

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.09.005

杨丹丹, 吕莹, 董阳均, 等. 水稻云恢 1973 恢复基因关联分子标记筛选及应用 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(9): 55-64.

水稻云恢 1973 恢复基因关联分子标记筛选及应用

杨丹丹^{1,2}, 吕莹^{1,3,4}, 董阳均⁵, 徐雨然^{1,3,4}, 奎丽梅^{1,3,4},
涂建^{1,3,4}, 张笑⁵, 邓伟^{1,3,4}, 李小林^{1,3,4}

1. 云南省农业科学院 粮食作物研究所, 昆明 650205; 2. 威信县种子管理站, 云南 威信 657900;
3. 云南省主要农作物种子加工工程技术研究中心, 昆明 650205;
4. 云南省稻作遗传改良重点实验室, 昆明 650205; 5. 水富县种子管理站, 云南 水富 657800

摘要: 恢复系作为三系杂交稻关键亲本之一, 在杂种后代的性状方面发挥着主要的调控作用, 但目前生产上用的水稻恢复系同质化严重, 创制遗传背景丰富的新恢复系显得尤为重要. 选用 WA 型强恢复系—云恢 1973 和 WA 型不育系广 8A 构建 F_2 群体, 筛选与云恢 1973 恢复基因紧密连锁的标记, 利用筛选到的标记对云恢 1973 与云恢 290 构建的重组自交系材料进行恢复基因的快速扫描; 筛选出含有云恢 1973 恢复基因的重组自交系材料进行后代育性及农艺性状鉴定, 筛选出新的具有丰富遗传背景的恢复系, 为杂交水稻的可持续发展奠定物质基础. 结果表明: 在 2,10,11 号染色体上筛选到 12 个与育性恢复紧密连锁的分子标记, 综合 12 个分子标记结果, 于 300 株云恢 290/云恢 1973 重组自交系中筛选到 72 份含恢复基因的新恢复系材料; 在峨山和水富试验点对 72 份新恢复系材料进行鉴定, 结果显示 72 份新恢复系花粉育性均表现为正常, 单株有效穗在 10 穗以上的材料有 11 份, 每穗粒数在 250 粒以上的材料有 8 份, 千粒质量在 30.53 g 以上的材料有 8 份, 结实率在 80% 以上的材料有 8 份, 单株产量高于对照的材料有 19 份, 并有 6 份低直链淀粉含量材料、29 份高直链淀粉含量材料.

关键词: 水稻; 恢复系; 恢复基因; 分子标记辅助选择

中图分类号: S511

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2024)09-0055-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Screening of Molecular Markers Associated with Restoring Gene in Yunhui 1973 and Their Application

YANG Dandan^{1,2}, LYU Ying^{1,3,4}, DONG Yangjun⁵,
XU Yuran^{1,3,4}, KUI Limei^{1,3,4}, TU Jian^{1,3,4},
ZHANG Xiao⁵, DENG Wei^{1,3,4}, LI Xiaolin^{1,3,4}

收稿日期: 2023-07-01

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-102); 粮食安全种业支撑专项(53000021000000013809); 云南省科技人才与平台计划项目(202105AE160009); 云南省重大科技专项计划项目(202202AE090003).

作者简介: 杨丹丹, 硕士, 助理农艺师, 主要从事水稻遗传育种研究.

通信作者: 李晓林, 博士, 研究员.

1. Food Crops Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;
2. Weixin County Seed Administration Station, Weixin Yunnan 657900, China;
3. Yunan Main Crop Seed Processing Engineering Technology Research Center, Kunming 650205, China;
4. Yunnan Key Laboratory of Rice Genetic Improvement, Kunming 650205, China;
5. Shuifu County Seed Administration Station, Shuifu Yunnan 657800, China

Abstract: Restorer line, as one of the key parents of three-line hybrid rice, plays a major regulatory role in the traits of hybrid offspring. However, the current rice restorer lines used in production are highly homogenized, therefore, it particularly important to create new restorer lines with rich genetic backgrounds. WA type strong restoring line Yunhui 1973 and male sterile line Guang 8A were selected to construct an F₂ population for screening the markers closely linked to the restoring genes of Yunhui 1973, and using the selected markers for rapidly scanning for the restoring genes from the recombinant inbred line materials constructed with Yunhui 1973 and Yunhui 290. The recombinant inbred lines containing the Yunhui 1973 restoration gene were screened to identify the fertility and agronomic traits of their offspring, and new restoration lines with rich genetic background were screened to lay a material foundation for the sustainable development of Hybrid rice. The results indicate that 12 molecular markers closely linked to fertility restoration were selected on chromosomes 2, 10, and 11, and 72 new restoring line materials containing restoring genes were selected from 300 Yunhui 290/Yunhui 1973 recombinant inbred lines. 72 new restoring line materials were evaluated in Eshan and Shuifu experimental sites. The results showed that the pollen fertility of the 72 new restoring line materials was normal. There were 11 materials with more than 10 effective panicles per plant, 8 materials with more than 250 grains per panicle, 8 materials with more than 30.53 g of thousand grain weight, 8 materials with over 80% of seed setting rate, 19 materials with higher yield per plant than the control, 6 materials with low amylose content and 29 materials with high amylose content.

Key words: rice; restorer line; restoring gene; molecular marker assisted selection

水稻(*Oryza sativa* L.)属于禾本科草本植物,迄今为止在中国的栽培历史已有数千年,是中国重要的粮食作物^[1].有研究显示,全世界大约有 60%以上的人口以稻米为主食^[2].在我国,由于庞大的种植面积和高产的稻米产量让水稻在我国拥有较高的地位^[3].水稻产量出现过两次大的飞跃,分别是矮化育种和杂种优势利用.我国开始进行杂交水稻的研究是在 20 世纪 60 年代;在 20 世纪 70 年代前期完成籼型和粳型水稻的“三系”配套,在中期开始进行杂交水稻推广,这些措施使得水稻增产了 20%左右^[4].在此之后,育种家们虽然选育了许多品种,但与早期品种汕优 63 相比,水稻产量和品质等方面并没有得到显著性的提高,杂交水稻育种到了一个瓶颈期,杂交稻存在品种同质化严重、差异性小等现象.因此,要想提高杂交稻品种的产量和质量,就有赖于突破性骨干恢复系亲本的选择和应用.

恢复系是杂交水稻进行三系配套的关键亲本,在保证恢复系具有较强恢复能力的同时,还要求恢复系具备其他优良性状,这样在进行配套时才能拥有较强的杂种优势.在恢复系育成的 30 多年中,我国水稻育种家先后已育成了很多恢复系,第一批恢复系是以常规品种进行筛选的,主要筛选到的品种有 IR24、IR26、IR661、泰引 1 号、密阳 46、IR9761-19-1 等^[5].在对现已育成的恢复系进行遗传分析时发现,这些恢复系大多都是由一些骨干亲本,如明恢 63、蜀 527、成恢 727、辐恢 838、华占等品种育成的,其遗传背景基本相似且遗传基础较为狭窄,杂种优势变弱.据统计,利用恢复系华占配组出了 111 多个杂交稻品种,其中以华占为父本,选育出了 15 个优秀衍生恢复系材料,配组出了 60 个左右的衍生杂交稻组合.王颖姮等^[6]选用 120 对 SSR 标记,对 19 份在生产上大面积推广的骨干恢复系材料进行遗传多样性研究分析,结果将 19 份恢复系聚成两大类群,其中第 II 类群中的恢复系大多都是明恢 63 的衍生系.三系杂交水稻产量

受到制约, 没有得到进一步提高的原因可能是由于两大杂种优势群体内水稻品种资源遗传多样性相对贫乏^[7]. 因此, 加快新恢复系选育, 对于丰富我国育种遗传资源, 拓宽遗传基础具有重要作用, 同时也能为杂交稻的选育提供优良的基因资源.

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用野败型不育系广 8A 与强恢复系云恢 1973 构建群体进行分子标记筛选; 课题组前期用云恢 1973 为供体材料, 与粳型优质软米云恢 290 杂交得到云恢 1973 的 F₂ 代共 300 株重组自交系材料进行新恢复系筛选.

1.2 试验设计

采用广 8A 为母本、云恢 1973 为父本构建 F₂ 代群体, 将群体种植于云南富民, 调查花粉育性和小穗育性获得表型数据, 结合 SSR(Simple Sequence Repeats)分子标记筛选到与云恢 1973 恢复基因紧密连锁的标记; 将课题组在前期用云恢 1973 为父本与云恢 290 构建的重组自交系共 300 株材料种植在海南三亚试验田里, 用以上研究得到的与恢复基因紧密连锁的 SSR 引物去检测这 300 株的基因型; 筛选出含有云恢 1973 恢复基因的单株, 将筛选出来的单株下一季种植于云南水富和云南峨山进行对比鉴定, 并筛选出含有云恢 1973 恢复基因、综合农艺性状优良的新恢复系材料.

1.3 测定内容及方法

1.3.1 水稻育性测定

水稻花粉镜检参照姚克敏等^[8]的研究方法; 小穗结实率调查方法参照《水稻新品种测试原理与方法》^[9], 计算公式为:

$$SSR = (GPP / GNPP) \times 100\%$$

式中: SSR 代表小穗结实率、GPP 代表每穗实粒数、GNPP 代表每穗粒数.

1.3.2 分子标记筛选

在田间选取亲本和 F₂ 代单株, 并标注好株系号, 取其幼嫩叶片放置于保鲜袋中立刻带回实验室, 采用 CTAB 法^[10]进行 DNA 提取, 选取 700 对均匀分布于水稻 12 条染色体上的 SSR 分子标记作为初步筛选的引物, PCR 反应采用 10 μL 的反应体系, 其中包括 Primer(10 ng/μL)1.0 μL, 模板 DNA(约 10 ng/μL)1.0 μL, Taq 酶(10 U/μL)5.0 μL, 灭菌双蒸水 3.0 μL. 在 Biometra PCR 仪上进行扩增, 一般反应条件为: 95 ℃预变性 5 min; 94 ℃, 30 s, 50~60 ℃, 30 s, 72 ℃, 40 s, 共 35 个循环; 72 ℃再延伸 10 min. 反应产物在 8%垂直平板聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 最后经 0.1%硝酸银染色后在凝胶成像仪上拍照观察.

1.3.3 农艺性状及品质指标测定

新恢复系测定株高、穗长、单株有效穗、千粒质量、穗粒数、结实率、单株产量、粒长、粒宽、直链淀粉含量等 10 个性状, 其中农艺性状指标测定方法参考《水稻新品种测试原理与方法》^[9], 采用 SC-E 米质扫描仪(杭州万深)进行粒型测定, 按《稻米直链淀粉的测定 分光光度法》(NY/T2639-2014)进行直链淀粉含量测定. 综合以上 10 个性状测定结果进行评价.

1.3.4 数据分析

用 Map Manager QTXb 19 软件中的复合区间作图, 获得与恢复基因连锁的 SSR 分子标记. 其余分析用 Excel 2015、SPSS 23.0 统计软件进行数据分析.

2 结果与分析

2.1 广 8A/云恢 1973 F₁、F₂ 代群体的水稻育性分析及分子标记筛选

2.1.1 育性分析

2021 年 4 月将构建好的广 8A/云恢 1973 的 F₁、F₂ 代群体种植于云南富民的试验田里, F₁ 代种植了

90 株, F_2 代种植了 118 株, 待水稻盛花期时 F_1 代随机取 10 株第二天即将要开放的花粉进行镜检, F_2 代 118 个单株全部取样进行花粉镜检; 待水稻成熟期, 将 F_1 代取花粉的 10 株进行小穗结实率调查, F_2 代 118 个单株全部取样进行小穗结实率调查. F_1 、 F_2 代花粉育性和小穗育性数据分析结果如表 1 所示.

由表 1 可知, F_1 代花粉育性全部表现为正常, F_2 代有不育花粉出现. 花粉育性和小穗育性试验结果完全符合孢子体不育的遗传特点, 可以用于后续分子标记筛选试验.

表 1 F_1 、 F_2 代水稻育性描述性统计

性状	世代	最大值/ %	最小值/ %	平均值/ %	标准差	变异系数/ %	偏度	峰度
花粉育性	F_1 代	97.00	82.00	91.37	5.07	5.55	-0.75	-0.51
	F_2 代	99.00	0	82.26	21.77	26.46	-2.32	5.01
小穗育性	F_1 代	97.43	66.00	82.36	10.37	12.60	-0.29	-1.06
	F_2 代	96.23	0.35	53.83	28.49	52.93	-0.69	-0.67

2.1.2 分子标记筛选

选用的 700 对 SSR 引物在双亲间具有多态性的有 136 对, 通过在双亲间具有多态性的这 136 对标记, 再对 F_2 代群体的 118 个单株进行检测, 获得基因型数据, 并结合花粉育性(PF)和小穗育性(SF)的表型数据, 利用 Map Manager QTXb 19 软件进行分析, 获得与恢复基因连锁的 SSR 分子标记, 结果见表 2. 其中, 筛选到与花粉育性相关的标记有 10 个, 分别位于 10,11 号染色体上; 与小穗育性相关的标记有 11 个, 分别位于 2,10 号染色体上; 两个性状一共筛选到 12 个标记, 其中位于 10 号染色体上的 9 个标记是两个性状共有的.

表 2 水稻 F_2 群体分子标记筛选结果

性状	染色体	标记	似然比	p	性状变异量/%	加性效应
花粉育性	10	RM6745	23.6	0.000 01	20	9.55
	10	RM6100	12.9	0.001 61	11	7.48
	10	RM5373	6.9	0.031 14	6	6.07
	10	RM25612	15.2	0.000 51	13	7.94
	10	RM25561	8.6	0.013 54	8	7.66
	10	RM1375	8.3	0.015 75	7	7.18
	10	RM25424	8.9	0.011 62	8	6.69
	10	RM5708	21.2	0.000 02	18	13.25
	10	RM25384	12.0	0.002 46	11	9.74
	11	RM7120	6.2	0.046 03	6	6.03
小穗育性	2	RM1358	8.1	0.017 85	8	1.66
	10	RM6745	40.7	<0.000 01	32	17.24
	10	RM6100	26.3	<0.000 01	22	16.59
	10	RM5373	20.2	0.000 04	17	15.36
	10	RM25612	25.9	<0.000 01	21	15.00
	10	RM25561	19.8	0.000 05	17	14.42
	10	RM1375	24.2	0.000 01	20	17.49
	10	RM25424	20.9	0.000 03	18	14.29
	10	RM5708	24.0	0.000 01	20	19.00
	10	RM25384	23.3	0.000 01	19	18.50
	10	RM3773	38.0	<0.000 01	30	17.85

表 4 新恢复系农艺性状描述性分析

性状	来源	数量	最大值	最小值	平均值±标准差	变异系数/%	偏度	峰度
株高/cm	峨山	53	124.67	63.33	103.65±9.39	9.06	−1.53	5.64
	水富	53	142.33	95.67	119.60±11.57	9.67	−0.07	−0.95
	CK1	3	105.00	99.00	102.00±3.00	2.94	0.00	—
	CK2	3	121.00	115.00	117.33±3.21	2.74	1.55	—
穗长/cm	峨山	53	30.06	17.99	24.15±1.50	6.21	−0.17	4.30
	水富	53	32.27	24.32	28.42±1.64	5.77	0.15	0.51
	CK1	3	21.73	20.63	21.30±0.59	2.77	−1.51	—
	CK2	3	22.10	20.90	21.60±0.62	2.87	−1.29	—
单株有效穗/穗	峨山	53	18.00	7.00	11.17±2.31	20.68	0.65	00.42
	水富	53	14.00	5.00	9.17±2.51	27.37	0.07	−1.07
	CK1	3	12.00	8.00	10.00±2.00	20.00	0.00	—
	CK2	3	12.00	9.00	10.33±1.53	14.81	0.94	—
千粒质量/g	峨山	53	35.47	21.78	29.33±2.74	9.34	−0.42	0.53
	水富	53	33.83	18.80	27.51±3.04	11.05	−0.83	1.19
	CK1	3	33.90	30.30	31.53±2.05	6.50	1.73	—
	CK2	3	31.60	29.90	30.53±0.93	3.05	1.64	—
每穗粒数/粒	峨山	53	310.64	145.17	218.27±38.75	17.75	−0.02	−0.43
	水富	53	360.33	149.50	235.15±43.56	18.52	0.23	0.23
	CK1	3	262.50	260.83	261.44±0.92	0.35	1.67	—
	CK2	3	286.70	259.22	276.34±14.93	5.40	−1.62	—
结实率%	峨山	53	87.53	44.50	74.47±8.75	11.75	−0.84	1.44
	水富	53	87.30	45.60	67.17±10.69	15.91	−0.05	−0.52
	CK1	3	75.24	71.57	73.82±1.98	2.68	−1.58	—
	CK2	3	72.40	68.32	69.90±2.18	3.12	1.55	—
单株产量/g	峨山	53	56.17	13.03	35.28±6.34	17.97	−0.13	3.52
	水富	53	42.40	13.33	29.06±6.73	23.16	−0.41	0.20
	CK1	3	35.00	33.80	34.23±0.67	19.57	1.69	—
	CK2	3	31.60	29.90	30.53±0.93	3.05	1.64	—

注：CK1：峨山云恢 1973，CK2：水富云恢 1973。

在水富试验点与产量相关性状表现较好的材料如表 5 所示，其中材料 699-1 分蘖能力最强，有 14 穗；材料 679、829-1 的每穗粒数超过 300 粒；材料 789 千粒质量达到 33.83 g，属于大粒材料；材料 701-1 的结实率达到 87.30%；单株产量超过对照云恢 1973 产量的材料有 25 份。

综合两个试验点数据，单株有效穗在 10 穗以上的材料有 703、706-1、742 等 11 份，其中 836 分蘖能力

最强，在峨山试验点有 15 穗，在水富试验点有 13 穗；每穗粒数在 250 粒以上的材料有 697、698、699-2 等 8 份材料；千粒质量在 30.53 g 以上的材料有 8 份，即 699-2、742、743、786、789、858、858-1、859，这 8 份材料籽粒较大，其中材料 789 在两个试验点千粒质量都是所有恢复系中最大的，在峨山试验点达到了 35.47 g，在水富试验点达到了 33.83 g. 结实率在 80%以上的材料有 681、699-2、701、701-1、703、734、739 等 8 份材料；共有 19 份材料的单株产量在两个试验点都高于对照云恢 1973，这 19 份恢复系材料都是今后提高水稻产量的重要育种资源.

表 5 两个试验点主要性状表现良好的材料

来源	性状及变幅	品种数	品种
峨山	单株有效穗/穗	31	683、697、697-1、699-2、701、701-1、703、703-1、706-1、730、742、
	(10~18)		787、787-1、787-2、788、788-1、829-1、830-1、835、836、855、858、
			858-1、859、860、872、877、885、885-1、908、910
	每穗粒数/粒	10	697、698、699-2、730、788、829-1、885、890、908、1506
	>250		
	千粒质量/g	13	681、699-2、706、706-1、734、742、743、786、789、858、858-1、859、
	(31.27~35.47)		885-1
峨山	结实率/%	15	859、699-2、739、788-1、908、701-1、703、681、878、701、860、734、
	(80.07~87.53)		910、879、703-1
	单株产量/g	35	661、672、697、699-1、699-2、701、701-1、703、703-1、706、730、734、
	(33.23~56.17)		739、742、743、786、787-2、788、788-1、789、801、829-1、835、836、
			836-1、838、855、858、858-1、860、878、879、885、885-1、910
	单株有效穗/穗	18	661、672、699-1、703、706、706-1、713、742、786、787、787-1、788、
	(10.33~14)		829-1、835、836、858-1、877、1506
水富	每穗粒数/粒	21	679、697、698、699-1、706、713、730、739、743、788、801、829-1、
	>250		836-1、855、858、858-1、859、860、885、890、1506
	千粒质量/g	12	681、699-2、706、742、743、786、789、830-1、858、858-1、859、908
	(30.00~33.83)		
	结实率/%	9	681、699-2、701、701-1、703、734、739、860、789
	(80.05~87.30)		
	单株产量/g	12	661、672、681、683、697、698、699-1、699-2、701、701-1、703、703-1、
水富	(29.93~42.40)		734、739、743、787、787-2、788、788-1、789、829-1、830-1、835、
			858-1、877

2.2.3 新恢复系外观米质及直链淀粉含量评价

53 份恢复系材料外观品质及直链淀粉含量数据分析，以直链淀粉含量为评判指标，筛选食味品质和加工性能较好的恢复系，结果如表 6 所示。在峨山试验点，直链淀粉含量低的材料有 6 份，在水富试验点，直链淀粉含量的材料有 14 份，其中 697、699-1、699-2、706、713、836 这 6 份材料在两个试验点都拥有较低直链淀粉含量，属于籼型软米，食味品质较高。在峨山试验点，直链淀粉含量高的材料有 32 份，在水富试验点，直链淀粉含量高的材料有 33 份，其中恢复系 661、672、679 等 29 份材料在两个试验点直链淀粉含量都较高，属于加工性能较好，但食味品质较差的材料(表 7)。

表 6 新恢复系品质性状描述性分析

性状	来源	数量	最大值	最小值	平均值±标准差	变异系数/%	偏度	峰度
粒长/mm	峨山	53	10.66	8.48	9.57±0.42	4.39	−0.20	0.62
	水富	53	10.10	8.51	9.23±0.36	3.90	0.21	0.29
	CK1	3	8.83	8.74	8.80±0.05	0.57	−1.73	—
	CK2	3	8.82	8.61	8.71±0.11	1.26	0.14	—
粒宽/mm	峨山	53	3.36	2.60	3.01±0.19	6.31	−0.40	−0.81
	水富	53	3.32	2.71	3.04±0.18	5.92	−0.30	−1.12
	CK1	3	3.50	3.45	3.48±0.03	0.86	−1.46	—
	CK2	3	3.60	3.32	3.48±0.14	4.02	−0.99	—
长宽比/W	峨山	53	3.80	2.82	3.23±0.24	7.43	0.31	−0.40
	水富	53	3.56	2.73	3.08±0.19	6.17	0.07	−0.38
	CK1	3	2.56	2.54	2.55±0.01	0.39	0.00	—
	CK2	3	2.56	2.52	2.54±0.02	0.79	0.00	—
直链淀粉/%	峨山	53	31.80	10.50	24.23±5.66	23.36	−0.68	−0.70
	水富	53	32.50	8.00	23.22±7.89	33.98	−0.81	−0.93
	CK1	3	24.80	23.80	24.43±0.55	2.25	−1.67	—
	CK2	3	22.10	20.20	21.33±1.00	4.69	−1.43	—

注：CK1：峨山云恢 1973，CK2：水富云恢 1973。

表 7 高、低直链淀粉含量的材料

性状	来源	品种数	品种
低直链淀粉/% 8.0~15.3	峨山	7	697、699-1、699-2、706、706-1、713、836
	水富	14	697、697-1、698、699、699-1、699-2、706、713、730、734、836、836-1、855、872
高直链淀粉/% >25	峨山	32	661、672、679、681、683、701、701-1、703、703-1、739、742、743、786、787、788-1、789、801、835、838、858、858-1、859、860、877、878、879、880、885、885-1、890、908、910
	水富	33	661、672、679、681、701、701-1、703、703-1、739、742、743、786、787、787-1、787-2、788、788-1、789、801、829-1、835、838、858、858-1、859、860、877、878、879、880、885、908、910

3 讨论

水稻雄性不育恢复性的遗传机制一直是人们研究的热点，前人在对水稻 WA 型细胞质雄性不育系的研究中，发现在 1 号染色体上存在能让育性恢复的 Rf3 基因^[11]及 10 号染色体上的 Rf4 基因^[12-13]。试验结果是 RM6100-RM6745 的似然值最大，表明在这个区段存在育性恢复基因的可能性最大，这个研究结果与亓芳丽^[14]的研究结果相同，证明了本试验结果的可靠性。但在 RM6100-RM6745 区段存在的能使育性恢复的基因是 Rf4 或是其他基因，还需进一步加密标记和扩大群体进行验证。本研究在 2,11 号染色体上发现的两个标记，未见前人报道，试验初步推测这两个标记是控制育性的微效基因，具体效应

有待下一步探究.

传统育种主要是以田间水稻植株的表现型作为主要选择指标, 选择结果容易受到天气、土壤等外界环境影响, 而一些表型复杂的性状可能会受到主效基因和微效基因的双重影响, 因此通过单一的表型指标进行选择可能导致试验结果不准确. 目前, 以 PCR 为基础的 SSR 分子标记技术正广泛地应用于植物遗传育种研究中, 因其具备许多传统育种没有的优越性而成为现代分子育种的一个重要手段^[15]. 通过分子标记辅助选择筛选到的 72 份恢复系花粉育性大多都表现为正常可育, 花粉育性都在 90% 以上, 且配制的组合花粉育性大部分也表现为正常可育, 花粉育性在 80% 以上, 表明筛选的新恢复系具有育性恢复能力, 同时也证明了分子标记辅助选择结果的可靠性. 通过对恢复系农艺性状的分析发现, 株高在两个试验点差距较大, 平均株高相差 16.1 cm, 其主要原因是峨山试验点与水富试验点光照强度以及日照时间相差较大, 而光照是作物进行光合作用的主要能量来源^[16-17], 水稻生长及产量容易受到自然环境因子温度、降雨量、光照等因素的影响^[18]. 在水富试验点单株有效穗、千粒质量、每穗粒数、结实率、单株产量的平均值都低于对照云恢 1973, 分析原因可能是因为 2022 年水富出现极端天气, 最高温度达到了 42 ℃ 左右, 而一部分恢复系材料不适应这样的极端温度, 造成生长发育异常所致.

随着经济快速发展, 人民生活水平得到显著提高, 在吃饱的同时人们开始注重怎样吃好. 稻米品质通常受直链淀粉含量的影响, 曾亚文等^[19]以籼稻为试验材料, 得出当直链淀粉含量为 9%~15% 时属于籼型软米. 本研究筛选到的 697、699-1、699-2、706、713、836 这 6 份恢复系在两个试验点直链淀粉含量都较低, 是食味品质较好的材料. 恢复系 697-1、698、699、730、734、836-1、872 这 7 个材料直链淀粉含量在两个试验点间存在较大差异. 前人研究发现, 稻米直链淀粉含量受灌浆期温度、光照强度、海拔、收获时期、储藏条件等因素的影响^[20-23]. 当水稻直链淀粉含量高时, 稻米的持水力较低、吸水性较差、糊化温度较高、所含热量较低. 通常直链淀粉含量高的水稻可以作为米粉加工的主要原材料, 或用于其他的工业用途^[24]. 在峨山试验点, 直链淀粉含量高的材料有 32 份, 在水富试验点, 直链淀粉含量高的材料有 33 份, 其中有 661、672、679 等 29 份恢复系在两个试验点直链淀粉含量都较高, 属于高直链淀粉材料, 可作为米粉加工的原材料.

4 结论

由 SSR 分析有 12 个标记与云恢 1973 恢复基因紧密连锁, 利用分子标记辅助选择云恢 290/云恢 1973 创制的 F₈ 代共 300 份重组自交系材料, 筛选到 72 份含恢复基因的新恢复系, 鉴定结果表明新恢复系花粉育性正常, 单株有效穗在 10 穗以上的材料有 11 份, 每穗粒数在 250 粒以上的材料有 8 份, 千粒质量在 30.53 g 以上的材料有 8 份, 结实率在 80% 以上的材料有 8 份, 单株产量高于对照的材料有 19 份, 直链淀粉含量低的材料有 6 份、直链淀粉含量高的材料有 29 份.

参考文献:

[1] 杨振玉, 李志彬, 东丽, 等. 中国杂交粳稻发展与展望 [J]. 科学通报, 2016, 61(35): 3770-3777.

[2] 王睿璇. 9311 与日本晴中野败型恢复基因的鉴定与定位 [D]. 扬州: 扬州大学, 2021.

[3] 胡忠孝, 田妍, 徐秋生. 中国杂交水稻推广历程及现状分析 [J]. 杂交水稻, 2016, 31(2): 1-8.

[4] 袁隆平. 中国杂交水稻的研究与发展 [J]. 科技导报, 2016, 34(20): 64-65.

[5] 王际凤. 三系两系杂交水稻比较研究 [J]. 山地农业生物学报, 2017, 36(4): 1-9.

[6] 王颖姮, 朱永生, 吴方喜, 等. 杂交水稻骨干恢复系的遗传多样性分析 [J]. 分子植物育种, 2009, 7(2): 279-282.

[7] 游书梅, 曹应江, 郑家奎, 等. 中国与南亚水稻恢复系资源产量性状的配合力分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(5): 861-865.

- [8] 姚克敏, 刘梅, 袁潜华. 水稻不育系育性观察指标套袋自交结实率和花粉可育度的比较分析 [J]. 杂交水稻, 1998, 13(4): 23-25.
- [9] 余汉勇, 魏兴华. 水稻新品种测试原理与方法 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2010.
- [10] MURRAY M G, THOMPSON W F. Rapid Isolation of High Molecular Weight Plant DNA [J]. Nucleic Acids Research, 1980, 8(19): 4321-4325.
- [11] 何光华, 王文明, 刘国庆, 等. 利用 SSR 标记定位明恢 63 的 2 对恢复基因 [J]. 遗传学报, 2002, 29(9): 798-802.
- [12] SATTARI M, KATHIRESAN A, GREGORIO G B, et al. Comparative Genetic Analysis and Molecular Mapping of Fertility Restoration Genes for WA, Dissi, and Gambiaca Cytoplasmic Male Sterility Systems in Rice [J]. Euphytica, 2008, 160(3): 305-315.
- [13] SHEEBA N K, VIRAKTAMATH B C, SIVARAMAKRISHNAN S, et al. Validation of Molecular Markers Linked to Fertility Restorer Gene(s) for WA-CMS Lines of Rice [J]. Euphytica, 2009, 167(2): 217-227.
- [14] 亓芳丽. 水稻育性恢复基因的分子标记辅助选择 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [15] 张艳, 孙妍妍, 张春宝. 分子标记辅助选择在作物杂交种亲本选育中的研究进展 [J]. 分子植物育种, 2022, 46(5): 1-11.
- [16] SIMS L, PASTOR J, LEE T L, et al. Nitrogen, Phosphorus and Light Effects on Growth and Allocation of Biomass and Nutrients in Wild Rice [J]. Oecologia, 2012, 170(1): 65-76.
- [17] WANG S J, HO C H, CHEN H W. Rice Develop Wavy Seminal Roots in Response to Light Stimulus [J]. Plant Cell Reports, 2011, 30(9): 1747-1758.
- [18] WANG X L, ZHANG L Q, WANG S J, et al. Regional Landslide Susceptibility Zoning with Considering the Aggregation of Landslide Points and the Weights of Factors [J]. Landslides, 2014, 11(3): 399-409.
- [19] 曾亚文, 申时全, 徐绍忠, 等. 云南软米低直链淀粉含量及其相关性状遗传分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(1): 12-16.
- [20] 吕艳梅, 青先国. 稻米直链淀粉含量及其影响因素研究进展 [J]. 湖南农业科学, 2003(5): 33-36.
- [21] 高焕晔, 王三根, 宗学风, 等. 灌浆结实期高温干旱复合胁迫对稻米直链淀粉及蛋白质含量的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(1): 40-47.
- [22] 吴莉莉, 李琦, 熊宁, 等. 不同储藏条件对稻谷直链淀粉含量变化的影响 [J]. 粮食与饲料工业, 2015(12): 27-30.
- [23] 马成. 温光对水稻产量和品种的影响及遮阴对品质形成的生理分析 [D]. 南京: 南京师范大学, 2021.
- [24] SINGH M, BYARS J A. Jet-Cooked High Amylose Corn Starch and Shortening Composites for Use in Cake Icings [J]. Journal of Food Science, 2011, 76(8): E530-E535.

责任编辑 夏娟