

沈乐融, 齐中强, 杜艳, 等. 江苏省稻瘟病菌致病力分化及无毒基因组成分析[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(1): 42-47.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2019.01.006

## 江苏省稻瘟病菌致病力分化及无毒基因组成分析

沈乐融<sup>1,2</sup>, 齐中强<sup>2</sup>, 杜艳<sup>2</sup>, 于俊杰<sup>2</sup>, 俞咪娜<sup>2</sup>, 刘永锋<sup>1,2</sup>

(1. 南京农业大学植物保护学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 针对 2013–2017 年从江苏省采集标样并分离得到的共计 621 个稻瘟病菌 [*Magnaporthe oryzae* (Hebert) Barr] 单孢菌株, 利用 10 对稻瘟病菌无毒基因 (*ACE1*、*PWLI*、*Avr-Pita*、*Avr1-CO39*、*Avr-Pizt*、*Avr-Pib*、*Avr-Pia*、*Avr-Pii*、*Avr-Pik*、*Avr-Pi9*) 特异性引物进行扩增, 分析江苏省稻瘟病菌无毒基因的分布及频率。结果表明: 上述 10 个无毒基因在江苏省均有分布, 但出现频率不同, 其中平均扩增频率最高的为 *Avr-Pib*, 达到 74.56%, 最低的是 *Avr-Pia*, 只有 9.34%。*Avr-Pib*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 连续 5 年扩增频率较高且稳定遗传。此外, 采用日本清泽鉴别品种对稻瘟病菌供试菌株进行致病力测定, 结果表明供试菌株对 *Pi-zt*、*Pi-z*、*Pi-ta*、*Pi-ta*<sup>2</sup>、*Pi-i* 表现为弱毒力。综上所述, 江苏省稻瘟病菌群体组成较为复杂, 且存在较大易变性; 无毒基因的分布存在较大差异, 且与地理区域密切相关。

**关键词:** 稻瘟病菌; 致病力分化; 无毒基因; 毒力频率

中图分类号: S435.111.4<sup>+</sup>1

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2019)01-0042-06

## Pathogenicity differentiation and composition analysis of avirulence genes of *Magnaporthe oryzae* in Jiangsu province

SHEN Le-rong<sup>1,2</sup>, QI Zhong-qiang<sup>2</sup>, DU Yan<sup>2</sup>, YU Jun-jie<sup>2</sup>, YU Mi-na<sup>2</sup>, LIU Yong-feng<sup>1,2</sup>

(1. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** In this study, 10 pairs of specific primers of avirulence genes (*ACE1*, *PWLI*, *AvrPi-ta*, *Avr1-CO39*, *Avr-Pizt*, *Avr-Pib*, *Avr-Pia*, *Avr-Pii*, *Avr-Pik* and *Avr-Pi9*) in a total of 621 single spore strains of *Magnaporthe oryzae* [*Magnaporthe oryzae* (Hebert) Barr] isolated from Jiangsu province during 2013–2017 were used to analyze the distribution and frequency of avirulence genes. The PCR results showed that the above 10 avirulence genes were distributed in *M. oryzae* strains of Jiangsu province, but the frequency of occurrence was different. Among them, *Avr-Pib* and *Avr-Pia* showed the highest and lowest frequency (74.56% and 9.34%, respectively), *Avr-Pib*, *Avr-Pik* and *Avr-Pizt* had high frequency of amplification and stable heritability for five consecutive years. In addition, the pathogenicity of the *M. oryzae* was evaluated by using Kiyosawa's differential varieties (KDV). The results revealed that the tested stains showed weak virulence against *Pi-zt*, *Pi-z*, *Pi-ta*, *Pi-ta*<sup>2</sup>, *Pi-i*. In summary, the population composition of *M. oryzae* in Jiangsu province is relatively complex, and it comes instable. The distribution of *avr*-genes is quite different and closely related to the geographical area.

**Key words:** *Magnaporthe oryzae*; pathogenicity differentiation; avirulence gene; virulence frequency

收稿日期: 2018-01-10

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0300706); 国家自然科学基金项目 (31861143011); 江苏省农业自主创新资金项目 [CX16(1001)]

作者简介: 沈乐融 (1994-), 女, 湖南株洲人, 硕士研究生, 主要从事稻瘟病菌无毒基因及功能基因研究。 (Tel) 025-84391810; (E-mail) Shenlr1994@163.com

通讯作者: 刘永锋, (Tel) 025-84391002; (E-mail) liuyf@jaas.ac.cn

稻瘟病是最具破坏力的真菌病害之一, 其发生面积大, 流行性强, 危害严重甚至造成粮食绝产<sup>[1-2]</sup>。稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*) 是一种丝状子囊真菌, 以半活体形式完成整个生活史, 可以侵染整个生

育期的水稻<sup>[3]</sup>。当前,选育和推广抗稻瘟病水稻品种是防治稻瘟病最经济有效、安全和对环境友好的策略<sup>[4-10]</sup>。然而由于稻瘟病菌遗传复杂,种群演替迅速,导致能克服寄主抗病性的小种快速形成优势,最终使得水稻抗病性“丧失”。因此抗性品种连续使用3~5年后,抗性就会明显衰退,抗病无法持久化<sup>[11-14]</sup>。研究结果表明,水稻的持久抗病性与稻瘟病菌的无毒基因关系密切<sup>[15-17]</sup>。“基因对基因假说”的提出,促进了我们在分子水平上对病原菌-寄主互作模式的理解<sup>[18]</sup>。Deng等从谷梅4号中鉴定到一个既调控稻瘟病广谱持久抗性又不影响最终产量的新基因簇 *Pigm*,可实现广谱抗性与产量的平衡<sup>[19]</sup>。从病原菌与寄主间的互作角度出发,对病原菌效应分子与寄主靶基因的研究,可为解析病原菌逃避和干扰寄主免疫系统,开发诱导植物广谱抗性的药剂提供重要的理论基础<sup>[20]</sup>。

李祥晓等采用7个稻瘟病菌无毒基因的特异性引物,对177个来自黑龙江省的稻瘟病菌单孢菌株进行PCR检测<sup>[21]</sup>。兰波等以30个水稻抗稻瘟病近等基因系或单基因系为材料,在水稻苗期接种,测定来自江西省水稻产区195个稻瘟病菌单孢菌株的致病性<sup>[22]</sup>。王世维等选取辽宁省稻瘟病常发区的26株稻瘟病菌单孢菌株,对6个无毒基因PCR产物进行碱基和氨基酸序列的分析比较<sup>[23]</sup>。杨秀娟等利用41个已知抗病基因的水稻品种测定2003-2006年从福建省5个主要稻区采集分离的87个稻瘟病菌单孢菌株的致病性<sup>[24]</sup>。然而,关于江苏省稻瘟病菌无毒基因的分布及频率研究较少。因此,鉴定和分析江苏省稻瘟病菌无毒基因的分布规律及其演变机制,有助于明确当地菌群的致病性结构,为水稻抗病品种的科学合理布局提供理论依据。本研究针对2013-2017年江苏省采集分离的共计621个稻瘟病菌单孢菌株,采用10对稻瘟病菌无毒基因特异性引物,探究稻瘟病菌无毒基因的分布及出现频率,另外采用日本清泽鉴别品种测定其毒力频率,以期江苏省水稻抗病品种的合理布局及稻瘟病的有效防控提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

2013-2017年从江苏省淮安市、徐州市、盐城市、连云港市、扬州市、南通市、南京市、苏州市、常州

市采集分离稻瘟病菌单孢菌株,共计621个(表1)。

表1 2013-2017年江苏省稻瘟病菌采集明细

Table 1 The strains of *Magnaporthe oryzae* isolated from Jiangsu province, 2013-2017

菌株来源	采集菌株数
淮安(苏北)	78
徐州(苏北)	64
盐城(苏北)	67
连云港(苏北)	81
扬州(苏中)	61
南通(苏中)	49
南京(苏南)	85
苏州(苏南)	59
常州(苏南)	77

### 1.2 稻瘟病菌基因组DNA提取

将稻瘟病菌培养在CM板上,28℃培养5d。刮取适量菌丝于2ml离心管中,依次加入少量石英砂、500 μl 2% CTAB、500 μl 氯仿,置于30℃、200 r/min摇床振荡2h。13 000 r/min离心10 min,吸取上清液350 μl加入1.5 ml离心管中,加700 μl 无水乙醇,混匀后放入-20℃冰箱中静置4h。13 000 r/min离心10 min,弃上清,加预热的65℃ ddH<sub>2</sub>O后,保存于-20℃备用<sup>[3]</sup>。

### 1.3 引物设计

根据李祥晓等提供的 *Avr-Pita*、*ACE1*、*Avr1-CO39*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 等基因引物序列<sup>[14]</sup>,王世维等提供的 *Avr-Pia*、*Avr-Pii* 等基因引物序列<sup>[16]</sup>,在NCBI网站上查找 *PWII*、*Avr-Pib*、*Avr-Pi9* 克隆的基因序列,然后利用Primer 5设计引物(表2)。所有引物均由金斯瑞生物科技公司合成。

### 1.4 PCR扩增检测

PCR体系为20 μl,含10×Buffer(Mg<sup>2+</sup> plus) 2.0 μl、dNTP Mixture 0.8 μl、正向/反向引物 0.4 μl、DNA模板 1.0 μl、*rtaq* 酶 0.3 μl、ddH<sub>2</sub>O补足至20.0 μl。扩增程序:预变性94℃ 5 min;变性94℃ 45 s,退火56~59℃ 45 s(具体温度根据引物的GC含量设定),延伸72℃ 30~60 s(具体时间根据目的片段大小设定),32个循环,72℃延伸10 min。扩增产物在1%琼脂糖凝胶中电泳,在凝胶电泳成像仪下观测并照相,统计无毒基因扩增频率。

表2 用于扩增稻瘟病菌无毒基因的特异性引物

Table 2 Primers used for amplification of avirulence genes of *Magnaporthe oryzae*

无毒基因	引物序列 (5'→3')	基因编号
<i>Avr1-CO39</i>	F: AATTCGATAATCGCTGCGAT	AF463528.1
	R: GTCAAGCTCAGAACTTTGTT	
<i>Avr-Pita</i>	F: CGACCCGTTTCCGCTTTATT	EF616489.2
	R: TCCCTCCATTCCAACACTAACG	
<i>Avr-Pia</i>	F: TTATTGCTACCACCTTCTC	AB498873.1
	R: GTAGTAACTGAGTTGGCGTT	
<i>ACE1</i>	F: CCCAGAGTTGGCGATGATGC	AJ704622.1
	R: ATGTGGCGGTGACAGAGGAC	
<i>Avr-Pib</i>	F: GCCGACAATGCGAGGTATAC	KM887844.1
	R: CGACAGGGAATAACACAGCG	
<i>Avr-Pi9</i>	F: GTGCCGTGAGTTTTCATGT	KM004023.1
	R: CTTGGAATAGACGGCAGCAC	
<i>PW11</i>	F: CTCATCTCTTTTCCGCCG	AB480169.1
	R: TGAAGACACGGAGCAGAGTT	
<i>Avr-Pizt</i>	F: AAACCAGGGCAGCCAAAGA	LC175951.1
	R: ATTCCCAATCGAGCCAACG	
<i>Avr-Pik</i>	F: ACTTTGGGAACTGTCGCTGTC	AB498875.1
	R: AGCTGTAACAGGTTCCAGCATC	
<i>Avr-Pii</i>	F: CCTCGGCTTCTGTATATTACT	AB498874.1
	R: TAAATCGTGGCTTTTCAGAT	

### 1.5 稻瘟病菌毒力频率测定

采用日本清泽鉴别品种<sup>[25]</sup>,抗病基因分别含有 *Pi-k<sup>s</sup>*、*Pi-a*、*Pi-i*、*Pi-k*、*Pi-k<sup>m</sup>*、*Pi-z*、*Pi-ta*、*Pi-ta<sup>2</sup>*、*Pi-z<sup>l</sup>*、*Pi-k<sup>p</sup>*、*Pi-b*、*Pi-t* 和 *Pi-k<sup>h</sup>*, 记为 DV1~DV13。分析测定 2013~2017 年稻瘟病菌单孢菌株毒力频率。

将 13 种鉴别品种种子播于秧盘内,每盘 27 穴,每个品种播 2 穴,每穴播 20 粒左右。最后一穴播丽江新团黑谷水稻种子作为感病对照。3 次重复。进行适当的苗期管理。将稻瘟病菌单孢菌株接种在产孢培养基上,28℃培养 7 d,放入黑光灯下 7 d 刺激产孢。收集孢子液,并将孢子量调至 1 ml 1×10<sup>5</sup> 个,加入 0.25% 的明胶,制成孢子悬浮液。待水稻长至三叶一心时,使用喷雾器将孢子悬浮液均匀喷施在

水稻叶片表面。接种后黑暗培养 24 h,自然条件下生长 7 d,统计发病情况。病情调查参照周江鸿等<sup>[26]</sup>的方法,计算稻瘟病菌群体对水稻的毒力频率(VF), $VF = [\text{对测试单基因系有毒力的菌株数} / \text{总菌株数}] \times 100\%$ , $VF \geq 50\%$  为强毒力, $20\% \leq VF < 50\%$  为中等毒力, $VF < 20\%$  为弱毒力。

## 2 结果与分析

### 2.1 江苏省稻瘟病菌无毒基因的组成与分布

对 2013~2017 江苏省 621 个稻瘟病菌单孢菌株 10 个无毒基因的检测结果显示:无毒基因 *Avr-Pib* 平均扩增频率最高,为 74.56%,含有该无毒基因的菌株数为 463;无毒基因 *Avr-Pia* 平均扩增频率最低,为 9.34%,含有该无毒基因的菌株数为 58 个。其中,连续 5 年扩增频率较高且稳定遗传的是 *Avr-Pib*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt*,平均扩增频率均超过 70.00%,分别为 74.56%、70.85%、73.59% (表 3)。表明江苏省稻瘟病菌主要携带 *Avr-Pib*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 这 3 个无毒基因,且稳定存在。

2013 年无毒基因 *Avr-Pita*、*ACE1*、*Avr-Pii*、*Avr-Pib*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 平均扩增频率均超过 50.00%,其中 *Avr-Pib*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 达到了 90.00% 左右。提示 2013 年江苏省稻瘟病菌所含无毒基因频率均较高,含有与之对应的抗病基因水稻具有较好抗性。但是,2014 年 *Avr-Pita* 的扩增频率仅有 5.00%,2015、2016 年提高到 45.00% 左右,到 2017 年 *Avr-Pita* 再次呈下降趋势(表 3)。说明不同年份的稻瘟病菌出现频率差异较大,进一步表明江苏地区稻瘟病菌无毒基因种群结构较为复杂。

### 2.2 稻瘟病菌无毒基因在苏北、苏中、苏南地区分布情况的比较

无毒基因 *Avr-Pib* 扩增频率较高,在苏北地区检测率为 35.09%,苏南地区检测率为 27.58%,苏中地区检测率为 14.35%。无毒基因 *Avr-Pia* 扩增频率较低,在苏北地区检测率为 6.97%,苏南地区检测率为 3.19%,苏中地区检测率为 1.16%。通过对 10 个无毒基因的分布频率进行总体评价,发现 10 个无毒基因在苏北、苏中、苏南地区均有分布,但苏北检测率明显高于其他地区(除 *Avr1-CO39* 和 *Avr-Pita* 外)(表 4)。综上所述,苏北地区无毒基因组成更为丰富,且种群结构更为复杂。

表 3 2013–2017 年江苏省稻瘟病菌无毒基因扩增频率

Table 3 The frequencies of *Avr*-genes in *Magnaporthe oryzae* in Jiangsu province, 2013–2017

无毒基因	2013 年(45 株)		2014 年(171 株)		2015 年(89 株)		2016 年(147 株)		2017 年(169 株)		总计(621 株)	
	含无毒基因的菌株数	出现频率 (%)	含无毒基因的菌株数	出现频率 (%)	含无毒基因的菌株数	出现频率 (%)	含无毒基因的菌株数	出现频率 (%)	含无毒基因的菌株数	出现频率 (%)	含无毒基因的菌株数	出现频率 (%)
<i>Avr-Pita</i>	30	66.67	2	1.17	39	43.82	67	45.58	37	21.89	175	28.18
<i>ACE1</i>	26	57.78	79	46.20	45	50.56	127	86.39	54	31.95	331	53.30
<i>Avr-Pia</i>	9	20.00	4	2.34	9	10.11	27	18.37	9	5.33	58	9.34
<i>Avr1-CO39</i>	22	48.89	2	1.17	31	34.83	111	75.51	16	9.47	182	29.31
<i>Avr-Pii</i>	26	57.78	82	47.95	35	39.33	112	76.19	113	66.86	368	59.26
<i>PWL1</i>	5	11.11	6	3.51	23	25.84	94	63.95	18	10.65	146	23.51
<i>Avr-Pi9</i>	11	24.44	24	14.04	24	26.97	48	32.65	0	0	107	17.23
<i>Avr-Pib</i>	44	97.78	125	73.10	61	68.54	144	97.96	89	52.66	463	74.56
<i>Avr-Pik</i>	40	88.89	140	81.87	60	67.42	99	67.35	101	59.76	440	70.85
<i>Avr-Pizt</i>	39	86.67	129	75.44	61	68.54	123	83.67	105	62.13	457	73.59

表 4 2013–2017 年苏北、苏中、苏南地区稻瘟病菌无毒基因的平均扩增频率

Table 4 The mean frequencies of *Avr*-genes in *Magnaporthe oryzae* in north, central, south Jiangsu region, 2013–2017

地域	无毒基因平均扩增频率 (%)									
	<i>Avr-Pita</i>	<i>ACE1</i>	<i>Avr-Pia</i>	<i>Avr1-CO39</i>	<i>Avr-Pii</i>	<i>PWL1</i>	<i>Avr-Pi9</i>	<i>Avr-Pib</i>	<i>Avr-Pik</i>	<i>Avr-Pizt</i>
苏北	14.47	25.64	6.97	12.51	24.60	11.59	9.90	35.09	31.45	33.17
苏中	5.50	10.07	1.16	7.29	11.32	3.27	1.73	14.35	13.43	14.50
苏南	15.49	19.07	3.19	14.40	21.91	8.19	8.08	27.58	28.49	27.93

2.3 江苏省稻瘟病菌的毒力

2013–2017 年,供试稻瘟病菌菌株对鉴别品种表现出不同程度的毒力,毒力频率范围为6.38%~73.03%,平均毒力频率为 34.22%。其中对抗病基因 *Pi-z<sup>t</sup>*、*Pi-z* 的平均毒力频率最低,分别为 6.38%、7.65%;对 *Pi-ta<sup>2</sup>*、*Pi-ta*、*Pi-i* 的平均毒力频率分别为 10.59%、10.89%、18.16%,表现为弱毒力;对 *Pi-a*、*Pi-k<sup>m</sup>*、*Pi-k<sup>h</sup>* 基因呈中等毒力,平均毒力频率分别为 30.32%、31.52%、41.73%;对 *Pi-k<sup>s</sup>*、*Pi-b*、*Pi-k* 等的平均毒力频率在 66.02%至 73.03%之间,表现为强毒力<sup>[26]</sup>(表 5)。说明 *Pi-z<sup>t</sup>*、*Pi-z*、*Pi-ta*、*Pi-ta<sup>2</sup>*、*Pi-i* 在江苏省抗病育种中有较高利用价值。

3 讨论

本研究连续 5 年从江苏省(苏北、苏中、苏南)采集稻瘟病菌标本,分离纯化得到 621 个单孢菌株。采用 10 对稻瘟病菌特异性引物,分析江苏省稻瘟病菌无毒基因扩增频率与分布情况,发现江苏省稻瘟病菌无毒基因分布较广,且种群复杂,同时地域因素在无毒基因的分布中起到重要作用。

表 5 2013–2017 年江苏省稻瘟病菌菌株对日本清泽鉴别品种的毒力频率

Table 5 The virulence frequencies of *Magnaporthe oryzae* to Japanese differential varieties in Jiangsu, 2013–2017

鉴别品种	抗性基因	毒力频率 (%)				
		2013	2014	2015	2017	平均
DV1	<i>Pi-k<sup>s</sup></i> 、 <i>Pi-sh</i>	89.2	80.9	36.4	59.68	66.02
DV2	<i>Pi-a</i> 、 <i>Pi-sh</i>	29.4	23.0	35.5	31.18	30.32
DV3	<i>Pi-i</i> 、 <i>Pi-sh</i>	6.9	1.1	21.2	23.12	18.16
DV4	<i>Pi-k</i> 、 <i>Pi-sh</i>	89.2	74.3	75.9	67.74	73.03
DV5	<i>Pi-k<sup>m</sup></i> 、 <i>Pi-sh</i>	33.3	29.1	29.0	36.02	31.52
DV6	<i>Pi-z</i> 、 <i>Pi-sh</i>	5.9	1.9	8.3	9.14	7.65
DV7	<i>Pi-ta</i>	6.7	2.7	10.6	10.75	10.89
DV8	<i>Pi-ta<sup>2</sup></i> 、 <i>Pi-sh</i>	1.8	1.5	12.9	11.83	10.59
DV9	<i>Pi-z<sup>t</sup></i> 、 <i>Pi-sh</i>	0	2.3	2.8	4.30	6.38
DV10	<i>Pi-k<sup>p</sup></i> 、 <i>Pi-sh</i>	42.2	13.3	30.9	18.28	28.52
DV11	<i>Pi-b</i> 、 <i>Pi-sh</i>	72.5	71.5	70.0	72.04	69.75
DV12	<i>Pi-t</i> 、 <i>Pi-k<sup>s</sup></i>	39.2	51.5	71.9	19.35	50.35
DV13	<i>Pi-k<sup>h</sup></i>	8.8	1.9	59.4	63.44	41.73



本研究中发现江苏省稻瘟病菌均含有 10 个无毒基因,但以不同频率出现在不同年份。其中平均扩增频率最高的是 *Avr-Pib*, 达到 74.56%, 最低的是 *Avr-Pia*, 仅为 9.34%; 同时, *Avr-Pib*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 平均扩增频率连续 5 年均超过 70.00%, 表明这 3 个无毒基因在江苏省稳定存在。张科等对黑龙江省稻瘟病菌无毒基因进行鉴定分析, 发现 *Avr-Pia*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 3 个无毒基因分布较广<sup>[27]</sup>。王世维等报道辽宁省稻瘟病菌主要携带 *Avr-Pita*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 3 个无毒基因<sup>[23]</sup>。本研究中 10 个无毒基因在江苏省均有分布且存在一定差异, 并且除 *Avr1-CO39*、*Avr-Pia* 基因外, 其他 8 个无毒基因在苏北地区分布均较高。朱名海等对南繁核心区和非核心区 60 个稻瘟病菌菌株 6 个无毒基因 (*ACE1*、*Avr-Pik*、*Avr-Pita*、*Avr-Pizt*、*PWL2*、*Avr-Pia*) 进行检测, 发现除 *Avr-Pia* 基因外, 其余无毒基因在南繁区分布率均较高<sup>[28]</sup>。张崎峰等对黑龙江省 19 个地区 204 个稻瘟病菌菌株的无毒基因 *Avr-Pita*、*PWL2*、*PWL3*、*Avr1-CO39* 进行检测, 检测率均较低<sup>[29]</sup>。因此, 不同地域无毒基因的分布存在较大差异, 也说明无毒基因的组成和分布与地理区域密切相关。

2013 年 6 个无毒基因的平均扩增频率均超过 50.00%, 其中 *Avr-Pib*、*Avr-Pik*、*Avr-Pizt* 达到了 90.00% 左右, 但之后 *ACE1*、*Avr-Pita* 和 *Avr-Pii* 平均扩增频率起伏较大, 变异度较高。稻瘟病菌无毒基因与水稻抗病基因间的互作符合基因对基因假说<sup>[30]</sup>。采用日本清泽鉴别品种对供试菌株进行毒力频率测定, 发现对抗病基因 *Pi-z'*、*Pi-z*、*Pi-ta*、*Pi-ta*<sup>2</sup>、*Pi-i* 表现为弱毒力, 毒力频率均低于 20.00%。根据上述无毒基因分布结果可以推断 *Pi-z'* 和 *Pi-i* 仍然具有抗病育种潜力, 而 *Pi-ta* 和 *Pik* 存在抗性丧失的风险。

本研究的不足之处主要有: (1) 由于稻瘟病菌穗颈瘟标样均采自大田种植的主栽品种, 这些品种会带有抗病基因, 能引起致病的稻瘟病菌不含相应无毒基因。因此, 分离的稻瘟病菌是在一些抗病基因选择压力下筛选后的, 不能很好地反映田间稻瘟病菌无毒基因的分布规律。(2) 采用的鉴别寄主包含的抗病基因并不全面。在接下来的鉴别工作中将引入国际水稻所 32 个鉴别寄主系统, 以期获得更加全面的鉴别数据。

综上所述, 江苏省稻瘟病菌群体组成较为复杂,

存在较大易变性; 无毒基因的分布存在较大差异, 且与地理区域密切相关。因此, 需进一步加强对稻瘟病菌种群的监测, 对稻瘟病菌无毒基因以及与抗病基因的互作研究, 为水稻抗病育种提供有效理论支撑, 保障粮食生产安全。

## 参考文献:

- [1] ZHANG H F, ZHENG X B, ZHANG Z G. The *Magnaporthe grisea* species complex and plant pathogenesis [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2016, 17(6): 796-804.
- [2] 周 萌, 邓国富, 梁海福, 等. 抗稻瘟病优质籼型水稻不育系青 A 选育及应用[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(1): 26-30.
- [3] QI Z Q, LIU M X, ZHANG Z G, et al. The syntxin protein (Mo-Syn8) mediates intracellular trafficking to regulate conidiogenesis and pathogenicity of rice blast fungus [J]. *New Phytologist*, 2016, 209(4): 1655-1667.
- [4] 宋兆强, 刘 艳, 王宝祥, 等. 稻瘟病抗性基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi54* 和 *Pi-km* 的育种利用价值评价[J]. *江苏农业学报*, 2017, 33(5): 968-974.
- [5] 阎 勇, 马增凤, 秦 钢, 等. 华南常用籼稻亲本稻瘟病抗性评价及抗性基因鉴定[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(4): 587-593.
- [6] 马军韬, 张国民, 张丽艳, 等. 黑龙江省水稻品种抗性与稻瘟病菌致病性年际变化趋势分析[J]. *江苏农业科学*, 2017, 45(20): 109-113.
- [7] 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.
- [8] 张善磊, 孙旭超, 陈 涛, 等. *Pi-ta*、*Pi-5*、*Pi-km* 和 *Pi-b* 基因在粳稻品种(系)中的分布及对穗颈瘟的抗性[J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(5): 961-971.
- [9] 姜兆远, 刘晓梅, 李 莉, 等. 吉林省稻瘟病菌无毒基因 *AvrPi9* 鉴定及分析[J]. *江苏农业科学*, 2017, 45(10): 27-29.
- [10] 杨 军, 薛 芳, 王海凤, 等. 水稻稻瘟病菌单孢分离技术及常见问题分析[J]. *山东农业科学*, 2017, 49(2): 132-135.
- [11] FARMAN M, LEONG S. Chromosome walking to the *AVR1-CO39* avirulence gene of *Magnaporthe grisea*: discrepancy between the physical and genetic maps [J]. *Genetics*, 1998, 150: 1049-1058.
- [12] WU J, KOU YJ, BAO JD, et al. Comparative genomics identifies the *Magnaporthe oryzae* avirulence effector *AvrPi9* that triggers *Pi9*-mediated blast resistance in rice [J]. *New Phytologist*, 2015, 206(4): 1463-1475.
- [13] LI W, WANG B, ZHANG X, et al. The *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AvrPiz-t* encodes a predicted secreted protein that triggers the immunity in rice mediated by the blast resistance gene *Piz-t* [J]. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 2009, 22: 411-420.
- [14] 张 哲, 姜 华, 孙国昌, 等. 稻瘟病菌无毒基因研究进展[J]. *遗传*, 2011, 33(6): 591-600.
- [15] DONG Y H, LI Y, ZHAO M M, et al. Global genome and transcriptome analysis of *Magnaporthe oryzae* epidemic isolate 98-06

- uncover novel effectors and pathogenicity-related genes, revealing gene gain and lose dynamics in genome evolution [J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(4): e1004801.
- [16] QI Z Q, WANG Q, DOU X Y, et al. MoSwi6, an APSES family transcription factor, interacts with MoMps1 and is required for hyphal and conidial morphogenesis, appressorial function and pathogenicity of *Magnaporthe oryzae* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(7): 677-689.
- [17] ZHANG S, WANG L, PAN Q, et al. Functional evaluation of *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AvrPib* responding to the rice blast resistance gene *Pib* [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5:11642.
- [18] FLOR H. Current status of the gene-for-gene concept [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1971, 9:275-296.
- [19] DENG Y, ZHAI K, XIE Z, et al. Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance [J]. *Science*, 2017, 355(6328):962-965.
- [20] DE WIT P J G. How plants recognize pathogens and defend themselves [J]. *Cell & Molecular Life Sciences Cmls*, 2007, 64(21): 2726-2732.
- [21] 李祥晓,王 倩,黎志康,等.黑龙江省稻瘟病菌无毒基因分析及抗病种质资源筛选 [J].*作物学报*, 2012, 38(12): 2192-2197.
- [22] 兰 波,李湘民,何烈干. 江西省稻瘟病菌的无毒基因分析 [J]. *江西农业大学学报*, 2010, 32(2): 271-275.
- [23] 王世维,郑文静,刘志恒,等. 辽宁省稻瘟病菌无毒基因型鉴定及分析 [J]. *中国农业科学*, 2014, 47(3): 462-472.
- [24] 杨秀娟,阮宏椿,王茂明,等. 福建省稻瘟病菌致病性及其无毒基因分析 [J]. *植物保护学报*, 2007, 34(4): 337-342.
- [25] 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.
- [26] 周江鸿,王久林,凌忠专,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.
- [27] 张 科,刘 丽,刘东渤,等. 黑龙江省稻瘟病菌无毒基因的组成及其频率初探 [J]. *种子世界*, 2016(12): 19-21.
- [28] 朱名海,赵 美,舒灿伟,等. 南繁区稻瘟病菌无毒基因的检测 [J]. *华中农业大学学报*, 2017, 36(4): 21-25.
- [29] 张琦峰,靳学慧,蔡鑫鑫,等. 黑龙江省稻瘟病菌无毒基因的检测 [J]. *黑龙江农业科学*, 2014(12): 70-73.
- [30] VALENT B, CHUMLEY F. Molecular genetic analysis of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1991, 29:443-467.

(责任编辑:张震林)