

水稻分子育种的研究进展

李文浩

浙江师范大学生命科学学院, 浙江 金华

收稿日期: 2024年4月26日; 录用日期: 2024年5月24日; 发布日期: 2024年5月31日

摘要

水稻是人类最重要的农作物之一, 全球约有一半的人口以水稻为主食。以水稻的产量、品质和抗逆性作为导向培育新的水稻品种是当前水稻育种的主要目标。传统育种的方法常常需要花费较长的时间才能获得相对稳定的遗传性状, 近年来, 随着分子生物学技术的飞速发展, 研究人员将分子标记辅助育种和转基因育种等方法应用到水稻的分子育种当中, 同时基因编辑技术的创新也为水稻分子育种提供了新的途径。

关键词

水稻, 分子育种, 基因编辑, 转基因

Research Progress in Molecular Breeding of Rice

Wenhao Li

College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua Zhejiang

Received: Apr. 26th, 2024; accepted: May 24th, 2024; published: May 31st, 2024

Abstract

Rice is one of the most important crops for mankind. About half of the world's population feed on rice as the staple food. The main purpose of current rice breeding is to cultivate new rice varieties based on the yield, quality and resistance of rice. Traditional breeding methods often take a long time to obtain relatively stable genetic traits. In recent years, with the rapid development of molecular biology technology, researchers have applied molecular marker-assisted breeding and transgenic breeding to molecular breeding of rice. Among them, the innovation of gene editing technology also provides a new way for rice molecular breeding.

文章引用: 李文浩. 水稻分子育种的研究进展[J]. 农业科学, 2024, 14(5): 607-613.

DOI: 10.12677/hjas.2024.145077

Keywords

Rice, Molecular Breeding, Gene Editing, Transgenic

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

水稻是世界上最重要的粮食作物之一，为全球数十亿人提供主要食物来源。并且许多发展中国家农村居民以种植水稻作为主要经济来源，因此培育高品质、高产量的水稻新品种刻不容缓。随着分子生物学的不断发展，水稻育种已从传统育种转变为以遗传学、生物技术为基础的分子育种。通过分子育种，可以更准确地选择和引入具有高产量、抗病虫害、适应性强、品质好等优良性状的基因。面对气候变化、病虫害的威胁，以及不断增长的人口需求，培育抗逆性更强的水稻品种至关重要。分子育种可以发掘和利用水稻中与抗逆性相关的基因，提高其抗旱、抗病、抗虫等能力，以确保生产稳定性和可持续性。传统育种方法需要耗费大量的时间和人力，而分子育种技术可以通过分子标记辅助选择(MAS)、基因编辑等方法，大大缩短育种周期。这样可以更快地推出新品种，以应对不断变化的环境和市场需求。传统育种方法常常需要大量的耕种和化学农药来维持作物的生长，这对环境造成了一定的负担。而分子育种可以培育出更适应环境、更抗病虫害的品种，从而减少对化学农药的依赖，降低环境污染。通过分子育种技术，可以对水稻的遗传资源进行更深入的挖掘和利用，从而为育种提供更广泛的遗传多样性。

2. 影响水稻品质的关键基因

2.1. 与产量相关的基因

单位面积里的穗数、穗粒数以及粒重是影响水稻产量最重要的三个因素。农业上重要的性状大部分受数量性状基因座(QTL)的调控。2005年 Ashikari 等人发表在 *Science* 上的论文揭示了一个通过控制谷粒数目来控制产量的基因 *Gn1a*, *Gn1a* 编码细胞分裂素氧化酶/脱氢酶(OsCKX2), OsCKX2 是一种降解植物激素细胞分裂素的酶。OsCKX2 合成减少导致细胞分裂素在花序分生组织中积累并增加生殖器官的数量，从而提高谷物的产量[1]。

2.2. 与光合作用相关的基因

光合作用是植物最重要的生理过程之一。水稻中淀粉的累积 80%来自光合作用。探究与水稻光合作用相关的基因进而提高水稻的光合生产力和光能利用率是当前研究热点之一[2]。玉米中含有三种高光效基因，其分别是 *PPDK*、*PEPC*、*NADP-ME*。在植物中，PPDK (丙酮酸磷酸双激酶)是 C4 途径和景天酸代谢途径的限速酶，并且在 PPDK 的催化下 ATP 和丙酮酸生成 PEP [3]。PPDK 主要存在于 C4 植物的叶绿体基质中，并且其在 C3 植物中的表达量相对较低，主要存在于 C3 植物的未成熟种子、叶片、胚芽鞘和根中。将玉米中特有的高光效基因导入水稻中并成功表达后，与野生型相比成功转入高光效基因的水稻的净光合速率、水分利用效率得到显著提高[4]。

2.3. 与抗性相关的基因

植物在长期的进化中形成了一套完整的防御机制。水稻所面临的生物胁迫主要包括稻瘟病、白叶枯

病等病害和稻飞虱等虫害。2014年由万建民团队发表在 *Nature Communications* 上的文章中报道了首个被克隆的水稻抗条纹叶枯病的基因 *STVII*，该基因主要对水稻条纹病毒表现出持久的抗性[5]。白叶枯病是由稻黄单胞菌导致的主要发生在水稻叶片和叶鞘上的病变，其主要表现为灰白色的病斑。*Xa13* 是影响白叶枯病侵染的主效基因，其编码的细胞膜蛋白有助于病原菌的侵染。因此在 *Xa13* 基因突变的水稻中表现出对白叶枯病的抗性[6]。同时，大量与水稻抗褐飞虱相关的基因也被鉴定出来。水稻抗褐飞虱相关基因 *Bph3* 是由 3 个编码质膜凝集素受体激酶的的紧密成簇排列的重复单位，含有该重复序列的水稻品种能够较为显著的增强对褐飞虱和白背飞虱的抗性[7]。

恶劣的生存环境，如干旱、高低温等也会对水稻的生长产生负面影响。林鸿宣团队 2015 年发表在 *Nature Genetics* 的文章介绍了一种水稻抗高温基因 *OsTT1*，其主要编码一个 26S 蛋白酶体亚基，在高温条件下，可以有效降解水稻细胞中积累的有毒变性蛋白。这些研究为作物抗逆性的分子育种提供了理论基础[8]。

3. 分子标记在水稻育种中的作用

分子标记和分子鉴定是水稻分子育种中的重要辅助工具。分子标记技术其优势有特异性高、使用便捷等[9]。分子标记技术主要应用在提高水稻产量、水稻品质以及水稻抗虫抗病等方面。

3.1. 分子标记技术在增加水稻产量上的运用

水稻的产量除了受环境因素的影响之外，还受多个基因的控制。基于分子标记的选择育种和转基因育种是水稻分子育种的主要内容。采用分子标记辅助育种技术，将野生稻中的高产 QTL 转入优良晚稻恢复系，进而增加了水稻的产量[10]。杨飞等人从“3000 份水稻核心种质重测序项目”共定位到与产量显著相关位点的 43 个，其中除去前人定位到的 7 个 QTL 以外，其余 36 个 QTL 是新定位到的位点[11]。

3.2. 分子标记技术在改良水稻品质上的运用

水稻的品质主要包括碾磨品质和外观品质等。厦门大学郑景生等应用香型分子标记辅助选择结合系谱法选育的新品种佳福香占在性状上表现优异[12]。据研究，水稻垩白是由单基因控制的，直链淀粉含量受一对主效基因控制，高直链淀粉对低直链淀粉受多基因控制，胶稠度是由单显性基因控制以及一对主效基因和若干微效基因控制，糊化温度由 1~2 个主基因或多基因控制[13]。李旭等人的研究表明：*GS5* 基因对 RILs 的粒宽具有显著影响，而代表籼型血缘引入的 *SI* 值对粒宽及垩白度均有显著影响；源于 *SI* 值对粒宽及垩白的显著影响，*SI* 值进一步影响了稻米加工质量，当 *SI* 值大于 40% 时，精米出现的概率显著降低[14]。籼粳稻杂交育种中，应通过回交减少籼型的引入频率，以保证整体较优的米质，并重视诸如 *GS5* 等有利基因的利用[15]。

3.3. 分子标记在水稻抗病上的应用

目前，已经发现了 30 多个抗稻瘟病基因，其中 20 多个基因已经被定位并有 2 个已被克隆(*Pi-b*, *Pi-ta*) [16]。Fukuoka 在日本早稻中发现了 1 个隐性抗稻瘟病基因 *Pi-2I* 并将其定位于 4 号染色体 2 个 RFLP 标记 G271 和 G317 之间，遗传图距分别为 5.0 cm 和 8.5 cm [17]。陈志伟等利用已公布的水稻基因组序列信息在已定位的 *Pi-2(t)* 附近找到了 1 个新的 SSR 标记 SRM24。它与 *Pi-2(t)* 间的距离大约只有 43 kb。并利用该标记成功地将该基因导入雄性不育保持系珍汕 97B 中获得了一批携带 *Pi-2(t)* 的珍汕 97B 近等基因系。

4. 转基因在水稻分子育种中的应用

转基因育种技术是利用植物基因工程技术将作物高产、抗逆等优质基因转入受体作物中以培育出

具有特定优良性状的新品种。由于优异基因可来源于任意物种，因此转基因育种可以打破种间隔离以解决物种间远缘杂交不亲和问题。目前水稻转基因育种使用的转基因方法主要包括：农杆菌介导法、基因枪法、PEG 介导法、电击导入法，其中以农杆菌介导法占主要地位[18]。

转基因技术在水稻抗虫中的应用

利用转基因技术可将编码苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白的外源基因 *Bt* 转入水稻中。同样可使用转基因的方法将昆虫蛋白酶抑制剂(*PI* 基因)和植物凝集素基因、营养杀虫蛋白基因、淀粉酶抑制剂基因、昆虫毒素基因、几丁质酶等基因转入水稻中，使得水稻获得相应的抗性[19]。

目前，水稻通过转基因技术育种虽然已经取得一些进展，但大多数通过转基因获得的新品种仍处于实验阶段。虽然已有部分通过转基因技术获得的农作物上市但是转基因食品的安全问题仍存在争议，这在一定程度上阻碍了转基因水稻育种的发展[20]。

5. 基因编辑技术在水稻分子育种中的应用

基因编辑技术是利用经过基因工程改造的核酸酶诱导 DNA 双链断裂实现对基因组插入、缺失或替换等精准修饰。

5.1. 基因编辑技术的种类

基因编辑技术主要有锌指核酸酶(ZFN)、转录激活样效应因子核酸酶(TALEN)和 CRISPR 系统等。锌指结构是很早就被科学家们发现的一类能与 DNA 互作的蛋白结构基元。ZFN 由锌指蛋白构成的 DNA 识别域和 Fok I 蛋白构成的切割域组成，它可以打断靶位点的染色体 DNA。ZFN 根据其组成锌指蛋白基元的种类及排列方式的不同来识别各种 DNA 序列[21]，其编辑效率受核酸酶的 DNA 亲和力影响。TAL 效应因子最初是在黄单胞菌分泌的效应蛋白中被发现的，该病原体的效应蛋白成功感染植物细胞质后，通过靶定效应因子特异性的基因启动子来调节转录，从而影响植物的代谢过程，使其对病原体变得更加敏感。科研人员利用 TALE 具有序列特异性结合的特点将 Fok I 核酸内切酶与一段人造的 TALE 连接起来，形成一类兼具 TALE 和 Fok I 内切酶特性的强大工具，称为 TALEN。

1987 年，CRISPR 基因座首次被鉴定为一组 29bp 的串联重复序列，在大肠埃希菌中以 32bp 的 DNA 序列间隔排列[22]。后来，Mojica 等发现，细菌、古细菌及同源性较高的原核生物中均具有结构相似且高度保守的重复序列[23]。CRISPR/Cas9 技术是近年应用较广的基因编辑技术，对靶基因进行特异性修饰只需通过一个 gRNA 和一个 Cas9 蛋白[24]，具有成本低、制作简便、快速高效等特点。

5.2. 基因编辑技术的应用

与其他的基因编辑技术相比，CRISPR/Cas9 基因编辑系统具有效率高、操作简单等优势[25]，该技术在水稻基因编辑中得到一定应用。

目前，已经成功利用 CRISPR/Cas9 技术对水稻多个基因进行编辑。如对水稻直链淀粉合成基因 *Wx* 进行编辑，获得稳定遗传、直链淀粉含量适宜的突变体[26]。邵高能等利用 CRISPR/Cas9 技术编辑香味基因 *Badh2*，突变体中散发香味的物质 2-乙酰-1-吡咯啉的含量显著增加[27]；Shan 等定点突变叶绿素合成基因 *CAOI*，突变体叶片呈淡绿色[28]。使用基因编辑技术对水稻品种进行改良相对于传统育种方法来说，具有快捷、简便等特点，基因编辑技术对水稻分子育种具有重要意义。

6. 分子育种的步骤

6.1. 目标选择和性状鉴定

首先，确定育种的目标，包括提高产量、改善品质、增加抗性等。并对目标性状进行鉴定和评价，

确定需要改良的性状以及优良的遗传资源。

6.2. 遗传资源收集和筛选

收集具有目标性状的遗传资源，包括野生种、种质资源库中的种质等。并对遗传资源进行筛选和鉴定，选择具有目标基因型的优良种质。

6.3. 分子标记筛选

使用分子标记技术对目标基因型进行筛选，如单核苷酸多态性(SNP)标记、简单序列重复(SSR)标记等，进行关联分析，确定与目标性状相关的分子标记。

6.4. 构建分子图谱

通过分子标记对目标遗传资源进行遗传图谱构建，确定分子标记与目标性状的关联，构建高密度的遗传连锁图谱，用于进一步的分子育种分析。

6.5. 分子标记辅助选择(MAS)

利用已建立的分子图谱和分子标记进行分子标记辅助选择。选择具有目标性状和目标基因型的个体作为育种材料，以加速育种进程。

6.6. 基因定位和克隆

对与目标性状关联的分子标记进行进一步的分子遗传学分析，以确定目标基因的位置。利用分子克隆技术对目标基因进行克隆和功能验证。

6.7. 功能验证和转基因

对克隆得到的候选基因进行功能验证，确认其与目标性状的关联。如果需要，可以利用转基因技术将候选基因导入到其他品种中进行验证和改良。

6.8. 育种材料选育和培育

结合分子标记辅助选择和功能验证结果，选育具有目标性状的优良育种材料。并进行育种材料的后代选择和培育，确保目标性状的稳定遗传。

6.9. 田间试验和推广

在田间进行育种材料的试验种植，评估其在不同环境条件下的性状和适应性。将优良的育种材料进行推广，以实现分子育种成果的应用和产业化。

7. 小结与展望

随着人们对稻米品种食味要求的提高，水稻分子育种也应当重视水稻品质育种。水稻分子育种与杂交水稻育种相结合的育种方式，已成为新的趋势。近几年，以TALENs和CRISPR/Cas9系统为代表的基因组定点编辑技术迅速发展，已成功运用于水稻基因的定点编辑。未来基因组定点编辑及其衍生技术，结合水稻转基因技术及分子标记辅助，可以加快水稻功能基因组学以及分子育种的研究步伐，为进一步实现水稻从传统育种向高效、精确、定向的水稻分子设计育种转变注入新的活力。

参考文献

- [1] Motoyuki, A., Hitoshi, S., Shaoyang, L., *et al.* (2015) Cytokinin Oxidase Regulates Rice Grain Production. *Science*,

- 309, 741-745. <https://doi.org/10.1126/science.1113373>
- [2] 李娜. 一个水稻光合作用相关基因 C6635 的克隆与功能分析[D]: [硕士学位论文]. 成都: 四川农业大学, 2018.
- [3] 王重, 张跃强, 樊哲儒, 等. 玉米高光效基因 *ppdk* 的克隆及其生物信息学分析[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(12): 2354-2360.
- [4] 张以华. 玉米 *ppdk* 转化籼稻及其对光合特性影响的研究[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- [5] Wang, Q., Liu, Y., He, J., *et al.* (2014) *STV11* Encodes a Sulphotransferase and Confers Durable Resistance to Rice Stripe Virus. *Nature Communications*, **5**, Article No. 4768. <https://doi.org/10.1038/ncomms5768>
- [6] Antony, G., Zhou, J., Huang, S., *et al.* (2010) Rice *xa13* Recessive Resistance to Bacterial Blight Is Defeated by Induction of the Disease Susceptibility Gene *Os-11N3*. *The Plant Cell*, **22**, 3864-3876. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.078964>
- [7] 刘梦煜, 杨金莲, 李容柏. 分子标记辅助选择培育抗褐飞虱基因 *Bph3* 导入系[J]. 农村经济与科技, 2021, 32(5): 68-70.
- [8] Li, X.M., Chao, D.Y., Wu, Y., *et al.* (2015) Natural Alleles of a Proteasome $\alpha 2$ Subunit Gene Contribute to Thermotolerance and Adaptation of African Rice. *Nature Genetics*, **47**, 827-833. <https://doi.org/10.1038/ng.3305>
- [9] 王建波. ISSR 分子标记及其在植物遗传学研究中的应用[J]. 遗传, 2002, 24(5): 613-616.
- [10] 杨益善. 野生稻高产 QTL 导入晚稻恢复系的育种效果及其增产的生理和分子基础[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 2005.
- [11] 杨飞, 张征锋, 南波, 肖本泽. 水稻产量相关性状的全基因组关联分析及候选基因筛选[J]. 作物学报, 2022, 48(7): 1813-1821.
- [12] 郑景生, 江良荣, 黄荣裕, 王侯聪, 黄育民. 应用香型分子标记辅助选育优质香稻新品种佳福香占[J]. 福建稻麦科技, 2021, 39(2): 7-10.
- [13] 李广贤, 姜明松, 姚方印, 宫德英, 袁守江, 陈峰, 侯恒军. 稻米直链淀粉含量遗传及相关基因的研究进展[J]. 山东农业科学, 2008(6): 41-45.
- [14] Li, Y., Fan, C., Xing, Y., *et al.* (2011) Natural Variation in *GS5* Plays an Important Role in Regulating Grain Size and Yield in Rice. *Nature Genetics*, **43**, 1266-1269. <https://doi.org/10.1038/ng.977>
- [15] 武立安. 环境和遗传因素对籼粳稻杂交后代粒形的影响[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
- [16] 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[J]. 分子植物育种, 2004, 2(3): 321-325.
- [17] Fukuoka, S. and Okuno, K. (2001) QTL Analysis and Mapping of *Pi21*, a Recessive Gene for Field Resistance to Rice Blast in Japanese Upland Rice. *Theoretical and Applied Genetics*, **103**, 185-190. <https://doi.org/10.1007/s001220100611>
- [18] 马忠强, 尹航. 转基因技术在作物育种中的应用[J]. 现代化农业, 2009(10): 25-26.
- [19] 于志晶, 张文娟, 李淑芳, 等. 水稻抗虫转基因研究进展[J]. 东北农业科学, 2010, 35(6): 16-20.
- [20] 马丽莲, 郭龙彪, 钱前. 转基因水稻安全性评价的内容[J]. 中国稻米, 2004(5): 48-49.
- [21] Bilichak, A., Sastry-Dent, L., Sriram, S., *et al.* (2020) Genome Editing in Wheat Microspores and Haploid Embryos Mediated by Delivery of ZFN Proteins and Cell-Penetrating Peptide Complexes. *Plant Biotechnology Journal*, **18**, 1307-1316. <https://doi.org/10.1111/pbi.13296>
- [22] Ishino, Y., Shinagawa, H., Makino, K., *et al.* (1987) Nucleotide Sequence of the *Iap* Gene, Responsible for Alkaline Phosphatase Isozyme Conversion in *Escherichia Coli*, and Identification of the Gene Product. *Journal of Bacteriology*, **169**, 5429-5433. <https://doi.org/10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987>
- [23] Mojica, F.J.M., Diez-Villasenor, C., Soria, E., *et al.* (2000) Biological Significance of a Family of Regularly Spaced Repeats in the Genomes of Archaea, Bacteria and Mitochondria. *Molecular Microbiology*, **36**, 244-246. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01838.x>
- [24] Mussolino, C. and Cathomen, T. (2013) RNA Guides Genome Engineering. *Nature Biotechnology*, **31**, 208-209. <https://doi.org/10.1038/nbt.2527>
- [25] 沈明晨, 薛超, 乔中英, 等. CRISPR/Cas9 系统在水稻中的发展和利用[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(10): 5-10.
- [26] 汪秉琨, 张慧, 洪汝科, 等. CRISPR/Cas9 系统编辑水稻 *Wx* 基因[J]. 中国水稻科学, 2018, 32(1): 35-42.
- [27] 邵高能, 谢黎虹, 焦桂爱, 等. 利用 CRISPR/CAS9 技术编辑水稻香味基因 *Badh2* [J]. 中国水稻科学, 2017, 31(2):

216-222.

- [28] Shan, Q., Wang, Y., Li, J., *et al.* (2014) Genome Editing in Rice and Wheat Using the CRISPR/Cas System. *Nature Protocols*, **9**, 2395-2410. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.157>