

研究报告

## 湖南桃江病圃稻瘟病菌的无毒基因及水稻抗瘟单基因联合抗性分析

周瑚<sup>1,2,3</sup> 任佐华<sup>1,2</sup> 王恒沪<sup>1</sup> 张译允<sup>1</sup> 邹秋霞<sup>1,2,3</sup> 刘二明<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 湖南农业大学植物保护学院 湖南 长沙 410128)

(2. 植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室 湖南 长沙 410128)

(3. 南方粮油作物协同创新中心 湖南 长沙 410128)

**摘要:**【目的】鉴定湖南省桃江病圃稻瘟病菌无毒基因型,为合理搭配种植湖南省水稻抗瘟品种和抗病育种提供依据。【方法】在湖南桃江病圃采集水稻品种“丽江新团黑谷”(LTH)稻瘟病菌病样,用单孢分离法分离稻瘟病菌单孢并纯化获得单孢菌株,用针刺离体法将菌株接种到以“LTH”为轮回亲本培育而成的24个含单抗瘟基因的水稻5叶期第5叶片上,对供试菌株进行无毒基因鉴定,并应用联合致病性系数和联合抗病性系数分析抗瘟基因组合间的交互。【结果】供试92个稻瘟病单孢菌株含有全部的24个无毒基因,对24个已知含单抗瘟基因的水稻材料表现出不同程度的毒力水平,含水稻抗瘟基因*Pi-20*对供试菌株抗菌频率最高,达54.35%;通过联合致病性系数和联合抗病性系数分析抗瘟基因组合间的交互,结果表明最佳搭配组合为*Pi-20*×*Pi-k<sup>s</sup>*( $RAC=0.28$ ,  $PAC=0.23$ )。【结论】湖南省桃江病圃稻瘟病菌致病力较强,24个抗瘟基因多已感病化,含抗性基因*Pi-20*与*Pi-k*、*Pi-k<sup>s</sup>*、*Pi-3*组合的水稻品种目前可在湖南省推广利用,但需研究引进新的抗瘟基因。

**关键词:** 稻瘟病菌, 近等基因系, 无毒基因, 联合致病性, 联合抗病性

**Foundation item:** National Key Research and Development Program of China (No. 2016YFD0300700); Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (No. 201203014); Key Subjects of ‘12<sup>th</sup> Five-Years’ in Hunan Province (No. 0904)

\*Corresponding author: E-mail: ermingliu@163.com

Received: December 15, 2016; Accepted: March 07, 2017; Published online (www.cnki.net): April 18, 2017

基金项目: 国家重点研发计划项目(No. 2016YFD0300700); 公益性行业(农业)科研专项项目(No. 201203014); 湖南省“十二五”重点学科项目(No. 0904)

\*通讯作者: E-mail: ermingliu@163.com

收稿日期: 2016-12-15; 接受日期: 2017-03-07; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-04-18

## Analysis of avirulence genes of *Magnaporthe oryzae* and resistance association of monogene against blast from rice blast nursery in Hunan Taojiang

ZHOU Hu<sup>1,2,3</sup> REN Zuo-Hua<sup>1,2</sup> WANG Heng-Hu<sup>1</sup> ZHANG Yi-Yun<sup>1</sup> ZOU Qiu-Xia<sup>1,2,3</sup>  
LIU Er-Ming<sup>1,2,3\*</sup>

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

(2. Hunan Provincial Key Laboratory for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, Changsha, Hunan 410128, China)

(3. Southern Regional Collaborative Innovation Center for Grain and Oil Crops in China, Changsha, Hunan 410128, China)

**Abstract: [Objective]** We identified avirulence genes of rice blast fungus in Taojiang, Hunan Province, to deploy rice blast resistant varieties and blast resistant breeding in Hunan. **[Methods]** We collected samples of leaf blast of Lijiangxintuanheigu (LTH) in Taojiang and isolated blast fungi through single spore isolation. Avirulence genes of these fungi were identified by *in vitro* after being inoculated onto the 5<sup>th</sup> leaf of the 24 monogenic near-isogenic lines against blast at 5 leaves stage which is cultivated from LTH with known blast-resistance gene. We analyzed the interactions between the blast-resistance genes combining pathogenicity association coefficient (PCA) with resistance association coefficient (RAC). **[Results]** The total 92 strains of *M. oryzae* contain the whole 24 avirulent genes based on 24 near-isogenic lines, and they also showed different levels of virulence, where the anti-stain frequency of *Pi-20* was the highest up to 54.35%. Moreover, the optimal combination of resistant genes was *Pi-20*×*Pi-k<sup>s</sup>* (RAC=0.28, PAC=0.23). **[Conclusion]** The virulence of *M. oryzae* was strong and 24 blast-resistant monogenes were nearly diseased in Taojiang rice blast nursery of Hunan Province. At present, rice cultivars carrying resistant genes combinations (*Pi-20* with *Pi-k*, *Pi-k<sup>s</sup>*, *Pi-3*) can be popularized in Hunan Province, but new blast resistance genes must be further imported.

**Keywords:** *Magnaporthe oryzae*, Near-isogenic lines (NILs), Resistance genes, Pathogenicity association coefficient (PAC), Resistance association coefficient (RAC)

稻瘟病是由稻瘟病菌(有性世代 *Magnaporthe oryzae*, 无性世代 *Pyricularia oryzae*)引起的一种世界性重要水稻真菌性病害, 产量损失通常在 10%–20%, 严重时可达到 40%–50%, 甚至绝收<sup>[1-2]</sup>。我国稻谷常年的播种面积约为 3 000 万 hm<sup>2</sup>, 约占全国粮食耕地面积的 27%, 世界水稻耕种面积的 20%。20 世纪 60 年代前, 湖南省稻瘟病总体发病情况较轻; 进入 20 世纪 70 年代, 由于水稻种植制度和栽培措施的变化, 以及感病品种的流入及大面积种植, 导致稻瘟病迅速发展; 20 世纪 90 年代以来, 湖南省水稻稻瘟病发生面积年均 55 万 hm<sup>2</sup>, 造成经济损失达数亿元人民币<sup>[3-4]</sup>。

合理利用、选育和推广抗病品种是防止稻瘟病

流行和危害最经济、最有效的策略, 可以减少农药菌剂的使用, 节省人力物力降低田间成本, 还能减轻因农残物质造成的环境污染。但稻瘟病菌的致病性受突变、异核现象、有性生殖、准性重组等遗传机制影响, 变异频繁, 推广的水稻抗病品种往往在 3 年左右就可能丧失抗病性。稻瘟病菌与水稻品种之间的特异性互作符合 Flor“基因对基因”假说, 因此, 了解湖南田间稻瘟病菌的毒性基因的组成和变化, 对于抗病品种选育及合理布局极为重要<sup>[5-7]</sup>。

湖南桃江病圃位于长江中下游生态区, 是国家抗稻瘟病水稻品种的鉴定基地, 由于其生态环境适宜稻瘟病的发生, 每年为全国科研、生产单位鉴定大量育种材料和生产品种<sup>[8]</sup>。了解和监测该病圃稻

瘟病菌群体的毒性基因的组成, 对于抗病品种选育和大规模推广合适的抗病品种具有重要意义。本研究从桃江病圃栽种的普感稻瘟病品种“LTH”<sup>[9]</sup>成功分离到 92 个稻瘟病菌单孢菌株, 利用国际水稻所培育的 24 个分别含单个抗稻瘟病基因的水稻近等基因系(NILs)对来自湖南桃江病圃的 92 个单孢菌株进行了毒力频率测定, 发现桃江病圃稻瘟病菌致病力较强, 24 个携带单抗性基因的水稻株系大多数已感病化, 进一步对水稻抗病基因的联合抗病性及致病菌的联合致病性方面进行了分析, 上述研究结果对湖南引进新的抗瘟基因、分子聚合育种提供了理论基础, 也为水稻抗病育种、品种布局和病害控制提供了依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 供试菌株

2016 年 6 月和 7 月在湖南省益阳市桃江县稻瘟病圃(N28°22', E112°03')内采集普感稻瘟病品种“LTH”的叶瘟病样, 参照并改良张书建等<sup>[10]</sup>的挑取单孢方法, 从病标上共分离保存 92 个稻瘟病单孢菌株。

### 1.2 供试水稻品种

普感稻瘟病品种“LTH”和国际水稻所培育的 24 个水稻抗稻瘟病近等基因系(NILs)原种由中国农业大学彭友良教授提供, 现由湖南农业大学植物病原微生物实验室保存和繁殖。

### 1.3 主要试剂和仪器及培养基

0.1% Tween-20、6% NaClO 和 75% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。光照培养箱, 上海新苗医疗器械制造有限公司; 显微镜, 北京普瑞赛司仪器有限公司。可溶性淀粉培养基和番茄燕麦培养基参照文献<sup>[11]</sup>配制。

### 1.4 分生孢子繁殖、孢子悬浮液制备及接种

利用可溶性淀粉培养基活化保存于高粱粒上的稻瘟病单孢菌株, 然后挑取菌块转接至番茄燕麦培养基培养, 参照周江鸿等<sup>[12]</sup>的方法在 28 °C 培养箱内光暗交替(L/D=12 h/12 h)培养产孢, 待大量分生孢子产生后, 添加 0.1% Tween-20 的无菌水洗脱孢子, 利用血球计数板将各孢子悬浮液的孢子浓度

调节至  $2 \times 10^5$  个/mL, 以供接种。

供试水稻材料播种于育苗盘(30 cm×20 cm×7 cm)内, 当水稻秧苗长至 1 叶 1 心、3 叶 1 心及接种的前 3 天, 各追施一次氮肥。待长至 5 叶期, 剪取叶片用针刺法进行离体接种, 在相对湿度 100% 的 28 °C 环境下完全黑暗处理 24 h, 然后光暗交替(L/D=10 h/14 h)培养, 具体参照马军韬等<sup>[13]</sup>的方法。期间随时观察病斑的亲亲和反应型, 4–7 d 后记录发病情况并拍照。当接种叶段没有病斑或仅有黑褐色坏死斑时为抗病反应型(图 1); 当病斑较大、病斑中央灰白色、边缘褐色或有黄色晕圈时为感病反应型(图 2、3)<sup>[14]</sup>。

## 1.5 数据统计分析

稻瘟病菌群体的毒力频率(Virulence frequency, VF, %)=对测试水稻品种有毒力的菌株数/所有菌种菌株数×100<sup>[15]</sup>。

联合致病性系数(Pathogenicity association coefficient, PAC)=(对供试 2 个 *Pi* 组合中共同致病的菌株数/测试总株数)×100%; 联合抗病性系数(Resistance association coefficient, RAC)=(对供试 2 个 *Pi* 组合中共同抗病的菌株数/测试总株数)×100%<sup>[16]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 92 个单孢菌株对 24 个单基因系的毒力表现

通过对 2016 年分离于湖南省桃江稻瘟病圃的 92 个稻瘟病菌单孢菌株, 对 24 个分别含不同抗瘟基因的近等单基因系的水稻材料进行抗性鉴定, 结果表明, 该 92 个供试菌株对 24 个 NILs 的致病率介于 37.50%–91.67%。其中强致病力菌株(PF≥70%) 45 株, 占总菌数的 48.91%; 较强致病力菌株(70%>PF≥50%) 43 株, 占总菌数的 46.74%; 中等致病力的菌株(50%>PF≥20%) 4 株, 占总菌数的 4.35%; 本次实验所测的稻瘟病菌多表现为强或较强致病性, 未检测出弱致病力菌株。这说明桃江病圃“LTH”上的稻瘟病菌具有较强的致病能力, 病菌种群丰富多样, 具有一定的研究价值。通过聚类分析结果(图 4)可知, 即使遗传相似性较大的菌株, 在致病率上仍有存在差异的可能性。



图 1 抗病 R 型

Figure 1 Resistant (R) type

注:007号菌离体接种在试验品种 K11 (IRBLzt-T)的抗病反应型.

Note: The R type of *M. oryzae* No. 007 tested in experimental varieties K11.



图 2 感病 S 型

Figure 2 Susceptible (S) type

注: 007 号菌离体接种在试验品种 K26 (IRBL20-IR24)的感病反应型.

Note: The S type of *M. oryzae* No. 007 tested in experimental varieties K26.

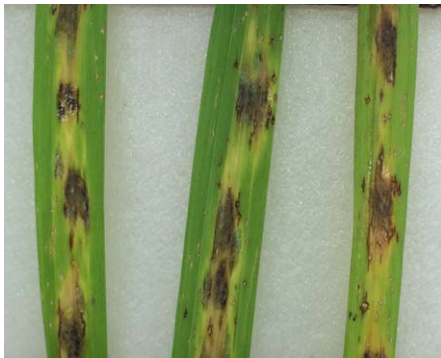


图 3 黑谷对照感病反应型

Figure 3 Comparison results of susceptible "LTH"

注: 007 号菌离体接种在对照品种黑谷的感病反应型.

Note: The S type of *M. oryzae* No. 007 tested in check variety "LTH".

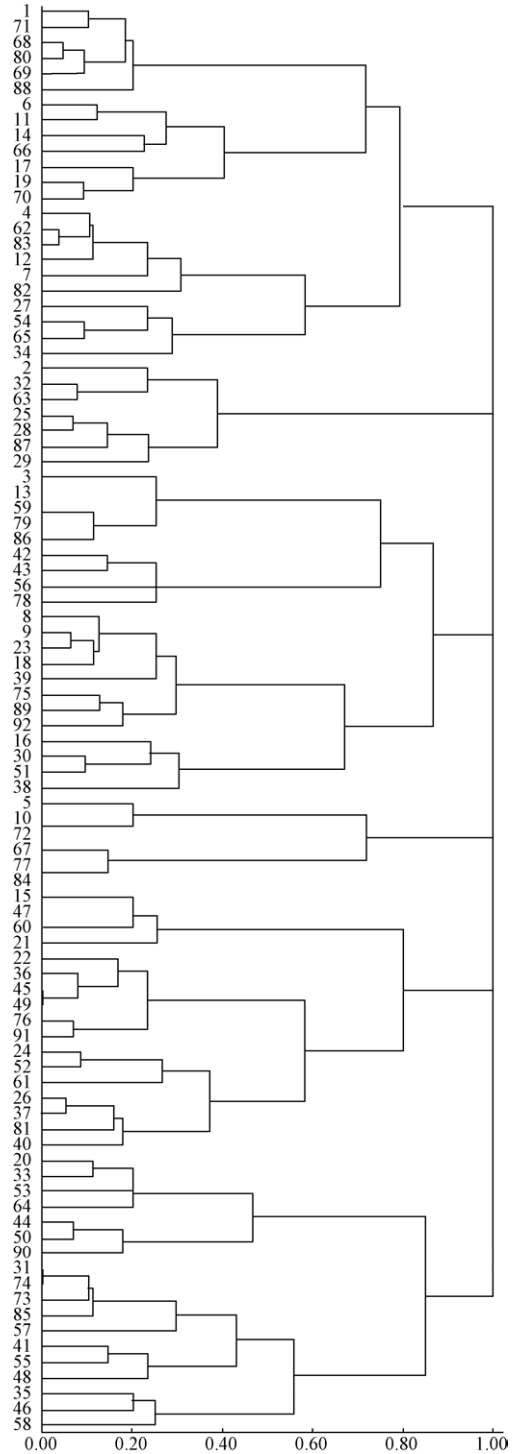


图 4 92 个单孢菌株对 24 个近等基因系水稻亲和反应型的系统聚类图

Figure 4 The system cluster of compatible reaction of 92 *M. oryzae* isolates to 24 NILs

注: 纵坐标 1-92 为试验菌株编号, 横坐标 0.00-1.00 为相似距离.

Note: The number of *M. oryzae* on the vertical and correlation distance on the horizontal.

供试 92 个稻瘟病单孢菌株含有对 24 个已知抗瘟单基因相对应的 24 个无毒基因, 对 24 个已知抗瘟单基因的 NILs 表现出不同程度的毒力水平(表 1), 平均毒力频率为 68.25%; 其中 12 个已知抗瘟基因型对 *Pi-a*、*Pi-k<sup>p</sup>*、*Pi-k<sup>h</sup>*、*Pi-z*、*Pi-z<sup>1</sup>*、*Pi-t*、*Pi-sh*、*Pi-1*、*Pi-7*、*Pi-12*、*Pi-19*、*Pi-k<sup>m</sup>* 的毒力频率 $\geq$ 70%, 属强毒力; 对 *Pi-k<sup>s</sup>* 和 *Pi-20* 这 2 个已知抗性基因型的毒力频率分别为 47.83% 和 45.65%; 对其余 10 个抗瘟单基因的毒力频率介于 50%–70% 之间。总体来看, 对 *Pi-k<sup>m</sup>* 的毒力频率最高, 达 90.22%; 对 *Pi-20* 的毒力频率最低, 为 45.65%。

92 个稻瘟病菌含有的 24 个无毒基因中出现频率高于 40.00% 有 5 个, 即 *Avr-Pik<sup>s</sup>*、*Avr-Pik*、*Avr-Pita*、*Avr-Pi3* 和 *Avr-Pi20*; 出现频率在 30%–40% 的无毒基因有 6 个, 分别为 *Avr-Pib*、*Avr-Piz<sup>5</sup>*、*Avr-Pi5*、*Avr-Pi9*、*Avr-Pita<sup>2</sup>* 和 *Avr-Pi11*; 而 *Avr-Piz<sup>1</sup>* 和 *Avr-Pik<sup>m</sup>* 这 2 个无毒基因出现的频率低于 20.00%。

## 2.2 联合致病性系数和联合抗病性系数分析

为了明确抗瘟基因联合利用后的抗性表现, 提高水稻品种抗瘟性水平, 本研究利用联合致病性系数(PAC)和联合抗病性系数(RAC)评价品种组合的

利用价值, 2016 年度水稻抗瘟基因的联合致病性系数和联合抗病性系数整理结果如表 2 所示。结果表明, 联合抗病性系数介于 0.00–0.30, 其中抗瘟基因两两组合联合抗病性系数高于 0.25 的有 6 对, 分别为 *Pi-k<sup>s</sup>×Pi-k<sup>s</sup>* (RAC=0.30)、*Pi-20×Pi-3* (RAC=0.29)、*Pi-20×Pi-k<sup>s</sup>* (RAC=0.28)、*Pi-9×Pi-k<sup>s</sup>* (RAC=0.28)、*Pi-ta<sup>2</sup>×Pi-k<sup>s</sup>* (RAC=0.27)、*Pi-ta<sup>2</sup>×Pi-9* (RAC=0.26); 联合抗病性系数为 0 的有 10 对, 分别为 *Pi-k<sup>s</sup>* 和 *Pi-a*、*Pi-z*、*Pi-5*、*Pi-7*、*Pi-ta*、*Pi-z<sup>1</sup>*; *Pi-z<sup>1</sup>* 和 *Pi-1*、*Pi-z*、*Pi-k<sup>p</sup>*、*Pi-k<sup>p</sup>* 和 *Pi-k<sup>h</sup>* 两两组合。联合致病性系数介于 0.21–0.78, 其中抗瘟基因两两组合联合致病性系数低于 0.25 的也有 6 对, 分别为 *Pi-ta×Pi-20* (PAC=0.21)、*Pi-ta×Pi-k* (PAC=0.22)、*Pi-20×Pi-k* (PAC=0.23)、*Pi-20×Pi-k<sup>s</sup>* (PAC=0.23)、*Pi-3×Pi-k* (PAC=0.24)、*Pi-k<sup>s</sup>×Pi-ta* (PAC=0.24); 联合致病性系数高于 0.75 的 1 对是 *Pi-k<sup>m</sup>×Pi-z<sup>1</sup>* (PAC=0.78)。只有利用联合抗病性系数相对较高且同时联合致病性系数相对较低的抗瘟基因两两组合搭配, 这样才能具有高度的防病作用。综合分析, 最佳组合为 *Pi-20×Pi-k<sup>s</sup>* (RAC=0.28, PAC=0.23), 其次为 *Pi-20×Pi-3* (RAC=0.29, PAC=0.30) 和 *Pi-20×Pi-k* (RAC=0.25, PAC=0.23)。

表 1 92 个单孢菌株对 24 个 NILs 的毒力频率  
Table 1 Virulence frequency of 92 rice blast fungus isolates to 24 NILs

供体 Donor	品种(系) Strains	抗性基因 Resistance gene	毒力频率 Frequency (%)	供体 Donor	品种(系) Strains	抗性基因 Resistance gene	毒力频率 Frequency (%)
K1	IRBLa-A	<i>Pi-a</i>	72.83	K17	IRBLsh-B	<i>Pi-sh</i>	79.35
K3	IRBLi-F5	<i>Pi-i</i>	69.57	K18	IRBLI-CL	<i>Pi-1</i>	72.83
K4	IRBLks-F5	<i>Pi-k<sup>s</sup></i>	47.83	K19	IRBL3-CP4	<i>Pi-3</i>	55.43
K6	IRBLk-Ka	<i>Pi-k</i>	53.26	K20	IRBL5-M	<i>Pi-5</i>	63.04
K7	IRBLkp-K60	<i>Pi-k<sup>p</sup></i>	72.83	K21	IRBL7-M	<i>Pi-7</i>	70.65
K8	IRBLkh-K3	<i>Pi-k<sup>h</sup></i>	78.26	K22	IRBL9-W	<i>Pi-9</i>	64.13
K9	IRBLz-Fu	<i>Pi-z</i>	72.83	K23	IRBL12-M	<i>Pi-12</i>	76.09
K10	IRBLz5-CA	<i>Pi-z<sup>5</sup></i>	69.57	K24	IRBL19-A	<i>Pi-19</i>	76.09
K11	IRBLzt-T	<i>Pi-z<sup>1</sup></i>	88.04	K25	IRBLkm-Ts	<i>Pi-k<sup>m</sup></i>	90.22
K12	IRBLta-KI	<i>Pi-ta</i>	53.26	K26	IRBL20-IR24	<i>Pi-20</i>	45.65
K14	IRBLb-B	<i>Pi-b</i>	65.22	K27	IRBLta2-Pi	<i>Pi-ta<sup>2</sup></i>	61.96
K15	IRBLt-K59	<i>Pi-t</i>	70.65	K30	IRBLII-Zh	<i>Pi-11</i>	68.48

表 2 2016 年度水稻抗瘟基因的联合致病性系数和联合抗病性系数  
Table 2 The PAC and RAC of rice blast resistance genes in 2016

	<i>Pi-a</i>	<i>Pi-i</i>	<i>Pi-k<sup>s</sup></i>	<i>Pi-k</i>	<i>Pi-k<sup>p</sup></i>	<i>Pi-k<sup>h</sup></i>	<i>Pi-z</i>	<i>Pi-z<sup>5</sup></i>	<i>Pi-z<sup>1</sup></i>	<i>Pi-ta</i>	<i>Pi-b</i>	<i>Pi-t</i>	<i>Pi-sh</i>	<i>Pi-l</i>	<i>Pi-3</i>	<i>Pi-5</i>	<i>Pi-7</i>	<i>Pi-9</i>	<i>Pi-12</i>	<i>Pi-19</i>	<i>Pi-k<sup>m</sup></i>	<i>Pi-20</i>	<i>Pi-ta<sup>2</sup></i>	<i>Pi-l1</i>
<i>Pi-a</i>	0.12	0.04	0.13	0.10	0.05	0.11	0.03	0.01	0.16	0.07	0.09	0.05	0.04	0.10	0.12	0.07	0.04	0.13	0.03	0.00	0.15	0.04	0.05	
<i>Pi-i</i>	0.55	0.17	0.21	0.10	0.01	0.11	0.14	0.02	0.16	0.05	0.13	0.12	0.08	0.11	0.08	0.07	0.21	0.14	0.10	0.02	0.20	0.21	0.05	
<i>Pi-k<sup>s</sup></i>	0.26	0.36	0.30	0.14	0.16	0.17	0.21	0.07	0.22	0.25	0.16	0.10	0.17	0.25	0.18	0.15	0.28	0.12	0.20	0.10	0.28	0.27	0.23	
<i>Pi-k</i>	0.40	0.43	0.33	0.12	0.07	0.21	0.20	0.07	0.15	0.18	0.22	0.14	0.10	0.15	0.10	0.13	0.21	0.21	0.15	0.09	0.25	0.23	0.22	
<i>Pi-k<sup>p</sup></i>	0.57	0.53	0.36	0.38	0.00	0.04	0.07	0.00	0.11	0.14	0.03	0.04	0.14	0.16	0.16	0.10	0.11	0.08	0.05	0.04	0.21	0.15	0.05	
<i>Pi-k<sup>h</sup></i>	0.58	0.50	0.43	0.38	0.51	0.10	0.07	0.02	0.09	0.11	0.09	0.01	0.03	0.15	0.07	0.02	0.05	0.04	0.08	0.01	0.12	0.08	0.08	
<i>Pi-z</i>	0.58	0.54	0.39	0.47	0.50	0.61	0.05	0.00	0.10	0.11	0.20	0.07	0.09	0.09	0.10	0.04	0.08	0.15	0.07	0.00	0.17	0.10	0.10	
<i>Pi-z<sup>5</sup></i>	0.47	0.54	0.39	0.42	0.49	0.54	0.48	0.05	0.10	0.09	0.08	0.10	0.11	0.15	0.08	0.10	0.23	0.08	0.15	0.02	0.12	0.22	0.05	
<i>Pi-z<sup>1</sup></i>	0.63	0.61	0.43	0.48	0.61	0.68	0.61	0.63	0.12	0.07	0.03	0.01	0.00	0.05	0.05	0.10	0.09	0.02	0.05	0.00	0.05	0.05	0.12	
<i>Pi-ta</i>	0.43	0.40	0.24	0.22	0.37	0.40	0.36	0.33	0.53	0.14	0.13	0.05	0.08	0.18	0.23	0.22	0.20	0.13	0.08	0.00	0.22	0.15	0.17	
<i>Pi-b</i>	0.46	0.41	0.39	0.37	0.52	0.54	0.49	0.43	0.60	0.33	0.10	0.01	0.09	0.22	0.10	0.09	0.11	0.10	0.11	0.05	0.16	0.16	0.18	
<i>Pi-t</i>	0.53	0.54	0.36	0.46	0.47	0.58	0.63	0.48	0.62	0.37	0.46	0.08	0.08	0.13	0.08	0.03	0.10	0.12	0.10	0.02	0.15	0.13	0.11	
<i>Pi-sh</i>	0.59	0.62	0.38	0.47	0.57	0.59	0.59	0.68	0.38	0.46	0.58	0.04	0.10	0.05	0.07	0.11	0.07	0.05	0.01	0.16	0.11	0.02	0.02	
<i>Pi-l</i>	0.51	0.51	0.39	0.36	0.60	0.54	0.54	0.53	0.61	0.34	0.47	0.51	0.57	0.12	0.18	0.07	0.13	0.03	0.12	0.02	0.12	0.15	0.03	
<i>Pi-3</i>	0.39	0.37	0.29	0.24	0.45	0.49	0.37	0.40	0.49	0.27	0.42	0.39	0.45	0.40	0.14	0.12	0.16	0.11	0.13	0.01	0.29	0.20	0.11	
<i>Pi-5</i>	0.49	0.41	0.30	0.26	0.52	0.48	0.46	0.40	0.57	0.39	0.38	0.41	0.48	0.54	0.33	0.16	0.16	0.03	0.10	0.00	0.17	0.14	0.09	
<i>Pi-7</i>	0.51	0.48	0.35	0.37	0.53	0.51	0.48	0.50	0.68	0.46	0.45	0.57	0.50	0.50	0.38	0.50	0.13	0.05	0.04	0.00	0.18	0.08	0.14	
<i>Pi-9</i>	0.42	0.55	0.41	0.38	0.48	0.48	0.45	0.57	0.61	0.37	0.40	0.45	0.54	0.50	0.36	0.43	0.48	0.06	0.17	0.01	0.16	0.26	0.10	
<i>Pi-12</i>	0.63	0.61	0.37	0.50	0.57	0.59	0.64	0.53	0.66	0.42	0.51	0.59	0.62	0.52	0.42	0.42	0.52	0.47	0.05	0.01	0.18	0.11	0.10	
<i>Pi-19</i>	0.53	0.57	0.45	0.45	0.54	0.62	0.55	0.61	0.70	0.37	0.52	0.57	0.61	0.61	0.45	0.49	0.51	0.58	0.58	0.02	0.08	0.22	0.05	
<i>Pi-k<sup>m</sup></i>	0.64	0.63	0.49	0.52	0.67	0.70	0.63	0.62	0.78	0.43	0.60	0.63	0.71	0.65	0.47	0.53	0.61	0.55	0.67	0.68	0.07	0.03	0.08	
<i>Pi-20</i>	0.35	0.36	0.23	0.23	0.39	0.36	0.36	0.27	0.39	0.21	0.27	0.32	0.41	0.30	0.30	0.26	0.35	0.26	0.40	0.29	0.42	0.17	0.18	
<i>Pi-ta<sup>2</sup></i>	0.40	0.53	0.38	0.38	0.49	0.48	0.45	0.53	0.55	0.30	0.43	0.46	0.52	0.50	0.37	0.39	0.40	0.52	0.49	0.60	0.55	0.27	0.08	
<i>Pi-l1</i>	0.48	0.45	0.40	0.43	0.47	0.54	0.51	0.43	0.68	0.39	0.52	0.50	0.50	0.45	0.35	0.40	0.53	0.42	0.53	0.50	0.66	0.35	0.40	

### 3 讨论

对从湖南省桃江病圃种植的广谱感病品种“LTH”的稻瘟病标中分离获得的 92 个稻瘟病菌单孢菌株, 采用针刺离体接种实验进行致病性分析。研究结果综合表明, 强致病力和较强致病力菌株群体为优势种群; 24 个含单抗瘟基因水稻近等基因系对湖南桃江病圃稻瘟病菌株的抗性总体表现菌谱窄, 相对而言  $Pi-k^s$  和  $Pi-20$  这两个抗瘟基因抗性抗菌谱稍广, 说明其抗病基因对湖南省稻瘟病基因尚具有一定的利用价值; 而含  $Pi-k^m$  和  $Pi-z^l$  单基因系水稻对供试菌株的感病率已高达 85% 以上, 说明其抗病基因对湖南省的稻瘟病菌基本已丧失抗病性, 在湖南水稻抗瘟育种和生产上没有利用价值; 其他 20 个单基因系水稻的感病率介于 50%–80%, 持这些单基因的水稻品种在湖南推广、种植时应当慎重。

比较近几年湖南省无毒基因鉴定结果, 刘翔等<sup>[17]</sup>研究表明 2015 年抗瘟基因  $Pi-ta$  和  $Pi-sh$  抗性表现抗菌谱相对较宽, 抗瘟基因  $Pi-k^s$ 、 $Pi-k^p$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-12$  和  $Pi-11$  则窄; 毛锐<sup>[18]</sup>研究表明 2014 年抗瘟基因  $Pi-z5$ 、 $Pi-5$  和  $Pi-k^h$  抗性表现相对较宽, 抗瘟基因  $Pi-a$ 、 $Pi-k^m$  和  $Pi-11$  则窄; 虞选杰<sup>[19]</sup>研究表明 2013 年抗瘟基因  $Pi-z$ 、 $Pi-5$  和  $Pi-ta^2$  的抗性表现相对较宽, 抗瘟基因  $Pi-12$ 、 $Pi-k^p$  和  $Pi-19$  则窄; 赵正洪等<sup>[20]</sup>研究表明 2008 年表明抗瘟基因  $Pi-ta$  可作为湘北、湘东的抗源基因,  $Pi-3$  仅可作为湘东地区的抗源基因, 上述结果体现了稻瘟病菌遗传结构复杂、致病性变异快。

随着稻瘟病菌致病力分化, 单抗基因系水稻品种抗性表现易“丧失”, 因此, 通过联合抗病性系数较高又联合致病性系数较低的组合可延缓抗瘟品种的感病化<sup>[21]</sup>。湖南桃江病圃稻瘟病鉴定中心的稻瘟病菌生理小种丰富, 鉴定结果具有一定的代表性, 本研究中  $Pi-20$  与  $Pi-k$ 、 $Pi-k^s$ 、 $Pi-3$  搭配能达到较好的效果。田间稻瘟病菌致病力强、致病谱广, 其毒力基因组成复杂, 今后应加强对稻瘟病菌种群

的监测和新抗源的发掘, 并对当地主栽优势品种针对性地导入新的抗性基因<sup>[22-24]</sup>。

### 参考文献

- [1] Ou SH. Pathogen variability and host resistance in rice blast disease[J]. Annual Review of Phytopathology, 1980, 18(1): 167-187
- [2] Couch BC, Kohn LM. A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*[J]. Mycologia, 2010, 94(4): 683-693
- [3] Zhu XX, Tan XP, Yin L. Reasons and control strategies for repeated outbreak of Rice blast in Hunan 2015[J]. China Plant Protection, 2016, 36(4): 52-55 (in Chinese)  
朱秀秀, 谭小平, 尹丽. 2015 年湖南省稻瘟病重发原因和防治对策[J]. 中国植保导刊, 2016, 36(4): 52-55
- [4] Luo ZH. For 37 years, a researcher has been stick to study the laws of Rice Blast in the mountain nursery of Hunan[EB/OL]. 2016-08-04. [http://hunan.ifeng.com/a/20160804/4832700\\_0.shtml](http://hunan.ifeng.com/a/20160804/4832700_0.shtml) (in Chinese)  
罗中华. 湖南一研究员坚守山区 37 年研究稻瘟病[EB/OL]. 2016-08-04. [http://hunan.ifeng.com/a/20160804/4832700\\_0.shtml](http://hunan.ifeng.com/a/20160804/4832700_0.shtml)
- [5] Dai N. Present situation, problems and thinking about rice production mechanization[J]. Modern Agricultural Equipment, 2014(1): 16-20 (in Chinese)  
戴农. 水稻生产机械化发展现状、问题与思考[J]. 现代农业装备, 2014(1): 16-20
- [6] Zhang QF, Jin XH, Cai XX, et al. Detection on avirulence gene of rice blast in Heilongjiang province[J]. Heilongjiang Agricultural Science, 2014(12): 70-74 (in Chinese)  
张崎峰, 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): 70-74
- [7] Flor HH. Current status of the Gene-For-Gene concept[J]. Annual Review Phytopathology, 1971, 9(1): 275-296
- [8] Xiao FH, Luo HR, Li YR, et al. Selection, cultural technology and application of the excellent multi-resistant upland rice variety[J]. Hunan Agricultural Science, 2001(6): 11-13 (in Chinese)  
肖放华, 罗赫荣, 李友荣, 等. 优质多抗旱稻品种的筛选、栽培技术及生产应用[J]. 湖南农业科学, 2001(6): 11-13
- [9] Ling ZZ, Jiang WR, Wang JL, et al. Research and utilization of universally susceptible property of Japonica rice variety Lijiangxintuanheigu[J]. Science Agricultural Sinica, 2001, 34(1): 116 (in Chinese)  
凌忠专, 蒋婉如, 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
- [10] Zhang SJ, He YQ. A simple method to isolate single fungal spore[J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2003, 18(3): 315-316 (in Chinese)  
张书建, 何月秋. 介绍一种简单的真菌单孢子分离法[J]. 云南农业学报, 2003, 18(3): 315-316

- [11] Liu X, Ren ZH, Chen JF, et al. Analysis of genetic diversity of *Magnaporthe oryzae* isolated from LTH by SSR Markers in Rice Blast nursery at Taojiang in Hunan[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2015, 28(6): 2496-2500 (in Chinese)  
刘翔, 任佐华, 陈娟芳, 等. 利用 SSR 分析湖南桃江病圃丽江新团黑谷上稻瘟病菌的遗传多样性[J]. 西南农业学报, 2015, 28(6): 2496-2500
- [12] Zhou JH, Wang JL, Jiang WR, et al. Virulence genes diversity and geographic distribution of *Pyricularia grisea* in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2003, 29(5): 646-651 (in Chinese)  
周江鸿, 王久林, 蒋琬如, 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
- [13] Ma JT, Zhang GM, Xin AH, et al. Resistance analysis and improvement of rice varieties by gene pyramiding[J]. Journal of Plant Protection, 2016, 43(2): 177-183 (in Chinese)  
马军韬, 张国民, 辛爱华, 等. 水稻品种抗稻瘟病分析及基因聚合抗性改良[J]. 植物保护学报, 2016, 43(2): 177-183
- [14] Hayashi N, Kobayashi N, Cruz CMV, et al. Protocols for the sampling of diseased specimens and evaluation of blast disease in rice[J]. Jircas Working Report, 2009: 17-33
- [15] Yang XJ, Ruan HC, Du YX, et al. Pathogenicity and Avirulence genes analysis of *Magnaporthe grisea* Barr from rice in Fujian Province of China[J]. Journal of Plant Protection, 2007, 34(4): 337-342 (in Chinese)  
杨秀娟, 阮宏椿, 杜宜新, 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
- [16] Zhang GM, Ma JT, Xiao JL, et al. The blast resistance of 24 monogenic rice lines to prevalence physiologic races of Heilongjiang and Analysis of pathogenicity association[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(12): 233-237 (in Chinese)  
张国民, 马军韬, 肖佳雷, 等. 24 个单基因系对黑龙江省优势菌群的抗性及其联合抗病性分析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(12): 233-237
- [17] Liu X, Ren ZH, Chen JF, et al. Identification of avirulent genes in *Magnaporthe oryzae* in Hunan province[J]. Journal of Southern Agriculture, 2016, 47(9): 1500-1505 (in Chinese)  
刘翔, 任佐华, 陈娟芳, 等. 湖南省稻瘟病菌无毒基因鉴定[J]. 南方农业学报, 2016, 47(9): 1500-1505
- [18] Mao R. Genetic diversity of *Magnaporthe oryzae* at Taojiang blast nursery and identification of avirulence genes and resistance blast genotypes for rice cultivars in Hunan[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan Agricultural University, 2015 (in Chinese)  
毛锐. 湖南桃江病圃稻瘟病菌遗传多样性及病圃无毒基因和主栽水稻品种抗瘟基因型鉴定[D]. 长沙: 湖南农业大学硕士学位论文, 2015
- [19] Yu XJ. Genetic diversity of *Magnaporthe oryzae* in Hunan and identification of pathogenic Avirulence genes and resistance Blast genotypes for Hunan rice cultivars[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan Agricultural University, 2014 (in Chinese)  
虞选杰. 湖南稻瘟病菌遗传多样性及病菌无毒基因与主栽水稻品种抗瘟基因型鉴定[D]. 长沙: 湖南农业大学硕士学位论文, 2014
- [20] Zhao ZH, Zhou Z, Wu WH, et al. Composition of physiological races of rice blast fungus and their virulence to rice cultivars[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2014, 40(2): 173-177 (in Chinese)  
赵正洪, 周政, 吴伟怀, 等. 湖南稻瘟病菌生理小种的组成及其致病性[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2014, 40(2): 173-177
- [21] Du YX, Ruan HC, Shi NN, et al. Pathogenicity analysis of *Magnaporthe grisea* against major *Pi*-genes and main rice varieties in Fujian Province[J]. Journal of Plant Protection, 2016, 43(3): 442-451 (in Chinese)  
杜宜欣, 阮弘椿, 石姐姐, 等. 福建省稻瘟病菌对主要抗瘟基因及主栽品种的致病性分析[J]. 植物保护学报, 2016, 43(3): 442-451
- [22] Huang HM, Huang L, Feng GP, et al. Molecular mapping of the new blast resistance genes *Pi47* and *Pi48* in the durably resistant local rice cultivar Xiangzi 3150[J]. Phytopathology, 2011, 101(5): 620-626
- [23] Zhang YL, Zhao HS, Cao YX, et al. Application of resistance frequency (RF), pathogenicity association coefficient (PAC) and resistance association coefficient (RAC) in resistance evaluation of rice blast fungus[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2016, 44(7): 158-161 (in Chinese)  
张亚玲, 赵宏森, 曹有鑫, 等. 抗性频率、联合致病性系数和联合抗病性系数在水稻品种抗瘟性评价中的应用[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(7): 158-161
- [24] Lei CL, Zhang GM, Cheng ZI, et al. Pathogenic races and virulence gene structure of *Magnaporthe oryzae* population and rice breeding strategy for Blast resistance in Heilongjiang Province[J]. Acta Agronomica Sinica, 2011, 37(1): 18-27 (in Chinese)  
雷财林, 张国民, 程治军, 等. 黑龙江省稻瘟病菌生理小种毒力基因分析与抗病育种策略[J]. 作物学报, 2011, 37(1): 18-27