

漳浦野生稻表型遗传多样性分析及稻瘟病抗性评价

江 川, 朱业宝, 陈立喆, 张 丹, 王金英
(福建农业科学院水稻研究所, 福州 350018)

摘要: 本研究对 45 份漳浦野生稻的 43 个表型性状进行遗传多样性、相关性和聚类分析, 并采用田间病区诱发和室内接种鉴定两种方法进行苗期稻瘟病抗性鉴定评价。结果表明: (1) 漳浦野生稻具有丰富的遗传多样性。31 个质量性状中有 22 个性状出现不同程度的遗传分化, 其遗传多样性指数范围为 0.24~1.43, 其中叶色的遗传多样性指数最高; 12 个数量性状的遗传多样性指数范围为 1.83~2.09, 其中花药长度的遗传多样性指数最高, 表明该性状遗传多样性最丰富, 可作为特异性资源利用。(2) 12 个数量性状间的相关性分析表明穗长与剑叶叶舌长、倒二叶叶舌长、剑叶长、剑叶宽、芒长呈极显著正相关; 百粒重与芒长、谷粒长呈极显著和显著正相关。(3) 45 份漳浦野生稻可聚类为 5 个类群, 其中第Ⅲ类群和第Ⅴ类群均仅有 1 份材料, 分别是 M2005 和 M1001。(4) 通过 2 年的苗期稻瘟病抗性的鉴定, 田间病区诱发鉴定筛选出抗的材料 3 份, 中抗的材料 5 份; 室内接种鉴定筛选出中抗的材料仅 1 份; 其中材料 M1030 在田间病区诱发和室内接种的初鉴和复鉴中均表现为中抗。

关键词: 漳浦野生稻; 表型特征; 遗传多样性; 稻瘟病; 抗性

Phenotypic Diversity Analysis and Resistance Evaluation of Rice Blast in Zhangpu Wild Rice

JIANG Chuan, ZHU Ye-bao, CHEN Li-zhe, ZHANG Dan, WANG Jin-ying
(Rice Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350018)

Abstract: The genetic diversity, correlation and cluster analysis of 43 phenotypic traits in 45 Zhangpu wild rice germplasm resources were carried out. And resistance to rice blast at seedling stage was evaluated by natural inducement in experimental plot and inoculation in laboratory. The results showed that: (1) Zhangpu wild rice contain abundant genetic diversity. Among the 31 quality traits, 22 traits showed different degrees of genetic differentiation, and their genetic diversity index ranged from 0.24 to 1.43, among which the leaf color had the highest genetic diversity index. The genetic diversity index of 12 quantitative traits ranged from 1.83 to 2.09, and the genetic diversity index of anther length was the highest, indicating that the trait had the richest genetic diversity and could be used as a specific resource. (2) The correlation analysis among 12 quantitative traits showed that panicle length was significantly positive correlated with the ligule length of flag leaf and second leaf, flag leaf length and flag leaf width, respectively. 100 grains weight was positively correlated with awn length and grain length. (3) Forty-five Zhangpu wild rice materials could be clustered into five groups: I, II, III, IV and V. Among of them, only 1 material in Group III and Group V was M2005 and M1001, respectively. (4) Through two years' identification of rice blast resistance at seedling stage, 3 resistant materials and 5 moderate resistant materials were screened out by natural inducement in experimental plot, and only 1 moderate resistant material

收稿日期: 2019-03-27 修回日期: 2019-04-10 网络出版日期: 2019-05-23

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190327003>

第一作者主要从事水稻种质资源研究, E-mail: yenchun@yeah.net

通信作者: 王金英, 主要从事水稻种质资源研究, E-mail: wjy2233@126.com

基金项目: 福建省科技计划项目—省公益类科研院所基本科研专项 (2017R1021-4); 福建省农业科学院科技创新团队项目 (STIT2017-1-1); 物种品种资源保护费项目 (11821301354052031); 福建省重点农业县农作物种质资源的调查收集及其评价与应用 (A2017-8)

Foundation project: Basic Research Project of Provincial Scientific Research Institution (2017R1021-4), Scientific and Technical Innovation Group of Fujian Academy of Agricultural Sciences (STIT2017-1-1), Species Variety Resources Conservation Fee Project (11821301354052031), Investigation, Collection, Evaluation and Application of Crop Germplasm Resources in Key Agricultural Counties of Fujian Province (A2017-8)

was screened out by inoculation in laboratory, among which M1030 was moderate resistant.

Key words: Zhangpu wild rice; phenotypic characteristics; genetic diversity; rice blast; resistance

普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.) 是亚洲栽培稻的原始祖先, 长期经受各种自然灾害的筛选, 含有很多现有栽培稻所没有的优良性状和基因, 如抗病、抗虫、抗逆、高产等, 这对解决目前水稻生产上品种遗传基础狭窄, 保证水稻生产可持续发展具有重大意义^[1-2]。中国的普通野生稻最早于 1917 年由 Merrill 在广东罗浮山麓至石龙平原一带被发现, 1926 年丁颖在广州郊区也发现有普通野生稻, 之后, 普通野生稻在广东、广西、云南、海南、湖南、福建、江西和台湾相继被发现^[3]。中国是利用野生稻资源进行水稻杂交育种最早的国家, 多次水稻育种的重大突破都源于对野生稻遗传资源的成功利用^[4]。丁颖育成第一个有野生稻亲缘的优良水稻品种中山 1 号, 开创了野生稻与栽培稻远缘杂交育种的先河^[5]。袁隆平^[6]利用野生稻雄性不育基因成功培育的三系杂交水稻使杂交水稻育种取得了历史性飞跃, 杂交稻的大面积推广使水稻产量在矮化育种增产 20% 的基础上又平均提高了 20%。在这两次水稻育种变革中, 野生稻的优异基因均发挥了重大作用, 并且使我国的水稻育种水平走在了世界前列。

野生稻是水稻育种的关键遗传材料, 是粮食生产可持续发展的物质基础。但是, 近年来人为的干扰和生境破坏已使曾经相当丰富的普通野生稻资源正以惊人的速度消失, 成为濒危植物种之一^[7-9], 普通野生稻也被列为国家二级保护濒危植物^[10]。因此, 对野生稻资源进行合理保护和科学开发利用已经显得日益迫切, 开展普通野生稻的遗传多样性和保护生物学研究、深入挖掘野生稻的有利基因, 对提高水稻产量、改善稻米品质、保障粮食安全和保护生态环境安全具有重要战略意义。

福建漳浦野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.) 是我国经度分布最东 (117°08'E、23°43'N) 的普通野生稻分布点, 位于福建省漳浦县湖西畬族乡岭脚自然村古塘, 一面靠高速公路, 一面靠乡间公路, 两面靠农田, 面积约 200 m²。漳浦野生稻为水生性, 具越冬性, 茎的分蘖力强, 接近地面的茎节具有发达的鳞芽, 春天主要靠这些鳞芽再生成株。漳浦野生稻具有强的抗旱性、抗寒性和耐瘠薄性, 能抗多种病害, 是水稻育种的优良亲本^[11]。杨庆文^[12]利用 30 对 SSR 引物对全国包括漳浦野生稻在内的 7 个普通野生稻原生境保护点的样品进行遗传多样性分析, 遗传多样性指数从大到小顺序排列为: 广东 (0.5130)

> 海南 (0.4692) > 广西 (0.3860) > 湖南 (0.3520) > 江西 (0.3485) > 福建 (0.3154) > 云南 (0.1444), 7 个居群在聚类图上完全独立成群, 居群之间的个体没有任何交叉, 说明 7 个居群都应保护。目前国内外开展野生稻的研究已渐趋深入, 但对于普通野生稻合理保护和遗传育种利用起基础性作用的表型性状研究却较少。本研究对福建漳浦野生稻资源的表型性状进行较为全面的遗传多样性分析, 旨在为福建漳浦野生稻的合理保护和利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 1987 年采集于福建省漳浦县湖西畬族乡, 以种茎保存在福建省农业科学院水稻研究所网室的 45 份漳浦野生稻。

1.2 试验设计

供试材料于 2015-2016 年在福建省农科院水稻研究所试验农场、福建省农业科学院植物保护研究所稻瘟病鉴定圃和福建省上杭县茶地镇国家级水稻抗性鉴定示范基地进行。2 年试验方法和时间一致。采用完全随机设计, 每份材料设 3 次重复。4 月 20 日将野生稻的种茎再生苗移栽到试验田和鉴定圃种植, 每份材料 10 蔸, 株行距 80 cm × 100 cm。田间管理按照常规大田进行。

1.3 漳浦野生稻表型性状调查

参照《野生稻种质资源描述规范和数据标准》^[13]调查漳浦野生稻的形态学和生物学特征, 包括种质类型、叶耳、叶耳颜色、叶耳茸毛、生长习性、茎基部叶鞘色、鞘内色、叶片茸毛、叶色、剑叶角度、叶舌茸毛、叶舌形状、剑叶叶舌长、倒二叶叶舌长、叶舌颜色、穗型、开花期内外颖色、芒、开花期芒色、柱头颜色、花药长度、剑叶长、剑叶宽、地下茎有无、茎节颜色、茎秆长度、茎秆直径、节间颜色、高位分蘖、穗基部茸毛、穗颈长短、穗落粒性、穗分枝、穗长、谷粒长、谷粒宽、护颖形状、熟期内外颖表面、熟期内外颖茸毛、成熟期内外颖颜色、芒长、百粒重和种皮颜色等 43 个性状, 其中数量性状每份调查记载 5 个不同植株, 质量性状每份鉴定观察 10 个不同植株。2 次重复鉴定的平均数为最终鉴定结果。

1.4 漳浦野生稻稻瘟病的抗性鉴定

1.4.1 田间病区诱发鉴定

病圃设在福建省上杭县

茶地镇国家、省级水稻新品种抗性鉴定示范基地,该地雨量集中,空气湿度较大,年平均气温 20.1℃,日照时间短,是水稻稻瘟病的常发区和重发区。田间管理按照常规大田进行,并在水稻整个生育期保持适当水层,增施氮肥利于发病。待秧苗长到 3 叶 1 心时调查苗瘟发病情况,每份随机调查 50 株苗,田块四周及走道隔行插诱病兼感病对照品种丽江新团黑谷,凡初鉴表现中抗以上的材料 2016 年同期选入复鉴。

1.4.2 室内接种鉴定 病圃设在福建省农业科学院植保所采用雾化控温控湿的网室内进行。选用米糖培养基,接种病菌后于 25~30℃ 下培养 6~8 d,中间用黑光灯照射和振荡培养,促进产生孢子,待秧苗长到 3 叶 1 心时喷施浓度约为 1×10^5 个/mL 孢子的不同菌株菌液,控温控湿促发病;接菌处理 7~10 d 时调查各野生稻及对照种的发病情况,每份随机调查 50 株苗,凡初鉴表现中抗及以上的材料 2016 年同期选入复鉴。

1.4.3 抗性评价标准 参照《野生稻种质资源描述规范和数据标准》^[13]进行抗性评价,按 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 级记载,0 级为免疫,1 级为高抗,2~3 级为抗,4~5 级为中抗,6~7 级为感病,8~9 级为高感;感病对照品种为丽江新团黑谷,抗病对照品种为特特普。

1.5 数据统计分析

利用 Microsoft Office Excel 2007 软件计算各调查性状的平均值、标准差、变异范围、变异系数以及遗传多样性指数。利用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件进行相关性分析及系统聚类分析。

根据平均数、标准差将材料分为 10 级,从第 1 级 ($X_i < -2\sigma$) 到第 10 级 ($X_i \geq 2\sigma$),每 0.5 σ 标准差为 1 级,每一组的相对频率用于计算多样性指数。

采用香农-维纳指数 (Shannon Wiener index, H') 衡量群体遗传多样性大小,其计算公式^[14]如下:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

其中, P_i 为某一性状第 i 级别内材料份数占总份数的百分比, \ln 为自然对数, S 为分级类型总数。

2 结果与分析

2.1 漳浦野生稻表型的遗传多样性分析

2.1.1 质量性状遗传多样性 调查了 45 份漳浦野生稻的 31 个质量性状,有 9 个性状没有分化,表现出唯一性状,分别是多年生、有叶耳、全长芒、柱头淡紫色、有地下茎、穗落粒性高、熟期内外颖表面无疣

粒、熟期内外颖茸毛上部有、叶舌普遍有茸毛;其余 22 个性状均出现不同程度的分化,遗传多样性指数范围为 0.24~1.43 (表 1),从大到小顺序依次为:叶色 > 茎节颜色 > 生长习性 > 叶舌颜色 > 高位分蘖 > 开花期内外颖颜色 = 节间颜色 > 鞘内色 > 叶耳色 > 穗颈长短 > 茎基部叶鞘色 > 剑叶角度 > 穗基部茸毛 = 护颖形状 > 开花期芒色 > 叶耳茸毛 > 熟期内外颖颜色 > 种皮色 > 叶片茸毛 > 穗型 > 叶舌形状 > 穗分枝。这 22 个性状中的遗传多样性指数以叶色最高,表明该性状遗传多样性最丰富,分化成黄绿色、绿色、叶缘紫、紫斑和紫尖的频率分别为 4.44%、35.55%、20.00%、28.88% 和 11.11%;其次是茎节颜色,分化成绿色、紫斑、紫色和褐斑的频率分别为 29.54%、18.18%、27.27% 和 25.00%;穗分枝的遗传多样性指数最低,分化为第 1 次枝梗和第 2 次枝梗,其频率分别为 6.66%、93.33%。这些质量性状具有丰富的遗传多样性,可为水稻育种的遗传改良奠定物质基础。

2.1.2 数量性状遗传多样性 45 份漳浦野生稻 12 个数量性状的调查统计结果见表 2,各数量性状均存在不同程度的变异,变异系数在 5.92~26.86,这 12 个表型性状的变异系数除谷粒长和谷粒宽较小外,其他性状的变异系数都较大,其中剑叶叶舌长的变异系数最大为 26.86%,其次为倒二叶叶舌长和剑叶长。

12 个数量性状的遗传多样性指数范围为 1.83~2.09,其中花药长度的遗传多样性指数最高,表明该性状遗传多样性最丰富,可作为特异性资源利用。变异系数和遗传多样性指数在不同性状上的表现并不一致,如剑叶叶舌长的变异系数最大但遗传多样性指数并不是最高,其原因是它们反映遗传变异的内涵不同,变异系数反映的是某一性状变异范围,而遗传多样性指数则是指某一性状的不同表现等级和数量分布^[15]。

2.1.3 表型性状间的相关性分析 对漳浦野生稻资源存在数量性状差异的 12 个主要表型性状进行相关性分析 (表 3),茎秆直径、谷粒宽与其他性状相关性不显著;茎秆长度与 1 个性状呈极显著正相关;花药长度、谷粒长、芒长和百粒重与其他 2 个性状呈极显著或显著正相关;剑叶宽与其他 3 个性状呈极显著正相关;倒二叶叶舌长、剑叶长与其他 4 个性状呈极显著或显著正相关;剑叶叶舌长、穗长与其他 5 个性状呈极显著或显著正相关;由相关分析结果可知,漳浦野生稻的穗长与剑叶叶舌长、倒二叶叶舌长、剑叶长、剑叶宽、芒长呈极显著正相关;百粒重与芒长呈极显著正相关,与谷粒长呈显著正相关。

表 1 22 个质量性状的遗传多样性指数及其分化频率
Table 1 Genetic diversity index and differentiation frequency of 22 qualitative traits

| 性状 Traits | 遗传多样性指数 <i>H'</i> | 频率 (%) Frequency | | | | | |
|---------------|----------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 叶耳颜色 ARC | 1.19 | 53.33 | 13.33 | 0 | 13.33 | 20.00 | |
| 茎基部叶鞘色 BSC | 1.07 | 0 | 24.44 | 33.33 | 42.22 | | |
| 鞘内色 ILSC | 1.22 | 35.55 | 6.66 | 17.77 | 40.00 | | |
| 叶色 BC | 1.43 | 4.44 | 35.55 | 20.00 | 28.88 | 11.11 | 0 |
| 叶舌颜色 LC | 1.29 | 26.66 | 35.55 | 28.88 | 8.88 | | |
| 开花期内外颖颜色 LPCF | 1.26 | 2.70 | 45.94 | 8.10 | 10.81 | 32.43 | 0 |
| 开花期芒色 AWC | 0.80 | 4.44 | 0 | 0 | 62.22 | 33.33 | 0 |
| 节间颜色 IC | 1.26 | 15.55 | 17.77 | 11.11 | 53.33 | 2.22 | |
| 熟期内外颖颜色 LPCM | 0.70 | 17.94 | 2.56 | 0 | 0 | 76.92 | 2.56 |
| 种皮颜色 SCC | 0.67 | 0 | 39.53 | 60.46 | 0 | 0 | 0 |
| 茎节颜色 SNC | 1.37 | 0 | 29.54 | 18.18 | 27.27 | 25.00 | |
| 叶耳茸毛 AP | 0.72 | 2.22 | 31.11 | 66.66 | | | |
| 叶片茸毛 BP | 0.65 | 74.41 | 23.25 | 0 | 2.32 | 0 | |
| 穗基部茸毛 PBP | 0.90 | 48.64 | 45.94 | 2.70 | 2.70 | | |
| 生长习性 GH | 1.34 | 13.33 | 31.11 | 31.11 | 24.44 | | |
| 剑叶角度 FLA | 0.99 | 0 | 14.28 | 35.71 | 50.00 | | |
| 叶舌形状 LS | 0.39 | 13.33 | 86.66 | 0 | 0 | 0 | |
| 穗型 PT | 0.50 | 0 | 2.22 | 84.44 | 13.33 | | |
| 高位分蘖 THN | 1.27 | 28.88 | 42.22 | 11.11 | 17.77 | | |
| 穗颈长短 PE | 1.10 | 9.75 | 7.31 | 56.09 | 26.82 | | |
| 穗分枝 SBP | 0.24 | 6.66 | 93.33 | 0 | | | |
| 护颖形状 SLS | 0.90 | 0 | 17.77 | 17.77 | 64.44 | | |

1、2、3、4、5、6 分别代表记载标准^[13]
1, 2, 3, 4, 5, 6 represent recorded standard, respectively^[13]. ARC: Auricle color, BSC: Basal sheath color, ILSC: Inside leaf sheath color, BC: Blade color, LC: Ligule color, LPCF: Lemma and pales color at flowering, AWC: Awns color, IC: Internode color, LPCM: Lemma and palea color at maturity, SCC: Seed coat color, SNC: Stem nodes color, AP: Auricle pubescence, BP: Blade pubescence, PBP: Pubescence on base of panicle, GH: Growth habit, FLA: Flag leaf angle, LS: Ligule shape, PT: Panicle type, THN: Tillering from higher nodes, PE: Panicle exertion, SBP: Secondary branching of panicle, SLS: Sterile lemma shape

表 2 12 个数量性状的统计结果及遗传多样性指数
Table 2 Statistical results and genetic diversity index of 12 qualitative traits

| 性状 Traits | 平均值 Mean | 标准差 <i>SD</i> | 变异范围 Range | 变异系数 (%) <i>CV</i> | 遗传多样性指数 <i>H'</i> |
|--------------------|-------------|------------------|---------------|-------------------------|----------------------|
| 剑叶叶舌长 (mm) LLFL | 11.89 | 3.19 | 5.00~20.35 | 26.86 | 1.97 |
| 倒二叶叶舌长 (mm) LLSL | 29.27 | 6.52 | 18.45~47.60 | 22.28 | 1.87 |
| 花药长度 (mm) ATL | 4.70 | 0.49 | 3.70~6.05 | 10.42 | 2.09 |
| 剑叶长 (cm) FLL | 26.46 | 5.88 | 14.54~46.02 | 22.24 | 1.99 |
| 剑叶宽 (mm) FLW | 9.33 | 1.23 | 6.65~11.95 | 13.17 | 1.99 |
| 茎秆长度 (cm) CL | 110.20 | 14.21 | 78.00~144.98 | 12.89 | 2.06 |
| 茎秆直径 (mm) CD | 5.40 | 0.76 | 3.99~7.15 | 14.02 | 2.07 |
| 穗长 (cm) PL | 29.14 | 4.80 | 18.48~37.58 | 16.47 | 2.05 |
| 谷粒长 (mm) GL | 8.04 | 0.48 | 7.10~9.57 | 5.92 | 1.83 |
| 谷粒宽 (mm) GW | 2.05 | 0.14 | 1.76~2.49 | 6.78 | 1.96 |
| 芒长 (mm) AWL | 69.80 | 11.87 | 48.00~102.60 | 17.00 | 1.94 |
| 百粒重 (g) 100GW | 1.49 | 0.20 | 1.21~1.98 | 13.42 | 1.93 |

LLFL: Ligule length of flag leaf, LLSL: Ligule length of second leaf, ATL: Anther length, FLL: Flag leaf length, FLW: Flag leaf width, CL: Culm length, CD: Culm diameter, PL: Panicle length, GL: Grain length, GW: Grain width, AWL: Awn length, 100GW: 100 Grains weight, the same as below

表 3 漳浦野生稻 12 个表型性状间的相关系数

Table 3 Correlation coefficient between 12 phenotypic traits

| 性状 Traits | 剑叶 叶舌长 LLFL | 倒二叶 叶舌长 LLSL | 花药 长度 ATL | 剑叶长 FLL | 剑叶宽 FLW | 茎秆 长度 CL | 茎秆 直径 CD | 穗长 PL | 谷粒长 GL | 谷粒宽 GW | 芒长 AWL |
|--------------|-------------------|--------------------|-----------------|------------|------------|----------------|----------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| 倒二叶叶舌长 LLSL | 0.566** | | | | | | | | | | |
| 花药长度 ATL | 0.310* | 0.048 | | | | | | | | | |
| 剑叶长 FLL | 0.376* | 0.468** | 0.245 | | | | | | | | |
| 剑叶宽 FLW | 0.271 | 0.483** | 0.037 | 0.632** | | | | | | | |
| 茎秆长度 CL | 0.427** | 0.093 | 0.126 | 0.182 | 0.153 | | | | | | |
| 茎秆直径 CD | 0.103 | 0.184 | -0.094 | 0.221 | 0.116 | 0.095 | | | | | |
| 穗长 PL | 0.431** | 0.432** | 0.079 | 0.620** | 0.674** | 0.220 | 0.254 | | | | |
| 谷粒长 GL | -0.177 | -0.090 | 0.374* | -0.101 | -0.145 | -0.068 | -0.281 | -0.202 | | | |
| 谷粒宽 GW | -0.078 | -0.105 | 0.208 | 0.135 | 0.280 | -0.001 | 0.078 | 0.100 | 0.254 | | |
| 芒长 AWL | 0.170 | -0.023 | 0.288 | 0.291 | 0.263 | 0.192 | 0.238 | 0.380** | 0.174 | 0.174 | |
| 百粒重 100GW | 0.034 | -0.164 | 0.272 | -0.048 | -0.040 | 0.200 | -0.126 | -0.101 | 0.313* | 0.084 | 0.443** |

** 表示在 0.01 水平上极显著, * 表示在 0.05 水平上显著

** means significance at 1% probability level, * means significance at 5% probability level

2.1.4 表型性状聚类分析 根据 45 份漳浦野生稻材料 12 个数量性状的调查观测值,用欧氏距离、离差平方和法进行聚类分析(图 1、表 4),在遗传距离为 17.5 时,可将漳浦野生稻聚类分为 5 个类群:第 I 类群 32 份,这类植株的平均剑叶长度、谷粒宽度在 5 个类群中最小;第 II 类群 6 份,这类植株的平均花药长度、谷粒长和百粒重在 5 个类群中最大;第 III 类群 1 份,即 M2005,其茎秆长度(78 cm)在 45 份野生稻资源中表现最短,且剑叶叶舌长、花药长度、剑叶宽、茎秆直径、穗长、谷粒长、芒长和百粒重在 5 个类群中最小,被单独聚为一类;第 IV 类群 5 份,这类植株的平均剑叶长、茎秆直径在 5 个类群中最大;第 V 类群仅 1 份,即 M1001,其倒二叶叶舌长(47.60 mm)和芒长(102.56 mm)在 45 份野生稻资源中表现最长,也被单独聚为一类。

2.2 漳浦野生稻的稻瘟病抗性鉴定

2015 年采用田间病区诱发和室内接种稻瘟病混合菌株两种方法对 45 份野生稻材料进行稻瘟病抗性的初次鉴定,2016 年同期对上一年度表现中抗以上的材料进行复鉴(表 5)。2015 年在田间病区诱发稻瘟病初鉴的 45 份材料中,表现免疫有 3 份、占 6.67%,中抗有 5 份、占 11.11%,感病有 6 份、占 13.33%,高感 31 份、占 68.89%;在室内接种方法中初鉴的 45 份材料中,中抗 1 份、占 2.22%,感病 4 份、占 8.89%,高感 40 份、占 88.89%。2016 年田间诱发稻瘟病复鉴的 8 份材料中,表现抗病有 3 份,中抗有 5 份;室内接种复鉴的 1 份材料中,仍表现中抗;综合初鉴和复鉴的结果,只有材料 M1030 在 4 次

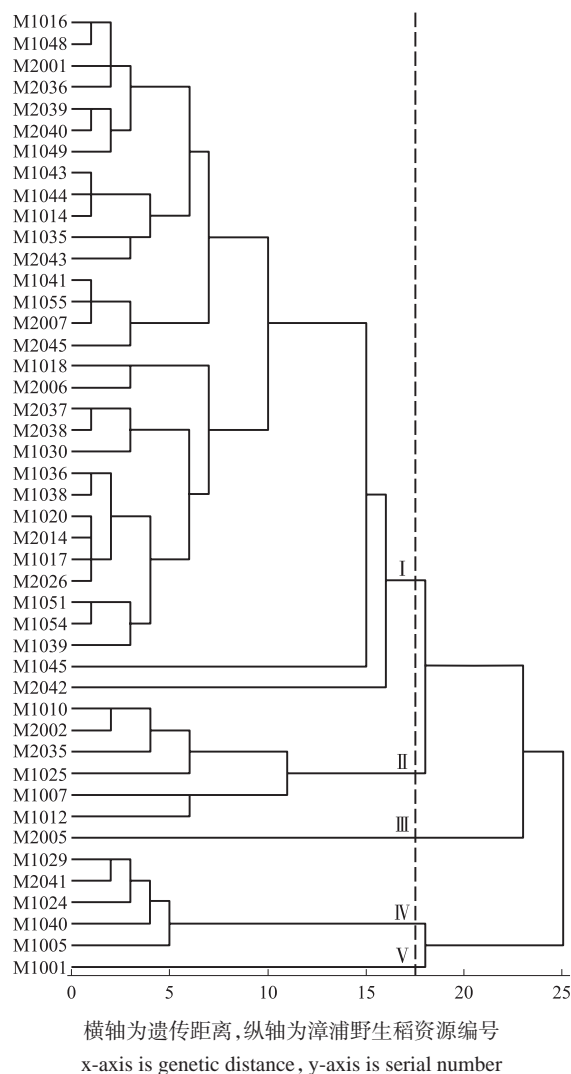


图 1 45 份漳浦野生稻种质资源表型性状聚类图
Fig.1 Cluster chart of 45 Zhangpu wild rice germplasm resources using the phenotypic datasets

表 4 漳浦野生稻 5 个类群的各表型性状差异

Table 4 Phenotypic traits differences of five class group of Zhangpu wild rice

| 类群 Class group | 剑叶 叶舌长 (mm) LLFL | 倒二叶 叶舌长 (mm) LLSL | 花药 长度 (mm) ATL | 剑叶长 (cm) FLL | 剑叶宽 (mm) FLW | 茎秆 长度 (cm) CL | 茎秆 直径 (mm) CD | 穗长 (cm) PL | 谷粒长 (mm) GL | 谷粒宽 (mm) GW | 芒长 (mm) AWL | 百粒重 (g) 100GW |
|----------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|------------------------|------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| I | 11.60 | 28.58 | 4.66 | 24.96 | 9.06 | 108.86 | 5.34 | 27.78 | 8.05 | 2.04 | 65.02 | 1.47 |
| II | 11.63 | 27.88 | 4.90 | 28.53 | 9.92 | 98.78 | 5.59 | 31.80 | 8.12 | 2.07 | 87.82 | 1.59 |
| III | 9.20 | 23.70 | 4.25 | 26.32 | 7.95 | 78.00 | 4.95 | 27.73 | 7.53 | 2.06 | 53.95 | 1.24 |
| IV | 13.33 | 32.76 | 4.82 | 32.53 | 10.23 | 135.05 | 5.60 | 33.49 | 7.94 | 2.09 | 75.39 | 1.57 |
| V | 18.05 | 47.60 | 4.65 | 31.70 | 11.00 | 129.71 | 5.58 | 36.58 | 8.00 | 2.20 | 102.55 | 1.44 |

表 5 漳浦野生稻苗期稻瘟病抗性室内接种和田间自然诱发的鉴定结果

Table 5 Identification of Blast Resistance of Zhangpu wild rice at seedling stage by indoor inoculation and field natural inducement in experimental plot

| 鉴定方法 Identification methods | 鉴定时间(年) Identification time (year) | 鉴定份数 Number of identification materials | 各抗性级别的材料份数 Number of materials with different resistance scales | | | | | |
|---|--|--|--|-------|-----|-------|-----|-------|
| | | | 免疫 IM | 高抗 HR | 抗 R | 中抗 MR | 感 S | 高感 HS |
| 田间病区诱发鉴定 Natural inducement identification in experimental plot | 2015 | 45 | 3 | 0 | 0 | 5 | 6 | 31 |
| 田间病区复鉴 Repeated natural inducement identification in experimental plot | 2016 | 8 | 0 | 0 | 3 | 5 | 0 | 0 |
| 室内接种鉴定 Inoculation identification in laboratory | 2015 | 45 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 40 |
| 室内接种复鉴 Repeated inoculation identification in laboratory | 2016 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |

IM: Immune, HR: Highly resistant, R: Resistant, MR: Moderate resistant, S: Susceptive, HS: Highly susceptible

鉴定中均稳定表现出中抗稻瘟病。因此,可充分挖掘利用野生稻 M1030 的抗病基因并将其应用于育种。

3 讨论

3.1 漳浦野生稻具有丰富的遗传多样性

通过调查 45 份漳浦野生稻资源形态特征和生物学特征中的 43 个性状,发现漳浦野生稻在质量性状和数量性状上都存在非常丰富的变异。漳浦野生稻的粒型长宽比与籼稻类似。漳浦野生稻一般是靠休眠芽(地下茎或未枯死的地上茎节处)来进行无性繁殖,是多年生的普通野生稻,见穗期除 2 株在 8 月中旬见穗外,其他都集中在 9 月下旬至 10 月下

旬。漳浦野生稻很可能在原生境就已经发生了群体内部的遗传分化。综合一系列相关系数,发现漳浦野生稻的表型性状变异具有一定的规律性,即芒长越长、谷粒长度越长其百粒重也越重;剑叶叶舌长度越长、倒二叶叶舌长度越长、剑叶长度越长、剑叶宽度越宽,芒长越长其穗长也越长。根据聚类分析结果,漳浦野生稻可分为 5 个类群,不同类群在 12 个表型性状上具有明显差异,特别是第Ⅲ、第Ⅴ类群都只有 1 份材料,因某个性状和其他类群差异太大而被单独聚为一类,说明漳浦野生稻 45 份材料虽然来自同一个居群,但内部已经发生丰富的遗传分化。

3.2 漳浦野生稻的稻瘟病抗性鉴定评价

本研究通过对漳浦野生稻进行稻瘟病苗瘟的初

次鉴定和复鉴,发现 45 份漳浦野生稻材料田间病区诱发和室内稻瘟病菌接种的初次鉴定结果不一致。室内混合菌株接种后表现中抗的材料仅 1 份,其他 44 份材料为感病或高感材料;田间病区诱发鉴定后表现中抗及以上的材料有 8 份,其他 37 份材料为感病或高感材料。不同的稻瘟病鉴定方法由于稻瘟病菌生理小种、菌株不同可能会引起抗性的差异。田间病区诱发初鉴得到的 8 份中抗及以上材料经过复鉴其抗性又发生变化,初鉴中 3 份免疫的材料经过复鉴变成 2 份抗和 1 份中抗,而原来 1 份中抗反而变成抗病,这与李湘民等^[16]对东乡野生稻和潘大建等^[17]对广东高州野生稻鉴定结果相似。是否因不同年份温度、湿度、日照等气候条件的改变导致稻瘟病生理小种及致病性变异而表现出抗性不稳定现象,有待进一步研究。植物垂直抗病性具有特异性或专化性,即对某些生理小种免疫或高抗,但对另一些生理小种表现感病,因而不同的菌株接种产生的抗病等级会存在差异^[18]。因此,经复鉴选出的漳浦野生稻抗稻瘟病材料还需进一步开展其他菌株特别是代表福建稻瘟病高发区优势生理小种菌株进行接菌鉴定试验,同时在国家、省级水稻新品种抗稻瘟病鉴定示范基地采用田间病区诱发进行多年抗性鉴定评价,提高抗性材料利用的准确性。

3.3 福建漳浦野生稻在育种上的利用

福建漳浦野生稻的遗传多样性和表型变异丰富。福建省农业科学院水稻研究所特种稻课题杨德卫等^[19]利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术对 CSSL37 的 YSA 基因进行定点编辑,其中株系 CSSL37 中来自漳浦野生稻供体片段含有 YSA 基因,该株系含有漳浦野生稻片段长度约 12.3 Mb,结果表明,获得 CSSL37 株系的转基因苗 20 株,有 18 个株系在目标区域内序列均发生变化,其中有 2 个株系在 T₀ 已经纯合,出现目标性状的表型。福建省农科院水稻所籼三系课题利用漳浦野生稻 M1051 稻株,经与野败三系不育系民源 A 和 321A 测交,发现漳浦野生稻 M1051 对野败三系不育系具有强恢复力,用漳浦野生稻 M1051 为父本与水稻三系恢复系福恢 5388、福恢 5468、Re775 杂交配组,以期选育耐寒性强、分蘖力强、有效穗多的强优恢复系,现已创制出初具育种目标的恢复系中间材料 35 份。王乃元等^[20]利用福建漳浦野生稻育成金农 1A、金农 2A、金农 3A 等 12 个新型细胞质源(CMS-FA)雄性不育系,并以福建漳浦野生稻为亲本,培育出金恢 1 号、金恢 2 号、金恢 3 号等恢复系,应用这些不育

系、恢复系进一步培育成具有福建漳浦野生稻遗传基础的杂交稻组合金农 2 优 3 号(金农 2A × 金恢 3 号)和金农 3 优 3 号(金农 3A × 金恢 3 号),并分别于 2010 年、2012 年通过福建省农作物品种审定委员会审定,在生产上推广应用。该新质源不育系、恢复系和杂交稻的育成,增加了水稻不育系细胞类型,丰富了杂交稻遗传多样性,推动了杂交稻创新研究与应用。福建漳浦野生稻在水稻遗传改良中具有广阔的应用前景。今后以遗传多样性及表型性状鉴定评价为基础,开展漳浦野生稻种质资源创新利用,结合分子标记辅助选择手段对漳浦野生稻进行深入研究利用,为水稻育种提供优异基因。

参考文献

- [1] 李金泉,杨秀青,卢永根. 水稻中山 1 号及其衍生品种选育和推广的回顾与启示. 植物遗传资源学报, 2009, 10(2): 317-323
Li J Q, Yang X Q, Lu Y G. The reviews and enlightenments on the breeding and popularization of rice variety yastan No.1 and its derived ones. Journal of Plant Genetic Resources, 2009, 10(2): 317-323
- [2] Giuliani R, Koteyeva N, Voznesenskaya E, Evans M A, Cousins A B, Edwards G E. Coordination of leaf photosynthesis, transpiration, and structural traits in rice and wild relatives (genus *Oryza*). Plant Physiology, 2013, 162(3): 1632-1651
- [3] 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
- [4] 范树国,张再君,刘林,刘鸿先,梁承邺. 中国野生稻遗传资源的保护及其在育种中的利用. 生物多样性, 2000, 8(2): 198-207
Fan S G, Zhang Z J, Liu L, Liu H X, Liang C Y. Conservation of wild rice genetic resources in China and their utilization in breeding. Biodiversity Science, 2000, 8(2): 198-207
- [5] 王金英,江川. 野生稻资源研究及其在水稻育种上的利用现状. 福建稻麦科技, 2005, 23(2): 1-4
Wang J Y, Jiang C. Research and utilization status of wild rice resources on rice breeding. Fujian Science and Technology of Rice and Wheat, 2005, 23(2): 1-4
- [6] 袁隆平. 杂交水稻的育种战略设想. 杂交水稻, 1987, 2(1): 1-3
Yuan L P. The strategy for hybrid rice development. Hybrid Rice, 1987, 2(1): 1-3
- [7] 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. Biodiversity Science, 1996, 4(3): 160-166
- [8] 庞汉华. 建立野生稻原地自然保护点已刻不容缓. 中国种业, 1996(4): 22-44

- Pang H H. It is imperative to establish the natural protection point of wild rice *in situ*. China Seed Industry, 1996(4): 22-44
- [9] 杨庆文, 张万霞, 贺丹霞, 陈大洲, 戴陆元, 陈成斌, 黄坤德. 中国野生稻原生境保护方法研究. 植物遗传资源学报, 2003, 4(1): 63-67
- Yang Q W, Zhang W X, He D X, Chen D Z, Dai L Y, Chen C B, Huang K D. Studies on in-situ conservation methods of wild rice in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2003, 4(1): 63-67
- [10] 傅立国. 中国植物红皮书. 北京: 科学出版社, 1992: 314-316
- Fu L G. Red book of Chinese plant. Beijing: Science Press, 1992: 314-316
- [11] 林色标, 陈丽华, 洪彬艺. 漳浦县野生稻“浦野一号”的特征特性与利用价值. 福建稻麦科技, 2004, 22(4): 31
- Lin S B, Chen L H, Hong B Y. Characteristics and utility value of Zhangpu wild rice 'Pu ye yi hao'. Fujian Science and Technology of Rice and Wheat, 2004, 22(4): 31
- [12] 杨庆文. 中国普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.) 的遗传多样性及其保护研究. 北京: 中国农业大学, 2004
- Yang Q W. Study on genetic diversity and conservation of *Oryza Rufipogon* Griff. in China. Beijing: China Agricultural University, 2004
- [13] 陈成斌, 潘大建. 野生稻种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006: 11
- Chen C B, Pan D J. Descriptor and data standard for wild rice. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 11
- [14] 聂石辉, 彭琳, 王仙, 季良. 鹰嘴豆种质资源农艺性状遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2015, 16(1): 64-70
- Nie S H, Peng L, Wang X, Ji L. Genetic diversity of agronomic traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(1): 64-70
- [15] 凌磊. 利用 SRAP 标记和形态标记分析彩色棉和白色棉遗传差异. 合肥: 安徽农业大学, 2009
- Ling L. Genetic difference analysis between colored cotton and white cotton by SRAP markers and morphological markers. Hefei: Anhui Agricultural University, 2009
- [16] 李湘民, 黄瑞荣, 兰波, 肖叶青, 陈大洲. 东乡野生稻种质资源的抗病性研究. 江西农业大学学报: 自然科学版, 2006, 28(4): 493-497
- Li X M, Huang R R, Lan B, Xiao Y Q, Chen D Z. Studies on the resistance of plasm germ resources of *Oryza sativa f. spontanea* Roschev. to rice diseases. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis: Natural Sciences Edition, 2006, 28(4): 493-497
- [17] 潘大建, 范芝兰, 朱小源, 李晨, 周汉钦, 陈建西, 杨健源. 广东高州普通野生稻稻瘟病抗性鉴定. 植物遗传资源学报, 2008, 9(3): 358-361
- Pan D J, Fan Z L, Zhu X Y, Li C, Zhou H Q, Chen J Y, Yang J Y. Identification of rice blast resistance of *Oryza rufipogon* Griff. indigenous to Gaozhou, Guangdong province. Journal of Plant Genetic Resources, 2008, 9(3): 358-361
- [18] 陈灿, 郭辉, 张晓丽, 刘百龙, 秦学毅, 冯锐. 广西野生稻稻瘟病抗性鉴定及抗源地理分布. 南方农业学报, 2017, 48(11): 1999-2003
- Chen C, Guo H, Zhang X L, Liu B L, Qin X Y, Feng R. Blast resistance identification for wild rice from Guangxi and geographical distribution of resistant resources. Journal of Southern Agriculture, 2017, 48(11): 1999-2003
- [19] 杨德卫, 郑向华, 项光海, 曹源伟, 程朝平, 叶宁, 黄凤凰, 王皓毅, 叶新福. 利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术对 CSSL37 的 YSA 基因进行定点编辑. 分子植物育种, 2018, 16(6): 1818-1824
- Yang D W, Zheng X H, Xiang G H, Cao Y W, Cheng C P, Ye N, Huang F H, Wang H Y, Ye X F. Editing of YSA gene of CSSL37 based on CRISPR-Cas9 gene editing system. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(6): 1818-1824
- [20] 王乃元, 李毓, 王颖, 陈爱媚, 梁康迳, 张敏, 陈启军, 王建文, 胡启亮, 陈建康, 洪培成. 新质源 (CMS-FA) 杂交稻组合金农 2 优 3 号选育. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2014, 43(4): 345-349
- Wang N Y, Li Y, Wang Y, Chen A M, Liang K J, Zhang M, Chen Q J, Wang J W, Hu Q L, Chen J K, Hong P C. Development of CMS-FA hybrid rice combination Jinnong 2 You 3. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition, 2014, 43(4): 345-349