

3个空间诱变水稻品系的稻瘟病抗性 评价及抗性遗传分析

肖武名^{1,2}, 孙大元², 张景欣², 王慧², 郭涛², 刘永柱², 朱小源¹, 杨祁云¹, 陈志强²

(1 广东省农业科学院 植物保护研究所, 广东 广州 510640;

2 华南农业大学, 国家植物航天育种工程研究中心, 广东 广州 510642)

摘要:综合考察水稻苗期叶瘟抗谱和成株期穗颈瘟抗性可以全面地评价水稻种质的稻瘟病抗性. 本研究采用来自广东不同稻作区的36个稻瘟病菌株, 对经过抗性初筛的3个空间诱变水稻品系进行苗期叶瘟抗谱测定; 同时种植于代表性自然诱发病圃——广东省从化市吕田镇, 考察其穗颈瘟抗性. 结果显示, 入选的3个诱变品系具有广谱的苗期叶瘟抗谱、且高抗穗颈瘟, 抗性明显优于非诱变原种. 遗传分析结果表明, H4和H11对菌株GD0193和GD866的抗性均由主效单基因控制, H4对菌株GD08T4、H11对菌株GD08T13的抗性均由2个独立遗传的显性基因控制, D69对菌株GD0193的抗性遗传模式复杂, D69对菌株GD08T4和GD866的抗性为主效单基因模式.

关键词:水稻; 空间诱变; 稻瘟病; 抗性评价; 遗传分析

中图分类号: S435.111.41

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2012)03-0273-04

Evaluation on the Rice Blast Resistance of Three Space-Induced Rice Mutant Lines and Analysis of the Resistant Heredity

XIAO Wu-ming^{1,2}, SUN Da-yuan², ZHANG Jing-xin², WANG Hui², GUO Tao², LIU Yong-zhu²,
ZHU Xiao-yuan¹, YANG Qi-yun¹, CHEN Zhi-qiang²

(1 Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China;

2 National Engineering Research Center of Plant Space Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The rice blast resistance (R) could be evaluated entirely by investigating the resistance spectrum at seedling stage and neck blast resistance at adult stage. In this study, three space-induced rice mutant lines, which had been screened primarily, were performed with resistance spectra with 36 blast isolates from Guangdong Province and neck blast resistance in a natural blast nursery, Lütian, Conghua. The results indicated that the mutant lines conferred broad resistance spectra and high level of resistance to neck blast, while the on-ground control was highly susceptible. Genetic analysis showed that a single major dominant R gene conditioned H4's and H11's resistance to isolates GD0193 and GD866, and there were two independent dominant R genes in H4 and H11 corresponding to isoaltes GD08T4 and GD08T13, respectively. The inherited pattern of resistance in D69 to isolates GD0193 was complicated, while a single dominant major R gene controlled its resistance to isolate GD08T4 and GD866.

Key words: rice; space-induced mutation; rice blast; resistance evaluation; genetic analysis

收稿日期: 2011-05-27

作者简介: 肖武名(1982—), 男, 博士; 通信作者: 杨祁云(1966—), 女, 研究员, E-mail: yangqy@gdpri.com; 陈志强(1956—), 男, 教授, E-mail: chenlin@scau.edu.cn

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2008BAD97B02); 广东省农业科技研究团队项目(20110203); 广东省自然科学基金重点项目(S2011020001513); 国家和广东省现代农业产业技术体系建设专项资金资助

由病原真菌 *Magnaporthe oryzae* 引起的稻瘟病 (Rice blast) 是水稻生产中的最严重病害之一, 俗称水稻“癌症”, 该病在水稻生长的整个生育期均能发生, 其中以穗瘟损失最为严重. 目前已有 85 个国家报道有该病的发生, 其中以亚洲和非洲稻区发病重. 我国凡有水稻栽培的地区均有发生, 丘陵和山区发生严重. 稻瘟病严重影响水稻的产量和米质. 全球每年因稻瘟病损失的稻谷占总产量的 10% ~ 30%, 损失的稻谷足以养活 6 000 万人口^[1]. 自 20 世纪 90 年代以来, 我国稻瘟病年发生面积约 380 万 hm^2 , 年损失稻谷数约 10 亿 kg. 由于其危害面积与危害程度都日趋严重, 已成为水稻持续高产稳产的严重障碍^[2-3]. 化学药剂的使用不可避免地对自然环境造成污染和破坏, 增加成本、增大稻谷中的农药残留量等. 实践证明, 利用遗传抗性、选育和推广水稻抗病品种 (组合) 是控制这一病害最安全、经济、对环境最友好的防治策略^[4], 抗病种质的发掘和利用是抗病育种的基础和核心. 本研究对经过抗性初筛的 3 个空间诱变水稻品系进行苗期叶瘟抗谱和穗颈瘟抗性测定, 旨在综合评价其稻瘟病抗性; 同时采用代表菌株分析其抗性遗传基础, 为其抗性基因的鉴定及其在水稻抗稻瘟病育种中的应用奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 水稻材料 3 个空间诱变水稻品系 H4、H11 和 D69. 其来源如下: 中二软占^[5]干种子于 2003 年 11 月 3 号搭载第 18 颗返回式科学与试验卫星 (轨道 63°、近地点 200 km、远地点 350 km), 运行 18 d 后返回地面种植, 从低世代开始苗期接种对非诱变原种感病的籼型广致病谱菌株 GD0193 和 GD3286^[6], 对抗病品系进行定向跟踪筛选并连续多代自交繁殖, 最后获得农艺性状稳定的高代 (5 代以上) 诱变品系. 部分中二软占干种子留在地面, 作为非诱变原种对照. Pikh、Pi9、Pi1 等 9 个抗性单基因系作为参照一起进行抗谱测定, 其中单基因系 Pita² (F128-1, 见表 1) 由中国农业科学院作物研究所提供, 其他单基因系由国际水稻所提供.

1.1.2 稻瘟病菌菌株 用于苗期叶瘟抗谱测定的 36 个稻瘟病菌菌株均由广东省农业科学院植物保护研究所提供, 分别取样自广东省 4 个稻作区不同的主栽品种, 病菌的致病性和遗传宗谱类型具有多样性. 遗传分析菌株为 GD0193、GD866、GD08T4 及

GD08T13, 其中 GD0193 和 GD866 为广东省农业科学院植物保护研究所使用多年的广致病谱稳定菌株, 能侵染 Pita²、Piz、Pii 等单基因系, 代表性好; GD08T4 和 GD08T13 分离自 2008 年早季广东雷州半岛感病的天优 998, 它们均能侵染中国 7 个鉴别品种中的鉴 2 (珍龙 13)、鉴 3 (四丰 43)、鉴 4 (东农 363)、鉴 5 (关东 51) 和鉴 7 (丽江新团黑谷), 属于致病专化性较强的菌株^[7]. GD0193 和 GD866 能侵染非诱变原种中二软占, GD08T4 和 GD08T13 均不能侵染中二软占, 4 个菌株对这 3 个诱变品系均不能侵染.

1.2 方法

1.2.1 水稻材料的苗期叶瘟抗谱测定 3 个突变品系、非诱变原种及 9 个单基因系依次播于育秧盘中 (50 cm × 30 cm × 8 cm), 每品系播 1 穴 (每穴 10 粒种子). 稻苗采取旱育栽培, 长至一叶一心期, 每盆施用 0.5 g 硫酸铵, 接种前共施 3 次. 待秧苗长至 3.5 ~ 4 片叶时, 采用筛选出的 32 个代表菌株分别接种, 接种液的孢子浓度为 $5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$, 采用高压喷雾接种方法, 接种苗于 25 °C 暗室中保湿 24 h 后, 放置阴棚继续保湿 7 ~ 10 d 后, 调查发病结果. 病级划分标准按中国统一的 0 ~ 9 级标准 (稻瘟病测报调查规范, GB/T 15790—2009) 进行, 病级为 0 ~ 3 级的定为抗病, 4 ~ 9 级的定为感病. 抗谱 = 对水稻品系表现为不亲和的菌株数 / 测试的菌株总数 × 100%.

1.2.2 田间穗颈瘟抗性鉴定 将 3 个诱变品系及原种中二软占于 2009 年早季和晚季分别种植于典型的稻瘟病自然诱发病圃——从化市吕田镇 (北纬 23.570°、东经 113.550°). 每品系种 5 行, 每行种 5 穴、每穴 2 ~ 3 苗, 周边插植 2 行高感稻瘟病品种 C039. 黄熟时调查穗颈瘟发病情况, 病级划分标准按中国统一的 0 ~ 9 级标准 (稻瘟病测报调查规范, GB/T 15790—2009) 进行, 病级为 0 ~ 2 级的定为高抗, 3 ~ 4 级的定为抗病, 5 级的定为中抗至中感, 6 ~ 9 级的定为感病.

1.2.3 抗性遗传分析 将 3 个突变品系 H4、H11 及 D69 作为父本分别与普感亲本丽江新团黑谷 (LTH) 杂交, 获得 F₁ 代种子, 并自交获得 F₂ 代种子. F₁ 及 F₂ 代植株分别接种稻瘟病菌 GD0193、GD866、GD08T4 及 GD08T13. 统计各个菌株对应的抗病株数和感病株数, 明确抗感分离情况, 采用 χ^2 计算抗感分离比例, 分析抗性遗传基础. 接种及病情鉴定同 1.2.1, 穴播在此处改为粒播, 间距 1.5 cm × 1.0 cm.

2 结果与分析

2.1 诱变水稻品系的抗谱测定结果

由表1可知3个诱变品系的抗谱分别为100.0%、97.2%及94.4%，表明它们分别能抗36、35及34个菌株；而非诱变原种的抗谱为72.2%，仅能抗

其中的26个菌株。说明H4、H11及D69的抗性得到了较大程度的提高，抗谱得以拓宽，对一些能侵染原种的菌株也产生了抗性。9个单基因系中抗谱最高的为66.7% (IRBL1-CL)，均低于中二软占及其诱变品系，3个诱变品系比这9个单基因系具有更广谱的抗性，说明这些诱变品系可能不止一个抗性基因。

表1 水稻品系的抗谱测定结果¹⁾

Tab.1 Results of resistance spectra of tested materials

诱变品系抗谱/%			单基因品系抗谱/%								
H4	H11	D69	IRBLkh-K3	IRBL1-CL	IRBL9-W	F128-1	IRBLz5-CA	IRBLkp-K60	IRBLsh-S	IRBLz-Fu	IRBLi-F5
100.0	97.2	94.4	34.8	78.1	75.0	53.1	62.5	31.2	28.1	34.8	21.5

1) 原种中二软占抗谱为72.2%；IRBLkh-K3 ~ IRBLi-F5依次代表Pikh、Pi1、Pi9、Pita²、Piz5、Pikp、Pish、Piz、Pii等9个单基因品系。

2.2 诱变水稻品系的穗颈瘟抗性鉴定结果

由表2可知，非诱变原种(CK)早、晚两季均表现出较高的病级和较高的发病率，两季结果均为高感水平。3个诱变品系的病级以0级和1级为主、发病率均不超过3%，两季鉴定结果均为高抗水平。说明诱变品系比原种获得了较好的田间穗颈瘟抗性，可作为抗病种质在水稻抗稻瘟病育种中发挥抗性优势。

离比例，说明H4对该菌株的抗性由2个独立遗传的主效基因控制，只要其中一个为显性纯合或杂合状态便可产生抗性。同样，H11与LTH杂交的F₂代对应菌株GD0193和GD866也出现3:1的抗感分离比，说明H11对这2个菌株的抗性也由单基因控制；其F₂代对菌株GD08T13的抗感分离比符合15:1的比值，表明H11携带2个独立遗传的主效基因控制其对该菌株的抗性。D69与LTH杂交的F₂代对应菌株GD866和GD08T4均呈现3:1的抗感分离比，说明其对应这2个菌株的抗性为单基因模式；其F₂代对应菌株GD0193的抗感分离比为2:1，说明其对这2个菌株的抗性既非主效单基因模式、也非独立遗传的双基因模式，抗性遗传基础较为复杂。

表2 水稻品系的穗颈瘟鉴定结果¹⁾

Tab.2 Results of neck blast resistance of tested materials

品种/品系	季别	病级	发病率/%	抗性评价
CK	早季	9	95	高感
	晚季	9	90	高感
H4	早季	1	1	高抗
	晚季	0	0	高抗
H11	早季	1	3	高抗
	晚季	1	1	高抗
D69	早季	2	3	高抗
	晚季	1	3	高抗

1) CK代表非诱变原种中二软占；发病率=发病的穗数/总穗数×100%。

2.3 诱变水稻品系的抗性遗传分析结果

由表3可知，3个诱变品系与普感亲本LTH杂交的F₁代对菌株GD0193、GD866、GD08T4及GD08T13均为抗病，说明3个品系的抗性基因均为显性。H4与LTH杂交的F₂代对应菌株GD0193和GD866的抗病植株与感病植株的分离比符合3:1的比值，说明H4对这2个菌株的抗性均由主效单基因控制；对菌株GD08T4而言，F₂代出现15:1的抗感分

表3 杂交后代抗感分离情况¹⁾

Tab.3 The segregated resistant and susceptible individuals from crosses between LTH and space-induced rice lines

材料	菌株	F ₁ 抗感		F ₂ 抗感		F ₂ 分离比	χ ²
		个体数/株	抗感	个体数/株	抗感		
LTH × H4	GD0193	12	0	478	139	3:1	0.37
	GD866	9	0	334	104	3:1	0.28
	GD08T4	13	0	1417	85	15:1	0.79
LTH × H11	GD0193	8	0	585	181	3:1	0.69
	GD866	6	0	144	42	3:1	0.46
	GD08T13	9	0	817	59	15:1	0.27
LTH × D69	GD0193	7	0	232	102	2:1	1.17
	GD866	8	0	111	28	3:1	1.50
	GD08T4	13	0	320	121	3:1	1.27

1) χ²_{0.05,1} = 3.84.

3 讨论与结论

我国自1987年开展航天育种以来,全国各地已先后筛选出一大批农艺性状突变的优异新种质资源和新品种^[8],利用空间诱变技术提高水稻抗病性的研究已有不少报道^[9-13]. 本研究中,H4、H11和D69这3个诱变品系的苗瘟抗谱较原种有较大的拓宽,田间穗颈瘟抗性也明显提高,说明它们获得了新的抗性,抗性的获得正是由于空间诱变产生可遗传变异所致. 水稻空间诱变后代的稻瘟病抗性均能得以改良. 本研究中所选H4、H11和D69这3个品系是经过前期初筛出来的抗病种质,在低世代抗性初筛过程中,同样发现很多感病的突变体. 可见,要获得抗病的突变种质,对诱变后代进行施压选择是关键.

由于原种中二软占对菌株GD0193和GD866均为高感,说明中二软占不含对这2个菌株产生抗性的抗瘟基因. 本研究发现H4和H11对菌株GD0193和GD866的抗性以及D69对菌株GD866的抗性均由主效单基因控制,说明H4、H11和D69获得了新的抗性基因,H4和H11对应这2个菌株的抗性基因是否在同一位点、这些抗性基因是如何产生的尚待进一步研究. D69对应菌株GD0193的抗性既非主效单基因模式、也非独立遗传的双基因模式,抗性遗传基础较为复杂,说明D69比H4和H11发生了更为复杂的抗性变异. 研究结果表明H4对菌株GD08T4、H11对菌株GD08T13的抗性均由2个独立遗传的显性主效基因控制,D69对菌株GD08T4的抗性由主效单基因控制. 由于原种中二软占、H4、H11及D69对菌株GD08T4和GD08T13均为抗病,因此无法判断H4中对应菌株GD08T4、H11中对应菌株GD08T13的2个抗性基因及D69中对应菌株GD08T4的单个基因是来自原种中二软占,还是经空间诱变产生. 尽管H4和D69均为中二软占的诱变后代,但其对菌株GD08T4的抗性遗传基础完全不同,H4表现为双基因模式、D69为单基因模式. 可见,空间诱变导致H4和D69呈现不同的抗性基因.

本研究通过苗瘟抗谱和田间穗颈瘟抗性测定表明,3个诱变品系具有很好的稻瘟病抗性特征,并分析了其对应于代表菌株的抗性遗传模式,通过对其

抗性基因开展深入的定位、克隆研究,既有利于阐明空间搭载诱发的抗性变异机理,又有助于这些抗病种质在水稻抗性改良中的应用,目前这方面的研究正在开展之中.

参考文献:

- [1] SKAMNIOTI P, GURR S J. Against the grain: Safeguarding rice from rice blast disease[J]. Trends Biotechnology, 2009, 27(3):141-150.
- [2] 支庚银,张国民,雷材林,等. 黑龙江省2007年水稻稻瘟病生产调研及建议[J]. 黑龙江农业科学, 2010(4): 68-70.
- [3] 吴俊,刘雄伦,戴良英,等. 水稻广谱抗稻瘟病基因研究进展[J]. 生命科学, 2007, 19(2): 233-238.
- [4] LIU Jin-ling, WANG Xue-jun, MITCHELL T, et al. Recent progress and understanding of the molecular mechanisms of the rice - *Magnaporthe oryzae* interaction[J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 11(3): 419-427.
- [5] 廖耀平,陈钊明,陈顺佳,等. 优质高产水稻新品种中二软占[J]. 广东农业科学, 2001(6):49.
- [6] 杨祁云,伍尚忠,朱小源,等. 广东稻瘟病菌的遗传宗谱与致病性的关系研究[J]. 植物保护学报, 2000, 27(4): 289-294.
- [7] 朱小源,杨健源,陈玉托,等. 引致天优998抗性丧失的稻瘟病菌小种鉴定及其致病性测定[J]. 广东农业科学, 2008(12): 84-86.
- [8] 刘录祥,郭会君,赵林姝,等. 我国作物航天育种20年的基本成就与展望[J]. 核农学报, 2007, 21(6): 589-592.
- [9] 严文潮,孙国昌,徐建龙,等. 空间诱变育成抗稻瘟病和白叶枯病水稻突变体浙101[J]. 中国水稻科学, 2004, 18(5): 415-419.
- [10] 洪彦彬,杨祁云,林佩珍,等. 水稻空间诱变稻瘟病抗性变异研究及抗性变异基因的分子标记[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2006, 34(4): 96-100.
- [11] 张景欣,杨祁云,王慧,等. 航恢七号空间诱变变异株系的稻瘟病抗性研究[J]. 核农学报, 2010, 24(3): 425-429.
- [12] 肖武名,杨祁云,陈志强,等. 空间诱变水稻品系抗稻瘟病遗传及微卫星多态性分析[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 3952-3958.
- [13] XIAO Wu-ming, YANG Qi-yun, WANG Hui, et al. Identification and fine mapping of a resistance gene to *Magnaporthe oryzae* in a space-induced rice mutant[J]. Molecular Breeding, 2010, 28(3):303-312.

【责任编辑 周志红】