

# 黑龙江省稻瘟病菌生理小种的鉴定

王延锋, 时新瑞, 梁嘉陵, 齐玉鑫, 孙志远

(黑龙江省农业科学院 牡丹江分院, 黑龙江 牡丹江 157041)

**摘要:**以中国鉴别品种、日本清泽粳型单基因系鉴别品种和中国单基因近等基因系鉴别品种为试验材料,对黑龙江省 139 个菌株进行鉴定研究,并通过这 3 套鉴别品种对黑龙江省稻瘟病菌生理小种的鉴别作用进行了评价。结果表明:139 个稻瘟病菌株被中国 7 个鉴别品种划分为 6 群 14 个小种,被日本清泽 12 个单基因系鉴别品种划分成 58 个小种,被中国 6 个单基因近等基因系鉴别品种分成 26 个小种;日本清泽单基因系鉴别品种和中国单基因近等基因系鉴别品种鉴别作用优于中国统一的 7 个鉴别品种,鉴别作用明显;在黑龙江省可用于抗病育种的基因有  $Pi-z'$ 、 $Pi-b$  和  $Pi-t$ ;在黑龙江省应该提倡应用中国单基因近等基因系鉴别品种进行稻瘟病菌生理小种鉴定。

**关键词:**稻瘟病菌;生理小种;近等基因系;鉴定

**中图分类号:**S511.035.3

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2011)03-0015-03

稻瘟病是由稻瘟病菌引起的一种水稻真菌性病害,主要由异宗配合子囊菌 *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. 的无性世代 *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc 产生的分生孢子感染水稻而致病,是水稻重要的病害之一<sup>[1]</sup>。目前,稻瘟病的防治主要是依靠抗病品种的选育,但稻瘟菌是一个高度分化变异的群体,从而使得抗病品种容易丧失抗性而沦为感病品种,造成严重的损失<sup>[2]</sup>。因此,须加强对各地区稻瘟病菌优势小种的监测以指导抗病育种,使抗病育种工作有的放矢。

该研究利用中国 7 个鉴别品种、中国近等基因系 6 个鉴别品种以及日本清泽 12 个粳稻单基因抗性鉴别品种,对黑龙江省 139 个菌株进行鉴定,在比较不同类型的几套鉴别品种对稻瘟病菌的抗、感反应的基础上,合理地评价这些鉴别品种对黑龙江省稻瘟病菌生理小种的划分作用,为发展适合黑龙江省稻瘟病菌监测和品种抗病基因分析的鉴别体系提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试鉴别品种

中国 7 个鉴别品种为特特普、珍龙 13、四丰 43、东农 363、关东 51、合江 18 和丽江新团黑谷。

日本清泽 12 个粳稻单基因抗性鉴别品种为

新 2 号、爱知旭、藤坂 5 号、草笛、梅雨明、福锦、K1、Pi-4 号、砦 1、K60、BL1 和 K59。

中国 6 个单基因近等基因系鉴别品种为 F-80-1、F-98-1、F-124-1、F-128-1、F-129-1 和 F-145-2。

### 1.2 供试菌株

供试菌株为 2008~2010 年从哈尔滨、嫩江、牡丹江、佳木斯、绥化、鸡西等 6 个地区(市)的 30 多个县(市)大田和病圃采集的 257 个标样单孢分离的 139 个有效单孢菌株。

### 1.3 单孢分离

对采集的穗颈瘟样本进行保湿培养,利用震荡法挑单孢,建立单孢株系,共分离得到 139 个单孢菌株。将单孢菌株移植于高粱粒培养基上,28℃ 恒温培养繁殖。待高粱粒表面长满菌丝体时,在接种前 2 d 用自来水洗净其上的菌丝,用纱布滤干水后将高粱粒保温保湿培养,待其上产生大量分生孢子时,用无菌水洗下孢子,双层纱布过滤,在 100 倍显微镜下孢子含量每个视野为 20~30 个。

### 1.4 稻瘟病菌致病性测定

鉴别寄主 3 叶期后,将配制好的孢子悬浮液用喉头喷雾器在接种箱内均匀喷洒到鉴别寄主上,每小区喷雾孢子悬浮液 10 mL,沉降 30 min 后,用湿棉布覆盖保湿 24 h。待鉴别寄主发病(5~7 d)后,分别对应调查并记载各鉴别寄主对供试菌株的反应型。

### 1.5 稻瘟病菌生理小种的划分

中国鉴别品种所鉴别的小种致病型按照全国稻瘟病菌生理小种联合试验组的标准<sup>[3]</sup>划分;日本清

收稿日期:2010-12-10

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(C200821);黑龙江省农业科学院重点研究资助项目

第一作者简介:王延锋(1973-),男,博士,副研究员,从事遗传育种与基因工程研究。E-mail:mdjnks@126.com。

泽单基因系鉴别品种所鉴别的致病型则按照 Kiyosawa 等描述的方法划分<sup>[4-5]</sup>;中国近等基因系 6 个鉴别品种按照凌忠专等描述的方法划分<sup>[6-8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 生理小种鉴定结果分析

利用中国 7 个鉴别品种进行稻瘟病菌生理小种鉴定,139 个菌株被划分为 6 群 14 个生理小种(见表 1)。属 ZC 群的菌株 13 个,出现频率为 9.41%,ZC 群内有 ZC<sub>5</sub>、ZC<sub>9</sub>、ZC<sub>13</sub>、ZC<sub>3</sub> 共 4 个生理小种;属 ZD 群的菌株 40 个,出现频率为 28.77%,ZD 群内有 ZD<sub>1</sub>、ZD<sub>5</sub>、ZD<sub>3</sub> 共 3 个生理小种;属 ZE 群的菌株 57 个,出现频率为 41.00%,ZE 群内有 ZE<sub>1</sub>、ZE<sub>3</sub> 共 2 个生理小种;属 ZF 群的菌株 22 个,出现频率为 15.83%,ZF

群内只有 ZF<sub>1</sub>生理小种;其它属于 ZA、ZB 群的有 7 个菌株,出现频率为 5.09%,分别属于 ZA<sub>51</sub>、ZA<sub>53</sub>、ZB<sub>9</sub>、和 ZB<sub>3</sub> 共 4 个生理小种。所鉴定的 139 个生理小种中,以 ZE<sub>3</sub> 与 ZD<sub>3</sub> 出现的频率最高,分别为 33.81%和 20.14%,为黑龙江的优势小种;其次为 ZF<sub>1</sub>,频率为 15.83%。

利用日本清泽 12 个单基因抗性鉴别品种进行鉴定,139 个菌株被划分为 58 个生理小种,其中 027、127.2 和 337.2 号小种为优势小种,出现频率分别为 6.47%、5.04%和 4.32%。

应用中国 6 个单基因近等基因系鉴别品种共鉴定到 26 个生理小种,其中以 CN<sub>31</sub> 与 CN<sub>26</sub> 出现的频率最高,分别为 19.42%和 20.14%,为优势小种。

表 1 中国和日本 3 套鉴别品种对黑龙江省稻瘟病菌生理小种鉴定结果比较

| 鉴别寄主               | 鉴定出的生理小种数/个 | 生理小种<br>(出现的频率/%)  |
|--------------------|-------------|--|
| 中国 7 个鉴别品种         | 14          | ZA51(1.44), ZA53(0.77), ZB9(1.44), ZB3(1.44), ZC5(1.44), ZC9(1.44), ZC13(0.77), ZC3(5.76), ZD1(6.47), ZD5(2.16), ZD3(20.14), ZE1(7.19), ZE3(33.81), ZF1(15.83)   |
| 日本清泽 12 个单基因抗性鉴别品种 | 58          | 001(2.88), 003(2.88), 007(2.16), 007.2(2.16), 007.5(3.60), 010.2(0.72), 011(0.72), 013(1.44), 027(6.47), 043.1(2.16), 056(1.44), 057.1(1.44), 057.5(2.16), 062(2.88), 062.4(2.16), 070.1(1.44), 073(0.72), 073.3(1.44), 105(0.72), 107.5(0.72), 107.7(1.44), 113(0.72), 124.1(0.72), 127(1.44), 127.2(5.04), 127.7(0.72), 130(2.88), 131.1(0.72), 137(0.72), 137.7(0.72), 144(1.44), 147.5(2.88), 150(0.72), 153(1.44), 153.3(1.44), 157(3.60), 157.1(0.72), 171(0.72), 172.5(1.44), 257.4(2.16), 207.7(0.72), 211(2.88), 230(1.44), 232.6(0.72), 237.5(2.16), 243(2.88), 250.1(0.72), 257.2(1.44), 206(2.16), 270.7(0.72), 314(1.44), 314.2(0.72), 337(1.44), 337.1(1.44), 337.2(4.32), 337.7(0.72), 350.2(0.72), 373.4(1.44) |
| 中国 6 个单基因近等基因系鉴别品种 | 26          | CN51(9.35), CN46(0.72), CN32(0.72), CN23(5.76), CN62(0.72), CN61(1.44), CN31(19.42), CN64(0.72), CN34(2.16), CN72(0.72), CN22(0.72), CN26(20.14), CN16(3.60), CN15(0.72), CN25(4.32), CN45(3.60), CN24(5.04), CN21(2.88), CN11(5.04), CN7(0.72), CN3(2.88), CN27(1.44), CN14(2.16), CN17(1.44), CN12(2.88), CN13(0.72)   |

### 2.2 日本清泽 12 个单基因抗性鉴别品种对黑龙江省生理小种的抗性

12 个日本单基因品种对黑龙江省稻瘟病菌生理小种的菌株抗性存在显著差异(见图 1)。其中新 2 号、爱知旭和藤坂 5 号的抗性基因已被大多数稻瘟病菌生理小种的菌株克服,139 个生理小种菌株对其致病率分别为 74.82%、77.70%和 58.99%;草笛、梅雨明、福锦、K1、Pi-4 号和 K60 的抗性基因对黑龙江省稻瘟病菌生理小种也有一定的适合度,生理小种对它们的致病率为 30.22%~51.80%;砦 1、BL1 和 K59 对黑龙江省稻瘟病菌生理小种的适合度较低,生理小种对它们的致病率低于 25%,其中砦 1 的抗病性最好,致病率为 0,对抗病育种有一定的

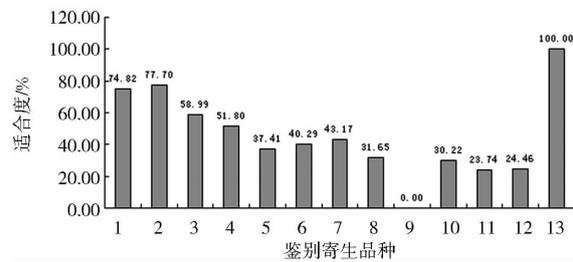


图 1 稻瘟病菌 139 个生理小种菌株对 12 个日本单基因抗性鉴别品种的适合度

1:新 2 号;2:爱知旭;3:藤坂 5 号;4:草笛;5:梅雨明;6:福锦;7:K1;8:Pi-4 号;9:砦 1;10:K60;11:BL1;12:K59;13:丽江新团黑谷(CK)

价值。其抗性顺序为砦 1( $Pi-z'$ ) > BL1( $Pi-b$ ) > K59( $Pi-t$ ) > K60( $Pi-k^b$ ) > Pi-4 号( $Pi-ta^2$ ) > 梅雨

明( $Pi-k^m$ )>福锦( $Pi-z$ )>K1( $Pi-ta$ )>藤坂 5 号( $Pi-i$ )>新 2 号( $Pi-k'$ )>爱知旭( $Pi-a$ )。

### 3 结论与讨论

黑龙江稻区的 139 个供试菌株用中国的鉴别品种进行稻瘟病菌生理小种鉴定被划分为 6 群 14 个生理小种,优势小种所占菌株数的比率明显高于其它小种。中国 6 个单基因近等基因系鉴别品种将 139 个供试菌株鉴定出 26 个致病类型,优势小种型明显,CN31 与 CN26 两个主要小种占到所测小种数的 39.56%。日本清泽 12 个单基因抗性鉴别品种将 139 个供试菌株鉴定出 58 个致病类型,优势小种的优势不明显,最大的出现频率仅为 6.47%。用日本清泽单基因抗性鉴别品种鉴定黑龙江省稻瘟病菌生理小种,明确了各生理小种对各种抗性基因品种的致病频率,在黑龙江省可利用的抗病基因有  $Pi-z'$ ,其次为  $Pi-b$  和  $Pi-t$ ,这为抗病育种和品种合理布局提供依据。

可见,中国 6 个单基因近等基因系鉴别品种和日本清泽 12 个单基因抗性鉴别品种鉴别作用优于中国的 7 个鉴别品种。从鉴定出的小种类型丰富度的角度来看,日本清泽鉴别品种要优于中国单基因近等基因系鉴别品种,但日本清泽鉴别品种由于鉴别寄主较多,鉴定时操作相对比较繁琐,鉴别工作量较大,鉴定出的优势生理小种不明显。并且,日本新鉴别体系虽然对日本和中国北方粳稻区的菌株具有较强的生理小种鉴别力,但是对菲律宾和中国南方籼稻区的菌株的生理小种鉴别力比较低,这套鉴别品种不能在国际上统一利用。中国农业科学院作物育种栽培研究所普感品种丽江新团

黑谷为轮回亲本,创制了一套国际适用的鉴别稻瘟病菌生理小种的水稻近等基因系<sup>[9]</sup>。这套近等基因系克服了各套鉴别品种(系)使用范围的局限性,为构建中国或国际统一使用的稻瘟病菌生理小种新鉴别体系奠定了物质基础。因此,从操作简便、误差小、便于科技交流的角度出发,在黑龙江省进行稻瘟病菌生理小种鉴定应大力提倡应用中国 6 个单基因近等基因系鉴别品种。

#### 参考文献:

- [1] Zeigler R S, Tohme J, Nelson J, et al. Linking blast population analysis to resistance breeding: A proposed strategy for durable resistance[M]//Zeigler R S, Leong S A, Teng P S. Rice Blast Disease. CAB International and IRRI, Wallingford, United Kingdom, 1994: 16-26.
- [2] Ou S H. Pathogen variability and host resistance in rice blast disease[J]. Annual Review phytopathol, 1980, 18: 167-187.
- [3] 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.
- [4] Kiyosawa S. Inheritance of resistance of rice varieties to a Philippine fungus strain of *Pyricularia oryzae*[J]. Japanese Journal of Breeding, 1969, 19(2): 61-73.
- [5] Kiyosawa S. Gene analysis for blast resistance[J]. Oryzae, 1981, 18: 196-203.
- [6] 雷财林, 王久林, 蒋琬如, 等. 我国北方部分稻区稻瘟病菌群体遗传结构研究[J]. 植物病理学报, 2002, 32(3): 220-299.
- [7] 凌忠专, 蒋琬如, 王久林, 等. 水稻品种丽江新团黑谷普感特性的研究和利用[J]. 中国农业科学, 2001, 34(1): 116.
- [8] 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.
- [9] Ling Z Z, Mew T V, Wang J L, et al. Development of near-isogenic lines as international differentials of the blast pathogen[J]. International Rice Research Newsletter, 1995, 20(1): 13-14.

## Identification of the Physiological Race of *Pyricularia grisea* in Heilongjiang Province

WANG Yan-feng, SHI Xin-rui, LIANG Jia-ling, QI Yu-xin, SHUN Zhi-yuan

(Mudanjiang Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang, Heilongjiang 157041)

**Abstract:** The 139 isolates collected from rice in Heilongjiang were studied with three sets of differentials, and the function of the three set of differentials on Heilongjiang *Pyricularia grisea* was appraised. The results showed that the 139 isolates of *Pyricularia grisea* in Heilongjiang province were classified into 6 groups and 14 races by 7 Chinese differential cultivars and into 58 races by 12 mono-resistant gene differential cultivars of Kiyosawa's differential varieties(KDV) and 26 races by 6 Chinese near-isogenic lines(NILs). KDV and Chinese NILs showed much stronger differentiating ability than the Chinese differential cultivars. Three genes( $Pi-z'$ ,  $Pi-b$  and  $Pi-t$ ) could be used for blast resistant breeding in Heilongjiang province. Chinese NILs should be promoted the application for race identification of rice blast fungus in Heilongjiang province.

**Key words:** *Pyricularia grisea*; physiological races; near-isogenic lines(NILs); identification