

抗真菌转基因水稻纹枯病抗性的杂种优势分析

袁红旭¹ 张燕娟¹ 郭建夫¹ 许新萍² 张建中¹

(1. 广东海洋大学农业生物技术研究所, 湛江 524088; 2. 中山大学生物工程中心, 广州 510275)

摘要: 用抗纹枯病的12个转入1~4个外源抗真菌基因的转基因水稻作父本, 分别与2~3个雄性不育系配组, 采用田间人工接种纹枯病菌的方法, 从3个抗性指标上研究了转基因杂交水稻纹枯病抗性的杂种优势。结果表明, 杂交水稻的抗病性与转基因父本显著正相关, 抗病性的广义遗传力为0.52~0.83。在29个杂交组合中, 有5个组合具有显著负向超亲(父本)优势, 但群体平均超亲优势大于0, 为35.01%~50.79%; 杂交稻群体的平均负向竞争优势明显, 强度大, 为-57.60%~-31.23%, 有38%的组合具有显著负向竞争优势, 说明转基因杂交水稻的抗纹枯病性普遍低于转基因水稻父本, 但仍具有较好抗性, 并可从中筛选出强优势组合。

关键词: 转基因水稻; 纹枯病; 抗病性; 杂种优势

Heterosis analysis of resistance to sheath blight of transgenic hybrid rice with extra anti-fungus genes

YUAN Hong-xu¹ ZHANG Yan-juan¹ GUO Jian-fu¹ XU Xin-ping² ZHANG Jian-zhong¹

(1. Agricultural Institute of Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 2. Biotechnology Research Center of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Twelve high resistant transgenic rice lines with 1-4 extra anti-fungus genes were crossed with 2-3 male-sterile rice lines. Heterosis analysis of resistance of transgenic hybrid rice to sheath blight was studied with 3 resistance indices under the condition of artificial inoculation in field. The results showed that the resistance of transgenic hybrid rice had positive correlation with transgenic male parentage and the value of broad hereditary capacity was 0.52-0.83. Among 29 hybrid combinations, 5 combinations had significantly negative heterosis over lower parents (HLP), but the average value of HLP of all combinations was 35.01%-50.79%, was positive. The average negative heterosis over control (HC) of all combinations was strong, the value was -57.60% - -31.23%. The 38% hybrid combinations had remarkable negative HC. It indicated that the resistance of transgenic hybrid rice was usually lower than its transgenic male parents, but it still was resistant. The strong heterosis hybrid combinations with high resistance could be selected among the combinations.

Key words: Transgenic rice; sheath blight; resistance; heterosis

水稻纹枯病是水稻的重要病害,在我国长江流域和南方稻区危害严重。由于抗纹枯病的水稻种质资源少,且抗病性的遗传力低,常规抗病育种难以实施。随着科学技术的发展,通过基因工程技术已将

抗真菌基因转入水稻中,并筛选出高抗纹枯病的水稻品种^[1,2],使利用转基因抗病水稻培育抗纹枯病杂交水稻成为可能。

我国杂交水稻已取得了举世瞩目的辉煌成就,

基金项目:国家863高新技术发展计划项目(10101-02-02),广东省教育厅自然科学基金项目(200040)

作者简介:袁红旭,女,1964年生,教授,从事植物免疫学和分子育种学研究, email: yuanhx588@sohu.com

收稿日期:2004-07-29

20世纪90年代中期全国杂交水稻种植面积约占全国水稻种植面积的50%,而其产量则占水稻产量的60%以上^[3]。转基因抗病水稻抗病性的杂种优势分析是利用转基因水稻培育抗病杂交水稻的基础。为此,作者利用对纹枯病抗性表现好的13个转基因水稻与多个雄性不育系配组,对转基因杂交水稻进行杂种优势和遗传分析,以期对转基因抗病水稻的杂交育种和抗病性的合理利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

品系和杂交组合:12个转基因水稻品系,20个雄性不育系,29个由转基因水稻为父本与雄性不育系配制的杂交组合(表1)和常规籼稻感病对照品种竹籼B。病菌:水稻纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* 强致病菌株,由湛江海洋大学生物技术研究所提供。

1.2 方法

转基因水稻父本及其杂交组合、非转基因抗病对照 E120-1 及其杂交组合,常规感病对照竹籼 B,于3月上旬在大田种植,每个品系自成一区,种植10行,每行5株,行距和株距为25cm×15cm,周围设0.5m的保护行。

水稻分蘖盛期(5月中旬),采用牙签接种法接种水稻纹枯病菌,接种后45天每个品系随机抽取26株调查发病情况,每株调查12秆,采用9级分级标准记录病级^[4]。以病秆率、病级和病情指数为抗性考察指标,根据转基因水稻父本、杂种 F₁ 代和对照在纹枯病抗性各个指标上的表现计算各组合的杂种优势(超低亲优势、群体超低亲优势、竞争优势)^[5,6]。计算 F₁ 代与亲本在3个考察指标上的相关系数^[7],按照方差分析法计算广义遗传率^[8]。

表1 转基因水稻品系及其杂交组合

Table 1 Transgenic rice lines and their hybridized combination

转基因水稻 Transgenic lines	外源基因 Exogenous gene	杂交组合 Hybridized combination
E103	RC24	S319 × E103, S135 × E103
E196-4	RC24, β-1, 3-Glu	N53 × E196-4, Hai3-3 × E196-4, N120 × E196-4
Qima 39	RC24, β-1, 3-Glu	S35 × Qima 39, S163 × Qima 39, S293 × Qima 39
Pin7-2	RAC22, RCH10, RC24	S313 × Pin7-2, S156 × Pin7-2
Z12-1	RAC22, RCH10, RC24	S163 × Z12-1, S313 × Z12-1
E126	RAC22, RCH10, RC24	Hai3S × E126, S308 × E126, HG76S × E126
E151-1	RAC22, RCH10	N28 × E151-1, GD1 × E151-1, N2 × E151-1
S292-1	RCH10, RAC22, B-RIP, β-1, 3-Glu	S313 × S292-1, S214 × S292-1
S292-2	RCH10, RAC22, B-RIP, β-1, 3-Glu	S313 × S292-2, S214 × S292-2
Z3-1	RAC22, RCH10	S156 × ZS-1, PeiS × ZS-1
E19-2	RAC22, RCH10	N53 × E19-2, S306 × E19-2, GD1S × E19-2
E12-2	RCH10, RAC22, B-RIP	Hai3S × E12-2, PeiS × E12-2

注: RAC22 为水稻酸性几丁质酶基因; RCH10 和 RC24 是水稻碱性几丁质酶基因; β-1, 3-Glu 为苜蓿葡聚糖酶基因; B-RIP 为小麦核糖体失活蛋白。Note: RAC22 stated for a rice acid chitinase gene; RCH10 and RC24 for two rice basic chitinase genes; β-1, 3-Glu for a glucanase gene; B-RIP for a barley ribosome inactive protein gene.

2 结果与分析

2.1 转基因水稻及其杂交稻的纹枯病抗性

12个转基因水稻的纹枯病抗性均显著高于竹籼B,其中E103、E196等8个品系病情指数小于10,抗性优良。其余4个品系如Qima39、E12-2等的病情指数为19.79~26.32,病级和病情指数也与竹籼B存在极显著差异(表2)。

以转基因水稻为父本的28个转基因杂交水稻中,22个组合的抗性显著高于竹籼B(表3)。其中,以E103、E196-4、Z12-1、E126、S292-1为父本的转基因杂交组合的病情指数均低于10,以S292-2和Qima39为父本的转基因杂交水稻的抗性因组合而异,如S214×S292-2、S163×Qima39和S293×Qima39病情指数显著低于竹籼B。而S313×S292-2、S35×Qima39和以E19-2和E12-2为父本的杂交组合抗

表 2 转基因水稻及其杂交稻抗纹枯病发病情况

Table 2 Disease stalk rate, degree and index of sheath blight on transgenic rice

转基因品系 Transgenic lines	病秆率 (%) DSR	病级 DD	病情指数 DI	转基因品系 Transgenic lines	病秆率 (%) DSR	病级 DD	病情指数 DI
E103	44.36 *	0.49 *	5.60 *	S292-1	32.51 *	0.60 *	7.06 *
E196-4	48.87 *	0.66 *	7.20 *	S292-2	32.40 *	0.76 *	8.65 *
Qima39	72.36	2.43 *	19.79 *	Z3-1	62.18	13.83 *	20.96 *
Pin7-2	36.87 *	0.52 *	5.69 *	E19-2	77.63	2.07 *	22.71 *
Z12-1	34.60 *	0.36 *	3.98 *	E12-2	42.64	8.13 *	26.32 *
E126	31.86 *	0.42 *	4.69 *	竹籼 B	87.83	4.20	43.44
E151-1	32.84 *	0.57 *	6.41 *	Zhuxian B (CK)			

注:“*”表示与竹籼 B 存在极显著差异($P < 0.05$)。下同。Note: DSR: Disease stalk rate; DD: disease degree; DI: disease index. “*” significant difference with control, Zhuxian B ($P < 0.05$). The same as below.

性差,病情指数接近或大于竹籼 B。

2.2 转基因杂交组合间纹枯病抗性的变异和遗传分析

病秆率、病级和病情指数 3 个抗性指标的方差分析表明,组合之间均达显著水平,其变异系数分别为 52.54%、109.52% 和 109.11%,表明纹枯病抗性基因型之间确实存在广泛遗传差异。遗传力分析表明,3 个纹枯病抗性指标的遗传力较高,其广义遗传率分别为 57.30%、76.77% 和 73.70% (表 4)。由此可见,杂交组合间的变异主要来源于纹枯病抗性的基因型差异。转基因杂交稻的 3 个抗性指标均与转基因父本达显著正相关,显示转基因杂交稻的抗性与其父本抗性相关密切,也表明外源抗真菌病害基因能够传递并整合到转基因杂交稻基因组中且得以稳定表达。

2.3 转基因杂交稻 3 个抗性指标的超低亲优势和竞争优势

转基因杂交组合中,有 8 个组合在 3 个抗性指标上具有负向超低亲(父本)优势, S313 × S292-1、S214 × S292-1、S214 × S292-2、S156 × Z3-1、PeiS × Z3-1, 5 个组合达显著水平。有 23 个组合在 3 个抗性指标上具有负向竞争优势,其中 S135 × E103、N53 × E196-4、Hai3-3 × E196-4、N120 × E196-4、S163 × Z12-1、S313 × Z12-1、HG76S × E126、S313 × S292-1、S214 × S292-1、S214 × S292-2、S156 × Z3-1, 11 个组合达显著或极显著水平。总的看来,杂交组合群体的超低亲优势强度较小,在 3 个抗性指标上的平均优势率分别为 35.01%、47.19% 和 50.79%,均为正值,且变幅较大;杂交组合群体的竞争优势强度大,

平均优势率分别为 -31.23%、-57.60% 和 -55.09%,且变幅较小(表 3)。说明杂交组合的抗性普遍低于转基因父本,但仍表现出很高的抗病性和较强的杂种优势,可供筛选抗病的强优势组合。

3 讨论

我国杂交稻研究和利用取得了举世瞩目的成就,但抗病性差异已成为制约杂交稻稳步发展的主要因素之一。因此,杂交水稻抗病性杂种优势利用具有重要的意义,但目前有关方面的研究并不多。张长伟等^[9]曾对水稻叶瘟抗性的杂种优势进行了研究,认为杂交水稻的叶瘟抗性具有较强的杂种优势且叶瘟抗性的遗传力高。水稻纹枯病为水稻的三大病害之一,而且有逐年加重的趋势,抗性杂种优势分析鲜有报道。目前对纹枯病的抗病性遗传研究普遍认为,水稻对抗纹枯病的抗病性为数量遗传性状,遗传力较低,也有报道认为水稻抗纹枯病性受 1 对显性主效基因控制。潘学彪等^[10]根据“特青”和“Jasmine85”2 个抗源的研究,认为纹枯病抗性是由微效基因和 1 对显性抗性基因控制,且遗传力较低。本研究结果表明,不同组合的纹枯病抗病性存在极显著差异,具有广泛的纹枯病抗性遗传变异,且遗传力较高。转基因水稻的外源抗病基因与非转基因常规水稻原有抗病基因在遗传和表达上具有一定差异,利用外源基因改良水稻抗病性是一条行之有效的途径。

华志华等^[11]研究结果表明,外源基因一般作为一个显性基因传递给后代,但有时也存在一定基因剂量效应。之前本课题组对转 RC24 基因的水稻

表 3 转基因杂交稻纹枯病抗性及其杂种优势

Table 3 The resistance of transgenic hybrid rice to sheath blight and their heterosis

杂交组合 Combination	病秆率 DSR	病级 DD	病情指数 DI	组合超低亲优势 HLP (%)			组合竞争优势 HC (%)		
				病秆率 DR	病级 DD	病情指数 DI	病秆率 DSR	病级 DD	病情指数 DI
S319 × E103	54.67	0.85	9.40	23.24	71.66	67.86	-37.75	-79.76	-78.36
S135 × E103	48.07	0.75	8.30	8.36	51.42	48.21	-45.27*	-82.15*	-80.89*
N53 × E196-4	46.63	0.55	6.10	-4.58	-16.67*	-15.28*	-46.91*	-86.87*	-85.96*
Hai3-3 × E196-4	41.56	0.60	6.64	-14.96*	-9.55	-7.78	-52.68*	-85.75*	-84.71*
N120 × E196-4	47.79	0.71	7.87	-2.21	7.73	9.31	-45.59*	-83.03*	-81.88*
S35 × Qima39	85.10	3.70	41.03	17.61	52.26	107.33*	-3.11	-11.69	-5.55
S163 × Qima39	60.67	2.06	18.40	-16.16*	-15.23*	-7.02	-30.92	-50.84	-57.64
S293 × Qima39	74.18	2.45	24.44	2.52	0.82	23.49	-15.54	-41.53	-43.74
S313 × Pin7-2	81.38	1.72	19.10	120.72*	234.17*	235.68*	-7.34	-58.93	-56.03
S156 × Pin7-2	85.34	1.57	17.36	131.46*	205.63*	205.10*	-2.84	-62.43	-60.04
S163 × Z12-1	40.72	0.43	4.69	17.69	18.61	17.84	-53.64*	-89.81*	-89.21*
S313 × Z12-1	36.56	0.40	4.42	5.66	10.28	11.06	-58.37*	-90.53*	-89.83*
Hai3S × E126	56.25	0.60	6.60	76.55	42.32	40.72	-35.96	-85.63*	-84.81*
S308 × E126	60.19	0.70	7.72	88.92*	64.78	64.61	-31.47	-83.37*	-82.23*
HG76S × E126	33.25	0.44	4.92	4.36	4.49	4.90	-62.14*	-89.45*	-88.67*
N28 × E151-1	70.86	1.80	20.04	115.77*	212.72*	212.64*	-19.32	-57.16	-53.87
GD1 × E151-1	48.10	0.83	9.20	46.47	44.72	43.53	-45.24*	-80.17*	-78.82
N2 × E151-1	38.97	0.95	10.50	18.67	64.63	63.81	-55.63*	-77.45	-75.83
S313 × S292-1	19.18	0.28	3.13	-41.00*	-54.17*	-55.67*	-78.16*	-93.44*	-92.79*
S214 × S292-1	23.53	0.40	4.73	-27.62*	-33.33*	-33.00*	-73.21*	-90.45*	-89.11*
S313 × S292-2	86.06	3.92	43.46	165.62*	415.79*	402.43*	-2.02	-6.44	0.05
S214 × S292-2	26.53	0.56	6.26	-18.12*	-26.32*	-27.63*	-69.79*	-86.63*	-85.59*
S156 × Z3-1	49.17	0.68	7.59	-20.90*	-95.10*	-68.57*	-43.90*	-83.81*	-82.53*
PeiS × Z3-1	51.61	0.79	14.82	-17.00*	-94.30*	-38.63*	-41.24*	-81.19*	-65.88
N53 × E19-2	96.03	3.50	39.12	23.70	69.08	0.23	9.34	-16.67	-9.95
S306 × E19-2	98.61	4.60	50.79	27.03	122.22	30.13	12.27	9.52	16.92
GD1S × E19-2	92.50	3.50	38.83	19.15	69.08	-0.51	5.32	-16.67	-10.61
Hai3S × E12-2	98.00	5.91	64.33	134.52	-21.80*	71.22	11.58	40.71	48.09
PeiS × E12-2	100.00	6.36	65.97	23.70	69.08	0.23	13.86	51.43	51.86
Mean ± SE				35.01 ±	47.19 ±	50.79 ±	-31.23 ±	-57.60 ±	-55.09 ±
				10.83	19.94	18.68	5.21	7.67	7.94
变幅 Range				-100 ~	-100 ~	-100 ~	-100 ~	-100 ~	-100 ~
				106.62	410.89	371.00	-7.98	44.87	44.65
负向优势组合 PCPNH (%)				31.03	34.48	31.03	82.76	89.66	86.21

Note: HLP: Heterosis over low parent; HC: heterosis over control.

表 4 转基因杂交稻纹枯病抗性变异和遗传力

Table 4 Variation and heritability of resistance to sheath blight in transgenic hybrid rice combinations

抗性指标 Resistance indices	变异系数 Coefficient of variation (%)	组合方差 Variance of crosses	广义遗传率 Broad hereditary capacity (%)	与父本相关系数 Coefficient of correlation with father
病秆率 DSR	52.54	13.08*	57.30	0.5196*
病级 DD	109.52	30.74*	76.77	0.7836*
病情指数 DI	109.11	26.21*	73.70	0.8358*

“中大2号”及其杂交稻纹枯病抗性鉴定结果表明,“中大2号”的抗纹枯病性表现出显性或部分显性的遗传特征,以“中大2号”为父本的杂交稻的抗病性均较母本有显著提高且均低于“中大2号”,表现出一定的基因剂量效应^[12]。

本研究结果还表明,转基因杂交稻的抗病性普遍较转基因父本低,组合间有较大差异,且存在同一转基因父本与不同母本组合间抗性差异显著的现象。另外,转基因杂交水稻个别组合的抗病性显著超亲,由此可见杂交稻的抗病性仍然受到母本的影响。从表3看出,同一母本与不同的转基因水稻配组的杂交稻抗性差异极显著,母本对转基因杂交水稻抗病性的影响因不同组合而异,并没有呈现出明显的规律。目前,还不能肯定母本影响转基因杂交稻抗性是直接影响外源基因的表达,还是亲本间原有抗性基因互作的结果。根据杂交水稻个体之间存在较大的抗性差异,推测转基因杂交水稻的纹枯病抗性同时受微效抗性基因和包括外源基因在内的主效基因控制。因此,深入研究水稻遗传背景与外源抗真菌基因表达关系以及外源抗性基因与水稻原有抗病性的互作效应,对合理利用外源抗性基因,培育抗病水稻和转基因抗病水稻杂种优势利用有着重要的意义。

参 考 文 献(References)

- 1 许新萍, 张建中, 陈金婷, 等. 抗稻瘟病和纹枯病的转基因水稻新品系. 中山大学学报, 2001, 40(3): 131 - 132
- 2 冯道荣, 雷财林, 李宝健, 等. 获得抗稻瘟病和纹枯病的转多基因水稻. 作物学报, 2001, 27(3): 293 - 300
- 3 唐英正, 罗闰良, 龚绍文. 我国杂交水稻生产现状与发展对策. 作物研究, 1995, 9(3): 7 - 9
- 4 潘学彪, 陈宗祥, 徐敬友, 等. 不同接种调查方法对抗水稻纹枯病遗传研究的影响. 江苏农学院学报, 1997, 18(3): 27 - 32
- 5 万崇翠. 杂交水稻制种和栽培技术. 北京: 农业出版社, 1990, 11 - 13
- 6 朱军, 季道藩. 作物品种间杂种优势遗传分析的新方法. 遗传学报, 1993, 20(3): 262 - 271
- 7 南京农业大学(主编). 田间试验和统计方法(第二版). 北京: 农业出版社, 1987, 201 - 220
- 8 荣廷昭, 潘光堂, 黄玉碧. 数量遗传学. 北京: 中国科学技术出版社, 2003, 220 - 231
- 9 张长伟, 郑家奎, 蒋开锋, 等. 杂交水稻叶瘟抗性杂种优势的遗传分析. 植物病理学报, 2000, 30(1): 7 - 12
- 10 潘学彪, Rush M C. 两个水稻改良抗源对纹枯病抗性的遗传研究. 江苏农学院学报, 1997, 18(2): 1 - 6
- 11 华志华, 黄大年. 转基因植物中外源基因的遗传行为. 植物学报, 1999, 41(1): 1 - 5
- 12 袁红旭, 许新萍, 张建中, 等. 转几丁质酶基因(RC24)水稻中大2号抗纹枯病特性研究. 中国水稻科学, 2004, 18(1): 39 - 42