

# 海南野生稻白叶枯病抗性种质资源的收集与初步鉴定

范伟雅<sup>1</sup>, 刘自然<sup>2</sup>, 云 勇<sup>3</sup>, 唐清杰<sup>3</sup>, 周世圳<sup>3</sup>, 肖晓蓉<sup>3</sup>, 郑晓明<sup>1,4,5</sup>, 杨庆文<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>2</sup>沈阳师范大学生命科学学院, 沈阳 110034; <sup>3</sup>海南省农业科学院粮食作物研究所, 海口 570100; <sup>4</sup>中国农业科学院三亚国家南繁研究所, 三亚 572000; <sup>5</sup>国际水稻研究所, 马尼拉 7777)

**摘要:**为抢救性收集和保护海南省野生稻资源, 2021年11月中国农业科学院作物科学研究所与海南省农业科学院粮食作物研究所联合开展了海南省野生稻调查、异位保护及白叶枯病抗性鉴定工作。本研究对海南省的11个县市的17个乡镇21个野生稻分布点进行考察, 发现有9个分布点处于濒危状态, 7个受到不同程度的破坏, 仅2个野生稻保护区未受干扰和3个分布点受到轻微干扰。抢救性收集野生稻资源210份, 统一保存于国家野生稻种质圃。同时, 本研究使用毒性强、致病性广的白叶枯病菲律宾致病小种6(PXO99), 采用人工接种的方式对本次考察收集的145份普通野生稻和47份药用野生稻进行白叶枯病抗性鉴定, 最终筛选出5份高抗白叶枯病的野生稻种质资源, 为水稻抗白叶枯病的研究和育种奠定了丰富的材料基础。

**关键词:**海南野生稻; 异位保护; 白叶枯病; 抗性鉴定

## Collection and Preliminary Identification of Germplasm Resources Resistant to Bacterial Blight of Wild Rice from Hainan Province

FAN Wei-ya<sup>1</sup>, LIU Zi-ran<sup>2</sup>, YUN Yong<sup>3</sup>, TANG Qing-jie<sup>3</sup>, ZHOU Shi-zhen<sup>3</sup>,  
XIAO Xiao-rong<sup>3</sup>, ZHENG Xiao-ming<sup>1,4,5</sup>, YANG Qing-wen<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; <sup>2</sup>College of Life Sciences, Shenyang Normal University, Shenyang 110034; <sup>3</sup>Institute of Grain Crops, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 570100;

<sup>4</sup>Sanya National Institute of Southern Propagation, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Sanya 572000;

<sup>5</sup>International Rice Research Institute, Manila 7777)

**Abstract:** In order to salvage and protect wild rice resources in Hainan Province, P.R. China, in November 2021, the Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences in cooperation with the Institute of Grain Crops, Hainan Academy of Agricultural Sciences carried out the investigation, ectopic protection and bacterial blight resistance of wild rice. In this study, 21 wild rice distribution sites in 17 towns of 11 cities/counties in Hainan province were investigated. It was found that 9 distribution sites were in an endangered state, 7 were damaged to varying degrees, and only 2 wild rice reserves are not disturbed and 3 distribution sites were slightly disturbed. 210 wild rice resources were collected and preserved in the National Wild Rice Germplasm Garden. In addition, the Philippine race 6 (PXO99), which is highly aggressive with broad pathogenicity, was tested using artificial inoculation for bacterial blight resistance in this collection of 145 *O. rufipogon* Griff. and 47 *O. officinalis* Wall. ex G. Watt. Five accessions showing high resistance to bacterial blight were identified, which

收稿日期: 2022-08-30 修回日期: 2022-09-23 网络出版日期: 2022-10-21

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220830002>

第一作者研究方向为作物种质资源鉴定与评价, E-mail: Fanyya@qq.com; 刘自然为共同第一作者

通信作者: 郑晓明, 研究方向为野生稻种质资源和保护生物学收集、保护和利用, E-mail: zhengxiaoming@caas.cn

杨庆文, 研究方向为野生稻种质资源和保护生物学收集、保护和利用, E-mail: yangqingwen@caas.cn

**基金项目:** 国家重点研发计划(2021YFD1200101); 中国农业科学院科技创新工程(2060299-2-22年); 中央级公益性科研院所基本科研业务费(S2022NF01); 海南省重点研发计划(ZDYF2022XDNF260)

**Foundation projects:** National Key R&D Program of China (2021YFD1200101); Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences (2060299-2-22 Year); Basic Research Business Expenses of Central Public Welfare Research Institutes (S2022NF01); National Key R&D Program of Hainan (ZDYF2022XDNF260)

laid a rich material foundation for the research and breeding of resistance to bacterial blight in rice.

**Key words:** Hainan wild rice; etopic protection; bacterial blight; resistance identification

亚洲栽培稻(*Oryza sativa* L., 简称“水稻”)为全球一半以上的人口提供主食,是世界三大粮食作物之一。自20世纪60年代以来,随着改良的半矮秆现代品种大面积推广种植,极大地促进了水稻的增产<sup>[1]</sup>。但与此同时,水稻的遗传基础变得日益狭窄,而野生稻是水稻的近缘野生种,是水稻遗传改良的基础资源。野生稻是稻属中除非洲栽培稻(*O. glaberrima* Steud.)和亚洲栽培稻(*O. sativa* L.)以外的全部野生种类的总称。全球21种野生稻,主要分布于亚洲、美洲、非洲和大洋洲的热带和亚热带地区<sup>[2]</sup>。我国有3种野生稻,分别是普通野生稻(*O. rufipogon* Griff.)、药用野生稻(*O. officinalis* Wall. ex G. Watt.)和疣粒野生稻(*O. granulata* Nees & Arn. ex G. Watt),普通野生稻因与水稻具有相同染色体组,且是水稻的直接祖先种,故常被作为水稻育种的亲本材料<sup>[3]</sup>。

我国野生稻分布于南方7个省(区),其中海南和云南有全部的3种野生稻,广东和广西分布着普通野生稻和药用野生稻,福建、江西和湖南仅存在普通野生稻<sup>[4]</sup>。根据2013年中国农业科学院作物科学研究所与海南省农业科学院粮食作物研究所联合抽样调查的结果显示,相较于20世纪80年代的调查结果,海南省84%以上的普通野生稻、药用野生稻和疣粒野生稻的分布点均受到外界的严重干扰。近年来,由于毁林开荒、农田开发、灌溉沟渠硬化、外来入侵物种的泛滥、城市规划建设和环境污染等因素,导致野生稻居群大量灭绝,3种野生稻均被列入我国二级濒危植物保护名录<sup>[5]</sup>。因此,为了进一步了解野生稻现在的分布情况,抢救性收集和保护海南省野生稻资源,2021年11月中国农业科学院作物科学研究所与海南省农业科学院粮食作物研究所联合开展了海南省野生稻调查工作。本次工作内容包括已知野生稻分布点的复查、新野生稻分布点的寻找,收集工作依据居群遗传学基本原理采取最大化保持野生稻居群遗传多样性的取样策略,并将搜集到的野生稻资源统一保存于国家野生稻种质圃。

水稻白叶枯病由黄单胞杆菌水稻变种(*Xoo*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)引起,是对水稻迫害最严重的细菌性病害之一,是水稻稳产和高产的主要限制因子之一。该病最早发现于19世纪末日本福岡,具有广泛流行性,以日本、中国、印度较为严重,其一般导致水稻减产20%~30%,发病严重时减产可达50%。

20世纪70~90年代是中国白叶枯病的重发流行时期,发病面积达61.24~165.05万hm<sup>2</sup>,损失稻谷7.45~47.28t<sup>[6]</sup>。随后因在广西普通野生稻中发现了抗性基因*Xa23*并育成一批优良抗病品种,使水稻白叶枯病沉寂了近20年<sup>[7]</sup>。但近年来,随着气候变化和耕作制度等改变,水稻白叶枯病在我国主要稻区又呈上升态势,2014和2015年浙江省晚稻白叶枯病发病点多面广,个别田块产量损失在50%以上,甚至失收,如温岭市发病面积达0.45万hm<sup>2</sup>和0.96万hm<sup>2</sup><sup>[8]</sup>。我国每年需要花费大量人力、物力和财力防治水稻白叶枯病,但防治效果仍然有限并且因为农药的使用严重污染环境和农产品。而发掘抗病基因并选育抗性品种已被证明是一种对环境压力小且投入少的有效措施<sup>[9]</sup>。截至目前,从不同水稻品种中已鉴定出39个白叶枯病抗性基因,其中已被克隆的7个基因包括*Xa1*、*Xa3*、*Xa5*、*Xa13*、*Xa21*、*Xa23*和*Xa26*<sup>[10]</sup>。这些野生稻基因的鉴定和克隆为抗白叶枯病水稻的育种提供了丰富的基因资源。因此,从野生稻中发掘抗白叶枯病基因已成为抗白叶枯病育种的研究热点。本研究以本次收集的海南野生稻为对象,进行白叶枯病的抗性鉴定,以期筛选出新的抗白叶枯病野生稻资源并为水稻品种改良提供基因资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 海南野生稻调查、收集及表型性状鉴定方法

为全面查清海南省野生稻种质资源多样性,明确10年间社会环境和种植业结构变化对野生稻种质资源演变趋势的影响,抢救性收集濒临灭绝的野生稻资源,中国农业科学院作物科学研究所与海南省农业科学院粮食作物研究所联合开展了海南省野生稻调查工作。本次调查依托第三次全国农作物种质资源普查与收集行动,采取最大化保持野生稻居群遗传多样性的取样策略,依据居群遗传学基本原理<sup>[11]</sup>。

2021年11月中国农业科学院作物科学研究所与海南省农业科学院粮食作物研究所联合开展了海南省野生稻调查、异位保护及白叶枯病抗性鉴定工作,对海南省的11个县市的17个乡镇21个野生稻分布点进行考察。本次采集按照野生稻所在地居群为取样单位进行聚集取样,个体采集间距大于5m,以避免采集到同一个体的无性系<sup>[12]</sup>。以地理位置和微

地形变化合理划分居群,获取野生稻在长期进化过程中受到自然环境因素影响产生的变异,使得采集的野生稻材料居群间和居群内的遗传多样性水平和分布得到最大化的保护<sup>[13]</sup>。

采集过程中对海南各个原生境的信息包括水旱状况和生境受光情况进行记录,并依据国家农作物种质资源平台发布的野生稻种质资源描述规范对原生境居群的典型形态学特征进行观察并记录。观察的形态学性状主要包括是否存在特征性部位如叶耳、叶舌、芒和地下茎,叶舌、叶耳、叶鞘及节间等部位的颜色,以及植株的株型、分蘖力、落粒性和穗分枝,其中株型依据茎秆分散角度分为直立(<15°)、半直立(15°~30°)、倾斜(30°~60°)及匍匐(>60°)。完成性状调查后,进行规范取样并采用异位保存方式,将采集的种茎进行编号后保存于国家野生稻种质圃内,并进行相关研究。

## 1.2 白叶枯病鉴定材料与方法

**1.2.1 材料来源** 本次调查所采集的3种野生稻,均统一保存于国家野生稻种质圃中。3种野生稻中,AA基因组的普通野生稻与水稻亲缘关系最近,易与水稻进行杂交。此外,与具有GG染色体组的疣粒野生稻相比,具有CC染色体组的药用野生稻更易与水稻杂交(0.2%~3.8%)<sup>[14]</sup>。并且虽然疣粒野生稻中有丰富的白叶枯病抗源,在整个生育期都表现出高抗甚至免疫<sup>[15]</sup>,但其与水稻难以进行常规杂交<sup>[16]</sup>。因此本研究仅对从海南各个原生境采集的普通野生稻和药用野生稻进行水稻白叶枯病抗性的鉴定,其中普通野生稻145份、药用野生稻47份。取野生稻种茎分蘖,种植于抗病鉴定试验田,在分蘖盛期进行水稻白叶枯抗性鉴定,同时接种感病品种金刚30。

**1.2.2 白叶枯菌种的选择与培养** 选取白叶枯病菌株黄单胞菌水稻致病变种PXO99(菲律宾强毒性小种)进行接种鉴定。病原菌在PSA液体培养基(胰蛋白胨10 g/L,蔗糖10 g/L,谷氨酸钠1 g/L,pH 7.0,琼脂粉15 g/L)中培养过夜,吸取培养过夜的菌液在其固体培养基上培养约2 d,用无菌水稀释至OD<sub>600</sub>值为0.6用于水稻接种<sup>[17]</sup>。

**1.2.3 接种方法与鉴定标准** 于分蘖盛期采用人工剪叶法进行接种,每份材料接种5~7片最上面的完全展开的健康叶片,接种21 d左右,待感病品种金刚30表现为感病且病情稳定时,调查材料的发病情况,并对发病材料取3~5叶测量病斑长度,取其平均值为单株病斑长度(表1)。抗性评价参照方中达

等<sup>[18]</sup>标准执行。

表1 野生稻白叶枯病抗性标准

Table 1 The standard for resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* of wild rice

病级	白叶枯病	病斑大小或反应
Disease grade	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	Macular reaction
0	高抗 HR	剪口处无明显病斑
1	抗 R	病斑向下扩展,长度2~3 cm
3	中抗 MR	病斑长度3~5 cm
5	中感 MS	病斑长度5~10 cm
7	感 S	病斑长度10~15 cm
9	高感 HS	病斑长度大于15 cm

## 1.3 数据分析方法

对192份野生稻材料的病斑长度使用Microsoft Excel 2016 软件进行处理,计算平均值,并使用R 4.0.1 软件对其发病的病斑长度进行方差分析及多重比较。

# 2 结果与分析

## 2.1 海南野生稻资源原生境居群分布与变化情况

**2.1.1 野生稻的分布现状** 本次考察对海南野生稻重点分布区进行鉴定,充分考虑海南省野生稻重点分布区及具有生态代表性的区域。发现11个县市的17个乡镇21个野生稻分布点中,在近10年来,有9个分布点处于濒危状态,7个受到不同程度的破坏,仅2个野生稻保护区未受干扰和3个分布点受到轻微干扰(表2);此外,新发现的3个野生稻分布点也受到不同程度的破坏。海南野生稻濒危的主要原因包括毁林开荒、农田开发、灌溉沟渠硬化、外来入侵物种的泛滥、城市规划和建设、环境污染等等。随着各种经济城市化的加快,在人类频繁活动的区域,野生稻消失程度尤其严重。本次考察抢救性收集了3种野生稻210份,在采样过程中,重点收集了即将因城市规划和乡村建设等不复存在的自然居群。

**2.1.2 海南野生稻的生境信息** 我国现有3种野生稻在海南均有分布,包括普通野生稻、药用野生稻和疣粒野生稻<sup>[19]</sup>。不同野生稻居群有不同的分布区域和生长环境(图1)。

其中普通野生稻最多,共10个居群,几乎分布于海南全省,在文昌市、琼山县、万宁市、东方县和秀英区等地均有发现,主要生长于平原地区的池塘、溪沟、藕塘、稻田、沟渠、沼泽等低湿地(表3)。普通野生稻是多年生沼泽地植物,喜温,感光性强,水生,主要分布在海拔600 m以下的江河流。



除普通野生稻外,海南的药用野生稻,集中分布在保亭县和陵水县(表3)。药用野生稻喜温但不耐热,喜湿但不耐深水,生长环境多为山沟湿地,多分布在靠近河流小溪的地方。药用野生稻植株高大,通常具有明显的地下茎,分布于海拔 600~1100 m 的丘陵山坡中下部的冲积地和沟边。普通野生稻和药用野生稻生长的地方大多人口稠密,极易受到人类活动的影响。

表2 海南省3种野生稻居群、采集数量和濒危情况  
Table 2 The distribution, collection quantity and end angered status of Hainan wild rice species

种类 Species	居群地点 Distribution	采集数量 Collection quantity	濒危状况 End angered status	濒危原因 Causes of endangerment
普通野生稻 <i>O. rufipogon</i> Griff.	澄迈县	0	严重破坏	变成农田
	东方县	29	轻微干扰	—
	琼山县	11	中度破坏	变成农田
	美兰区	8	濒危	城市规划,即将消失
	秀英区 1	3	濒危	水葫芦泛滥
	秀英区 2 (新增)	18	中度破坏	水流污染
	乐东县 1	0	濒危	盖房子
	乐东县 2	0	濒危	水流污染
	乐东县 3	0	濒危	盖房子
	万宁市 1	35	轻微干扰	水葫芦干扰
	万宁市 2	0	濒危	变成农田以及盖房子
	万宁市 3 (新增)	13	中度破坏	变成农田
	万宁市 4 (新增)	5	严重破坏	沟渠硬化
	文昌市 1	7	濒危	沟渠硬化
	文昌市 2	16	严重破坏	沟渠硬化
药用野生稻 <i>O. officinalis</i> Wall. ex G. Watt.	保亭县 1	17	严重破坏	种植槟榔,喷洒除草剂
	保亭县 2	0	濒危	变成农田
	保亭县 3	23	轻微干扰	—
	陵水县 (保护区)	7	未受干扰	—
疣粒野生稻 <i>O. meyeriana</i> (Zoll. & Moritzi) Baill.	乐东县 (保护区)	18	未受干扰	—
	五指山区	0	濒危	放火烧山,种植橡胶

新增:本次调查新发现的居群;—:仅受到轻微干扰  
New population: Population discovered in this survey; —: Only slightly disturbed

疣粒野生稻分布在海南的西南部山区主要包括乐东县等地。多生长在灌木丛、竹林以及橡胶树林等散射光不强的地方或者荫蔽山坡上,与杂草丛生或散生(表3)。疣粒野生稻旱生,喜阴,分布地区海拔比其他两种野生稻高。相比其他两种野生稻,受影

响较小,但近些年受到人类经济活动的影响,森林砍伐、放火烧山、种植经济作物,导致疣粒野生稻本来就脆弱的生长环境受到极大的破坏。例如海南五指山畅好乡农民放火烧山,种植经济效益更高的作物,导致当地疣粒野生稻骤减。



A:普通野生稻;B:药用野生稻;C:疣粒野生稻  
A: *O. rufipogon* Griff.;B: *O. officinalis* Wall. ex G. Watt.;  
C: *O. meyeriana* (Zoll. & Moritzi) Baill.

图1 3种野生稻的生长环境  
Fig.1 The growth environment of three wild rice species

表3 海南省野生稻分布点的生境信息  
Table 3 The ecological environment of wild rice distribution sites in Hainan province

种类 Species	居群地点 Distribution	生境水旱状况 Flood and drought conditions	生境受光状况 Light receiving condition
普通野生稻 <i>O. rufipogon</i> Griff.	东方县	水塘	阳光直射
	琼山县	水塘	阳光直射
	美兰区	荒坡地	阳光直射
	秀英区 1	沼泽地	阳光直射
	秀英区 2(新增)	干涸水塘	阳光直射
	万宁市 1	沼泽地	阳光直射
	万宁市 3(新增)	水塘	阳光直射
	万宁市 4(新增)	干涸水塘	阳光直射
	文昌市 1	小河溪渠道旁	阳光直射
	文昌市 2	水塘	阳光直射
药用野生稻 <i>O. officinalis</i> Wall. ex G. Watt.	保亭县 1	小河溪渠道旁	阳光直射
	保亭县 3	小河溪渠道旁	阳光直射
	陵水县(保护区)	小河溪渠道旁	阳光直射
疣粒野生稻 <i>O. meyeriana</i> (Zoll. & Moritzi) Baill.	乐东县(保护区)	林下地	部分遮阴

2.1.3 海南野生稻的表型性状鉴定 野生稻天然杂合率较高,不同生态环境对野生稻表型影响较大,为了准确记录本次收集野生稻的原始形态形状,采集过程中对 14 个居群所采集的 210 份材料进行了详细形态性状调查(表4),调查内容主要包括各个居群不同种类野生稻的叶耳、叶耳颜色、株型、叶鞘色、鞘内色、分蘖力、叶舌茸毛、叶舌形状、叶舌颜色、节间颜色、穗型、芒、地下茎、落粒性和穗分枝等形态性状,以便进行进一步的分类鉴定。

表4 海南省野生稻各个居群的表型性状鉴定  
Table 4 Identification of phenotypic characters of wild rice populations in Hainan province

种类 Species	居群 地点 Distribution	叶耳 Auricle	叶耳 颜色 Ear color	株型 Plant type	叶鞘色 Leaf sheath color	鞘内色 Intrathecal color	分蘖力 Tillering capacity	叶舌 茸毛 Glossal pubescence	叶舌 形状 Tongue shape	叶舌 颜色 Tongue color	节间 颜色 Inter node color	穗型 Spik etype	芒 Awn	地下茎 Undergr- ound stem	落粒性 Shattering	穗分枝 Panicle branching
普通野生稻 <i>O. rufipogon</i> Griff.	东方县	有	黄绿	直立	紫	淡紫	强	普遍有	尖-渐尖	黄绿	黄绿	散	全长芒	有	高	三次枝梗
	琼山县	有	黄绿	半直立	绿	淡紫	弱	无	尖-渐尖	淡紫	黄绿	集中	全长芒	有	低	三次枝梗
	美兰区	有	黄绿	直立	绿	淡绿	强	无	尖-渐尖	淡紫	黄绿	散	部分长芒	有	中	三次枝梗
	秀英区1	有	黄绿	直立	淡紫	淡紫	弱	普遍有	尖-渐尖	黄绿	黄绿	集中	全长芒	有	高	三次枝梗
	秀英区2 (新增)	有	黄绿	半直立	淡紫	淡紫	强	普遍有	尖-渐尖	黄绿	黄绿	散	全短芒	有	高	三次枝梗
	万宁市1	有	黄绿	直立	淡紫	淡紫	弱	普遍有	尖-渐尖	黄绿	黄绿	散	全长芒	有	高	三次枝梗
	万宁市3 (新增)	有	绿	直立	紫	绿	强	无	尖-渐尖	淡紫	黄绿	散	全长芒	有	高	二次枝梗
	万宁市4 (新增)	有	黄绿	直立	淡紫	淡紫	强	普遍有	尖-渐尖	黄绿	黄绿	集中	全长芒	有	高	三次枝梗
	文昌市1	有	淡紫	半直立	绿	淡紫	弱	普遍有	尖-渐尖	淡紫	黄绿	散	全长芒	有	中	二次枝梗
	文昌市2	有	黄绿	匍匐	绿	淡绿	中	无	尖-渐尖	淡紫	黄绿	集中	全短芒	有	高	一次枝梗
药用野生稻 <i>O. officinalis</i> Wall. ex G. Watt.	保亭县1	有	黄绿	直立	紫	浅紫	强	普遍有	尖-渐尖	黄绿	紫条	散	部分短芒	有	高	二次枝梗
	保亭县3	有	淡紫	直立	淡紫	浅紫	强	普遍有	尖-渐尖	黄绿	紫条	散	全短芒	有	高	二次枝梗
	陵水县 (保护区)	有	淡紫	直立	绿	淡绿	弱	普遍有	尖-渐尖	黄绿	黄绿	集中	全长芒	有	高	三次枝梗
疣粒野生稻 <i>O. meyeriana</i> (Zoll. & Moritzi) Baill.	乐东县 (保护区)	有	淡紫	直立	淡紫	浅紫	弱	普遍有	平	黄绿	黄绿	集中	无芒	有, 不明显	高	无

经统计,3类野生稻均具有叶耳且普遍有绒毛,普通野生稻的叶耳颜色主要为绿色或黄绿色,而药用野生稻和疣粒野生稻的叶耳颜色主要为淡紫色;叶舌是在野外区分野生稻的重要特征之一,经分析发现普通野生稻和药用野生稻的叶舌性状均为尖-渐尖,而疣粒野生稻的叶舌较平;普通野生稻和疣粒野生稻的节间颜色主要是黄绿色,而药用野生稻主要为紫色;所观察到的野生稻株型绝大多数是直立和半直立,只有文昌市居群的普通野生稻是匍匐状态;在长期的进化过程中,为更好的传播种子,绝大多数植物具有较强的落粒性,调查收集的野生稻材料绝大多数也具有该特点。

## 2.2 海南野生稻抗白叶枯病鉴定

2.2.1 接种抗白叶枯生理小种 PXO99 抗病反应以供试材料的病斑长度的均值作为参考,经统计发现在192份野生稻材料中,132份材料对PXO99菌株表现出不同程度的抗病性,占有供试材料的69%。其中筛选出高抗(HR)材料5份,抗性(R)材料81份,中抗(MR)材料46份(图2)。

供试材料中,药用野生稻比普通野生稻表现出更强的抗性,其中筛选出的高抗性材料(平均病斑

长度<2cm)5份均来自药用野生稻(图3a)。药用野生稻表现中等抗性及以上的材料共39份(82.98%),普通野生稻表现中等抗性及以上的材料共93份(64.14%)。

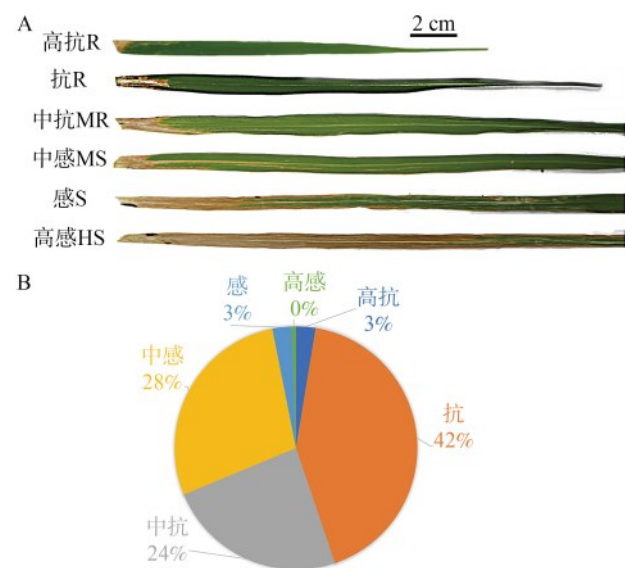
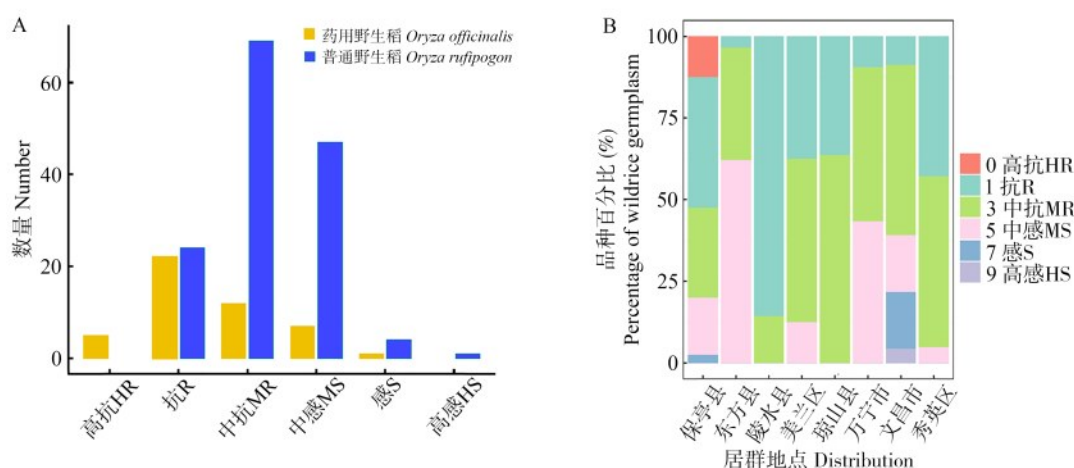


图2 供试材料的抗感反应及比例  
Fig.2 Ratio of resistant accessions of wildrice germplasm responsive to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, (Xoo) PXO99



相同县(市)的居群已合并计算  
Combined calculation of populations in the same county (city)

图3 药用野生稻和普通野生稻的抗感个数及比例

Fig.3 The number and ratio of resistant accessions of *O. rufipogon* Griff. and *O. officinalis* Wall. ex G. Watt. responsive to PXO99

野生稻通常是杂合体,个体间存在遗传差异<sup>[19]</sup>。居群内、居群间野生稻均表现出明显抗性差异(图3b)。对于药用野生稻分布的3个居群,保亭县的2个居群表现中等抗性及以上的占80%(32个);陵水县(保护区)的全部表现为中等及以上抗性。对于普通野生稻居群,琼山县的均表现抗及中抗,秀英区的2个居群的表现中抗及以上的占95.24%(20个),美兰区的表现中抗及以上的占87.5%(7个),文昌市的2个居群的表现中抗及以上的占60.87%(14个);万宁市的3个居群的表现中等抗性及以上的占56.6%(30个);东方县的表现抗占3.45%(1个)、中抗占34.48%(10个)。

**2.2.2 不同野生稻种的抗性反应** 用白叶枯病菌PXO99进行接种鉴定,对不同种野生稻发病叶片的病斑长度进行 $t$ 检验(图4),发现2种野生稻病斑长度有极显著差异( $P < 2.2e-16$ ),并且药用野生稻病斑长度显著小于普通野生稻,说明药用野生稻对白叶枯病菌PXO99的抗性更强。

**2.2.3 不同野生稻种的种内抗病反应** 接种白叶枯生理小种的野生稻平均病斑长度为4.8 cm,且供试野生稻材料病斑长度均显著低于对照感病品种金刚30(9.2 cm)。方差分析显示,野生稻种内不同自然居群材料接种白叶枯病菌PXO99的病斑长度表现出极显著不同(表5)。使用Tukey法对供试药用野生稻材料发病的病斑长度进行多重比较,结果表明(图5):药用野生稻不同居群对白叶枯病发病

的病斑长度存在显著差异,抗性表现为陵水县(保护区)=保亭县1>保亭县3。

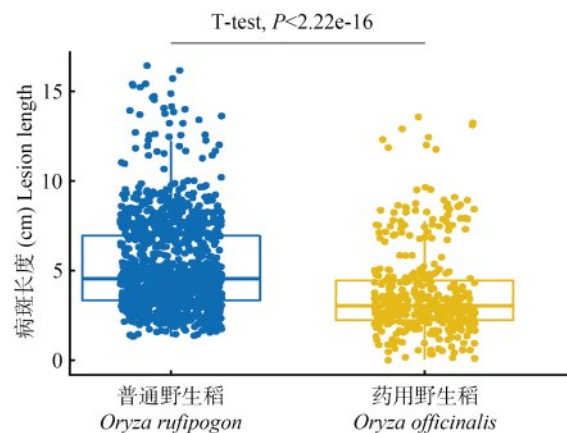


图4 普通野生稻和药用野生稻接种PXO99菌株的病斑长度

Fig.4 Lesion length of *O. rufipogon* Griff. and *O. officinalis* Wall. ex G. Watt. inoculated with PXO99

普通野生稻不同居群对白叶枯病的抗性表现也存在显著差异(表6),使用Tukey法进行多重比较(图6),结果表明:琼山县、万宁市3和秀英区1的野生稻居群发病的病斑长度显著小于其他居群,且三者之间无显著差异;其次,美兰区、秀英区2居群发病的病斑长度显著大于万宁市3,但与琼山县和秀英区1野生稻病斑长度无显著差异;文昌市2居群发病的病斑长度显著大于琼山县、万宁市3和秀英区2居群,但与秀英区1和美兰区的无显著差异;万宁市1、万宁市4、文昌市1和东方县4个居群发病的



病斑长度较大,其中文昌市1表现最差,万宁市1和东方县次之,万宁市4居中。

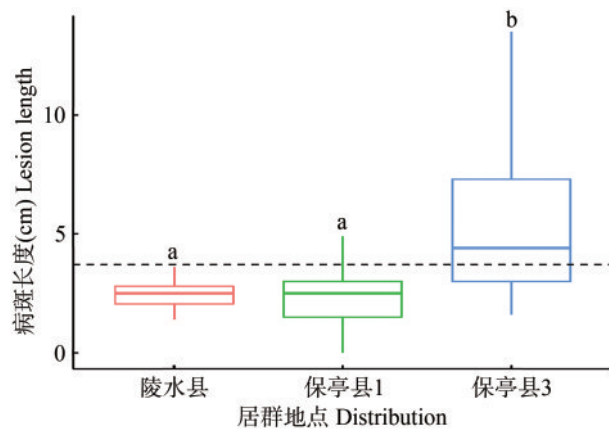
表5 药用野生稻不同居群白叶枯病斑长度方差分析

Table 5 ANOVA of lesion length caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in *O. officinalis* Wall. ex G. Watt.

变异来源 Variance source	自由度 df	平方和 Sum Square	均方 Mean Square	F值 F value	P值 Pr(>F)
居群 Distribution	2	788.3	394.2	97.52	<2e-16 ***
误差 Error	420	1697.5	4		
合计 Sum	422	2485.8			

\*\*\*: 居群之间呈现极显著不同 ( $P < 0.001$ ), 下同

\*\*\*: Extremely significant differences between distribution ( $P < 0.001$ ), the same as below



a and b 表示在  $P < 0.05$  水平上的差异显著性, 虚线为居群材料病斑长度均值, 下同

a and b showed significant difference at the level of  $P < 0.05$ , the dotted line is the mean value of the disease spot length of the population material, the same as below

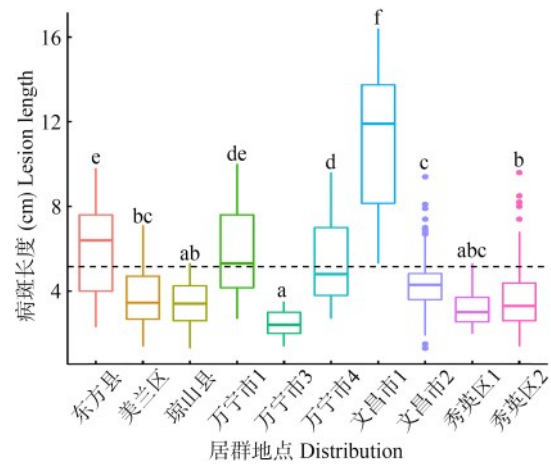
图5 药用野生稻接种 PXO99 菌株的病斑长度

Fig.5 Lesion length of *O. officinalis* Wall. ex G. Watt. inoculated with PXO99

表6 普通野生稻不同居群白叶枯病斑长度方差分析

Table 6 ANOVA of lesion length caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in *O. rufipogon* Griff.

变异来源 Variance source	自由度 df	平方和 Sum Square	均方 Mean Square	F值 F value	P值 Pr(>F)
居群 Distribution	9	4158	462	146.1	<2e-16 ***
误差 Error	1295	4095	3.2		
合计 Sum	1304	8253			



a, b, c, d, e, f 表示在  $P < 0.05$  水平上的差异显著性

a, b, c, d, e and f showed significant difference at the level of  $P < 0.05$

图6 普通野生稻接种 PXO99 菌株的病斑长度

Fig.6 Lesion length of *O. rufipogon* Griff. inoculated with PXO99

### 3 讨论

#### 3.1 海南野生稻濒危状况严重,亟需加强收集与保护

野生稻种质资源的保护和利用,对于提高水稻品种抗逆性和品质至关重要<sup>[20]</sup>。中国是野生稻资源最丰富的国家,分布十分广泛,南起海南三亚市崖州区,北至江西东乡县,东起台湾,西至云南省盈江县都发现过野生稻<sup>[21]</sup>。但经过本次调查收集,发现海南野生稻种质资源损失严重,且部分濒临灭绝风险。已发现的海南3种野生稻原生境居群消失率高达41%,受到人为干扰破坏率高达76%,亟需加强野生稻种质资源的收集与保护工作。

#### 3.2 海南野生稻抗白叶枯病资源丰富,应加大鉴定评价力度

充分利用野生近缘种中丰富的遗传变异是扩宽水稻遗传基础的重要途径<sup>[22]</sup>。本研究对采集的药用野生稻和普通野生稻共192份材料进行白叶枯(PXO99菌株)抗性的初步鉴定,结果显示,69%的材料表现出中抗及以上的抗性表现。此外,药用野生稻供试材料抗性表现显著优于普通野生稻。这与章琦等<sup>[23]</sup>的研究结果大致相同,分析可能由于药用野生稻与水稻的亲缘关系更远,导致对广致病菌菲律宾小种PXO99的抗性更强。

从材料来源看,不同居群间表现出明显抗性差异。其中高抗材料5份,均为来自保亭县的药用野生稻;陵水县(保护区)、琼山县取样的野生稻也都表

现出中等及以上抗性,分别有7份和11份材料;还筛选出20份抗性材料来自东方县、美兰区、万宁市、文昌市、秀英区等地。

发现相比于栽培稻,海南野生稻抗白叶枯病的种质资源比例较高<sup>[24]</sup>。今后应注意加强对海南野生稻白叶枯病抗性的研究,加大对野生稻抗病资源鉴定的力度,注重从海南野生稻中研究抗病基因的定位与抗病水稻的选育。本研究筛选的抗性材料为开展抗白叶枯病水稻新品种的组合提供了较好资源,可促进水稻抗白叶枯病育种的进一步发展。

**致谢:**感谢海南省农业科学院粮食作物研究所云勇所长、唐清杰研究员和周世圳农艺师在野外考察、鉴定和取样过程中给予的支持和帮助,感谢肖晓蓉博士提供的白叶枯病菌株PXO99菌株及在田间鉴定给予的指导。

#### 参考文献

- [1] 吴明月. 三个(半)矮秆水稻基因的遗传分析和基因定位. 北京:中国农业科学院,2020  
Wu M Y. Genetic analysis and gene mapping of three (semi-) dwarf genes in rice. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020
- [2] Tateoka T. Taxonomic studies of *Oryza* III. Key to the species and their enumeration. The Botanical Magazine Tokyo, 1963, 76: 165-173
- [3] 袁隆平. 中国的杂交水稻. 中国水稻科学, 1986(1): 8-18  
Yuan L P. Hybrid rice in China. Chinese Journal of Rice Science, 1986(1): 8-18
- [4] 杨庆文, 黄娟. 中国普通野生稻遗传多样性研究进展. 作物学报, 2013, 39(4): 580-588  
Yang Q W, Huang J. Research progress on genetic diversity of *Oryza rufipogon* in China. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(4): 580-588
- [5] 高立志, 张寿洲, 周毅, 葛颂, 洪德元. 中国野生稻的现状调查. 生物多样性, 1996, 4(3): 160-166  
Gao L Z, Zhang S Z, Zhou Y, Ge S, Hong D Y. A survey of the current status of wild rice in China. Chinese Biodiversity, 1996, 4(3): 160-166
- [6] 陈生斗, 胡伯海. 中国植物保护五十年. 北京: 中国农业出版社, 2003  
Chen S D, Hu B H. Fifty years of plant protection in China. Beijing: China Agricultural Press, 2003
- [7] 于洁, 王耀雯, 马文清, 王建岭, 王育荣, 赵开军, 王春连, 刘丕庆. 水稻抗白叶枯病基因Xa23群体的MAS育种研究. 华南农业大学学报, 2010, 31(4): 1-5  
Yu J, Wang Y W, Ma W Q, Wang J L, Wang Y R, Zhao K J, Wang C L, Liu P Q. The MAS research in the population of bacterial blight resistance gene Xa23 in rice. Journal of South China Agricultural University, 2010, 31(4): 1-5
- [8] 沈颖, 王华弟, 李仲惺, 叶建人, 赵敏. 水稻白叶枯病再流行原因分析与防控对策研究. 中国农学通报, 2016, 32(24): 180-185  
Shen Y, Wang H D, Li Z X, Ye J R, Zhao M. Re-epidemic causes and control measures for rice bacterial leaf blight. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32(24): 180-185
- [9] Mew T W. Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice. Annual Review of Phytopathology, 1987, 25: 359-382
- [10] 李定琴, 陈玲, 李维蛟, 柯学, 余腾琼, 李娥贤, 黄兴奇, 程在全. 云南3种野生稻中抗白叶枯病基因的鉴定. 作物学报, 2015, 41(3): 386-393  
Li D Q, Chen L, Li W J, Ke X, Yu T Q, Li E X, Huang X Q, Cheng Z Q. Identification of bacterial blight resistance gene in Yunnan wild rice. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(3): 386-393
- [11] 金燕, 卢宝荣. 遗传多样性的取样策略. 生物多样性, 2003, 11(2): 155-161  
Jin Y, Lu B R. Sampling strategy for genetic diversity. Biodiversity Science, 2003, 11(2): 155-161
- [12] 云勇, 唐清杰, 严小微, 孟卫东, 王效宁, 林尤珍. 海南野生稻资源调查收集与保护. 植物遗传资源学报, 2015, 16(4): 715-719  
Yun Y, Tang Q J, Yan X W, Meng W D, Wang X N, Lin Y Z. Field survey and conservation of wild rice resources in Hainan province. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(4): 715-719
- [13] 郑晓明, 周海飞, 陈文利, 周廉, 任宁宁, 刘荣, 孟庆霖, 耿牧帆, 刘开强, 李丹婷, 吕荣华, 马小定, 乔卫华, 朱永清, 卢宝荣, 杨庆文, 葛颂. 东南亚和南亚野生稻种质资源收集与初步研究. 植物遗传资源学报, 2020, 21(6): 1503-1511  
Zheng X M, Zhou H F, Chen W L, Zhou L, Ren N N, Liu R, Meng Q L, Geng M F, Liu K Q, Li D T, Lv R H, Ma X D, Qiao W H, Zhu Y Q, Lu B R, Yang Q W, Ge S. Collection and preliminary study of wild rice genetic resources in southeast and south Asia. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(6): 1503-1511
- [14] Sitch L A. Incompatibility barriers operating in crosses of *Oryza sativa* with related species and genera // Gene manipulation in plant improvement II. Boston, MA: Springer, 1990: 77-93
- [15] 宁茜, 张维林, 黄佳男, 阎轶峰, 严成其, 杨玲. 来源于疣粒野生稻的白叶枯病新抗源的鉴定. 植物遗传资源学报, 2014, 15(3): 620-624  
Ning X, Zhang W L, Huang J N, Yan Y F, Yan C Q, Yang L. Identification of new rice germplasms for resistance to bacterial blight from *Oryza meyeriana* L.. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(3): 620-624
- [16] 钱韦, 谢中稳, 葛颂, 洪德元. 中国疣粒野生稻的分布, 濒危现状和保护前景. 植物学报, 2001, 43(12): 1279-1287  
Qian W, Xie Z W, Ge S, Hong D Y. Distribution and conservation of an endangered wild rice *Oryza granulata* in China. Acta



- Botanica Sinica, 2001, 43(12): 1279-1287
- [17] 唐枝娟, 刘秦, 肖晓蓉, 牛晓磊. 白叶枯病菌感染下的水稻内参基因稳定性研究. 分子植物育种, 2017, 15(1): 300-306
- Tang Z J, Liu Q, Xiao X R, Niu X L. Selection of optimized candidate reference genes for Qrt-pcr normalization in rice during *Xanthomonas Oryzae* Pv. *Oryzae* Infection. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(1): 300-306
- [18] 方中达, 过崇俭. 中国水稻白叶枯病菌致病型的研究. 植物病理学报, 1990, 20(2):81-87
- Fang Z D, Guo C J. Studies on the pathogenicity of rice bacterial blight in China. Chinese Journal of Plant Pathology, 1990, 20(2): 81-87
- [19] 张万霞, 杨庆文. 中国野生稻收集、鉴定和保存现状. 植物遗传资源学报, 2003, 4(4): 369-373
- Zhang W X, Yang Q W. Collection, identification and conservation of wild rice in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2003, 4(4): 369-373
- [20] 王述民, 李立会, 黎裕, 卢新雄, 杨庆文, 曹永生, 张宗文, 高卫东, 邱丽娟, 万建民, 刘旭. 中国粮食和农业植物遗传资源状况报告(II). 植物遗传资源学报, 2011, 12(1): 167-177
- Wang S M, Li L H, Li Y, Lu X X, Yang Q W, Cao Y S, Zhang Z W, Gao W D, Qiu L J, Wan J M, Liu X. Status of plant genetic resources for food and agricultural in China(II). Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(1): 167-177
- [21] 洪德元. 抢救野生稻种质资源. 中国科学院院刊, 1995, 10(4): 2
- Hong D Y. Rescue wild rice germplasm resources. Journal of Chinese Academy of Sciences, 1995, 10(4): 2
- [22] 乔卫华, 张宏斌, 郑晓明, 陈宝雄, 陈彦清, 李奎奎, 程云连, 张丽芳, 方洸, 孙玉芳, 杨庆文. 我国作物野生近缘植物保护工作近20年的成就与展望. 植物遗传资源学报, 2020, 21(6): 1329-1336
- Qiao W H, Zhang H B, Zheng X M, Chen B X, Chen Y Q, Li Y K, Cheng Y L, Zhang L F, Fang W, Sun Y F, Yang Q W. Achievements on the conservation of wild relatives of crops in the past 20 years and future prospective in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(6): 1329-1336
- [23] 章琦, 李道远. 野生稻抗稻白叶枯病性 (*Xanthomonasoryzae* pv. *oryzae*) 的评价. 中国农业科学, 1994, 27(5):1-9
- Zhang Q, Li D Y. Evaluation on the resistance of wild rice to rice bacterial blight (*Xanthomonasoryzae* pv. *oryzae*). Scientia Agricultura Sinica, 1994, 27(5):1-9
- [24] 王明明, 张帆, 石英尧, 卓大龙, 胡丹丹, 周永力, 黎志康. 我国水稻微核心种质资源对白叶枯病抗性的鉴定和评价. 植物遗传资源学报, 2017, 18(4): 771-777
- Wang M M, Zhang F, Shi Y Y, Zhuo D L, Hu D D, Zhou Y L, Li Z K. Evaluation of bacterial blight resistance of Chinese micro core rice germplasm. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(4): 771-777