



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110463599 A

(43)申请公布日 2019.11.19

(21)申请号 201910799141.7

(22)申请日 2019.08.27

(71)申请人 安徽省农业科学院水稻研究所

地址 230031 安徽省合肥市农科南路40号

(72)发明人 从夕汉 罗志祥 施伏芝 阮新民

罗玉祥 吕孝财 滕斌

(74)专利代理机构 北京市京大律师事务所

11321

代理人 李洪群

(51) Int. Cl.

A01H 1/02(2006.01)

A01H 1/04(2006.01)

权利要求书2页 说明书8页

序列表1页 附图3页

(54)发明名称

一种直播稻选育方法

(57)摘要

本发明公开了一种直播稻选育方法,属于杂交水稻选育领域。本发明提供的直播稻选育方法,包括选育早熟、小粒的两系不育系母本以及早熟、抗倒伏、抗病的恢复系父本,将不育系母本与恢复系测交,选育出早熟、抗倒伏、抗病及小粒的适宜直播的杂交稻。利用本方法选育出的直播稻,可缩短杂交稻的生育期,提高抗倒性和抗病性,减少播种用种量,可有效缓解劳动力紧缺,节约生产成本,实现水稻增产和稳产。

1. 一种直播稻选育方法,其特征在于,包括以下步骤:

- A. 选育早熟、小粒两系不育系;
- B. 选育早熟、抗倒伏、抗病恢复系;
- C. 以步骤A的不育系为母本,与步骤B的恢复系测交,获得杂交种F<sub>1</sub>;
- D. 种植杂交种F<sub>1</sub>,选择农艺性状优良的杂交水稻组合,即得;

其中,所述两系不育系为水稻光温敏核不育系,其在短日低温条件下表现为雄性可育,在长日高温条件下表现为雄性不育。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤A选育早熟、小粒两系不育系的方法包括:

A1. 以小粒两系不育系为母本,与早熟两系不育系进行杂交获得F<sub>1</sub>代,然后以所述小粒两系不育系为轮回亲本回交3代获得BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>代;

A2. 将BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>代进行多代自交,获得早熟、小粒的稳定株系,进行不育系育性鉴定,即得。

3. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于,步骤A2包括以下子步骤:

A2a. 在长日高温条件下种植BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>代,抽穗期选择早熟、小粒、不育且农艺性状优良的单株,进行割茬移栽,成熟期收获种子;

A2b. 同年,在短日低温条件下种植步骤A2a收获的种子,抽穗期选择早熟、小粒且农艺性状优良的单株,成熟期收获种子;

A2c. 次年,在长日高温条件下种植步骤A2b收获的种子,抽穗期选择早熟、小粒、不育且农艺性状优良的单株,进行割茬移栽,成熟期收获种子;

A2d. 重复步骤A2b和A2c,直至获得性状稳定的株系,即得。

4. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,所述长日高温条件为合肥的5月上旬,所述短日低温条件为三亚的11月上旬。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤B选育早熟、抗倒伏、抗病恢复系的方法包括:

B1. 选育早熟、粗矮秆株系;

B2. 选育早熟、抗病株系;

B3. 以早熟、粗矮秆株系为母本,早熟、抗病株系为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>,再自交成F<sub>2</sub>代分离群体,利用分子标记检测技术,筛选出早熟、粗矮秆、抗病纯合单株,连续自交多代,直至获得性状稳定的早熟、抗倒伏、抗病的单株,即得;

其中,分子标记检测技术用来鉴定植株是否携带抗病基因;

优选地,所述抗病基因为抗稻瘟病基因Pi2。

6. 根据权利要求5所述的方法,其特征在于,用于分子标记检测的引物序列如SEQ ID NO:1-2所示。

7. 根据权利要求5所述的方法,其特征在于,步骤B1选育早熟、粗矮秆株系的方法包括:

B1a. 以早熟恢复系为母本,粗矮秆恢复系为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>'代并自交,获得F<sub>2</sub>'代分离群体;

B1b. 种植F<sub>2</sub>'代分离群体,选择早熟、粗矮秆恢复系单株,连续自交多代,直至获得性状稳定,农艺性状优良的早熟、粗矮秆株系。

8. 根据权利要求5所述的方法,其特征在于,步骤B2选育早熟、抗病株系的方法包括:

B2a. 以早熟恢复系为母本,抗病恢复系为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>代,再以早熟恢复系为轮回亲本回交2~3代后自交,成熟期收获种子,获得BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代,利用分子标记检测技术,确保抗病基因转入BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代;

B2b. 种植BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代,利用分子标记检测技术,筛选出早熟、抗病且农艺性状优良的杂合或纯合单株BC<sub>2~3</sub>F<sub>3</sub>代;

B2c. 种植BC<sub>2~3</sub>F<sub>3</sub>代,继续利用分子标记检测技术,筛选出早熟、抗病且农艺性状优良的纯合单株,连续自交多代,直至获得性状稳定,农艺性状优良的早熟、抗病株系;

优选地,所述早熟恢复系采用权利要求7所述的早熟恢复系。

9. 根据权利要求2-8任一项所述的方法,其特征在于,所述小粒两系不育系为e-WP7S;所述早熟两系不育系为e-191S;所述早熟恢复系为e-4P197;所述粗矮秆恢复系为e-SY;所述抗病恢复系为3M178。

10. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,步骤A选育出的早熟、小粒两系不育系为WP191S;步骤B选育出的早熟、抗倒伏、抗病恢复系为R1~R24,优选R19。

## 一种直播稻选育方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于杂交水稻选育领域,具体地说,涉及一种直播稻选育方法。

### 背景技术

[0002] 水稻是世界上最重要的粮食作物之一,世界上约一半以上的人口以稻米为主食。三系杂交水稻的成功选育和推广,是中国继sd1矮秆育种后水稻育种的第二次重大突破。自从晚粳品种农垦58中选育出光敏感不育系后,杂交水稻研究与利用进入三系与两系并存的阶段。因具有一系两用、恢复源广、配组自由、米质较好等优点,两系杂交水稻得到快速推广和应用并逐渐占据主导地位。

[0003] 随着经济的快速发展,大量农村青壮年到城镇务工,农村劳动力不足。因此,土地逐渐被流转,规模化种植大户不断增加。常规移栽稻的育秧、拔秧和插秧等工序需要大量的劳动力,且劳动强度大。直播稻是一种水稻栽培方式,是指在水稻栽培过程中省去育秧和移栽作业,在本田里直接播上谷种来栽培水稻。直播稻因省去了育秧、移栽等繁琐的田间步骤,降低了劳动强度,有效降低对农村劳动力的依赖程度。此外,农村用工难以及用工成本逐年升高导致种植户选择水稻直播的方式,极大减少了繁琐的工序,降低了生产成本。

[0004] 水稻利用育秧移栽的方式一般可在秧田期重叠利用30天左右生长期,而水稻产区一般都是多熟制地区,以小麦茬直播稻为例,如果水稻品种迟熟迟收,将会影响小麦适期播种而产量降低。直播稻分蘖节位低,群体基数较大,水稻中期群体偏大,苗体素质变差,且根系分布较浅,稻株抗倒性较差。此外,目前直播稻稻种分为常规稻和杂交稻,而杂交稻稻种价格较高,稻种费用也是种植户生产成本的重要部分,因此降低单位稻田稻种用量也是降低生产成本的有效方式之一。

[0005] 因此,选育早熟、抗倒、抗病、小粒的适宜直播水稻品种可有效缓解农村劳动力紧缺,降低劳动力成本,实现水稻增产和稳产。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种直播稻选育方法,该方法通过选育早熟、小粒的杂交稻两系不育系母本以及早熟、抗病、抗倒的恢复系父本,将不育系母本与恢复系测交,选育出早熟、抗倒伏、抗病及小粒的适宜直播的杂交稻,可缩短杂交稻的生育期,提高抗倒性和抗病性,减少播种用种量,节约生产成本。

[0007] 为了实现本发明目的,本发明提供一种直播稻选育方法,包括以下步骤:

[0008] A. 选育早熟、小粒两系不育系;

[0009] B. 选育早熟、抗倒伏、抗病恢复系;

[0010] C. 以步骤A的不育系为母本,与步骤B的恢复系测交,获得杂交种F<sub>1</sub>;

[0011] D. 种植杂交种F<sub>1</sub>,选择农艺性状优良的杂交水稻组合,即得;

[0012] 其中,所述两系不育系为水稻光温敏核不育系,其在短日低温条件下表现为雄性可育,在长日高温条件下表现为雄性不育。

[0013] 步骤A选育早熟、小粒两系不育系的方法包括：

[0014] A1. 以小粒两系不育系为母本，与早熟两系不育系进行杂交获得 $F_1$ 代，然后以所述小粒两系不育系为轮回亲本回交3代获得 $BC_3F_1$ 代；

[0015] A2. 将 $BC_3F_1$ 代进行多代自交，获得早熟、小粒的稳定株系，进行不育系育性鉴定，即得。

[0016] 步骤A2包括以下子步骤：

[0017] A2a. 在长日高温条件下种植 $BC_3F_1$ 代，抽穗期选择早熟、小粒、不育且农艺性状优良的单株，进行割茬移栽，成熟期收获种子；

[0018] A2b. 同年，在短日低温条件下种植步骤A2a收获的种子，抽穗期选择早熟、小粒且农艺性状优良的单株，成熟期收获种子；

[0019] A2c. 次年，在长日高温条件下种植步骤A2b收获的种子，抽穗期选择早熟、小粒、不育且农艺性状优良的单株，进行割茬移栽，成熟期收获种子；

[0020] A2d. 重复步骤A2b和A2c，直至获得性状稳定的株系，即得。

[0021] 所述长日高温条件为合肥的5月上旬，所述短日低温条件为三亚的11月上旬。

[0022] 步骤B选育早熟、抗倒伏、抗病恢复系的方法包括：

[0023] B1. 选育早熟、粗矮秆株系；

[0024] B2. 选育早熟、抗病株系；

[0025] B3. 以早熟、粗矮秆株系为母本，早熟、抗病株系为父本进行杂交，获得 $F_1$ ，再自交成 $F_2$ 代分离群体，利用分子标记检测技术，筛选出早熟、粗矮秆、抗病纯合单株，连续自交多代，直至获得性状稳定的早熟、抗倒伏、抗病的单株，即得。

[0026] 其中，分子标记检测技术主要用来鉴定植株是否携带抗病基因。

[0027] 优选地，所述抗病基因为抗稻瘟病基因Pi2。

[0028] 更优选地，用于分子标记检测的引物序列如SEQ ID NO:1-2所示。携有纯合Pi2基因的单株仅扩增出一条143bp的条带；不携有Pi2基因的单株仅扩增出一条155bp的条带；携有Pi2基因的杂合单株能扩增出143bp和155bp两条特征条带(图3)。

[0029] 步骤B1选育早熟、粗矮秆株系的方法包括：

[0030] B1a. 以早熟恢复系为母本，粗矮秆恢复系为父本进行杂交，获得 $F_1'$ 代并自交，获得 $F_2'$ 代分离群体；

[0031] B1b. 种植 $F_2'$ 代分离群体，选择早熟、粗矮秆恢复系单株，连续自交多代，直至获得性状稳定，农艺性状优良的早熟、粗矮秆株系。

[0032] 步骤B2选育早熟、抗病株系的方法包括：

[0033] B2a. 以早熟恢复系为母本，抗病恢复系为父本进行杂交，获得 $F_1''$ 代，再以早熟恢复系为轮回亲本回交2~3代后自交，成熟期收获种子，获得 $BC_{2-3}F_2$ 代，利用分子标记检测技术，确保抗病基因转入 $BC_{2-3}F_2$ 代；

[0034] B2b. 种植 $BC_{2-3}F_2$ 代，利用分子标记检测技术，筛选出早熟、抗病且农艺性状优良的杂合或纯合单株 $BC_{2-3}F_3$ 代；

[0035] B2c. 种植 $BC_{2-3}F_3$ 代，继续利用分子标记检测技术，筛选出早熟、抗病且农艺性状优良的纯合单株，连续自交多代，直至获得性状稳定，农艺性状优良的早熟、抗病株系。

[0036] 优选地，步骤B2a所述的早熟恢复系采用与步骤B1a相同的早熟恢复系。

[0037] 更优选地,所述小粒两系不育系为e-WP7S;所述早熟两系不育系为e-191S;所述早熟恢复系为e-4P197;所述粗矮秆恢复系为e-SY;所述抗病恢复系为3M178。

[0038] 前述的方法,步骤A选育出的早熟、小粒两系不育系为WP191S。

[0039] 前述的方法,步骤B选育出的早熟、抗倒伏、抗病恢复系为R1~R24,优选R19。

[0040] 本发明还提供利用上述直播稻选育方法获得的水稻品系。所述水稻品系可用于: 1) 水稻育种;2) 水稻品种改良。

[0041] 本发明选育的直播稻具有以下优点:

[0042] (一) 水稻利用育秧移栽的方式可在秧田期重叠利用30天左右的生长期,而在同一地区的直播稻必须选用熟期要早品种,本发明选育直播稻的父本和母本都是早熟亲本,确保了直播稻的早熟特性。

[0043] (二) 一般直播稻分蘖节位低、群体基数较大,水稻中期群体偏大、苗体素质变差、且根系分布较浅、稻株抗倒性较差,而本发明选育的直播稻具有茎秆粗壮、株高矮的特点,因此具有很好的抗倒性,保证了稳产。

[0044] (三) 利用分子标记技术,将广谱抗稻瘟病基因导入本发明的直播稻品种中,显著提高了其抗性,进一步保证了稳产。

[0045] (四) 本发明以小粒两系不育系为母本选育的直播稻,由于直播稻种子千粒重较小,显著减少了每亩直播稻稻种用量,降低了生产成本。

[0046] (五) 本发明直播稻母本为小粒两系不育系,而直播稻的父本为正常粒型,因此,在制种时,无需在授粉后将父本割掉,可以在成熟期直接混收杂交种和父本,通过筛选机直接将父本剔除,实现了机械化操作,极大地减少了人力投入,提高制种产量和效率,节约生产成本。

## 附图说明

[0047] 图1为本发明较佳实施例早熟、小粒两系不育系选育流程图。

[0048] 图2为本发明较佳实施例早熟、抗倒伏、抗病恢复系选育流程图。

[0049] 图3为本发明较佳实施例抗稻瘟病基因特异性标记的扩增结果;其中,M:100bp DNA Ladder;3M178:抗稻瘟病材料;9311:稻瘟病敏感材料;1~2:稻瘟病敏感单株;3~7,9~11:抗稻瘟病单株。

## 具体实施方式

[0050] 本发明提供一种直播稻选育方法,包括以下步骤:(A)选育早熟、小粒不育系;(B)选育早熟、抗倒伏、抗病恢复系;(C)以步骤(A)的不育系为母本,与步骤(B)的恢复系测交,获得杂交种F<sub>1</sub>代;(D)种植F<sub>1</sub>代,选择农艺性状优良的杂交组合,即得。

[0051] 对测交F<sub>1</sub>进行种植(>12株),成熟期田间,选择产量等农艺性状较好杂交组合,进行考种,对产量等综合性状表现优良杂交组合进行米质分析,初步确定中选组合。对初步中选的杂交组合,制足够数量的杂交种,并进行小区种植(1厘地或2厘地),成熟期时,记录小区倒伏、熟相等情况,并再次进行小区考种和测产,选择产量等综合性状优良的杂交组合。然后在多个生态点对中选组合扩大面积种植,最终选择产量等农艺性状优良的杂交组合,即为早熟、抗倒、抗病、小粒的适宜直播杂交水稻新组合。

[0052] 其中,步骤(A)所述选育早熟、小粒不育系,主要包括:

[0053] (a)以小粒两系不育系为母本,与早熟两系不育系进行杂交获得F<sub>1</sub>,然后以所述小粒两系不育系为轮回亲本回交3代获得BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>种子;(b)将BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>代进行多代自交,获得早熟、小粒的稳定株系,进行不育系育性鉴定,即得;

[0054] 其中,步骤(b)将BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>代进行多代自交,获得早熟、抗病的稳定的株系,包括:

[0055] (I)在长日、高温条件下种植BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>代,抽穗期选择早熟、小粒、不育且性状优良的单株,进行割茬移栽,成熟期收获再生水稻种子;

[0056] (II)同年,在短日、低温条件下种植步骤(I)收获的种子,抽穗期选择早熟、小粒且性状优良的单株,成熟期收获种子;

[0057] (III)次年,在长日、高温条件下种植步骤(II)收获的种子,抽穗期选择早熟、小粒、不育且性状优良的单株,进行割茬移栽,成熟期收获再生水稻种子;

[0058] (IV)重复步骤(II)和步骤(III),直至获得性状稳定的株系,即得。

[0059] 其中,步骤(I)所述的长日、高温条件为合肥的5月上旬;步骤(II)所述的短日、低温条件为三亚的11月上旬;所述育性鉴定按照行业标准(NY/T1215-2006)进行。

[0060] 本发明直播稻选育方法的步骤(B)选育早熟、抗倒伏、抗病恢复系,包括:(a)选育早熟、粗矮秆株系;(b)选育早熟、抗病株系;(c)以早熟、粗矮秆株系为母本,早熟、抗病株系为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>,再自交成F<sub>2</sub>初级分离群体,利用分子标记SSR1跟踪检测,选择早熟、粗矮秆、抗病纯合单株,不断自交,直至获得性状稳定的早熟、抗倒伏、抗病的单株,即得。

[0061] 其中,步骤(a)所述早熟、粗矮秆株系选育包括:

[0062] (I)以早熟恢复系为母本,粗矮秆恢复系为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>代并自交,获得F<sub>2</sub>分离群体;

[0063] (II)种植F<sub>2</sub>分离群体,选择早熟、粗矮秆恢复系单株,连续自交多代,直至获得性状稳定,农艺性状优良的早熟、粗矮秆株系。

[0064] 其中,步骤(b)所述早熟、抗病株系选育包括:

[0065] (I)以早熟恢复系为母本,抗病恢复系为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>代,再以早熟恢复系为轮回亲本回交2~3代后自交,成熟期收获种子,获得BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代,期间利用分子标记SSR1进行跟踪检测,确保抗病基因转入BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代;

[0066] (II)种植BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代,利用分子标记SSR1检测,成熟期收获早熟、抗病且性状优良的杂合或纯合单株种子BC<sub>2~3</sub>F<sub>3</sub>;

[0067] (III)种植BC<sub>2~3</sub>F<sub>3</sub>,继续利用分子标记SSR1检测,成熟期收获早熟、抗病且性状优良纯合单株。连续自交多代,直至获得性状稳定,农艺性状优良的早熟、抗病株系。

[0068] 本发明所述性状优良包括高产、优质、抗病、抗逆、抗倒伏及广适等性状。

[0069] 本发明所述性状稳定是指某一株系种植后,后代不发生性状分离现象。

[0070] 所述小粒两系不育系包括:小粒两系不育系e-WP7S;所述早熟两系不育系包括:早熟两系不育系e-191S。本发明所述早熟恢复系包括:早熟恢复系e-4P197;所述粗矮秆恢复系包括:粗矮秆恢复系e-SY;所述抗病恢复系包括:抗病恢复系3M178。

[0071] 本发明所述的抗病是指抗稻瘟病,所述的抗病基因是抗稻瘟病基因Pi2,所述的分子标记检测是以水稻单株的基因组DNA为模板,利用如下引物进行PCR扩增分析,以跟踪目

标基因,引物序列如下(SEQ ID NO:1-2):

[0072] F:5'-GTGCATGAGTCCAGCTCAAA-3'

[0073] R:5'-GTGTACTCCCATGGCTGCTC-3'

[0074] 本发明对所述的早熟或小粒不育系和早熟或粗矮秆恢复系没有特殊限制,生产中只要符合以上特征的水稻不育系或恢复系均适用于本发明。

[0075] 本发明中涉及的术语:

[0076] 两系不育系:即水稻光温敏核不育系,其在短日低温条件下表现为雄性可育,可以繁殖种子;在长日高温条件下表现为雄性不育,可以用于制种。

[0077] 恢复系:是指某一品系与不育系杂交后可使子代恢复雄性可育特征。

[0078] 回交:指杂交种和两个亲本的任一个进行杂交的方法叫做回交。在遗传学研究中,常利用回交的方法来加强杂种个体的性状表现。

[0079] 自交:指来自同一个体的雌雄配子的结合或具有相同基因型个体间的交配或来自同一无性繁殖系的个体间的交配。

[0080] 测交:指以水稻不育系为母本,与不同的恢复系杂交,根据杂交F<sub>1</sub>优势强弱确定亲本的配合力。

[0081] 以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。若未特别指明,实施例中所用的技术手段为本领域技术人员所熟知的常规手段,所用原料均为市售商品。

[0082] 实施例1早熟、抗倒伏、抗病、小粒的直播稻选育

[0083] 1、早熟、小粒不育系的选育

[0084] (1)以诱变获得的小粒两系不育系e-WP7S[以0.55%的EMS对WP7S((广占63S×469S)/(Y58S×WP7))诱变获得的不育系,安徽省农业科学院水稻研究所选育,可购自安徽国瑞种业有限公司]为母本,早熟两系不育系e-191S[以0.55%的EMS对191S((广占63S×91S)/(1892S×粤禾丝苗))诱变获得的不育系,安徽省农业科学院水稻研究所选育,可购自安徽国瑞种业有限公司]为父本进行杂交获得F<sub>1</sub>,然后以所述小粒两系不育系e-WP7S为轮回亲本回交3代后,获得BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>代;

[0085] (2)5月初在合肥种植BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>种子,抽穗期对早熟、小粒、不育且性状优良单株进行镜检,并对镜检无花粉的单株进行割茬移栽,成熟期时收获单株种子。

[0086] (3)同年11月上旬在三亚,将步骤(2)收获的单株种子进行种植,抽穗期选择早熟、小粒、且性状优良单株,成熟期收获种子。

[0087] (4)次年5月初在合肥种植步骤(3)收获的种子,抽穗期对早熟、小粒、不育且性状优良单株进行镜检,并对镜检无花粉的单株进行割茬移栽,成熟期时收获单株种子。

[0088] (5)重复步骤(3)和(4),在合肥和三亚进行穿梭选育,直至获得不分离的农艺性状优良早熟、小粒两系不育系单株。

[0089] (6)对步骤(5)获得的稳定不育系进行繁殖,并于次年5月在合肥进行种植用于不育系育性鉴定,鉴定通过的株系命名为早熟、小粒两系不育系WP191S(水稻不育系WP191S)。

[0090] 早熟、小粒两系不育系的选育流程见图1。

[0091] 2、早熟、抗倒伏、抗病恢复系的选育

[0092] (1)以早熟恢复系e-4P197(以0.55%的EMS对4P197进行诱变,在诱变2代获得的早熟突变单株,安徽省农业科学院水稻研究所选育,可购自安徽国瑞种业有限公司)为母本,

粗矮秆恢复系e-SY(以0.55%的EMS对SY进行诱变,在诱变2代获得的粗矮秆突变单株,安徽省农业科学院水稻研究所选育,可购自安徽国瑞种业有限公司)为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>代并自交,获得F<sub>2</sub>分离群体A;

[0093] (2) 种植F<sub>2</sub>分离群体A,选择早熟、粗矮秆恢复系单株,连续自交多代,直至获得性状稳定,农艺性状优良的早熟、粗矮秆株系。

[0094] (3) 以早熟恢复系e-4P197(以0.55%的EMS对4P197进行诱变,在诱变2代获得的早熟突变单株,安徽省农业科学院水稻研究所选育,可购自安徽国瑞种业有限公司)为母本,抗病恢复系3M178(安徽省农业科学院水稻研究所选育,可购自安徽国瑞种业有限公司)为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>代并自交,再以早熟恢复系e-4P197为轮回亲本回交2~3代后自交,成熟期收获种子获得BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代,期间利用分子标记SSR1进行跟踪检测,确保抗病基因转入BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代;

[0095] (4) 种植BC<sub>2~3</sub>F<sub>2</sub>代,利用分子标记SSR1检测,成熟期收获早熟、抗病且性状优良的杂合或纯合单株种子BC<sub>2~3</sub>F<sub>3</sub>;

[0096] (5) 种植BC<sub>2~3</sub>F<sub>3</sub>代,继续利用分子标记SSR1检测,成熟期收获早熟、抗病且性状优良纯合单株。连续自交多代,直至获得性状稳定,农艺性状优良的早熟、抗病株系

[0097] (6) 以早熟、粗矮秆株系为母本,早熟、抗病株系为父本进行杂交,获得F<sub>1</sub>,再自交成F<sub>2</sub>代分离群体,利用分子标记SSR1检测,筛选出早熟、粗矮秆、抗病纯合单株,连续自交多代,直至获得性状稳定的早熟、抗倒伏、抗病的单株即为早熟、抗倒伏、抗病恢复系R1~R24(水稻恢复系R1~R24)。

[0098] 早熟、抗倒伏、抗病恢复系的选育流程见图2。

[0099] 水稻基因组DNA的提取方法:取200mg水稻叶片放于灭菌的2ml离心管中,用液氮研磨碎;加入700μl,65℃预热的2%CTAB缓冲液,上下充分混匀后,65℃水浴50min;加入等体积的氯仿-异戊醇(体积比24:1),上下充分混匀,静置5min。12000rpm,4℃离心15min;吸取600μl上清液至灭菌的1.5ml离心管中,加入等体积的异丙醇,上下充分混匀,12000rpm,4℃离心10min;倒掉管中的液体,倒扣在刀切纸上吸干残留液体,加入600ml 75%酒精,上下轻轻颠换2-3min,12000rpm,4℃离心10min;倒掉酒精,吸干残留液体,室温风干,加入150μl灭菌的ddH<sub>2</sub>O。

[0100] 目标基因的检测:

[0101] a. 引物合成

[0102] 目标基因Pi2的引物(SEQ ID NO:1-2,T<sub>m</sub>值55℃)序列如下:

[0103] F:5'-GTGCATGAGTCCAGCTCAAA-3' ;

[0104] R:5'-GTGTACTCCCATGGCTGCTC-3' ;

[0105] b. PCR反应体系及扩增程序:

[0106] PCR反应体系如下:

	反应成分	加入体积 ( $\mu\text{l}$ )
[0107]	模板 DNA	1.0
	10 $\times$ 缓冲液	1.0
	25 mM $\text{MgCl}_2$	0.6
	2pmol/ $\mu\text{l}$ 上游引物	0.7
	2pmol/ $\mu\text{l}$ 下游引物	0.7
	2.5 mM dNTP	0.2
	5 U/ $\mu\text{l}$ Taq DNA 聚合酶	0.1
	ddH <sub>2</sub> O	6.3
	总体积	10.0

[0108] PCR扩增程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火30s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸45s,35个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7min,最后15 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR扩增产物在8%聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳及银染检测。

[0109] c.携带Pi2基因的水稻单株检测

[0110] 携有纯合Pi2基因的单株仅扩增出一条143bp的条带;不携有Pi2基因的单株仅扩增出一条155bp的条带;携有Pi2基因的杂合单株能扩增出143bp和155bp两条特征条带(图3)。

[0111] 3、直播稻选育

[0112] (1)以早熟、小粒两系不育系WP191S为母本与早熟、抗倒伏、抗病恢复系R1~R24进行测交,获得系列杂交种F<sub>1</sub>;

[0113] (2)种植系列杂交种F<sub>1</sub>(>12株),成熟期考种,选择产量等农艺性状优良杂交组合,对产量较好杂交组合进行米质分析,初步确定选中组合。

[0114] (3)对初步中选的杂交组合,制足够数量的杂交种,在下一季进行小区种植(1厘地或2厘地),考察杂交组合的产量、米质、抗性、抗倒等指标,选择产量等综合性状优良杂交组合。

[0115] (4)然后在多个生态点扩大种植面积,最终选择早熟、抗倒伏、抗病、小粒且农艺性状优良直播稻WP191S/R19等。不育系WP191S与24个恢复系R1~R24测交获得的杂交种F<sub>1</sub>考种结果见表1。

[0116] 表1不育系wP191S与24个恢复系R1~R24测交获得的杂交种F<sub>1</sub>考种结果

[0117]

组合名称	株高/cm	有效穗	每穗总粒	每穗实粒	结实率/%	千粒重/g	谷重/g
WP191S/R1	120	10.0	181.07	155.81	86.05	22.9	178.4
WP191S/R2	123	8.0	231.15	195.55	84.60	24.7	193.2
WP191S/R3	117	8.6	223.62	158.50	70.88	24.4	166.3
WP191S/R4	116	11.4	201.45	170.33	84.55	23.0	223.3
WP191S/R5	108	9.4	174.42	155.66	89.24	24.7	180.7
WP191S/R6	115	10.4	184.83	161.27	87.25	23.3	195.4
WP191S/R7	110	11.6	159.49	141.61	88.79	22.0	180.7
WP191S/R8	116	8.8	216.99	163.69	75.44	24.7	177.9
WP191S/R9	110	12.0	155.77	133.75	85.87	23.8	191.0
WP191S/R10	112	10.4	169.38	121.09	71.49	21.9	137.9
WP191S/R11	115	10.6	155.99	129.03	82.72	21.7	148.4
WP191S/R12	113	11.6	149.26	135.68	90.90	22.2	174.7
WP191S/R13	118	9.6	194.24	151.39	77.94	22.5	163.5
WP191S/R14	118	11.2	190.49	165.43	86.85	24.6	227.9
WP191S/R15	119	10.4	186.40	163.42	87.67	21.5	182.7
WP191S/R16	120	7.6	226.00	192.08	84.99	24.4	178.1
WP191S/R17	117	11.4	179.83	148.75	82.71	20.9	177.2
WP191S/R18	112	10.0	220.66	177.36	80.38	22.0	195.1
<b>WP191S/R19</b>	<b>108</b>	<b>11.6</b>	<b>183.44</b>	<b>167.23</b>	<b>91.17</b>	<b>23.3</b>	<b>226.0</b>
WP191S/R20	120	7.8	218.61	195.28	89.33	21.6	164.5
WP191S/R21	118	10.2	192.53	170.47	88.54	20.9	181.7
WP191S/R22	114	9.8	164.42	145.87	88.72	21.7	155.1
WP191S/R23	109	10.0	189.71	141.55	74.61	22.0	155.7
WP191S/R24	107	9.0	203.52	185.47	91.13	20.5	171.1

[0118] 虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之做一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的范围。

## 序列表

<110>	安徽省农业科学院水稻研究所	
<120>	一种直播稻选育方法	
<130>	PI201910592	
<160>	2	
<170>	SIP0SequenceListing 1.0	
<210>	1	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<400>	1	
	gtgcatgagt ccagctcaaa	20
<210>	2	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<400>	2	
	gtgtactccc atggctgctc	20

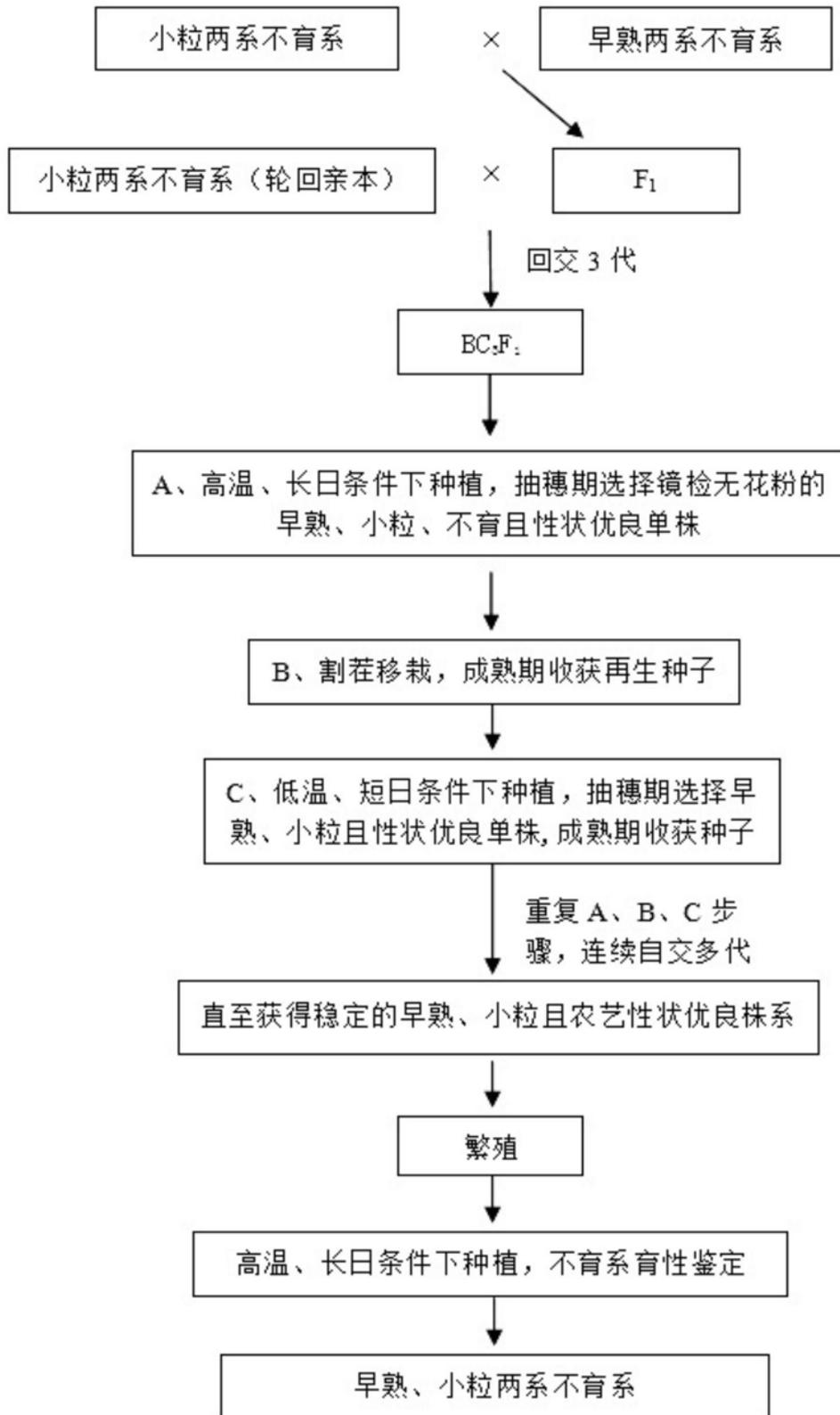


图1

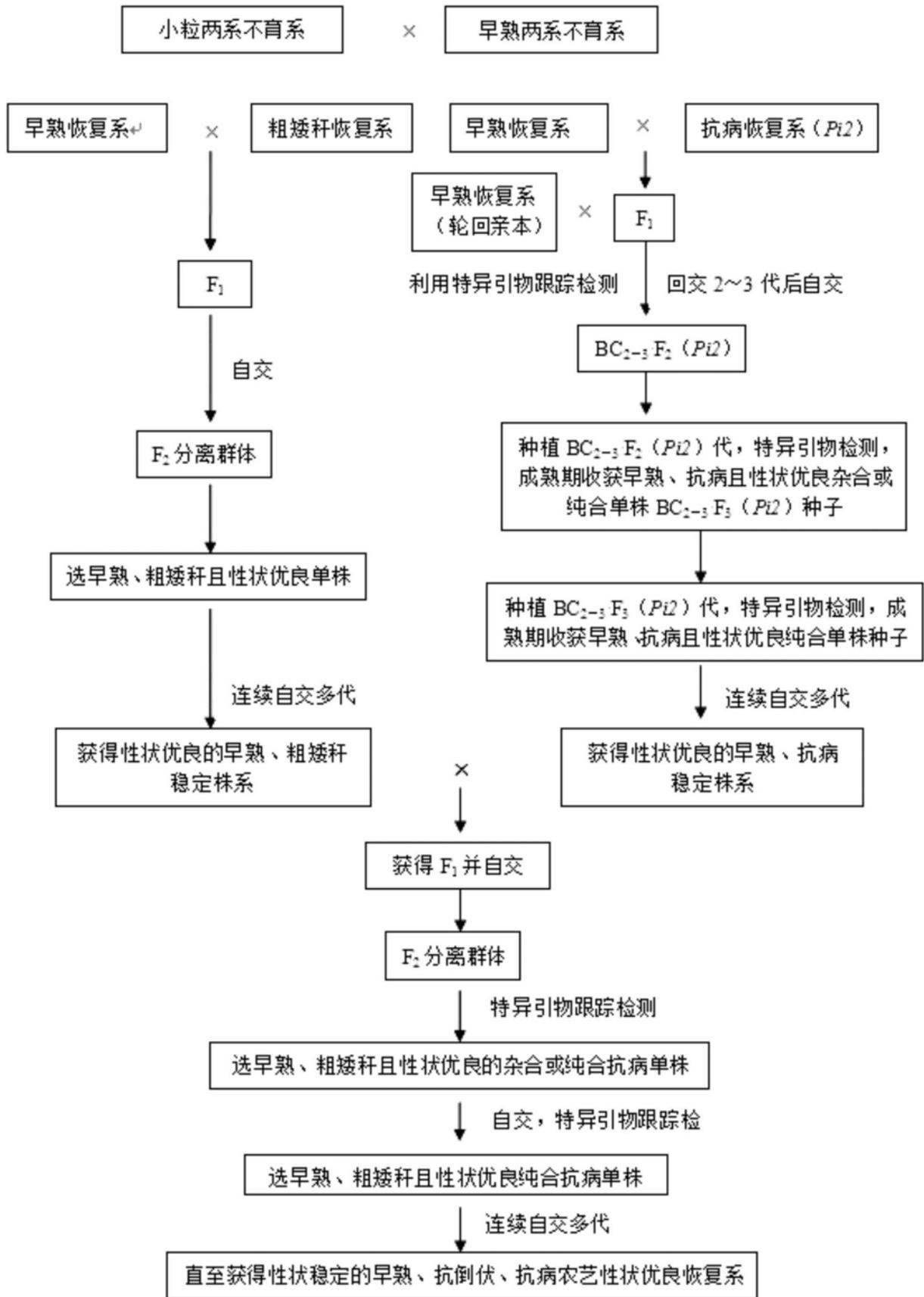


图2

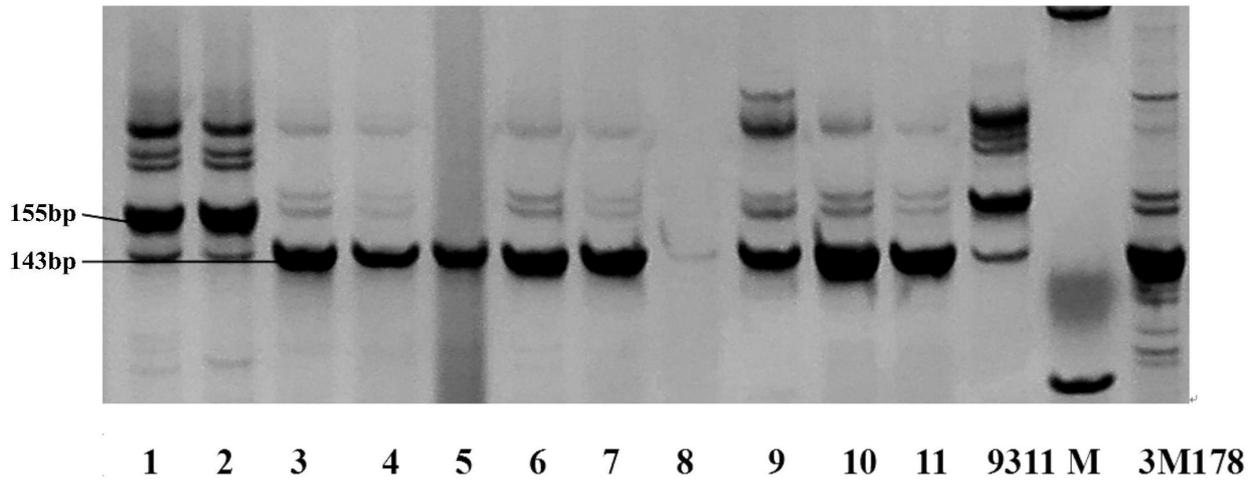


图3