

研究论文

Research Article

水稻抗褐飞虱基因 *Bph3* 和 *Bph24(t)* 的聚合育种利用

王萱¹ 马茜茜² 杨金莲³ 伍虎³ 李容柏^{3*}

¹ 广西农业职业技术大学农业工程学院, 南宁, 530007; ² 广西农业科学院, 南宁, 530007; ³ 广西大学农学院, 南宁, 530004;

* 通信作者, lirongbai@126.com

摘要 在水稻 (*Oryza sativa*) 的生产实践中, 常常会受到褐飞虱 (*Nilaparvatal lugens*) 等多种病虫害的威胁。聚合不同抗性基因, 培育抗性品系, 是应对各种生物胁迫最有效的策略。传统香稻由于其自身抗性条件限制, 无法大面积推广。本研究结合分子标记辅助选择 (marker-assisted selection, MAS) 技术, 以含有抗褐飞虱基因 *Bph3* 或 *Bph24(t)* 的供体亲本与含有抗稻瘟病基因 (*Pi2*、*Pib* 或 *Pimh*)、抗白叶枯病基因 (*Xa23*) 或香味基因 (*badh2*) 的优质三系杂交水稻保持系和恢复系进行多亲本复合杂交。将抗褐飞虱基因聚合到优良水稻品系中, 筛选获得 41 个含有抗褐飞虱基因且与其他目的基因以不同组合方式相聚合的稳定品系。抗性鉴定、香味检测和农艺性状测定表明, 各聚合品系的褐飞虱抗性水平较受体亲本均有明显提升, 且具有双抗、三抗和/或香味等优良表型。这些新品系为多抗、优质水稻新品种的选育提供新的种质材料。

关键词 褐飞虱; 稻瘟病; 抗性育种; 香味; 分子标记辅助选择

Pyramided Breeding by Use of *Nilaparvatal lugens* Resistance Genes *Bph3* and *Bph24(t)* in Rice

WANG Xuan¹ MA Xixi² YANG Jinlian³ WU Hu³ LI Rongbai^{3*}

¹ School of Agricultural Engineering, Guangxi Vocational University of Agriculture, Nanning, 530007; ² Guangxi Academy of Agricultural Science, Nanning, 530007; ³ College of Agricultural, Guangxi University, Nanning, 530004

* Corresponding author, lirongbai@126.com

DOI: 10.13417/j.gab.043.000031

Abstract The rice (*Oryza sativa*) production is affected by many diseases and pests, such as *Nilaparvatal lugens*. Cultivating resistant cultivars through polymerizing different resistance genes is the most effective strategies to cope with these biotic stresses. Traditional aromatic rice cannot be popularized within a large area due to the deficiency of resistance. In this study, a series of maintainer line and restorer line of high quality three-line hybrid rice, which containing rice blast resistance gene (*Pi2*, *Pib* or *Pimh*), bacterial blight resistance gene (*Xa23*) or aroma gene (*badh2*) were hybridized with donor parents containing *N. lugens* resistance gene *Bph3* or *Bph24(t)*. As a result, the *N. lugens* resistance genes were introduced into elite breeding lines through marker-assisted selection (MAS). A total of 41 stable pyramided lines containing *N. lugens* resistance genes, and aggregated with other target genes in different combinations were screened. The identification of resistance, aroma and agronomic traits showed that each pyramided line not only possesses a high level of *N. lugens* resistance compared to the recipient parents, but also exhibits satisfactory agronomic traits, including dual-resistance, triple-resistance and/or aroma. It can be used as germplasm resources for multi resistance and high-quality breeding of rice.

Keywords *Nilaparvatal lugens*; Blast; Resistance breeding; Aroma; Marker-assisted selection

褐飞虱 (*Nilaparvatal lugens*) 是当今水稻 (*Oryza sativa*) 生产上为害最严重的害虫之一, 爆发时会导 致水稻的大幅减产甚至绝收 (Zhang et al., 2019; Shen et al., 2023)。自 2002 年以来, 褐飞虱在全世

基金项目: 本研究由广西农业职业技术大学校级科研项目 (XKJ2302)、广西创新驱动发展专项资金项目 (桂科 AA17204070) 及广西科技计划项目 (桂科 AB16380093) 共同资助。

引用格式: 王萱, 马茜茜, 杨金莲, 等, 2024. 水稻抗褐飞虱基因 *Bph3* 和 *Bph24(t)* 的聚合育种利用. 基因组学与应用生物学, 43(1): 31-44. [WANG X, MA X X, YANG J L, et al., 2024. Pyramided breeding by use of *Nilaparvatal lugens* resistance genes *Bph3* and *Bph24(t)* in rice. Genomics and Applied Biology, 43(1): 31-44.]

通信作者简介: 李容柏, 教授, 水稻优异种质资源的发掘和创新利用研究

收稿日期: 2023-01-15; 接受日期: 2023-08-03

界范围内爆发的频率和范围急剧增加,对水稻安全生产具有严重威胁,仅在印度、印度尼西亚、菲律宾、日本和我国台湾的总经济损失估计为每年2 000万至1亿美元(Veres et al., 2020)。在我国各稻区,每年的危害面积就在2千万公顷以上,对水稻实际造成的损失为水稻病虫害总损失的30%,造成稻谷数十亿千克的产量损失,年平均直接产量损失超过119万吨,因而被视为水稻病虫害之首(刘万才等, 2016)。为有效地控制该虫害,最关键的措施是从抗褐飞虱种质材料中发掘抗性基因,并将其转入栽培稻品种中,培育抗虫品种并在生产中应用(Du et al., 2020; Shi et al., 2023)。

目前,已从稻种资源中鉴定了一批抗褐飞虱基因,其中部分基因已成功应用于育种实践。*Bph3*基因来源于斯里兰卡的地方品种‘Rathu Heenati’,由4个串联的凝集素受体激酶基因(*OsLecRKs*)组成,参与介导抗虫信号转导,触发免疫反应,具有较强的褐飞虱抗性效应(Liu et al., 2015)。*Bph24(t)*基因来源于广西普通野生稻的衍生品系BPHR96(刘开雨等, 2011),导入该基因的水稻品系可获得较强的褐飞虱抗性(Xiao et al., 2016)。早在20世纪70年代,国际水稻研究所(International Rice Research Institute, IRRI)就通过回交育种的方式,先后把褐飞虱抗性基因*Bph1*、*bph2*、*Bph3*和*bph4*导入到优良的籼稻品种中,培育了一系列的抗性品种,如‘IR26’‘IR36’‘IR50’和‘IR72’等(Khush and Virk, 2013)。

随着越来越多的褐飞虱抗性水稻资源被鉴定,育种家们试图将多个褐飞虱抗性基因导入或聚合到不同的水稻品种中,以获得广谱、持久、高效的抗性水稻品种或品系。如Hu等(2016)将3个抗褐飞虱基因*Bph3*、*Bph14*和*Bph15*分别聚合到籼稻品种‘HMZ’中,得到的品系表现出了很强的褐飞虱抗性。同时发现,聚合的基因个数与抗性水平呈正相关,选育出的水稻抗褐飞虱新品系可作为提高其他栽培品种的抗性的中间材料。Liu等(2016)将2个抗褐飞虱基因*Bph3*和*Bph27(t)*导入到易感品种‘Ningjing3’中,得到的聚合系在很大程度上提高了对褐飞虱的抗性,避免了由于褐飞虱影响而造成的产量损失。Wang等(2017)将*Bph6*和*Bph9*基因聚合导入到籼稻‘93-11’中,育成自身及所配杂交组合的褐飞虱抗性均显著提高。Jiang等(2018)将*Bph3*、*Bph14*、*Bph15*、*Bph18*、*Bph20*和*Bph21*等6个褐飞虱抗性基因渗入或聚合到保持系‘Jin 23B’

中,构建了含有单个或两个褐飞虱抗性基因的改良品系,抗性鉴定结果表明,不同的褐飞虱抗性基因赋予植株不同水平的抗性,聚合品系对褐飞虱表现出更高水平的抗性。

然而,由于病虫害生理小种的不断变化,单一抗性品种的大面积推广和长期种植可能会导致其抗性逐渐减弱和丧失。稻瘟病和白叶枯病(rice bacterial leaf blight, BLB)分别是威胁水稻生产最严重的真菌性病害和细菌性病害。通过将不同病虫害抗性基因同时导入优良水稻品种中,可以有效培育出具有更广谱和持久抗性的新品种。如Ji等(2016)将抗稻瘟病基因(*Pita*、*Pi1*和/或*Pi2*)、抗白叶枯病基因(*Xa23*和/或*xa5*)和抗褐飞虱基因(*Bph3*)聚合到同一品种中,培育了1个含有三种抗性基因的新的恢复系,抗性鉴定结果证明,聚合了三种抗性基因的新品系对三种病虫害的抗性明显增强。Reinke等(2018)将抗褐飞虱基因(*Bph18*)、水稻条纹病毒抗性QTL(*qSTV11SG*)、稻瘟病抗性基因(*Pib+Pik*)和抗白叶枯基因(*Xa40/Xa3*)进行聚合,培育出了兼抗条纹病毒病、稻瘟病、白叶枯病及褐飞虱的粳稻背景的改良株系。Dixit等(2020)将抗稻瘟病基因(*Pi9*)、抗白叶枯病基因(*Xa4*、*xa5*、*xa13*和*Xa21*)、抗褐飞虱基因(*Bph3*和*Bph17*)、抗稻瘰蚊基因(*Gm4*和*Gm8*)和抗旱性QTL位点(*qDTY1.1*和*qDTY3.1*)导入受体亲本‘Swarna’中,获得了7个导入了7~10个基因/QTL组合的聚合系。表型鉴定结果显示,各个株系均获得了相应的抗性,且保持了受体亲本的农艺性状特征。

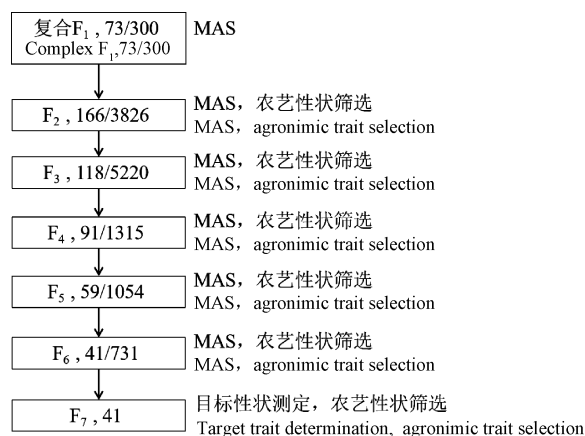
本研究通过多亲本复合杂交和分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)技术,将抗褐飞虱基因与抗病基因和/或香味基因以不同目标基因组合导入或聚合于一系列优良的水稻保持系和恢复系中,以期获得抗性显著增强且有香味的新型聚合品系,为推动水稻抗性育种提供优异的种质材料,同时为抗褐飞虱基因聚合育种提供理论指导。

1 结果

1.1 聚合抗褐飞虱基因水稻品系的培育

为培育多抗优质的水稻新品系,选择携带*Bph3*基因的品系Ptb33和携带*Bph24(t)*基因的品系BPHR96作为供体,分别与一系列抗稻瘟病、抗白叶枯病和/或具有香味的优质育种中间材料进行复合杂交。将这一系列复合杂交后所获得的F₁代植

株称为复合 F_1 ，使其进行连续多代自交，自 F_2 至 F_7 代，利用与目标基因紧密连锁的分子标记，通过 MAS 筛选具有不同组合的目标基因的单株，结合田间表型，获得稳定品系 41 个。图 1 汇总了每一代中鉴定和筛选出的植株数量。



MAS 表示分子标记辅助选择。

MAS represents marker-assisted selection.

图 1 聚合品系的选育过程

Figure 1 The breeding process of pyramided lines

通过基因型分析，确认了每个聚合品系中含有的目标基因组合。表 1 和表 2 展示了 41 个品系的复合杂交亲本组合和基因型鉴定结果。因为复合杂交的过程不同，所以导入单个抗褐飞虱基因的聚合品系在表 1 中列出，导入两个抗褐飞虱基因的聚合品系在表 2 中列出。

杂交亲本组合和目标基因型的鉴定结果显示，在 41 个品系中，每个品系都成功导入了抗褐飞虱基因，此外，抗稻瘟病基因、抗白叶枯病基因和香味基因以不同的组合方式相聚合。有 12 个品系聚合了三种类型的目标基因，其中，L1 和 L22~L29 这 9 个品系聚合了褐飞虱抗性、稻瘟病抗性和白叶枯病抗性基因；L2~L4 这 3 个品系聚合了褐飞虱抗性、稻瘟病抗性和香味基因。有 29 个品系聚合了两种类型的目标基因，其中，L5~L9 和 L30~L41 这 17 个品系聚合了褐飞虱抗性和稻瘟病抗性基因；L10 聚合了褐飞虱抗性和白叶枯病抗性基因；L11~L21 这 11 个品系聚合了褐飞虱抗性和香味基因。

表 1 导入单个抗褐飞虱基因的水稻聚合品系的杂交亲本组合和目标基因型

Table 1 Hybrid parents combination and target genotypes of rice pyramided line introgressed with single *Nilaparvatal lugens* resistance gene

聚合品系 Pyramided line	供体亲本 Donor parents	受体亲本 Recipient parents		聚合的目标基因 Target gene pyramided						
		第一轮杂交 The first round of crossbreeding	第二轮杂交 The second round of crossbreeding	<i>Bph3</i>	<i>Bph24(t)</i>	<i>Pi2</i>	<i>Pib</i>	<i>Pimh</i>	<i>Xa23</i>	<i>badh2</i>
L1	Ptb33	GH998/XYZ	GH998/P59	+	-	-	+	+	+	-
L2	BPHR96	HZ/XYZ	MX B	-	+	+	+	-	-	+
L3	BPHR96	HZ/XYZ	MX B	-	+	+	+	-	-	+
L4	BPHR96	XYZ	MX B	-	+	-	+	-	-	+
L5	Ptb33	HZ	HZ	+	-	+	-	-	-	-
L6	BPHR96	GH998/HZ	GH998/MH63	-	+	+	-	+	-	-
L7	BPHR96	(GH998/209B)/MH63	MH63/R8	-	+	-	-	+	-	-
L8	BPHR96	(GH998/MH63)/YF B	MH63/R8	-	+	-	-	+	-	-
L9	BPHR96	XYZ/YF B	XYZ/MM B	-	+	-	+	-	-	-
L10	BPHR96	P59/MM B	P59/MM B	-	+	-	-	-	+	-
L11	BPHR96	MX B/MM B	MX B/MM B	-	+	-	-	-	-	+
L12	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L13	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L14	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L15	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+

续表
Continuing table

聚合品系 Pyramided line	供体亲本 Donor parents	受体亲本 Recipient parents		聚合的目标基因 Target gene pyramided						
		第一轮杂交 The first round of crossbreeding	第二轮杂交 The second round of crossbreeding	<i>Bph3</i>	<i>Bph24(t)</i>	<i>Pi2</i>	<i>Pib</i>	<i>Pimh</i>	<i>Xa23</i>	<i>badh2</i>
L16	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L17	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L18	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L19	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L20	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+
L21	BPHR96	MX B/MM B	MX B/Qun B	-	+	-	-	-	-	+

注：含有目的基因带型记的为“+”，不含目的基因带型的记为“-”。

Note: The line harbouring the target gene marked as "+", otherwise marked as "-".

表 2 导入两个抗褐飞虱基因的水稻聚合品系的杂交亲本组合和目标基因型
Table 2 Hybrid parents combination and target genotypes of rice pyramided lines introgressed with
two *Nilaparvatal lugens* resistance genes

聚合品系 Pyramided line	第一轮杂交 The first round of crossbreeding		第二轮杂交 The second round of crossbreeding		聚合的目标基因 Target gene pyramided						
	供体亲本 Donor parents	受体亲本 Recipient parents	供体亲本 Donor parents	受体亲本 Recipient parents	<i>Bph3</i>	<i>Bph24(t)</i>	<i>Pi2</i>	<i>Pib</i>	<i>Pimh</i>	<i>Xa23</i>	<i>badh2</i>
L22	Ptb33	GH998/HZ	BPHR96	P59	+	+	+	-	+	+	-
L23	Ptb33	GH998/HZ	BPHR96	P59	+	+	+	-	+	+	-
L24	Ptb33	GH998	BPHR96	P59	+	+	-	-	+	+	-
L25	Ptb33	GH998	BPHR96	P59	+	+	-	-	+	+	-
L26	Ptb33	GH998	BPHR96	P59	+	+	-	-	+	+	-
L27	Ptb33	GH998	BPHR96	P59	+	+	-	-	+	+	-
L28	Ptb33	GH998	BPHR96	P59	+	+	-	-	+	+	-
L29	Ptb33	GH998	BPHR96	P59	+	+	-	-	+	+	-
L30	Ptb33	HZ/MH63	BPHR96	GH998/R8	+	+	+	-	+	-	-
L31	Ptb33	GH998/HZ	BPHR96	GH998/R8	+	+	+	-	+	-	-
L32	Ptb33	HZ/R8	BPHR96	GH998/HZ	+	+	+	-	+	-	-
L33	Ptb33	HZ/IR64	BPHR96	GH998/R8	+	+	+	-	+	-	-
L34	Ptb33	GH998/HZ	BPHR96	GH998/R8	+	+	+	-	+	-	-
L35	Ptb33	MH63/XYZ	BPHR96	(GH998/R8)/IR64	+	+	-	+	+	-	-
L36	Ptb33	GH998	BPHR96	GH998/R8	+	+	-	-	+	-	-
L37	Ptb33	GH998	BPHR96	GH998/R8	+	+	-	-	+	-	-
L38	Ptb33	GH998	BPHR96	GH998/YF B	+	+	-	-	+	-	-
L39	Ptb33	GH998	BPHR96	GH998/YF B	+	+	-	-	+	-	-
L40	Ptb33	GH998/IR64	BPHR96	GH998/R8	+	+	-	-	+	-	-
L41	Ptb33	GH998/R8	BPHR96	GH998/R8	+	+	-	-	+	-	-

注：含有目的基因带型的记为“+”，不含目的基因带型的记为“-”。

Note: The line harbouring the target gene marked as "+", otherwise marked as "-".

1.2 各水稻聚合品系的目标基因性状鉴定

对本研究获得的 41 个水稻品系进行褐飞虱抗性鉴定, 其中, 有 2 个品系含有 *Bph3* 基因, 19 个品系含有 *Bph24(t)* 基因, 20 个品系同时含有 *Bph3* 和 *Bph24(t)*。抗虫鉴定结果表明, 所有品系都对褐飞虱表现出中抗水平, 抗性级别为 3 级 (表 3)。与受体亲本相比, *Bph3* 和/或 *Bph24(t)* 的导入有效地提高了植株的褐飞虱抗性水平。

在 41 个聚合品系中, 有 29 个改良品系从受体获得了不同数目的抗稻瘟病基因, 包括 *Pi2*、*Pib* 和 *Pimh*, 其中 17 个品系含有 1 个抗稻瘟病基因, 12 个品系含有 2 个抗稻瘟病基因。鉴定结果表明, 含有抗稻瘟病基因的品系分别对叶瘟和穗颈瘟表现出高抗 (HR) 至中等抗性 (MR), 抗性级别为 1 级~3 级。而其余 12 个没有任何抗稻瘟病基因的品系表

现为高感稻瘟病, 抗性级别为 7 级~9 级 (表 3)。表明聚合品系成功地保留了受体亲本对稻瘟病的抗性。

在 41 个聚合品系中, 有 10 个品系从受体亲本中获得了抗白叶枯病基因 *Xa23*。鉴定结果表明, 含有 *Xa23* 的品系对白叶枯病表现出高水平的抗性, 抗性级别为 1 级。而其余 31 个没有 *Xa23* 的品系对白叶枯病表现出易感性, 抗性级别为 5 级~9 级 (表 3)。表明聚合品系成功地保留了受体亲本对白叶枯病的抗性。

在 41 个聚合品系中, 有 14 个品系从受体亲本中获得了香味基因 *badh2*。稻米香味特性的鉴定结果表明, 含有 *badh2* 的品系的稻米均具有香味。而其余 27 个没有 *badh2* 的品系的稻米未表现出芳香性状 (表 3)。表明聚合品系成功地保留了受体亲本的香味表型。

表 3 水稻聚合品系中对目标基因相应性状的鉴定结果

Table 3 Identification result of relative traits of target genes in rice pyramided lines

聚合品系 Pyramided line	抗性级别 Resistance rate				香味 Aroma
	褐飞虱抗性	叶瘟抗性	穗颈瘟抗性	白叶枯病抗性	
	<i>Nilaparvata lugens</i> resistance	Leaf blast resistance	Panicle blast resistance	BLB resistance	
L1	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	1 (HR)	-
L2	3 (MR)	2 (HR)	3 (MR)	7 (MS)	+
L3	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	7 (MS)	+
L4	3 (MR)	2 (HR)	1 (HR)	9 (HS)	+
L5	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	7 (MS)	-
L6	3 (MR)	3 (MR)	1 (HR)	5 (MS)	-
L7	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	7 (MS)	-
L8	3 (MR)	2 (HR)	3 (MR)	7 (MS)	-
L9	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	9 (HS)	-
L10	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	1 (HR)	-
L11	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	9 (HS)	+
L12	3 (MR)	8 (MS)	9 (HS)	7 (MS)	+
L13	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	9 (HS)	+
L14	3 (MR)	8 (MS)	9 (HS)	7 (MS)	+
L15	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	5 (MS)	+
L16	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	9 (HS)	+
L17	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	7 (MS)	+
L18	3 (MR)	8 (MS)	9 (HS)	7 (MS)	+
L19	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	5 (MS)	+
L20	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	5 (MS)	+
L21	3 (MR)	8 (MS)	9 (HS)	9 (HS)	+
L22	3 (MR)	2 (HR)	3 (MR)	1 (HR)	-

续表
Continuing table

聚合品系 Pyramided line	抗性级别 Resistance rate				香味 Aroma
	褐飞虱抗性	叶瘟抗性	穗颈瘟抗性	白叶枯病抗性	
	<i>Nilaparvatal lugens</i> resistance	Leaf blast resistance	Panicle blast resistance	BLB resistance	
L23	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	1 (HR)	-
L24	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	1 (HR)	-
L25	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	1 (HR)	-
L26	3 (MR)	8 (MS)	9 (HS)	1 (HR)	-
L27	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	1 (HR)	-
L28	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	1 (HR)	-
L29	3 (MR)	8 (MS)	9 (HS)	1 (HR)	-
L30	3 (MR)	2 (HR)	1 (HR)	5 (MS)	-
L31	3 (MR)	2 (HR)	3 (MR)	5 (MS)	-
L32	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	7 (MS)	-
L33	3 (MR)	2 (HR)	3 (MR)	7 (MS)	-
L34	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	7 (MS)	-
L35	3 (MR)	3 (MR)	3 (MR)	5 (MS)	-
L36	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	7 (MS)	-
L37	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	7 (MS)	-
L38	3 (MR)	8 (MS)	9 (HS)	9 (HS)	-
L39	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	7 (MS)	-
L40	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	7 (MS)	-
L41	3 (MR)	9 (HS)	9 (HS)	7 (MS)	-

综合以上结果可知，表型鉴定结果与基因型分析结果相一致，获得了不同组合的目标基因的聚合品系在表型鉴定中都表现出相应的预期性状。如图 2 所示，有 9 个品系获得了褐飞虱抗性+稻瘟病抗性+白叶枯病抗性性状；有 3 个品系获得了褐飞虱抗性+稻瘟病抗性+香味性状；有 1 个品系获得了褐飞虱抗性+白叶枯病抗性性状；有 11 个品系获得了褐飞虱抗性+香味性状。

个品系获得了褐飞虱抗性+稻瘟病抗性+香味性状；有 17 个品系获得了褐飞虱抗性+稻瘟病抗性性状；有 1 个品系获得了褐飞虱抗性+白叶枯病抗性性状；有 11 个品系获得了褐飞虱抗性+香味性状。

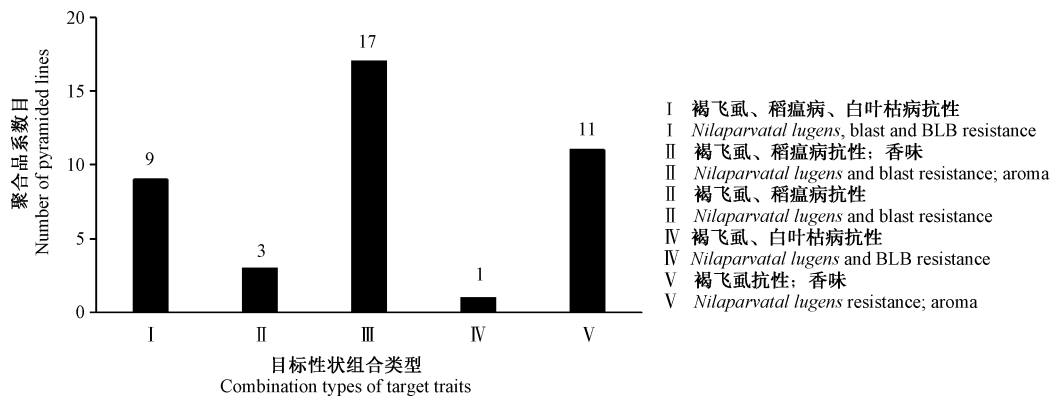


图 2 不同类型导入性状的水稻聚合品系统计

Figure 2 Statistics of rice pyramided lines with different types of introgressed traits

1.3 各水稻聚合品系的农艺性状比较

选择聚合 3 个不同目标性状基因的 12 个品系 (L1~L4、L22~L29), 进行农艺性状的评价, 同时统计 9 个受体亲本来源的品系作为农艺性状评价的对照。记录了 8 项农艺性状, 即株高、剑叶长、剑叶

宽、单株有效穗数、结实率、每穗粒数、千粒重和单株产量(表 4)。对聚合品系的农艺性状评价表明, 所选品系整体株叶形态整齐, 生育期一致, 具有不同的产量性状结构和产量水平, 且没有明显的产量损失。

表 4 所选的 12 个品系和部分代表性的受体亲本的农艺性状评价

Table 4 Evaluation of agronomic performance of the selected 12 improved lines and some representative recipient parents

品系 Line	株高/cm Plant height /cm	剑叶长/cm Flag leaf length/cm	剑叶宽/cm Flag leaf width/cm	单株有效穗数 Panicle number per plant	结实率/% Seed set rate/%	每穗粒数/粒 Grain number per panicle/grain	千粒重/g 1 000-grain weight/g	单株产量/g Grain weight per plant/g
L1	104.4±1.6	36.6±0.4	2.2±0.02	6.5±1.3	84.0±1.3	220.2±7.5	19.0±0.1	25.1±1.7
L2	106.4±0.9	29.1±0.6	1.8±0.09	10.2±1.4	82.2±1.3	186.0±6.2	25.3±0.3	47.1±2.8
L3	103.6±1.0	27.2±0.4	1.5±0.06	9.1±1.3	83.1±2.0	192.3±5.1	21.7±0.4	37.5±1.8
L4	98.7±1.3	36.3±1.0	2.2±0.04	7.4±0.5	80.0±1.5	243.0±8.0	20.3±0.3	34.6±3.0
L22	126.6±0.9	33.9±0.8	2.5±0.07	9.0±1.3	80.4±1.6	225.3±5.7	21.1±0.3	42.8±1.1
L23	111.4±1.3	49.1±0.5	1.9±0.02	12.3±1.3	84.2±1.6	168.8±7.2	18.8±1.0	38.1±2.4
L24	95.8±1.9	37.8±0.4	1.6±0.09	9.3±0.3	82.4±1.8	216.6±11.9	25.9±0.5	50.5±0.9
L25	115.6±0.4	41.1±1.3	1.8±0.04	13.8±1.4	79.6±2.0	158.8±9.2	19.0±0.2	42.2±1.1
L26	104.3±1.5	43.3±1.2	2.2±0.07	10.9±0.4	83.6±1.1	178.0±7.4	27.3±0.3	53.5±1.0
L27	100.3±2.6	31.6±0.3	1.6±0.05	9.1±0.3	84.0±2.3	190.0±6.6	19.0±0.3	32.5±3.2
L28	120.4±1.3	41.6±0.4	1.8±0.06	11.0±0.4	82.4±1.9	176.3±12.5	23.1±0.4	44.8±1.5
L29	94.1±2.1	33.3±0.8	1.6±0.03	8.6±1.4	82.2±1.4	204.5±7.2	16.8±1.2	30.8±1.6
HZ	93.4±0.4	38.0±0.4	1.6±0.04	9.8±0.3	84.6±1.2	168.7±7.6	21.5±0.7	36.3±1.3
GH998	98.0±0.5	36.8±0.3	1.3±0.03	12.6±1.0	85.2±1.5	162.9±9.8	19.5±0.4	41.3±1.5
MH63	97.6±0.9	38.6±1.1	2.1±0.05	10.9±0.4	83.5±1.7	148.2±6.1	24.5±0.5	39.9±0.7
XYZ	62.1±0.4	32.4±0.6	1.4±0.07	12.0±0.3	86.2±1.5	142.8±6.7	19.5±0.4	33.4±0.1
YF B	73.4±1.0	46.7±0.5	1.9±0.06	5.0±1.4	80.4±2.2	298.7±6.9	20.5±0.6	30.6±1.5
MX B	70.6±0.7	36.1±0.3	1.5±0.03	9.9±0.2	83.9±1.3	167.5±7.5	18.0±0.2	30.2±0.7
MM B	70.4±1.2	16.4±0.2	1.7±0.04	9.3±0.4	79.4±1.4	172.6±10.1	22.5±0.5	35.0±0.3
Qun B	84.2±0.7	40.3±0.8	1.5±0.07	11.2±1.3	0.8±1.9	154.9±6.4	20.8±0.5	34.9±0.7
209B	68.5±1.0	36.2±0.9	1.7±0.03	10.9±0.8	0.8±1.7	170.0±7.6	19.3±0.6	36.0±1.7

聚合品系的株高范围为 94.1 cm (L29)至 126.6 cm (L22); 聚合品系的剑叶长度范围为 27.2 cm (L3)至 49.1 cm (L23); 聚合品系的剑叶宽度范围为 1.5 cm (L3)至 2.5 cm (L22)。大多数聚合品系的植株高度高于相应的被鉴定的受体亲本。关于单株有效穗数的统计, 聚合品系以 L1 (6.5) 最低, L25 (13.8) 最高, 与 GH998 (12.6) 相当。关于结实率的统计, 以 L23 (84.2%) 最高, L25 (79.6%) 最低, 受体亲本的结实率变化在 79.4%~86.2% 范围内, 与之相近。关于每穗粒数的统计, 聚合品系的每穗粒数在 158.8 (L25)到 243.0 (L4)粒, 12 个品系中有 10 个品系的每穗粒数超过 170 粒 (L1~L4, L22, L24, L26~L29)。受体亲本每穗粒数除 YF B 为

298.7 粒外, 其余品系的均在 142.8~172.6 粒之间。聚合品系的每穗粒数普遍高于相应的被鉴定的受体亲本。关于千粒重的统计, 在 L29 中 (16.8 g) 最低, 在 L26 中 (27.3 g) 最高, 与对照受体亲本的 18.0~24.5 g 的变化范围相比, 表现出更大的变化范围。关于单株产量的统计, 聚合品系的单株粒重在 25.1 g (L1)到 53.5 g (L26)之间, 与受体亲本 30.2 g 至 41.3 g 范围内相比, 显示出更大的变化范围。在所鉴定的 12 个聚合品系中, 大多数品系的单株产量与受体亲本相近。除 L1 外, 11 个品系的单株产量均超过 30.0 g, 其中 6 个品系 (L2、L22、L24~L26、L28) 的单株产量均超过 40.0 g, L2、L24、L26 和 L28 产量均较高 (44.8~53.5 g), 可以

应用在后续的育种实践当中。

2 讨论与结论

2.1 不同目的基因聚合的水稻品系的培育

稻米是全世界半数以上人口的主食,而褐飞虱、稻瘟病和白叶枯病分别是水稻生产中为害最严重的害虫、真菌性病害和细菌性病害,对水稻生产造成巨大的产量损失(Wang et al., 2023)。在抗性较弱的水稻品种中聚合抗褐飞虱、稻瘟病和白叶枯病基因,培育更为广谱或持久地抵抗多种生物胁迫的品种,不仅可以减少农药和杀菌剂的使用,而且将有助于提高杂交水稻生产的稳定性和可持续性。此外,稻米是否具有香味是谷物质量评价的重要标准之一,具有香味的稻米因其良好的品质而深受消费者青睐,具有较高的经济价值和巨大的市场需求(Verma and Srivastav, 2020; Imran et al., 2023)。因此,培育具有广谱抗性且有香味的高产水稻品种正是顺应了这一趋势。本研究将抗褐飞虱基因导入一系列优良的恢复系或保持系中,同时以不同的目标基因组合方式,将抗稻瘟病基因、抗白叶枯病基因,以及香味基因进行了聚合,获得的41个聚合品系在抗性和香味鉴定中表现出稳定的预期性状,并具有高产潜力。这些聚合品系是宝贵的种质材料,在培育多抗稻、香稻方面具有重要的应用前景。它们可作为改良品种直接用于生产,也可以作为后续育种工作的供体亲本,参与更多目标性状的基因的聚合,以促进水稻生产。

2.2 各水稻品系中不同目标性状的鉴定

对聚合品系进行褐飞虱抗性鉴定,结果表明,含有*Bph3*和/或*Bph24(t)*抗性基因的品系表现出对褐飞虱的高抗性(表3)。相关研究表明,与单基因系相比,聚合抗褐飞虱基因可以显著增强抗性、扩大抗谱,如*Bph3+Bph27*、*Bph6+Bph9*和*Bph14+Bph15*等(Hu et al., 2016; Liu et al., 2016; Wang et al., 2017; Jiang et al., 2018)。然而,本研究中聚合了*Bph3*和*Bph24(t)*这两个抗褐飞虱基因的品系与只含有其中一个抗性基因的品系相比,并未展现出预期的更高抗性水平。这可能是由于聚合品系的供体和受体亲本之间的遗传背景相互作用的影响,例如上位性相互作用(Yadav et al., 2019; Yadav et al., 2021)。因而,在现有的抗性基因资源中,应反复尝试摸索更为有效的基因组合。

聚合品系的稻瘟病抗性鉴定结果表明,含有2个抗稻瘟病基因的改良品系(*Pi2+Pimh*、*Pi2+Pi2*和*Pib+Pimh*)具有高抗至中等抗性。在聚合单个抗稻瘟病基因的品系中,*Pimh*、*Pi2*和*Pib*的阳性品系表现几乎相当于双基因聚合品系。聚合2个抗稻瘟病基因的品系没有观察到明显提升的抗性水平,说明这3个基因两两之间没有表现出显著的累积效应,其他研究中有类似的结果(Zeng et al., 2017; Pandian et al., 2018)。在本研究的3个抗稻瘟病基因中,*Pi2*单独或联合作用似乎最有效。另外,除了L26,其他具有高抗性(抗性为1级和2级)的品系都含有*Pi2*基因,说明*Pi2*在本研究的遗传背景中,表现出的抗性要略强于其他2个抗稻瘟病基因,这一点在前人的研究中(Xiao et al., 2019; Dubina et al., 2020)也得到了证实。

对聚合品系进行白叶枯病抗性鉴定的结果表明,含有*Xa23*基因的改良品系对白叶枯病表现出较高的抗性,表明仅导入*Xa23*就足以在水稻中产生对白叶枯病强而广谱的抗性,这些结果与先前白叶枯病抗性育种实践中的研究结果(Wang et al., 2020)相一致。另一方面,感性品系的感病水平有较大的变幅(5级~9级),可能是抗性较强的品系的遗传背景里存在其他白叶枯病抗性基因/QTL所致。

对聚合品系进行香味鉴定的结果表明,聚合了*badh2*基因的改良品系的稻米均具有浓郁的香味(表3)。

2.3 不同性状的目的基因在水稻聚合品系中可各自发挥功能

对于整合多个性状的聚合品系的表型评价表明,这些品系中的抗性基因或香味基因能够独立发挥其功能,相互之间没有显著的负互作效应。近年来,已有多项研究通过标记辅助聚合与田间表型分析相结合的方法,成功地导入多个目标基因/QTL,以提高水稻品种的品质和产量。例如, Mohapatra等(2023)培育了一系列晚熟水稻品系,聚合了抗白叶枯病基因(*Xa21*、*xa13*和*xa5*)和水稻耐淹水胁迫的QTL(*Sub1*)。Dixit等(2020)培育了新的水稻品系,聚合了抗稻瘟病基因(*Pi9*)、白叶枯病抗性基因(*Xa4*、*xa5*、*xa13*和/或*Xa21*)和/或抗褐飞虱基因(*Bph3*和/或*Bph17*)。Ramalingam等(2020)分别在水稻品种‘ASD 16’和‘ADT 43’的背景下聚合了白叶枯病抗性基因(*xa5*、*xa13*和*Xa21*)、稻瘟病抗性

基因 (*Pi54*) 和纹枯病抗性 QTL (*qSBR7-1*、*qSBR11-1* 和 *qSBR11-2*)。这些聚合品系获得了相应的更高水平的抵抗力/耐受力, 且在主要农艺性状和稻米品质方面表现与受体亲本的相似。总的来说, 同一类型抗性基因的聚合能够增强抗性、拓展抗谱, 不同类型抗性基因的聚合能够赋予水稻抵抗多种病虫害的能力 (Zampieri et al., 2023)。但本研究表明, 同一类型抗性基因的聚合并不总是能提高抗性。因而, 需要在今后的工作中充分利用现有的基因资源或挖掘新类型的抗性资源, 摸索出更为有效的抗性基因组合, 从而通过基因聚合更大程度地提高植株的抗性水平和扩大抗谱。

目前已报道的大多数研究针对聚合抗性基因, 以抵抗生物胁迫和非生物胁迫, 鲜有涉及整合多抗基因和香味基因的研究。Luo 等 (2016) 在这一方面做出了成功的尝试, 将白叶枯病抗性基因 (*Xa27*)、稻瘟病抗性基因 (*Pi9*)、耐淹性基因 (*Sub1A*) 和香味基因 (*badh2.1*) 聚合到一个优良恢复系 ‘绵恢 725’ 中, 培育出一个新的品系 WH6725。但是, 未见有大规模地构建包含多重抗性和改良香味的创新种质材料作为育种中间材料的报道。因此, 本研究将多种抗性基因和香味基因导入目前流行的品种中, 以提高水稻的可持续栽培性及其品质, 对改善品种的抗逆性、产量和品质具有重要意义。

2.4 多亲本复合杂交是打破遗传累赘的有效育种策略

在多抗性基因聚合育种实践中, 抗性基因与其他不利基因的遗传累赘现象是一个不可忽视的问题, 例如, *Pi21* 与谷物的不良风味相关联 (Angeles-Shim et al., 2020)。选择受体亲本进行多次回交, 有助于打破遗传累赘, 但本研究在聚合品系的培育过程中并未采用这一策略, 而是利用多亲本复合杂交的方法。多个受体亲本的参与能增加后代遗传重

组的机会, 在打破遗传累赘的同时, 可以获得遗传背景更为多样的品系 (Leung et al., 2015)。在早期世代的筛选过程中, 将群体规模设置得足够大, 经过严格的基因型-表型选择, 筛选出了聚合不同基因组合且无明显产量损失的优良品系。农艺性状鉴定结果显示, 12 个聚合了 3 个目标性状基因的品系在聚合多抗性和芳香基因后仍表现出良好的总体农艺性状, 没有明显的产量损失 (表 4)。4 个候选品系 (L2、L24、L26 和 L28) 的单株产量均显著高于对照受体亲本 (44.8~53.5 g)。说明在这些品系中, 水稻抗病基因的聚合并未影响产量或粮食品质, 这一点与 Mi 等 (2018) 和 Jiang 等 (2019) 的报告相一致, 即在广泛而严格的筛选下, 基因聚合可以对产量构成性状产生较小的负面影响。

3 材料与方法

3.1 植物材料

供体亲本: 抗褐飞虱的水稻品系 Ptb33, 携带抗褐飞虱基因 *Bph3*, 来源于国际水稻研究所; 抗褐飞虱的水稻品系 BPHR96, 携带抗褐飞虱基因 *Bph24(t)*, 来源于本课题组。

受体亲本为 25 份优良的三系杂交水稻保持系和恢复系育种中间材料 (表 5)。其中, ‘华占’ (HZ) 含 *Pi2*、‘明恢 63’ (MH63) 和 ‘广恢 998’ (GH998) 含 *Pimh*、‘新银占’ (XYZ) 含 *Pib*, 均为具有稻瘟病抗性的优质籼稻 (*Oryza sativa* subsp. *indica*) 品种。P59 含 *Xa23*, 是具有白叶枯病抗性的普通野生稻 (*O. rufipogon*) 渗入系。‘盟先 B’ (MX B) 含有 *badh2*, 是香米保持系。‘群 B’ (Qun B) ‘银丰 B’ (YF B) ‘美盟 B’ (MM B) 和 209B 为优质保持系。R8 和 IR64 为优质恢复系。

抗性鉴定对照材料: Ptb33、HZ 和 P59 分别被用作褐飞虱、稻瘟病和白叶枯病抗性鉴定的抗性对照, ‘TN1’ 被用作三种抗性鉴定的感性对照。

表 5 聚合育种中各受体亲本具有的目标性状及相应基因

Table 5 The target characters and corresponding genes of each recipient parents in pyramiding breeding

编号 Accession number	受体亲本携带的目标基因 Target gene contained in recipient parents	目标性状 Target trait	系谱 Pedigree
1	<i>Pi2</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	HZ
2	<i>Pi2</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	HZ/IR64

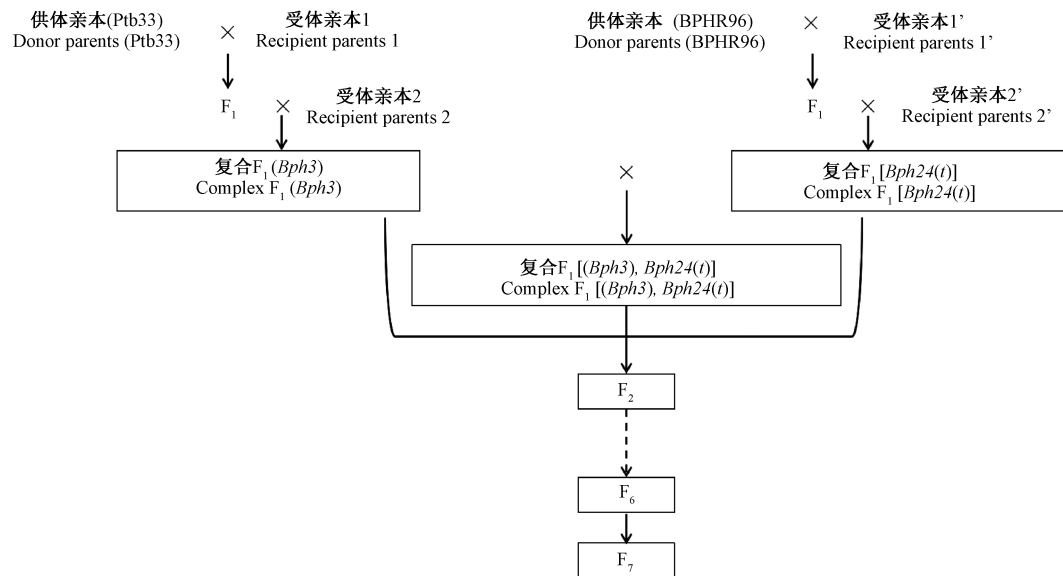
续表
Continuing table

编号 Accession number	受体亲本携带的目标基因 Target gene contained in recipient parents	目标性状 Target trait	系谱 Pedigree entries
3	<i>Pi2</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	HZ/MH63
4	<i>Pi2</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	HZ/R8
5	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	GH998
6	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	GH998/IR64
7	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	GH998/MH63
8	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	GH998/R8
9	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	GH998/YF B
10	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	(GH998/R8)/IR64
11	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	(GH998/209B)/MH63
12	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	(GH998/MH63)/YF B
13	<i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	MH63/R8
14	<i>Pib</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	XYZ
15	<i>Pib</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	XYZ/MM B
16	<i>Pib</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	XYZ/YF B
17	<i>Pi2</i> , <i>Pimh</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	GH998/HZ
18	<i>Pi2</i> , <i>Pib</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	HZ/XYZ
19	<i>Pimh</i> , <i>Pib</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	GH998/XYZ
20	<i>Pimh</i> , <i>Pib</i>	抗稻瘟病 Blast resistance	MH63/XYZ
21	<i>Xa23</i>	抗白叶枯病 BLB resistance	P59
22	<i>Xa23</i>	抗白叶枯病 BLB resistance	P59/MM B
23	<i>badh2</i>	香味 Aroma	MX B
24	<i>badh2</i>	香味 Aroma	MX B/MM B
25	<i>badh2</i>	香味 Aroma	MX B/Qun B

3.2 育种策略

将含有抗褐飞虱基因的供体材料分别与不同的受体亲本以不同的组合进行复合杂交，利用与目标基因紧密连锁的分子标记筛选来自不同目标基因组合的复合 F_1 代植株。将杂交后代连续自交，从 F_2

到 F_6 代重复利用 MAS 进行前景选择。同时，在每个世代进行农艺性状的选择，获得目标基因纯合且农艺性状稳定的品系。在 F_7 代评估目标性状和重要农艺性状，选择优良的新品系。该过程如图 3 所示。



各世代选择要点：复合 F_1 到 F_2 ，利用 MAS 进行不同目标基因组合的单株筛选； F_2 到 F_6 ，基因型纯合且农艺性状稳定品系的筛选； F_6 到 F_7 ，目标性状鉴定和农艺性状测定。

Selection criteria for each generation; complex F_1 to F_2 , using MAS for single plant screening of different target gene combinations; F_2 to F_6 , selection of lines with homozygous genotypes and stable agronomic traits; F_6 to F_7 , target traits and agronomic traits evaluation.

图 3 多亲本复合杂交育种方案

Figure 3 Diagram describing the breeding scheme of multi-parental hybridization

3.3 DNA 提取和 PCR 检测

用 CTAB 法提取试验材料幼嫩叶片的基因组 DNA (Murray and Thompson, 1980)，并用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳对各个样品 DNA 的纯度和完整性进行检测。选用与目标基因相关联的

分子标记，对相应植株的 DNA 进行检测，分子标记的信息来源于已发表文献(表 6)。PCR 反应体系和反应程序参照 Wang 等(2021)的方法。采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测扩增产物带型。

表 6 用于前景选择的目标基因的连锁标记
Table 6 Linked markers in foreground selection

目标基因 Target gene	分子标记 Linked marker	上游引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')	下游引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')	目标片段长度/bp Expected fragment size/bp	参考文献 Reference
<i>Bph3</i>	RM589	ATCATGCTCGGTGGCTTAAC	CAGGTTCACACAGACACTG	295	Jairin et al., (2007)
<i>Bph24(t)</i>	HJ22	CTATGTGGTCCCATTTCCTC	GTGTCGGTTCACATGCTCC	101	Xiao et al., (2016)
<i>Pimh</i>	RM213	ACAAGCAGATACTGACTGATGC	CTTCTTTGCATCCAGACTTCC	187	马进(2010)
<i>Pib</i>	Pibdom	GAACAATGCCCAAACCTTGAGA	GGGTCCACATGTCAGTGAGC	365	Fjellstrom et al., (2004)
<i>Pi2</i>	9-Pro	TGATTATGTTTTTATGTGGGG	ATTAGTGAGATCCATGTGTTCC	111	Tian et al., (2016)
<i>Xa23</i>	Lj74	AAGCCATTTGATGACCAACC	GGATCCATTTGACGATAACCTT	983	Wang et al., (2014)
<i>badh2</i>	FMBad2-E7	GGTTGCATTACTGGGAGTT	CACTGAAACAGGCTGTCAAG	260	朴日花 等(2021)

3.4 植株目标基因表型的鉴定

褐飞虱抗性水平的鉴定使用苗期集团鉴定法,参照 Wang 等(2021)的鉴定方法和评价标准。对水稻各品系的褐飞虱抗性鉴定参照蒋胜理(2013)的鉴定方法和评价标准。叶瘟和穗颈瘟抗性鉴定参照 Wang 等(2021)的鉴定方法和评价标准。对水稻各品系的叶瘟和穗颈瘟抗性鉴定分别参照 Sani (2020)和 IRRI (2013)的鉴定方法和评价标准。白叶枯病抗性水平的鉴定使用剪叶法,参照 Wang 等(2021)的鉴定方法和 IRRI (2013)的评价标准。稻米香味特性的鉴定方法和评价标准参照 Jin 等(2010)的 KOH 浸泡法和 Dhulappanavar (1976)的谷物咀嚼法。

3.5 农艺性状的测定

2021 年春,对各参试水稻品系进行农艺性状的测定。待鉴定的品系种植于试验田内,2 月 25 日播种,3 月 24 日移栽,每一品系种植 6 行×10 株,单株的间距为 20 cm×20 cm,田间正常管理。选择中间 20 株测定农艺性状,包括株高、剑叶长、剑叶宽、单株有效穗数、结实率、每穗粒数、千粒重和单株产量等性状。

3.6 数据统计方法

通过 Microsoft Office Excel (2007) 软件来进行数据的统计,采用单因素方差分析(ANOVA)和最小显著差法(LSD)进行数据差异显著性分析,使用 PowerPoint 软件对图表进行合并和整理。

作者贡献

王萱是本研究的实验设计和实验研究的执行人,完成数据分析和论文初稿的写作;马茜茜、杨金莲和伍虎参与实验设计和试验研究;李容柏是本研究的构思者及负责人,指导实验设计、数据分析和论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

参考文献

蒋胜理, 2013. 国际水稻所株系材料的鉴定和多抗恢复系的创建, 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学. [JIANG S L, 2013. Evaluation of breeding lines from IRRI and development of multi-resistant restorer lines, Thesis for M.S. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]

刘开雨, 卢双楠, 裴俊丽, 等, 2011. 培育水稻恢复系抗稻褐

飞虱基因导入系和聚合系. 分子植物育种, 9(4): 410-417. [LIU K Y, LU S N, QIU J L, et al., 2011. Development of brown planthopper resistance gene-inserted and-accumulated lines of rice restorers. Molecular Plant Breeding, 9(4): 410-417.]

刘万才, 刘振东, 黄冲, 等, 2016. 近 10 年农作物主要病虫害发生危害情况的统计和分析. 植物保护, 42(5): 1-9. [LIU W C, LIU Z D, HUANG C, et al., 2016. Statistics and analysis of crop yield losses caused by main diseases and insect pests in recent 10 years. Plant Protection, 42(5): 1-9.]

马进, 2010. 水稻恢复系明恢 63 稻瘟病抗性基因 *Pimh* (*t*) 的精细定位及主效 QTLs 检测, 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学. [MA J, 2010. Fine mapping of the blast resistance gene *Pimh* (*t*) and detection of major QTLs in rice elite restorer line Minghui63, Thesis for M.S. Nanjing: Nanjing Agricultural University.]

朴日花, 金永梅, 李萍, 等, 2021. 我国北方香型粳稻资源遗传多样性及其香味基因 *Badh2* 的等位基因分析. 吉林农业大学学报, 43(5): 507-515. [PIAO R H, JIN Y M, LI P, et al., 2021. Analyses of genetic diversity and *Badh2* alleles of aromatic *Japonica* rice germplasm resources in northern China. Journal of Jilin Agricultural University, 43(5): 507-515.]

ANGELES-SHIM R B, REYES V P, DEL VALLE M M, et al., 2020. Marker-assisted introgression of quantitative resistance gene *pi21* confers broad spectrum resistance to rice blast. Rice Sci., 27(2): 113-123.

DHULAPPANAVAR C V, 1976. Inheritance of scent in rice. Euphytica, 25(1): 659-662.

DIXIT S, SINGH U M, SINGH A K, et al., 2020. Marker assisted forward breeding to combine multiple biotic-abiotic stress resistance/tolerance in rice. Rice, 13(1): 29.

DU B, CHEN R Z, GUO J P, et al., 2020. Current understanding of the genomic, genetic, and molecular control of insect resistance in rice. Mol. Breed., 40(2): 1-25.

DUBINA E, KOSTYLEV P, RUBAN M, et al., 2020. Rice breeding in Russia using genetic markers. Plants, 9(11): 1580.

FJELLSTROM R, CONAWAY-BORMANS C A, MCCLUNG A M, et al., 2004. Development of DNA markers suitable for marker assisted selection of three *Pi* genes conferring resistance to multiple *Pyricularia grisea* pathotypes. Crop Sci., 44(5): 1790-1798.

HU W, XIAO H X, HU K, et al., 2016. Application of marker-assisted backcross to introgress *Bph3*, *Bph14* and *Bph15* into an elite *indica* rice variety for improving its resistance to brown planthopper. Plant Breed., 135(3): 291-300.

IMRAN M, FAROOQ M A, BATTOOL A, et al., 2023. Impact

- and mitigation of lead, cadmium and micro/nano plastics in fragrant rice. *Environ. Pollut.*, 334: 122224.
- IRRI, 2013. Standard evaluation system (SES) for rice (2th edition). International Rice Research Institute, Manila, Philippines: 18-28.
- JAIRIN J, PHENGRAT K, TEANGDEERITH S, et al., 2007. Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6. *Mol. Breed.*, 19(1): 35-44.
- JI Z J, YANG S D, ZENG Y X, et al., 2016. Pyramiding blast, bacterial blight and brown planthopper resistance genes in rice restorer lines. *J. Integr. Agric.*, 15(7): 1432-1440.
- JIANG H C, HU J, LI Z, et al., 2018. Evaluation and breeding application of six brown planthopper resistance genes in rice maintainer line Jin 23B. *Rice*, 11(1): 22.
- JIANG H C, LI Z, LIU J, et al., 2019. Development and evaluation of improved lines with broad-spectrum resistance to rice blast using nine resistance genes. *Rice*, 12(1): 1-11.
- JIN L, LU Y, SHAO Y F, et al., 2010. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Cereal Sci.*, 51(1): 159-164.
- KHUSH G, VIRK P, 2013. IR varieties and their impact. International Rice Research Institute, Manila, Philippines: 163.
- LEUNG H, RAGHAVAN C, ZHOU B, et al., 2015. Allele mining and enhanced genetic recombination for rice breeding. *Rice*, 8(1): 34.
- LIU Y L, CHEN L M, LIU Y Q, et al., 2016. Marker assisted pyramiding of two brown planthopper resistance genes, *Bph3* and *Bph27(t)*, into elite rice Cultivars. *Rice(N Y)*, 9(1): 27.
- LIU Y Q, WU H, CHEN H, et al., 2015. A gene cluster encoding lectin receptor kinases confers broad-spectrum and durable insect resistance in rice. *Nat. Biotechnol.*, 33(3): 301-305.
- LUO Y C, MA T C, ZHANG A F, et al., 2016. Marker-assisted breeding of the rice restorer line Wanhui 6725 for disease resistance, submergence tolerance and aromatic fragrance. *Rice*, 9(1): 66.
- MI J M, YANG D B, CHEN Y, et al., 2018. Accelerated molecular breeding of a novel P/TGMS line with broad-spectrum resistance to rice blast and bacterial blight in two-line hybrid rice. *Rice*, 11(1): 1-12.
- MOHAPATRA S, BARIK S R, DASH P K, et al., 2023. Molecular breeding for incorporation of submergence tolerance and durable bacterial blight resistance into the popular rice variety 'ranidhan'. *Biomolecules*, 13(2): 198.
- MURRAY M G, THOMPSON W F, 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.*, 8(19): 4321-4325.
- PANDIAN B A, JOEL J, NACHIMUTHU V V, et al., 2018. Marker-aided selection and validation of various *Pi* gene combinations for rice blast resistance in elite rice variety ADT 43. *J. Genet.*, 97(4): 945-952.
- RAMALINGAM J, RAVEENDRA C, SAVITHA P, et al., 2020. Gene pyramiding for achieving enhanced resistance to bacterial blight, blast, and sheath blight diseases in rice. *Front. Plant Sci.*, 11: 591457.
- REINKE R, KIM S M, KIM B K, 2018. Developing *japonica* rice introgression lines with multiple resistance genes for brown planthopper, bacterial blight, rice blast, and rice stripe virus using molecular breeding. *Mol. Genet. Genom.*, 293(6): 1565-1575.
- SANI HALIRU B, RAFII M Y, MAZLAN N, et al., 2020. Recent strategies for detection and improvement of brown planthopper resistance genes in rice: a review. *Plants*, 9(9): 1202.
- SHI S J, ZHA W J, YU X Y, et al., 2023. Integrated transcriptomics and metabolomics analysis provide insight into the resistance response of rice against brown planthopper. *Front. Plant Sci.*, 14: 1213257.
- SHEN Y J, YANG G Q, MIAO X X, et al., 2023. OsmiR159 modulate BPH resistance through regulating G-protein γ subunit *GS3* gene in rice. *Rice*, 16(1): 30.
- TIAN D G, CHEN Z J, CHEN Z Q, et al., 2016. Allele-specific marker-based assessment revealed that the rice blast resistance genes *Pi2* and *Pi9* have not been widely deployed in Chinese *indica* rice cultivars. *Rice*, 9(1): 19.
- VERES A, WYCKHUYS K A G, KISS J, et al., 2020. An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic pesticides. Part 4: alternatives in major cropping systems. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 27(24): 29867-29899.
- VERMA D K, SRIVASTAV P P, 2020. A paradigm of volatile aroma compounds in rice and their product with extraction and identification methods: a comprehensive review. *Food Res. Int. (Ott. Ont)*, 130: 108924.
- WANG Y, JIANG W H, LIU H M, et al., 2017. Marker assisted pyramiding of *Bph6* and *Bph9* into elite restorer line 93-11 and development of functional marker for *Bph9*. *Rice(N Y)*, 10(1): 51.
- WANG C L, FAN Y L, ZHENG C K, et al., 2014. High-resolution genetic mapping of rice bacterial blight resistance gene *Xa23*. *Mol. Genet. Genom.*, 289(5): 745-753.
- WANG S G, LIU W, LU D B, et al., 2020. Distribution of bacterial blight resistance genes in the main cultivars and application of *Xa23* in rice breeding. *Front. Plant Sci.*, 11: 555228.

- WANG X, GUO X Y, MA X X, et al., 2021. Development of new rice (*Oryza. sativa* L.) breeding lines through marker-assisted introgression and pyramiding of brown planthopper, blast, bacterial leaf blight resistance, and aroma genes. *Agronomy*, 11:2525.
- WANG Y, YUE J L, YANG N, et al., 2023. An ERAD-related ubiquitin-conjugating enzyme boosts broad-spectrum disease resistance and yield in rice. *Nat. Food*, 4(9): 774-787.
- XIAO C, HU J, AO Y T, et al., 2016. Development and evaluation of near-isogenic lines for brown planthopper resistance in rice cv. 9311. *Sci. Rep.*, 6: 38159.
- XIAO W M, YANG Q Y, HUANG M, et al., 2019. Improvement of rice blast resistance by developing monogenic lines, two-gene pyramids and three-gene pyramid through MAS. *Rice*, 12(1): 78.
- YADAV S, SANDHU N, DIXIT S, et al., 2021. Genomics-assisted breeding for successful development of multiple-stress-tolerant, climate-smart rice for southern and southeastern Asia. *Plant Genome*, 14(1): e20074.
- YADAV S, SANDHU N, MAJUMDER R R, et al., 2019. Epistatic interactions of major effect drought QTLs with genetic background loci determine grain yield of rice under drought stress. *Sci. Rep.*, 9: 2616.
- ZAMPIERI E, VOLANTE A, MARÈ C, et al., 2023. Marker-assisted pyramiding of blast-resistance genes in a *japonica* elite rice cultivar through forward and background selection. *Plants*, 12(4): 757.
- ZENG D L, TIAN Z X, RAO Y C, et al., 2017. Rational design of high-yield and superior-quality rice. *Nat. Plants*, 3: 17031.
- ZHANG J, GUAN W, HUANG C M, et al., 2019. Combining next-generation sequencing and single-molecule sequencing to explore brown plant hopper responses to contrasting genotypes of japonica rice. *BMC Genom.*, 20(1): 682.

(责任编辑 王茂军)

(责任执行主编 陈玲玲)