

张希瑞,孙海正,孙淑红,等. 粳稻苗期恶苗病抗性相关性状与 SSR 标记关联分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(5):51-57.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.05.007

# 粳稻苗期恶苗病抗性相关性状与 SSR 标记关联分析

张希瑞,孙海正,孙淑红,田崇兵,赵凤民,薛菁芳

(黑龙江省农业科学院水稻研究所,黑龙江佳木斯 154026)

**摘要:**以来自不同地区的 167 份水稻品种为供试材料,2021 年和 2022 年连续 2 年采用芽期接种法进行恶苗病抗性鉴定,在水稻 3.0~3.5 叶期对得病率(IR)、徒长率(SGR)和苗增重率(WGR)进行统计和测量。利用 TASSEL 3.0 软件的 GLM 将 3 个表型性状与 154 对 SSR 标记位点进行关联分析,2021 年检测到 22 个位点,2022 年检测到 13 个位点,共有 4 个位点在 2 次鉴定中被同时检测到,分别是位于第 6、第 3 和第 4 号染色体上与 IR 显著关联的 RM527、RM1352 和 RM1354,位于第 7 号染色体上与 SGR 显著关联的 RM473。同时进一步挖掘出 9 个优异等位变异及相应载体材料,发现龙稻 1 号、辽粳 912、五优稻 1 号等是含有 2 个及以上等位变异的较优材料。

**关键词:**粳稻;恶苗病抗性;SSR 标记;关联分析;等位变异

**中图分类号:**S435.111.4<sup>+</sup>4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)05-0051-07

水稻恶苗病是一种种传病害,主要由恶苗病病菌在种子发芽过程中侵染胚芽导致发病,患病植株主要表现为植株细高,叶片叶鞘细长,叶色淡黄,根系发育不良,部分病苗在移栽前枯萎死亡。水稻生长的任意一个时期都可能感染恶苗病病菌,从而引发恶苗病。水稻恶苗病的大面积发生,可导致作物产量减少 40% 以上,造成巨大的经济损失,严重制

约水稻的安全生产<sup>[1]</sup>。

防治恶苗病最直接、经济、有效的方法就是培育抗恶苗病水稻新品种。选育抗恶苗病水稻品种的前提是筛选和挖掘抗性资源。恶苗病的抗性鉴定主要包括病菌的培养、接种和抗性水平的评价。前人关于水稻恶苗病的接种鉴定方法的研究有很多,吕彬对芽期浸菌接种、立针期喷雾接种、芽期加立针期接种、穗期喷雾接种等多种方法进行了比较,结果表明,芽期浸菌接种致病效果最佳,可用此方法区分不同水稻品种的抗感水平<sup>[2]</sup>。Yadav 等发现,恶苗病病菌生长繁殖的最适温度是 20℃、最适 pH 值为 5.0,并进一步得出以谷壳作碳源的培养基

收稿日期:2023-05-24

基金项目:黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(编号:CZKYF2023-1-C021);黑龙江省农业科学院应用研发类项目(编号:2021YYF033)。

作者简介:张希瑞(1993—),男,黑龙江绥化人,硕士,助理研究员,从事水稻遗传育种研究。E-mail:842028064@qq.com。

[36] Xu C J, Luo M Z, Sun X J, et al. *SiMYB19* from foxtail millet (*Setaria italica*) confers transgenic rice tolerance to high salt stress in the field[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(2):756.

[37] Ma Z M, Jin Y M, Wu T, et al. *OsDREB2B*, an AP2/ERF transcription factor, negatively regulates plant height by conferring GA metabolism in rice[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13:1007811.

[38] M'Angale P G, Staveley B E. Inhibition of mitochondrial calcium uptake 1 in *Drosophila* neurons[J]. Genetics and Molecular Research, 2017, 16(1):gmr16019436.

[39] Zeng H Q, Zhang Y X, Zhang X J, et al. Analysis of EF-hand proteins in soybean genome suggests their potential roles in environmental and nutritional stress signaling[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8:877.

[40] Lamers J, van der Meer T, Testerink C. How plants sense and

respond to stressful environments[J]. Plant Physiology, 2020, 182(4):1624-1635.

[41] Reddy V S, Reddy A S N. Proteomics of calcium-signal components in plants[J]. Phytochemistry, 2004, 65(12):1745-1776.

[42] Brunetti S C, Arseneault M K M, Wright J A, et al. The stress induced caleosin, RD20/CLO3, acts as a negative regulator of GPA1 in *Arabidopsis*[J]. Plant Molecular Biology, 2021, 107(3):159-175.

[43] Magnan F, Ranty B, Charpentreau M, et al. Mutations in AtCML9, a calmodulin-like protein from *Arabidopsis thaliana*, alter plant responses to abiotic stress and abscisic acid[J]. Plant Journal, 2008, 56(4):575-589.

[44] Hazak O, Mamon E, Lavy M, et al. A novel Ca<sup>2+</sup>-binding protein that can rapidly transduce auxin responses during root growth[J]. PLoS Biology, 2019, 17(7):e3000085.

病菌生长速度最快和以甘蔗作碳源的培养基孢子产量最大的结论<sup>[3]</sup>。Hossain 等在鉴定不同水稻品种抗性试验中发现,用  $1.5 \times 10^5$  个/mL 恶苗病病菌孢子悬浮液浸种 36 h 处理效果最佳<sup>[4]</sup>。在恶苗病抗性水平的评价上,出现了多种衡量指标。有的基于发病症状对抗性水平进行定级<sup>[5-6]</sup>,有的通过发病症状统计发病率、健康植株率来衡量抗性水平<sup>[7-8]</sup>。季芝娟在定位恶苗病抗性相关数量性状位点 (QTL) 研究中,利用徒长率 (SGR) 和苗增重率 (WGR) 来衡量试验材料的恶苗病抗性水平,并得出 2 个性状存在相关性的结论<sup>[9]</sup>。

关联分析是以连锁不平衡 (LD) 为基础,分析自然群体材料某目标性状与分子标记或候选基因间连锁遗传关系的一种方法,在水稻、玉米等作物中已被广泛应用<sup>[10-12]</sup>。本研究以 167 份不同地理来源的水稻品种为材料,对其进行连续 2 次苗期恶苗病抗性鉴定,利用 154 对简单重复序列 (SSR) 标记与得病率 (IR)、徒长率、苗增重率等进行关联分析,旨在挖掘与 IR、SGR 和 WGR 等恶苗病抗性性状相关的 SSR 标记位点,为高抗恶苗病水稻的选育提供分子理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

以 167 份地理分布广泛的粳稻品种为供试材料 (表 1)。其中,来自我国辽宁、吉林、黑龙江的材料分别有 14、32、48 份,来自日本的材料有 47 份,来自朝鲜的材料有 7 份,来自俄罗斯的材料有 5 份,来自韩国的材料有 14 份。

### 1.2 SSR 标记分析

采用十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 法进行 DNA 提取<sup>[13]</sup>。利用黑芒稻、元子二号、金钩、东农 424 和龙粳 20 的 DNA 对笔者所在实验室已有的 500 对 SSR 引物进行多态性筛选,从中筛选出 154 对多态性高的 SSR 引物,对 167 份材料进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 20  $\mu$ L: 2  $\mu$ L 模板 DNA (25 ng/ $\mu$ L), 2  $\mu$ L SSR 引物 (12 ng/ $\mu$ L), 3  $\mu$ L PCR 缓冲液, 1.5  $\mu$ L MgCl<sub>2</sub> 溶液 (25 mmol/L), 0.3  $\mu$ L Taq 酶 (5 U/ $\mu$ L), 0.2  $\mu$ L dNTP (10 mmol/L), 最后加入 11  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O 使总体积达到 20  $\mu$ L。PCR 扩增程序为: 94  $^{\circ}$ C 预变性 6 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 47  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 38 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4  $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物采用 6% 聚丙烯酰胺凝胶

电泳和银染法进行检测。

### 1.3 恶苗病病菌的培养

5 种恶苗病病菌混合菌株由黑龙江省农业科学院水稻研究所植物保护研究室提供,用高粱培养基进行扩大培养,培养完成后用无菌纯净水将孢子冲洗下来,配制浓度为  $1 \times 10^5$  个/mL 的孢子悬浮液,对其进行镜检,以 100 倍镜下每个视野约有 2 000 个孢子为宜。

### 1.4 芽期接种

本试验于 2021 年和 2022 年连续 2 年在黑龙江省农业科学院水稻研究所的实验室进行。采用芽期接种法,试验设置处理和对照,每组 3 次重复。先将供试种子装入有孔胶卷盒中,进行浸种和催芽,再将处理组的种子浸在恶苗病病菌孢子悬浮液中接种 12 h,捞出控干水分,采用育苗盘育苗,每个品种播种 100 粒。在水稻 3.0 ~ 3.5 叶期调查植株得病率,每个品种选 5 株测量其株高和植株干重,每年鉴定 1 次。徒长率和苗增重率的计算方法如下: 徒长率 = (处理株高平均值 - 对照株高平均值) / 对照株高平均值  $\times 100\%$ , 苗增重率 = (处理干重平均值 - 对照干重平均值) / 对照干重平均值  $\times 100\%$ 。

### 1.5 数据分析

利用 Excel 软件对得病率、徒长率和苗增重率等性状的平均值、标准差及变异系数进行统计分析。使用 Structure 2.3.4 软件进行群体结构分析,群体  $K$  值取值范围为 1 ~ 10,马尔科夫链蒙特卡洛 (MCMC) 参数设为 100 000,不作数迭代 (length of burn-in period) 设为 10 000,每个  $K$  值重复运行 10 次。依据最大似然值原则确定合适的群体  $K$  值,若对数似然值  $\ln P(D)$  随亚群数  $K$  值增大而增大,则采用  $\Delta K$  来确定最适  $K$  值<sup>[14-15]</sup>。运用 TASSEL 3.0 软件计算两两位点之间的  $D'$  值,以此来评价供试材料群体的连锁不平衡 (LD) 程度 (等位基因频率 < 5% 的稀有等位基因作为缺失处理)。当  $P \leq 0.01$  时认为该标记与目标性状的 LD 达到显著水平<sup>[16]</sup>。将 Structure 2.3.4 软件运行后得到的  $Q$  值作为协变量,利用 TASSEL 3.0 软件中的广义线性模型 (GLM) 进行相关性状与标记的关联分析,当  $P \leq 0.01$  时认为该标记与目标性状关联<sup>[17]</sup>。

### 1.6 优异等位变异挖掘

在上述关联分析的基础上,参照 Zhang 等的方法<sup>[18]</sup>进行优异等位变异挖掘。以群体平均值为对照,估算关联位点等位变异的表型效应值,并列

表 1 167 份粳稻材料的名称与来源

编号	材料名称	地理来源	编号	材料名称	地理来源	编号	材料名称	地理来源
1	黑芒稻	中国辽宁	46	吉特 639	中国吉林	91	黑粳 3 号	中国黑龙江
2	万大陆	中国辽宁	47	龙稻 1 号	中国黑龙江	92	松粳 10	中国黑龙江
3	辽盐糯	中国辽宁	48	龙稻 3 号	中国黑龙江	93	东农 422	中国黑龙江
4	丹粳 8	中国辽宁	49	东农 415	中国黑龙江	94	龙粳 20	中国黑龙江
5	开粳 3 号	中国辽宁	50	东农 424	中国黑龙江	95	秋田小町	日本
6	辽农 938	中国辽宁	51	合江 1 号	中国黑龙江	96	圆粒	日本
7	辽星 6	中国辽宁	52	合江 3 号	中国黑龙江	97	一目惚	日本
8	辽星 13	中国辽宁	53	合江 11 号	中国黑龙江	98	日立 23	日本
9	辽盐 16	中国辽宁	54	合江 18 号	中国黑龙江	99	奥羽 394	日本
10	辽盐 283	中国辽宁	55	合江 22 号	中国黑龙江	100	龙立	日本
11	辽粳 421	中国辽宁	56	合江 23 号	中国黑龙江	101	关山	日本
12	辽粳 912	中国辽宁	57	牡丹江 1 号	中国黑龙江	102	花脸	日本
13	沈农 129	中国辽宁	58	牡丹江 2 号	中国黑龙江	103	花水稻	日本
14	岫岩不服劲	中国辽宁	59	丰产 9 号	中国黑龙江	104	绢光	日本
15	吉粳 88	中国吉林	60	普选 18	中国黑龙江	105	千代锦	日本
16	向阳红芒	中国吉林	61	普选 24	中国黑龙江	106	田泰	日本
17	公交 13	中国吉林	62	五优稻 1 号	中国黑龙江	107	早沙粳	日本
18	公字 1 号	中国吉林	63	北稻 1 号	中国黑龙江	108	分手光	日本
19	吉玉粳	中国吉林	64	北稻 3 号	中国黑龙江	109	富士光	日本
20	元子二号	中国吉林	65	龙盾 102	中国黑龙江	110	山形 86	日本
21	黄尖头光陆羽稻	中国吉林	66	龙盾 104	中国黑龙江	111	WD - 12468	日本
22	大红毛改良北海道	中国吉林	67	垦稻 12	中国黑龙江	112	阿利西恩	日本
23	二节稻	中国吉林	68	绥粳 7 号	中国黑龙江	113	克里斯塔	日本
24	太南稻	中国吉林	69	白刃	中国黑龙江	114	巴尔多	日本
25	芦苇稻	中国吉林	70	汤原 6(京租)	中国黑龙江	115	珍品稻	日本
26	红毛	中国吉林	71	无名稻	中国黑龙江	116	陆羽	日本
27	金早	中国吉林	72	改良国光	中国黑龙江	117	青春号	日本
28	红毛稻子	中国吉林	73	红粘稻	中国黑龙江	118	藤系 168	日本
29	金钩	中国吉林	74	大黄粳子	中国黑龙江	119	藤系 180	日本
30	白大肚兴亚	中国吉林	75	老头稻	中国黑龙江	120	藤系 144	日本
31	老光头	中国吉林	76	五常白毛	中国黑龙江	121	岛光	日本
32	陆羽 132 - 1	中国吉林	77	大兴国	中国黑龙江	122	功穗	日本
33	小白毛	中国吉林	78	二白毛	中国黑龙江	123	秋光	日本
34	长春无芒	中国吉林	79	大粒稻	中国黑龙江	124	野畦	日本
35	小白粳子桦甸白	中国吉林	80	红稗尖国光	中国黑龙江	125	屉锦	日本
36	九稻 6 号	中国吉林	81	金线稻 1 号	中国黑龙江	126	屉时雨	日本
37	九稻 8 号	中国吉林	82	红尖粘稻	中国黑龙江	127	秋丰	日本
38	双丰 8 号	中国吉林	83	白大肚	中国黑龙江	128	屉稔	日本
39	长白 9 号	中国吉林	84	火稻子	中国黑龙江	129	秋昭	日本
40	超产 1 号	中国吉林	85	白芒稻	中国黑龙江	130	清锦	日本
41	吉粳 106	中国吉林	86	新开种	中国黑龙江	131	藤坂 5 号	日本
42	吉粳 502	中国吉林	87	富国	中国黑龙江	132	越实	日本
43	九稻 33 号	中国吉林	88	老头稻 1 号	中国黑龙江	133	黄白光	日本
44	九稻 46 号	中国吉林	89	黑粳 2 号	中国黑龙江	134	西格隆	日本
45	吉林日落	中国吉林	90	卫国	中国黑龙江	135	链春号	日本

表 1(续)

编号	材料名称	地理来源	编号	材料名称	地理来源	编号	材料名称	地理来源
136	妙妙系原	日本	147	龙城 14 号	朝鲜	158	万安	韩国
137	黄金梦	日本	148	朝鲜稻	朝鲜	159	文长	韩国
138	早黄金	日本	149	DJP6217	俄罗斯	160	三百	韩国
139	陆奥香	日本	150	3πP6213	俄罗斯	161	尚美	韩国
140	小田代 5 号	日本	151	12324	俄罗斯	162	五台	韩国
141	道北 45	日本	152	12338	俄罗斯	163	云长	韩国
142	平壤 1 号	朝鲜	153	12346	俄罗斯	164	印月	韩国
143	平壤 10 号	朝鲜	154	云头稻	韩国	165	红珍珠	韩国
144	咸南 1 号	朝鲜	155	太星稻	韩国	166	朝林	韩国
145	咸南 23 号	朝鲜	156	巨楼	韩国	167	早晋富	韩国
146	盐州 1 号	朝鲜	157	敦内	韩国			

携带该等位基因的 3 个最佳品种材料。

2 结果与分析

2.1 粳稻苗期恶苗病抗性鉴定

对 2021 年与 2022 年鉴定的 167 份水稻品种的得病率进行统计分析,以 2 次鉴定的平均得病率为评价指标,平均得病率最小的 5 个品种分别是双丰 8 号、咸南 23 号、日立 23、12346 和早晋富,得病率分别为 8.7%、8.0%、8.8%、4.8% 和 6.3%。

2.2 群体结构分析

利用 167 个供试材料在 154 对 SSR 引物扩增下的基因型数据,结合 Structure 2.3.4 软件对该自然

群体进行结构分析。由图 1 可知,对数似然值  $\ln P(D)$  随亚群数  $K$  值的增大而增大,无法确定最适  $K$  值,故采用  $\Delta K$  来确定合适  $K$  值。当  $K=2$  时,  $\Delta K$  为最大值,因此判定样本亚群数为 2。利用 Structure 2.3.4 软件计算出每个品种归属于 2 个亚群的后验概率值,以此来划分每个品种归属的亚群,将概率值  $\geq 0.8$  作为亚群分类条件,不符合条件的归于混合亚群,将亚群分别命名为 P1、P2 和混合亚群(MIX)。由图 2 可以看出,P1 包括 14 份材料,P2 包括 114 份材料,剩余的 39 份材料被划分入 MIX。利用 Structure 2.3.4 软件计算出  $K=2$  时各材料的  $Q$  值并应用于下一步的关联分析中。

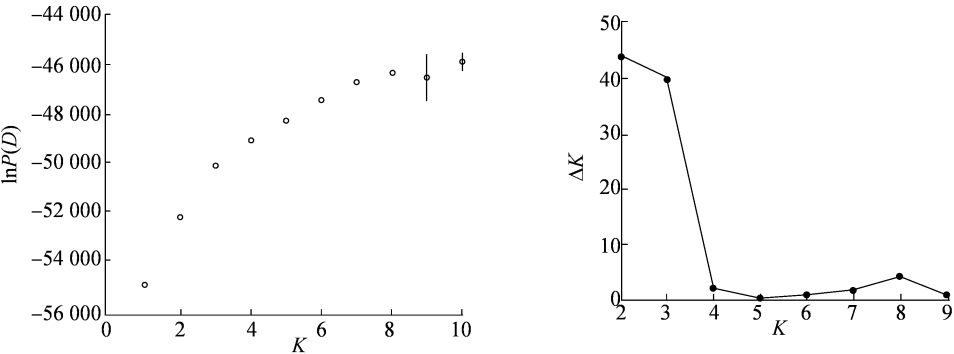


图1 K值的确定

2.3 连锁不平衡分析

使用 TASSEL 3.0 软件对上述 2 个亚群 154 对 SSR 标记位点的连锁不平衡状况进行分析,计算出所有可能位点的  $D'$  值和  $P$  值,用来评价群体的连锁不平衡程度,其中稀有等位变异即变异频率  $< 5\%$  作为缺失处理。评价位点间显著连锁不平衡的标准是  $P \leq 0.01$ 。图 3 直观地显示出连锁状态的位点组合,用不同的颜色表示每对多态性位点间的  $D'$  值和

Fisher 检验的  $P$  值。结果表明,在 11 628 个成对 SSR 位点组合中共线性组合和非共线性组合间均存在一定程度的 LD(斜线左下方非白色小格)。统计概率( $P < 0.01$ )支持 LD 成对的 SSR 位点有 890 个,占全部位点组合的 7.7%。

2.4 苗期恶苗病抗性相关性状与 SSR 位点间的关联分析

利用 TASSEL 3.0 软件的 GLM 功能模块分别对

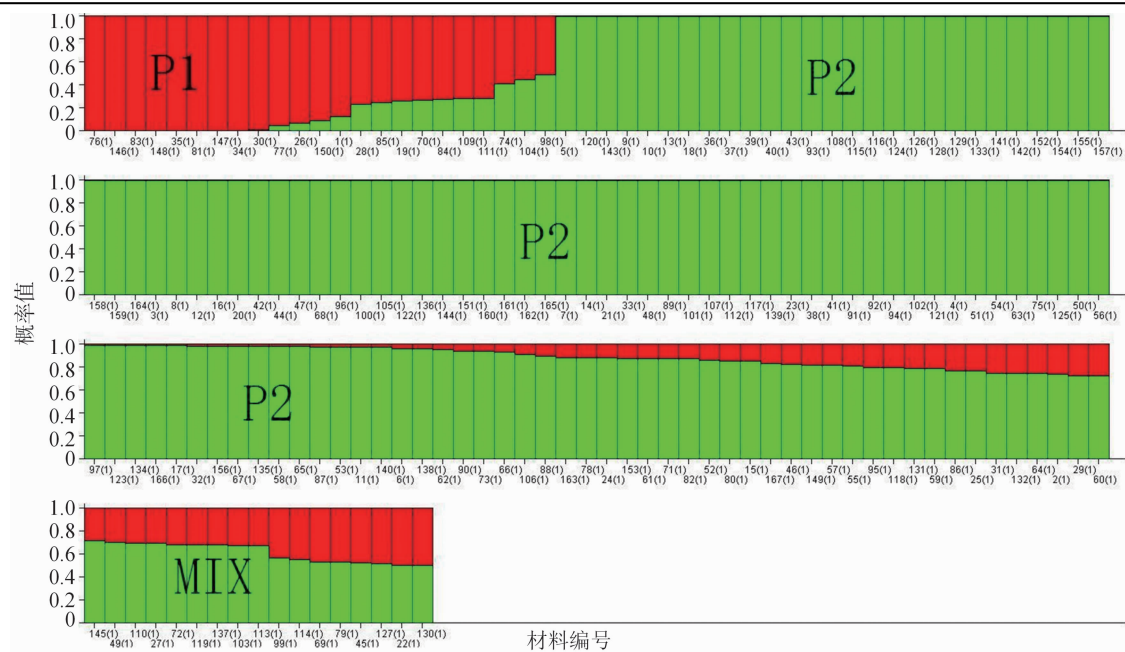


图2 亚群分类结果(K=2)

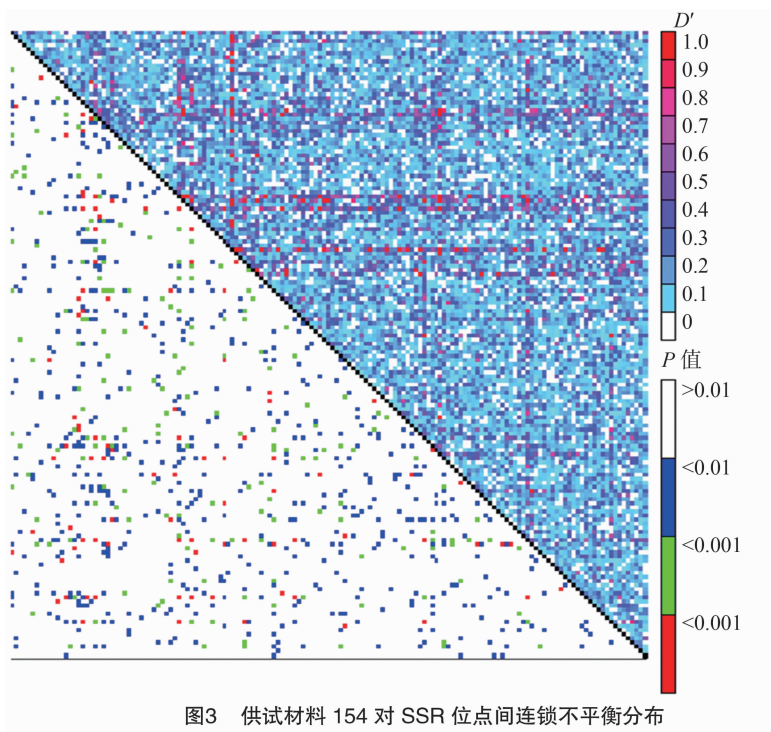


图3 供试材料 154 对 SSR 位点间连锁不平衡分布

恶苗病相关性状进行关联分析。由表 2 可知,第 1 次(2021 年)鉴定检测到与 3 个抗病相关性状显著关联的 SSR 标记位点共 22 个,其中与 IR 相关联的标记 7 个,与 SGR 相关联的位点 11 个,与 SWR 相关联的位点 4 个;在第 2 次(2022 年)鉴定检测到与抗病性状相关联的位点共 13 个,其中与 IR 相关联的标记 7 个,与 SGR 相关联的位点 3 个,与 WGR 相关联的位点 3 个。在 2 次鉴定中共有 4 个位点被同

时检测到与 IR 和 SGR 性状显著关联,分别是与 IR 显著关联的 RM527、RM1352 和 RM1354,分别位于第 6、第 3 和第 4 号染色体上,且 2 次鉴定累计表型贡献率均大于 35%;与 SGR 显著关联的位点是 RM473,位于第 7 号染色体上,2 次表型贡献率分别是 11.91% 和 9.10%。

### 2.5 优异等位基因及载体材料

将本研究在 2 年鉴定中同时检测到的 4 个位点

表 2 2 次鉴定中与 IR、SGR 和 WGR 相关联的 SSR 分子标记

性状	2021 年				2022 年			
	标记位点	染色体	<i>P</i> 值	贡献率(%)	标记位点	染色体	<i>P</i> 值	贡献率(%)
IR	RM478	7	0.009 8	5.84	RM223	8	0.007 6	8.62
	RM527	6	0.000 2	17.86	RM242	9	0.007 6	7.17
	RM1261	12	0.005 8	10.14	RM527	6	0.005 9	12.20
	RM1352	3	0.001 1	12.50	RM566	9	0.008 9	7.14
	RM1353	7	0.009 0	11.91	RM1302	12	0.008 7	9.10
	RM1354	4	0.005 5	9.25	RM1352	3	0.001 8	11.85
	RM1360	1	0.003 9	10.52	RM1354	4	0.001 5	11.01
SGR	RM10	7	0.009 6	9.40	RM284	8	0.005 7	7.80
	RM25	8	0.005 9	7.50	RM411	3	0.006 2	6.21
	RM471	4	0.007 5	5.69	RM473	7	0.003 8	9.10
	RM473	7	0.000 3	11.91				
	RM518	4	0.000 5	13.15				
	RM527	6	0.007 0	11.76				
	RM542	7	0.001 1	10.21				
	RM583	1	0.007 9	11.09				
	RM586	6	0.000 4	13.24				
	RM1219	11	0.001 7	8.98				
	RM1354	4	0.001 0	11.25				
WGR	RM152	8	0.000 1	11.74	RM345	6	0.006 7	4.84
	RM241	4	0.002 3	10.44	RM527	6	0.000 2	16.82
	RM518	4	0.003 5	10.98	RM1324	3	0.008 7	10.81
	RM1254	1	0.006 0	8.06				

用来进一步挖掘优异等位变异。因为标记间的等位变异表型效应值为负数时才对水稻的恶苗病抗性有积极的促进作用,所以将 2 年中表型效应值小于零的优异等位变异进行整理,并列出携带该等位变异的 3 个最佳品种。由表 3 可知,共有 9 个优异等位变异在 2 年中均被检测到,分别是 RM473 - 90、RM473 - 100、RM527 - 225、RM527 - 230、RM527 -

235、RM527 - 240、RM1354 - 205、RM1354 - 210、RM1354 - 215,其中 RM1354 - 205 在 2 年里的表型效应绝对值均最大,分别是 5.52 和 7.43。从表 3 中可以发现,龙稻 1 号、辽粳 912、五优稻 1 号、东农 424、龙盾 104 等较优材料在 2 年鉴定中含有 2 个及以上优异等位变异,且均具有较高恶苗病抗性。

表 3 与 IR、SGR 和 WGR 相关的优异等位变异及载体材料

标记位点	等位变异 (bp)	表型效应值		载体材料数量 (份)	部分载体材料
		2021 年	2022 年		
RM473	90	-0.28	-1.07	48	龙稻 1 号、辽粳 912、龙盾 104
	100	-0.15	-0.54	76	合江 23 号、东农 424、龙稻 3 号
RM527	225	-3.35	-5.57	22	东农 424、龙稻 3 号、五优稻 1 号
	230	-2.38	-3.59	29	北稻 1 号、垦稻 12、龙盾 104
	235	-1.43	-2.22	51	辽粳 912、合江 22 号、合江 23 号
	240	-5.01	-6.46	12	东农 415、牡丹江 1 号、龙稻 1 号
RM1354	205	-5.52	-7.43	10	辽粳 421、西格隆、DJP6217
	210	-0.73	-1.11	82	合江 23 号、五优稻 1 号、龙稻 1 号
	215	-1.02	-1.37	52	东农 422、辽粳 912、合江 22 号

### 3 讨论

#### 3.1 黑龙江水稻恶苗病的发生

有研究指出,催芽阶段最易感染恶苗病病菌<sup>[19]</sup>。为方便农民生产,现在黑龙江省绝大多数农场都采用催芽工厂集中浸种催芽,而恶苗病属于种传病害,带菌种子为恶苗病的初侵染源,在浸种催芽时极易大量繁殖与传播,导致恶苗病大规模发生。这与季芝娟等的观点<sup>[20]</sup>一致。本研究采用的芽期接种法符合生产实际。

#### 3.2 抗恶苗病品种的选育

研究表明,不同水稻品种之间对恶苗病病菌的抗性存在明显差异,通过人工选择培育抗性强的水稻品种是最直接、有效的控制恶苗病发生的手段。本研究对现有水稻品种进行抗性筛选,发掘高抗水稻资源,可作为培育高恶苗病抗性水稻的骨干亲本,为抗性水稻的亲本选育提供理论依据<sup>[21]</sup>。

#### 3.3 化学防治恶苗病

在当下的水稻生产实践中,采用种衣剂包衣和浸种剂消毒是防治水稻恶苗病最主要的防治手段。研究表明,长期使用单一药剂及采用长时间、低浓度的方式浸种易使病原菌产生抗药性。2 种或多种药剂混合使用的防治效果显著优于单一药剂的使用效果<sup>[22]</sup>。近年来,以氰烯菌酯为有效成分的药剂在生产实践中对田间恶苗病有良好的防治效果,被广泛应用于水稻生产中<sup>[23]</sup>。在采用混合药剂浸种时,要注意防止高浓度、长时间浸种对种胚造成的损伤,而影响种子出苗和正常生长。在药剂选择时,可以考虑选择微生物拮抗药剂,可有效避免农药残留,还具有安全性高、绿色环保等特点。

#### 参考文献:

- [1] 曹涤环. 早杂秧田为何恶苗病重发[J]. 农化市场十日讯, 2016(9): 46-47.
- [2] 吕彬. 水稻抗恶苗病的鉴定方法研究[J]. 作物学报, 1996, 22(5): 629.
- [3] Yadav R, Tyagi S, Javeria S, et al. Effect of different cultural condition on the growth of *Fusarium moniliforme* causing bakanae disease[J]. European Journal of Molecular Biotechnology, 2014, 4(2): 84-95.
- [4] Hossain K, Mia M, Bashar M. New method for screening rice varieties against bakanae disease[J]. Bangladesh Journal of Botany, 2014, 42(2): 315-320.

- [5] 郑镐燮, 吕彬, 吴润植, 等. 水稻恶苗病抗病性筛选方法的初步研究[J]. 植物保护学报, 1993, 20(4): 289-293.
- [6] Zainudin N A L M, Razak A A, Salleh B, et al. Secondary metabolite profiles and mating populations of *Fusarium* species in section Liseola associated with bakanae disease of rice[J]. Malaysian Journal of Microbiology, 2008, 4(1): 6-13.
- [7] 冯世超, 李鹏, 尹庆, 等. 不同水稻品种(系)苗期抗恶苗病差异分析[J]. 现代化农业, 2019(1): 8-9.
- [8] Lee Y H, Lee M J, Choi H W, et al. Development of *in vitro* seedling screening method for selection of resistant rice against bakanae disease[J]. Research in Plant Disease, 2011, 17(3): 288-294.
- [9] 季芝娟. 水稻恶苗病抗性相关基因的鉴定及多抗基因的聚合育种利用[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [10] 逢洪波, 程露, 于茗兰, 等. 栽培稻芽期耐低温全基因组关联分析[J]. 中国农业科学, 2022, 55(21): 4091-4110.
- [11] 肖颖妮, 李高科, 李坤, 等. 甜玉米籽粒体积和粒重的全基因组关联分析[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(7): 12-25.
- [12] 贺米兰, 李海洋, 黄泽荣, 等. 大豆 *DELLA* 基因单倍型与花期关联分析及基因编辑靶点鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(3): 787-799.
- [13] Zhang X X, Wang L, Shou L L. Modified CTAB method for extracting genomic DNA from wheat leaf[J]. Agricultural Science & Technology, 2013, 14(7): 946-949.
- [14] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study[J]. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [15] Li W Z, Liang C, Wang M, et al. Correlation analysis of yield and photosynthetic traits with simple repeat sequence (SSR) markers in maize[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2017, 19(5): 1079-1086.
- [16] 孙茂霖, 孙健, 石尚, 等. 水稻维生素 B<sub>6</sub> 与 SSR 标记的关联分析[J]. 西北农业学报, 2019, 28(1): 51-58.
- [17] 李宪伟, 郑洪亮, 赵宏伟, 等. 苏打盐碱胁迫下梗稻芽期耐盐碱相关性状与 SSR 标记关联分析[J]. 华北农学报, 2018, 33(2): 139-148.
- [18] Zhang T Z, Qian N, Zhu X F, et al. Variations and transmission of QTL alleles for yield and fiber qualities in upland cotton cultivars developed in China[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57220.
- [19] 赵世麒. 水稻恶苗病菌生物学特性及品种抗病性鉴定[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.
- [20] 季芝娟, 曾宇翔, 梁燕, 等. 水稻恶苗病抗性研究进展[J]. 中国水稻科学, 2021, 35(1): 1-10.
- [21] 李风顺, 乔俊卿, 张荣胜, 等. 防治水稻恶苗病拮抗细菌的筛选、鉴定和评价[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(4): 907-914.
- [22] 曹梦娇, 钟雪明, 王晔青, 等. 4 种药剂对水稻恶苗病的防治效果[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(8): 1425-1426.
- [23] 李美霞, 陈香华, 周长勇, 等. 灭菌唑与氰烯菌酯复配对水稻恶苗病菌的抑制活性[J]. 农药学报, 2022, 24(6): 1547-1551.