

水稻稻瘟病品种-小种组合寄生 适合度测定方法的研究^①

赵美琦^② 赵桢梅 马占鸿 曾士迈
(植物病理学系)

摘 要 用分小种接种法在共 18 个品种-小种组合上进行了水稻稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea* Barr.) 寄生适合度测定方法的研究。用综合病指法、流行速率法、抗性组分法三种方法推求了不同品种-小种组合的寄生适合度,并通过相关分析研究了三种寄生适合度估算方法之间的相互关系,建立了以综合病指寄生适合度(PF_{IB})、流行速率寄生适合度(PF_r)、综合抗性组分寄生适合度(PF_{RC})为因变量,以侵染几率 F_{IP}、病斑面积(F_{SS})、产孢面积(F_{PS})和产孢量(F_{PD})为自变量的相对寄生适合度预测模型。

关键词 水稻稻瘟病;寄生适合度

中图分类号 S435.41; S432.21

Studies on the Methods of Estimating Parasitic Fitness of *Magnaporthe grisea* Barr.

Zhao Meiqi Zhao Zhenmei Ma Zhanhong Zeng Shimai
(Dept. of Plant Pathology)

Abstract The methods of estimation of relative parasitic fitness (PF) of rice blast races on different cultivars were studied in the greenhouse and the field experiment. ①By single race inoculation, eight components of epidemic and the apparent infection rate of 6 cultivars, 3 races' combinations were observed and the PF were estimated based on these data. ②Based on correlation analysis, it is clear that infection probability, lesion area, rate of lesion expansion, sporulating area, disease index, rate of sporulation and apparent infection rate can be used in the estimation of PF. ③By stepwise regression, prediction models of relative PF dependent upon relative infection probability, relative lesion area and relative sporulating area were developed.

Key words rice blast; parasitic fitness

品种抗病性持久化以及持久抗病性品种的选育,是目前普遍关注的问题。品种抗病性表现的持久度主要决定于品种-小种间群体水平上相互作用的动态规律。在这种互作规律中,

收稿日期: 1996-10-16

①国家自然科学基金资助重点项目 39230260

②赵美琦,北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区),100094

寄主品种小种的选择系数(S)或者说小种在寄主品种上的相对寄生适合度($f=1-s$)是一个关键性问题^[1]。对于寄生适合度的测定,由于不同的研究者所用的概念不同^[2,3],所以具体的操作定义也各有不同。如 Leonard 用同一品种上不同小种产孢量之比为代表; Nelson^[4]则用不同品种-小种组合的病害严重度的比值计算适合度; Mackenzie^[5]提出用混合小种后代比例测定适合度的方法;曾士迈试用综合病指法来推求寄生适合度^[6]。

纵观前人对寄生适合度测定方法的研究,可归纳成两大类方法:①单小种接种法,以测定不同品种-小种组合的抗性组分、流行速率、综合病指并取得有关数据,来估算相对寄生适合度;②多小种混和接种法,是根据多小种共存,相互竞争条件下的各种频率变化来估算各小种相对适合度。用单小种接种法,在小麦条锈病菌小种-品种寄生适合度测定上已见报道,而在稻瘟病品种-小种群体动态规律的研究过程中,寄生适合度测定方法的研究尚处于探索阶段^[7]。因此,本研究旨在以我国北方稻区叶瘟为对象,通过采用单小种接种法中的抗性组分法、流行速率法、综合病指法三种估算品种-小种寄生适合度的方法比较,从而建立一种简便实用的操作方法,为稻瘟病品种和小种群体互动动态模拟研究提供依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

品种:D2-爱之旭、C1-丽江新团黑谷、C4-中作 93、C6-中花 9 号(均由中国农科院作物所提供)、J-京越(辽宁省丹东市种子公司提供)、L-黎明(辽宁省铁岭市农科所提供)。

小种:北-1、中 2-1、稻 72(均由中国农科院提供)。

1.2 田间试验设计

试验在北京西郊水稻田进行。5 月初温室育苗,5 月 29 日分别按方块圃、短行圃插秧,品种随机排列。短行圃每品种-小种组合行长 2 m,穴行距为 20 cm×20 cm,各重复 4 次。方块圃每组合面积为 2 m×1.5 m,各重复 3 次。短行圃主要用于测定各抗性组分、综合病指,方块圃则主要用于测定流行速率。

1.3 接种方法

1995 年 7 月 19 日晚短行圃采用喷雾接种,接种孢子悬浮液浓度 1×10^5 个·mL⁻¹,接种量 250 mL。同时在不同叶位处与叶片平行放置数片涂有凡士林的玻片,以测定叶片单位面积的着孢数。方块圃采用中心簇注射法接种,接种孢子悬浮液浓度 2×10^5 个·mL⁻¹,每簇接 5 株,接种量以生长点出水为止(约 5 mL·株⁻¹)。接种后,用塑料薄膜保湿 12 h。

1.4 调查方法

利用短行圃进行各流行组分和综合病指的调查。

1.4.1 侵染几率(IP)和病斑数量(SN) 用发病点数表示。接种后第 8 天,每穴 1 株调查其上部接种时已展开的叶片上的发病点数[病斑数]:

$$IP = \text{每叶侵染点数} / \text{单位叶面积上的着孢数} \times \text{叶面积} \quad (1)$$

其中单位叶面积上着孢数是以接种时用玻片采集的着孢数经镜检计数后转换计算求得。

1.4.2 潜育期(LP) 从出现第一张显症叶片起,开始每日连续调查,记录每日新发病的叶

片数,直到连续两天新发病叶数为零止。调查结果按加权平均法分别计算各品种-小种组合的潜育期,即:

$$LP = \frac{\sum_{i=1}^n (D_i \cdot P_i)}{\sum_{i=1}^n P_i} \quad (2)$$

式中, D_i :调查天数; P_i :新病叶数。

1.4.3 病斑面积(SS)和病斑日扩展速率(DS) 发病后第 4 天,每处理标记 20 张叶片,隔日用网眼直径为 0.6 mm×0.6 mm 的纱网测量病斑面积,直至病斑不再扩展。计算病斑日扩展速率。

1.4.4 产孢面积(PS) 发病后第 8 天,每品种随机抽取 5 张叶片,分别测其产孢面积,测定方法同前。计算各品种-小种组合上的产孢面积。

1.4.5 单位面积日产孢量(SP)和相对日产孢量(PD) 对已测定产孢面积的叶片于次日上午,利用透明胶带粘取孢子,在 10×10 倍镜检,每品种-小种组合记测 5 个视野的孢子数,将其平均值换算成每平方米上的孢子数即单位面积日产孢量,同时计算相对日产孢量,即:

$$\text{相对日产孢量} = \text{产孢面积} \times \text{单位面积产孢量} \quad (3)$$

1.4.6 综合病指(ID) 接种后第 8 天调查反应型、严重度和普遍率(病叶率)计算一代综合病指。综合病指=普遍率×严重度×反应型权重值。反应型权重值是由反应型和产孢量关系式 $Y = \text{EXP}(1.46 \ln X - 4.64)$ 推导得出。

利用方块圃进行流行速率的调查。

1.4.7 流行速率 r (表观侵染速率) 自接种后第 8 天起,每隔 5 天用大五点取样法定点系统调查病叶率、严重度;当两次调查结果无差异或差异不大时停止调查。以接种发病的中心簇病情作为初始病情 x_1 ,根据最终调查的病情 x_2 及间隔时间 t_2 ,用逻辑斯蒂方程计算逆值和 r 值:

$$r = \frac{1}{t_2 - t_1} \left(\ln \frac{x_2}{1 - x_2} - \ln \frac{x_1}{1 - x_1} \right) \quad (4)$$

2 结果分析

2.1 相对寄生适合度的操作定义和计算方法

通过田间流行病学组分的观察,共获得 18 个品种-小种组合的 774 组数据,结果见表 1。

利用上述 10 个指标的数据结果,根据以下相对寄生适合度的操作定义进行该值的测定。

2.1.1 相对综合病情指数法(RCDI) 利用短行圃在相同环境条件下,于接种代发病后,当最感病品种与致病性最强小种组合病情无明显增长时,以该组合为对照,计算各组合的综合病指与对照综合病指之比所得数值为相对寄生适合度的估测值,计算公式为:

$$F = CDI_i / CDI_{ck} \quad (0 < F < 1)$$

表1 田间流行病学组分观察结果*

品 种	小 种	侵染几率	潜育期	病斑数量	病斑面积	病斑扩展	产孢面积	单位面积	相对产	综合	流行
		<i>IP</i>	<i>LP</i>	<i>SN</i>	<i>SS</i>	速率	<i>PS</i>	产孢量	孢 量	病指	速率
			(t/d)	(个·叶 ⁻¹)	(mm ² ·叶 ⁻¹)	<i>DS</i>	(mm ² ·叶 ⁻¹)	<i>SP</i>	<i>PD</i>	<i>ID</i>	<i>r</i>
						(mm ² ·d ⁻¹ ·叶 ⁻¹)					
丽江新团	北-1	0.021	4.62	4.67	4.1	0.51	5.28	299.2	1 752	0.21	0.34
黑谷	中 2-1	0.026	5.09	5.49	6.75	0.84	6.72	439.7	2 955	0.25	0.42
	稻-72	0.025	4.79	5.60	5.08	0.64	6.18	271.7	1 679	0.20	0.35
中作 93	北-1	0.012	4.73	2.10	0.58	0.07	0	0	0	0.00	0.00
	中 2-1	0.022	5.32	2.00	2.48	0.31	4.56	409.5	1 867	0.12	0.29
	稻-72	0.012	4.90	3.86	0.96	0.12	0.00	0.0	0	0.00	0.00
中花 9 号	北-1	0.013	5.06	1.96	0.55	0.07	0.00	0.0	0	0.00	0.00
	中 2-1	0.032	5.22	2.19	3.00	0.37	4.86	438.4	2 130	0.12	0.32
	稻-72	0.015	5.02	4.76	0.79	0.10	0.00	0.0	0	0.00	0.00
爱知旭	北-1	0.019	5.13	2.79	2.40	0.30	3.60	165.4	595	0.10	0.25
	中 2-1	0.028	5.16	3.22	3.03	0.38	3.48	480.4	1 672	0.12	0.24
	稻-72	0.028	5.18	3.71	3.02	0.38	3.45	257.2	887	0.10	0.23
京越	北-1	0.015	5.49	2.70	2.72	0.34	3.66	275.6	1 009	0.07	0.23
	中 2-1	0.024	5.15	3.93	3.03	0.38	4.74	314.7	1 492	0.09	0.29
	稻-72	0.015	5.1	4.04	2.65	0.33	3.92	214.9	842	0.08	0.27
黎明	北-1	0.018	5.43	2.57	2.46	0.31	4.38	209.9	1 138	0.08	0.23
	中 2-1	0.024	5.36	2.56	2.90	0.36	4.98	293.1	1 460	0.11	0.32
	稻-72	0.021	5.51	4.10	2.10	0.26	3.99	201.4	804	0.08	0.27

* 除 *r* 值为三次重复的平均值外,其余均为四重复平均值。

式中 CDI_i 为待测品种-小种组合一代发病的综合病指, CDI_{CK} 为对照品种-小种组合一代发病的综合病指。

该方法由曾士迈、张忠军、马占鸿等在小麦条锈菌品种-小种寄生适合度测定时试用过,认为是可行的。

综合病情指数(CDI)是反应型系数(IT)与普遍率(I)和严重度(S)的乘积,反应型权重系数是根据赵桢梅提出的反应型与产孢量关系转化而来的,即 0 和 1 型为 0, 2 为 0.03, 2⁺ 为 0.09, 3 为 0.19, 3⁺ 为 0.31, 3⁺⁺ 为 0.45, 4 为 0.61, 4⁺ 为 0.80, 4⁺⁺ 为 1。

上述方法计算的相对寄生适合度结果见表 2。

2.1.2 相对流行速率法 r 利用方块圃,在无外来菌源干扰和相同环境条件下,以最感病品种与致病性最强小种组合的表观流行速率 r_{CK} 为对照,计算各组合的表观流行速率 r_i 与对照该值之比,作为相对寄生适合度估测值(表 2),计算公式为:

$$F = r_i / r_{CK} (0 < F < 1) \quad (6)$$

由于流行速率 r 值是病害流行因素综合体的数值概括,它全面地反应了一定环境条件

下不同品种-小种组合的群体水平相互作用的动态关系。为此,这种方法计算而得的相对寄生适合度估测值是比较适用于稻瘟病品种-小种群体动态模拟研究之用的。

2.1.3 相对综合抗性组分法(RC_{RC})或相对病害量法 病害量是将侵染几率、潜育期和产孢量综合成一个能代表病害数量的数值,病害发生程度多与侵染数量和产孢量呈正相关,而与潜育期呈负相关,为此病害量=侵染几率 \times 产孢量 \times 1/潜育期。

相对病害量法就是利用短行圃,在相同环境条件下以最感病品种与致病性最强小种组合的病害量为对照 RC_{CK} ,计算各组合病害量 RC_i 与对照该值之比,所得比值为相对寄生适合度估测值(结果见表2),计算公式为:

$$F = FC_i / PC_{CK} \quad (0 < F < 1) \quad (7)$$

2.1.4 相对抗性组分法(单一组分) 利用短行圃,在相同环境下,以最感病品种与致病性最强小种组合的各单一抗性组分,如侵染几率、潜育期、病斑面积、产孢面积、产孢量等为对照,计算各组合下单一抗性组分与对照值之比,所得比值作为相对寄生适合度估测值(表2)。但这种方法所测定的只是寄生适合度的某一组分,不足以代表寄生适合度。本方法的主要目的是通过利用这种估测值来分析各组分与上述方法获得的寄生适合度数值间的关系。

表2 寄生适合度不同测定方法的计算结果

品 种	小 种	综合病 指法	流行速 率法	综合抗性 组分法	抗 性 组 分 法							
					F_{ID}	F_R	F_{RC}	F_{IP}	F_{LP}	F_{SN}	F_{SS}	F_{DS}
丽江新团黑谷	北-1	0.840	0.809	0.476	0.681	1.000	0.834	0.607	0.607	0.786	0.623	0.593
	中2-1	1.000	1.000	1.000	0.808	0.908	0.980	1.000	1.000	1.000	0.915	1.00
	稻72	0.800	0.833	0.581	0.789	0.964	1.000	0.753	0.762	0.920	0.566	0.568
中作93	北-1	0.000	0.000	0.000	0.376	0.976	0.375	0.086	0.083	0.000	0.000	0.000
	中2-1	0.480	0.690	0.512	0.693	0.868	0.357	0.367	0.369	0.679	0.852	0.632
	稻72	0.000	0.000	0.000	0.357	0.943	0.689	0.142	0.143	0.000	0.000	0.000
中花9号	北-1	0.000	0.000	0.000	0.413	0.913	0.350	0.082	0.083	0.000	0.000	0.000
	中2-1	0.480	0.762	0.881	1.000	0.885	0.391	0.444	0.441	0.723	0.926	0.721
	稻72	0.000	0.000	0.000	0.460	0.920	0.850	0.117	0.119	0.000	0.000	0.000
爱知旭	北-1	0.400	0.595	0.146	0.562	0.900	0.498	0.356	0.357	0.535	0.344	0.201
	中2-1	0.480	0.571	0.601	0.745	0.895	0.575	0.449	0.452	0.518	1.000	0.566
	稻72	0.400	0.548	0.318	0.649	0.892	0.663	0.447	0.452	0.513	0.535	0.300
京越	北-1	0.280	0.548	0.183	0.593	0.841	0.482	0.403	0.456	0.545	0.574	0.341
	中2-1	0.360	0.690	0.461	0.885	0.897	0.702	0.449	0.452	0.705	0.655	0.505
	稻72	0.320	0.642	0.164	0.863	0.906	0.721	0.393	0.393	0.583	0.447	0.285
黎明	北-1	0.320	0.548	0.202	0.460	0.861	0.459	0.364	0.369	0.652	0.437	0.385
	中2-1	0.440	0.762	0.433	0.736	0.862	0.457	0.43	0.429	0.741	0.610	0.494
	稻72	0.320	0.643	0.203	0.459	0.838	0.732	0.311	0.310	0.594	0.419	0.272

2.2 寄生适合度不同测定方法的相关性比较

利用4种方法获得的相对寄生适合度估测值,做相关比较矩阵,结果见表3。

表3 品种-小种组合寄生适合度相关系数矩阵

	F_{ID}	F_R	F_{RC}	D_{IP}	F_{LP}	F_{SN}	F_{SS}	F_{DS}	F_{PS}	F_{SP}	F_{PD}
F_{ID}	1.000										
F_R	0.898**	1.000									
F_{RC}	0.749**	0.762**	1.000								
F_{IP}	0.655**	0.772**	0.726**	1.000							
F_{LP}	0.109	-0.238	-0.228	-0.094	1.000						
F_{SN}	0.440	0.248	0.131	0.175	0.373	1.000					
F_{SS}	0.959**	0.859**	0.788**	0.670**	0.049	0.522	1.00				
F_{DS}	0.952**	0.867**	0.803**	0.664**	0.031	0.515	0.998**	1.000			
F_{PS}	0.904**	0.989**	0.759**	0.744**	-0.213	0.272	0.887**	0.886**	1.000		
F_{SP}	0.771**	0.858**	0.869**	0.805**	-0.314	0.039	0.739**	0.739**	0.832**	1.000	
F_{PD}	0.895**	0.892**	0.890**	0.780*	-0.138	0.215	0.881**	0.876**	0.894**	0.925**	1.000

从不同方法测定的寄生适合度的相关性比较中,可以看出,①8个单一抗性组分中的侵染几率、病斑面积、病斑扩展速率、产孢面积、单位面积产孢量、相对产孢量推算的寄生适合度与综合病指法、流行速率法和综合抗性组分法计算的寄生适合度相关达极显著水平,而潜育期和病斑数量与相对寄生适合度均无显著相关。②与相对综合病指法计算的寄生适合度相关最显著的组分为病斑面积($r=0.954$);与流行速率法推算的寄生适合度相关极显著的是相对产孢量($r=0.890$)。③产孢面积与综合病指法和流行速率法计算的寄生适合度的相关性最好(与 F_{CID} 为0.903,与 F_r 为0.989)。由此可以认为该组分是影响由这两种方法推算 F 值的最重要组分,而且在实际调查时可操作性强。为此,可考虑用它作为预测因子来预测 F_{CID} 和 F_r 值,而且对 F_r 值的预测要比对 F_{CID} 更好些。④由于潜育期与综合抗性组分法推算的寄生适合度无显著相关性,为此用它作为组分之一的这种方法有其不够合理性。应改为由与其相关极显著的侵染几率、病斑面积(因病斑扩展速率与其高度自相关被剔除)、产孢面积、单位面积产孢量和相对产孢量合成为综合抗性组分或病害量更为合理。

2.3 寄生适合度预测模型的组建

在上述相关分析的基础上,以流行速率寄生适合度 PF_R 、综合病指寄生适合度 PF_{ID} 和综合抗性组分寄生适合度 PF_{RC} 为因变量,以与其相关极显著的抗性组分为自变量,进行逐步回归分析,建立它们间的量化关系。采用逐步回归分析SAS软件(各系数入选标准的无效假设概率 <0.10),得到三种相应的相对寄生适合度模型。

$$\text{模型 1: } PF_{ID} = -0.1108 + 0.0359F_{IP} + 0.1806F_{PS} \quad (r_1 = 0.920)$$

$$\text{模型 2: } PF_R = -0.0363 + 0.1294F_{IP} + 0.9265F_{PS} \quad (r_2 = 0.982)$$

$$\text{模型 3: } PF_{RC} = -0.1201 + 0.2732F_{IP} - 0.3306F_{PS} + 1.2111F_{PD} \quad (r_3 = 0.956)$$

利用三种方法建立的寄生适合度模型1、模型2、模型3均是通过测定侵染几率、产孢面积、单位面积产孢量或相对产孢量后计算而得,所需测定的指标数少,其决定系数较高,都大

于0.9以上($r_1=0.956, r_2=0.982, r_3=0.920$),而且能全面反应稻瘟病菌从侵入到发病、产孢的全过程。其中模型1、模型2选用的指标较模型3更少,只需2个,且可操作性更强。因此,用这两个模型预测寄生适合度,都是简便、易行、科学合理的方法,而模型2更优。

3 结论与讨论

寄生适合度(parasitic fitness)是植物病原菌基因型和寄主基因型综合决定的寄生和发展能力。因此,在多品种-多小种病害系统的群体动态研究中,它是决定品种抗病性寿命和新小种频率预测的理论基础。然而,迄今为止,国内除对小麦条锈病菌、叶锈病菌、秆锈病菌和玉米小斑病菌寄生适合度有较多研究外,对水稻稻瘟病菌的研究报道尚少。

本研究就是以我国北方水稻叶瘟为对象,首次在同一环境条件下利用田间短行圃和方块圃方法,同时采取不同操作定义下的4种估测方法,研究了18个品种-小种组合的寄生适合度。通过不同方法测定的寄生适合度相关性比较和回归分析,明确了与稻瘟病菌小种-品种相对寄生适合度属性相关性最大或最为重要的抗生组分为侵染几率、病斑面积、产孢面积和产孢量。在此基础上,提出的三种寄生适合度预测模型,基本上概括了相对寄生适合度概念的全部,很好地反映了稻瘟病菌从侵入、发病到产孢的全过程。而且三个模型所需变量指标少,预测准确性较高(r 值均大于0.9以上),尤其是模型1和2,只需2个组分,且组分的可操作性更强,可以作为测定相对寄生适合度的简便易行方法。

稻瘟病菌相对寄生适合度测定方法的研究及该测定值的获得,为掌握稻瘟病品种-小种群体水平相互作用的动态规律提供了重要依据。然而,由于三种寄生适合度的预测模型还待检验,综合病指法的综合病指计算中反应型权重值还需改进,所以本研究所得结论有待进一步完善和提高。

参 考 文 献

- 1 曾士迈. 植物病原菌寄生适合度测定方法的研究(以小麦条锈病为例). 植物病理学报, 1996, 26(2): 97~104
- 2 Barrett J A. Estimating relative fitness in plant parasites: some general problems. *Phytopathology*, 1982, 73: 510~512
- 3 Groth J V, et al. Estimating paraitic fitness; a reply. *Phytopothology*, 1980, 70: 840~842
- 4 Nelson R R. The evolution of parasitic fitness. In: Horsfall J G, Cowling E B. *Plant Disease — An Advanced Treatise*. New York: Academic Press, 1979, 4, 23~46
- 5 Mackenzie D R. Letter to editor, estimating paraitic fitness. *Phytopathology*, 1978, 68: 9~13
- 6 曾士迈, 王沛有. 寄生适合度测定方法初步研究. 北京农业大学学报, 1990, 16(增刊): 163~169
- 7 孔平, 岩野正敬. 稻瘟病水平抗性稳定性研究——小种与品种适合度的分析. 植物保护学报, 1991, 18(2): 103~107