

鄂西南地区 2012–2014 年稻瘟病菌致病性变化分析

田珂 杨武 李泌 徐鑫 刘新琼 刘学群 王春台

中南民族大学生物技术国家民委重点实验室/

武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室, 武汉 430074

摘要 为研究鄂西南地区稻瘟病菌的致病型, 将 2012–2014 年采自鄂西南地区感病水稻并分离保存的 136 个菌株分别接种到 7 个中国鉴别品种和 15 个水稻抗稻瘟病单基因系品种上, 以中国鉴别品种中的丽江新团黑谷为感病对照, 基于 7 个中国鉴别品种的鉴定结果表明: 136 个菌株中有 121 个具有致病性, 分属于 ZA、ZB、ZC、ZE、ZF、ZG 共 6 群 11 个生理小种, ZB 为优势种群, 但 ZC 频率逐年升高, 到 2014 年与 ZB 势均力敌; ZB13 为第一优势生理小种, ZC15 和 ZB15 所占比例逐年升高。15 个水稻抗稻瘟病菌单基因系的鉴定结果将 121 个菌株分为 77 个致病型, 且不同年份分离的菌株致病力差异较大。90% 以上菌株对含有 *Pib*、*Pit* 和 *Pi11* 抗病基因的水稻单基因系有致病力, 而对含有 *Pi9* 和 *Pikh* 抗病基因的水稻单基因系的致病力较弱, 不到 10%。此结果可以为育种工作者及当地农业部门的品种布局提供参考。

关键词 稻瘟病菌; 中国鉴别品种; 单基因系; 致病型; 生理小种

中图分类号 S 435.111.4⁺1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)05-0010-05

由稻瘟病菌(无性态为 *Pyricularia oryzae*)引发的稻瘟病(rice blast)是对水稻生产危害最大的病害之一^[1]。鄂西南地区地处武陵山区, 行政区域主要是恩施自治州和宜昌的部分地区。该地属亚热带山地季风性湿润气候, 气候温和、雾多湿重、雨热同期; 且地势峰峦起伏、沟壑纵横^[2], 稻田也多分布于此。由于水稻多生长在湿度大、光照少的环境里, 导致稻瘟病菌种群基数大, 变异频率高, 严重制约当地水稻生产。稻瘟病的防治有多种方法, 而选育和推广抗稻瘟病水稻品种是防治稻瘟病最经济以及对环境友好的选择^[1,3]。

国内关于稻瘟病菌致病性分析有很多报道。杨小林等^[4]应用中国鉴别体系对湖北省 2006–2010 年稻瘟病菌进行了鉴定, 得到了 7 群 53 个生理小种, 优势小种是 ZA1 和 ZB1, 不同年份菌株类型的波动并不大。刘志恒等^[5]也对辽宁的稻瘟病菌组成进行了研究。周江鸿等^[6]利用 31 个抗稻瘟病单基因系对采集自南北方 10 个省份的稻瘟病菌菌株进行毒力鉴定, 发现 *Av kh+*、*Av z+*、*Av z5+* 和 *Av 9(t)+* 为弱毒力基因。兰波等^[7-8]应用水稻抗稻瘟病单基因

系鉴别品种对 2006–2012 年江西省稻瘟病菌致病性进行了测定, 确定了 *Pi-zt*、*Pi-k*、*Pi-1* (1)、*Pi-z5*、*Pi-k* (C)、*Pi-kp* 和 *Pi-9(t)* 基因的高抗性。

本试验采用 7 个中国鉴别品种和 15 个水稻抗稻瘟病菌单基因系品种对 2012–2014 年采集自鄂西南地区的稻瘟病菌致病型进行鉴定, 旨在为该地区抗稻瘟病菌品种的选育和品种布局提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻鉴别品种: 共两套 22 种。中国鉴别品种 7 种: 特特普、珍龙 13、四丰 43、东农 363、关东 51、合江 18、丽江新团黑谷。水稻抗稻瘟病单基因系 15 种: IRBL9-W (*Pi9*)、IRBLz5-CA (*Pi2*)、IRBLZ-Fu (*Piz*)、IRBLkh-K3 (*Pikh*)、IRBL1-CL (*Pi1*)、IRBLkp-K60 (*Pikp*)、F128-1 (*Pita2*)、IRBLsh-S (*Pish*)、IRBLi-F5 (*Pii*)、IRBLzt-T (*Pizt*)、IRBLta-K1 (*Pita*)、IRBLb-B (*Pib*)、IRBLt-K59 (*Pit*)、IRBL20-IR24 (*Pi20*)、IRBL11-Zh (*Pi11*)。

供试菌株: 共计 136 个菌株, 来源于 2012–

收稿日期: 2017-05-14

基金项目: 湖北省自然科学基金创新群体项目(2015CFA015)

田珂, 硕士研究生, 研究方向: 植物分子生物学. E-mail: 939766285@qq.com

通信作者: 王春台, 博士, 教授, 研究方向: 水稻分子生物学. E-mail: wangchuntai@mail.scuec.edu.cn

2014 年鄂西南地区水稻产区的感病稻秆，分离单孢后滤纸干燥保存法保存。

1.2 稻瘟病菌扩大培养与孢子滤液制备

将前期用滤纸保存的稻瘟病菌菌株在燕麦培养基上活化，25℃培养 7 d；然后将带菌的燕麦培养基转移至玉米培养基进行产孢，25℃避光培养 15 d；再用无菌水洗脱玉米培养基的表面菌丝，将其平铺在铁盘上，27℃光照培养 5 d；把已经处理好的玉米从纱布上取下，用无菌水洗脱，两层纱布过滤，收集滤液，做好标记，显微镜下观察产孢的质量，使其在单个视野都能观察到 45~50 个单孢。

1.3 稻瘟病菌致病性鉴定

水稻种子浸种后放入装有泥土的铁盘中，每个品种放 10 粒种子，等水稻长至 3 叶期时，在接种室中利用空气压缩机将洗脱好的摇匀的菌液均匀地喷雾到幼苗叶片上，平均每盘约 50 mL，保证湿度，25℃避光放置 24 h；再在 25℃温度下光照培养 3 d。从接种第 4 天后开始进行发病调查。按照国际水稻研究所对苗叶瘟的分级标准进行分级，1~3 级记为抗病反应型，4~9 级记为感病反应型，重复 2 次，以最高感染病级为最终数据。

1.4 数据分析

生理小种划分按照全国稻瘟病菌生理小种联合试验组的方法^[9-10]进行划分。致病类型划分则参照本文“1.3”试验结果，依据中国鉴别品种和抗稻瘟病单基因系对病菌的抗感反应类型进行统计。抗病的记为 0，感病的记为 1，使用 NTSYS-pcVersion2.1 软件，通过非加权平均算法(UPGMA)构建菌群的聚类分析图谱，确定致病型，再用 Venny2.1.0 对不同年份致病型进行比较分析。

2 结果与分析

2.1 中国鉴别品种对菌株生理小种类型的鉴定

基于 7 个中国水稻稻瘟病菌鉴别品种的感抗病反应，对采集自湖北省鄂西南地区 2012—2014 年感病稻秆分离的 136 个菌株进行毒性测定。结果表明：以丽江新团黑谷为感病对照，136 个菌株中有 121 个具有致病性(表 1)，为有效菌株，分属于 ZA、ZB、ZC、ZE、ZF、ZG 共 6 群 11 个生理小种(表 2)；ZB 为优势种群，ZC 频率逐年升高，到 2014 年与 ZB 势均力敌(图 1)。ZB13 为第一优势生理小种(图 2)，ZC13 第二，值得注意的是 ZC15 和 ZB15，它们所占比例逐年升高。

表 1 菌株致病性鉴定

Table 1 Pathogenicity identification of the strains

项目 Items	2012	2013	2014	合计 Total
鉴定菌株数 Identified numbers	64	43	29	136
发病菌株数 Pathogenicity numbers	55	40	26	121
15 个近等基因系区分的不同菌株数 Numbers distinguished by 15 blast-resistance monogenic rice lines	46	25	22	77
7 个鉴别品种区分的生理小种数 Numbers distinguished by 7 Chinese rice cultivars	8	7	4	11

表 2 基于 7 个鉴别品种鉴定的种群及生理小种数

Table 2 The numbers of the population and physiological race identified by 7 Chinese rice cultivars

种群 Population	生理小种 Physiological race	2012 2013 2014			
		2012	2013	2014	
1	ZA	4	0	0	
2	ZB	3	0	0	
3	ZC	24	16	9	
4		B15	2	3	4
5		C09	1	0	0
6	ZE	16	11	8	
7		C13	2	4	5
8		E01	0	3	0
9	ZF	0	1	0	
10		F01	0	2	0
11	ZG	3	0	0	
总计 Total		55	40	26	

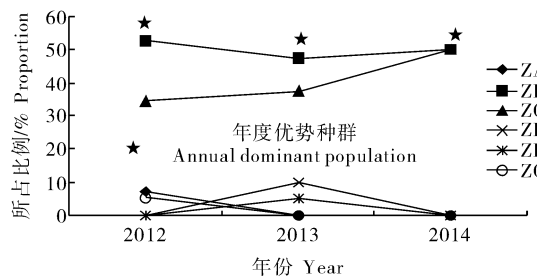


图 1 不同年份种群出现频率

Fig.1 The frequency of the populations in different years

2.2 抗稻瘟病菌单基因系鉴别品种对菌株致病类型的鉴定

以 15 个水稻抗稻瘟病菌单基因系为鉴别体系，同样以丽江新团黑谷为感病对照，根据感染的抗稻瘟病菌单基因系水稻类型可以将 121 个菌株分为

77 个致病型(表 1,图 3),且 3 年间没有同时分离到完全相同的致病型(图 4),2012 年与 2013 年间只有 5%的致病型相同,与 2014 年只有 1%的致病型相同,2013 与 2014 也只有 3%的致病型相同,说明不同年份分离的菌株差异较大。121 个菌株对于 15 个水稻抗性具有的致病力统计分析结果(图 5)表明:鄂西南分离的稻瘟病菌株毒性很强,2012—2014 的 3 年间分离的 121 个有致病性的菌株中,90%以上菌株对 *Pib*、*Pit* 和 *Pi11* 单基因系有致病力,84.3%的菌株对 *Pi20* 单基因系有致病力,而对 *Pi9*

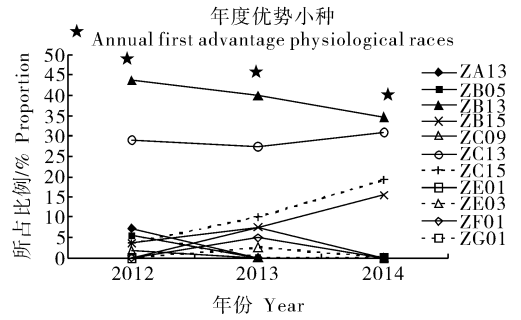


图 2 不同年份生理小种出现频率

Fig.2 The frequency of physiological race in different years

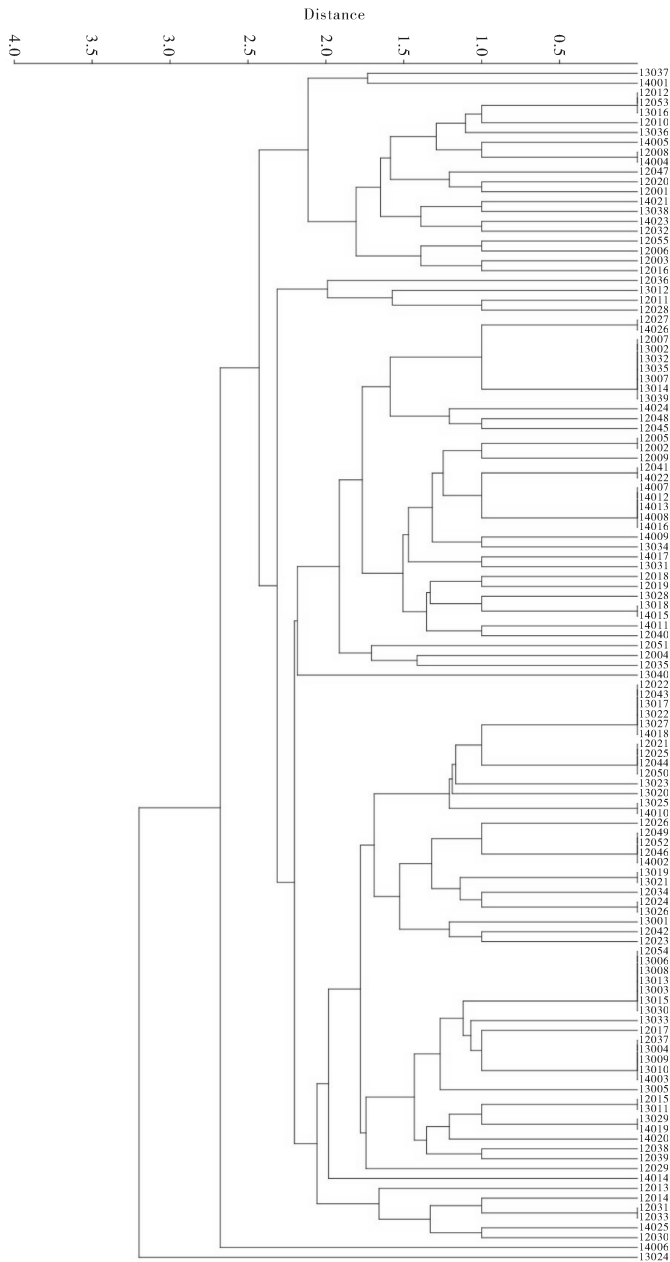


图 3 菌株对抗稻瘟单基因系的致病力相似度聚类分析

Fig.3 Cluster analysis of virulence similarity among *M. grisea* isolates to blast-resistance monogenic rice lines

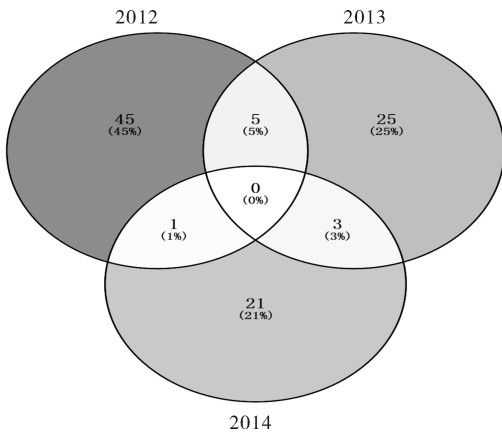


图 4 不同年份稻瘟病菌致病型同一性比较

Fig.4 The identity analysis of *M. oryzae* from different years in virulence

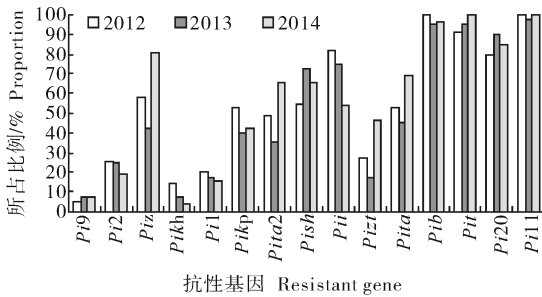


图 5 不同年份菌株对不同抗性基因单基因系的致病性分析

Fig.5 The virulence analysis of *M. oryzae* from different years for different blast-resistance monogenic rice lines

和 *Pikh* 单基因系的致病力较弱,不到 10%。不同年份分离的菌株,有的对同一抗性基因的致病力差异较大,如对 *Pix*、*Pita2*、*Pizt* 及 *Pita* 单基因系的致病力到 2014 年明显增强,而对 *Pi2*、*Pikh*、*Pi1* 和 *Pii* 单基因系的致病力则逐年下降。这些结果说明稻瘟病菌与水稻稻瘟病抗性之间具有微妙的共进化关系,不同年份菌株的致病力及抗性基因的抗性都在发生变化。

3 讨论

稻瘟病菌群体的致病结构复杂多变,对其进行研究可以有效监控稻瘟病菌群体的变异,对控制病害流行和发生意义重大^[4]。由于中国鉴别体系存在一定的局限性和不精确性^[11],本试验同时使用了中

国鉴别体系和 15 个水稻抗稻瘟病菌单基因系鉴别体系对 2012—2014 年来源于鄂西南地区的 121 个有效菌株进行了生理小种和致病型鉴定,共分为 77 个致病型,其中包括 6 群 11 个生理小种。同时发现不同年份稻瘟病菌群体的组成不同,ZB13 为第一优势生理小种,这与施仕胜等^[12]认为的不同年份主要种群出现频率的波动幅度不大的观点不同。对 15 个水稻抗稻瘟病单基因系侵染的结果表明,*Pi9* 和 *Pikh* 在该地区具有较强的抗性,同时一些抗性基因的抗性在不同年份表现不同,值得育种工作者和当地农业部门重视。

同时使用中国鉴别体系和 15 个抗稻瘟病菌单基因系鉴别品种仍无法将菌株分成单一的致病型,后续研究将进一步增加新的抗稻瘟单基因鉴别品种进行致病性测定。

参 考 文 献

[1] 杨阳,刘二明.稻瘟病菌生理小种鉴别研究进展[J].现代农业科技,2015(11):141-142.

[2] 熊源新,杨志平.鄂西南地区苔藓植物区系研究[J].山地农业生物学报,2006,25(6):510-518.

[3] 马军韬,张国民,张丽艳,等.黑龙江省不同来源稻瘟病菌致病性分析[J].植物保护,2017,43(1):161-164.

[4] 杨小林,施仕胜,张舒,等.湖北省稻瘟病重发区病菌群体致病性分化的研究[J].湖北农业科学,2016,55(16):4169-4171,4175.

[5] 刘志恒,王世维,魏松红,等.2011-2012 年辽宁省稻瘟病菌种群动态分析[J].沈阳农业大学学报,2014,45(4):393-397.

[6] 周江鸿,王久林,蒋宛如,等.我国稻瘟病菌毒力基因的组成及其地理分布[J].作物学报,2003,29(5):646-651.

[7] 兰波,杨迎青,徐沛东,等.水稻主要抗瘟基因品种对江西省稻瘟病菌分离株系的抗性分析[J].植物保护学报,2014,41(2):153-168.

[8] 兰波,杨迎青,常冬冬,等.基于丽江新团黑谷的稻瘟病菌致病性分化[J].华中农业大学学报,2015,34(1):28-32.

[9] 全国稻瘟病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):71-82.

[10] 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.

[11] 肖丹凤,张佩胜,王玲,等.中国稻瘟病菌种群分布及优势生理小种的研究进展[J].中国水稻科学,2013,27(3):312-320.

[12] 施仕胜,徐绳武,郑丽,等.湖北省稻瘟病菌种群及优势生理小种研究进展[J].现代农业科技,2017(3):123-124.

Pathogenicity changes of *Magnaporthe oryzae* in south-western Hubei Province during 2012—2014

TIAN Ke YANG Wu LI Mi XU Xin LIU Xinqiong LIU Xuequn WANG Chuntai

*Key Laboratory of State Ethnic Affairs Commission for Biological Technology/
Hubei Provincial Key Laboratory for Protection and Application of Special Plants in
Wuling Area of China, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China*

Abstract To study the pathotypes of *Magnaporthe oryzae* in southwestern Hubei Province, seven Chinese identification rice cultivars and 15 near-isogenic lines of rice with single blast resistant gene were inoculated with 136 strains isolated from rice infected during 2012 to 2014, using Lijiangxintuanheigu (LTH) as susceptible control. The results showed that 121 strains with pathogenicity to LTH were belonged to 13 physiological races in 6 groups including ZA, ZB, ZC, ZE, ZF, and ZG based on the pathogenicity to the seven Chinese identification rice cultivars. Among these groups, ZB was the dominant population, while ZC increased significantly over the years, reaching about the same frequency as ZB in 2014. ZB13 was the first dominant physiological races, while ZC15 and ZB15 increased significantly over the years. According to the phenotypes of the 15 near-isogenic lines after inoculation, the 121 strains were divided into 77 pathogenic types, among which strains isolated from different years exhibited large difference in virulence. Over 90% of the strains tested were virulence to monogenic rice lines with *Pib*, *Pit*, and *Pi11*, while less than 10% were virulence to monogenic rice lines with *Pi9* and *Pikh*. It will provide guidelines for local farmers, breeders, and agricultural sectors in choosing and developing rice varieties in this region.

Keywords *Magnaporthe oryzae*; Chinese identification rice cultivars; near-isogenic lines of rice with single blast resistant gene; pathogenicity; physiological race

(责任编辑:张志钰)