王伟舵,于俊杰,聂亚锋,等. $2011 \sim 2014$ 年江苏省稻瘟病菌种群动态及毒力变化[J]. 江苏农业学报,2015,31(2):285-289. doi:10.3969/j. issn. 1000-4440. 2015. 02. 010

2011~2014年江苏省稻瘟病菌种群动态及毒力变化

王伟舵, 于俊杰, 聂亚锋, 尹小乐, 俞咪娜, 孟祥坤, 刘永锋(江苏省农业科学院植物保护研究所,江苏 南京 210014)

摘要: 2011~2014年从江苏省五大水稻种植区采集1 219份水稻稻瘟病标样,分离得到634 株单孢菌株,研究分析了江苏省稻瘟病菌种群动态及毒力变化情况。种群动态分析结果显示,江苏省稻瘟病菌共有5 群19 个生理小种,各水稻栽培区的种群分布差异较大,连云港、徐州和南通稻区,小种类群较为复杂,均出现了5 群10 个小种,南京、淮安和扬州地区稻瘟病菌种群组成相对简单,其中南京地区出现了4 群5 个小种,淮安和扬州地区,仅出现3 群5 个小种和3 群4 个小种;在分离得到的稻瘟病菌生理小种中,ZG₁种群小种出现频率最高,为优势小种。毒力变化分析结果表明,江苏省稻瘟病菌对已知抗性基因 Pi-k、Pi-k*、Pi-b 和 Pi-t 的毒力频率较高,对 Pi-ta、Pi-ta²、Pi-z 和 Pi-z¹的毒力频率较低,说明 Pi-ta、Pi-ta²等抗性基因在江苏省水稻育种上仍具有较高的应用价值,而 Pi-k、Pi-k*等抗性基因已不适合在江苏省水稻抗病育种中推广使用。

关键词: 稻瘟病菌;种群分布;毒力频率

中图分类号: \$435.111.4⁺1 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2015)02-0285-05

Changes of *Magnaporthe oryzae* population and virulence in Jiangsu province from 2011 to 2014

WANG Wei-duo, YU Jun-jie, NIE Ya-feng, YIN Xiao-le, YU Mi-na, MENG Xiang-kun, LIU Yong-feng (Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: 634 monospore strains of *Magnaporthe oryzae* were isolated from rice blast disease samples collected from five major rice planting areas in 2011–2014, and the races and virulence of *M. oryzae* were studied in Jiangsu province. The *M. oryzae* population can be classified into 5 groups and 19 races, 5 groups and 10 races in Lianyungang, Xuzhou, and Nantong, and only 4 groups and 5 races in Nanjing, 3 groups 5 races and 3 groups 4 races in Huaian and Yangzhou. ZG1 group was the dominant race in Jiangsu province. The virulence frequency of *M. oryzea* to four resistance genes *Pi-ta*, *Pi-ta*², *Pi-z* and *Pi-z*¹ was very low, from 2% –8%, but was relatively high to other four resistance genes *Pi-k*, *Pi-k*^s, *Pi-b* and *Pi-t*, indicating that the resistance genes *Pi-ta*, *Pi-ta*², *Pi-z* and *Pi-z*¹ are of value for rice breeding in Jiangsu province.

收稿日期:2014-10-03

基金项目:国家科技支撑计划项目(2012BAD19B03); 江苏省农业自 主创新基金项目[CX(12)1003-10]

作者简介:王伟舵 (1984-),男,黑龙江佳木斯人,博士,助理研究员, 主要从事植物病害生物防治技术研究。(E-mail)weiduowang@ aliyun.com

通讯作者:刘永锋,(E-mail)liuyf@jaas.ac.cn

Key words: *Magnaporthe oryzae*; physiological race; virulence frequency

由病原菌 *Magnaporthe oryzae* 引起的稻瘟病是水稻生产上的重要病害,严重威胁水稻的生产安全^[14]。江苏省水稻种植面积大,2014 年全省水稻种植面积达到 2.27×10⁶ hm²,稻瘟病每年都有不同

程度的发生,严重影响江苏省水稻的产量和品质^[5-7]。目前防治水稻稻瘟病最有效的措施是选育和利用抗病品种,但稻瘟病菌具有遗传多样性和复杂的田间种群结构,易产生致病性分化,从而导致一些抗病水稻品种推广3~5年后即丧失抗病性^[8-10]。因此从稻瘟病菌种群结构和对已知抗性基因毒力研究入手,明确稻瘟病菌的种群分布,掌握稻瘟病菌的毒力变化规律,对于指导水稻抗病品种选育和生产上科学合理布局抗病品种防治稻瘟病均有重要意义。本研究对采集自江苏省水稻主要栽培地区的稻瘟病菌单孢分离菌株进行了生理小种鉴定和毒力频率分析,旨在掌握各地区稻瘟病菌种群结构和对已知水稻抗性基因的毒力,为江苏省水稻抗病育种和稻瘟病的综合防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 稻瘟病标样的采集

2011~2014年从江苏省南通、苏州、常州、南京、徐州、盐城、连云港、淮安、扬州等水稻主要种植区累计采集稻瘟病标样1219份,分离获得单孢菌株634株(表1)。

表 1 标样采集和菌株分离信息

Table 1 Collected samples and isolates of Magnaporthe oryzae each year

项目 -		 · 合计			
	2011	2012	2013	2014	- 音月
样品(份)	164	323	311	421	1 219
菌株 (株)	113	102	182	237	634

1.2 稻瘟病菌单孢分离

菌株分离:参照刘永锋等^[11]的方法。将水稻叶片发病部位剪下,用无菌水浸泡 4~6 h,然后放入铺有薄层脱脂棉的培养皿中,置于 25 ℃下恒温保湿培养 24 h,待水稻叶片发病部位长出孢子后,在显微镜下用挑针挑取单孢置于 2% 的琼脂培养基上,在 25 ℃下培养,长出菌落后移到 PDA 斜面培养基上培养。

1.3 育苗

选用7个全国统一水稻鉴别品种(东农 363、关东51、特特勃、珍龙13、四丰43、合江18 和丽江新团黑谷)和日本清泽系列13个具有已知抗性基因的

鉴别品种,即新 2 号($Pi-k^*$ 、Pi-sh)、爱知旭[Pi-a、Pi-19(t)]、藤坂 5 号(Pi-i、Pi-sh)、草笛(Pi-k 、Pi-sh)、露明($Pi-k^m$ 、Pi-sh)、福锦(Pi-z 、Pi-sh)、K1(Pi-ta)、Pi-4 号($Pi-ta^2$ 、Pi-sh)、城堡 1 号($Pi-t^1$ 、Pi-sh)、K60($Pi-k^p$ 、Pi-sh)、BL I (Pi-b 、Pi-sh)、K59(Pi-t 、Pi-sh) 的和 K3($Pi-k^h$)。水稻种子浸种催芽处理 2 d,催芽后的种子播种在育秧盘(60 cm×30 cm×4 cm)中。每个品种播 3 行(即 3 次重复),每行 10 穴,每穴播种10 粒左右。在温室中培养到 4 叶 1 心时接种水稻稻瘟病菌。

1.4 稻瘟病菌孢子悬浮液制备及接种

挑取稻瘟菌菌块移到水稻秸秆培养基(玉米粉20g,水稻秸秆40g,琼脂20g,水1L,121℃,灭菌20min)上,25℃下培养7d,然后放在黑光灯下连续光照培养3d,待产生孢子后,用无菌水洗下培养基表面的孢子,并用纱布滤掉菌丝,配制成5×10⁵CFU/ml的孢子悬浮液。接种前,先在玻璃接种箱中喷洒酒精消毒,再喷无菌水保湿处理。将秧苗置于接种箱内,然后通过接种箱侧面上的圆孔喷雾接种30ml孢子悬浮液,接种后25℃恒温保湿培养,24h后移入遮阳棚内,白天每隔1h喷水保湿5min,使棚内的湿度保持在90%以上。

1.5 调查统计

调查时间为接种后 10 d,稻瘟病菌生理小种鉴定按照全国稻瘟病生理小种联合试验组的标准^[12]划分;稻瘟病菌毒力频率计算公式参照司权民等^[13]的方法,即:毒力频率={对测试品种(基因)有毒力的菌株数/总菌株数}×100%。

2 结果与分析

2.1 江苏省水稻稻瘟病菌种群分布

利用全国统一的 7 个水稻鉴别品种对 2011~2014 年江苏省水稻主要种植区的 634 株单孢分离菌株进行生理小种鉴定,可将其划分为 5 群 19 个生理小种。2011~2014年 ZG 种群(仅 ZG₁一个生理小种)一直保持较高的出现频率,2011~2014年出现频率分别达到 37.3%、39.2%、40.7%和42.1%,为江苏省稻瘟病菌优势小种(图 1)。相比 2001~2010年调查结果[11],ZB 和 ZC 种群的出现频率上升较为明显,ZB 种群在 2011~2014年的出现频率分别达到 12.2%、15.7%、24.2%和

24.7%, ZC 种群的出现频率分别达到 22.9%、33.1%、33.3%和36.8%; ZD 和 ZE 种群出现频率在逐年降低,2014年 ZD 种群的出现频率仅为4.3%, ZE 种群在2011年和2012年的出现频率仅为10.1%和1.0%, 而在2013年和2014年的田间采集标样中没有分离到该种群的稻瘟病菌菌株。综上所述, ZG 种群仍为江苏省稻瘟病菌的优势种群, ZB 和 ZC 种群的出现频率有逐年上升的趋势,说明这3个种群的稻瘟病菌与江苏省主栽品种有较高的亲和性。

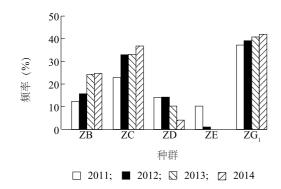


图 1 2011~2014年江苏省水稻稻瘟病菌种群分布

Fig. 1 Distribution of *M. oryzae* races in Jiangsu province from 2011 to 2014

2.2 江苏省不同地区稻瘟病菌生理小种分布

从江苏省不同地区稻瘟病菌生理小种分布分析结果(表2)可知,各水稻栽培区的稻瘟病菌种群分布差异较大,连云港、徐州和南通稻区,稻瘟病菌小种类群较为复杂,均出现了5群10个小种;南京、淮安和扬州地区稻瘟病菌种群结构相对简单,南京地区,出现了4群5个小种;淮安和扬州地区,仅出现3群5个小种和3群4个小种。ZG₁为江苏省稻瘟病菌优势小种,在江苏省各稻区均有分布,由于苏南、苏北稻区气候条件和水稻品种布局的差异,稻瘟病菌次优生理小种差别较大,在苏州、常州、南通等南部低纬度稻区,次优生理小种为 ZC₁₅,在扬州、盐城、徐州等北部高纬度稻区,次优生理小种为 ZC₁₅,在扬州、盐城、徐州等北部高纬度稻区,次优生理小种为 ZC₁₅,在扬州、盐城、徐州等北部高纬度稻区,次优生理小种为 ZB₁₅。

2.3 江苏省稻瘟病菌生理小种年度间变化

江苏省稻瘟病菌不同生理小种年度间变化分析结果(表3)显示,江苏省稻瘟病菌生理小种数量呈现逐年递减的趋势,2011年和2012年江苏省主要水稻种植区分别出现了5群14个生理小种和5群12个生理小种,2013年出现4群11个生理小种,2014年仅出现4群10个生理小种。

表 2 江苏省主要稻区稻瘟病菌生理小种地区分布

Table 2 Distribution of M. oryzae races in rice planting regions of Jiangsu province

地区	小种分布	优势小种及频率(%)
苏州	ZB_1 $\Box ZB_3$ $\Box ZB_5$ $\Box ZB_{15}$ $\Box ZC_3$ $\Box ZC_7$ $\Box ZC_{15}$ $\Box ZD_1$ $\Box ZE_3$ $\Box ZC_1$	ZG ₁ (44.1%) 、ZC ₁₅ (35.3%)
常州	$ZB_1 \ ZB_{11} \ ZB_{15} \ ZB_{17} \ ZC_{13} \ ZC_{15} \ ZD_3 \ ZE_1 \ ZG_1$	$ZG_1(56.6\%)\ \ ZC_{15}(22.4\%)\ \ ZB_{15}(18.4\%)$
南通	$ZB_1 \ ZB_{15} \ ZC_1 \ ZC_7 \ ZC_{15} \ ZD_1 \ ZD_3 \ ZE_1 \ ZE_3 \ ZG_1$	$ZG_1(24.5\%) \ \ ZC_{15}(18.7\%)$
南京	ZB_{15} $\Box ZC_7$ $\Box ZC_{15}$ $\Box ZD_1$ $\Box ZG_1$	$ZG_1(30.2\%) \ \ ZC_{15}(30.1\%)$
扬州	ZB_1 , ZB_{15} , ZC_{15} , ZG_1	$ZG_1(41.3\%)$ $\zeta ZB_{15}(28.3\%)$
盐城	$ZB_1 \backslash ZC_1 \backslash ZC_7 \backslash ZB_{15} \backslash ZD_1 \backslash ZD_5 \backslash ZE_3 \backslash ZE_7 \backslash ZG_1$	$ZG_1(34.5\%) \ ZB_{15}(20.7\%)$
淮安	ZB_1 ζZB_3 ζZB_{15} ζZC_{15} ζZG_1	$ZG_1(42.3\%) \ ZB_{15}(29.2\%)$
徐州	$ZB_1 \backslash ZB_5 \backslash ZB_{15} \backslash ZC_1 \backslash ZC_3 \backslash ZD_1 \backslash ZD_5 \backslash ZE_1 \backslash ZE_3 \backslash ZG_1$	$ZG_1(36.3\%) \ ZB_{15}(26.6\%)$
连云港	$ZB_3 \ ZB_{15} \ ZB_{13} \ ZC_3 \ ZC_7 \ ZC_{13} \ ZC_{15} \ ZD_1 \ ZE_3 \ ZG_1$	$ZG_1(30.3\%,ZB_{15}(16.7\%),ZC_{15}(12.4\%)$

表 3 不同年度间江苏省稻瘟病菌生理小种分布

Table 3 Distribution of *M. oryzae* races among years in Jiangsu province

年度	稻瘟病菌生理小种
2011	$B_1 `B_3 `B_{15} `C_1 `C_7 `C_{15} `D_1 `D_3 `D_5 `D_7 `E_1 `E_3 `E_7 `G_1$
2012	$B_{1} \ \backslash B_{5} \ \backslash B_{11} \ \backslash B_{13} \ \backslash B_{15} \ \backslash C_{3} \ \backslash C_{7} \ \backslash C_{15} \ \backslash D_{3} \ \backslash D_{5} \ \backslash E_{1} \ \backslash G_{1}$
2013	$B_{5} \backslash B_{11} \backslash B_{13} \backslash B_{15} \backslash B_{17} \backslash C_{7} \backslash C_{9} \backslash C_{13} \backslash C_{15} \backslash D_{5} \backslash G_{1}$
2014	$B_{5},B_{13},B_{15},B_{17},C_{7},C_{9},C_{13},C_{15},D_{7},G_{1},$

2.4 江苏省稻瘟病菌毒力频率分析

江苏省稻瘟病菌对已知水稻抗性基因毒力频率

表 4 江苏省稻瘟病菌对已知抗性基因毒力频率

Table 4 Virulence frequency of M. oryzae to rice resistance genes

测定结果见表 4 ,稻瘟病菌对抗性基因 $Pi-k$ 、 $Pi-k$ *和
Pi-b 的毒力频率较高(70%~90%),2011~2014年
平均毒力频率分别为 84.1%、84.4% 和 75.2%;对
Pi-a、Pi-k ^m 、Pi-k ^p 和 Pi-t 的毒力频率中等(20%~
55%),平均毒力频率为24.8%、30.2%、29.5%和
42.1%,;对 Pi-i、Pi-ta、Pi-ta²、Pi-z、Pi-z ^t 和 Pi-k ^h 的毒
力频率较低(0~10%),平均毒力频率仅为4.9%、
5.1%、2.2%、5.7%、1.9%和4.4%。虽然江苏省
稻瘟病菌对抗性基因 Pi-t 的平均毒力频率中等,但
有逐年上升的趋势,2014年毒力频率已达到
51.5% _o

鉴别品种	抗性基因	毒力频率(%)				
	1.11生基囚	2011年	2012 年	2013 年	2014 年	平均
新 2 号	Pi-k ^s Pi-sh	83.3	89.2	84.2	80.9	84.4
爱知旭	Pi-a Pi-sh	23.7	29.4	23.2	23.0	24.8
藤坂5号	Pi-i \Pi-sh	3.3	6.9	8.4	1.1	4.9
草笛	Pi-k Pi-sh	87.3	89.2	85.3	74.3	84.1
露明	Pi-k ^m Pi-sh	34.4	33.3	24.2	29.1	30.2
富锦	Pi-z Pi-sh	7.5	5.9	7.4	1.9	5.7
K1	Pi-ta	2.2	6.7	8.4	2.7	5.1
Pi-4	Pi-ta ² Pi-sh	3.2	1.8	2.1	1.5	2.2
城堡1号	Pi - z^{t} Pi - sh	0	0	5.3	2.3	1.9
K60	Pi-k ^p Pi- sh	18.3	42.2	44.2	13.3	29.5
BL I	Pi-b Pi- sh	76.9	72.5	80	71.5	75.2
K59	Pi-t \Pi-k ^s	30.8	39.2	46.8	51.5	42.1
К3	$Pi ext{-}k^{ m h}$	2.5	8.8	4.2	1.9	4.4

3 讨论

本研究对 2011-2014 年江苏省稻瘟病菌种群动态及毒力变化进行了分析,结果表明,江苏省稻瘟病菌共有 5 群 19 个生理小种,各稻区稻瘟病菌种群分布差异较大,连云港、徐州和南通地区稻瘟病菌种群结构较为复杂,南京、淮安和扬州地区稻瘟病菌种群结构相对简单,有研究结果表明大面积种植单一水稻品种易导致稻瘟病菌种群出现相对专一的强致病力生理小种[14],同时稻瘟病菌生理小种种群组成也会影响田间主栽品种的抗病性[15-20]。南京、淮安等

地稻瘟病菌种群结构简单与这些地区大面积推广种植单一优质高产水稻品种有关,为了维持田间稻瘟病菌生理小种种群结构的稳定,预防强致病力优势小种的积累,应适当加强这些地区田间主栽品种的多样化种植。近 20 年来 ZG₁一直是江苏省稻瘟病菌稳定的优势小种^[21],1999 年以前其分离率达到75%以上^[22]。比较 2001 ~ 2010 年江苏省稻瘟病菌生理小种分布变化情况^[11],ZG₁ 小种仍为江苏省稻瘟病菌优势小种;ZB 群和 ZC 群小种的出现频率有所增长。ZG₁生理小种的多年流行及 ZB 和 ZC 群小种出现频率的上升,说明江苏省各稻区的主栽品种

与上述稻瘟病菌生理小种有较好的亲和性,利于其田间发生和流行。毒力变化分析结果显示,江苏省稻瘟病菌对已知抗性基因 Pi-ta、Pi-ta²、Pi-z 和 Pi-z'的毒力频率较低,说明 Pi-ta、Pi-ta²等抗性基因仍具有较高的应用价值,可作为优良的抗源在江苏省水稻抗病育种中推广使用;抗性基因 Pi-k、Pi-k³和 Pi-b对江苏省稻瘟病菌的抗性较低,在农业生产中使用含上述抗性基因的水稻品种已存在潜在高风险。

综上所述,江苏省稻瘟病菌种群结构正在发生改变,江苏主要稻区稻瘟病菌优势小种正在积累,稻瘟病菌优势小种与水稻主栽品种的亲和性有逐年上升趋势,鉴于致病力较强的 ZB 和 ZC 群小种出现频率的上升,江苏省的育种专家应前瞻性地选育一些针对 ZB 和 ZC 群小种的水稻抗病资源,应对潜在的病害爆发风险。同时江苏省稻瘟病菌对 Pi-k 等抗性基因的毒力频率较高,提示江苏省应引进其他有效的水稻抗性资源,同时水稻品种布局也应更加多元化,有利于有效预防稻瘟病的流行和危害。

参考文献:

- [1] 刘永锋,陈志谊,胡 明,等. 江苏省稻瘟病菌群体分布及优势 小种的毒力研究[J]. 中国水稻科学,2004,18(4):73-78.
- [2] 徐未未,王 兴,黄永相,等.水稻抗稻瘟病基因的分子标记与标记辅助育种研究进展[J]. 江苏农业学报,2013,29(4):898-906
- [3] 于 涛,张海楼,隽英华,等. 施肥模式对水稻稻瘟病抗性的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):113-116.
- [4] 张晓娟,张 羽,张辰露,等. 分子标记在稻瘟病抗性育种中应用的研究进展[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):73-75.
- [5] 陆 凡,陈志谊,刘永锋,等. 江苏省稻瘟病菌毒性的群体结构 分析[J]. 植物保护学报,2002,29(4):289-294.
- [6] 白 娟,周益军,程兆榜,等. 2000 和 2001 年江苏省稻瘟病菌的群体结构[J]. 南京农业大学学报,2004,27(2):43-46.
- [7] 刘 伟. 水稻稻瘟病抗性的研究进展[J]. 中国稻米,2010, 16(5): 32-35.

- [8] 吴建利,柴荣耀. 水稻抗穗瘟基因的分子定位[J]. 植物病理学报,2000,30(2):111-115.
- [9] 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.
- [10] 李培富,史晓亮,王建飞,等. 太湖流域粳稻地方品种黑壳子粳 抗稻瘟病基因的分子定位[J]. 中国水稻科学,2007,21(6):579-584.
- [11] 刘永锋,陈志谊,刘邮洲,等. 2001~2010年江苏省稻瘟病菌种群变化分析[J]. 江苏农业学报,2010,26(6):1233-1237.
- [12] 全国稻瘟病菌生理小种联合试验小组. 我国稻瘟病菌生理小种研究[J]. 植物病理学报,1980,10(2):71-82.
- [13] 司权民,张新心,段霞渝,等. 小麦白粉病菌生理小种鉴定 [J]. 中国农业科学, 1987, 20(5); 64-70.
- [14] 陆 凡,郑小波,陈志谊,等. 江苏省稻瘟病菌小种的结构组成与变化趋势[J]. 南京农业大学学报,2002,25(1):39-42.
- [15] 杨 豪,任春梅,陈毓苓,等. 2007~2008年江苏省稻瘟病菌遗传多样性[J]. 华北农学报,2011,26(4):135-140.
- [16] 梁曼玲. 水稻抗稻瘟病的遗传与育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 21(7); 341-345.
- [17] 陆 凡,郑小波,陈志谊,等. 江苏省稻瘟病菌的毒性多样性及水稻品种的抗病性[J]. 生物多样性,2001,9(3):201-206.
- [18] FUJII K, HAYANO-SAITO Y, SAITO K, et al. Identification of a RFLP marker tightly linked to the panicle blast resistance gene, *Pb*1, in rice[J]. Breeding Science, 2000, 50(3): 183-188.
- [19] LIU X Q, YANG Q Z, LIN F, et al. Identification and fine mapping of Pi39 (t), a major gene conferring the broad-spectrum resistance to Magnaporthe oryzae [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2007, 278(4): 403-410.
- [20] NGUYEN T, KOIZUMI S, LA T, et al. *Pi*35 (t), a new gene conferring partial resistance to leaf blast in the rice cultivar Hokkai 188 [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 113 (4): 697-704
- [21] 肖丹凤,张佩胜,黄世文,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.
- [22] 陆 凡,郑小波,陈志谊,等. 江苏省稻瘟病菌生理小种的演变 及与水稻品种的相互关系[J]. 南京农业大学学报,1999,22 (4):31-34.

(责任编辑:陈海霞)