

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.00018

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

雷财林¹ 张国民^{2,**} 程治军¹ 马军滔² 王久林¹ 辛爱华² 陈平¹
肖家雷² 张欣¹ 刘迎雪² 郭秀平¹ 王洁¹ 翟虎渠¹ 万建民^{1,*}

¹ 中国农业科学院作物科学研究所 / 农作物基因资源与遗传改良国家重大科学工程, 北京 100081; ² 黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所, 黑龙江哈尔滨 150086

摘要: 近年来黑龙江省稻瘟病危害程度加重, 给水稻生产造成巨大损失。为了解当地稻瘟病菌生理小种及其毒性基因的组成与分布, 有针对性地利用抗性基因, 选育抗病品种和使之合理布局, 本文利用 9 个日本鉴别品种、7 个中国鉴别品种、31 个抗稻瘟病单基因系及 12 个当地主栽品种, 对 2006 年采自该省主要积温区不同水稻品种的 173 个稻瘟病菌株进行致病性测定。结果鉴定出 55 个日本小种, 优势小种为 017、077、037、377 和 047, 总频率为 42.29%。鉴别力比较结果证实日本鉴别品种比中国鉴别品种更适合于当地稻瘟病菌致病性变异与小种分化研究。在 12 个主栽品种中, 除龙粳 14、龙盾 104 外, 其他品种已经或正在丧失对稻瘟病的抗性。*Pi9* 基因在所有积温区对稻瘟病菌株的抗谱都最广(平均 94.80%), 是当前黑龙江省水稻育种上极有价值的抗性基因; 基因 *Piz-5(CA)*、*Piz-5(R)*、*Pita-2(R)*、*Pita-2(P)*、*Pi12(t)* 和 *Pi20(t)* 对供试菌株有高于 70% 的抗谱, 也具有较高的利用价值。黑龙江省当前抗稻瘟病育种的策略应该是, 在利用抗源龙粳 14、龙盾 104 和 *Pi9* 的基础上, 通过分子标记辅助选择方法聚合一至多个广谱抗性基因; 同时加强对稻瘟病菌种群的监测和新抗源的发掘, 有针对性地向主栽品种导入新的抗性基因。

关键词: 稻瘟病菌; 生理小种; 毒力基因; 水稻; 抗性基因

Pathogenic Races and Virulence Gene Structure of *Magnaporthe oryzae* Population and Rice Breeding Strategy for Blast Resistance in Heilongjiang Province

LEI Cai-Lin¹, ZHANG Guo-Min^{2,**}, CHENG Zhi-Jun¹, MA Jun-Tao², WANG Jiu-Lin¹, XIN Ai-Hua², CHEN Ping¹, XIAO Jia-Lei², ZHANG Xin¹, LIU Ying-Xue², GUO Xiu-Ping¹, WANG Jie¹, ZHAI Hu-Qu¹, and WAN Jian-Min^{1,*}

¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences / National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081, China; ² Cultivation Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China

Abstract: The rice blast became more severe in Heilongjiang province during the past few years, causing a large loss of rice yield. A total of 173 *Magnaporthe oryzae* (*M. oryzae*) isolates, collected from different rice-cropping districts of the province in 2006, were tested for their pathogenicity against 9 Japanese and 7 Chinese differential varieties (DVs) together with 31 rice monogenic lines (MLs) with different blast resistance genes and 12 local leading cultivars. Out of these 173 isolates, 55 Japanese races (pathotypes) were identified by using the Japanese DVs, and the predominant races were 017, 077, 037, 377, and 047, accounting for 42.29% of all the tested isolates. The comparison of differential ability between Japanese and Chinese DVs testified that the former one was much more suitable for *M. oryzae* pathotyping in Heilongjiang province. Among 12 leading cultivars tested, only Longjing 14 and Longdun 104 still kept good resistance to blast disease. The resistance gene *Pi9* showed broadest resistance spectrum (on average 94.80%) to all the blast isolates tested, and was of the highest utilization value in rice blast resistance breeding. The resistance genes *Pi-z5(CA)*, *Pi-z5(R)*, *Pi-ta2(R)*, *Pi-ta2(P)*, *Pi-12(t)*, and *Pi20(t)* also showed high utilization values due to their resistance spectra of around 70%. The most effective breeding strategy for blast resistance should be as follows: 1) to utilize rationally Longjing 14, Longdun 104 and *Pi9* as resistance donors, and pyramid one to several more broad-spectrum resistance genes into elite leading cultivars by means of marker-assisted selection; 2) to strengthen the monitoring of predominant virulent

本研究由中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(092060302-04, 201011), 黑龙江省自然科学基金重点项目(ZJN0703-01)和 JIRCAS 项目 Blast Research Network for Stable Rice Production 资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 万建民, E-mail: wanjm@caas.net.cn

第一作者联系方式: E-mail: leicl@mail.caas.net.cn ** 共同第一作者

Received(收稿日期): 2010-04-22; Accepted(接受日期): 2010-09-17.

racess and their temporal and spatial variation; and 3) to explore new resistance resources extensively and transfer the new broad-spectrum resistance genes into leading cultivars purposefully.

Keywords: *Magnaporthe oryzae*; Pathotype; Virulence gene; Rice; Resistance gene

稻瘟病是水稻的三大主要病害之一。利用抗病品种被公认为最经济、有效且环境友好的稻瘟病防治措施。然而,抗病品种通常大面积应用几年后就会“丧失”抗性,究其原因主要是田间稻瘟病菌群体结构发生变化,有毒力的生理小种(小种,致病型)在寄主选择压力下迅速繁殖而成为优势小种^[1-2]。因此,及时了解稻瘟病菌群体生理小种及其毒力基因的组成与分布状况,对于抗病品种的科学选育、合理布局 and 延长使用至关重要。

近年来黑龙江省水稻面积不断扩大,而主栽品种结构简单,导致稻瘟病危害加重,在 2005 和 2006 年发病面积均超过 66.7 万公顷,给水稻生产造成巨大损失^[3-4]。系统开展稻瘟病菌生理小种及毒性基因鉴定,已成为黑龙江省应对稻瘟病流行的当务之急。

目前,已有一些关于黑龙江省稻瘟病菌生理小种的报道^[5-10],但是这些研究单纯应用抗性基因组成不明、小种鉴别力低的中国鉴别品种^[11-12]作为鉴别寄主,无法精细、准确地划分小种并进行进一步的毒性基因分析,因而难以直接指导水稻抗稻瘟病育种与品种布局。本研究拟采用多套鉴别寄主,对该省不同积温区不同水稻品种的 173 个代表性菌株进行了生理小种鉴定与毒力基因分析,并评价目前主要已知稻瘟病抗性基因和推广品种在育种上的利用价值,旨在全面、准确地描述和把握黑龙江稻区稻瘟病菌生理小种与毒力基因的群体结构特征,为有针对性地选用抗性基因改良主栽品种及对抗病品种的合理布局提供理论依据和材料支撑。

1 材料与方 法

1.1 供试水稻材料

9 个日本已知抗性基因的鉴别品种^[13-14]新 2 号(*Pik-s*, *Pish*)、爱知旭(*Pia*, *Pi19(t)*)、藤坂 5 号(*Pii*, *Pish*)、草笛(*Pik*, *Pish*)、露明(*Pik-m*, *Pish*)、福锦(*Piz*, *Pish*)、K1 (*Pita*)、Pi4 号(*Pita-2*, *Psh*)、砦 1 号(*Piz-t*, *Pish*); 7 个中国鉴别品种^[15] Tetep、珍龙 13、四丰 43、东农 363、关东 51、合江 18 和丽江新团黑谷(LTH),均由中国农业科学院作物科学研究所水稻功能基因组实验室繁殖保存。

31 个已知抗性基因的水稻单基因系^[16]IRBLa-A、IRBLa-C、IRBLi-F5、IRBLks-F5、IRBLks-S、

IRBLk-Ka、IRBLkp-K60、IRBLkh-K3、IRBLz-Fu、IRBLz5-CA、IRBLzt-T、IRBLta-K1、IRBLta-CT2、IRBLb-B、IRBLt-K59、IRBLsh-S、IRBLsh-B、IRBL1-CL、IRBL3-CP4、IRBL5-M、IRBL7-M、IRBL9-W、IRBL12-M、IRBL19-M、IRBLkm-Ts、IRBL20-IR24、IRBLta2-Pi、IRBLta2-Pi、IRBLta-CP1、IRBL11-Zh 和 IRBLz5-CA(R),由 IRRI 的 Y. Fukuta 博士提供。12 个黑龙江省主栽水稻品种空育 131、垦稻 12、绥粳 7 号、龙粳 14、龙稻 4 号、龙稻 7 号、松粳 6 号、松粳 9 号、绥粳 4 号、垦稻 10 号、五优稻 3 和龙盾 104,由黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所收集、保存。

1.2 供试菌株

2006 年 8~9 月在黑龙江省 22 个县(市)从 39 个水稻主栽品种上采集和分离单孢菌株 173 个,包括第一积温区 26 个,第二积温区 71 个(早熟区 28 个、晚熟区 43 个),第三积温区 76 个(早熟区 27 个、晚熟区 49 个)。

参照周江鸿等^[17]的方法进行单孢菌株的分离、培养、产孢及孢子悬浮液的制备。

1.3 菌株致病性的测定

将供试水稻材料分批穴播于塑料育苗盘(60 cm×30 cm×4 cm),每材料每穴播 10~15 粒,重复两次。按 Li 等^[18]的方法在温室用木村营养液温室育苗。待稻苗生长到三叶一心时放入 N-1 均一型接种装置(池田理化株式会社)内,用供试菌株的孢子悬浮液(2×10^5 孢子 mL^{-1} ,含 0.02% Tween 20)喷雾接种,用量每盘约 100 mL。将接种后的稻苗置 ENCONAIR 人工气候室(26℃,相对湿度 95%)保湿和发病。7 d 后依 IRRI 的标准^[19]调查病情。病斑型分为 6 级,0 级无任何病斑;1 级具直径不超过 0.5 mm 的褐点病斑;2 级具直径 0.5~1.0 mm 的褐点病斑;3 级具直径 1~3 mm 的椭圆形病斑,周围褐色,中央灰白色;4 级具典型的纺锤形病斑,直径 3 mm 或更长,病斑稍有融合或无融合;5 级的病症同 4 级,但由于病斑融合,叶片上半部枯死。统计分析时,按 Hayashi 等^[20]的标准,将 0~2 级归为抗病反应型(R),3~5 级归入感病反应型(S)。

1.4 小种命名与统计分析

对利用日本鉴别品种鉴定出的小种(简称日本

小种)依 Kiyosawa 等的命名法^[13]命名,对利用中国鉴别品种鉴定出的小种(简称中国小种)依我国稻瘟病菌生理小种联合试验组的命名法^[15]命名。

参照杨秀娟等^[21]的公式计算单个稻瘟病菌株的致病率(pathogenicity frequency, PF)和划分致病力类型, $PF\% = [\text{感病水稻材料(基因)数} / \text{所有测试水稻材料(基因)数}] \times 100$; 强致病力为 $PF \geq 70\%$, 较强致病力为 $50\% \leq PF < 70\%$, 中等致病力为 $20\% \leq PF < 50\%$; 弱致病力为 $PF < 20\%$ 。

参照周江鸿等^[17]的公式计算稻瘟病菌群体的毒力频率(virulence frequency, VF)并划分毒力类型, $VF(\%) = [\text{对测试水稻材料(基因)有毒力的菌株数} / \text{总菌株数}] \times 100$; 强毒力为 $VF \geq 70\%$, 较强毒力为 $50\% \leq VF < 70\%$, 中等毒力为 $20\% \leq VF < 50\%$; 弱毒力为 $VF < 20\%$ 。

参照潘汝谦等^[22]的公式计算稻瘟病菌群体对不同抗性品种(基因)的联合毒力频率(virulence association frequency, VAF(=VAC%), $VAF(\%) = [\text{对被测品种(基因)均有毒力的菌株数} / \text{测试菌株总数}] \times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 2006 年黑龙江省稻瘟病菌生理小种组成与分布

用 9 个日本鉴别品种鉴定供试的 173 个单孢菌株, 结果划分出 55 个日本小种, 出现频率介于 0.57%~10.98%。优势小种为 017、077、037、377、047, 出现频率分别为 10.98%、9.83%、6.94%、5.20%、5.20%, 总频率为 42.29% (表 1)。上述优势小种均能侵染鉴别品种新 2 号(*Pik-s*, *Pish*)、爱知旭(*Pia*, *Pi19(t)*)和藤坂 5 号(*Pii*, *Pish*), 而且前 4 个小种还能侵染鉴别品种草笛(*Pik*, *Pish*), 表明针对抗性基因 *Pik-s*、*Pish*、*Pia*、*Pi19(t)*、*Pii* 和 *Pik* 的毒力小种群在黑龙江稻区占据优势地位, 这可能与当地主栽品种及其亲本大多携带上述抗性基因^[23-24] (<http://inweb.narcc.affrc.go.jp/>)有关。此外, 优势小种 047 对 *Piz*, 037 对 *Pik-m*, 077 对 *Pik-m* 和 *Piz*, 377 对 *Pik-m*、*Piz*、*Pi-a* 和 *Pita-2* 也有毒性, 表现出较强的致病力。

表 1 黑龙江省 2006 年不同积温区稻瘟病菌优势小种组成
Table 1 Constitution of predominant races identified from Heilongjiang isolates collected in 2006

积温区 Accumulated temperature zone (ATZ)	菌株数 No. of isolates	小种数 No. of races	优势小种及频率 Predominant race and frequency (%)
第一积温区 The 1st ATZ(2700–2900℃)	26	15	047 (19.23), 057 (11.53), 237(11.53)
第二积温区 The 2nd ATZ(2500–2700℃)			
早熟区 Early maturity zone(2500–2600℃)	28	16	017 (10.71), 033 (10.71), 237 (10.71), 377 (10.71)
晚熟区 Late maturity zone(2600–2700℃)	43	25	077 (16.28), 037 (9.30), 053 (9.30), 017 (6.98)
合计 Sum	71	34	077 (12.68), 017 (8.45), 037 (7.04), 377 (7.04), 053 (5.63)
第三积温区 The 3rd ATZ(2300–2500℃)			
早熟区 Early maturity zone(2300–2400℃)	27	13	017 (25.93), 037 (11.11), 011 (11.11)
晚熟区 Late maturity zone(2400–2500℃)	49	28	077 (12.24), 017 (12.24), 003 (8.16), 007 (6.12), 377 (6.12)
合计 Sum	76	33	017 (17.10), 077 (10.52), 037 (6.57), 007 (6.57), 377 (5.26), 003 (5.26)
总计 Total	173	55	017 (10.98), 077 (9.83), 037 (6.94), 377 (5.20%), 047 (5.20)

第一积温区的 26 个菌株被划分为 15 个小种, 优势小种为 047、057 和 237, 出现频率分别为 19.23%、11.53% 和 11.53%, 总频率为 42.30%。第二积温区的 71 个菌株被划分为 34 个小种, 优势小种为 077、017、037、377 和 053, 出现频率分别为 12.68%、8.45%、7.04%、7.04% 和 5.63%, 总频率为 40.85%。其中, 早熟区的 28 个菌株被划分为 16 个小种, 优势小种是 017、033、237 和 377, 总频率为 42.86%; 晚熟区的 43 个菌株被划分为 25 个小种, 优势小种是 077、037、053 和 017, 总频率为 41.86%。第三积温区的 76 个菌

株被划分为 33 个小种, 优势小种是 017、077、037、007、377 和 003, 出现频率分别为 17.10%、10.52%、6.57%、6.57%、5.26% 和 5.26%, 总频率为 41.86%。其中, 早熟区的 27 个菌株被划分为 13 个小种, 优势小种是 017、037 和 011, 总频率为 48.15%; 晚熟区的 49 个菌株被划分为 28 个小种, 优势小种是 077、017、003、007 和 377, 总频率为 45.83% (表 1)。大多数优势小种在不同积温区或熟区均有分布(表 2), 如第一积温区的优势小种 047 在第三积温区的出现频率较高; 而小种 017、077、037、377、033 等在第二、三积温

区均居优势地位(总频率 38.10%)。上述小种不仅致病力强而且分布广泛, 在生产上需要密切关注。

表 2 黑龙江省 2006 年稻瘟病菌优势小种在不同积温区的分布
Table 2 Distribution of main races identified from Heilongjiang isolates collected in 2006

优势小种 Predominant race	菌株数 No. of isolates included			
	第一积温区 The 1st ATZ	第二积温区(早, 晚) ^{a)} The 2nd ATZ (E, L) ^{a)}	第三积温区(早, 晚) The 3rd ATZ (E, L)	合计 Total
017	0	6 (3, 3)	13 (7, 6)	19
077	0	9 (2, 7)	8 (2, 6)	17
037	1	6 (2, 4)	5 (3, 2)	12
047	5	1 (0, 1)	3 (2, 1)	9
377	0	4 (2, 2)	5 (3, 2)	9
003	1	3 (2, 1)	4 (0, 4)	8
177	2	3 (1, 2)	2 (0, 2)	7
007	1	0	5 (2, 3)	6
033	0	3 (3, 0)	3 (2, 1)	6
057	3	1 (1, 0)	2 (1, 1)	6
237	3	3 (3, 0)	0	6
测定菌株数 No. of isolates tested	16	39	50	105

^{a)} 早: 早熟区; 晚: 晚熟区。 ^{a)} E: early maturity district; L: late maturity district.

2.2 中、日两套鉴别品种对黑龙江省稻瘟病菌小种鉴别能力的比较

鉴于前人^[5-10,25-26]习惯上利用中国鉴别品种鉴定黑龙江省稻瘟病菌的生理小种, 为比较中、日两套鉴别品种的鉴别能力, 我们随机选取 130 个黑龙江菌株同时接种两套鉴别寄主, 结果鉴定出 19 个中国小种和 47 个日本小种。中国小种的鉴出率(19/130)不及日本小种的鉴出率(47/130)的 40%; 3 个优势中国小种 ZD₇、ZE₃ 和 ZG₁ 实际上分别是 14、16 和 9 个日本小种的混合种群, 其他 11 个劣势中国小种也各自对应于 1~9 个日本小种(表 3)。这些结果表明, 日本鉴别品种对黑龙江省稻瘟病菌的小种鉴别能力远强于中国鉴别品种, 能更客观地鉴定当地稻瘟病菌致病性变异与小种分化, 更多地给抗病育种和抗病品种合理布局提供信息。

2.3 2006 年黑龙江省稻瘟病菌群体毒力基因分析

2.3.1 黑龙江省稻瘟病菌株对已知抗性基因的致病力分析

供试的 173 个稻瘟病菌株对 31 个单基因系(表 4)的致病性测定结果显示, 59 个菌株的致病率(PF)介于 71%~97%之间, 属于强致病力菌株; 94 个菌株的致病率(PF)介于 51%~68%之间, 属于较强致病力菌株; 只有 1 个菌株的 PF 为 9.68%, 属于弱致病力菌株(占 0.58%)。这说明绝大多数稻瘟病菌株对已知抗性基因具有较强致病力, 广致病谱菌株在当

地稻瘟病菌群体中占据绝对优势。

2.3.2 稻瘟病菌群毒力基因及其分布

供试的 173 个稻瘟病菌株对 31 个单基因系抗性基因的毒力频率介于 5%~98% (表 4)。对应于抗性基因 *Pi9* 的毒力基因 *avr-9*, 出现频率最低, 为 5.20%; 分别对应于抗性基因 *Pita-2(R)*、*Piz-5(CA)*、*Pita-2(P)*、*Piz-5(R)*、*Pi12(t)*、*Pi20(t)*、*Pi5(t)*、*Pi11(t)*、*Pib* 和 *Pil* 的毒力基因 *avr-ta2(R)*、*avr-z5(CA)*、*avr-ta2(P)*、*avr-z5(R)*、*avr-12(t)*、*avr-20(t)*、*avr-i5(t)*、*avr-11(t)*、*avr-b* 和 *avr-1* 的出现频率介于 23%~49%之间; 对应于抗性基因 *Piz-t*、*Pik-h*、*Pi-ta(K)* 的毒力基因 *avr-zt*、*avr-kh*、*avr-ta(K)* 的出现频率介于 52%~69%之间; 对其他 17 个单基因系携带的抗性基因表现强毒力, 相应的毒力基因的频率介于 71%~98%之间。

在不同积温区均有上述所有毒力基因, 只是频率有所变动(表 4)。*avr-9* 在 3 个积温区的频率都很低, 介于 3.8%~7.5%之间。*avr-z5(CA)*、*avr-20(t)* 和 *avr-z5(R)* 在第一、第二(早熟区)、第三积温区, *avr-ta2(P)*、*avr-ta2(R)* 和 *avr-5(t)* 在第一、第二(晚熟区)、第三积温区, *avr-12(t)* 在第二、第三积温区, *avr-11(t)*、*avr-b* 在第二、第三积温早熟区, 频率也都较低, 接近或低于 30%。换言之, 与上述毒力基因相对应的抗性基因的抗谱较广(接近或高于 70%), 在水稻抗病育种上具有较高的利用价值。其中, *Pi9* 基因在所有积温区对菌株的抗谱都很广(92%~96%,

表 3 130 个菌株所属中国小种及其对应的日本小种数目
Table 3 Chinese races identified from 130 isolates and number of Japanese races included in each of them

中国小种 Chinese race	包含菌株数 No. of isolates included	出现频率 Frequency (%)	包含日本小种数 No. of Japanese races included	对应的日本小种(菌株数) Japanese races corresponded (No. of isolates)
ZD ₇	28	21.54	14	017(8), 037(5), 007(2), 033(2), 077(2), 015(1), 057(1), 067(1), 071(1), 137(1), 217(1), 237(1), 277(1), 377(1)
ZE ₃	26	20.00	16	037(3), 057(3), 077(3), 001(2), 017(2), 047(2), 053(2), 003(1), 005(1), 015(1), 043(1), 113(1), 143(1), 177(1), 203(1), 437(1)
ZG ₁	19	14.62	12	003(4), 007(4), 000(2), 001(1), 010(1), 017(1), 023(1), 025(1), 053(1), 133(1), 201(1), 243(1)
ZD ₁	11	8.46	9	011(2), 033(2), 001(1), 013(1), 023(1), 073(1), 237(1), 327(1), 413(1)
ZD ₃	9	6.92	9	027(1), 033(1), 036(1), 037(1), 053(1), 057(1), 173(1), 177(1), 377(1)
ZD ₅	8	6.15	6	011(2), 017(2), 033(1), 043(1), 177(1), 237(1)
ZF ₁	7	5.38	6	017(2), 003(1), 013(1), 047(1), 117, 127, 137
ZE ₁	6	4.62	5	047(2), 003(1), 012(1), 066(1), 203(1)
ZA ₁₅	3	2.31	3	157(1), 237(1), 377(1)
ZB ₁₅	3	2.31	2	017(2), 177(1)
ZA ₅	2	1.54	2	003(1), 577(1)
ZA ₇	1	0.77	1	047(1)
ZA ₁₁	1	0.77	1	047(1)
ZA ₃₁	1	0.77	1	157(1)
ZA ₃₉	1	0.77	1	077(1)
ZA ₅₅	1	0.77	1	043(1)
ZB ₇	1	0.77	1	037(1)
ZB ₁₃	1	0.77	1	023(1)
ZC ₇	1	0.77	1	047(1)
合计 Total	130	100	130	47

平均 94.80%), 是当前黑龙江省水稻育种上极有价值的抗稻瘟病基因, 其次是 *Piz-5(CA)*、*Piz-5(R)*、*Pita-2(R)*、*Pita-2(P)*、*Pi12(t)*(第一积温区除外)和 *Pi20(t)*(第二积温晚熟区除外), 它们所有供试菌株的抗谱也都接近或高于 70%, 也属于广谱抗性基因。此外, *Pi11(t)*、*Pib* 和 *Pi5(t)*在第二、第三积温早熟区也具有较高的利用价值。

表 5 列示了 173 个稻瘟病菌株对黑龙江省 12 个主栽品种的毒力频率。病原菌群体对该省当前推广面积最大的两个品种空育 131 和垦稻 12 的毒力频率高达 57.80% 和 39.88%, 说明这 2 个主栽品种已感病化, 通过分子育种手段加速其抗性改造是当前黑龙江稻区的首要任务。来自所有积温区的菌株对龙粳 14、龙盾 104 均表现弱毒力, 毒力频率分别为 7.51%、9.25%, 表明这 2 个品种在黑龙江省仍具有很高的应用价值, 但需要密切跟踪、监测其毒性小种群的变化动态。供试菌株对其他 8 个品种均表现中等毒力(频率 23%~33%), 故在生产上宜慎重推广这些品种。

2.4 黑龙江省主栽品种稻瘟病抗性改良的对策

鉴于绝大部分主栽品种稻瘟病抗谱较窄(表 5), 为有针对性地利用已知抗性基因改良稻瘟病抗性, 我们比较、分析 12 个主栽品种和 31 个单基因系对供试菌株的抗性反应, 结合查阅和分析系谱^[23-24, 27-29](<http://inweb.narcc.affrc.go.jp/>), 推断了各主栽品种的基因组成(表 5)。在此基础上, 我们模拟了应用 *Pi9*、*Piz-5(CA)*、*Piz-5(R)*、*Pita-2(R)*、*Pita-2(P)*、*Pi12(t)*、*Pi20(t)*共 7 个广谱抗性基因改良 12 个主栽品种的抗性效果。首先计算了 173 个供试菌株对主栽品种与各供体基因搭配的联合毒力频率(VAF)(表 6)。当 VAF 值低时, 病原菌群体对受体品种的致病几率小, 联合抗谱 [= (1-VAF) × 100%]宽, 抗病效果好。模拟结果发现, 龙粳 14 与 *Pi9*、*Piz-5(CA)*、*Piz-5(R)*、*Pita-2(R)*、*Pita-2(P)*、*Pi12(t)*和 *Pi20(t)*共 7 个基因搭配的 VAF 均非常低, 分别为 1.16%、0.58%、1.16%、2.31%、2.89%、3.47%和 2.89%; 龙盾 104 与上述基因搭配的 VAF 也非常低, 分别为 0、2.31%、3.47%、3.47%、2.89%、2.31%和 4.05%。也就是说, 龙粳 14

表 4 黑龙江省稻瘟病菌群体对已知抗性基因的毒力频率
Table 4 VF% of Heilongjiang blast pathogen populations to the known resistance genes in 31 monogenic lines

单基因系 Monogenic line	抗性基因 R gene	毒力基因 avr gene	VF%	稻瘟病菌群体的毒力频率 VF% of blast pathogen populations in different districts (%)				
				第一积温区 The 1st ATZ	第二积温(早熟)区 The EMD ^{a)} in 2nd ATZ	第二积温晚熟区 The LMD ^{b)} in 2nd ATZ	第三积温早熟区 The EMD in 3rd ATZ	第三积温晚熟区 The LMD in 3rd ATZ
IRBLa-A	<i>Pia(A)</i>	<i>avr-a(A)</i>	97.69	100.00	10.00	95.35	92.59	100.00
IRBLa-C	<i>Pia(C)</i>	<i>avr-a(C)</i>	88.44	92.31	92.86	83.72	88.89	87.76
IRBLi-F5	<i>Pii</i>	<i>avr-i</i>	84.97	92.31	85.71	93.02	88.89	71.43
IRBLks-F5	<i>Pik-s(F)</i>	<i>avr-ks(F)</i>	95.38	100.00	82.14	97.67	100.00	95.92
IRBLks-S	<i>Pik-s(S)</i>	<i>avr-ks(S)</i>	93.64	92.31	96.43	97.67	81.48	95.92
IRBLk-Ka	<i>Pik</i>	<i>avr-k</i>	85.55	65.38	89.29	97.67	96.30	77.55
IRBLkp-K60	<i>Pik-p</i>	<i>avr-kp</i>	83.24	61.54	92.86	97.67	85.19	75.51
IRBLkh-K3	<i>Pik-h</i>	<i>avr-kh</i>	67.05	42.31	78.57	76.74	74.07	61.22
IRBLz-Fu	<i>Piz</i>	<i>avr-z</i>	71.10	76.92	71.43	81.39	55.56	67.35
IRBLz5-CA	<i>Piz-5(CA)</i>	<i>avr-z5(CA)</i>	23.70	11.54	14.29	48.84	22.22	14.29
IRBLzt-T	<i>Piz-t</i>	<i>avr-zt</i>	52.02	69.23	42.86	48.84	37.04	59.18
IRBLta-K1	<i>Pita(K)</i>	<i>avr-ta(K)</i>	68.79	84.62	71.43	55.81	66.67	71.43
IRBLta-CT2	<i>Pita(CT)</i>	<i>avr-ta(CT)</i>	70.52	69.23	71.43	72.09	62.96	73.47
IRBLb-B	<i>Pib</i>	<i>avr-b</i>	45.09	69.23	21.43	51.16	29.63	48.98
IRBLt-K59	<i>Pit</i>	<i>avr-t</i>	97.11	92.31	96.43	100.00	96.30	97.96
IRBLsh-S	<i>Pish(S)</i>	<i>avr-sh(S)</i>	82.66	84.62	89.29	81.39	77.78	81.63
IRBLsh-B	<i>Pish(B)</i>	<i>avr-sh(B)</i>	83.82	100.00	85.71	81.39	70.37	83.67
IRBL1-CL	<i>Pil</i>	<i>avr-1</i>	49.13	34.62	53.57	65.12	48.15	40.82
IRBL3-CP4	<i>Pi3</i>	<i>avr-3</i>	81.50	84.62	82.14	93.02	70.37	75.51
IRBL5-M	<i>Pi5(t)</i>	<i>avr-5(t)</i>	34.10	34.62	25.00	46.51	33.33	28.57
IRBL7-M	<i>Pi7(t)</i>	<i>avr-7(t)</i>	80.92	69.23	89.29	88.37	85.19	73.47
IRBL9-W	<i>Pi9</i>	<i>avr-9(t)</i>	5.20	3.85	3.57	4.65	7.41	6.12
IRBL12-M	<i>Pi12(t)</i>	<i>avr-12(t)</i>	27.75	61.54	14.29	25.58	7.41	30.61
IRBL19-M	<i>Pi19(t)</i>	<i>avr-19(t)</i>	95.38	100.00	96.43	93.02	96.30	93.88
IRBLkm-Ts	<i>Pik-m</i>	<i>avr-km</i>	71.68	50.00	71.43	86.05	85.19	63.27
IRBL20-IR24	<i>Pi20(t)</i>	<i>avr-20(t)</i>	31.21	19.23	28.57	44.19	25.93	30.61
IRBLta2-Pi	<i>Pita-2(P)</i>	<i>avr-ta2(P)</i>	24.86	30.77	42.86	13.95	14.81	26.53
IRBLta2-Re	<i>Pita-2(R)</i>	<i>avr-ta2(R)</i>	23.12	30.77	42.86	9.30	7.41	28.57
IRBLta-CP1	<i>Pita(CP)</i>	<i>avr-ta(CP)</i>	93.64	96.15	96.43	86.05	96.30	95.92
IRBL11-Zh	<i>Pi11(t)</i>	<i>avr-11(t)</i>	41.04	69.23	17.86	48.84	29.63	38.78
IRBLz5-CA(R)	<i>Piz-5(R)</i>	<i>avr-z5(R)</i>	29.48	23.08	25.00	48.84	22.22	22.45
供试菌株数 No. of isolates tested			173	26	28	43	27	49

^{a)} EMD: early maturity district; ^{b)} LMD: late maturity district.

和龙盾 104 导入 7 个基因中的任何一个, 联合抗谱理论上可分别提高到 96% 以上。其他品种如导入 *Pi9* 基因后, 其抗谱可由导入前的 23%~58% 提高到 94.80% 以上, 极大地改善现有品种的稻瘟病抗性。如进一步聚合 *Piz-5* 和 *Pi12(t)* 基因, 则所有 12 个主栽品种的抗谱均可提高到 100% (*Pi9*、*Piz-5* 和 *Pi12*

三基因搭配的 VAF=0)。因此, 通过转基因或分子标记辅助回交手段导入单基因 *Pi9*, 是当前提高主栽品种稻瘟病抗性的有效途径, 而对 2 个感病较为严重的品种空育 131 和垦稻 12, 在导入 *Pi-9* 的基础上, 需要再聚合至少一个广谱抗性基因, 如 *Pi-ta2(P)* 和 *Pi-z5(R)*, 或双基因 *Pi-z5* 和 *Pi-12(t)* 等。

表 5 黑龙江省稻瘟病菌群体对 12 个水稻主栽品种的毒力频率
Table 5 Virulence frequency (VF) of Heilongjiang blast pathogen populations to 12 leading rice cultivars

品种 Cultivar	推断的抗性基因 deduced R gene	VF%	稻瘟病菌的毒力频率 VF% of blast pathogen populations in different districts (%)				
			第一积温区 The 1st ATZ	第二积温早熟区 The 2nd ATEMZ	第二积温晚熟区 The 2nd ATELZ	第三积温早熟区 The 3rd ATEMZ	第三积温晚熟区 The 3rd ATLMZ
空育 131 Kuiku 131	<i>Pia, Pik, ?^{a)}</i>	57.80	30.77	71.43	58.14	66.67	59.18
垦稻 12 Kendao 12	<i>Pik-s, Pik, ?</i>	39.88	30.77	53.57	41.86	40.74	34.69
绥粳 7 号 Suijing 7	<i>Pia, Pii, Pik, ?</i>	30.06	30.77	28.57	30.23	22.22	34.69
龙粳 14 Longjing 14	<i>Pi19(t), Pi12(t), Pik, ?</i>	7.51	11.54	3.57	6.98	11.11	6.12
龙稻 4 号 Longdao 4	<i>Pish, Pik-s, Pi19(t), ?</i>	28.90	26.92	35.71	32.56	14.81	36.73
龙稻 7 号 Longdao 7	<i>Pia, Pik, ?</i>	31.21	34.62	46.43	25.58	14.81	40.82
松粳 6 号 Songjing 6	<i>Pia, Pik, ?</i>	23.70	15.39	28.57	39.53	14.81	16.33
松粳 9 号 Songjing 9	<i>Pia, Pik, ?</i>	28.90	53.85	21.43	32.56	7.41	28.57
绥粳 4 号 Suijing 4	<i>Pik, ?</i>	32.95	34.62	25.00	25.58	7.41	44.90
垦稻 10 号 Kendao 10	<i>Pia, Piz, ?</i>	28.32	26.92	21.40	34.88	18.52	32.65
五优稻 3 Wuyoudao 3	<i>Pia, Pik, ?</i>	23.12	23.08	21.43	39.53	11.11	16.33
龙盾 104 Longdun 104	<i>Pia, Pik, Pi19(t), ?</i>	9.25	7.69	14.29	9.30	0	12.25
测试菌株数 Isolates tested		173	26	28	43	27	49

^{a)}: 该品种对黑龙江菌株的抗性除已知基因外, 还可能携带其他抗性基因或数量抗性位点(QTL)。

^{a)}: The cultivar may harbor some other resistance genes or QTLs except the deduced ones.

表 6 12 个水稻主栽品种与 7 个广谱抗性基因搭配对 173 个菌株的联合毒力频率
Table 6 Virulence association frequency (VAF) between 12 leading cultivars and 7 broad-spectrum resistance genes to 173 blast isolates

品种 Cultivar	与 <i>Pi-9</i> 的 VAF(%) VAF(%) between cultivars and <i>Pi9</i>	假定导入 <i>Pi9</i> 结合其他抗性基因的 VAF VAF(%) between putative <i>Pi9</i> -introduced cultivars and other resistance genes (%)					
		<i>Piz-5(CA)</i>	<i>Piz-5(R)</i>	<i>Pita-2(P)</i>	<i>Pita-2(R)</i>	<i>Pi12(t)</i>	<i>Pi20(t)</i>
空育 131 Kuiku 131	5.20	1.73	1.16	1.16	1.73	1.73	2.31
垦稻 12 Kendao 12	2.89	1.16	0.58	1.16	1.73	1.16	1.16
绥粳 7 号 Suijing 7	2.31	1.16	0.58	1.16	1.16	1.16	1.16
龙粳 14 Longjing 14	1.16	0	0	0.58	0.58	0.58	0.58
龙稻 4 号 Longjing 4	1.16	0	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58
龙稻 7 号 Longdao 7	2.89	0.58	0.58	1.16	1.16	1.16	1.16
松粳 6 号 Songjing 6	0.58	0	0	0.58	0.58	0.58	0.58
松粳 9 号 Songjing 9	2.31	0.58	0.58	1.16	1.73	1.16	1.16
绥粳 4 号 Suijing 4	2.31	1.16	0.58	0.58	0.58	1.16	1.16
垦稻 10 号 Kendao 10	1.16	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	1.16
五优稻 3 号 Wuyoudao 3	1.73	1.16	1.16	1.16	1.73	0.58	1.73
龙盾 104 Longdun 104	0	0	0	0	0	0	0

3 讨论

3.1 黑龙江省稻瘟病菌群体生理小种与毒力基因结构的基本特征

黑龙江省随着水稻面积的不断扩大大, 稻瘟病逐年加重。2005 和 2006 年稻瘟病在全省暴发流行, 给水稻生产造成惨重损失。为查明诱发病害流行的优势毒性小种及毒力基因的组成、分布, 及其与主栽品种抗性基因之间的关系, 给抗病育种、品种布局及病害预测提供有用信息, 开展了本试验, 比较全

面地了解了当地稻瘟病菌群体的如下基本特征: (1) 小种组成复杂。173 个菌株被鉴定为 55 个日本小种, 小种鉴定率超过 30%, 且不同积温区的优势小种及其频率存在较大的差异。(2) 主要小种分布广泛。多数主要小种在 3 个积温区均有分布, 强优势小种 017、077、037、377 等在第二、第三 2 个积温区均居优势地位。(3) 菌株致病力强、致病谱宽。在 173 个供试菌株中, 强、较强致病力菌株分别占总菌株的 34.10% 和 54.34%, 合计占总菌株的 88.44%, 它们对大多数的已知抗性基因有毒力, 属于广致病谱菌

株。(4)毒力基因结构复杂。稻瘟病菌群体至少包含对应于 31 个单基因系抗性基因的所有毒性基因, 对 95% 的单基因系和主栽品种(*Pi9* 及龙粳 14、龙盾 104 除外)均表现中等以上的毒力。这些特征无疑给当地水稻抗病育种与生产带来严峻的挑战。充分利用好现有的优良基因培育广谱抗病新品种, 广泛鉴定、筛选或人工创制更多的广谱抗性基因是当前黑龙江稻区迫切需要开展的工作。

3.2 黑龙江省稻瘟病菌生理小种鉴别寄主问题

依赖于一套鉴别品种描述病原菌群体结构特征的客观性及精准度, 受供试菌株的数目、代表性及鉴别寄主本身鉴别力等多因素的影响。根据“基因对基因学说”, 一套理想的鉴别寄主应是每个品种具有彼此不同的单一抗性基因。为此, 日本 Kiyasawa 等^[13]通过对水稻品种进行抗病基因分析, 筛选出 9 个“单基因”鉴别品种。近年来, 随着稻瘟病普感品种 LTH 的推出, 国内外相继育成一些以 LTH 为遗传背景的近等基因系和单基因系鉴别寄主^[16,30-31], 为提高稻瘟病菌群体小种及毒力基因结构研究的水平奠定了基础。

目前, 黑龙江省稻瘟病菌生理小种研究仍局限于利用中国鉴别品种^[5-10]。早期的研究^[11-12]表明中国鉴别品种对北方稻区稻瘟病菌鉴别力比日本鉴别品种低。我们通过比较日本鉴别品种和中国鉴别品种对 130 个黑龙江菌株的鉴别能力, 发现前者所鉴别出的小种数目是后者的 2.5 倍(47/19)。这不仅验证了前人的结论, 也说明黑龙江省稻瘟病菌的小种分化远比一些研究^[5-10,25-26]所报道的复杂, 利用中国鉴别品种无法客观描述黑龙江省稻瘟病菌生理小种的群体结构与变化。另外, 由于中国鉴别品种基因组不明, 也无法了解病原菌小种群体的毒性基因的结构, 这势必造成已知抗性基因在育种和生产上的应用的盲目性。鉴于黑龙江与日本稻作区生态条件相似, 而且目前栽培的品种几乎都有日本品种的血缘^[23-24,27-29,32], 我们建议, 黑龙江稻区应该利用一套日本鉴别品种来鉴定稻瘟病菌生理小种, 同时利用 IRRI 的 31 个水稻单基因系监测毒力基因组成与变化, 以便更客观、准确地描述稻瘟病菌群体结构, 以便更有针对性地提出稻瘟病抗性基因选用与布局策略。

3.3 对黑龙江省水稻抗稻瘟病育种策略的思考

利用田间菌株对 31 个单基因系携带的抗性基因和 12 个黑龙江省主栽水稻品种接种的毒力频率

分析结果表明: (1)抗性基因 *Pi9* 和品种龙粳 14、龙盾 104 对各积温区稻瘟病菌株的抗谱都很宽, 是当前最有效的抗源, 在抗病育种和生产上可以优先选用。(2)抗性基因 *Pita-2(R)*、*Pi-z5(CA)*、*Pi-ta2(P)*、*Pi-12(t)*、*Pi-z5(R)*、*Pi-20(t)*、*Pi-5(t)* 与水稻品种绥粳 7 号、龙稻 4 号、龙稻 7 号、松粳 6 号、松粳 9 号、绥粳 4 号、五优稻 3 号的抗谱仅为 70% 左右, 且在不同积温区波动较大, 应因地制宜谨慎使用。(3)其他 24 个单基因系携带的抗性基因抗谱很低, 在抗稻瘟病育种上的利用价值已很有限。(4)主栽品种空育 131 和垦稻 12 已丧失抗性, 至少需要导入包括 *Pi9* 在内的两对以上广抗谱基因才能获得对黑龙江主产区稻瘟病菌的稳定抗性。

鉴于黑龙江省当前主栽品种结构相对单一, 多数品种抗性较差^[3-4,32-33], 而稻瘟病菌生理小种和毒力基因相对复杂、分布广、致病谱广、毒力强, 为了持续稳定控制稻瘟病发生, 生产上急需培育一批广谱或持久抗病品种, 并根据其抗性基因型进行合理布局。为此, 建议有关部门加大投入, 切实抓好以下几方面的工作: (1)广泛收集、深入发掘广谱或持久抗病资源, 充分利用好现有品种如龙粳 14、龙盾 104 的广谱抗性, 进行广泛的转育和杂交来选育新品种; (2)以空育 131 和垦稻 12 等主栽品种为受体, 采用分子标记辅助回交转育、基因转化及基因聚合手段加速聚合 *Pi9* 与 *Pita-2(R)*、*Piz-5(CA)*、*Pita-2(P)*、*Piz-5(R)*、*Pi12(t)*、*Pi20(t)* 及新发现的广谱基因 *Pigm(t)*、*Pi40(t)* 等, 创制一批人工抗病桥梁亲本和新品种, 为大范围的广谱抗病品种选育奠定基础; (3)全面、细致地开展水稻抗病基因及稻瘟病菌毒力基因的鉴定工作, 建立主栽品种抗性基因型数据库及可靠的病原菌流行性小种群体监控体系, 为有针对性地利用抗性基因开展分子聚合育种、对抗性品种科学布局、准确预报和控制稻瘟病流行提供物质和技术支撑。

4 结论

黑龙江省 2006 年田间稻瘟病菌致病力强、致病谱宽, 其生理小种和毒力基因组成复杂。利用中国鉴别品种研究当地的稻瘟病菌存在很大的局限性, 建议应用日本鉴别品种鉴定生理小种, 同时应用 IRRI 单基因系监测毒力基因组成与变动。推广品种龙粳 14、龙盾 104 及抗性基因 *Pi9*、*Pita-2(R)*、*Piz-5(CA)*、*Pita-2(P)*、*Piz-5(R)*、*Pi12(t)*、*Pi20(t)* 对

当地的病原菌表现较广的抗谱。育种上可以在利用龙粳 14、龙盾 104 和 *Pi9* 广谱抗性的基础上, 通过分子标记辅助选择方法聚合一至多个广谱抗性基因; 同时加强对稻瘟病菌种群的监测和新抗源的发掘, 有针对性地向主栽品种导入新的抗性基因。

References

- [1] Zeigler R S, Thome J, Nelson R J, Levy M, Correa-Victoria F. Linking blast population analysis to rice breeding: a proposed strategy for durable resistance. In: Zeigler R S, Leong S, Teng P S, eds. Rice Blast Disease. Wallingford England: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1994. pp 267–292
- [2] McCouch S, Nelson R, Tohme J, Zeigler R. Mapping of blast resistance genes in rice. In: Zeigler R S, Leong S, Teng P S, eds. Rice Blast Disease. England: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1994. pp 167–177
- [3] Xin M-Y(辛明远), Wang X-F(王险峰), Guan C-H(关成宏). The occurrence and investigation of rice blast disease in Heilongjiang province in 2005. *Mod Agric* (现代化农业), 2006, (9): 7–8 (in Chinese)
- [4] Jin X-H(靳学慧), Guo Y-X(郭永霞), Zheng W(郑雯), Tai L-M(台莲梅), Zhang Y-L(张亚玲). The occurrence characteristic and analysis of the trends in rice blast disease in 2007 in Heilongjiang province. *North Rice* (北方水稻), 2007, (2): 57–61 (in Chinese with English abstract)
- [5] Song C-L(宋成艳), Wang G-L(王桂玲), Xin A-H(辛爱华), Cong W-B(从万彪). Studies on the physiological races of rice blast fungi in Heilongjiang province. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 2007, (4): 48–50 (in Chinese with English abstract)
- [6] Zhang Y-L(张亚玲), Jin X-H(靳学慧). Identification of the physiological races of rice blast fungus in parts of Heilongjiang province in 2002. *Plant Protection* (植物保护), 2006, 32(2): 31–34 (in Chinese with English abstract)
- [7] Song C-Y(宋成艳), Wang G-L(王桂玲), Xin A-H(辛爱华), Cong W-B(从万彪). Analysis on kinds of rice blast races in Kuiku 131 and its reasons of pathologic reaction. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 2007, (1): 41–42 (in Chinese with English abstract)
- [8] Lü J(吕军), Jin X-H(靳学慧), Zhang Y-L(张亚玲). Identification of the physiological races of rice blast fungus in parts of Heilongjiang province in 2004. *J Heilongjiang August First Land Reclamation Univ* (黑龙江八一农垦大学学报), 2007, 19(1): 14–17 (in Chinese with English abstract)
- [9] Jin X-H(靳学慧), Guo Y-X(郭永霞), Zheng W(郑雯), Tai L-M(台莲梅), Zhang Y-L(张亚玲). The occurrence characteristic and analysis of the trends in rice blast disease in 2007 in Heilongjiang province. *Northern Rice* (北方水稻), 2007, (2): 57–61 (in Chinese with English abstract)
- [10] Zhang J-H(张俊华), Sun H-L(孙洪利), Liu Y-D-C(刘洋大川), Zhang M(张明), Yi T-Z(依铁柱). A physiologic race on *Pyricularia oryzae* in Heilongjiang. *Plant Protection* (植物保护), 2009, 35(3): 137–140 (in Chinese with English abstract)
- [11] Shen J-H(沈锦骅), Ling Z-Z(凌忠专), Ni P-C(倪丕冲), Li Z-J(李志坚), Wang J-L(王久林). Study on differential ability of Chinese differential varieties and Japanese ones. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1986, 12(3): 163–170 (in Chinese with English abstract)
- [12] Ling Z-Z(凌忠专), Wang J-L(王久林), Li M-F(李梅芳). Studies on pathogenic races of *Pyricularia oryzae* in cropping rice regions of North China. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1989, 22(3): 7–13 (in Chinese with English abstract)
- [13] Kiyasawa S. Establishment of differential varieties for pathogenicity test of rice blast fungus. *Rice Genet Newsl*, 1984, (1): 95–97
- [14] Lei C-L(雷财林), Wang J-L(王久林), Jiang W-R(蒋琬如), Ling Z-Z(凌忠专). Study on pathologic races and virulence of blast fungus and their movement in japonica rice-growing region of northern China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2000, 26(6): 669–776 (in Chinese with English abstract)
- [15] All China Cooperative Research on Physiological Races of *Pyricularia oryzae* (全国稻瘟病菌生理小种联合试验组). Research on physiological races of rice blast fungus in China. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 1980, 10(2): 71–82 (in Chinese with English abstract)
- [16] Fukuta Y. Development of differential varieties for blast resistance in IRRI-Japan collaborative research project. In: Kawasaki S ed. Rice Blast: Interaction with Rice and Control. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004. pp 229–233
- [17] Zhou J-H(周江鸿), Wang J-L(王久林), Jiang W-R(蒋琬如), Lei C-L(雷财林), Ling Z-Z(凌忠专). Virulence genes diversity and geographic distribution of *Pyricularia grisea* in China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2003, 29(5): 646–651 (in Chinese with English abstract)
- [18] Li W, Lei C L, Cheng Z J, Jia Y L, Huang D Y, Wang J L, Wang J K, Zhang X, Su N, Guo X P, Zhai H Q, Wan J M. Identification of SSR markers for a broad-spectrum blast resistance gene *Pi20(t)* for marker-assisted breeding. *Mol Breed*, 2008, 22: 141–149
- [19] Bonman J M, Vergel de Dios T I, Khin M M. Physiologic speciallization of *Pyricularia oryzae* in Philippines. *Plant Disease*, 1986, 70: 167–169
- [20] Hayashi N, Kobayashi N, Cruz C, Fukuta Y. Protocols for the sampling of diseased specimens and evaluation of blast disease in rice. *JIRCAS Working Rep*, 2009, 63: 17–33
- [21] Yang X-J(杨秀娟), Yuan H-C(阮宏椿), Du Y-X(杜宜新), Chen F-R(陈福如), Wang M-M(王茂明). Pathogenicity and avirulence gene analysis of *Magnaporthe grisea* Barr. from rice in Fujian

- province of China. *Acta Phytophyl Sin* (植物保护学报), 2007, 34(4): 337–342 (in Chinese with English abstract)
- [22] Pan R-Q(潘汝谦), Kang B-J(康必鉴), Huang J-M(黄建民), Xu Q-F(徐起峰), Chen X-L(陈喜芳). Evaluation of the resistance of virulence and pathogenicity association to rice blast fungus. *J South China Agric Univ* (Nat Sci Edn) (华南农业大学学报·自然科学版), 1999, 20(4): 10–14 (in Chinese with English abstract)
- [23] Abe S(阿部真三), Zhang S-Y(张三元). Identification of some rice varieties of Jilin provinces for their blast resistance. *Jilin Agric Sci* (吉林农业科学), 1985, (2): 32–35 (in Chinese)
- [24] Shang S-J(商世吉), Piao M-H(朴明浩), Zhang X-Z(张星哲), Zhang Y(张颖), Li M-X(李明贤), Dong F-S(董繁生), Yu J-M(于健民), Liu H-R(刘海荣). The inference of the genotypes of true-resistance to blast of some main rice cultivars of Heilongjiang province. *J Northeast Agric Univ* (东北农业大学学报), 1996, 27(3): 235–239
- [25] http://ineweb.narcc.affrc.go.jp/search/hinsyu_top.html
- [26] Li H(李桦), Gao C-X(高呈祥), Yang Y-X(杨毓先), Luo G-R(罗桂茹). Study on rice blast races in Heilongjiang province. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 1982, (5): 8–13 (in Chinese)
- [27] Li H(李桦), Zheng G-X(郑镐燮). Study on variation of rice blast races in Heilongjiang province. *Plant Protection* (植物保护), 1989, 15(5): 2–4 (in Chinese)
- [28] Lin S-C(林世成), Min S-K(闵绍楷). Rice Cultivars and Their Pedigree in China (中国水稻品种及其系谱). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991 (in Chinese)
- [29] Geng W-L(耿文良), Feng R-Y(冯瑞英). Rice Cultivars in Northern China (中国北方粳稻品种志). Shijiazhuang: Hebei Science and Technology Press, 1995 (in Chinese)
- [30] Wan J-M(万建民). Rice Genetic Breeding and Cultivar Pedigree in China (中国水稻遗传育种与品种系谱). Beijing: China Agriculture Press, 2010 (in Chinese)
- [31] Ling Z Z, Mew T, Wang J L, Lei C L, Huang N. Development of Chinese near-isogenic lines of rice and their differentiating ability to pathogenic races of blast fungus. *Chin Agric Sci*, 2001, 1: 50–56
- [32] Kobayashi N, Yanoria M J, Fukuta Y. Differential varieties bred at IRRI and virulence analysis of blast isolates from the Philippines. *JIRCAS Working Rep*, 2007, 53: 17–31
- [33] Zhang G-M(张国民), Xin A-H(辛爱华), Ma J-T(马军韬), Xiao J-L(肖家雷), Liu Y-X(刘迎雪). The retrospect and prospect of investigation of rice blast in Heilongjiang province. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 2008, (6): 156–158 (in Chinese with English abstract)
- [34] Bian J-Y(卞景阳), Jiao J(矫江), Xu X-B(许显滨), Tan H(谭贺), Nakata K(中本和夫). Analysis on the incidence of rice blast in Heilongjiang and countermeasures. *North Rice* (北方水稻), 2007, (3): 140–142 (in Chinese with English abstract)