

东乡普通野生稻与栽培稻苗期抗旱性的比较

谢建坤^{1,2,*}, 胡标林^{1,2}, 万 勇², 张 弢², 李 霞², 刘如龙¹,
黄运红¹, 戴亮芳¹, 罗向东¹

(1. 江西师范大学生命科学院, 南昌 330022; 2. 江西省农业科学院水稻研究所, 南昌 330200)

摘要: 干旱影响水稻生长发育, 不论什么时期发生最终都导致产量损失。研究水稻资源抗旱性有助于水稻抗旱改良和稳定干旱胁迫下水稻的产量。东乡普通野生稻被公认为是栽培稻的祖先, 对增强水稻抗旱性可能十分重要。对 4 份来自 3 个仅存的居群的东乡野生稻与 15 份栽培稻进行苗期抗旱性比较, 考察了 3 次重复的盆栽土培试验中 8 个抗旱指标。表明东乡普通野生稻比栽培稻更为抗旱, 表现在最大根长、茎长、根干重、根鲜重、根干鲜重比及抗旱指数等 6 个性状, 而不表现在根数及根茎长比; 其中茎长、最长根长、根干重、根鲜重及根系相对含水量对水稻苗期抗旱性影响更大。采用抗旱指数和抗旱总级别值法对水稻抗旱性进行评定, 结果表明 4 份东乡野生稻材料间的抗旱性存在很大差异, 且来水桃树下居群的抗性最高, 东乡野生稻抗旱性可能与其原生境状况有关。结果认为东乡普通野生稻可作为栽培稻抗旱改良的遗传资源。

关键词: 东乡普通野生稻; 苗期; 抗旱性; 抗旱指数; 抗旱总级别

Comparison of the drought resistance characters at Seedling Stage between Dongxiang Common Wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and cultivars (*Oryza sativa* L.)

XIE Jiankun^{1,2,*}, HU Biaolin^{1,2}, WAN Yong², ZHANG Tao², LI Xia², LIU Rulong¹, HUANG Yunhong¹, DAI Liangfang¹, LUO Xiangdong¹

1 College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China

2 Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China

Abstract: Drought impacts rice growth and development no matter which stage it occurs, which ultimately results in yield reduction. Study on drought resistance of rice germplasm helps to improve cultivars and stabilize grain yield in water stressed conditions. Dongxiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff. hereafter DXCWR) is recognized the progenitor of cultivated rice and may be valuable for increase of drought resistance in rice. Four accessions of the DXCWR collected from three survived populations, were compared with 15 cultivars on the seedling stage drought resistance. The resistance was measured with eight index traits which were evaluated in pot cultivation test with three replications. The DXCWR was more resistant to drought stress than other cultivars indicated by maximum root length (MRL), stem length (SL), dry root weight (DRW), fresh root weight (FRW), root relative water content (RRWC) and drought resistance index (DRI), but not by root/stem length ratio (RSLR) and root number (RN). Among these eight traits, MRL, SL, DRW, FRW and RRWC contributed more than others to drought resistance for rice seedlings. The four accessions of the DXCWR were tremendously differentiated on drought resistance expressed by comprehensive drought resistance value and drought resistance index, and accession 16 from Shuitaoshuxia population was the best. The drought resistance of DXCWR was related with the original habitats. As a result, the DXCWR could be germplasm resources for improvement of drought

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30960189); 江西省重大科技创新资助项目; 江西省教育厅资助项目; 江西省学科带头人培养计划资助项目(020007)

收稿日期: 2009-01-04; **修订日期:** 2009-07-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiejiankun@yahoo.com

resistance in rice.

Key Words: Dongxiang common wild rice; seedling stage; drought resistance; drought resistance index; comprehensive drought resistance classification

水稻是我国的最主要粮食作物,同时也是农业耗水大户,占全国农业总用水量的65%以上^[1]。由于全球性的水资源匮乏及分布不平衡,干旱已成为影响水稻生产的主要非生物障碍因子^[2-3]。由遗传研究可知,作物的抗旱性是可遗传的^[4-5]。因此,要降低干旱对水稻生产所造成的威胁,除改进耕作栽培技术体系和水利灌溉设施外,培育高产、抗旱新品种,从根本上提高水稻的抗旱性,是水稻抗旱研究的重要途径^[6]。同时,研究水稻不同生育阶段适应干旱环境的抗旱机制和筛选抗性鉴定指标对提高水稻品种抗旱性、产量和品质具有重要指导作用^[3]。近年来,已有大量的不同生育时期抗旱及其鉴定指标筛选研究报道^[3,7-10]。相较于开花期^[7]、全生育期^[10]等其它生育阶段,苗期鉴定不仅可对众多的种质资源或抗旱选育过程中大量的早世代材料进行快速筛选,减少育种过程中盲目性;还可以降低田间工作量及雨水条件的影响,进而加快抗旱育种进程^[11-12]。因此,水稻苗期抗旱性鉴定的研究已非常广泛^[11-13]。然而由于不同研究所选择材料和性状的差异得出结论也不尽相同,究竟哪种指标性状能真实反映苗期抗旱性,尚有异议。目前,有关栽培稻与野生稻的抗旱性比较鉴定为数不多,特别是以根系性状分析抗旱性相关特征的研究则更少。

野生稻蕴藏着栽培稻不具备或已丢失的优异基因,发掘并利用这些优异基因对提高水稻产量、抗性及稻米品质,具有重要现实意义^[14]。江西东乡普通野生稻(以下简称“东野”),是迄今分布纬度最北的普通野生稻(N 28°14′)。大量研究表明东野具有高产^[15]、胞质不育^[16]、育性恢复^[17]、强分蘖力^[18]、茎秆坚韧、多年生宿根、米质佳等众多种优异农艺性状和抗冷^[19-20]、抗病虫^[21]等丰富的抗逆特性,是一个天然基因库。然而,由于遭受到人畜破坏及保护措施不到位,东野原生境及其周边的生态环境不断恶化,东野居群由1978年发现时的9个居群锐减为现存的3个居群,因此,加速开展东野有利基因的鉴定、发掘和利用已是刻不容缓。2001年始,将目前仅存的3个居群的东野植株材料移植于网室水泥池,进行了为期3a的抗旱性预备试验,发现东野在土壤特别干旱情况下能存活。尤其是在2003年7月9日至30日(期间未降雨,也未对试验材料进行人工灌水)日最高气温持续40℃左右的气候条件下,土表龟裂,但东野存活率高达89.82%。经过初步调查、分析抗旱性相关形态性状,表明东野蕴藏着抗旱基因资源。本研究在前期试验的基础上,以不同居群的东野个体(根据预备实验的结果选取了4份来自东野不同居群的材料)及早稻、栽培稻等19份不同类型水稻品种为材料,以抗旱指数法对参试材料进行抗旱性直接评价,采用抗旱总级别法进行综合评价加以验证,以探讨不同居群东野材料苗期抗旱性的差异。同时分析苗期抗旱性与根部和地上部性状间的关系,为东野抗旱性研究、利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 参试材料

参试材料主要为江西省水稻生产上广泛种植的杂交稻组合和一些常规稻、早稻、来自不同居群的东乡野生稻,共计19份。名称按编号顺序为:1. 秦爱,2. UPLRI-5,3. 巴西陆稻,4. 测64,5. R974,6. 明恢63,7. 协青早B,8. 中9B,9. 珍汕97B,10. 赣晚粳32号(923),11. 金优974,12. 两优培九,13. 中优838,14. 优I66,15. 新香优80,16. 东野1(为水桃树下居群),17. 东野2(为庵家山居群),18. 东野3(为庵家山居群),19. 东野4(为樟塘居群)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计

试验于2007年在江西农业科学院水稻研究所网室内进行,自行搭建的防雨棚,以防雨水对抗旱试验产生影响。本抗旱鉴定方法参照国际水稻研究所的抗旱性鉴定方法^[22]进行,略有删改。

(1) 种植方法 6月14日选100粒饱满种子放在培养皿中,加清水置实验室内进行浸种,6月15日取出吸干水分后放进底部垫有滤纸的培养皿中,加浓度为2%双氧水(H_2O_2)后,盖上盖置实验室内室温下(25—28℃)进行催芽,6月17日挑选健壮生长基本一致的60棵幼芽播种,设3次重复。播种前先在每只高约20cm的胶皮塑料桶盛装厚度约6cm的质地细碎沙壤土,加份量基本一致的水和复合肥搅拌成粘稠状。播种时以不露种子为度。幼苗在4—5叶以前保持土壤湿润或薄水层,以保证其正常生长。干旱时及时浇水,浇水时尽量做到每桶用水量相同和均匀一致。

(2) 干旱处理 7月7日(即幼苗生长至4—5叶龄)排除桶中积水,进行断水处理。当所有品种叶片卷成针状,上午仍处于萎蔫状态,大部分品种叶片不同程度坏死,少数品种出现整株“枯死”,此时进行复透水。

1.2.2 测定指标和方法

根系性状、茎长以及生物量等测定在干旱复水120h后,各重复参试材料取样5株。用将样本放入网袋中,在水桶浸泡后再冲洗去泥土,用纸巾拭去根表面的水分后测量根部性状(最长根长、根数、根重)及茎长。尔后将它们放进烘箱进行烘干后,再用电子天平称取根干重,均取其平均值。

1.2.3 抗旱性直接评价

在干旱复透水120h后调查幼苗的萎蔫状况,以幼苗叶片或分蘖叶片转为鲜绿色为存活标志。

抗旱性直接评价采用抗旱指数法(即幼苗干旱存活率):

$$\text{抗旱指数}(\%) = \frac{\text{参试材料的总株数} - \text{参试材料的萎蔫株数}}{\text{参试材料的总株数}} \times 100$$

1.2.4 抗旱性综合评价

先采用模糊数学中隶属函数方法,求出参试品种的各指标性状的隶属函数值,各性状的模糊隶属函数值计算公式如下^[23]:

$$\mu(x_i) = \frac{(x_i - x_{i\min})}{(x_{i\max} - x_{i\min})} \quad (1)$$

$$\mu(x_i) = 1 - \frac{(x_i - x_{i\min})}{(x_{i\max} - x_{i\min})} \quad (2)$$

式中, $\mu(x_i)$ 为各株系*i*个性状的隶属函数值,第 x_i 为各品种某一指标性状的测定值, $x_{i\max}$, $x_{i\min}$ 分别为所有参试品种中第*i*个指标性状的最大值和最小值。若该指标性状与抗旱性为正相关,用式1;若为负相关,则用式2。然后再求每个品种所有抗旱指标隶属函数值的加权平均值作为抗旱总级别值(以*D*值表示)来综合其抗旱性:

$$D = \sum_{i=1}^n [\mu(x_i) \cdot (r_i / \sum_{i=1}^n |r_i|)] \quad (i = 1, 2, 3, \dots, n) \quad (3)$$

式中, $\mu(x_i)$ 为各品种第*i*个指标性状隶属函数值, r_i 为各品种第*i*个指标性状与抗旱指数间相关系数, $(r_i / \sum_{i=1}^n |r_i|)$ 为指标权重值,表示第*i*个指标性状在所有抗旱指标中的重要程度。本文所有数据在EXCEL 2003处理后,再使用DPS V6.85软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 苗期干旱胁迫下参试材料形态性状及抗旱指数

本试验考察了干旱胁迫下水稻苗期的8个抗旱指标,其中除茎长和抗旱指数外,其余均为根部性状,因为根系是作物汲取养分及水分的最重要器官,对作物的生长发育以及植株的固定有着不可替代的作用。强壮发达的根系有利于作物吸收、利用土壤较深层次的水分,进而可以提高作物对干旱的适应能力和抗旱能力^[24-29]。由该试验结果(表1)可知,东野除根数和根系相对含水量2个性状平均值低于栽培稻外,其它性状平均值都高于栽培稻,这表明水分胁迫下东野与栽培稻的形态表现存有差异。以抗旱指数判别参试材料的抗旱性表现,由表1可以看出,东野1(水桃树下居群)、东野2(庵家山居群)、东野3(庵家山居群)、东野4(樟塘

表 1 干旱条件下参试材料苗期形态性状及抗旱指数

Table 1 Morphological traits and drought resistance index of tested materials at seedling stage under drought condition

材料编号 Number	最长根长 MRL/cm	根数 RN	茎长 SL/cm	根茎长比 RSLR
1	16.90 ± 1.48	37.40 ± 2.97	52.30 ± 4.30	0.32 ± 0.02
2	21.46 ± 3.02	32.00 ± 4.39	37.56 ± 2.40	0.57 ± 0.07
3	24.38 ± 3.52	18.60 ± 4.88	39.82 ± 2.88	0.61 ± 0.09
4	22.22 ± 4.67	30.00 ± 2.55	33.76 ± 1.98	0.66 ± 0.11
5	22.88 ± 2.13	27.40 ± 4.85	35.70 ± 2.49	0.64 ± 0.07
6	21.44 ± 4.08	30.60 ± 2.30	41.14 ± 2.91	0.52 ± 0.09
7	22.42 ± 4.00	29.60 ± 4.56	34.20 ± 2.40	0.66 ± 0.08
8	20.78 ± 5.67	36.20 ± 4.60	36.36 ± 2.56	0.57 ± 0.09
9	16.56 ± 3.53	27.00 ± 5.41	30.16 ± 2.93	0.55 ± 0.08
10	17.84 ± 4.92	25.60 ± 5.38	35.70 ± 1.94	0.50 ± 0.12
11	29.18 ± 1.65	38.60 ± 5.31	42.84 ± 3.74	0.68 ± 0.07
12	23.10 ± 3.85	30.20 ± 4.82	34.48 ± 0.94	0.67 ± 0.09
13	26.84 ± 3.66	49.20 ± 3.70	43.42 ± 1.95	0.62 ± 0.07
14	18.24 ± 2.36	26.20 ± 2.85	37.08 ± 2.50	0.49 ± 0.04
15	19.26 ± 2.66	30.80 ± 1.30	37.46 ± 1.72	0.51 ± 0.06
平均 Mean	21.57 ± 3.55	31.29 ± 7.09	38.23 ± 5.29	0.57 ± 0.09
16	32.67 ± 2.53	22.30 ± 2.71	52.27 ± 2.75	0.63 ± 0.06
17	30.63 ± 3.21	24.40 ± 2.32	42.60 ± 2.24	0.72 ± 0.07
18	31.01 ± 2.91	22.50 ± 2.98	40.30 ± 2.13	0.77 ± 0.04
19	29.80 ± 2.82	21.70 ± 2.11	46.80 ± 2.95	0.64 ± 0.05
平均 Mean	31.01 ± 1.12	22.73 ± 1.17	45.49 ± 5.26	0.69 ± 0.07
总计 Total	23.56 ± 5.07	29.49 ± 7.19	39.68 ± 5.99	0.60 ± 0.10
CV (%)	21.54	23.39	15.90	17.02
LSD _{0.05}	4.56	6.99	3.42	0.11
LSD _{0.01}	6.08	9.32	4.56	0.14

材料编号 Number	根鲜重 FRW/g	根干重 DRW/g	根系相对含水量 RRWC/%	抗旱指数 DRI/%
1	2.85 ± 0.15	0.100 ± 0.006	96.49 ± 0.007	100.00
2	1.85 ± 0.13	0.054 ± 0.007	97.08 ± 0.008	57.89
3	1.67 ± 0.10	0.048 ± 0.008	97.13 ± 0.010	38.89
4	1.24 ± 0.11	0.044 ± 0.005	96.45 ± 0.008	9.23
5	1.16 ± 0.14	0.038 ± 0.007	96.72 ± 0.007	3.85
6	2.07 ± 0.16	0.064 ± 0.006	96.91 ± 0.006	34.15
7	1.50 ± 0.14	0.048 ± 0.008	96.80 ± 0.008	21.13
8	1.14 ± 0.11	0.042 ± 0.008	96.32 ± 0.007	41.67
9	1.16 ± 0.13	0.038 ± 0.007	96.72 ± 0.009	0.00
10	1.45 ± 0.15	0.046 ± 0.009	96.83 ± 0.011	0.00
11	2.10 ± 0.10	0.064 ± 0.007	96.95 ± 0.008	18.03
12	1.48 ± 0.12	0.044 ± 0.008	97.03 ± 0.007	18.18
13	2.98 ± 0.21	0.088 ± 0.006	97.05 ± 0.006	0.00
14	1.08 ± 0.12	0.036 ± 0.004	96.67 ± 0.005	0.00
15	1.16 ± 0.11	0.040 ± 0.005	96.55 ± 0.008	2.94
平均 Mean	1.66 ± 0.61	0.052 ± 0.019	96.78 ± 0.25	23.06 ± 28.03
16	3.05 ± 0.18	0.300 ± 0.010	90.16 ± 0.004	100.00
17	2.76 ± 0.11	0.230 ± 0.008	91.67 ± 0.006	71.43
18	2.59 ± 0.14	0.110 ± 0.007	95.75 ± 0.006	62.50
19	2.67 ± 0.13	0.120 ± 0.010	95.51 ± 0.007	50.00
平均 Mean	2.77 ± 0.2	0.190 ± 0.091	93.27 ± 2.29	70.98 ± 21.25
总计 Total	1.89 ± 0.71	0.082 ± 0.070	96.04 ± 1.87	
CV (%)	37.75	86.12	1.95	
LSD _{0.05}	0.80	0.02	0.46	
LSD _{0.01}	1.07	0.03	0.61	

LSD_{0.05}、LSD_{0.01} is for mean comparison among varieties at 0.05、0.01 probability, respectively

居群)抗旱指数较高,其抗旱指数均大于或等于 50%,表明东野具有较强的抗旱性,其中东野 1(水桃树下居群)抗旱指数为 100%,表现最抗旱。在栽培稻中,早稻秦爱抗旱指数为 100%,亦表现出极强的抗旱性,其余参试材料均较低。表 1 结果还表明抗旱性不同的品种,根系性状及茎长差异较大。秦爱和东野 1 的抗旱指数最高(100%),具有较高的根干重、根鲜重及茎长,而中 9B、珍汕 97B、中优 838 及优 I 66 等的抗旱指数最低,且它们的根干重、根鲜重及茎长相应较低。但其它性状并未表现出与抗旱指数有明显的相关性,可见有必要进一步对这些性状进行综合分析,以准确考察参试材料抗旱性差异。

2.2 参试材料苗期抗旱性评价及其结果验证

2.2.1 苗期抗旱性综合评价

上述分析可知要准确考察参试材料抗旱性差异,必须对所考察的性状进行综合分析。由于水稻的抗旱性是一个由多因素互作而形成的综合性状,因此确定品种的抗旱性应采用若干性状的综合评价法。为此,本文采用抗旱总级别法^[23]进行苗期抗旱性综合分析,然而各指标不能比量齐观,必须根据各指标和抗旱性的密切程度进行权重分配。首先将指标性状测定值(表 1)用模糊数学中隶属函数方法换算成量化指标即以指标函数隶属值表示(这样可消除各性状因数值大小和变化幅度的不同而产生的差异),再结合各指标的权重系数进行计算综合抗旱 D 值(表 2)。

由表 2 可知,东野 1(水桃树下居群)综合抗旱 D 值最高(0.99),说明该材料的抗旱性最强。4 份东野材料综合抗旱 D 值均高于其他 15 份栽培稻,说明东野具有较栽培稻更强的抗旱性。而从 4 份东野材料综合抗旱 D 值来看,庵家山居群的东野 3 最低(0.52),水桃树下居群的东野 1 最高;而庵家山居群的 2 份材料间差异也较大,说明东野个体材料间抗旱性差异较大。

表 2 参试材料的苗期性状隶属函数值 $\mu(x_i)$ 、相关系数、权重系数和综合抗旱 D 值

Table 2 The Subordinate value $\mu(x_i)$, correlation coefficient (CC), weight coefficient(WC) of traits tested materials and their comprehensive drought D value at seedling stage

材料编号 Number	最长根长 MRL	根数 RN	茎长 SL	根茎长比 RSLR	根鲜重 FRW	根干重 DRW	根系相对含水量 RRWC	抗旱指数 DRI	D
1	0.02	0.39	1.00	0.00	0.90	0.24	0.09	1.00	0.49
2	0.30	0.56	0.33	0.56	0.39	0.07	0.01	0.58	0.24
3	0.49	1.00	0.44	0.65	0.30	0.05	0.00	0.39	0.29
4	0.35	0.63	0.16	0.75	0.08	0.03	0.10	0.09	0.16
5	0.39	0.71	0.25	0.71	0.04	0.01	0.06	0.04	0.17
6	0.30	0.61	0.50	0.44	0.50	0.11	0.03	0.34	0.32
7	0.36	0.64	0.18	0.75	0.21	0.05	0.05	0.21	0.19
8	0.26	0.43	0.28	0.56	0.03	0.02	0.12	0.42	0.16
9	0.00	0.73	0.00	0.51	0.04	0.01	0.06	0.00	0.07
10	0.08	0.77	0.25	0.40	0.19	0.04	0.04	0.00	0.17
11	0.78	0.35	0.57	0.80	0.52	0.11	0.03	0.18	0.38
12	0.41	0.62	0.20	0.78	0.20	0.03	0.01	0.18	0.19
13	0.64	0.00	0.60	0.66	0.96	0.20	0.01	0.00	0.45
14	0.10	0.75	0.31	0.38	0.00	0.00	0.07	0.00	0.14
15	0.17	0.60	0.33	0.43	0.04	0.02	0.08	0.03	0.16
16	1.00	0.88	1.00	0.68	1.00	1.00	1.00	1.00	0.99
17	0.87	0.81	0.56	0.89	0.85	0.74	0.78	0.71	0.75
18	0.90	0.87	0.46	1.00	0.77	0.28	0.20	0.63	0.52
19	0.82	0.90	0.75	0.70	0.81	0.32	0.23	0.50	0.60
相关系数 CC	0.43	-0.21	0.76	-0.04	0.70	0.72	-0.63		
权重系数 WC	0.12	0.06	0.22	0.01	0.20	0.21	0.18		

2.2.2 利用直接评价法和综合评价法对参试材料的苗期抗旱性鉴定结果的比较验证

为了对参试材料抗旱进行评价,将每个材料的综合抗旱 D 值和抗旱指数的模糊函数隶属值分为 3 级,分级如下:1 级:抗旱隶属函数值及 D 值 0.80 以上为强抗旱型;2 级:0.50—0.80 之间为较抗旱型;3 级:0.50 以下为不抗旱型。评价结果列于表 3。

表 3 参试材料抗旱性的直接评价和综合评价

Table 3 The direct evaluation and comprehensive evaluation of drought resistance of the tested varieties

抗旱性分级 Rank of the drought resistance	抗旱性直接评价 Direct evaluation of drought resistance 抗旱指数 DRI	抗旱性综合评价 Comprehensive evaluation of drought resistance D 值 D -value
隶属函数值(0.00—0.50)为不抗旱 No-resistance	巴西陆稻、协青早 B、R974、明恢 63、测 64、中 9B、珍汕 97B、赣晚粳 32 号、金优 974、两优培九、中优 838、优 166、新香优 80	秦爱、UPLRI-5、巴西陆稻、协青早 B、R974、明恢 63、测 64、中 9B、珍汕 97B、赣晚粳 32 号、金优 974、两优培九、中优 838、优 166、新香优 80
隶属函数值(0.50—0.80)为中抗旱 Middle-resistance	UPLRI-5、东野 2(为庵家山居群)、东野 3(为庵家山居群)、东野 4(为樟塘居群)	东野 2(为庵家山居群)、东野 3(为庵家山居群)、东野 4(为樟塘居群)
隶属函数值(0.80—1.00)为高抗旱 High-resistance	秦爱、东野 1(为水桃树下居群)	东野 1(为水桃树下居群)

由表 3 可知,利用抗旱总级别值法进行水稻抗旱性综合评价,除旱稻品种秦爱和 UPLRI-5 的抗旱总级别评价结果比抗旱指数评定结果分别降 2 级和 1 级外,其余 17 个试验材料抗旱评价结果均相同。从而说明利用抗旱指数和抗旱总级别值来进行水稻苗期抗旱鉴定是可行的。对抗旱总级别值和抗旱指数进行简单相关分析(表 4),结果表明抗旱总级别值和抗旱指数间呈极显著正相关,相关系数 $R = 0.77^{**}$,从而又说明利用抗旱指数来进行水稻苗期抗旱直接评价是可行的,同时还具有简单、快捷的优点。由抗旱性直接评价和综合评价结果可知,东野 1(为水桃树下居群)抗旱性最强,表现为高抗;而来自同一庵家山居群的东野 2、东野 3 及樟塘居群的东野 4 均为中抗。

2.3 水分胁迫下苗期抗旱指标间及其与综合抗旱性 D 值关系

水稻抗旱性是多因素互作结果,每个因素都与抗旱性存在不同程度的相关或联系。同时水稻苗期抗旱性的评价不仅与所选择性状有关,还与该性状对抗旱性的影响程度有关^[8,23]。因此,为了找寻与苗期抗旱性密切相关的抗旱指标,笔者利用各指标性状对苗期综合抗旱 D 值进行相关性分析。抗旱性状及其与综合抗旱性 D 值相关分析(表 4)。结果表明除根茎长比与最长根长极显著相关外,根茎长比及根数与其他性状相关均不显著;最长根长、根鲜重、根干重及根系相对含水量间均达显著或极显著相关。这表明发达的根系具有最长根长、根鲜重及干重大的特点。从各性状与抗旱指数相关分析结果(见表 4)可看出,根鲜、干重及茎长与抗旱指数呈显著正相关,根系相对含水量呈负相关;而最长根长、根数及根茎长比相关性均不显著。

表 4 参试材料的苗期各指标性状对综合抗旱 D 值的简单相关系数

Table 4 The simple correlation coefficient between index traits of tested materials and comprehensive drought D value at seedling stage

相关系数 CC	最长根长 MRL	根数 RN	茎长 SL	根茎长比 RSLR	根鲜重 FRW	根干重 DRW	根系相对含水量 RRWC	抗旱指数 DRI	D
最长根长 MRL									
根数 RN	-0.19								
茎长 SL	0.50*	0.07							
根茎长比 RSLR	0.76**	-0.24	-0.17						
根鲜重 FRW	0.67**	0.12	0.86**	0.14					
根干重 DRW	0.70**	-0.25	0.71**	0.26	0.76**				
根系相对含水量 RRWC	-0.62**	0.37	-0.53*	-0.28	-0.54*	-0.96**			
抗旱指数 DRI	0.43	-0.21	0.76**	-0.04	0.70**	0.73**	-0.63**		
D 值 D -value	0.79**	-0.17	0.85**	0.26	0.90**	0.95**	-0.83**	0.77**	

*, ** 分别表示达到 1% 或 5% 的显著水平

2.3.1 根系性状与综合抗旱性 D 值

除根基数、根茎长比与综合抗旱性相关程度低外,最长根长、根鲜重、根干重及根系相对含水量均达到极显著相关,其中最长根长、根鲜重、根干重表达为正效应,而根系相对含水量表达为负效应。这也表明根数、根茎长比与水稻的苗期抗旱性无关,而最长根长、根鲜重、根干重及根系相对含水量间均水稻苗期抗旱关系密切。由表2可知,最长根长、根鲜重、根干重及根系相对含水量的权重系数分别为0.12、0.20、0.21、0.18,这说明4个根系性状水稻在干旱状态下得以形成抗旱能力的过程中起着至关重要的作用。

2.3.2 抗旱指数与综合抗旱性 D 值

抗旱指数是水稻苗期抗旱性最直观表达效果。由表1可知,抗旱能力不同的材料在水分胁迫下,抗旱指数差异很大。东野1(为水桃树下居群)和秦爱的抗旱指数达到100%,而抗旱能力弱的珍汕97B、赣晚粳32号、中优838及优I66的抗旱指数为0。相关分析(见表3)表明抗旱指数和综合抗旱性呈极显著正相关($r = 0.77^{**}$)。因此抗旱指数可以作为水稻苗期抗旱性直接评价标准。

2.3.3 茎长、根茎长比与综合抗旱性 D 值

由表4可知茎长与苗期抗旱性分别呈极显著正相关,而根茎长比与抗旱性相关不显著,说明茎长和苗期抗旱性关系密切。而从实际结果来看,抗旱强的东野1(为水桃树下居群)和秦爱的茎长超过52.00cm,抗旱弱的珍汕97B仅为30.16cm,由此说明干旱胁迫下,抗旱的品种具有相对长的茎长。

3 小结与讨论

3.1 各指标性状与苗期抗旱性鉴定的关系

水稻的抗旱性是通过各种表型、生理生化性状得以表达,不仅与品种类型、表型性状及生理生化特性密切相关,还与不同生育时期相关。水稻在不同生长期的抗旱表现也各不相同,因此,不同生育期的抗旱鉴定也有差异。相对于水稻其它生育期来说,苗期抗旱性鉴定具有时间短、试验容量大、重复性强、可操作性强、环境影响小等众多优点^[12-13]。因此,苗期抗旱鉴定被广泛应用于玉米、棉花、小麦及大豆等作物上,足见进行水稻苗期抗旱研究非常重要。

针对水稻苗期的抗旱性,人们已经从形态、生理生化等不同角度进行研究,并提出了众多的形态指标^[30-32](叶片萎蔫度、叶龄、卷曲度、根粗、根茎长比等)和生理生化指标^[31,33](超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、丙二醛(MDA)含量等)。然而这些指标或是孤立单一指标,亦或虽是综合指标,无法明确每个指标权重大小。由于抗旱性通过不同性状表达效应不一致,因而要区别对待各抗旱指标,否则对抗旱评价结果产生偏差,这一点已成为共识^[31]。由于不同水稻品种抗旱性不同,加上鉴定方法及考察性状亦有差异,因此筛选出鉴定抗旱指标应该是不同的。并且已筛选的抗旱指标主要是通过对栽培稻抗旱鉴定得出的,能否适用于野生稻资源抗性鉴定需要试验验证。因此,本文结合各指标性状权重程度求得水稻苗期综合抗旱 D 值,再利用该值与各指标进行相关分析,以期对东野进行抗旱评价和探讨各指标在苗期抗旱表达中的作用。分析结果如下:

(1) 根数与综合抗旱性不相关,说明根数与水稻的抗旱性无关,这与刘炜等的结论一致^[34]。

(2) 茎长、最长根长、根鲜重、根干重及根系相对含水量跟苗期综合抗旱值呈极显著相关,且它们的权重值较大(权重系数总值为0.93),说明这5个形态性状对苗期抗旱性的形成起到重要作用,而根干重相关程度最高,说明根干重与抗旱性关系最密切。

(3) 抗旱指数与综合抗旱 D 值相关系数 $r = 0.77^{**}$,表明抗旱指数可以用于苗期抗旱鉴定。综上所述,茎长、最长根长、根鲜重、根干重及根系相对含水量等5个形态性状和抗旱指数对水稻苗期抗旱性关系密切,可以用于水稻抗旱综合评价。而王育红等^[30]筛选出了反复干旱幼苗存活率、叶片萎蔫度、根长、根干重、根冠比及根基粗等早稻苗期抗旱指标,这与本文的结果较为一致。而本文研究表明根系含水量与抗旱性呈负相关,笔者认为由于干旱复水后,抗旱性弱的品种萎蔫或枯死,根系很慢或不能将水分传导到茎部;相反,抗旱强的品种的根系需迅速将水分传导到茎部以保持植物存活,由此,其根系含水量低于抗旱弱的品种。这一点有待

进一步研究加以验证。相似地,沈玉芳^[35]等对水分胁迫下小麦根系导水率研究表明抗旱品种具有强的膨压维持能力,干旱条件下导水率下降较慢,且复水后较迅速恢复以提高植株的抗旱水平。

3.2 东乡普通野生稻与栽培稻苗期抗旱差异性比较

迄今为止,虽有大量水稻抗旱指标筛选及抗旱性状基因定位研究报道^[11,13,28,32,36],但所研究材料均集中在栽培稻上,而本文对东野这一珍稀野生遗传资源进行苗期抗旱研究具有特殊意义。本文通过对水稻根系性状对干旱胁迫响应进行研究,发现参试的东野与栽培稻的指标性状平均值存有差异(根数和根系相对含水量性状低于栽培稻,而茎长、最长根长、根茎长比、根鲜重、根干重及抗旱指数等6个性状高于栽培稻),其中根干重差异最大(东野的均值较栽培稻增重了280.00%)而根系含水量差异最小(东野的均值较栽培稻减少了3.63%)。同时综合抗旱评定结果也说明东野与栽培稻存在很大差异,4份东野均表现为抗旱(抗旱 D 值均高于0.50),而栽培稻均表现为不抗(其中早稻秦爱的抗旱 D 值最高为0.49)。东野抗旱 D 值的均值较栽培稻增加了240.46%。此外,本课题^[9]通过对东野回交群体进行全生育抗旱鉴定表明东野的叶片相对含水量及卷叶级别较栽培稻R 974强,而群体中60.18%的株系综合抗旱性强于亲本R 974。由此说明东野的抗旱性强于栽培稻,东野可成为栽培稻抗旱改良的重要基因资源。而Liu^[37]等研究表明长雄蕊野生稻(*O. Longistaminata*)和野生稻(*O. rufipogon*)可用于水分胁迫栽培稻叶片气孔导度及膜稳定性等性状改良。因此,开展东野特异抗旱基因资源进行鉴定、发掘及利用,对拓宽栽培稻抗旱遗传基础和水稻抗旱改良育种具有重要现实意义。同时本研究还发现早稻品种不一定具备很强的抗旱性(如秦爱、UPLRI-5、巴西陆稻综合抗旱鉴定结果均为不抗),这与陈风梅等^[10]研究结果相同。

水稻抗旱性在不同生长发育时期的干旱胁迫下表达程度和方式有所不同。研究水稻全生育期抗旱性表明叶片相对含水量、单株分蘖数、穗实粒数、千粒重、株高、单株有效穗数等6个性状与旱、水作下水稻相对产量(即抗旱系数,抗旱系数高的参试材料的抗旱性强)相关显著,从而表明水分胁迫下强抗旱材料的发达水分输送系统有益于籽粒及分蘖形成^[9]。而本文研究表明东野在干旱胁迫下有较栽培稻发达的根系组织(最长根长、根茎长比、根鲜重及根干重)和高的成活率,即东野具有更发达水分输送系统(前文^[9]说明东野的叶片相对含水量及卷叶级别较强),这有助于干旱胁迫下东野产量性状的建成。

3.3 东乡普通野生稻抗旱性差异与其原生境关系

本文分别选用被广泛应用于苗期抗旱鉴定的抗旱指数和抗旱总级别值法2种评价方法,对19份材料进行苗期抗旱性直接评价和综合评价。这2种评价结果都(表4)表明4份来自不同居群东野(东野1来自于水桃树下居群、东野2来自于庵家山居群、东野3来自于庵家山居群、东野4来自于樟塘居群)都具有较强的抗旱性(其抗旱 D 值均高于0.50),其中东野1(水桃树下居群)抗旱性最强,同一庵家山居群不同个体的抗旱性不同(东野2抗旱 D 值为0.75,而东野3仅为0.52),从而说明东野个体间抗旱性存在差异。从东野3个不同居群的原生境来看,樟塘居群处于水田及水塘等四周,水分常年较为充沛;庵家山居群生长于沼泽及其周边,属于旱湿交替地带;而水桃树下居群位于小山丘底下,其生态环境较为干旱,主要是季节性干旱。本文抗旱鉴定结果和东野原生境的实际生态状况是相符合的,从而说明东乡野生稻抗旱性与其原生境状况有关。

References:

- [1] Chen W D, Zhao G P, Zhang G P, Yao H G. Effects of ecology and environment of water-saving culture for rice. Transactions of the CSAE, 2002, 18(1): 191-193.
- [2] Shi Z J, Hu Z S, Li R S. Water stress and active oxygen metabolism. Journal of Guizhou University (Agricultural and Biological Science), 2002, 21(2): 140-145.
- [3] Kato Y, Hirotsu S, Nemoto K, Yamagishi J. Identification of QTLs controlling rice drought resistance at seedling stage in hydroponic culture. Euphytica, 2008, 160(3): 423-430.
- [4] Kumar R, Venuprasad R, Atlin G N. Genetic analysis of rainfed lowland rice drought resistance under naturally-occurring stress in eastern India: Heritability and QTL effects. Field Crops Research, 2007, 103(1): 42-52.
- [5] Mitra J. Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. Current Science, 2001, 80(6): 758-763.

- [6] Wang Y F, Zhou Y H. Water saving rice culture in North China. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 2000, 83.
- [7] Wang H Z, Ma J, La X Y, Li Y, Zhang R P, Liu H Y, Wang R Q. Relationship between some physiological and biochemical characteristics and drought tolerance at rice flowering stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(2): 399-404.
- [8] Cheng J F, Pan X Y, Liu Y B, Dai T B, Cao W X. Morphological indexes of drought resistance identification in rice. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(11): 3117-3125.
- [9] Hu B L, Yu S W, Wan Y, Zhang Z, Qiu B Y, Xie J K. Drought-resistance Identification of Dongxiang Common Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Whole Growth Period. *Acta Aronomica Sinica*, 2007, 33(3): 425-432.
- [10] Chen F M, Chen J F, Pan X Y, Liu Y B. Sreening for drought resistance traits and breeding utilization in indica rice. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2000, 22(2): 169-173.
- [11] Zhou G S, Cui K H, Jin D M, Cao C G, Xu C G, Luo B S. Studies on using rooting capacity to appraise the drought resistance of different varieties of *Oryza sativa* at seedling stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(12): 2571-2576.
- [12] Li Y. The identification method and index for crop drought resistance. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 1993, 11(1): 91-99.
- [13] Li Y, Ma J, Wang H Z, Zhang R P, Li X Y. Studies on screening of the drought resistance assessment indexes and comprehensive evaluation of rice varieties during seedling stage. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2005, 18(3): 250-255.
- [14] Tanksley S D, McCouch S R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 1997, 277(5329): 1063-1066.
- [15] He G M, Luo X J, Tian F, Li K G, Zhu Z F, Su W, Qian X Y, Fu Y C, Wang X K, Sun C Q, Yang J S. Haplotype variation in structure and expression of a gene cluster associated with a quantitative trait locus for improved yield in rice. *Genome Research*, 2006, 16(5): 618-626.
- [16] Xiao X C, Wang Y J, Xiao S J, Xiong X Y, Zhou J H, Zhou C Y. Breeding of new cytoplasmic male sterile line "Dong B11A" from Dongxiang wild rice. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2001, 13(2): 8-11.
- [17] Yu S W, Wan Y, Hu B L, Zhang Z, Xie J K. The inheritance of the fertility restoration for cytoplasmic male sterility in dongxiang wild rice (*O. rufipogon*). *Molecular Plant Breeding*, 2005, 3(6): 761-767.
- [18] Yu L Q, Xu X L, Qiu B Y, Xiong Y Z, Rao S F. Comparative studies on the main agronomic characteristics between *in-situ* and *ex-situ* conserved wild rice populations in Dongxiang. *Journal of Plant Genetic Resource*, 2007, 8(1): 99-101.
- [19] Liu F X, Sun C Q, Tan L B, Li D J, Fu Y C, Wang X K. Identification of QTL for cold tolerance at booting and flowering stage in Jiangxi Dongxiang wild rice. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48(17): 1864-1867.
- [20] Zhang C L, Huang Y J, Chen D Z, Xiao Y Q, Wu W C, Hu L X, Wang L B, Yu N G. Biochemical and physiological characteristics of cold tolerance for roots in Dongxiang wild rice at the seedling stage. *Review of China Agricultural science and Technology*, 2007, 9(2): 49-52.
- [21] Ying C S. Rice germplasm resources in china. Beijing: Chinese Agriculture Science and Technology Press, 1993: 356-359.
- [22] Ying C S. Rice germplasm resources in china. Beijing: Chinese Agriculture Science and Technology Press, 1993: 540-542.
- [23] Hu B L, Li M D, Wan Y, Zhu X J, Zhang Z. Advance in identification methods and indexes of rice resistance to drought in China. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2005, 17(2): 56-60.
- [24] Lang Y Z, Hu J, Yang J C, Zhang Z J, Zhu Q S. Morphological and anatomic traits in drought-resistance rice root. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2003, 24(4): 58-61.
- [25] Luo L J, Zhang Q F. The status and strategy on drought resistance of rice (*Oryza sativa* L.). *Chinese Journal of Rice Science*, 2001, 15(3): 209-214.
- [26] Price A H, Cairns J E, Horton P, Jones H G, Griffiths H. Linking drought-resistance mechanisms to drought avoidance in upland rice using a QTL approach: progress and new opportunities to integrate stomatal and mesophyll responses. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(371): 989-1004.
- [27] Mambani B, Lal R. Response of upland rice varieties to drought stress. III. Estimating root system configuration from soil moisture data. *Plant and soil*, 1983c, 73(1): 95-104.
- [28] Xu J C, Zou L J. Identification of molecular markers associated with rice root traits by correlation coefficient analysis. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(3): 245-249.
- [29] Babu C R, Nguyen B D, Chamarek V, Shanmugasundaram P, Chezian P, Jevaprakash P, Ganesh S K, Palchamy A, Sadasivam S, Sarkarung S, Wade L J, Nguyen H T. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: Association between secondary traits and field performance. *Crop Science*, 2003, 43(4): 1457-1469.
- [30] Wang Y H, Yao Y Q, Zhang C J, Lv J J, Zhang J, Wang H C, Li J H. Study on drought-resistance identification methods and evaluation index of dry-land rice VI. Evaluation of drought-resistance of dry-land rice in seedling stage. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2005, 23(5): 134-137.

- [31] Wang H Z, Li Y, Ma J, Zhang R P, Li X Y, Wang R Q. Screening indexes of drought resistance during seedling stage in rice. *Acta Aronomica Sinica*, 2007, 33(9): 1523-1529.
- [32] Sun C Q, Zhang W X. Inheritance and correlation of root characteristics and leaf water potential in rice (*Oryza sativa* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 1995, 28(1): 42-48.
- [33] Zhao Y W, Ding Y F, Chen L G, Huang P S. Physiological characteristics of drought resistance of rice dry nursery seedlings. *Scientia Agricultura Sinica*, 2001, 34(3): 283-291.
- [34] Liu W, Shi Y L, Wang J, Ma H W. The relationships between root characteristics and drought resistance of paddy rice and upland rice under submerged and rain-fed conditions. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and technology*, 2006, 1: 27-28.
- [35] Shen Y F, Qu D, Wang B L, Zhang X C. Effects of Phosphorus on Root Hydraulic Conductivity of Crops under Drought Stress. *Acta Aronomica Sinica*, 2005, 31(2): 214-218.
- [36] Zheng B S, Yang L, Mao C Z, Huang Y J, Wu P. Comparison of QTLs for rice seedling morphology under different water supply conditions. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, 35(8): 473-484.
- [37] Liu L, Lafitte R, Guan D. Wild *Oryza* species as potential sources of drought-adaptive traits. *Euphytica*, 2004, 138(2): 149-161.

参考文献:

- [1] 程旺大,赵国平,张国平,姚海根. 水稻节水栽培的生态和环境效应. *农业工程学报*, 2002, 18(1): 191-193.
- [2] 时忠杰,胡哲森,李荣生. 水分胁迫与活性氧代谢. *贵州大学学报(农业与生物科学版)*, 2002, 21(2): 140-145.
- [6] 王一凡,周毓珩. 北方节水稻作. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 2000, 83.
- [7] 王贺正,马均,李旭毅,李艳,张荣萍,刘慧远,汪仁全. 水稻开花期一些生理生化特性与品种抗旱性的关系. *中国农业科学*, 2007, 40(2): 399-404.
- [8] 程建峰,潘晓云,刘宜柏,戴廷波,曹卫星. 水稻抗旱性鉴定的形态指标. *生态学报*, 2005, 25(11): 3117-3125.
- [9] 胡标林,余守武,万勇,张峥,邱兵余,谢建坤. 东乡普通野生稻全生育期抗旱性鉴定. *作物学报*, 2007, 33(3): 426-433.
- [10] 陈风梅,程建峰,潘晓云,刘宜柏. 籼稻抗旱性状的筛选及其育种应用. *江西农业大学学报*, 2000, 22(2): 169-173.
- [11] 周广生,崔克辉,靳德明,曹凌贵,徐才国,骆炳山. 发根力作为栽培稻品种苗期抗旱性鉴定指标的研究. *中国农业科学*, 2005, 38(12): 2571-2576.
- [12] 黎裕. 作物抗旱鉴定方法与指标. *干旱地区农业研究*, 1993, 3(1): 90-99.
- [13] 李艳,马均,王贺正,张荣萍,李旭毅. 水稻品种苗期抗旱性鉴定指标筛选及其综合评价. *西南农业学报*, 2005, 18(3): 250-255.
- [16] 肖晓春,王云基,肖诗锦,熊翔宇,周军湖,周毓勇. 东乡野生稻细胞质雄性不育系“东B11A”的选育. *江西农业学报*, 2001, 13(2): 8-11.
- [17] 余守武,万勇,胡标林,张峥,谢建坤. 东乡野生稻细胞质雄性不育性恢复的遗传研究. *分子植物育种*, 2005, 3(6): 761-767.
- [18] 余丽琴,徐巧玲,邱兵余,熊玉珍,饶淑芳. 原、异位保存东乡野生稻主要农艺性状的比较研究. *植物遗传资源学报*, 2007, 8(1): 99-101.
- [19] 刘凤霞,孙传清,谭禄宾,李德军,付永彩,王象坤. 江西东乡野生稻孕穗开花期抗冷基因定位. *科学通报*, 2003, 48(17): 1864-1867.
- [20] 张成良,黄英金,陈大洲,肖叶青,邹文昌,胡兰香,王利兵,喻宁根. 东乡野生稻苗期根系耐冷性生理生化特性. *中国农业科技导报*, 2007, 9(2): 49-52.
- [21] 应存山. 中国稻种资源. 北京:中国农业科技出版社. 1993: 356-359.
- [22] 应存山. 中国稻种资源. 北京:中国农业科技出版社. 1993: 540-542.
- [23] 胡标林,李名迪,万勇,朱雪晶,张峥. 我国水稻抗旱性鉴定方法与指标研究进展. *江西省农业学报*, 2005, 17(2): 56-60.
- [24] 郎有忠,胡健,杨建昌,张祖建,朱庆森. 抗旱型稻根系形态与机能的研究. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2003, 24(4): 58-61.
- [25] 罗利军,张启发. 栽培稻抗旱性研究的现状与策略. *中国水稻科学*, 2001, 15(3): 209-214.
- [28] 徐吉臣,邹亮晶. 利用相关性分析鉴定与水稻根部性状表达相关的分子标记. *遗传学报*, 2002, 29(3): 245-249.
- [30] 王育红,姚宇卿,张灿军,吕军杰,张洁,王慧聪,李俊红. 早稻抗旱性鉴定方法与指标研究. IV 早稻苗期抗旱性. *干旱地区农业研究*, 2005, 23(5): 134-137.
- [31] 王贺正,李艳,马均,张荣萍,李旭毅,汪仁全. 水稻苗期抗旱性指标的筛选. *作物学报*, 2007, 33(9): 1523-1529.
- [32] 孙传清,张文绪. 水稻根系性状和叶片水势的遗传及其相关研究. *中国农业科学*, 1995, 28(1): 42-48.
- [33] 赵言文,丁艳锋,陈留根,黄丕生. 水稻旱育秧苗抗旱生理特性研究. *中国农业科学*, 2001, 34(3): 283-291.
- [34] 刘炜,史延丽,王坚,马洪文. 水旱栽培条件下水、陆稻根系性状及其与抗旱性的关系. *宁夏农林科技*, 2006, 1: 27-28.
- [35] 沈玉芳,曲东,王保莉,张兴昌. 干旱胁迫下磷营养对不同作物苗期根系导水率的影响. *作物学报*, 2005, 31(2): 214-218.