

广东省不同稻区稻瘟病菌生理小种鉴定及无毒基因分析

汪文娟 陈凯玲 杨健源 封金奇 朱小源 苏菁*

(广东省农业科学院植物保护研究所, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640)

摘要: 为明确广东省不同稻区稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae* 生理小种与无毒基因的类型与分布, 利用7个中国鉴别品种、11个抗稻瘟病单基因系及3个广东省优质抗源稻种三黄占2号、青六矮和珍桂矮, 采用苗期喷雾接种方法对2018—2019年分别从广东省不同稻区感染稻瘟病的不同栽培稻品种上分离获得的368株稻瘟病菌单孢菌株进行生理小种鉴定与无毒基因分析。结果显示, 利用中国鉴别品种共鉴定出6群30个生理小种, 其中优势种群为ZB和ZC, 出现频率分别为44.29%和43.48%, 优势生理小种为ZB13和ZC13, 出现频率分别为26.90%和29.35%。利用11个水稻抗稻瘟病单基因系鉴定出测试菌株对含有 *Pi9*、*Pi1*、*Pik-h* 和 *Pi50* 这4个水稻抗稻瘟病单基因系的无毒频率均大于80.00%; 来自粤北、粤西和珠三角3个稻区的稻瘟病菌对抗源稻种三黄占2号的毒性频率低于11.76%, 对珍桂矮的毒性频率大于69.41%。表明2018—2019年广东省稻瘟病菌群体生理小种结构复杂, 多样性丰富, 在粤北、粤西和珠三角稻区可利用的抗性基因一致, 可推广使用含抗性基因 *Pi9*、*Pi50*、*Pik-h* 和 *Pi1* 的水稻品种; 三黄占2号抗性好, 抗谱较宽, 可作为广东省抗稻瘟病种质资源加以利用。

关键词: 水稻; 稻瘟病菌; 生理小种; 优势小种; 无毒基因型

Identification of physiological races and analysis of avirulence genes of rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* in different rice regions of Guangdong Province

Wang Wenjuan Chen Kailing Yang Jianyuan Feng Jinqi Zhu Xiaoyuan Su Jing*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong Province, China)

Abstract: In order to understand the types and distribution of physiological races and avirulence genes of rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* in different rice-growing regions of Guangdong Province, the method of spray inoculation was used at the seedling stage of identified varieties. A total of 368 single-spore strains isolated from different cultivated rice varieties infected with rice blast disease in different rice regions of Guangdong Province from 2018 to 2019 were tested for their pathogenicity and the corresponding avirulence genotypes, against seven Chinese differential cultivars and 11 blast monogenic lines, and three Guangdong high-quality resistant rice varieties Sanhuangzhan 2, Qingliu' ai, and Zhen-gui' ai. The results showed that six groups and 30 Chinese physiological races were identified and the predominant populations were ZB and ZC, with frequency of 44.29% and 43.48%, respectively. The predominant physiological races were ZB13 and ZC13, with frequencies of 26.90% and 29.35%, respectively. Using 11 blast monogenic lines for pathogenicity analysis, the results showed that the average avirulent frequency of rice blast monogenic lines containing *Pi9*, *Pi1*, *Pik-h*, and *Pi50* from the test

基金项目: 广东省自然科学基金-青年提升项目(2024A1515030090), 广东省农业科学院科技人才引进专项(R2021YJ-YB3020), 国家现代农业产业技术体系专项(CARS-01-44), 广东省农业科学院协同创新中心项目(XT202211), 韶关市科技计划项目(210804164531395)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: 1835795725@qq.com

收稿日期: 2023-11-20

strains was greater than 80.00%. Further pathogenicity analysis was conducted on populations of rice blast fungus isolated from different cultivated rice varieties. The pathogenicity test results showed that the virulence frequency of rice blast fungus from three rice regions to the resistant rice variety Sanhuangzhan 2 was lower than 11.76%, and the virulence frequency to Zhengui' ai was greater than 69.41%. This indicated that the physiological race structure of rice blast fungus population in Guangdong Province from 2018 to 2019 was complicated with rich diversity. The resistance genes available in the rice-growing areas of northern and western Guangdong, and the Pearl River Delta were consistent, and rice varieties containing resistance genes *Pi9*, *Pi50*, *Pik-h*, and *Pil* could be promoted for use in the near future; Sanhuangzhan 2 possessed high resistance and a wide resistance spectrum, thus could be used as a blast-resistant germplasm resource in Guangdong Province.

Key words: rice; *Magnaporthe oryzae*; physiological race; predominant race; genotype of avirulence

稻瘟病由丝状子囊真菌稻瘟病菌 *Magnaporthe oryzae* (无性态 *Pyricularia oryzae*) 引起, 是世界水稻生产上最严重的病害之一 (Talbot, 2003; Dean et al., 2012)。由稻瘟病造成的水稻产量损失每年达 10%~30%, 严重时甚至绝收 (Dean et al., 2012; Fisher et al., 2012; Savary et al., 2019)。培育和种植抗稻瘟病的水稻品种是生产上防治稻瘟病最经济有效并对环境安全友好的途径 (Ashkani et al., 2015; Tanweer et al., 2015; Xiao et al., 2023)。然而, 由主效抗瘟基因控制的单一抗病品种在连续大面积推广种植 3~5 年后, 抗病性逐渐衰退甚至丧失 (Li et al., 2009; Wu et al., 2015)。为了解抗病品种稻瘟病的暴发机制, 建立持久的保护系统, 研究者们基于“基因对基因”学说建立了由含有不同抗病基因型的鉴别品种组成的鉴别系统, 这些鉴别系统可用于阐明稻瘟病菌的致病型或生理小种、群体遗传结构与多样性, 以及推断抗病品种含有的抗病基因型 (Khan et al., 2016; Huang et al., 2021)。

稻瘟病菌鉴别系统自建立以来被广泛应用于稻瘟病菌生理小种鉴定或致病型结构分析。如周江鸿等 (2003) 利用我国育成的 6 个近等基因系和国际水稻所-日本合作育成的 24 个单基因系, 测定和分析了来自我国吉林、辽宁、河北、江苏、浙江、四川、湖南、福建、广东和云南 10 个省的 322 株稻瘟病菌单孢菌株的毒性基因组成与地理分布, 发现我国稻瘟病菌毒性基因在各省分布不均, 各稻区之间存在明显的区域性; 周坤能等 (2022) 利用一套中国鉴别系统鉴定了 2019—2020 年从安徽省 5 个稻区 21 个市 (县、区) 收集的稻瘟病菌, 利用不同优势生理小种对 775 份水稻资源进行苗期抗性鉴定, 发现安徽省稻瘟病菌优势种群为 ZB 和 ZC, 优势生理小种为 ZB13、ZB15 和 ZC15; 朱小源等 (2008) 利用 7 个中国稻瘟

病菌生理小种鉴别品种对源自天优 998 的稻瘟病菌进行了致病性分析, 明确了分离菌株属于 ZB3 生理小种; 汪文娟等 (2012; 2015; 2020) 利用 7 个中国稻瘟病菌生理小种鉴别品种和 11 个抗稻瘟病单基因系分别对分离自常规稻粤晶丝苗 2 号、美香占 2 号和杂交稻五优 308 的稻瘟病菌进行了致病性分析, 明确了侵染五优 308 的优势生理小种为 ZB13 与 ZB15, 侵染粤晶丝苗 2 号的优势生理小种为 ZB13, 侵染美香占 2 号的优势生理小种分别为 ZC13、ZB13、ZB01、ZB05 和 ZC05; 董丽英等 (2023) 利用 2007—2013 年分离自云南省不同稻区的 112 株稻瘟病菌单孢菌株对 23 个持有不同抗性基因的单基因系和持有 *Pi57(t)* 的水稻渗入系 IL-E1454 进行致病性测定, 发现稻瘟病菌对不同抗病基因的毒性频率存在很大差异。综上所述, 中国鉴别品种和单基因系鉴别品种的创建对我国稻瘟病菌生理小种的鉴定以及水稻抗性基因的挖掘利用具有重要意义。

广东省属于我国南方主要稻区之一, 属于亚热带季风气候, 由于其高温和高湿的环境特征, 1 年可种植 2 季水稻。早季水稻从 3 月持续到 7 月, 晚季水稻从 7 月持续到 12 月, 且在广东省种植的大多数品种为籼稻品种 (Huang et al., 2021)。稻瘟病是广东省水稻安全生产的一个重要制约因素。20 世纪 80 年代中后期及 90 年代初期, 科研工作者们针对广东省地方稻种资源短缺及品种抗瘟性差的情况, 利用国外抗稻瘟病资源对本地优质品种进行抗性改良 (朱小源等, 2003); 但由于稻瘟病菌生理小种的多样性与易变性, 极易导致抗性品种丧失抗性。因此, 需深入开展稻瘟病菌种群的发生动态与生理小种特征研究, 指导水稻抗病品种的合理布局, 这是稻瘟病可持续防控的长期性基础工作。本研究利用 7 个中国稻瘟病菌生理小种鉴别品种与 11 个抗稻瘟病单基因

系对2018—2019年分别从广东省不同稻区不同栽培稻品种上分离获得的368株稻瘟病菌单孢菌株进行致病性测定,鉴定生理小种并分析相应无毒基因的毒性频率,以期为广东省新培育抗病品种的科学合理布局 and 有效控制稻瘟病的流行提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试稻瘟病菌:2018—2019年从广东省粤东稻区、粤西稻区、粤北稻区和珠三角稻区的27个县(区、市)以及田间自然监测病圃采集了145个感染稻瘟病的栽培稻品种(包括常规稻和杂交稻)标样,共分离获得368株稻瘟病菌单孢菌株,均保存于广东省农业科学院植物保护研究所。

供试水稻:7个中国稻瘟病菌生理小种鉴别品种分别为特特普、珍龙13、四丰43、东农363、关东51、合江18和丽江新团黑谷;11个抗稻瘟病单基因系分别为IRBL9-W(*Pi9*)、IRBLz5-CA(*Pi2*)、IRBLzt-T(*Piz-t*)、NIL-e1(*Pi50*)、IRBLkh-K3(*Pik-h*)、IRBL1-CL(*Pi1*)、IRBLta2-Re(*Pita2*)、IRBLz-Fu(*Piz*)、IRBLsh-S(*Pish*)、IRBLkp-K60(*Pik-p*)和IRBLi-F5(*Pii*),其中NIL-e1是广东省农业科学院植物保护研究所丽江新团黑谷为轮回亲本育成的含*Pi50*抗稻瘟病近等基因系(Zhu et al., 2012),其余单基因系由国际水稻研究所与日本合作育成(朱小源等, 2004);3个广东省优质抗源稻种分别为三黄占2号、青六矮与珍桂矮。上述稻种均由广东省农业科学院植物保护研究所繁育、保存并提供。

培养基:酵母固体培养基成分为可溶性淀粉10 g、酵母浸出膏4 g、琼脂粉20 g、蒸馏水1 L;玉米培养基成分为浸泡过夜的干玉米粒250 g/瓶;水琼脂培养基成分为琼脂粉10 g、蒸馏水0.5 L;所有培养基均在121 °C灭菌30 min。

肥料、试剂及仪器:纯度99.0%硫酸铵,广州化学试剂厂。本研究所用试剂均为国产分析纯。LRH-250A真菌生化培养箱,韶关市泰宏医疗器械有限公司;25 L有油空气压缩机(喷雾器),常州格力博工具有限公司;L301生物显微镜,广州永程实验仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 稻瘟病菌的致病型测定

将实验室保存的368株单孢菌株分别转接至酵母固体平板上,于25 °C的生化培养箱中黑暗培养7 d以上,取菌丝体转接到玉米培养基上扩繁,25 °C

黑暗培养13 d。用消毒过的无菌水洗去玉米粒表面的菌丝,将玉米粒置于已消毒的长25 cm×宽19 cm×高2 cm搪瓷盘中,上面覆盖1层湿纱布,然后在日光灯下全光照培养3~4 d待其产孢,当玉米粒上培养的菌株产生大量分生孢子后,用无菌水洗下孢子,用2层塑料细纱网滤去玉米残渣,配成浓度为 1×10^5 个/mL的孢子悬浮液,备用。将供试21种水稻种子催芽后分别穴播于长30 cm×宽20 cm×高5 cm规格的搪瓷盆里,每盆划分为21个穴,每穴播种1种材料,每种材料播种量为10粒种子。稻苗采取早育栽培,待长至1叶1心、2叶1心和3叶1心时,分别施用1次肥料硫酸铵,每盆约0.5 g,共施肥3次。待稻苗长至3~4叶龄时,用25 L有油空气压缩机(喷雾器)分别进行368株单孢菌株孢子悬浮液的喷雾处理,每株菌株接种1盆水稻苗,每盆喷雾接种50 mL,设3次重复。将接种后的水稻幼苗置于遮光密闭的培养箱中,在温度25 °C、相对湿度95%以上的条件下黑暗培养24 h,之后转至玻璃温室,在25~28 °C条件下保湿培养至稻苗发病,即接种7 d左右调查稻苗的整体发病情况,以丽江新团黑谷为感病对照。病级调查方法按照国际水稻研究所稻瘟病圃苗瘟分级标准进行:0级,无任何病斑;1级,仅有针点状病斑;2级,有稍大褐色点状病斑,0.50≤病斑直径<1.00 mm;3级,圆形至椭圆形灰色病斑,边缘褐色,1.00≤病斑直径<2.00 mm;4级,2条叶脉之间有椭圆形或狭长纺锤形病斑,病斑面积不超过叶面积的2%;5级,具典型稻瘟病斑,2%≤受害叶面积占叶面积的比例<10%;6级,具典型稻瘟病斑,10%≤受害叶面积占叶面积的比例<25%;7级,具典型稻瘟病斑,25%≤受害叶面积占叶面积的比例<50%;8级,具典型稻瘟病斑,50%≤受害叶面积占叶面积的比例<75%;9级,具典型稻瘟病斑,受害叶面积占叶面积的比例≥75%。将接种后产生的病级为0~3级者归为无毒菌株,接种后产生的病级为4~9级者归为有毒菌株。统计有毒菌株数量,计算菌株出现频率,有毒菌株出现频率=有毒菌株数量/接种总菌株数量×100%。

1.2.2 稻瘟病菌的无毒基因型分析

水稻与稻瘟病菌之间的相互作用符合“基因对基因”学说(Flor, 1971),即当供试菌株接种到某个水稻单基因系后表现为抗病反应型,则表明该菌株含有的无毒基因类型与抗瘟单基因系携带的抗瘟基因类型相匹配。根据此方法,基于1.2.1接种试验结果,观察368株供试菌株接种到11个抗稻瘟病单基因系水稻后表现出的抗/感反应型,病级调查及划分

方法同1.2.1,并分析稻瘟病菌株携带无毒基因的情况,计算稻瘟病菌群体对水稻的无毒性频率,无毒性频率=对测试单基因系无毒力的菌株数/总菌株数 $\times 100\%$ 。

1.3 数据分析

试验数据利用SPSS 21.0软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 广东省稻瘟病菌生理小种类型及出现频率

利用中国稻瘟病菌生理小种鉴别品种从2018—2019年分离自粤东稻区、粤西稻区、粤北稻区和珠三角稻区的368株稻瘟病菌单孢菌株中共鉴定出6群30个生理小种(表1)。依据中国稻瘟病菌生理小种

联合实验组的命名法对其命名,ZA种群中共有9个生理小种,分别是ZA1、ZA5、ZA9、ZA13、ZA31、ZA33、ZA35、ZA45和ZA63;ZB种群中共有11个生理小种,分别是ZB1、ZB3、ZB5、ZB17、ZB9、ZB11、ZB13、ZB15、ZB21、ZB29和ZB31;ZC种群中共有7个生理小种,分别是ZC1、ZC5、ZC7、ZC9、ZC11、ZC13和ZC15;ZD种群中只有1个生理小种ZD5;ZF种群中只有1个生理小种ZF1;ZG种群中只有1个生理小种ZG1。其中优势种群为ZB和ZC,出现频率分别为44.29%和43.48%;优势生理小种为ZB13和ZC13,出现频率分别为26.90%和29.35%;其余半数以上的生理小种出现频率均较低,在0.27%~3.26%之间(表1)。

表1 2018—2019年广东省稻瘟病菌生理小种鉴定结果及其出现频率

Table 1 Identification results and frequency of occurrence of rice blast fungus physiological races in Guangdong Province from 2018 to 2019

生理小种种群 Physiological race population	生理小种 Physiological race	生理小种 Physiological race		种群出现频率 Occurrence frequency of race population/%
		菌株数 No. of isolates	出现频率 Occurrence frequency/%	
ZA	ZA1	9	2.45	5.98
	ZA5	1	0.27	
	ZA9	1	0.27	
	ZA13	3	0.82	
	ZA31	3	0.82	
	ZA33	1	0.27	
	ZA35	1	0.27	
	ZA45	1	0.27	
	ZA63	2	0.54	
ZB	ZB1	6	1.63	44.29
	ZB3	1	0.27	
	ZB5	26	7.07	
	ZB7	1	0.27	
	ZB9	3	0.82	
	ZB11	1	0.27	
	ZB13	99	26.90	
	ZB15	16	4.35	
	ZB21	1	0.27	
	ZB29	3	0.82	
	ZB31	6	1.63	
ZC	ZC1	4	1.09	43.48
	ZC5	32	8.70	
	ZC7	2	0.54	
	ZC9	3	0.82	
	ZC11	1	0.27	
	ZC13	108	29.35	
	ZC15	10	2.72	
ZD	ZD5	1	0.27	0.27
ZF	ZF1	10	2.72	2.72
ZG	ZG1	12	3.26	3.26

2.2 广东省不同稻区间稻瘟病菌优势种群的分布

对采集自粤西、粤北和珠三角3个稻区的稻瘟病菌群体优势种群进行分析,其中粤东稻区稻瘟病菌标样较少(仅7个),未进行分析。在粤北稻区的稻瘟菌群体中,共鉴定出6群24个生理小种,其中优势生理小种是ZC5、ZB13和ZC13,出现频率分别为10.56%、25.56%和26.11%;在粤西稻区的稻瘟病菌群体中,共鉴定出5群15个生理小种,其中优势生理小种是ZB5、ZC13和ZB13,出现频率分别为10.42%、

34.38%和36.46%;在珠三角稻区的稻瘟病菌群体中,共鉴定出5群16个生理小种,其中优势生理小种仍是ZC5、ZB13和ZC13,出现频率分别为9.41%、20.00%和30.59%(表2)。总体来看,从粤北稻区、粤西稻区和珠三角稻区分离的稻瘟病菌群体中的优势生理小种类型差别不大,3个稻区的稻瘟病菌群体中主要优势生理小种均为ZB13和ZC13,相比其他2个稻区,粤北稻区稻瘟病菌群体生理小种的多样性更丰富。

表2 广东省不同稻区稻瘟病菌群体中的优势生理小种及其出现频率

Table 2 Dominant physiological races in the rice blast fungus populations across different rice regions in Guangdong Province and their frequencies of occurrence

稻区 Rice area	菌株数 No. of strain	优势生理小种 Dominant physiological race	出现频率 Occurrence frequency/%
粤北稻区 Northern Guangdong rice area	180	ZC5	10.56
		ZB13	25.56
		ZC13	26.11
粤西稻区 Western Guangdong rice area	96	ZB5	10.42
		ZC13	34.38
		ZB13	36.46
珠三角稻区 Pearl River Delta rice areas	85	ZC5	9.41
		ZB13	20.00
		ZC13	30.59

2.3 不同稻区稻瘟病菌群体对单基因系的无毒性频率

利用11个水稻抗稻瘟病单基因系品种对采集自粤西、粤北和珠三角3个稻区的稻瘟病菌群体进行致病性测定,发现来自粤北、粤西和珠三角3个稻区的稻瘟病菌对含有*Pi9*、*Pi50*、*Pik-h*和*Pi1*这4个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率均在83.89%以上;其中,来自粤北稻区的180株稻瘟病菌对含有*Pita2*、*Piz-t*和*Pi2*这3个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率在50.00%~80.00%之间,分别为50.00%、62.78%和76.11%;对含有*Pii*、*Piz*、*Pik-p*和*Pish*这4个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率均小于50.00%,分别为18.89%、31.11%、33.33%和48.33%;来自粤西稻区的96株稻瘟病菌对含有抗性基因*Pi2*的单基因系水稻的无毒性频率为78.13%;对含有*Pii*、*Piz*、*Pish*、*Piz-t*、*Pik-p*和*Pita2*这6个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率均小于50.00%,分别为12.50%、25.00%、33.33%、34.38%、35.42%和35.42%;来自珠三角稻区的85株稻瘟病菌对含有*Pish*、*Piz-t*和*Pi2*这3个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率在50.00%~80.00%之间,分别为62.35%、76.47%和78.82%;对含有*Pii*、*Pik-p*、*Piz*和*Pita2*这4个抗性基因的单基因系水稻的无毒性

频率均小于50.00%,分别为24.71%、34.12%、40.00%和45.88%(图1)。总体来看,含有*Pi9*、*Pi50*、*Pik-h*和*Pi1*抗性基因的水稻品种可在上述3个稻区推广种植。

2.4 不同稻种稻瘟病菌群体对单基因系的无毒性频率

分离自广东省不同水稻品种上的368株稻瘟病菌单孢菌株对11个抗稻瘟病单基因系水稻的苗期致病性测定结果表明,分离自常规稻的194株稻瘟病菌对含有*Pik-h*、*Pi1*、*Pi9*和*Pi50*这4个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率均大于80.00%,分别为91.24%、88.14%、86.60%和81.44%;对含有*Pita2*、*Pish*、*Piz-t*和*Pi2*这4个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率在50.00%~80.00%之间,分别为50.52%、59.28%、69.59%和78.87%;对含有*Pii*、*Piz*和*Pik-p*这3个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率均小于50.00%,分别为17.53%、30.41%和34.54%;而分离自杂交稻的174株稻瘟病菌对含有*Pi50*、*Pi9*、*Pik-h*和*Pi1*这4个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频率均大于80.00%,分别为93.68%、87.93%、82.76%和81.03%;对含有抗性基因*Pi2*的单基因系水稻的无毒性频率为75.86%;对含有*Pii*、*Piz*、*Pik-p*、*Pish*、*Pita2*和*Piz-t*这6个抗性基因的单基因系水稻的无毒性频

率均小于 50.00%，分别为 20.11%、32.18%、32.76%、34.48%、39.08% 和 45.40% (图 2)。总体来看，从常规稻和杂交稻上分离的稻瘟病菌对含有抗性基因

Pi9、*Pi50*、*Pik-h* 和 *Pi1* 的单基因系水稻的无毒性频率均大于 80.00%，表明大部分供试稻瘟病菌菌株不能有效侵染含有 *Pi9*、*Pi50*、*Pik-h* 和 *Pi1* 的水稻品种。

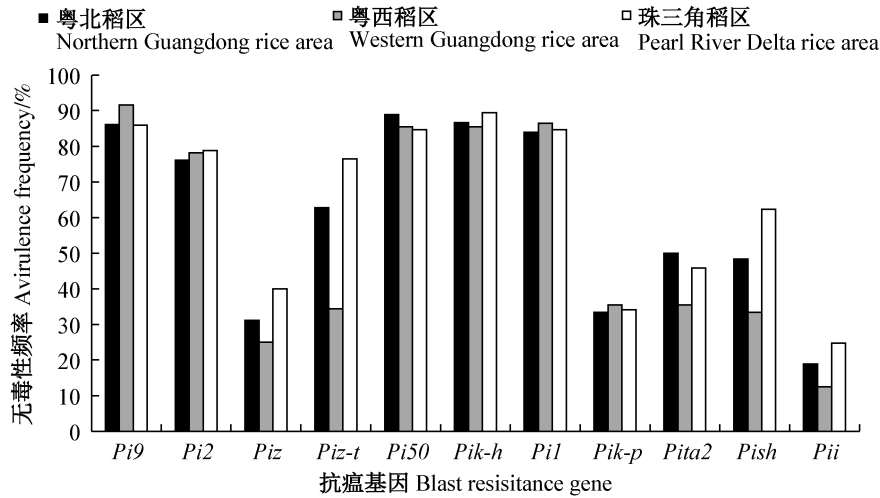


图 1 广东省不同稻区稻瘟病菌群体对 11 个抗病单基因系水稻的无毒性频率

Fig. 1 Avirulence frequency of rice blast fungus populations in different rice regions of Guangdong Province to 11 rice blast monogenic lines

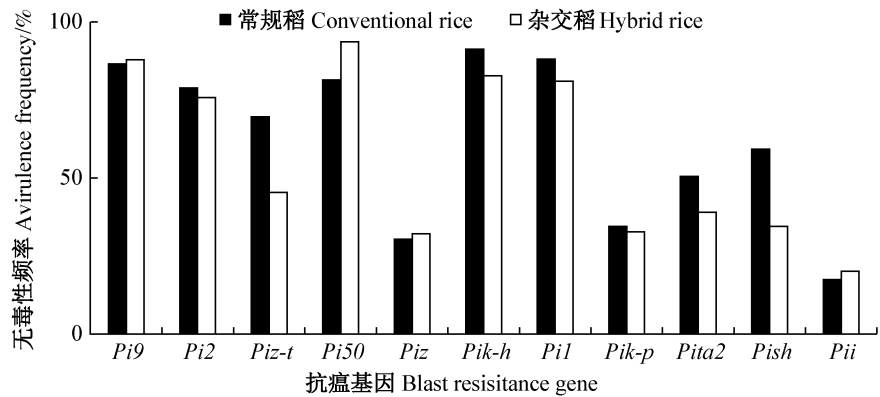


图 2 从不同水稻品种上分离的稻瘟病菌对 11 个抗病单基因系水稻的无毒性频率

Fig. 2 Avirulence frequency of *Magnaporthe oryzae* strains isolated from different rice varieties to 11 rice blast monogenic lines

2.5 稻瘟病菌群体对广东省优质抗源稻种的毒性频率

对 3 个广东优质抗源稻种三黄占 2 号、青六矮和珍桂矮的苗期致病性测定结果显示，分离自粤北稻区的稻瘟病菌对三黄占 2 号、青六矮和珍桂矮的毒性频率分别为 8.89%、39.44% 和 73.33%；分离自粤西稻区的稻瘟病菌对三黄占 2 号、青六矮和珍桂矮

的毒性频率分别为 6.25%、52.08% 和 72.92%；分离自珠三角稻区的稻瘟病菌对三黄占 2 号、青六矮和珍桂矮的毒性频率分别为 11.76%、43.53% 和 69.41% (表 3)，表明三黄占 2 号在粤北、粤西和珠三角 3 个稻区可作为抗病种质加以利用；珍桂矮在广东省稻区感稻瘟病风险较高，利用价值较低。

表 3 广东省不同稻区稻瘟病菌群体对不同抗病水稻品种的毒性频率

Table 3 Virulence frequency of rice blast fungus populations in different rice regions of Guangdong Province to different resistant rice varieties

稻区 Rice area	毒性频率 Virulence frequency/%		
	三黄占 2 号 Sanhuangzhan 2	青六矮 Qingliu 'ai	珍桂矮 Zhengui 'ai
粤北稻区 Northern Guangdong rice area	8.89	39.44	73.33
粤西稻区 Western Guangdong rice area	6.25	52.08	72.92
珠三角稻区 Pearl River Delta rice area	11.76	43.53	69.41

3 讨论

病原菌的分化变异研究是稻瘟病抗性育种的重要基础,主要包括病原菌的生理小种、分子指纹群体结构以及无毒基因等方面。中国鉴别品种共7个,包含3个籼稻品种和4个粳稻品种,籼稻品种在我国籼稻区具有较好的稻瘟病菌生理小种鉴别能力,粳稻品种在我国粳稻区具有较高的鉴别能力(凌忠专等,2000)。由于中国鉴别品种包含了我国育种计划中所使用的主要水稻抗稻瘟病基因,是基本上能反映稻瘟病菌生理小种组成及其变化的鉴别体系(Zhang et al., 2019; Huang et al., 2021),该系统自1980年建立以来,被广泛应用于我国各稻区稻瘟病菌群体生理小种结构分析研究(霍超斌等,1980;李进斌等,2009;Xing et al., 2017)。如基于这7个中国鉴别水稻品种,杨祁云等(1998)研究结果表明,1991—1995年广东省的稻瘟病菌生理小种分布及发生动态相对稳定,优势种群为ZB和ZC,优势生理小种为ZB13、ZB5、ZC13和ZB1;潘汝谦和康必鉴(2003)发现1998年广东省稻瘟病菌群体的致病性结构包括4群10个生理小种,其中ZG1是最优势小种,出现频率为31%,ZC13和ZC15次之,出现频率分别为28%和21%;Huang et al. (2021)研究发现广东省1999—2008年收集的稻瘟病菌群体中的优势籼稻型生理小种有9个(ZB1、ZB5、ZB6、ZB7、ZB13、ZB15、ZC5、ZC13和ZC15),优势粳稻型生理小种有1个(ZG1)。本研究利用7个中国鉴别品种对2018—2019年从广东省4个主要稻区不同栽培稻种上分离的368株稻瘟病菌单孢菌株进行生理小种鉴定,共鉴定出6群30个生理小种,其中优势种群为ZB和ZC,出现频率分别为44.29%和43.48%,优势生理小种为ZB13和ZC13,出现频率为26.90%和29.35%。朱小源等(2003)研究表明广东省主栽优质稻种上分离的稻瘟病菌优势生理小种绝大部分属ZB和ZC种群,属籼稻型生理小种;部分粳稻型生理小种如ZD1、ZE1和ZG1一般不侵染目前推广的大部分籼稻品种。本研究结果显示至2018—2019年广东省稻瘟病菌主要优势种群依然是ZB和ZC,与上述研究结果较一致,表明近20年来广东省稻瘟病菌的生理小种分布及发生动态相对稳定,这可能与广东省优质稻抗病育种仍然以稻瘟病菌ZB和ZC种群优势生理小种为主要对象有关。

抗稻瘟病单基因系是基于寄主抗性基因和病原菌无毒基因互作构建的,与中国7个鉴别品种鉴定

的生理小种相比,抗稻瘟病单基因系鉴定的生理小种明显增多,且还可用于病原菌的无毒基因鉴定与研究(凌忠专等,2004;朱小源等,2004)。为准确鉴定华南籼稻区稻瘟病菌生理小种,最理想的鉴别品种是建立适用于华南稻区的抗稻瘟病单基因系鉴别品种。如朱小源等(2004)利用水稻品种抗性聚类分析法及主成分因子分析法构建了一套由9个单基因系构成的稻瘟病菌单基因系鉴别系统,该鉴别系统对我国籼稻区稻瘟病菌生理小种有较强的鉴别力,随后该系统又扩展包含了抗病基因*Piz-t*和*Pi50*的2个单基因系,目前由11个单基因系构成了抗稻瘟病单基因系鉴别品种。汪文娟等(2018;2020)利用这11个华南水稻抗稻瘟病单基因系鉴别品种对分离自广8A系列杂交组合和广东省种植面积最大的常规稻美香占2号的稻瘟病菌进行了致病性分析,为广8A系列稻种和美香占2号品种的合理使用及后续轮换品种的选择提供了参考依据。本研究利用这11个华南水稻抗稻瘟病单基因系鉴别品种对分离自广东省不同稻区的稻瘟病菌进行了致病性检测,发现稻瘟病菌对含有抗性基因*Pi9*、*Pi50*、*Pik-h*和*Pi1*的单基因系水稻的无毒性频率均大于80.00%。该结果与本研究团队前期对源自美香占2号与广8A杂交稻组合的稻瘟病菌的致病性分析结果(汪文娟等,2018;2020)相一致,从美香占2号分离的菌株群体中,出现频率较高的无毒基因是*AvrPi50*和*AvrPiz-t*;从广8优系列组合分离的菌株群体中,对抗性基因*Pik-h*和*Pi9*的无毒性频率较高(>85%)。抗病水稻品种的持久抗性与稻瘟病菌生理小种和无毒基因关系密切,分析稻瘟病菌无毒基因的变异可以预测对应抗病基因的有效性(Selisana et al., 2017; Hu et al., 2022)。同时,及时了解稻瘟病菌生理小种结构随时间和空间的变化,了解现有主栽品种和优良育种品系的抗性基因对抗性育种的布局至关重要(Zhang et al., 2019; Huang et al., 2021)。因此,监测田间稻瘟病菌生理小种的发生动态及稻瘟病菌群体中无毒基因的毒性频率,是预测抗病基因的有效性 & 预防稻瘟病流行暴发的有效措施。

广东省广谱抗瘟品种的抗源主要来自三黄占2号、青六矮1号、粳粳89、28占和巴太早香等,其中,三黄占2号和28占在各年份均具有稳定而较广的抗性谱,育成的部分抗瘟品种的抗性相对稳定,青六矮1号抗性谱年度变化相对稳定,且其田间抗性较高(朱小源等,2003)。研究人员利用上述优质抗源品种选育出了一批抗稻瘟病优质品种,如28占系

列的黄华占、丰丝占、丰富占、粤晶丝苗；巴太早香系列的巴太香占、胜巴丝苗、白香占、聚香丝苗；三黄占2号系列的绿黄占、七袋占；青六矮系列的粤香占、粤丰占等(朱小源等, 2003); 这些新选育推广的品种对稻瘟病菌优势生理小种的抗性频率显著提高。品种抗性的提高改变了广东省优质稻生产中稻瘟病大面积发生的局面, 缓解了水稻品种优质与抗病的矛盾。对三黄占2号的广谱抗性遗传基础的分析结果显示, 其含有抗瘟基因 *Pi-GD-1*、*Pi-GD-2* 和 *Pi-GD-3*, 28占则含有抗瘟基因 *Pi50*、*Pish* 和 *Pita2* (Liu et al., 2004; Zhu et al., 2012)。本研究针对性地选择广东省抗源稻种三黄占2号、青六矮和早稻种植面积较大的品种珍桂矮进行苗期抗性鉴定, 明确了分离自广东省不同稻区的稻瘟病菌株对三黄占2号的毒性频率都低于11.76%, 表明三黄占2号及其衍生品种仍然有较好的抗病性, 可在粤北、粤西和珠三角稻区合理轮换种植; 而分离的稻瘟病菌对青六矮的毒性频率在39.44%~52.08%之间, 可参照不同稻区稻瘟病菌的分布特点有选择性地布局; 早稻中熟品种珍桂矮因其可加工米粉且品质佳, 深受广东省广大种植户青睐, 而分离的稻瘟病菌中有70%以上的菌株都可侵染珍桂矮, 因此在该品种种植推广方面需要加强对稻瘟病的防控。

参 考 文 献 (References)

- Ashkani S, Rafii MY, Shabanimofrad M, Miah G, Sahebi M, Azizi P, Tanweer FA, Akhtar MS, Nasehi A. 2015. Molecular breeding strategy and challenges towards improvement of blast disease resistance in rice crop. *Frontiers in Plant Science*, 6: 886
- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, et al. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4): 414-430
- Dong LY, Liu P, Liu SF, Zhang XW, Yang QZ. 2023. Analysis and identification of avirulence genes of *Magnaporthe oryzae* from *Oryza rufipogon* Griff. in Yuanjiang of Yunnan Province. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 39(18): 117-122 (in Chinese) [董丽英, 刘沛, 刘树芳, 张先闻, 杨勤忠. 2023. 云南元江普通野生稻稻瘟病菌无毒基因鉴定与分析. *中国农学通报*, 39(18): 117-122]
- Fisher MC, Henk DA, Briggs CJ, Brownstein JS, Madoff LC, McCraw SL, Gurr SJ. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*, 484: 186-194
- Flor HH. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9: 275-296
- Hu ZJ, Huang YY, Lin XY, Feng H, Zhou SX, Xie Y, Liu XX, Liu C, Zhao RM, Zhao WS, et al. 2022. Loss and natural variations of blast fungal avirulence genes breakdown rice resistance genes in the Sichuan Basin of China. *Frontiers in Plant Science*, 13: 788876
- Huang ZP, Wang JY, Zhang YL, Yao YX, Huang LF, Yang XY, Wang L, Pan QH. 2021. Dynamics of race structures of *Pyricularia oryzae* populations across 18 seasons in Guangdong Province, China. *Plant Disease*, 105(1): 144-148
- Huo CB, Liu ZY, Zhou LG. 1980. Study on physiological races of *Magnaporthe grisea* in Guangdong Province. *Guangdong Agricultural Sciences*, 7(3): 41-45 (in Chinese) [霍超斌, 刘智英, 周亮高. 1980. 广东稻瘟病菌生理小种研究. *广东农业科学*, 7(3): 41-45]
- Khan MAI, Ali MA, Monsur MA, Kawasaki-Tanaka A, Hayashi N, Yanagihara S, Obara M, Mia MAT, Latif MA, Fukuta Y. 2016. Diversity and distribution of rice blast (*Pyricularia oryzae* Cavara) races in Bangladesh. *Plant Disease*, 100(10): 2025-2033
- Li JB, Li CY, Zhang Q, Chen Y, Lei CL, Ling ZZ. 2009. Comparison of differentiating capacity of two sets of differential lines using isolates of *Magnaporthe grisea* collected from China's Yunnan Province. *Scientia Agricultura Sinica*, 42(2): 486-491 (in Chinese) [李进斌, 李成云, 张庆, 陈艳, 雷财林, 凌忠专. 2009. 两套鉴别品种对云南稻瘟病菌株鉴别能力的比较. *中国农业科学*, 42(2): 486-491]
- Li W, Wang BH, Wu J, Lu GD, Hu YJ, Zhang X, Zhang ZG, Zhao Q, Feng Q, Zhang HY, et al. 2009. 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*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(4): 411-420
- Ling ZZ, Lei CL, Wang JL. 2004. Review and prospect for study of physiologic races on rice blast fungus (*Pyricularia grisea*). *Scientia Agricultura Sinica*, 37(12): 1849-1859 (in Chinese) [凌忠专, 雷财林, 王久林. 2004. 稻瘟病菌生理小种研究的回顾与展望. *中国农业科学*, 37(12): 1849-1859]
- Ling ZZ, Mew T, Wang JL, Lei CL, Huang N. 2000. Development of Chinese near-isogenic lines of rice and their differentiating ability to pathogenic races of *Pyricularia grisea*. *Scientia Agricultura Sinica*, 33(4): 1-8 (in Chinese) [凌忠专, Mew T, 王久林, 雷财林, 黄宁. 2000. 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. *中国农业科学*, 33(4): 1-8]
- Liu B, Zhang SH, Zhu XY, Yang QY, Wu SZ, Mei MT, Mauleon R, Leach J, Mew T, Leung H. 2004. Candidate defense genes as predictors of quantitative blast resistance in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(10): 1146-1152
- Pan RQ, Kang BJ. 2003. Identification and evaluation of the rice resistance to *Magnaporthe grisea* populations. *Journal of South China Agricultural University*, 24(2): 30-33 (in Chinese) [潘汝谦, 康必鉴. 2003. 水稻对稻瘟病菌群体的抗病性鉴定与评价. *华南农业大学学报*, 24(2): 30-33]
- Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, Esker P, McRoberts N, Nelson A. 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*, 3(3): 430-439
- Selisana SM, Yanoria MJ, Quime B, Chaipanya C, Lu G, Opulencia R,

- Wang GL, Mitchell T, Correll J, Talbot NJ, et al. 2017. Avirulence (*AVR*) gene-based diagnosis complements existing pathogen surveillance tools for effective deployment of resistance (*R*) genes against rice blast disease. *Phytopathology*, 107(6): 711–720
- Talbot NJ. 2003. On the trail of a cereal killer: exploring the biology of *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Microbiology*, 57: 177–202
- Tanweer FA, Rafii MY, Sijam K, Rahim HA, Ahmed F, Latif MA. 2015. Current advance methods for the identification of blast resistance genes in rice. *Comptes Rendus Biologies*, 338(5): 321–334
- Wang WJ, Su J, Yang JY, Chen S, Lu GD, Zhu XY. 2020. Identification of physiological race and analysis avirulent genes for isolates of rice blast infecting from rice variety of Meixiangzhan 2. *Journal of Plant Protection*, 47(3): 572–582 (in Chinese) [汪文娟, 苏菁, 杨健源, 陈深, 鲁国东, 朱小源. 2020. 侵染优质稻美香占2号的稻瘟病菌生理小种鉴定及无毒基因分析. *植物保护学报*, 47(3): 572–582]
- Wang WJ, Su J, Yang JY, Wei XY, Chen KL, Chen Z, Chen S, Zhu XY. 2018. Analysis of *Magnaporthe oryzae* avirulent genes in the infected hybrid rice combinations derived from a sterile line of Guang 8 A. *Scientia Agricultura Sinica*, 51(24): 4633–4646 (in Chinese) [汪文娟, 苏菁, 杨健源, 韦小燕, 陈凯玲, 陈珍, 陈深, 朱小源. 2018. 源于广8A杂交稻组合的稻瘟病菌无毒基因型分析. *中国农业科学*, 51(24): 4633–4646]
- Wang WJ, Su J, Zhang J, Li YL, Chen S, Zeng LX, Yang JY, Zhu XY. 2012. Pathogenicity analysis of the rice blast fungus isolated from the blast panicles of Yuejingsimiao 2. *Guangdong Agricultural Sciences*, 39(23): 59–61 (in Chinese) [汪文娟, 苏菁, 张杰, 李亦龙, 陈深, 曾列先, 杨健源, 朱小源. 2012. 源于粤晶丝苗2号穗瘟的稻瘟病菌致病性分析. *广东农业科学*, 39(23): 59–61]
- Wang WJ, Wei XY, Chen KL, Chen WQ, Chen Z, Yang JY, Zhu XY. 2015. Pathogenicity analysis on *Magnaporthe grisea* of hybrid combination Wuyou 308. *Guangdong Agricultural Sciences*, 42(14): 70–73 (in Chinese) [汪文娟, 韦小燕, 陈凯玲, 陈尉芹, 陈珍, 杨健源, 朱小源. 2015. 源自杂交稻组合五优308稻瘟病菌致病性分析. *广东农业科学*, 42(14): 70–73]
- Wu J, Kou YJ, Bao JD, Li Y, Tang MZ, Zhu XL, Ponaya A, Xiao G, Li JB, Li CY, et al. 2015. Comparative genomics identifies the *Magnaporthe oryzae* avirulence effector *AvrPi9* that triggers *Pi9*-mediated blast resistance in rice. *New Phytologist*, 206(4): 1463–1475
- Xiao G, Wang WJ, Liu MX, Li Y, Liu JB, Franceschetti M, Yi ZF, Zhu XY, Zhang ZG, Lu GD, et al. 2023. The *Piks* allele of the NLR immune receptor *Pik* breaks the recognition of *AvrPik* effectors of rice blast fungus. *Journal of Integrative Plant Biology*, 65(3): 810–824
- Xing JJ, Jia YL, Peng ZR, Shi YF, He Q, Shu F, Zhang WH, Zhang Z, Deng HF. 2017. Characterization of molecular identity and pathogenicity of rice blast fungus in Hunan Province of China. *Plant Disease*, 101(4): 557–561
- Yang QY, Zhu XY, Wu SZ. 1998. The relationship between resistance of rice cultivars and variation of physiological race of *Magnaporthe grisea* in Guangdong. *Journal of Plant Protection*, 25(2): 97–102 (in Chinese) [杨祁云, 朱小源, 伍尚忠. 1998. 广东水稻品种抗性与其稻瘟病菌生理小种变化动态的关系. *植物保护学报*, 25(2): 97–102]
- Zhang YL, Wang JY, Yao YX, Jin XH, Correll J, Wang L, Pan QH. 2019. Dynamics of race structures of the rice blast pathogen population in Heilongjiang Province, China from 2006 through 2015. *Plant Disease*, 103(11): 2759–2763
- Zhou JH, Wang JL, Jiang WR, Lei CL, Ling ZZ. 2003. Virulence genes diversity and geographic distribution of *Pyricularia grisea* in China. *Acta Agronomica Sinica*, 29(5): 646–651 (in Chinese) [周江鸿, 王久林, 蒋婉如, 雷财林, 凌忠专. 2003. 我国稻瘟病菌毒力基因的组成及其地理分布. *作物学报*, 29(5): 646–651]
- Zhou KN, Xia JF, Wang YL, Yun P, Zhang CJ, Ma TC, Zhang AF, Li ZF. 2022. Identification and analysis of physiological races of *Magnaporthe oryzae* in Anhui Province. *Journal of Southern Agriculture*, 53(11): 3098–3106 (in Chinese) [周坤能, 夏加发, 王元垒, 云鹏, 张彩娟, 马廷臣, 张爱芳, 李泽福. 2022. 安徽省稻瘟病菌生理小种鉴定分析. *南方农业学报*, 53(11): 3098–3106]
- Zhu XY, Chen S, Yang JY, Zhou SC, Zeng LX, Han JL, Su J, Wang L, Pan QH. 2012. The identification of *Pi50(t)*, a new member of the rice blast resistance *Pi2/Pi9* multigene family. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(7): 1295–1304
- Zhu XY, Yang JY, Chen YT, Yang WX, Chen XL, Zeng LX, Chen S. 2008. Race identification and pathogenicity test of the blast fungus causing the resistance breakdown of hybrid rice Tianyou 998. *Guangdong Agricultural Sciences*, 35(12): 84–86 (in Chinese) [朱小源, 杨健源, 陈玉托, 杨维新, 陈喜劳, 曾列先, 陈深. 2008. 引致天优998抗性丧失的稻瘟病菌小种鉴定及其致病性测定. *广东农业科学*, 35(12): 84–86]
- Zhu XY, Yang QY, Wu SZ. 2003. Review of the blast resistance breeding in fine quality *indica* rice in Guangdong, South China. *Journal of Plant Protection*, 30(2): 209–216 (in Chinese) [朱小源, 杨祁云, 伍尚忠. 2003. 广东优质籼稻抗稻瘟病育种研究进展. *植物保护学报*, 30(2): 209–216]
- Zhu XY, Yang QY, Yang JY, Lei CL, Wang JL, Ling ZZ. 2004. Differentiation ability of monogenic lines to *Magnaporthe grisea* in *indica* rice. *Acta Phytopathologica Sinica*, 34(4): 361–368 (in Chinese) [朱小源, 杨祁云, 杨健源, 雷财林, 王久林, 凌忠专. 2004. 抗稻瘟病单基因系对籼稻稻瘟病菌小种鉴别力分析. *植物病理学报*, 34(4): 361–368]

(责任编辑:李美娟)