

DOI:10.13331/j.cnki.jhau.2014.02.013

投稿网址: http://www.hunau.net/qks

湖南稻瘟病菌生理小种的组成及其致病性

赵正洪^{1,2}, 周政², 吴伟怀^{3,4}, 周斌², 吕艳梅², 王玲^{3*}

(1.湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128; 2.湖南省水稻研究所, 湖南 长沙 410125; 3.华南农业大学资源环境学院, 广东 广州 510642; 4.中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 海口 571101)

摘要: 利用来自日本、国际水稻研究所(IRRI)和中国的10个稻瘟病菌单基因鉴别品种, 将59个湖南稻瘟病菌株分别划分为20个生理小种, 优势小种为H531.1、H511.1和H501.1, 对抗性基因*Pi-CO39*、*Pita*、*Pi3*、*Pi12*、*Pia*具有致病性。各个稻区生理小种组成和优势小种存在差异, 其中, 湘东、湘中稻区稻瘟病菌生理小种多样性指数较高, 优势小种的变化最为明显, 说明这2个稻区的抗源基因正逐渐变得匮乏, 甚至丧失。鉴别品种C101LAC(*Pi1*)和C101A51(*Pi2*)对59个湖南稻瘟病菌菌株抗性频率均为100.0%, 说明这些抗性品种(基因)可作为湖南稻区稻瘟病的抗源材料(基因), *Pi1*、*Pi2*可直接作为分子标记辅助选择育种的供体抗源基因。品种关东51(*Pik*)、C105TTP-4L23(*Pi4-b*)和C101PKT(*Pita*)在湖南各稻区的抗性水平表现存在差异, 可以作为选择性抗源材料(基因)加以应用。

关键词: 水稻; 稻瘟病菌; 生理小种; 致病型多样性; 抗性基因; 湖南

中图分类号: S435.111.4⁺1 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2014)02-0173-05

Composition of physiological races of rice blast fungus and their virulence to rice cultivars

ZHAO Zheng-hong^{1,2}, ZHOU Zheng², WU Wei-huai^{3,4}, ZHOU Bin², Lü Yan-mei², WANG Ling^{3*}

(1. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Rice Research Institute, Hunan Academy of Agriculture Sciences, Changsha 410125, China; 3. Laboratory of Plant Resistance and Genetics, College of Natural Resource and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 4. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: Fifty-nine isolates of *Magnaporthe oryzae* that collected in Hunan province were divided into 20 races based on the reactions to 10 monogenic differential cultivars from Japanese, IRRI and Chinese differential cultivars. Dominant races in the fungal population were H531.1, H511.1 and H501.1, which were virulent to rice cultivar with blast resistance genes *Pi-CO39*, *Pita*, *Pi3*, *Pi12* and *Pia*. The composition of races and dominant races of blast pathogen in different rice cropping regions of Hunan were different. High pathotypic diversities of physiological races of rice blast pathogen were observed and the dominant races were changed most frequently in rice cropping region of east and middle Hunan, indicating the resistance rice varieties (genes) against blast were becoming poor, even lost in such regions. Differential cultivars C101LAC (*Pi1*) and C101A51 (*Pi2*) expressed 100% resistance frequencies against 59 isolates, meaning the two varieties (genes) can be used as resistance gene source for Hunan rice cropping region, and the resistance genes *Pi1*, *Pi2* can be used as donor genes for molecular marker-assisted selection breeding. Differential cultivars Kanto 51 (*Pik*), C105TTP-4L23 (*Pi4-b*) and C101PKT (*Pita*), showed different resistance to blast fungal population, indicating that these resistance varieties (genes) can be used as selective resistance resources in different regions of Hunan.

Key words: *Oryza sativa*; *Magnaporthe oryzae*; pathotypic diversity; differential cultivars; resistance genes; Hunan

收稿日期: 2013-10-23

基金项目: 湖南省科学技术厅重大专项(2013FJ1008)

作者简介: 赵正洪(1964—), 男, 湖南株洲人, 博士, 研究员, 主要从事水稻育种研究, 1154885640@qq.com; *通信作者, wangl@scau.edu.cn

世界水稻产区每年因稻瘟病而导致水稻减产 11%~30%^[1-3]。近年来,中国稻瘟病每年的平均发病面积约为 $4.0 \times 10^6 \text{ hm}^2$, 流行年份可达 $8.0 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 造成 20~100 万 t 稻谷损失^[4-5]。倪宝凤^[6]报道,1992 年稻瘟病流行时,仅在湖南早稻穗瘟发病面积就高达 $3.0 \times 10^5 \text{ hm}^2$, 造成 $1.57 \times 10^5 \text{ t}$ 稻谷的损失。实践证明,培育和种植抗病品种是防治稻瘟病最为经济有效的措施^[3-5,7]。

稻瘟病菌生理小种(亦称致病型)有着丰富的多样性,在不同地区以及同一地区的不同年份,其构成及优势小种都存在明显的差别^[8-10]。大部分水稻品种在推广种植 3~5 年之后抗性逐步丧失,因此,开展稻瘟病菌生理小种的鉴别研究,有针对性地筛选稻瘟病抗原,进而开展抗性育种对防治稻瘟病十分必要。目前,稻瘟病菌群体致病型的鉴别主要是通过构建一套鉴别品种加以区分,理想的鉴别品种是包含了所有抗病基因的单基因鉴别品种。各水稻生产国(地区)往往通过选育一套适合于本国(地区)的单基因鉴别品种开展致病型的研究。

近年来,湖南省种植推广的抗稻瘟病水稻品种的抗性普遍较差,在 2001—2010 年育成审定的 28 个优质稻品种(组合)中,除早稻早优 143 及组合 H37A/R207 稻瘟病抗性稍强外,其余的 26 个品种(组合)均表现“感”或“高感”稻瘟病^[11]。一方面,由于湖南省地形地貌复杂多样^[12],气候适宜,稻瘟病菌小种丰富多样,变异传播快;另一方面,湖南稻区大面积种植优质稻感病品种,使得携带的抗性基因较为单一,抗谱窄,易感染稻瘟病造成危害。笔者利用来自日本、国际水稻研究所(IRRI)和中国鉴别品种所组成的 10 个单基因鉴别品种,对湖南稻区稻瘟病菌群体的生理小种进行鉴别,比较了不同生态区稻瘟病菌生理小种的组成特点和致病性,分析了鉴别品种及其所携带的抗性基因的抗性水平和特点,以期对湖南水稻抗瘟性育种和抗性品种的合理布局提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试稻瘟病菌菌株为 2007—2008 年采集的湖南省洞庭湖平原(湘北)、长衡丘陵盆地(湘东)、郴祁邵丘陵盆地(湘中)和湘南丘陵山区(湘南)等 4 个水

稻种植区域的 179 个菌株。综合考虑各稻区水稻播种面积、发病状况和病菌寄主品种类型,从中选取 59 个代表型作为研究材料。

1.2 方法

1.2.1 鉴别品种

由来自日本、IRRI 和中国的 3 套鉴别品种中的 10 个单基因品种^[8,13-14]组成。包括来自日本鉴别品种的爱知旭(*Pia*), IRRI 鉴别品种的 CO39(*Pi-CO39*)、C101LAC(*Pi1*)、C101A51(*Pi2*)、C101PKT(*Pita*)、C104PKT(*Pi3*)、C105TTP-4L23(*Pi4-b*)和 L754(*Pi12*)和中国鉴别品种的关东 51(*Pik*)和丽江新团黑谷(未知)。利用这 10 个单基因鉴别品种对 59 个稻瘟病菌菌株进行小种鉴别和抗性分析。

1.2.2 稻瘟病菌接种鉴定与小种命名

鉴别品种采用育秧盘单粒播种,每个品种播种 5 粒。播种前,土壤用福尔马林、种子用多菌灵分别处理。播种后盖土置网室内保湿育秧。秧苗长至 2.5 叶时和接种前 3 d 各施 1 次氮肥(18 g/m^2),长至 3.5~4.5 叶时分别利用 59 个菌株培植的孢子悬浮液喷雾接种(菌株孢子浓度为每 100 倍视野呈现 100~200 个),每个菌株至少重复接种 2 次。

接种后 7 d,按照 Pan 等^[15]描述的分级标准调查各品种的反应型,单基因鉴别品种鉴定的稻瘟病菌生理小种的命名参照 Kiyosawa 等^[13]描述的方法,即 H1、H2、H4、H10、H20、H40、H100、H200、H400、H.1 等编码依次代表 CO39、C101LAC、C101A51、C101PKT、C104PKT、C105TTP-4L23、L754、关东 51、爱知旭和丽江新团黑谷,进行小种分类时,将在鉴别品种上表现为感病反应的编码数值相加,就是该生理小种的名称,数值之前加上“H”表示“湖南小种”。

1.3 数据分析

生理小种频率(race frequency)指稻作区生理小种出现的频率,用以反映鉴别品种对稻作区稻瘟病菌的鉴别力;优势小种是指某一稻区中出现频率较高的生理小种(一般为出现频率前 3 位的生理小种);某一稻区生理小种的多样性用格里森指数 H_G 和香农指数 H_{SH} ^[16]来反映。鉴别品种的抗性频率(resistance frequency)用以反映品种及其所携带的抗

性基因对稻瘟病菌菌株的抗谱宽容。

2 结果与分析

2.1 湖南稻瘟病菌群体生理小种的组成及其分布

利用单基因鉴别品种将 59 个湖南稻瘟病菌株划分为 20 个生理小种,生理小种频率为 33.9%,其中,采自湘北、湘东、湘中和湘南的 11、17、26 和 5 个菌株分别被划分为 6、12、11 和 4 个生理小种。湖南稻区优势小种为 H531.1、H511.1 和 501.1,出现频率分别为 13.6%、13.6%和 12.1%,致病型 H531.1、H511.1 是湘中稻区主要的优势小种,H501.1、H511.1 分别是湘北和湘南稻区出现次数最多的生理小种,而湘东稻区出现频率较高的小种为 H400.1、H000.1 和 H501.1(表 1)。根据小种的命名特点可知,H000 是在所有鉴别品种上都表现非致病性的一类菌株,在湖南稻瘟病菌群体中鉴定出 1 个该类生理小种。

表 1 湖南稻瘟病菌生理小种的组成及其在各稻作区的分布

Table 1 Composition and distribution of physiological races of rice blast pathogen in different rice cropping regions of Hunan province

致病型	菌株数/个				菌株数 总计/个
	湘北	湘东	湘中	湘南	
H531.1		1	6	1	8
H511.1			6	2	8
H501.1	3	2	2		7
H400.1		4	2		6
H521.1	2	1	1		4
H571.1		1	2		3
H411.1			3		3
H401.1	2	1			3
H000.1		2	1		3
H431.1		1	1		2
H421.1	2				2
H420.1	1			1	2
H731.1		1			1
H711			1		1
H551.1	1				1
H520.1		1			1
H410			1		1
H400		1			1
H101				1	1
H000		1			1

2.2 湖南稻瘟病菌优势小种的致病性及生理小种的多样性

湖南稻区的优势小种是 H531.1、H511.1 和 H501.1,对 10 个单基因鉴别品种的反应类型分别是 SRRSSRSRSS、SRRSRRSRSS 和 SRRRRRSRSS(S 表感病,R 表抗病),由此说明,湖南的优势小种对 CO39 (*Pi*-CO39)、C101PKT (*Pita*)、C104PKT (*Pi*3)、L754 (*Pi*12)、爱知旭(*Pia*)和丽江新团黑谷具有致病性,这些抗性基因在湖南稻区的抗性正逐步丧失。同理,根据致病性命名特点可知,湘北稻区稻瘟病菌的优势小种主要对抗性基因 *Pi*-CO39、*Pi*3、*Pi*12、*Pia*,湘东的优势小种对 *Pia*、*Pi*12、*Pi*-CO39 具有致病性,而湘中和湘南稻区稻瘟病菌优势小种的致病性跟湖南稻区较为一致。值得注意的是,尽管 H400.1 仅对弱效抗性基因 *Pia* 具有致病性,但其仍为湘东区优势小种,说明湘东稻区缺乏主要的抗瘟品种(基因)。

从表 2 中可以看出,湖南各稻作区稻瘟病菌小种多样性指数从高到低依次是湘东、湘中、湘北和湘南,这与鉴别品种在各稻区所鉴定到的小种数较为一致。湘东地区多样性指数最高,说明该区域稻瘟病菌生理小种变化快、传播迅速,且缺乏有效的抗源,使得仅对普感品种爱知旭和丽江新团黑谷具有致病性的小种 H400.1 成为该地区的优势小种。

表 2 湖南各稻作区稻瘟病菌的致病型多样性

Table 2 Pathotypic diversities of blast isolates in Hunan rice cropping regions

稻作区	菌株数/个	生理小种数/个	<i>H_G</i>	<i>H_{SH}</i>
湘北	11	6	2.09	1.72
湘东	17	12	3.88	2.34
湘中	26	11	3.07	2.14
湘南	5	4	1.86	1.33
总计	59	20	4.88	2.75

2.3 单基因鉴别品种的抗性

将采自湖南各个稻区的 59 个稻瘟病菌菌株接种 10 个鉴别品种,其中,C101LAC 和 C101A51 对所有的菌株都表现出抗病反应,抗谱性最广,抗性频率达到 100.0%(表 3),这 2 个品种可以作为湖南稻区用以防治稻瘟病的抗源材料,单基因品种 C101LAC、C101A51 分别所携带的抗性基因 *Pi*1、*Pi*2 可用以开展分子标记辅助选择育种,导入湖南主栽品种。C105TTP-4L23、关东 51 对湖南稻瘟病

菌群体的抗性频率较高,但其对湖南各稻作区稻瘟病菌群体的抗性水平存在差异,这些抗源可根据优势小种的变化动态作为选择性抗源加以应用。同

样,C101PKT 在湘北的抗性频率高达 90.9%,而在湘中仅有 23.1%,表明该抗源材料仅可应用于湘北稻区抗性育种。

表 3 鉴别品种对湖南稻瘟病菌群体的抗性表现

Table 3 Resistance frequencies of differential cultivars against rice blast isolates collected in Hunan province

鉴别品种	抗性基因	抗性频率/%			
		湘北菌株(11)	湘东菌株(17)	湘中菌株(26)	湘南菌株(5)
CO39	<i>PiCO39</i>	9.1	52.9	15.4	20.0
C101LAC	<i>Pi1</i>	100.0	100.0	100.0	100.0
C101A51	<i>Pi2</i>	100.0	100.0	100.0	100.0
C101PKT	<i>Pita</i>	90.9	76.5	23.1	40.0
C104PKT	<i>Pi3</i>	54.6	64.7	61.5	60.0
C105TTP-4L23	<i>Pi4-b</i>	90.9	94.1	92.3	100.0
L754	<i>Pi12</i>	45.5	58.8	30.8	20.0
关东 51 (Kanto 51)	<i>Pik</i>	100.0	94.1	96.2	100.0
爱知旭 (Aichi Asahi)	<i>Pia</i>	0.0	17.7	3.9	20.0
丽江新团黑谷 (LTH)	未知	0.0	11.8	7.7	20.0

括号内数字表示该稻作区的菌株个数。

3 讨 论

稻瘟病菌生理小种具有丰富的类型。不同鉴别品种在不同稻区鉴别能力存在差异,所鉴定的生理小种数、优势小种类型以及特异性生理小种数等组成也存在显著的差异^[17-19]。黄红梅等^[20]利用中国鉴别品种将采集于湖南的 303 个单孢菌株划分为 41 个生理小种。笔者利用 10 个单基因品种将 59 个湖南稻瘟病菌菌株划分为 20 个生理小种,鉴别频率为 33.9%,仅对采自湘东菌株 EHL0321 表现抗病反应,对其缺乏鉴别能力,说明该套鉴别品种并没有包含该菌株具有致病性的鉴别品种(抗性基因)。

湖南稻区的优势小种为 H531.1、H511.1 和 H501.1,对这些优势小种都具有抗性的单基因分别是 *Pi1*、*Pi2*、*Pi4-b* 和 *Pik*,说明湖南的种植品种缺乏这些抗源基因,它们可直接作为湖南各个稻区稻瘟病的抗源基因加以应用。湘东稻区的优势小种为 H400.1、H501.1 和 H000.1,抗性基因 *Pi1*、*Pi2*、*Pi4-b* 和 *Pik* 外的 *Pita*、*Pi3* 可作为该稻区的抗源基因。*Pita* 可作为湘北稻区的抗源基因。

对湖南 4 个稻作区稻瘟病菌群体的小种多样性指数进行分析,湘东、湘中稻区的小种多样性指数最高,湘东稻区中仅对普感品种爱知旭和丽江新团黑谷具有致病性的优势小种 H400.1 是该地区的优势小种,这可能与该地区近年大面积种植感病的优质

稻品种^[10]有关,因此,在防控这 2 个稻区稻瘟病时,要注重利用抗性较强、抗谱较广的资源(基因),同时避免大面积种植单一品种,尤其是优质稻感病品种。

利用稻瘟病菌接种分析品种材料的抗性,是发掘抗源品种最为直接有效的方式^[21-23]。本研究结果表明,C101LAC 和 C101A51 对湖南稻瘟病菌群体的抗性水平最高,抗性频率均为 100.0%,这些品种可作为湖南的抗源材料,进一步证实单基因品种携带的抗性基因 *Pi1* 和 *Pi2* 可直接作为供体基因应用于湖南当地品种分子标记辅助选择育种中。在湖南不同的稻区抗性水平存在差异的鉴别品种,可以作为选择性抗源(基因)加以应用^[14-15,24],如 *Pita* 可作为湘北、湘东的抗源基因,*Pi3* 仅可作为湘东的抗源。

华南农业大学杨先锋同学在稻瘟病菌单孢分离和孢子培养等方面给予了极大的帮助,谨此谢忱。

参考文献:

[1] Ou S H . Rice Diseases[M] . 2nd ed . Kew Surrey : Commonwealth Mycological Institute , 1985 :109-201 .
[2] Zeigler R S , Tohme J , Nelson R , et al . Lineage Exclusion : A proposal for linking blast population analysis to resistance breeding[C]//Zeigler R S , Leong S A , Teng P S . Rice Blast Diseases . Wallingford : CAB International , 1994 : 267-292 .
[3] 郝鲲 , 马建 , 程治军 , 等 . 水稻抗稻瘟病基因资源与

- 分子育种策略[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(3): 479–485.
- [4] 孙国昌, 杜新法, 陶荣祥, 等. 水稻稻瘟病防治策略和 21 世纪研究展望[J]. 植物病理学报, 1998, 28(4): 289–292.
- [5] 何秀英, 廖耀平, 陈钊明, 等. 水稻稻瘟病抗病育种研究进展与展望[J]. 广东农业科学, 2011(1): 30–33.
- [6] 潘素君, 戴良英, 刘雄伦, 等. 籼稻 1701 转 *Pi9* 基因株系的遗传分析及抗瘟性鉴定[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2008, 34(5): 579–582.
- [7] 倪宝凤. 1992 年湖南稻瘟病大发生的特点、原因及防治措施[J]. 湖南农业科学, 1993(2): 45–46.
- [8] 全国稻瘟病菌生理小种联合试验组. 我国稻瘟病菌生理小种研究[J]. 植物病理学报, 1980, 10(2): 71–81.
- [9] 沈瑛, 朱培良, 袁筱萍, 等. 我国稻瘟病菌的遗传多样性及其地理分布[J]. 中国农业科学, 1996, 29(4): 39–46.
- [10] 李亚, 刘二明, 戴良英, 等. 湖南稻瘟病菌遗传多样性与致病型的关系[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(3): 304–308.
- [11] 潘美山, 王子平, 周昆, 等. 近 10 年湖南省优质稻品种研发状况分析[J]. 中国稻米, 2011, 17(6): 31–35.
- [12] 中国水稻研究所. 中国水稻种植区划[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1989: 65–68.
- [13] Kiyosawa S, Orimoto Y, He Y K, et al. Estimation of genotypes for blast resistance of rice varieties by testing with differential varieties[J]. *Oryza*, 1983, 20: 216–222.
- [14] Mackill D J, Bonman J M. Inheritance of near-isogenic lines of rice[J]. *Phytopathology*, 1992, 82(7): 746–749.
- [15] Pan Qinghua, Wang Ling, Ikehishi H, et al. Identification of a new blast resistance gene in the *Indica* rice cultivar Kasalath using Japanese differential cultivars and isozyme markers[J]. *Phytopathology*, 1996, 86(10): 1071–1075.
- [16] 凌忠专. 稻瘟病研究论文集[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 17–21.
- [17] 凌忠专, Mew T, 王久林, 等. 中国水稻近等基因系的育成及其稻瘟病菌生理小种鉴别能力[J]. 中国农业科学, 2000, 33(4): 1–8.
- [18] 凌忠专, 雷财林, 王久林. 稻瘟病菌生理小种研究的回顾与展望[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 1849–1859.
- [19] 吴伟怀, 王玲, 何艺郡, 等. 稻瘟病菌群体的分子遗传学研究——广东省与江苏省稻瘟病菌群体遗传及致病型结构的比较分析[J]. 中国农业科学, 2004, 37(11): 1628–1635.
- [20] 黄红梅, 张丹, 刘二明. 湖南稻瘟病菌小种组成及其湘资 3150 抗谱测定[J]. 湖南农业科学, 2010(15): 74–77.
- [21] Zeng Xiaoshan, Yang Xianfeng, Zhao Zhenghong, et al. Characterization and fine mapping of rice blast resistance gene *Pia*[J]. *Sci China Life Sci*, 2011, 54(4): 372–378.
- [22] He Xiuying, Liu Xinqiong, Wang Ling, et al. Identification of the novel recessive gene *pi55(t)* conferring resistance to *Magnaporthe oryzae*[J]. *China Life Sci*, 2012, 55(2): 141–149.
- [23] Kiyosawa S. Gene analysis for blast resistance[J]. *Oryzae*, 1981, 18: 196–203.
- [24] 徐灵超, 刘二明, 黄金杯, 等. 湖南省 103 个水稻品种的抗瘟基因型鉴定[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2009, 35(1): 17–20.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗 维