

王伟舵,刘永锋. 中国稻瘟病菌遗传多样性研究进展[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):196-198.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.053

中国稻瘟病菌遗传多样性研究进展

王伟舵,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:在农业生产实际过程中,水稻抗病品种常常缺少对稻瘟病的持续抗性,这是由于稻瘟病菌具有复杂的遗传多样性,在抗病品种的长期定向选择过程中,田间稻瘟病菌的种群遗传结构发生了改变,产生了一些能够克服品种抗性的强致病型菌株。因此,研究稻瘟病菌的遗传结构及其时空动态,掌握水稻种植区的稻瘟病菌遗传变异规律,对水稻抗病品种选育和利用抗病品种布局防治稻瘟病均有重要意义。本文对我国稻瘟病菌遗传多样性研究进展进行了概述。

关键词:稻瘟病菌;遗传多样性;分子标记;中国

中图分类号: S435.111.4⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0196-03

稻瘟病是由稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)引起的水稻生产上的重要病害,在我国各水稻种植区均有发生,对水稻安全生产造成严重影响^[1]。目前选育和利用抗病品种是防治稻瘟病最经济有效的方法^[2]。然而,稻瘟病菌本身具有丰富的遗传多样性和易变异性,在田间极易产生致病性的分化,这也导致一些水稻抗病品种在推广种植3~5年后,抗病性逐渐丧失^[3-4]。因此研究稻瘟病菌的群体遗传多样性,掌握稻瘟病菌群体遗传结构的变化规律,对水稻抗病品种选育及生产上利用抗病品种布局防治稻瘟病均有重要意义。

生物的遗传多样性研究需要合适的遗传标记来明确地反映不同种群的遗传特征^[5]。随着生物学技术的快速发展,遗传标记的种类已经从形态学、细胞遗传学、生物化学发展到分子生物学领域^[6]。分子标记技术具有结果稳定可靠,重复性好等优点,在生物多样性研究中已得到广泛应用^[7-9]。目前稻瘟病菌的遗传多样性研究主要是以稻瘟病菌基因组中转座子或重复序列为模板设计探针引物,结合体外聚合酶链式反应、限制性内切酶反应等分子生物学方法来表征稻瘟病菌不同遗传群体遗传上的多态性^[10-11]。在稻瘟病菌遗传多样研究中应用较多的分子标记技术有简单重复序列(SSR)、随机扩增片段多态性(RAPD)、限制性片段长度多态性(RFLP)、rep-PCR等^[12-14],本文对不同分子标记方法在我国稻瘟病

菌群体遗传多样性研究中所取得的进展进行了概述。

1 简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)

SSR是由1~6个碱基组成的基因串联重复DNA序列,该分子标记方法操作简便,获得的遗传标记丰富,广泛用于研究真菌种群遗传结构和基因定位^[15]。童简新等利用13对SSR引物对湖南19个县种植的44个水稻品种上的稻瘟病菌菌株进行了遗传多样性分析,研究结果显示高海拔山区比丘陵地区稻瘟病菌遗传多样性更丰富,在某一地区栽培品种组成多样化程度越高,该地区的稻瘟病菌遗传多样性越丰富^[16]。肖丹凤等利用8对SSR引物对黑龙江、浙江和广西的144个稻瘟病菌进行了遗传多样性检测,分析结果表明,由于地理环境及气候条件等因素的影响,3个省份的稻瘟病菌菌株的遗传结构有明显差异,浙江和江西稻瘟病菌菌株分属在一个遗传宗谱群体,而黑龙江菌株分属在另一个遗传宗谱群体,说明地理环境及气候条件等因素影响各地区稻瘟病菌遗传结构组成^[17]。

2 rep-PCR技术(repetitive element-based polymerase chain reaction)

rep-PCR技术是扩增基因组中转座子之间旁侧重复序列以得到具有丰富多态性DNA片段的方法。George等利用稻瘟病菌基因组的转座子Pot2的末端重复序列设计了1对扩增转座子之间基因组序列的引物,并利用该引物对分离自菲律宾和喜马拉雅山脉的稻瘟病菌进行了遗传多样性研究,获得了多态性较好的稻瘟病菌遗传图谱^[18]。目前Pot2-rep-PCR技术在我国各地区的稻瘟病菌遗传多样研究中获得

收稿日期:2015-05-17

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(15)1054]。

作者简介:王伟舵(1984—),男,博士,主要从事水稻真菌病原物分子生物学研究。E-mail:weiduowang@aliyun.com。

通信作者:刘永锋,博士,研究员,主要从事水稻病害及其生物防治研究工作。E-mail:liuyf@jaas.ac.cn。

(1):1-10.

[12] Bandyopadhyay R, Sharma K, Onyeka T J, et al. First report of taro (*Colocasia esculenta*) leaf blight caused by *Phytophthora colocasiae* in Nigeria[J]. Plant Disease, 2011, 95(5): 618.

[13] 莫俊杰, 胡汉桥, 梁贤贤, 等. 芋疫病抗病性鉴定及不同品系遗传多样性分析[J]. 广东海洋大学学报, 2012, 32(4): 67-72.

[14] 朱敦军. 50% 烯酰吗啉水分散粒剂防治芋头疫病药效试验[J]. 现代农业科技, 2009(13): 151-151.

[15] 马建芳, 张仁杰, 周华光, 等. 奉化大芋疫病防治药剂筛选初报[J]. 浙江农业科学, 2014(2): 230-232.

[16] 姜东明. 2012年芋头疫病大发生原因分析及防治对策[J]. 福建农业科技, 2012(12): 25.

到了广泛应用^[19-20]。雷财林等利用 Pot2 - rep - PCR 方法检测了我国北方粳稻区稻瘟病菌群体遗传结构,单元型鉴定率达到 30%,利用该方法能够获得较多的遗传变异信息,同时也证明我国北方粳稻区的稻瘟病菌群体在本质上是高度异质和极易变异的^[21-22]。白娟等对江苏省稻瘟病菌的遗传多样性进行了研究,结果显示江苏省稻瘟病菌的系谱划分与地域分布及寄主品种都有密切关系,但是地域分布差异更为明显,这是由于病菌与寄主之间的协同进化不仅是两者之间遗传背景的影响,同时也受气候环境、种植结构等多因素共同制约,比较分析不同年份稻瘟病菌群体结构发现江苏省稻瘟病菌群体结构的变化很显著,但不同年份之间仍具有很好的相承性和可比性^[23-24]。李文强等利用 Pot2 - rep - PCR 分子标记技术描述了宁夏稻瘟病菌群体遗传结构,结果表明,宁夏稻瘟病菌群体多样性水平低,群体遗传结构相对稳定^[25]。黄培英等研究了分离自贵州省 200 个稻瘟病菌菌株的遗传多样性,获得了分子大小为 0.4 ~ 23 kb 的 DNA 多态性条带,聚类分析将供试菌株分为 19 个遗传谱系 141 个单元型,其中 2 个最优谱系分别占 42% 和 20.5%,优势谱系菌株主要分离自寄主亲缘本地糯和冈优系列品种,该研究结果说明贵州省稻瘟病菌群体结构是动态变化的,其变化与生态环境及寄主遗传背景有关,特别是寄主的选择作用对稻瘟病菌群体遗传结构有着重要影响^[26]。朱有勇等研究稻瘟病菌与致病型之间的对应关系,利用 rep - PCR 技术对江西省稻瘟病菌的群体结构和遗传多样性进行了分析,并用 41 株代表性菌株对 35 个水稻品种进行了致病性测定,结果表明,稻瘟病菌遗传宗谱与致病型之间存在复杂关系,同一宗谱的菌株对应多个致病型而同一致病型的菌株又分属于不同的遗传宗谱,两者之间不存在简单的对应关系^[27]。王云月等也分别对云南省和四川省的稻瘟病菌群体遗传结构进行了研究,研究结果显示云南省和四川省的稻瘟病菌也具有丰富的遗传多样性,同时稻瘟病菌群体遗传结构与水稻品种、地理条件关系密切,但稻瘟病菌遗传宗谱与生理小种致病型不存在一一对应关系^[28-29]。

3 随机扩增多态性 DNA 片段技术(random amplified polymorphic DNA, RAPD)

RAPD 是以单个人工合成的随机多态核苷酸序列为引物扩增随机的 DNA 片段。此技术操作简单,多态性检出率高,但 RAPD 技术工作量大,在寻找同源序列过程中,需要筛选大量随机引物,从中筛选出多态性高的引物^[30]。徐鑫等为了构建鄂西地区稻瘟病菌 DNA 指纹文库同时分析该地区稻瘟病菌遗传多样性,设计了 120 条 RAPD 引物,获得 7 条多态性较好的引物,聚类分析结果表明鄂西地区的稻瘟病菌群体遗传结构呈现出较高的多态性水平,这与鄂西地区的武陵山区地形有关,但稻瘟病菌遗传谱系与菌落形态特征不存在对应关系^[31]。刘志恒等设计了 40 条 RAPD 引物,以此研究辽宁省稻瘟病菌遗传多样性,经验证其中 7 条 RAPD 引物可用来研究稻瘟病菌的遗传多样性,聚类分析结果显示,供试菌株的遗传距离在 0.63 ~ 0.84 之间,说明辽宁省不同地区稻瘟病菌种群在分子水平上的遗传相似度比较接近,并且采集自不同年份的稻瘟病菌菌株之间的遗传差异较小^[32]。

4 限制性片段长度多态性方法(restriction fragment length polymorphism, RFLP)

RFLP 是基于限制性内切酶和 Southern 杂交技术,利用稻瘟病菌基因组中已克隆的转座子元件或重复序列作为探针,检测限制性内切酶片段的多态性^[33]。Hamer 克隆了稻瘟菌重复序列 MGR586,并以此为探针在稻瘟菌基因组中检测到 50 多个大小在 0.7 ~ 20 kb 的 *EcoR* I 片段,而且不同菌株间存在明显的多态性^[34]。此后 Hamer 和世界上多个国家合作,利用该方法,开展了稻瘟病菌的遗传多样性研究工作^[35]。沈瑛等于 1993 年利用重复序列探针 MGR - 586,与限制性内切酶 *EcoR* I 组合,对我国稻区分离的 13 个稻瘟病菌菌株 DNA 的限制性片段长度多态性进行了初步研究,结果证明 MGR586 - *EcoR* I 指纹可以清楚地区分供试稻瘟病菌不同的生理小种^[36]。之后他们又利用该方法对南方部分稻区 86 个稻瘟病菌菌株的 RFLP 进行了分析,结合病菌的致病型测定,将 28 个不同致病型的 86 个稻瘟病菌菌株区分为 18 个系谱,每个系谱的寄主范围有限,同时不同栽培稻区内稻瘟病菌的群体结构有明显差别^[37]。王宗华等对 1978—1995 年采集自福建省的 70 个稻瘟菌菌株进行了 MGR586 - *EcoR* I DNA 指纹分析,依据指纹相似性将供试菌株分为 28 个遗传谱系,通过时空特性分析,表明福建稻瘟菌群体空间组成有差异,但未形成明显的空间分化,而在时间上表现为年度内有变化,年度间演替显著,初步分析认为品种选择是影响稻瘟菌群体遗传结构变化的重要因素^[38]。

5 研究展望

目前已有许多关于水稻稻瘟病抗性丧失原因的研究报道,其中一个主要原因是由于田间稻瘟病菌群体结构存在变异^[39],同时目前推广的水稻抗病品种也多为主效基因品种,这些品种在大面积推广使用后,对田间稻瘟病菌产生了强烈的选择压力,稻瘟病菌菌株在这种压力的定向选择过程中无毒基因发生变异,克服了寄主品种的抗病性^[38]。近年来随着稻瘟病菌种群遗传结构及其变异规律研究的深入,人们认识到稻瘟菌的遗传谱系在时空上均表现相对稳定,而且每一遗传谱系都有一定的致病谱范围^[39-40]。因此研究水稻种植区稻瘟病菌群体遗传结构及其变异规律,明确稻瘟病菌遗传性结构组成与水稻品种布局之间的关系,对水稻持久抗病品种的选育具有重要意义。

目前稻瘟病菌遗传多样性研究的方法主要以分子标记技术为主,其研究结果能够很好地表征稻瘟病菌种群遗传结构上的多态性^[41],并显示出稻瘟病菌的种群遗传结构具有明显的地域特征,遗传结构组成与各地区的地理、气候等自然条件存在明显的对应关系,田间水稻品种布局的改变也是影响稻瘟病菌种群遗传结构变化的重要因素^[38,42]。但分子标记技术获得的研究结果还不能很好地解释稻瘟病菌的致病性变异与种群遗传结构之间的关系^[43-44]。因此,有必要开发新的技术,其研究结果可以在有效研究稻瘟病菌遗传结构的基础上,也能够反映出稻瘟病菌遗传结构与致病性变异之间的关系。

参考文献:

[1] 刘永锋,陈志道,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): 351–356.
- [2] 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.
- [3] Zhou E X, Jia Y L, Singh P, et al. Instability of the *Magnaporthe oryzae* avirulence gene AVR – Pita alters virulence [J]. Fungal Genetics and Biology, 2007, 44(10): 1024–1034.
- [4] Nguyen T T, Koizumi S, La T N, et al. *Pi35(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.
- [5] Tredway L P, Stevenson K L, Burpee L L. Genetic structure of *Magnaporthe grisea* populations associated with St. Augustinegrass and tall fescue in Georgia [J]. Phytopathology, 2005, 95(5): 463–471.
- [6] 崔朝霞, 张 岷, 宋林生, 等. 中国重要海洋动物遗传多样性的研究进展[J]. 生物多样性, 2011, 19(6): 815–833.
- [7] 徐玉梅, 刘小妹, 王建明. ISSR 标记在植物病原真菌研究中的应用[J]. 中国农学通报, 2011, 27(9): 358–361.
- [8] 杨庆文, 黄 娟. 中国普通野生稻遗传多样性研究进展[J]. 作物学报, 2013, 39(4): 580–588.
- [9] 杨家华, 纪亚君. 我国牧草种质资源遗传多样性研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(2): 554–556.
- [10] Kachroo P, Leong S A, Chattoo B B. Pot2, an inverted repeat transposon from the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. Molecular & General Genetics, 1994, 245(3): 339–348.
- [11] Levy M, Correavictoria F J, Zeigler R S, et al. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia [J]. Phytopathology, 1993, 83(12): 1427–1433.
- [12] Javan – nikkhah M, McDonald B, Banke S, et al. Genetic structure of Iranian *Pyricularia grisea* populations based on rep – PCR fingerprinting [J]. European Journal of Plant Pathology, 2004, 110(9): 909–919.
- [13] Bernardo M A, Naqvi N, Leung H, et al. A rapid method for DNA fingerprinting of the rice blast fungus *Pyricularia grisea* [J]. Inter Rice Res Notes, 1993, 18(1): 48–50.
- [14] Chadha S, Gopalakrishna T. Retrotransposon – microsatellite amplified polymorphism (REMAP) markers for genetic diversity assessment of the rice blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) [J]. Genome, 2005, 48(5): 943–945.
- [15] Karaoglu H, Lee C M, Meyer W. Survey of simple sequence repeats in completed fungal genomes [J]. Molecular Biology and Evolution, 2005, 22(3): 639–649.
- [16] 童建新, 任佐华, 刘毅雄, 等. 湖南稻瘟病菌遗传多样性分析 [J]. 杂交水稻, 2012, 27(3): 66–70.
- [17] 肖丹凤, 王 玲, 刘连盟, 等. 黑浙桂稻瘟病菌生理小种鉴定与遗传多样性分析 [J]. 西南农业学报, 2014, 27(1): 121–126.
- [18] George M L, Nelson R J, Zeigler R S, et al. Rapid population analysis of *magnaporthe grisea* by using rep – PCR and endogenous repetitive DNA sequences [J]. Phytopathology, 1998, 88(3): 223–229.
- [19] 何月秋, 唐文华, Zeigler R S, 等. Pot2 在稻瘟病菌群体结构分析中的应用 [J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(4): 317–321.
- [20] 马辉刚, 朱有勇, 胡水秀, 等. 江西稻瘟病菌 DNA 指纹分析及遗传宗谱结构 [J]. 江西农业大学学报: 自然科学版, 2003, 25(3): 407–411.
- [21] 雷财林, 王久林, 蒋婉如, 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): 219–226.
- [22] 温嘉伟, 刘文平, 孙继超, 等. 吉林省稻瘟菌宗谱与寄主亲和关系分析 [J]. 吉林农业大学学报, 2011, 33(6): 595–599, 612.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 李文强, 王源超, 郑小波. 宁夏稻瘟病菌群体遗传结构研究 [J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(4): 66–72.
- [26] 黄培英, 向红琼, 祖庆学, 等. 贵州稻瘟病菌群体的遗传多样性初步研究 [J]. 山地农业生物学报, 2007, 26(2): 126–129.
- [27] 马辉刚, 丁清龙, 孙 攀, 等. 江西省稻区稻瘟病菌遗传宗谱与致病型的关系 [J]. 植物保护学报, 2011, 38(2): 97–101.
- [28] 刘振华, 李晓菲, 王园媛, 等. 云南省稻瘟病菌群体遗传结构研究 [J]. 云南农业大学学报, 2013, 28(1): 9–15.
- [29] 卢代华, 叶慧丽, 廖华明, 等. 四川籼稻区稻瘟病菌群体遗传结构 [J]. 植物保护学报, 2005, 32(1): 23–28.
- [30] Williams J K, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrry primers are useful as genetic markers [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(22): 6531–6535.
- [31] 龙子文, 周 杰, 王春台, 等. 鄂西地区稻瘟病菌生理小种文库的构建及初步鉴定 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(24): 12065–12067.
- [32] 徐成楠. 辽宁省稻瘟病菌种群多样性分析及水稻品种抗瘟性鉴定 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2007.
- [33] Farman M L, Kim Y S. Telomere hypervariability in *Magnaporthe oryzae* [J]. Molecular Plant Pathology, 2005, 6(3): 287–298.
- [34] Hamer J E. Molecular probes for rice blast disease [J]. Science, 1991, 252(56): 632–633.
- [35] Romao J, Hamer J E. Genetic organization of a repeated DNA sequence family in the rice blast fungus [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(12): 5316–5320.
- [36] 沈 瑛, 朱培良, Hamer J E, 等. 中国稻瘟病菌的遗传多样性 [J]. 植物病理学报, 1993, 23(4): 309–313.
- [37] 朱培良, 沈 瑛, Hamer J E, 等. 我国南方部分稻区稻瘟病菌的群体结构 [J]. 农业生物技术学报, 1995, 3(2): 64–68.
- [38] 王宗华, 鲁国东, 赵志颖, 等. 福建稻瘟菌群体遗传结构及其变异规律 [J]. 中国农业科学, 1998, 31(5): 0.
- [39] 彭绍裘, 刘二明, 黄费元, 等. 水稻持久抗瘟性研究 [J]. 植物保护学报, 1996, 23(4): 293–299.
- [40] Hamer J E, Farrall L, Orbach M J, et al. Host species – specific conservation of a family of repeated DNA sequences in the genome of a fungal plant pathogen [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989, 86(24): 9981–9985.
- [41] Sharma T, Chauhan R, Singb B, et al. RAPD and pathotype analysis of *Magnaporthe grisea* populations from the north – western Himalayan region of India [J]. Phytopathol, 2002, 150(11): 649–656.
- [42] 周益军, 程兆榜, 张文芸, 等. 江苏省五大稻区稻瘟病菌的群体遗传结构研究 [J]. 安徽农业大学学报, 2007, 34(4): 469–473.
- [43] 马辉刚, 朱有勇, 何霞红, 等. 江西省稻区稻瘟病菌 DNA 指纹分析及遗传宗谱结构 [J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(3): 8–12.
- [44] 周益军, 陈葆棠, Sharma R C. 亚洲 5 国稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*) 遗传多样性初探 [J]. 江苏农业学报, 2004, 20(3): 194–196.