范天云,等. 分子标记辅助选育具抗稻瘟病基因 *Pi25* 的光温敏核不育系[J]. 中国稻米,2013,19(3):15-17
- [43] 曹志,曾盖,郝明,等. 利用 MAS 技术改良水稻两用核不育系 C815S 的稻瘟病抗性[J]. 分子植物育种,2015,13(6):1193-1200