

海南普通野生稻稻瘟病抗性资源调查和鉴定

唐清杰¹,王效宁¹,熊怀阳¹,陈健晓¹,芮 凯²,云 勇¹

(¹海南省农业科学院粮食作物研究所,海口 571100;²海南省农业科学院农业环境与植物保护研究所,海口 571100)

摘要:为挖掘海南普通野生稻稻瘟病抗性资源,2010年诱发鉴定了41个居群410份材料苗期叶瘟,2011年接种稻瘟病菌(YC25)鉴定了37个居群121份材料穗颈瘟,2012年调查了80个居群2461份材料田间自然状态的抗病性。结果表明:苗期叶瘟抗性鉴定有21份高抗、117份抗病。苗期抗、高抗叶瘟性的138份材料中穗颈瘟鉴定4份高抗和3份抗病,14份表现为田间自然抗病。苗期叶瘟鉴定不抗病或未作此鉴定材料中,4份表现为抗穗颈瘟和田间自然抗病。这些抗性材料来自海口市、文昌市、万宁市、三亚市、澄迈县、东方市等地。本研究为海南普通野生稻资源进一步研究和抗稻瘟病育种利用提供参考

关键词:海南普通野生稻;稻瘟病;抗性;调查;鉴定

Investigation and Identification of Resistance to Rice Blast in *Oryza rufipogon* Griff. Indigenous to Hainan Province

TANG Qing-jie¹, WANG Xiao-ning¹, XIONG Huai-yang¹, CHEN Jian-xiao¹, RUI Kai², YUN Yong¹

(¹Cereal Crops Research Institute, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100;

²Agroenvironment and Plant Protection Institute, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100)

Abstract: To excavate blast-resistant germplasms of *Oryza rufipogon* Griff. indigenous to Hainan, 410 accessions from 41 natural populations were identified for the resistance to leaf blast at the seedling stage by naturally infected with the pathogen in 2010. In 2011, 121 accessions of 37 natural populations were identified for the resistance to neck blast at the heading stage by artificial spray inoculation with blast isolates (YC25). In 2012, 2461 accessions of 80 natural populations were investigated under field conditions for the resistance to leaf blast. The results showed that 22 and 117 accessions were highly resistant (HR) and resistant (R) to leaf blast at the seedling stage, respectively. Among the 138 accessions, 4 and 3 were respectively HR and R to neck blast, and 14 showed resistance under field conditions. In addition, 4 accessions which were susceptible or unidentified at the seedling stage, showed resistance both to neck blast and leaf blast under field conditions. These resistant accessions came from Haikou, Wenchang, Wanning, Sanya, Chengmai, and Dongfang. The findings might provide reference for further study and utilization of *Oryza rufipogon* Griff.

Key words: *Oryza rufipogon* Griff. in Hainan province; rice blast; resistance; investigation; identification

稻瘟病是影响水稻高产、稳产、优质的重要病害之一,选育抗病水稻品种是控制该病害最经济有效的措施^[1]。而发掘和利用新型抗稻瘟病资源是抗稻瘟病育种成功的关键,普通野生稻与栽培稻最近

缘,蕴藏着大量抗病等优良基因,是水稻育种重要的遗传资源^[2]。

我国科研人员对野生稻稻瘟病抗性资源鉴定做了大量工作。潘大建等^[3]和李湘民等^[4]利

收稿日期:2013-01-18 修回日期:2013-01-31 网络出版日期:2013-08-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130809.1445.018.html>

基金项目:公益性行业(农业)科研专项经费项目(201003021);海南省重点科技项目(ZDXM20120015)

第一作者主要从事热带稻类资源研究与利用。E-mail: flyingfoxtqj@163.com

通信作者:云勇,主要从事野生稻资源研究。E-mail: yyong-3027@163.com

用稻瘟病混合菌株人工接种法分别对广东高州和江西东乡野生稻进行了稻瘟病抗性鉴定,结果类似,即初鉴抗病样本复鉴时仅少量材料抗病。梁斌等^[5]对云南 3 种野生稻进行了稻瘟病抗性评价,结果显示云南普通野生稻表现高感,药用野生稻感病,而疣粒野生稻中抗。韦燕萍等^[6]对广西普通野生稻和药用野生稻进行了鉴定,在 1500 份普通野生稻中发现 38 份抗病材料,在 113 份药用野生稻中发现 18 份抗病材料。李友荣等^[7]对湖南普通野生稻的白叶枯病和稻瘟病抗性进行了评价,发掘兼抗白叶枯病和稻瘟病的种质 2 份。

海南是我国野生稻分布密度最大的地区之一,我国的 3 种野生稻在海南均有分布^[8-9],海南普通野生稻最原始,遗传多样性高于广东、广西、福建、湖南、江西和云南等地的普通野生稻^[10-11],且具有很高的开发利用价值,目前我国生产上主要应用的野败型和红莲型杂交稻都是利用海南野生稻选育而成。因此,本研究通过诱发鉴定、稻瘟病菌接种鉴定和田间自然调查海南普通野生稻稻瘟病抗性,旨在深入挖掘丰富稻瘟病抗源,促进广谱高效抗稻瘟病水稻育种发展。

1 材料与方法

1.1 供试材料和稻瘟病原

2002-2009 年联合中国农业科学院作物科学所对海南省 18 市(县)野生稻资源开展大规模野外调查,收集了海口、文昌等 10 个市(县)的 46 个居群(居群编号为 1~46);2010 年又在包括上述地区在内的 12 个市(县)收集了 34 个居群(居群编号为 47~80);这 80 个居群已纳入海南省野生稻异位保存圃保护。

2010 年苗期叶瘟抗性鉴定材料为 2002-2009 年收集的 46 个居群,取居群内个体数量多于 10 株的 41 个居群 410 份野生稻;2011 年穗颈瘟抗性鉴定选取 80 个居群中已抽穗材料,即来自 37 个居群的 121 份材料;2012 年田间叶瘟自然抗病调查选取全部 80 个居群 2461 份材料。

苗期叶瘟抗性诱发鉴定病原取自严重感染海南稻瘟病优势种群 ZC 群小种的水稻新鲜病叶,穗颈瘟鉴定病原为稻瘟病菌生理小种 YC25。

1.2 前期准备

苗期叶瘟和穗颈瘟鉴定按照黄大辉等^[12]方法设置感病对照,本研究以严重感病栽培稻琼香-

1S 为对照,按对照—供试材料—对照—供试材料—对照的顺序栽植于鉴定圃(遮荫网室内),并在试验材料四周种植琼香-1S 作为诱发品种。野生稻种经盆栽再生苗,移栽前 20 d,播种对照品种;播种前化肥与有机肥料兼用,均匀施肥^[13]。在全生育期保水,保证鉴定圃小气候的湿度要求,以利于发病。

田间自然抗病调查不重复栽植野生稻材料,直接利用保存在田间的材料。

1.3 调查和鉴定

苗期叶瘟抗性鉴定:野生稻再生苗长至 3~5 叶龄时,取严重感染稻瘟病的栽培稻病叶,在接种材料上方摇匀,使病叶中孢子散落在接种材料上,重复 3 次,并剪碎病叶放置于供试材料叶片上,诱导发病。

穗颈瘟抗性鉴定:用培养好的稻瘟病菌生理小种 YC25 接种,接种菌液浓度 $2 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ 个/mL 的孢子悬浮液,喷雾接种(100 株苗约用 20 mL 菌液,喷雾重复 3 次)。

苗期叶瘟和穗颈瘟抗性鉴定后续方法相同:遮光膜覆盖,26~28℃保湿 14~16 h 后揭膜,重复 3 次,在自然条件下培养^[14-15]。以感病对照为参考标准,感病对照发病充分,时间约 21 d 时即可调查。

苗期叶瘟初鉴结束后,凡初鉴表现中抗以上的材料选入复鉴^[15],初鉴时间为 2010 年 5 月,复鉴时间为 2010 年 6 月,2 次鉴定方法相同。

田间叶瘟自然抗病调查:在周围水稻田叶瘟发病较重的情况下,对田间收集保存的普通野生稻材料,调查稻瘟病自然状态下发病及抗性情况。

1.4 病情评价

按野生稻苗期稻瘟病抗性评价标准和野生稻种质资源穗颈瘟评价标准^[15]进行病情评价和分析,确定抗性。

2 结果与分析

2.1 苗期叶瘟鉴定

2010 年苗期叶瘟鉴定的 410 份普通野生稻材料,初鉴表现 1~3 级叶瘟抗性的共 266 份,其中高抗 88 份占 21.5%,抗 178 份占 43.4%。取初鉴表现中抗以上(1~5 级)的 386 份材料进行复鉴,表现 1~3 级抗性的共 138 份,其中高抗 21 份占 5.1%,抗 117 份占 28.5%(图 1,图 2,表 1)。



图 1 高抗和抗叶瘟的普通野生稻材料

Fig. 1 *Oryza rufipogon* Griff. accessions which were highly resitant (HR) and resitant (R) to leaf blast

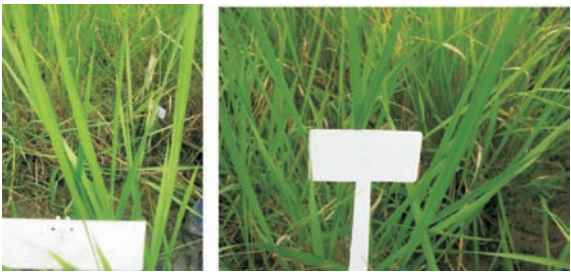


图 2 抗叶瘟的普通野生稻材料

Fig. 2 *Oryza rufipogon* Griff. accessions which were resitant (R) to leaf blast

表 1 苗期叶瘟抗性鉴定

Table 1 Resistance of Hainan *Oryza rufipogon* Griff. to rice blast at seedling stage

材料 Materials	初鉴 Preliminary identification						复鉴 Re-identification					
	数量 No.	高抗 (1 级) HR	抗 (3 级) R	中抗 (5 级) MR	感 (7 级) S	高感 (9 级) HS	数量 No.	高抗 (1 级) HR	抗 (3 级) R	中抗 (5 级) MR	感 (7 级) S	高感 (9 级) HS
普通野生稻	410	88	178	120	7	17	386	21	117	152	5	91
琼香-1S(CK)	20	0	3	15	2	0	20	0	4	15	0	1

2.2 抽穗期穗颈瘟鉴定

2011 年穗颈瘟鉴定的 121 份抽穗材料,表现 0~3 级穗颈瘟抗性共 37 份,其中 0 级免疫抗性 8

份,占 6.61%;1 级高抗 8 份,占 6.61%;3 级抗 21 份,占 17.36%(图 3,表 2)。

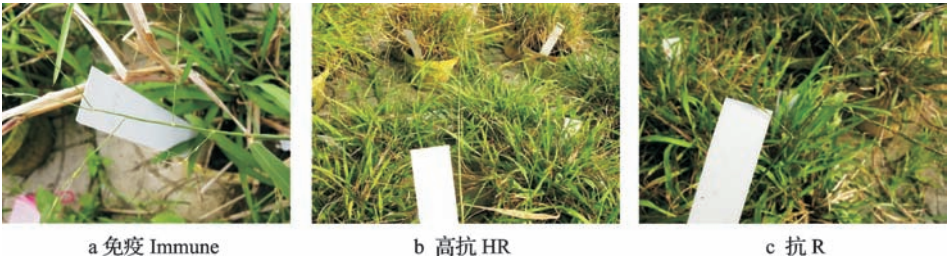


图 3 免疫、高抗和抗穗颈瘟的普通野生稻材料

Fig. 3 *Oryza rufipogon* Griff. accessions which were Immune and highly resitant (HR) and resitant (R) to panicle blast

表 2 抽雄期穗颈瘟抗性鉴定

Table 2 Resistance of Hainan *Oryza rufipogon* Griff. to neck blast at heading stage

材料 Materials	数量 No.	免疫(0 级) Immune	高抗(1 级) HR	抗(3 级) R	中抗(5 级) MR	感(7 级) S	高感(9 级) HS
普通野生稻	121	8	8	21	21	52	11
琼香-1S(CK)	20	0	0	0	3	12	5

2.3 田间叶瘟自然抗病调查

2012 年调查的 2461 份田间保存普通野生稻材料,表现 2~3 级抗性共 741 份,其中 2 级抗病 84 份,占 3.41%;3 级抗病 657 份,占 26.7%。4 级中抗 1017 份,5 级中抗 687 份,6 级感病 13 份,7 级感病 3 份。

2.4 稻瘟病抗性调查和鉴定结果

综合海南普通野生稻稻瘟病抗性 3 年调查和鉴定结果,连续 2 年或间隔 1 年表现抗性材料 25 份,未发现 3 年均表现抗性的材料,其中在 2010 年苗期叶瘟鉴定抗性材料中,2011 年穗颈瘟鉴定有 4 份继续表现高抗,3 份继续表现抗病;2012 年调查有 14

份继续表现田间自然抗病。另外苗期叶瘟鉴定不抗病或者未作苗期鉴定的材料中,4 份表现抗穗颈瘟和田间自然抗病(表 3)。

表 3 3 年间相互表现抗性的普通野生稻材料
Table 3 Resistance of Hainan *Oryza rufipogon* Griff. to rice blast in three years

居群 Population	抗性级别 Resistance		
	苗期叶瘟 Leaf blast	穗颈瘟 Neck blast	田间叶瘟 Rice blast under field conditions
2-1	5	3	3
3-9	3	-(未抽穗,下同)	3
10-5	1	-	3
10-6	3	-	3
11-8	1	1	5
23-1	1	1	4
23-8	1	3	4
24-3	3	1	4
25-1	3	1	4
28-5	3	-	3
28-9	3	-	3
39-1	3	-	3
39-2	3	-	3
39-4	3	-	3
39-6	1	-	3
39-10	2	-	3
42-3	3	3	4
44-6	3	3	4
44-16	3	-	3
44-18	3	-	3
45-2	2	-	3
45-5	1	-	3
53-14	-(2010 未 收集,下同)	3	3
56-9	-	3	3
69-41	-	3	3

表中居群编号后的数字是指顺序号,即居群的第几份材料
Figure after population number means sequence number

3 讨论

从供试材料调查和鉴定结果来看,3 种调查或鉴定方法有 10 份以上材料表现高抗,共 25 份材料通过 2 种方法鉴定均为抗性或高抗,说明海南普通野生稻对稻瘟病有较好的抗性表现。

比较 3 种鉴定方法及鉴定效果,苗期叶瘟诱导鉴定初鉴表现高抗材料占总数的 21.5%,复鉴表现

高抗比例为 5.1%,与前言中潘大建等^[3]、李湘民等^[4]鉴定结果类似;诱导发病病源来自天然,鉴定圃小区气候模拟自然条件,工序简便易操作,适合对大量材料进行快速鉴定,但发病可能不充分、结果不够准确。稻瘟病菌接种鉴定中免疫材料占 6.61%,高抗占 6.61%;接种法简单易行、条件易控制、结果较可靠,缺点是孢子用量大,接种效果受温度湿度影响。田间自然抗病调查表现 2 级抗病材料占 3.41%,此方法最为简单易行,成本最低,可短期内调查几千份材料,缺点是较为粗放,结果不够准确。结合这 3 种方法进行调查和鉴定,试验结果就较准确。国际通用研究按照先粗放后精细原则,应按自然发病—诱导发病—接种鉴定顺序进行抗性鉴定,本研究没有遵循该原则,而是根据收集野生稻居群的时间先后,收集多少就调查鉴定多少,可能会对试验结果有所影响。

从供试材料来源看,2010 年苗期叶瘟鉴定中来自琼海的 38 号居群和澄迈的 45 号居群分别有 5 份和 4 份样本表现高抗,2011 年穗颈瘟鉴定中 8 份表现免疫抗性和 8 份 1 级高抗材料来自海口市、澄迈县、文昌市、儋州市、三亚市、万宁市和乐东县,2012 年田间调查中来自海口市及琼山区、万宁市、澄迈县的普通野生稻居群都有超过 7 份材料表现抗病。另外,连续 2 年或者间隔 1 年表现抗病的 25 份材料来自海口市、文昌市、万宁市、三亚市、澄迈县、东方市等地,这些材料为开展高产抗稻瘟病水稻新品种(组合)选育提供了较好资源,可促进水稻育种持续发展^[16]。今后应该注重从海南普通野生稻中定位、克隆抗病基因,并对所获得基因的结构、功能及进化等展开一系列相对系统研究^[17-18]。

参考文献

[1] 雷财林,张国民,程治军,等. 黑龙江省稻瘟病菌生理小种毒力基因分析与抗病育种策略[J]. 作物学报,2011,37(1): 18-27

[2] 庞汉华. 普通野生稻优异种质资源主要特点与利用展望[J]. 种子,1998,95(3):30-33

[3] 潘大建,范芝兰,朱小源,等. 广东高州普通野生稻稻瘟病抗性鉴定[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(3):358-361

[4] 李湘民,黄瑞荣,兰波,等. 东乡野生稻种质资源的抗病性研究[J]. 江西农业大学学报,2006,28(4):493-497

[5] 梁斌,肖放华,黄费元,等. 云南野生稻对稻瘟病的抗性评价[J]. 中国水稻科学,1999,13(3):183-185

[6] 韦燕萍,杨新庆,李容柏,等. 广西野生稻资源抗稻瘟病材料的鉴定与评价[J]. 中国水稻科学,2009,3(4):433-436

[7] 李友荣,侯小华. 湖南野生稻抗病性评价与种质创新[J]. 湖南农业科学,2001(6):14-18

[8] 庞汉华,应存山. 中国野生稻的种类、地理分布与研究利用[M]//应存山. 中国稻种资源. 北京:中国农业科技出版社,1993:25-26

- [9] 张万霞,杨庆文. 中国野生稻收集、鉴定和保存现状[J]. 植物遗传资源学报,2003,4(4):369-373
- [10] 王效宁,韩东飞,云勇,等. 利用 SSR 标记分析海南普通野生稻的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2007,8(2):184-188
- [11] 王美兴,张洪亮,张冬玲,等. 中国普通野生稻(*O. rufipogon* Griff.) 的地理多样性与分化[J]. 科学通报,2008,53(22):2768-2775
- [12] 黄大辉,岑贞陆,刘驰,等. 野生稻细菌性条斑病抗性资源筛选及遗传分析[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(1):11-14
- [13] 四川省农业厅. DB51/T 714 水稻抗稻瘟病性田间鉴定技术规范[S]. 成都:四川省质量技术监督局,2007:1-4
- [14] 程在全. 云南野生稻遗传特性及其优良基因克隆的研究[D]. 成都:四川大学,2006
- [15] 陈成斌,潘大建. 野生稻种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京:中国农业出版社,2006:72-73
- [16] 陈河龙,郭朝铭,刘巧莲,等. 龙舌兰麻种质资源抗斑马纹病鉴定研究[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(4):546-550
- [17] 张海英,宫国义,郭绍贵,等. 西瓜种质资源抗旱性苗期筛选与评价[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(2):223-226,232
- [18] 杨明攀. 云南野生稻抗病基因克隆、结构功能分析及其分子进化研究[D]. 昆明:云南大学,2004

欢迎订阅 2014 年《中国农业科技导报》

《中国农业科技导报》是由科学技术部主管,中国农村技术开发中心主办,中国农业科学院生物技术研究所承办的全国性、综合性农业学术刊物。本刊是中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库收录期刊。主要报道农业高科技领域的最新科研进展、创新成果、转化应用、农业产业化发展态势,以及政策导向和项目指南信息。栏目设置如生物技术、数字农业、环境资源、海洋农业等。读者对象为相关领域的各级管理部门的管理人员;国内外农业科研机构、高技术企业研究和管理人员,以及大专院校师生。

双月刊,大 16 开本,200 页,铜版纸 4 色印刷,逢双月中旬出版,国内外公开发行人。国内统一刊号:CN11-3900/S;国际统一刊号:ISSN 1008-0864。广告经营许可证号:京西工商广字 0058 号。2014 年每册定价 30.00 元,全年定价 180.00 元。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:82-245;亦可直接汇款至编辑部订阅,免费邮寄。

地 址:(100081)北京市海淀区中关村南大街 12 号中国农业科学院生物技术研究所

《中国农业科技导报》编辑部

电 话:010-82109848

E-mail:nykjdb@163.com,nkdb@caas.net.cn

网 址:www.nkdb.net

欢迎订阅 2014 年《山东农业科学》

《山东农业科学》是山东省农业科学院、山东农学会、山东农业大学共同主办的综合性农业科技期刊。办刊宗旨是报道农业科技成果,传播农业科学技术,促进农业科技交流,推动农业科技进步。主要栏目有生物技术、信息技术、遗传育种与种质资源、耕作栽培与生理生化、资源环境与植物营养、植物保护与农业气象、畜牧兽医与蚕桑水产、贮藏加工与质量检测、新品种与新技术、文献综述与专论、农业经济与管理等,及时报道农业科研的新成果、新进展、新方法和新技术。主要读者对象是农业科研人员、农业院校师生、农业管理干部、农技推广人员、农村科技示范户等。

本刊为中国科技核心期刊、第二届和第三届中国期刊奖百种重点期刊、中国期刊方阵双百期刊、中国农学会优秀期刊、山东省十佳期刊、华东地区优秀期刊。

月刊,大 16 开本,160 页,每期定价 10 元,全年定价 120 元,国内外公开发行人,邮发代号 24-2,各地邮局及本刊编辑部均可订阅。

地址:(250100)济南市工业北路 202 号

电话:0531-83179268

E-mail:sdnykx@saas.ac.cn,sdnykx@sina.com