中国水稻科学(*Chin J Rice Sci*)，2011，25(1)：25～30
http://www.ricesci.cn
DOI：10.3969/j.issn.1001-7216.2011.01.004

抗稻瘟病基因 *Pi9* 的 STS 连锁标记开发及在分子标记辅助育种中的应用

殷得所　夏明元　李进波　万丙良　查中萍　杜雪树　戚华雄*
(湖北省农业科学院 粮食作物研究所，湖北 武汉 430064；*通讯联系人，E-mail：qihx@hbaas.com)

Development of STS Marker Linked to Rice Blast Resistance Gene *Pi9* in Marker-Assisted Selection Breeding

YIN De-suo，XIA Ming-yuan，LI Jin-bo，WAN Bing-liang，ZHA Zhong-ping，DU Xue-shu，QI Hua-xiong*
(*Food Crops Institute，Hubei Academy of Agricultural Sciences，Wuhan 430064，China*；**Corresponding author*，*E-mail*：*qihx@hbaas.com*)

YIN Desuo，XIA Mingyuan，LI Jinbo，et al. Development of STS marker linked to rice blast resistance gene *Pi9* in marker-assisted selection breeding. Chin J Rice Sci，2011，25(1)：25-30.
Abstract：Indica rice line 75-1-127 carrying broad-spectrum rice blast resistance gene *Pi9* was used as resistance gene donor for genetic improvement of Yangdao 6 and R6547. By alignment of genomic sequences from the *Pi9* locus of 75-1-127，Yangdao 6 and Nipponbare，co-dominant STS (sequence-tagged site) marker PB9-1，which linked to the *Pi9* gene，was developed for molecular marker-assisted selection (MAS). Eight backcross lines carrying *Pi9* were obtained，among which four lines contained the genetic background of Yangdao 6 and the other four lines had the R6547 background. Under natural disease infection conditions in Enshi County and Yichang County of Hubei Province，China，the *Pi9*-carrying lines showed higher blast disease resistance than Yangdao 6 and R6547 in various degrees. The hybrids originated from 08C893，an R6547-derived rice line，showed higher blast disease resistance as compared to the control Yangliangyou 6. The results suggest PB9-1 is an effective co-dominant marker for MAS of *Pi9* which is a valuable resistance gene for the control of rice blast disease in Hubei area.
Key words：blast resistance；molecular marker-assisted selection；sequence-tagged site；resistance gene；breading；rice

殷得所，夏明元，李进波，等. 抗稻瘟病基因 *Pi9* 的 STS 连锁标记开发及在分子标记辅助育种中的应用. 中国水稻科学，2011，25(1)：25-30.
摘　要：利用带有广谱抗稻瘟病基因 *Pi9* 的籼稻品系 75-1-127 作为抗病基因供体亲本，用于扬稻 6 号和 R6547 抗病性的回交育种。通过比较 75-1-127、扬稻 6 号和日本晴的 *Pi9* 基因位点的 DNA 序列，开发出了与 *Pi9* 基因紧密连锁的共显性 STS (序列标记位点)标记 PB9-1，用于 *Pi9* 基因的分子标记辅助选择。结合田间农艺性状选择和分子标记辅助选择，培育出 8 个 *Pi9* 基因纯合的回交后代株系。其中，具有扬稻 6 号和 R6547 遗传背景的株系各 4 个。经湖北恩施和宜昌的病圃鉴定，携带有抗病基因株系的稻瘟病抗性水平较受体品种扬稻 6 号和 R6547 有不同程度的提高。具有 R6547 遗传背景的株系 08C893 配制的杂交组合在上述病区的抗性表现也明显优于对照品种扬两优 6 号。上述结果说明，共显性标记 PB9-1 在 *Pi9* 抗稻瘟病基因分子标记辅助育种中具有应用价值，并且 *Pi9* 基因作为稻瘟病抗源之一可以在湖北稻区进行有效利用。
关键词：稻瘟病抗性；分子标记辅助选择；序列标记位点；抗性基因；育种；水稻
中图分类号：Q943.2；S511.034　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1001-7216(2011)01-0025-06

稻瘟病是全世界范围内影响水稻生产的重要病害之一，发病严重时甚至颗粒无收。全世界已有 80 多个国家报道此病害发生，每年造成的粮食损失近 1000 万 t，我国每年由此造成的稻谷损失也达上亿 kg[1-2]。培育和种植抗病品种是防治稻瘟病最有效和最安全的措施，但由于稻瘟病菌生理小种频繁发生致病性变异，导致普通抗病品种往往种植 3～5 年后抗性逐渐丧失。因此，选择抗谱较广、具持久抗性的抗病基因作为抗源来培育新品种，延长抗瘟品种的寿命成为抗病育种的最经济有效的策略。

自 20 世纪 60 年代日本系统开展抗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[3]。被鉴定的广谱抗性基因包括：*Pi1*、*Pi2*、*Pi3*、*Piz*、*Pi9*、*Piz-t*、*Pi33*、*Pigm* 等[4]。近年来，抗病基因在水稻抗病分子育种中有较多应用。Hittalmani 等[5]将 *Pi1*、*Piz5* 和 *Pita* 基因聚合到水稻品系 BL125 中；Narayanan 等[6]将 *Pi1*、*Piz-5* 聚合到 CO39 中；陈学伟等[7]将 *Pid1*、*Pib*、*Pita* 聚合到 G46B 中；陈志伟等[8]将 *Pi2* 导入珍汕 97B；柳武革等[9]将 *Pi1*、

收稿日期：2010-04-29；**修改稿收到日期**：2010-05-19。
基金项目：湖北省攻关重大专项资助项目(2006AA201A03)；国家 863 计划资助项目(2006AA100101)；国家科技支撑计划资助项目(2006BAD01A01)。

Pi2 导入到 GD-7S;陈红旗等[10]将 *Pi1*、*Pi2*、*Pi33* 聚合到金 23B;倪大虎等[11]、陈健民等[12]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。越来越多的抗病基因被挖掘、定位和克隆为水稻抗稻瘟病育种提供了丰富的抗源,加上分子标记辅助选择技术的发展,培育抗病品种的周期缩短,效率提高。

Pi9 基因来源于四倍体小粒野生稻,能抵抗来自 13 个国家和地区的 43 个稻瘟病毒性生理小种的侵染,且不产生任何过敏病斑[13],是已克隆基因中抗谱最广的抗源。在 *Pi9* 基因的分子标记辅助育种中,目前普遍使用的连锁标记 pB8 为显性标记[13],该标记不能鉴别后代材料的阳性单株基因型是杂合还是纯合。扬稻 6 号和 R6547 分别是优良的恢复系,相应的杂交组合广泛应用于生产,但对稻瘟病的抗性较差,容易遭受稻瘟病侵害而减产。

本研究通过比较含 *Pi9* 基因的 75-1-127 与扬稻 6 号及日本晴在 *Pi9* 基因区域的序列差异设计共显性标记,旨在建立快速准确的抗性基因鉴别方法,以提高 *Pi9* 基因的选择效率;同时利用 *Pi9* 基因的共显性标记将抗性基因导入优良水稻恢复系,提高恢复系及其杂交组合的稻瘟病抗性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所用 *Pi9* 基因供体材料 75-1-127 来自国际水稻研究所;水稻受体材料扬稻 6 号和 R6547 为籼稻,来自江苏里下河地区农业科学研究所;籼型材料绵恢 725、宜恢 72、镇恢 084、黄华占和粳型材料武育粳 3 号、鄂晚 8 号、日本晴等为本实验室引进的亲本材料。

1.2 引物设计

将 75-1-127 含有 *Pi9* 基因的区段与扬稻 6 号及日本晴的相应区段通过 Clustalw2 多序列在线比对程序(http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/)进行同源性比较。75-1-127 中 *Pi9* 位点基因组序列来源于 GenBank DQ285630.1[14];扬稻 6 号的相应基因组序列来自 AAAA02018909,日本晴的来自 AP005930.3。根据不同水稻基因型的差异序列,通过在线 Primer 3.0(http://frodo.wi.mit.edu/)设计 PCR 引物,开发出与 *Pi9* 基因紧密连锁的共显性标记 PB9-1。相应引物序列,PB9-1L:5′-TAGACTCCTTCCAAGTTTGACT-3′; PB9-1R:5′-TGTGATTTTCAGAATTTTCGT-3′。

1.3 基因检测方法

采用改良的 CTAB 法提取水稻叶片总 DNA[15]。引物序列由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 在 PE 公司 9700 型热循环仪上进行,扩增反应体系的总体积为 15 μL,其中包括 1× PCR 缓冲液,Mg^{2+} 1.5 mmol/L,dNTPs 0.2 mmol/L,上下游引物各 50 pmol,水稻基因组 DNA 1.5 ng/μL,1 U *Taq* 酶(TaKaRa)。反应程序为:95℃下 4 min;94℃下 45 s,55℃下 30 s,72℃下 1 min,35 个循环;72℃下 5 min。显性标记 pB8 的扩增条件与 PB9-1 相同。PB9-1 的 PCR 产物于 6%非变性聚丙烯酰胺凝胶上分离,银染操作参照李进波等[16]的改良方法。pB8 的扩增产物在 1.0%的琼脂糖凝胶上分离,经溴化乙锭染色后在凝胶成像仪上观察条带。

1.4 病圃设置和抗病性调查方法

稻瘟病抗性采用病圃自然诱发鉴定,分别在宜昌望家(湖北省宜昌市远安县荷花镇望家村)和恩施两河(湖北省恩施州宜恩县沙道沟镇两河村)的稻瘟病病圃进行。每份材料种 20 株,行距 20 cm,株距 16.67 cm,每穴插 1 粒谷苗,四周播插诱发材料。病圃防虫不防病,常规田间管理。

病情调查、记载和抗性评价标准参照“国家稻品种区试抗性鉴定实施方案”执行(http://pg.natesc.gov.cn/),重点调查叶瘟病级、穗瘟发病率、穗瘟损失率和穗瘟病级等指标。

2 结果与分析

2.1 分子标记在亲本中的多态性

将 75-1-127 中 *Pi9* 位点的基因组序列与扬稻 6 号及日本晴的相应序列进行同源性比较,在离 *Pi9* 基因编码区上游约 26 kb 的区域发现了上述 3 个水稻基因型的差异序列区域(图 1)。与 75-1-127 序列相比,扬稻 6 号和日本晴序列分别缺失了 5 个和 3 个碱基对。

根据差异区段序列设计 PCR 引物,获得序列标记位点(STS)标记 PB9-1。根据图 1 的序列差异,利用 PB9-1 引物的 PCR 扩增产物在 75-1-127 中为 179 bp,在扬稻 6 号和日本晴中分别为 174 bp 和 176 bp,实际扩增产物的片段大小与预计结果一致(图 2)。PB9-1 和 pB8 两个标记在亲本材料中的检测结果一致。因此,可以利用此标记开展抗病基因 *Pi9* 的分子标记辅助选择。

```
扬稻6号 Yangdao 6    1 TTTAGACTCCTTCCAAGTTTGACTCCGCTTTTCATACGCACACAATCTCCCATTGAAACG 60
        75-1-127     1 TTTAGACTCCTTCCAAGTTTGACTCCGCTTTTCATACGCACACAATCTCCCATTGAAACG 60
日本晴  Nipponbare   1 TTTAGACTCCTTCCAAGTTTGACTCCGCTTTTCATACGCACACAATCTCCCATTGAAACG 60

扬稻6号 Yangdao 6   61 GTCAATTAGGCCTA----------GGGGGGGTGAATGGGCTAATTTAAAAACTTAAGTAAATGCA 115
        75-1-127     61 GTCAATTAGGCCTAAGGGGGGGGGGGGTGAATGGGCTAATTTAAAAACTTAAGTAAATGCA 120
日本晴  Nipponbare   61 GTCAATTAGGCCTAA-------GGGGGGGGTGAATGGGCTAATTTAAAAACTTAAGTAAATGCA 117

扬稻6号 Yangdao 6   116 GAAGCATGGTTTTTCAGAAATTCTGAAAATGCTTTACGAAAATTCTGAAAATCACAGAAT 175
        75-1-127     121 GAAGCATGGTTTTTCAGAAATTCTGAAAATGCTTTACGAAAATTCTGAAAATCACAGAAT 180
日本晴  Nipponbare   118 GAAGCATGGTTTTTCAGAAATTCTGAAAATGCTTTACGAAAATTCTGAAAATCACATAAT 177
```

图 1　序列比较及差异区段

Fig. 1. Sequence aligning of *Pi9* locus among 75-1-127, Yangdao 6 and Nipponbare.

灰色区域表示序列差异区段；下划线表示引物设计区段。

The difference sequences are marked with gray shadow and the primer loci are underlined.

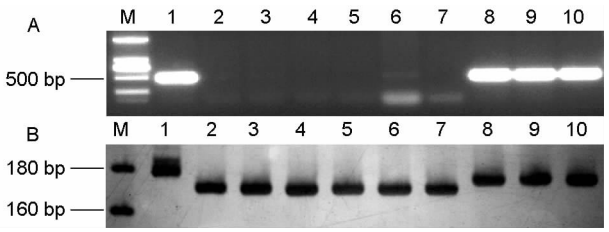

图 2　pB8(A)和 PB9-1(B)标记在亲本中的多态性比较

Fig. 2. Polymorphism comparison between markers pB8(A) and PB9-1(B) among different parents.

M 为 DNA 分子量标准 DL2000；1～10 分别为 75-1-127、扬稻 6 号、R6547、绵恢 725、宜恢 72、镇恢 084、黄华占、武育粳 3 号、鄂晚 8 号和日本晴。

M, DNA marker DL2000. Lanes 1 to 10, 75-1-127, Yangdao 6, R6547, Mianhui 725, Yihui 72, Zhenhui 084, Huanghuazhan, Wuyujing 3, Ewan 8 and Nipponbare, respectively.

2.2　抗病材料的培育以及分离群体的标记检测

分别以扬稻 6 号和 R6547 作轮回亲本与 75-1-127 杂交，在 BC_1F_1 利用 PB9-1 标记检测杂合单株，选择农艺性状接近轮回亲本的杂合单株作父本继续回交，至 BC_3F_1 代后连续自交 2 代。其间同时结合农艺性状选择和 *Pi9* 基因的分子标记辅助选择，最后分别形成扬稻 6 号和 R6547 遗传背景的纯合株系。其中，扬稻 6 号遗传背景的株系包括 08C264、08C420、08C425、08C453；R6547 遗传背景的株系包括 08C893～08C896 等 4 个株系。

对以扬稻 6 号为轮回亲本的 BC_3F_2 代的部分单株进行分子标记检测，120 个 F_2 单株采用 pB8 标记检测，分别有 87 个阳性单株和 33 个阴性单株；采用 PB9-1 标记进行检测，分别有 31 个阳性纯合单株、56 个杂合单株和 33 个阴性单株。所有阴性单株在上述 2 个标记之间的检测结果完全一致；但用 pB8 检测出的阳性单株中，用 PB9-1 标记检测可以区分出阳性纯合单株和杂合单株，部分单株的检测结果见图 3。因此，用 pB8 标记只能检测目标单株是否携带有 *Pi9* 基因，不能区分纯合单株和杂合单株；而用 PB9-1 标记可以区分出纯合单株和杂合单株。说明新标记可以用于 *Pi9* 基因型的鉴定，从而提高选择效率，加快育种进程。

2.3　改良恢复系及其组合的抗病性鉴定

2009 年在恩施和宜昌两个病圃进行田间抗性鉴定。恩施病圃鉴定表明(表 1)，携带 *Pi9* 基因的扬稻 6 号背景的株系(08C264、08C420、08C425、08C453)与对照扬稻 6 号相比，叶瘟病级由 5 级降至 4 级，穗瘟发病率由 100%降低到 15%～35%，穗瘟损失率从 95%降低到 8%～15%，穗瘟病级由 9 级降低到 5～7 级，抗性改良效果明显。携带 *Pi9* 基因的 R6547 背景的株系(08C893～08C896)稻瘟病抗性显著优于对照 R6547，其叶瘟病级由 8 级降低至 3～4 级，穗瘟发病率由 100%降低到 0%～11%，穗瘟损失率由 100%下降到 5%以下，穗瘟病级由 9 级降低到 0～5 级。

宜昌病圃的鉴定结果显示(表 1)，携带 *Pi9* 基因的扬稻 6 号背景的株系与对照扬稻 6 号相比，4 个株系的叶瘟病级和穗瘟病级均有所下降；但穗瘟发病率和穗瘟损失率在不同的株系间差异较大，其中 08C420 和 08C425 的上述 2 项指标与扬稻 6 号接近，而 08C264 和 08C453 的穗瘟发病率和穗瘟损

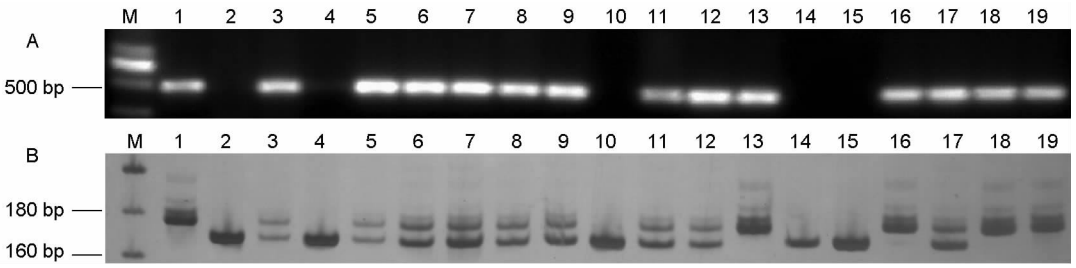

图 3 在 F_2 分离群体中部分单株的 pB8(A)和 PB9-1(B)标记的检测结果比较

Fig. 3. Polymorphism comparison between markers pB8(A) and PB9-1(B) among the partial plants of F_2 segregation population.

M — DNA 分子量标准 DL2000; 1 — 75-1-127; 2 —扬稻 6 号; 3 — F_1; 4～19 — F_2 单株。

M, DNA marker DL2000; Lane 1, 75-1-127; Lane 2, Yangdao 6; Lane 3, F_1; Lanes 4 to 19, Plants of F_2 segregation population.

失率比扬稻 6 号均有明显降低。携带 *Pi9* 基因的 R6547 背景的株系(08C893～08C896)的稻瘟病抗性比受体亲本有显著提高,其中叶瘟病级由 8 级降至 3 级,穗瘟发病率由 100%降低至 23%～38%,穗瘟损失率由 100%下降到 5.8%～13.3%,穗瘟病级由 9 级降至 3 级。

比较恩施和宜昌病圃的试验结果,各株系的发病趋势较一致,在两个遗传背景的改良株系中,多数材料的稻瘟病抗性较受体亲本有明显提高。08C420 和 08C425 在 2 个病区的鉴定结果出现差异,可能是由于两个不同生态区的稻瘟病致病生理小种构成不同所致。此外,R6547 遗传背景的株系对稻瘟病的抗性明显优于扬稻 6 号背景的株系,说明 *Pi9* 基因在不同遗传背景下抗性表现有差异。

用 08C893 与 4 个三系不育系配组,4 个杂交组合在恩施病圃的叶瘟病级与父本 08C893 相当,穗瘟病级最低达 0 级,最高 7 级,损失率 0%～20%,抗性水平显著高于对照扬两优 6 号(表 2)。宜昌鉴定结果表明,巨丰 A/08C893 对稻瘟病的抗性与扬两优 6 号相当,其他组合穗瘟损失率较对照扬两优 6 号明显降低。此外不同组合之间的抗性差异明显,其中不育系川谷 1A(携带有 *Pid1* 和 *Pid2*)所配组合抗性最好。同样说明 *Pi9* 基因的抗性表现在不同的遗传背景中存在差异。

3 讨论

分子标记辅助选择技术已广泛应用于水稻育种实践中,开展分子标记辅助选择的一个前提就是分子标记必须与目标基因紧密连锁或共分离。在 *Pi9* 基因的分子标记辅助选择中,目前普遍利用的分子标记 pB8 是显性标记,育种过程中其分离世代的基因型鉴定必须依赖下世代的检测结果进行推断,直

表 1 亲本和改良株系在恩施和宜昌的稻瘟病鉴定结果(2009 年)

Table 1. Field identification of rice blast resistance for parents and improved lines in Enshi and Yichang, Hubei Province(2009).

株系 Line	恩施 Enshi				宜昌 Yichang			
	叶瘟病级 Leaf blast score	穗瘟发病率 Incidence of panicle blast/%	穗瘟损失率 Loss ratio by panicle blast/%	穗瘟病级 Panicle blast score	叶瘟病级 Leaf blast score	穗瘟发病率 Incidence of panicle blast/%	穗瘟损失率 Loss ratio by panicle blast/%	穗瘟病级 Panicle blast score
08C264	4	35	15.0	7	4	29	7.3	5
08C420	4	18	10.0	5	3	71	23.4	5
08C425	4	15	8.0	5	4	64	25.6	5
08C453	4	23	13.0	5	4	23	8.1	3
08C893	3	0	0.0	0	3	26	6.5	3
08C894	3	4	2.4	1	3	23	5.8	3
08C895	4	3	1.7	1	3	38	13.3	3
08C896	3	11	5.0	5	3	25	8.8	3
R6547	8	100	100.0	9	8	100	100.0	9
扬稻 6 号 Yangdao 6	5	100	95.0	9	5	67	30.2	7
75-1-127	3	0	0.0	0.0	3	16	2.4	3

表 2 杂交组合的稻瘟病抗性鉴定(2009 年)

Table 2. Field identification of rice blast resistance for hybrids in Enshi and Yichang, Hubei Province.

组合 Combination	恩施 Enshi				宜昌 Yichang			
	叶瘟病级 Leaf blast score	穗瘟发病率 Incidence of panicle blast/%	穗瘟损失率 Loss ratio by panicle blast/%	穗瘟病级 Panicle blast score	叶瘟病级 Leaf blast score	穗瘟发病率 Incidence of panicle blast/%	穗瘟损失率 Loss ratio by panicle blast/%	穗瘟病级 Panicle blast score
158A/08C893	4	40	20.0	7	3	44	15.4	5
荆楚香 1A/08C893 Jingchuxiang 1A/08C893	3	5	3.1	1	4	46	11.5	5
巨丰 A/08C893 Jufeng A/08C893	3	13	5.8	5	4	66	29.7	5
川谷 1A/08C893 Chuangu 1A/08C893	4	0	0.0	0	2	15	3.8	3
扬两优 6 号 Yangliangyou 6(CK)	6	100	95.0	9	2	61	24.4	5

接增加了田间种植和室内检测的工作量。此外，pB8 标记在 *Pi9* 基因的供体 75-1-127 和本研究所涉及的粳稻中没有多态性。本研究开发的共显性标记 PB9-1 在 *Pi9* 基因上游约 26 kb 处，与 *Pi9* 基因紧密连锁。综上所述，PB9-1 标记比 pB8 标记更适用于 *Pi9* 基因的分子标记辅助选择工作。

由于 pB8 的扩增产物可以在琼脂糖凝胶上分离，操作过程相对快捷，因此，在实际育种工作中，可以根据育种材料的实际情况选择性地使用 pB8 标记或(和)PB9-1 标记。例如，在 BC_1F_1 或分离世代的早期检测工作中只需利用 pB8 标记；而在分离群体材料的基因型分析中，利用 PB9-1 标记可以快速确定个体的基因型是杂合还是纯合，可提高育种效率。

抗病性鉴定是抗性育种的重要环节，本研究在宜昌望家和恩施两河安排了田间自然诱发鉴定。这 2 个病圃是国家区试和湖北省区试材料的稻瘟病鉴定病圃，稻瘟病有效鉴定年份接近 100%。根据本实验室近 3 年的抗性鉴定结果，75-1-127 在上述 2 个病圃的抗性水平均在抗级以上。本研究结果显示，携带抗病基因 *Pi9* 的育种材料在不同的病区以及在不同的遗传背景下，多数材料或组合表现出较好的抗性，但抗性表现并不完全一致；同时，携带 *Pi9* 基因的杂交组合抗性表现与纯合株系相比有下降的趋势。综上所述，在现阶段 *Pi9* 基因可以作为抗性资源加以利用，但单个 *Pi9* 基因的长期利用还是存在抗性丧失的风险。

在抗病育种的实际工作中，可以通过聚合不同抗病基因提高品种的抗病性。我们对 *Pi1*、*Pi2* 基因纯合的 GD-7 在恩施和宜昌病圃进行了 2 年的自然诱发鉴定，穗瘟病级均在中抗以上(未发表资料)，这与柳武革等[9]的研究结果基本一致。本研究中涉及的杂交组合川谷 1A/08C893 聚合了 3 个抗病基因(*Pi9*、*Pid1* 和 *Pid2*)，在上述 2 个病区的穗瘟病级分别为 0 级和 3 级。由此说明多个抗病基因的聚合可以显著提高水稻品种的抗病性。因此，在不同的生态区开展抗性基因间的互作研究，有针对性地聚合多个抗病基因，将是今后稻瘟病抗性分子标记辅助育种的重点。

谢辞：承蒙宜昌市农业科学研究院田进山先生和恩施州农业科学研究院段太品先生在稻瘟病鉴定方面提供帮助，谨此致谢。

参考文献：

[1] Baker B, Zambryski P, Staskawicz B, et al. Signaling in plant-microbe interactions. *Science*, 1997, 276(5313): 726-733.

[2] 董继新，董海涛，李德葆. 水稻抗瘟性研究进展. 农业生物技术学报，2000，8(1)：99-120.

[3] 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. 中国农业科学，2009，42(5)：1601-1615.

[4] 吴 俊，刘雄伦，戴良英，等. 水稻广谱抗稻瘟病基因研究进展. 生命科学，2007，19(2)：233-238.

[5] Hittalmani S, Parco A, Mew T W, et al. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. *Theor Appl Genet*, 2000, 100(7): 1121-1128.

[6] 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). *Mol Breed*, 14(1): 61-71.

[7] 陈学伟，李世贵，黎汉云，等. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi-d*(t)、*Pi-b*、*Pi-ta2* 的聚合及分子标记选择. 生物工程学报，2004，20(5)：708-714.

[8] 陈志伟，郑 燕，吴为人，等. 抗稻瘟病基因 *Pi-2*(t)紧密连锁的 SSR 标记的筛选与应用. 分子植物育种，2004，2(3)：321-325.

[9] 柳武革，王 丰，金素娟，等. 利用分子标记辅助选择聚合

Pi-1 和 *Pi-2* 基因改良两系不育系的稻瘟病抗性. 作物学报, 2008, 34(7): 1128-1136.

[10] 陈红旗, 陈宗祥, 倪 深, 等. 利用分子标记技术聚合3个稻瘟病基因改良金23B的稻瘟病抗性. 中国水稻科学, 2008, 22(1): 23-27.

[11] 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)*. 分子植物育种, 2005, 3(3): 329-334.

[12] 陈健民, 付志英, 王 锋, 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. 分子植物育种, 2009, 7(3): 465-470.

[13] Liu G F, Lu G, Zeng L R, et al. Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9*(t) and *Pi2*(t), are physically linked on rice chromosome 6. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267(4): 472-480.

[14] Qu S H, Liu G F, Wang G L, et al. The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice. *Genetics*, 2006, 172(3): 1901-1914.

[15] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl Acid Res*, 1980, 8(19): 4321-4325.

[16] 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. 中国农业科学, 2006, 39(10): 2132-2137.

图书评价

《水稻基因设计育种》一书读后

洪孟民

(中国科学院 上海生命科学研究院 植物生理生态研究所,上海 200032)

稻米是我国人民主要的食粮,水稻生产的重要性不言自明。自古以来,从事水稻生产的先民在不断改进耕作技术的同时,还从大田中选择优势的种子,培育良种,使产量不断提高,以满足人口不断增加的需要。古代农书如《齐民要术》等都记载了有关的内容。

新中国成立以来,我国水稻研究与生产取得了长足的进步,在矮化育种、杂交水稻及超级稻等方面的创新性工作走在世界前列,使我国水稻生产提高到又一个新的水平。然而,面对着人口的不断增加、可耕地的减少和各种自然灾害的增多,我国的水稻产量还需进一步的提高。

在此种形势下,中国水稻研究所在2003年就如何进一步提高水稻产量问题组织了一次有众多中、外专家参加的学术会议。经过深入细致地讨论,与会者提出"水稻基因设计育种将成为第三次水稻育种突破口"的新观点。会后,中国水稻研究所钱前研究员考虑到在水稻育种方面尚缺少一本系统介绍水稻基因设计育种研究现状及有关技术的参考书,于是他组织了多位长期从事水稻遗传育种、种质创新、分子遗传和基因组学等领域研究的专家,编写并出版了《水稻基因设计育种》一书。

在该书的开宗第一章中,即明确指出:从1864年孟德尔提出遗传因子后的100年间,基因学说为植物育种提供了科学依据,也一直有效地指导着水稻育种实践,创造出许多优良的水稻新品种。但植物育种方法的演变都是从简单到复杂,育种效率也是逐步地提高。水稻的纯系选育、矮化育种、杂种优势利用、诱变育种等技术方法的应用,成功地帮助人们对物种的遗传与变异规律有了较深入的了解。DNA双螺旋结构等多项重要发现,以及随之一系列生物技术的应用,尤其是基因工程技术的不断创新,为开始从分子到整体(系统)不同层次进行设计和操作、在实验室对育种程序的各种因素进行摸拟,以及水稻基因设计育种打下了基础。在第十二章的展望中,他认为水稻基因设计育种的核心是建立以分子设计为目标的育种理论和技术体系,通过各种技术的集成与整合,对生物体进行基因筛选和优化,提出最佳的亲本选配和后代选择策略,实现从传统的"经验育种"到定向、高效的"精确育种"的转化,以大幅度提高育种效率。这几段文字的叙述,使读者对该书的内容根据与思路有了较清晰的了解。

阅读此书后,我觉得此书有如下几个特点:1)主题突出。主编者与各章编写人员紧紧围绕着"水稻基因设计育种"这一主线,介绍、综述与展望了这一新的事物。2)资料丰富。依据上述主线,编写人员挖掘、收集与整理了大量中、外科研人员在过去与近期有关水稻育种的基础研究成果与技术创新文献,并对这些资料进行了解读与讨论。3)目标明确。主编者安排了8章的篇幅,由各章的编写人员分别从种质资源、遗传性、特点、形成机制、QTL、分子定位、相关基因克隆、功能分析、在育种中的应用与改良等方面,介绍了有关株高、分蘖、粒重、穗形等水稻重要农艺性状的分子育种情况,以及抗病性、抗虫性、营养品质、抗逆性、杂交稻若干性状、优异水稻品质等的分子育种情况。这些章节构成了该书的主要内容,也是主编者认为的水稻基因设计育种的攻坚目标。这无疑是很正确的。4)突出重点。除了上述的目标外,主编者强调下一步的研制重点将是特异水稻种质发掘、基因功能的理解、等位关键或者连锁不平衡分析,以及基因内分子标记数据库、水稻所有基因的染色体渐渗系的构建、目标表型和基因型计算机信息库的构建等。只有上述这些紧密联系的育种基础研究取得重要进展,才能大大促进水稻基因设计育种任务的实现与完成。这是主编者对如何能实现该任务的深层次思考,值得从事该项工作的研究者重视。

总之,这是一本由多位专家合作,以翔实的数据资料,客观的分析,详细探讨水稻育种的面貌与趋向,提出水稻育种新概念、新方法与新途径的极有价值的参考书,值得一读。