

王 军, 宫丹妮, 杨 杰, 等. 江苏省粳稻品种抗稻瘟病基因型与穗颈瘟抗性分析[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(2): 250-256.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.02.002

## 江苏省粳稻品种抗稻瘟病基因型与穗颈瘟抗性分析

王 军<sup>1,2</sup>, 宫丹妮<sup>3</sup>, 杨 杰<sup>1,2</sup>, 朱金燕<sup>1,2</sup>, 范方军<sup>1,2</sup>, 李文奇<sup>1,2</sup>, 王芳权<sup>1,2</sup>,  
仲维功<sup>1,2</sup>

(1.江苏省农业科学院粮食作物研究所/国家水稻改良中心南京分中心, 江苏 南京 210014; 2.扬州大学江苏省粮食作物现代  
产业技术协同创新中心, 江苏 扬州 225009; 3.扬州大学生物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 稻瘟病是江苏省粳稻的主要病害, 以穗颈瘟的危害最为严重, 选育抗病品种是防治该病害最有效的方法。为了明确江苏省粳稻穗颈瘟的主要抗病基因以及主要粳稻品种的抗稻瘟病基因型, 利用稻瘟病抗性基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-k<sup>h</sup>*、*Pi-km* 的功能标记对 2007–2013 年江苏省审定的粳稻品种进行基因型检测。结果表明: 65 份审定的粳稻品种中同时含有 3 个稻瘟病抗病基因的品种 6 份, 占审定品种的 9.2%; 同时含有 2 个稻瘟病抗病基因的品种 23 份, 占审定品种的 35.4%; 含有 1 个稻瘟病抗病基因的品种 27 份, 占审定品种的 41.5%; 不含有这 4 个抗病基因的品种 9 份, 占审定品种的 13.9%。2014 年穗颈瘟接种鉴定结果表明: 含有 3 个抗病基因的 6 份品种均表现为抗穗颈瘟; 含有 2 个抗病基因的品种中 19 份品种抗穗颈瘟, 4 份品种感穗颈瘟; 含有 1 个抗病基因的品种中 12 份品种抗穗颈瘟, 15 份品种感穗颈瘟; 不含有这 4 个抗病基因的品种中 1 份品种抗穗颈瘟, 8 份品种感穗颈瘟。相关性和回归分析结果表明: 稻瘟病抗性基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-km* 与穗颈瘟的抗性呈正相关, 相关系数分别 0.81、0.11 和 0.15; 稻瘟病抗性基因 *Pi-k<sup>h</sup>* 与穗颈瘟抗性呈负相关, 相关系数为 -0.05。

**关键词:** 粳稻; 稻瘟病; 穗颈瘟; 稻瘟病抗病基因

中图分类号: S511.2+20.34

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2016)02-0250-07

## Relationship between rice blast resistance genotypes and neck blast resistance of *Japonica* rice in Jiangsu province

WANG Jun<sup>1,2</sup>, GONG Dan-ni<sup>3</sup>, YANG Jie<sup>1,2</sup>, ZHU Jin-yan<sup>1,2</sup>, FAN Fang-jun<sup>1,2</sup>, LI Wen-qi<sup>1,2</sup>,  
WANG Fang-quan<sup>1,2</sup>, ZHONG Wei-gong<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Nanjing Branch of Chinese National Center for Rice Improvement, Nanjing 210014, China; 2. Jiangsu Co-innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops, Yangzhou 225009, China; 3. College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

收稿日期: 2015-08-06

**基金项目:** 国家科技支撑计划重大项目 (2011BAD16B03); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(12)1003]; 国家自然科学基金项目 (31400175); 江苏省自然科学基金项目 (BK20130725)

**作者简介:** 王 军 (1981-), 男, 江苏盐城人, 硕士, 副研究员, 研究方向为水稻分子遗传育种。(E-mail) wangjunjaas@aliyun.com

**通讯作者:** 仲维功, (E-mail) wzgzhong0503@aliyun.com

**Abstract:** Rice blast is one of the major diseases of *Japonica* rice in Jiangsu province, and the neck blast is the most serious. Breeding resistant cultivars is an effective way to prevent this disease. In order to identify the primary resistance genes and genotypes of *Japonica* rice in Jiangsu province, functional markers of blast resistance genes *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-k<sup>h</sup>* and *Pi-km* were used to detect 65 *Japonica* rice cultivars approved by Jiangsu province from 2007 to 2013. Six cultivars harbouring three rice blast resistance

genes, 23 cultivars harbouring two genes, 27 cultivars harbouring one gene, and 9 cultivars harbouring no gene were identified, accounting for 9.2%, 35.4%, 41.5% and 13.9% respectively. All six cultivars harbouring three blast resistance genes performed resistance to neck blast. 19 out of 23 rice cultivars harbouring two resistance genes were resistant to neck blast. 12 out of 27 rice cultivars harbouring one resistance gene were resistant and the rest 15 were susceptible. Only 1 out of 4 cultivars without blast resistance gene showed neck blast resistance. Correlation and regression analyses revealed that *Pi-ta*, *Pi-b* and *Pi-km* were positively correlated with neck blast resistance of *Japonica* rice in Jiangsu province, and the correlation coefficients were 0.81, 0.11 and 0.15 respectively. *Pi-k<sup>h</sup>* was negatively correlated with neck blast resistance, with the correlation coefficient being -0.05.

**Key words:** *Japonica* rice; rice blast; neck blast; rice blast resistance gene

水稻是江苏省第一大粮食作物,全省 80%以上的人口以稻米为主食。近年来江苏省水稻种植面积约为  $2.20 \times 10^6$  hm<sup>2</sup>, 占中国水稻种植总面积的 7.4%, 其中粳稻面积约占全省水稻总面积的 90%; 稻谷总产量为  $1.922 \times 10^7$  t, 占中国稻谷总产量的 9.4%, 单产水平居中国之首<sup>[1-2]</sup>。保障水稻生产对确保江苏省粮食安全和农业可持续发展具有十分重大的战略意义。影响水稻生产安全的因素很多, 其中病害问题是制约水稻生产的重要障碍之一。由稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*)<sup>[3]</sup> 引起的稻瘟病是江苏水稻最主要的病害, 20 世纪 90 年代初发病面积达  $1.67 \times 10^6$  hm<sup>2</sup>, 减产  $3.5 \times 10^5$  t, 苗瘟、叶瘟、穗颈瘟在江苏省都有发生, 但穗颈瘟的潜在威胁最大, 严重时可能导致颗粒无收<sup>[4]</sup>。

稻瘟病的防治途径主要是化学防治<sup>[5]</sup> 和种植抗性品种<sup>[6]</sup>, 实践证明, 选育和推广抗病品种是防治稻瘟病最经济、有效和安全的方法。稻瘟病抗病基因的鉴定和克隆是培育抗病品种的基础和前提。目前, 已从不同抗病品种中鉴定出大约 80 个稻瘟病抗性基因, *Pi-b*<sup>[7]</sup>、*Pi-ta*<sup>[8]</sup>、*Pi-k<sup>h</sup>*<sup>[9]</sup>、*Pi-km*<sup>[10]</sup>、*Pi-d2*<sup>[11]</sup>、*Pi-9*<sup>[12]</sup>、*Pi-2l*<sup>[13]</sup>、*Pi-a*<sup>[14]</sup> 等至少 20 个抗稻瘟病基因已经被克隆。但这些抗稻瘟病基因主要来源于野生稻、地方品种和籼稻品种<sup>[15]</sup>, 很难在粳稻育种中直接应用。另外稻瘟病菌生理小种演化迅速, 且不同地区稻瘟病菌的小种具有专化性及互补性。因此, 明确江苏省不同粳稻品种的主要抗稻瘟病基因型和穗颈瘟抗性是选育适应江苏省粳稻区具有持久抗稻瘟病尤其是抗穗颈瘟水稻新品种的基础。

本研究利用 4 个抗稻瘟病基因的功能标记对 2007–2013 年以来江苏省审定推广的不同类型的粳稻品种进行基因型检测, 同时进行穗颈瘟接种鉴定, 通过相关性分析, 明确江苏省粳稻穗颈瘟主要抗病基因, 为江苏省粳稻穗颈瘟抗病育种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试水稻材料包括: 2007–2013 年江苏省审定的粳稻品种 65 份, 其中, 中熟中粳 15 份、迟熟中粳 19 份、早熟晚粳 20 份、中熟晚粳 11 份; 携带 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-k<sup>h</sup>*、*Pi-km* 的丽江新团黑谷的近等基因系各 1 份, 编号分别为 IRBL13、IRBL14、IRBL25、IRBL8, 由国际水稻所育成; 丽江新团黑谷 1 份(表 1)。

稻瘟病抗性鉴定的供试菌株为 2010 年和 2014 年分离得到的江苏省稻瘟病菌代表菌株: 2014-290-1(ZB<sub>27</sub>)、2014-30-1(ZC<sub>15</sub>)、2014-56-2(ZD<sub>7</sub>)、2010-55-1(ZE<sub>3</sub>)、2014-284-2(ZF<sub>1</sub>)、2014-303-1(ZG<sub>1</sub>), 共计 6 个小种的菌株。由江苏省农业科学院植物保护研究所提供。

### 1.2 穗颈瘟的接种鉴定

采用江苏省水稻品种中间试验的接种方法, 将参试材料用抗菌素 402 浸种 3 d 后, 用清水冲洗催芽 1~2 d, 播于育秧盘内, 每品系播 15~20 粒。将供试菌株移植到 RCA 培养基(玉米粉 40 g、稻秆粉 50 g、琼脂 20 g)上, 在 25℃ 下培养 7 d, 用黑光灯照射 72 h 后, 待稻瘟病菌产生孢子后, 再用无菌水洗下, 将各稻瘟病菌株孢子混合, 配成  $10 \times 10$  倍显微镜下每视野 30~40 个孢子的悬浮液。在水稻孕穗初期注射接种, 每穗注射 1 ml, 接种时间为每天下午 6 点以后, 于水稻成熟后按调查标准调查接种鉴定结果。穗颈瘟鉴定标准如下, 0 级: 无病, 免疫; 1 级:  $1/4$  以下枝梗发病或穗颈有斑点, 抗病; 2 级:  $1/4$  以上枝梗发病或主轴中部发病, 或颈部有病, 但对产量影响不大, 中抗; 3 级: 主轴中部或颈部发病, 对产量有显著影响, 感病; 4 级: 穗颈发病造成白穗, 高感<sup>[16]</sup>。

表 1 供试品种的审定时间及其类型

Table 1 Approved time and types of rice varieties in this study

类型	水稻品种(审定时间或含有的抗病基因)	品种数
中熟中梗	连梗 4 号(2007)、武运梗 21 号(2007)、淮稻 11 号(2007)、华梗 6 号(2008)、盐梗 11 号(2009)、连梗 6 号(2009)、连梗 7 号(2010)、华瑞稻 1 号(2011)、连梗 11 号(2012)、盐稻 11 号(2012)、连梗 9 号(2012)、连梗 10 号(2012)、武运梗 27 号(2012)、淮稻 14 号(2013)、泗稻 785(2013)	15
迟熟中梗	盐梗 9 号(2007)、淮稻 10 号(2007)、淮糯 12 号(2008)、通糯 3 号(2008)、扬农稻 1 号(2009)、淮稻 13 号(2009)、盐梗 10 号(2009)、盐稻 10 号(2009)、南梗 45(2009)、武运梗 24 号(2010)、华梗 7 号(2010)、宁梗 5 号(2011)、镇稻 14 号(2011)、扬育梗 2 号(2011)、苏稻 5 号(2012)、南梗 49(2012)、盐稻 12 号(2013)、南梗 9108(2013)、扬梗 805(2013)	19
早熟晚梗	南梗 44(2007)、镇稻 10 号(2007)、宁梗 3 号(2008)、扬梗 4038(2008)、武运梗 19 号(2008)、常农梗 5 号(2008)、扬梗 4227(2009)、澄糯 218(2009)、常糯 1 号(2010)、武运梗 23 号(2010)、镇稻 11 号(2010)、南梗 5055(2011)、通梗 981(2011)、镇稻 15 号(2011)、常农梗 7 号(2012)、镇稻 16 号(2012)、武运梗 29 号(2012)、扬梗 806(2013)、镇稻 18 号(2013)、镇糯 19 号(2013)	20
中熟晚梗	嘉 33(2007)、太湖糯 2 号(2008)、南梗 46(2008)、武育梗 20 号(2008)、镇稻 12 号(2009)、南梗 47(2009)、镇稻 13 号(2010)、常农梗 6 号(2011)、镇稻 17 号(2012)、宁稻 1 号(2013)、南梗 50(2013)	11
抗稻瘟病单基因系	丽江新团黑谷、IRBL13( <i>Pi-ta</i> )、IRBL14( <i>Pi-b</i> )、IRBL8( <i>Pi-k<sup>h</sup></i> )、IRBL25( <i>Pi-km</i> )	5

### 1.3 抗病基因标记的设计

根据稻瘟病抗病基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-k<sup>h</sup>*、*Pi-km* 的抗病基因型和感病等位基因型在 DNA 序列上的差异设计基因功能标记,用于对 4 对基因进行基因型鉴定。其中,*Pi-ta*、*Pi-b* 的基因功能标记为等位基

因特异性 PCR 引物<sup>[17-18]</sup>,*Pi-k<sup>h</sup>*、*Pi-km* 的基因功能标记为插入缺失 PCR 引物<sup>[19-20]</sup>。引物名称、序列、位置及其扩增片段预期大小见表 2,引物由上海英潍捷基公司合成。

表 2 用于 PCR 反应的引物

Table 2 Specific primers used for PCR

目标基因	引物名称	序列 (5'→3')	片段长度(bp)
<i>Pi-ta</i>	Pita-F	AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	1 042
	Pita-R	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>pi-ta</i>	Npita-F	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	1 042
	Npita-R	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>Pi-b</i>	Pib-F	GAACAATGCCCAAAGTTGAGA	365
	Pib-R	GGGTCCACATGTCAGTGAGC	
<i>pi-b</i>	Npib-F	TCGGTGCCTCGGTAGTCACT	803
	Npib-R	GGGAAGCGGATCCTAGGTCT	
<i>Pi-k<sup>h</sup></i>	Pikh-F	CCCAACATTGGTAGTAGTGC	258/401
	Pikh-R	TCCTTCATACGCAACAATCT	
<i>Pi-km</i>	Pikm-1F	TGAGCTCAAGGCAAGAGTTGAGGA	174/213
	Pikm-1R	TGTTCCAGCAACTCGATGAG	
<i>Pi-km</i>	Pikm-2F	CAGTAGCTGTGTCTCAGAACTATG	290/332
	Pikm-2R	AAGGTACCTCTTTTCGGCCAC	

### 1.4 DNA 提取

在水稻分蘖盛期采取新鲜幼嫩叶片,按卢扬江等<sup>[21]</sup>的方法提取水稻基因组 DNA。

### 1.5 PCR 扩增和电泳

20 μl 的反应体系包括:模板 DNA(约 15 ng/μl) 2.0 μl,引物(4 pmol/μl) 2.0 μl,10×缓冲液(25

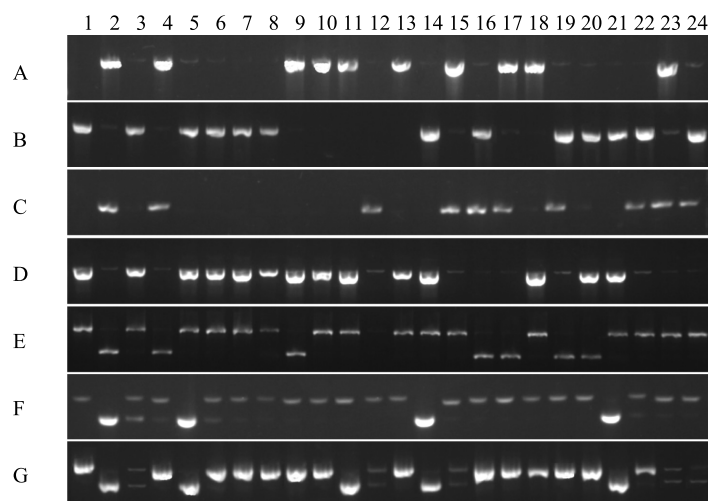
mmol/L)2.0  $\mu$ l, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L)1.2  $\mu$ l, dNTP (2.5 mmol/L)0.4  $\mu$ l, Taq DNA 聚合酶(5 U/ $\mu$ l)0.2  $\mu$ l, 灭菌双蒸水 12.2  $\mu$ l。在 Eppendorf PCR 仪上进行扩增, 反应条件为:94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94  $^{\circ}$ C 30 s, 58  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 1 min, 共 35 个循环;72  $^{\circ}$ C 再延伸 10 min。反应产物在琼脂糖上进行分离电泳, 溴化乙锭染色, 然后在紫外凝胶成像仪上观察并照相。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-k<sup>h</sup>* 和 *Pi-km* 功能标记的检测与验证

*Pi-ta* 基因功能标记 Pita、Npita 对不同品种进行基因型检测时, Pita 能够扩增出 1 042 bp 的目的条带, 同时 Npita 不能够扩增出 1 042 bp 的目的条带, 说明该品种含有 *Pi-ta* 抗病基因型; Pita 不能够扩增出 1 042 bp 的目的条带, 同时 Npita 能够扩增出

1 042 bp 的目的条带, 说明该品种含有 *pi-ta* 感病基因型(图 1A、图 1B)。*Pi-b* 基因功能标记 Pib、Npib 进行基因型检测时, Pib 能够扩增出 365 bp 的目的条带, 同时 Npib 不能够扩增出 803 bp 的目的条带, 说明该品种含有 *Pi-b* 抗病基因型; Pib 不能够扩增出 365 bp 的目的条带, 同时 Npib 能够扩增出 803 bp 的目的条带, 说明该品种含有 *pi-b* 感病基因型(图 1C、图 1D)。*Pi-k<sup>h</sup>* 基因功能标记 Pikh 进行基因型检测时, Pikh 扩增出 258 bp 的目的条带的品种含有 *Pi-k<sup>h</sup>* 抗病基因型, 扩增出 401 bp 的目的条带的品种含有 *pi-k<sup>h</sup>* 感病基因型(图 1E)。*Pi-km* 基因功能标记 Pikm1、Pikm2 进行基因型检测时, Pikm1 扩增出 174 bp 的目的条带, 同时 Pikm2 扩增出 290 bp 的目的条带的品种含有 *Pi-km* 抗病基因型, 其他不同类型的条带组合均为含有 *pi-km* 感病基因型的品种(图 1F、图 1G)。



1: 丽江新团黑谷; 2: A~G 依次为 IRBL13、IRBL13、IRBL14、IRBL14、IRBL8、IRBL25; 3: 连梗 4 号; 4: 武运梗 21 号; 5: 淮稻 11; 6: 华梗 6 号; 7: 盐梗 11 号; 8: 连梗 6 号; 9: 盐梗 9 号; 10: 淮稻 10 号; 11: 淮糯 12 号; 12: 通糯 3 号; 13: 扬农稻 1 号; 14: 淮稻 13 号; 15: 南梗 44; 16: 镇稻 10 号; 17: 宁梗 3 号; 18: 扬梗 4038; 19: 武运梗 19 号; 20: 嘉 33; 21: 太湖糯 2 号; 22: 南梗 46; 23: 武育梗 20 号; 24: 镇稻 12 号。

图 1 稻瘟病抗病基因功能标记对部分水稻品种 PCR 扩增结果

Fig.1 PCR amplification of rice cultivars with functional markers of resistance gene

### 2.2 江苏省粳稻品种 4 个抗病基因型检测结果

利用稻瘟病抗病基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-k<sup>h</sup>* 和 *Pi-km* 的功能标记对 2007—2013 年江苏省审定的不同类型的粳稻品种进行基因型检测(表 3)。由表 3 可以看出, 含有 3 个抗病基因的材料为 6 份, 其中, 中熟中梗 1 份、迟熟中梗 2 份、早熟晚梗 3 份; 含有 2 个抗病基因的材料为 23

份, 其中, 中熟中梗 4 份、迟熟中梗 7 份、早熟晚梗 10 份、中熟晚梗 2 份; 含有 1 个抗病基因的材料 27 份, 其中, 中熟中梗 3 份、迟熟中梗 9 份、早熟晚梗 7 份、中熟晚梗 8 份; 不含有这 4 个抗病基因的材料为 9 份, 其中, 中熟中梗 7 份、迟熟中梗 1 份、中熟晚梗 1 份; 同时含有 4 个抗病基因的材料 0 份。

表 3 供试水稻品种的  $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-k^h$  和  $Pi-km$  基因型检测结果Table 3 The genotypes of  $Pi-ta$ ,  $Pi-b$ ,  $Pi-k^h$ , and  $Pi-km$  in rice cultivars identified with functional markers

品种	$Pi-ta$	$Pi-b$	$Pi-k^h$	$Pi-km$	穗颈瘟 发病等级	抗病性 评价	品种	$Pi-ta$	$Pi-b$	$Pi-k^h$	$Pi-km$	穗颈瘟 发病等级	抗病性 评价
连梗 4 号	-	-	-	-	4	高感	扬梗 805	+	-	-	-	1	抗病
武运梗 21 号	+	+	+	-	1	抗病	南梗 44	+	+	-	-	1	抗病
淮稻 11 号	-	-	-	+	3	感病	镇稻 10 号	-	+	+	-	4	高感
华梗 6 号	-	-	-	-	4	高感	宁梗 3 号	+	+	+	-	1	抗病
盐梗 11 号	-	-	-	-	4	高感	扬梗 4038	+	-	-	-	2	中抗
连梗 6 号	-	-	-	-	4	高感	武运梗 19 号	-	+	+	-	3	感病
连梗 7 号	-	-	+	-	4	高感	常农梗 5 号	-	+	-	-	4	高感
华瑞稻 1 号	-	-	-	-	4	高感	扬梗 4227	-	-	-	+	3	感病
连梗 11 号	-	-	-	-	4	高感	澄糯 218	+	-	+	-	1	抗病
盐稻 11 号	+	-	+	-	2	中抗	常糯 1 号	+	-	-	+	1	抗病
连梗 9 号	-	-	-	-	4	高感	武运梗 23 号	-	+	+	-	4	高感
连梗 10 号	-	-	+	-	4	高感	镇稻 11 号	-	+	-	-	2	中抗
武运梗 27 号	+	-	+	-	2	中抗	南梗 5055	-	+	-	-	3	感病
淮稻 14 号	+	-	-	+	1	抗病	通梗 981	+	-	-	-	1	抗病
泗稻 785	+	-	-	+	1	抗病	镇稻 15 号	+	+	-	-	1	抗病
盐梗 9 号	+	-	+	-	1	抗病	常农梗 7 号	+	+	+	-	1	抗病
淮稻 10 号	+	-	-	-	1	抗病	镇稻 16 号	+	+	+	-	1	抗病
淮糯 12 号	+	-	-	-	1	抗病	武运梗 29 号	+	+	-	-	1	抗病
通糯 3 号	+	+	+	-	1	抗病	扬梗 806	+	-	-	-	2	中抗
扬农稻 1 号	+	-	-	-	1	抗病	镇稻 18 号	-	+	+	-	2	中抗
淮稻 13 号	-	-	-	+	3	感病	镇糯 19 号	+	+	-	-	1	抗病
盐梗 10 号	+	+	-	-	2	中抗	嘉 33	-	-	+	-	4	高感
盐稻 10 号	-	-	-	-	1	抗病	太湖糯 2 号	-	-	-	+	1	抗病
南梗 45	+	+	-	-	1	抗病	南梗 46	-	+	-	-	4	高感
武运梗 24 号	-	+	+	-	4	高感	武育梗 20 号	+	+	-	-	1	抗病
华梗 7 号	-	-	+	-	4	高感	镇稻 12 号	-	+	-	-	4	高感
宁梗 5 号	+	-	+	-	1	抗病	南梗 47	-	+	-	-	3	感病
镇稻 14 号	-	+	-	-	4	高感	镇稻 13 号	-	-	-	-	3	感病
扬育梗 2 号	+	+	-	-	1	抗病	常农梗 6 号	-	+	-	-	1	抗病
苏稻 5 号	+	+	-	-	1	抗病	镇稻 17 号	-	+	-	-	2	中抗
南梗 49	+	+	-	+	1	抗病	宁稻 1 号	-	+	-	-	2	中抗
盐稻 12 号	-	+	-	-	4	高感	南梗 50	+	+	-	-	1	抗病
南梗 9108	-	+	-	-	3	感病							

+:抗病基因型;-:感病基因型。

### 2.3 江苏省粳稻穗颈瘟接种鉴定结果

2014 年对 65 份江苏省粳稻品种进行穗颈瘟抗性接种鉴定,结果见表 3、表 4。65 份粳稻品种中表型为穗颈瘟抗病的材料为 38 份,感病材料 27 份。

抗性表现为 1 级的材料 29 份,其中,中熟中梗 3 份、迟熟中梗 12 份、早熟晚梗 10 份、中熟晚梗 4 份;穗颈瘟抗性表现为 2 级的材料 9 份,其中,中熟中梗 2 份、迟熟中梗 1 份、早熟晚梗 4 份、中熟晚梗 2 份;穗



颈瘟抗性表现为 3 级的材料 8 份,其中,中熟中粳 1 份、迟熟中粳 2 份、早熟晚粳 3 份、中熟晚粳 2 份;穗颈瘟抗性表现为 4 级的材料 19 份,其中,中熟中粳 9 份、迟熟中粳 4 份、早熟晚粳 3 份、中熟晚粳 3 份。

表 4 供试水稻品种穗颈瘟鉴定结果

Table 4 The identification of neck blast resistance in rice cultivars

类型	穗颈瘟抗性			
	1 级	2 级	3 级	4 级
中熟中粳	3	2	1	9
迟熟中粳	12	1	2	4
早熟晚粳	10	4	3	3
中熟晚粳	4	2	2	3

#### 2.4 4 个抗病基因与江苏省粳稻穗颈瘟抗性的相关性

由表 3 可以看出,含有 3 个抗病基因的 6 份粳稻品种穗颈瘟抗性均表现为 1 级,含有 2 个抗病基因的 23 份粳稻品种中穗颈瘟抗性表现为 1 级的 15 份、2 级的 4 份、3 级的 1 份、4 级的 3 份;含有 1 个抗病基因的 27 份粳稻品种中穗颈瘟抗性表现为 1 级的 7 份、2 级的 5 份、3 级的 6 份、4 级的 9 份;不含有这 4 个稻瘟病抗病基因的 9 份粳稻品种中穗颈瘟抗性表现为 1 级的 1 份、3 级的 1 份、4 级的 7 份。4 对稻瘟病抗病基因与穗颈瘟抗性的相关性和回归分析结果表明: $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-km$  与穗颈瘟的抗性呈正相关,相关系数分别 0.81、0.11 和 0.15; $Pi-k^h$  与穗颈瘟抗性呈负相关,相关系数为-0.05。

### 3 讨论

稻瘟病是江苏省水稻最为严重的病害之一,其中又以穗颈瘟对产量的影响最大。实践证明,种植抗病品种是防治稻瘟病最经济有效和环保的方法。传统的选育抗病品种的方法主要依赖于抗性鉴定和表型选择,不仅周期长而且受许多条件的限制,再加上病原菌小种遗传的复杂性和致病性的多样性,使得抗病新品种在推广几年内很快丧失抗性。近年来,随着越来越多的稻瘟病抗病基因被精细定位和克隆,利用与稻瘟病抗病基因紧密连锁的分子标记甚至基因本身的功能标记进行辅助选择已经成为稻瘟病抗病育种的常规手段,该方法所面临的最大挑战在于抗病基因的正确选择。在不同地区稻瘟病主

要抗病基因鉴定方面,不同学者研究发现  $Pi-ta^2$ 、 $Pi-z$ 、 $Pi-z'$  对云南稻瘟病具有较强抗性,可以在育种上加以利用<sup>[22-24]</sup>。李洪亮等<sup>[25]</sup>研究发现, $Pi_l$  和  $Pi_2$  基因对北方寒地水稻稻瘟病有一定的抗性作用,但效果不是很理想。杨健源等<sup>[26]</sup>对来自不同抗源的 30 个抗稻瘟病单基因系在广东省进行了小种专化抗性及田间抗性的分析和评价,发现  $Pi-k^h$  和  $Pi_l(t)$  的单基因系表现出广谱抗性,抗谱分别为 89.6% 和 82.2%,在病区表现出较好的田间抗性,同时指出  $Pi-k^h$  [或  $Pi_l(t)$ ]、 $Pi_9$  (或  $Piz^5$ ) 及  $Pish$  (或  $Pi-ta^2$ ) 基因聚合有利于提高广东省水稻品种对该地区稻瘟病菌的抗谱。王军等研究发现稻瘟病抗病基因  $Pi-ta$ 、 $Pi-b$  对江苏省稻瘟病尤其是穗颈瘟具有较好的抗性<sup>[27-28]</sup>。

目前,已经鉴定的抗稻瘟病基因主要来源于野生稻、地方品种和籼稻品种,很难在江苏省粳稻育种中直接应用。为了明确江苏省大面积推广粳稻品种中含有的稻瘟病抗病基因及其与穗颈瘟的抗性关系,我们利用  $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-k^h$  和  $Pi-km$  的功能标记对 2007—2013 年江苏省审定的 65 份粳稻品种进行基因型检测和穗颈瘟接种鉴定。结果表明:稻瘟病抗病基因的数量与穗颈瘟的抗性呈显著正相关; $Pi-ta$  仍然是江苏省穗颈瘟的主要抗病基因,与穗颈瘟的抗性呈正相关,相关系数为 0.81;同时聚合  $Pi-b$  和  $Pi-km$  在一定程度上能够进一步提高穗颈瘟抗性; $Pi-k^h$  与穗颈瘟的抗性呈负相关,不能显著提高穗颈瘟的抗性。

江苏省不同类型的粳稻品种对穗颈瘟的抗性差异也比较大,早熟晚粳和迟熟中粳品种的穗颈瘟抗性较好,抗病品种分别占该类型品种的 70% 和 68.4%;中熟晚粳次之,抗病品种占该类型品种的 54.5%;中熟中粳品种的穗颈瘟抗性较差,抗病品种只占该类型品种的 33.3%。与前人研究结果<sup>[29-30]</sup>比较可以发现:近年来江苏省迟熟中粳类型的粳稻品种穗颈瘟抗性显著提高,而中熟中粳的穗颈瘟抗性并没有提高。这可能是由于不同类型的粳稻品种间存在抽穗期差异,迟熟中粳比中熟中粳品种更容易利用晚粳品种中的稻瘟病抗病基因,供试材料不同类型间的遗传多样性结果证实了这一点。因此,江苏省中熟中粳类型新品种选育过程中要注意与迟熟中粳和晚粳品种之间的杂交,加强稻瘟病抗病基因的渗入,提高穗颈瘟抗性。

本研究明确了江苏省近年来审定推广的粳稻品种的主要稻瘟病抗病基因型和穗颈瘟抗性,鉴定出了一批含有不同类型稻瘟病抗病基因且穗颈瘟抗性好的品种,一方面可以指导生产实践中水稻品种的选择和穗颈瘟的防治力度;另一方面,由于这些品种综合性状好,产量潜力高,因此,在育种过程中有选择性地利用好这些品种将能够大大加速江苏省粳稻穗颈瘟抗病育种进程。

## 参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社,2014:375-382.
- [2] 江苏省统计局. 江苏统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社,2014:295-305.
- [3] OU S H. Rice diseases [M]. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute, 1985:109-201.
- [4] 陆凡,史阿宝,陈志谊,等. 江苏省稻瘟病菌的发生与水稻品种的关系研究[J]. 西南农业大学学报,1998,20(5):387-391.
- [5] 刘怀阿,许义彬,禹登凤,等. 36% 丙环唑·咪鲜胺悬浮剂对稻瘟病的防治效果[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):160-162.
- [6] 余玲,李爱宏,潘存红,等. 分子标记辅助选择培育抗病优质晚粳稻品种扬粳806[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):75-77.
- [7] WANG Z X, YANO M, YAMANOUCHI U, et al. The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes [J]. The Plant Journal, 1999, 19(1): 55-64.
- [8] BRYAN G T, WU K S, FARRALL L, et al. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta* [J]. The Plant Cell, 2000, 12(11): 2033-2046.
- [9] SHARMA T R, MADHAV M S, SINGH B K, et al. High-resolution mapping, cloning and molecular characterization of the *Pi-k<sup>h</sup>* gene of rice, which confers resistance to *Magnaporthe grisea* [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2005, 274(6): 569-578.
- [10] ASHIKAWA I, HAYASHI N, YAMANE H, et al. Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer *Pikm*-specific rice blast resistance [J]. Genetics, 2008, 180(4): 2267-2276.
- [11] CHEN X W, SHANG J J, CHEN D, et al. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance [J]. The Plant Journal, 2006, 46(5): 794-804.
- [12] QU S H, LIU G F, ZHOU B, et al. The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice [J]. Genetics, 2006, 172(3): 1901-1914.
- [13] 刘浩,陈志强,王加峰. 水稻 NBS-LRR 类抗稻瘟病基因研究进展[J]. 江苏农业学报,2014,30(3):664-670.
- [14] FUKUOKA S, SAKA N, KOGA H, et al. Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice [J]. Science, 2009, 325(5943): 998-1001.
- [15] 杨勤忠,林菲,冯淑杰,等. 水稻稻瘟病抗性基因的分子定位及克隆研究进展[J]. 中国农业科学,2009,42(5):1601-1615.
- [16] 罗楚平,倪磊,陈志谊,等. 水稻稻瘟病接种技术及2009年江苏省区试品种抗性鉴定[J]. 江苏农业科学,2009(6):178-179.
- [17] 王忠华,贾育林,吴殿星,等. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi-ta* 的分子标记辅助选择[J]. 作物学报,2004,30(12):1259-1265.
- [18] CONCETTA A, ANNA M, MARCO A, et al. Development of DNA markers suitable for marker assisted selection of three *Pi* genes conferring resistance to multiple *Pyricularia grisea* pathotypes [J]. Crop Science, 2004, 44: 1790-1798.
- [19] 王军,杨杰,朱金燕,等. 稻瘟病抗病基因 *Pi-k<sup>h</sup>* 功能标记的开发及江苏粳稻品种中 *Pi-k<sup>h</sup>* 的变异[J]. 中国水稻科学,2014,28(2):141-147.
- [20] COSTANZO S, JIA Y L. Sequence variation at the rice blast resistance gene *Pi-km* locus; implications for the development of allele specific markers [J]. Plant Science, 2010, 178: 523-530.
- [21] 卢扬江,郑康. 提取水稻 DNA 的一种简易方法[J]. 中国水稻科学,1992,6(1):47-48.
- [22] 张学堂,廖新华,朱振华,等. *Pi-z*、*Pi-ta<sup>2</sup>* 等基因在云南粳稻稻瘟病抗性育种中的应用[J]. 中国农业科技导报,2010,12(1):100-105.
- [23] 李进斌,李成云,陈艳,等. 二十个抗稻瘟病基因在云南的利用价值评价[J]. 植物保护学报,2005,3(2):113-119.
- [24] 罗朝喜,李进斌,李成云,等. 云南省稻瘟病菌生理小种演变及稻种资源垂直抗性基因的利用[J]. 西南农业学报,2000,13(4):57-61.
- [25] 李洪亮,李荣田. 稻瘟病抗性基因 *Pi1* 和 *Pi2* 的聚合及其育种价值分析[J]. 北方水稻,2010,40(5):7-12.
- [26] 杨健源,陈深,曾列先,等. 稻瘟病主效抗性基因对广东省籼稻稻瘟病菌的抗性评价[J]. 中国水稻科学,2008,22(2):190-196.
- [27] 王军,杨杰,陈志德,等. 利用分子标记辅助选择聚合水稻抗病基因 *Pi-ta*、*Pi-b* 和 *Stv-b<sup>1</sup>* [J]. 作物学报,2011,37(6):975-981.
- [28] 王军,杨杰,杨金欢,等. *Pi-ta*、*Pi-b* 基因在江苏粳稻穗颈瘟抗性育种中的价值分析[J]. 华北农学报,2012,27(6):141-145.
- [29] 杨杰,杨金欢,王军,等. 稻瘟病抗病基因 *Pi-ta* 和 *Pi-b* 在中国水稻地方品种中的分布[J]. 华北农学报,2011,26(3):1-6.
- [30] 何重,陈涛,张亚东,等. 江苏部分粳稻品种和品系中稻瘟病抗性基因 *Pi-ta* 和 *Pi-b* 的基因型分析[J]. 江苏农业学报,2014,30(5):921-927.

(责任编辑:陈海霞)