

稻曲病研究进展

陈旭 邱结华 熊萌 舒亚洲 黄世文 寇艳君*

(中国水稻研究所/水稻生物学国家重点实验室, 杭州 311401; 第一作者: chenxu0227@126.com; * 通讯作者: kouyanjun@caas.cn)

摘要:近年来, 稻曲病已由次级病害上升为水稻三大主要真菌病害之一, 严重影响水稻的产量和品质。随着对稻曲病菌研究的深入, 对稻曲病致病机理的了解日益加深, 防控技术也在不断的更新。通过综述稻曲病的危害、生物学特性及侵染致病机理等研究进展, 以期对稻曲病持续深入的研究提供理论基础, 为开发稻曲病防治新方法提供参考。

关键词:稻曲病; 水稻; 生物学特性; 侵染机理

中图分类号:S511; S435.111.4+6

文献标识码:A

文章编号:1006-8082(2019)05-0030-07

稻曲病(RFS, rice false smut)是在水稻孕穗期至抽穗之前感染的一种真菌性病害, 又称绿黑穗病、谷花病和青粉病等, 于上世纪末在印度首次被报道^[1]。近年来, 随着高产水稻和杂交水稻的大面积推广、化学肥料的过度施用及全球气候的变化, 稻曲病逐渐发展为水稻产区的一种重要病害^[2-3]。稻曲病主要症状是由稻曲病菌侵染水稻花器引起, 在稻穗上形成墨绿色稻曲球^[4]。稻曲病的发生不仅影响稻米的产量和品质, 同时还产生对细胞分裂有强烈抑制作用的多种毒素, 威胁人畜安全^[5-6]。本文通过对国内外稻曲病研究近况进行综述, 以期对现阶段稻曲病的研究和综合防治提供参考。

1 稻曲病菌的分类

稻曲病菌最初归类于稻腥黑粉菌属(*Tilletia oryzae* Pat.)的一个种, 随着研究的深入, 将其无性态归于子囊菌亚门麦角菌科绿核菌属, 命名为*Ustilaginoidea virens* (*U. viren*)。*U. viren* 是麦角菌科(Clavicipitaceae)中唯一具备有性态的一个分支, 因其有性态在形态学上异于麦角菌属(*Claviceps*), 从而将其有性态命名为(*Villosiclava virens*)^[1]。*U. viren* 有性阶段由菌核萌发产生子囊孢子, 无性阶段产生厚垣孢子。在适宜条件下, 这两种形态的孢子均能侵染水稻引起稻曲病的发生^[7-8]。

2 稻曲病的症状与危害

病原菌在侵入颖花并不断生成白色的菌块后, 从颖谷缝处向外突起, 初期不断膨大呈近球形, 扁平状, 表面平滑, 由一层被膜包裹, 后期菌球逐渐由淡黄色转变为墨绿色, 最后开裂呈龟裂状, 散出墨绿色粉末, 体积为正常谷粒的3~4倍^[1, 9]。在昼夜温差较大的深秋, 部分稻曲球两侧会形成形态各异的黑色菌核。稻曲

病早期无发病症状, 只能在稻曲球出现的晚期鉴别该病害。稻曲病菌能拦截营养用于自身的生长和稻曲球的形成^[10-11], 从而影响谷粒营养运输和正常发育, 导致空秕粒明显上升, 千粒重下降, 一般可造成水稻产量20%~30%的损失^[12]; 同时, 病穗上脱落的稻曲球与谷粒混杂降低了稻米品质。除此之外, 稻曲病菌至少能够产生两类真菌毒素: 稻曲毒素(ustiloxins)和黑粉菌素(ustilaginoidins)。稻曲毒素为环肽类水溶性无色物质, 能够抑制细胞微管蛋白的聚合和干扰细胞骨架的形成。目前已分离鉴定7种稻曲毒素: 稻曲毒素A、B、C、D、E、F和G^[5, 13-15]。黑粉菌素为萘并吡喃酮类脂溶性有色物质, 具有细胞毒性且对水稻种子的胚根延伸起抑制作用, 现已在稻曲菌中分离鉴定了26种黑粉菌素: 黑粉菌素A、B、B1、C、D、E、E1、F、G、H、I、J、K、L、M、N、O、P、Q、R、S、T、U、V、W和3, 4-二氢黑粉菌素T^[16-19]。

3 稻曲病的发生情况

稻曲病广泛分布于亚洲、非洲、南美洲以及欧洲等地的水稻主产区国家, 在中国、日本、印度和菲律宾等亚洲国家发生较重。在我国, 稻曲病近年来发生范围明显扩大, 发病程度愈发严重, 发病严重的田块产量损失可达50%以上, 甚至绝收^[20-21]。受气候、品种及栽培等因素影响, 稻曲病在我国各稻区普遍发生, 但是病害发生程度年度间差异较大, 表现为明显的间歇性暴发的流行特点^[22]。据2008—2016年调查显示, 2008年发生面积最高(441.3万hm²), 2016年发病面积最低(不到

收稿日期: 2019-04-05

基金项目: 浙江省自然科学基金(LQ19C140004; LQ19C130007); 浙江省重点研发项目(2019C02018)

200.0 万 hm^2), 年均发病面积 306.2 万 hm^2 , 占水稻种植面积 23.0%。江南和长江中下游稻区发生严重, 占全国发生面积的 76.0%, 其中, 安徽、江苏、湖南、湖北 4 省发生面积均大于 40.0 万 hm^2 , 为发生面积占比较大的区域。其次是西南、华南、东北、黄淮、西北、华北稻区, 发生面积一般低于 8.0 万 hm^2 。从水稻产量损失来看, 长江中下游、江南和东北南部稻区损失较重。其中, 安徽省实际损失高达 5.2 万 t, 湖北、湖南、江苏和辽宁省年均实际损失均在 1.0 万 t 以上, 云南和贵州等西南稻区年均实际损失在 4 773.0~9 961.0 t 之间, 其他地区年均实际损失在 4 000.0 t 以下^[23]。

4 稻曲病菌的生物学特征

4.1 稻曲病菌的形态及生理特征

稻曲病菌在病粒上形成 $(6\sim12)\times(4\sim6)\ \mu\text{m}$ 的分生孢子座, 其中最外层为大量松散的黄绿色或墨绿色的厚垣孢子, 中间黄色层为正在产生厚垣孢子的菌丝, 最里面是致密的白色菌丝及正在形成的分生孢子^[24]。稻曲球生长后期可以在孢子座上看到黑褐色菌核, 菌核呈扁平状、马蹄状或不规则圆球形等, 质地较硬, 易脱落。稻曲病菌在人工固体培养基上培养初期形成白色致密的菌丝, 逐渐扩大形成中间凸起似草帽状的圆形菌落, 培养后期菌落中间逐渐发黄, 部分菌株在培养后期菌落周围产生大量黄色球形的厚垣孢子堆。稻曲病菌在土豆蔗糖培养基(PS)中液体振荡培养形成白色毛茸状圆形菌球, 菌丝细长如头发丝状, 培养 7 d 左右菌丝萌发产生大量的分生孢子。

稻曲病菌可以产生 3 种孢子: 子囊孢子、厚垣孢子和分生孢子。其中, 子囊孢子是有性态孢子, 厚垣孢子和分生孢子是无性态孢子。

菌核在适宜条件下萌发出白色菌丝, 逐步密集发育成黄色头状子座, 后逐渐出现黑色乳突, 形成子实体。子实体子座外围埋生多个大小平均为 $357.50\times247.00\ \mu\text{m}$ 的长颈瓶状子囊壳, 子囊壳内含有多个大小为 $(69.23\sim228.00)\times(2.00\sim4.66)\ \mu\text{m}$ 的透明长圆柱形子囊, 子囊内不规则分布着 8 个大小约为 $(52.00\sim176.80)\times(0.52\sim1.04)\ \mu\text{m}$ 的单胞、线状、透明的子囊孢子^[25]。子囊孢子可以萌发产生芽管, 其顶端产生 1 到多个分生孢子, 且子囊孢子和分生孢子萌发产生的芽管能够不断伸长, 形成菌丝^[1,4]。菌核的出现受气候条件的影响, 年度间的数量差异较大。菌核的萌发需要温度适宜和透气, 27℃ 恒温培养 21~56 d 能够萌发^[25]。

厚垣孢子为厚壁的分生孢子, 一般有黄色和黑色

两种。稻曲病厚垣孢子为球形或近球形, 直径约为 3~5 μm , 刺突长度为 200~500 nm^[26]。黄色厚垣孢子表面具有疣状突起, 黑色厚垣孢子表面具有不规则的锥形菊花状刺突, 其突起较黄色高且明显^[27]。厚垣孢子萌发产生芽管, 芽管顶端形成隔膜并分化为分生孢子梗, 顶端产生 1 或多个薄壁分生孢子。厚垣孢子在地表自然条件下可以存活 6 个月以上, 在 25℃、4℃ 和室内干燥条件下分别可以存活 3 个、12 个和 19 个月不等^[28-29]。厚垣孢子需要经过高湿条件才能打破休眠^[30], 厚垣孢子萌发的最适温度为 25℃~30℃, 最适 pH 值为 5~8, 在土豆蔗糖琼脂培养基 (PSA)、土豆葡萄糖琼脂培养基 (PDA)、酵母膏胨葡萄糖琼脂培养基 (YEPD) 上生长良好^[24]。

薄壁分生孢子相对较小, 约 $(3\sim7)\times(4\sim8)\ \mu\text{m}$, 无色类葡萄粒状卵圆形。分生孢子萌发产生的芽管能够不断地伸长, 或不断产孢形成长串的子代孢子。在营养成分充足的条件下, 分生孢子可再萌发产生次生分生孢子^[31]。次生分生孢子能够再次萌发形成次生分生孢子梗, 其顶端产生 1~2 个分生孢子。分生孢子萌发的适宜温度为 22℃~31℃, pH 值为 6~7, 葡萄糖条件下会抑制其萌发。PS(土豆蔗糖培养基)既可以抵消葡萄糖的抑制作用, 又可以刺激分生孢子萌发, 因而最适宜稻曲病菌分生孢子的培养^[32]。

4.2 稻曲病菌的分离

稻曲病菌的分离方法可总结为不同组织块培养法、厚垣孢子悬浮液法和菌核培养法。

组织块培养法: 将新鲜稻曲球进行酒精消毒 1 min, 无菌水冲洗 3 次后用镊子掰开稻曲球, 用无菌接种针在切面的中央挑取菌块放于培养基上, 于 28℃ 恒温箱中进行培养。组织块培养法比较容易成功, 一般 1 周左右可以长出肉眼可见的白色菌落。

厚垣孢子悬浮液法: 将稻曲球分别用 75% 酒精消毒 10 s、1% 升汞消毒 1 min、无菌水清洗, 循环上述步骤 3 次后配制成孢子悬浮液。将悬浮液涂于培养基表面, 或将悬浮液与尚未凝固的 45℃ 左右培养基混合后倒入培养皿, 待其凝固后放入 28℃ 培养箱进行培养。此法培养的结果不稳定, 有时不能成功长出菌落或时间较长, 10 d 左右才可肉眼观察到菌落。

菌核培养法: 将菌核使用厚垣孢子悬浮液的消毒方法消毒之后, 半埋于灭菌的湿润石英砂中, 28℃ 培养, 大约 20 d 后长出菌丝。

在稻曲菌分离过程中, 使用加入高浓度抑制细菌抗生素的朐本哲氏或 PSA 培养基最为适宜^[33]。

4.3 稻曲病菌的遗传多样性

据谭小平等^[34-37]采用 RAPD 或 AFLP 分子标记技术的初步研究表明, 湖南、湖北、北京和四川等地稻曲病菌遗传较为稳定。同时采用 AFLP 的方法进行分析, 王梅^[38]认为, 稻曲病菌在短时间小范围内遗传稳定, 地域和寄主生长年份对遗传变异有影响。潘雅姣等^[39]也发现, 来自同一小区抽穗期不同的水稻品种以及相同水稻品种的稻曲病菌株之间其遗传背景存在较大差异。张敏等^[40]用 ERIC-PCR 方法分析, 认为稻曲病遗传多样性复杂, 山区的稻曲病菌遗传多样性更为丰富。综上所述, 不同的菌株、地区及分析方法表明的遗传多样性各有不同, 稻曲病菌群体遗传结构复杂, 稻曲病菌株的地理来源、水稻品种及水稻生长季节是影响稻曲病菌遗传多样性的主要因素^[41-43]。相同菌株对不同水稻品种致病力有显著差异, 同一水稻品种对不同菌株的抗病力也有较大差异^[44]。

5 稻曲病的侵染机制

5.1 侵染源

目前普遍认为, 稻曲病菌以菌核和厚垣孢子越冬, 其萌发所需的温湿度条件与水稻孕穗期的环境条件相吻合, 且均能产生次生分生孢子^[8, 45], 次生分生孢子能够萌发产生大量菌丝和次生分生孢子, 并附生性定殖于植物叶片及培养基上^[46], 因此厚垣孢子和子囊孢子均可作为侵染源。研究初期认为, 稻曲球上厚垣孢子基数大, 而菌核只存在于少数稻曲球上, 厚垣孢子是主要侵染源, 但是厚垣孢子的活力会随着保存时间的延长急剧降低^[47]。稻曲病菌的菌核却可在保存数月后萌发产生大量子囊孢子, 且能够覆盖至水稻的孕穗期^[48-49]。近年大量研究发现, 稻曲发病区域的菌核数量远比想象的要多^[50-51], 在亚热带地区菌核数最高可达 225 万个/hm²^[49]。此外, 利用微生物制剂降解田间菌核可成功减轻稻曲病的发生^[52], 说明菌核作为初侵染源在稻曲病的侵染循环中发挥着重要的作用, 而厚垣孢子主要在季节间传播发挥重要作用^[49]。有报道称, 田间常见杂草如旱黍草和马唐等可为稻曲病菌的转主寄主, 但是自然中这种现象非常少见且缺少分子鉴定的证据, 可见转主寄主在稻曲病菌侵染循环中的作用微乎其微^[53-54]。

5.2 扩展方式

近年来, 随着组织解剖的日渐精细及荧光标记手段的运用, 发现稻曲病菌在侵入水稻花器后并未杀死寄主细胞^[9]。在整个侵染过程中, 稻曲病菌从活体寄主

获取养分, 甚至可以模拟受精信号拦截养分从而使病粒生存的更加长久^[10]。对正在发育的稻曲球进行解剖发现, 花药和子房等花器仍然存活, 甚至在已经成熟的稻曲球内仍能观察到存活的子房^[9, 55]。综上所述, 稻曲病菌为活体寄生型病原真菌。

有研究发现, 稻曲病菌可以侵染水稻种子萌发初期的胚芽鞘组织细胞和幼苗的根部进行无明显病状的定殖, 并且能在除了花器以外的其它组织中检测到稻曲病菌^[56-57]。但是最新的研究表明, 胚芽鞘和幼苗染病后与稻曲球的形成之间没有关系^[49]。解剖稻曲病菌侵染后的水稻花梗并未发现菌丝进入花梗和茎干组织中, 这说明稻曲病菌并非由维管组织蔓延至水稻花器^[9, 58]。对水稻穗部进行套袋能明显减轻稻曲病的发病情况, 也表明稻曲病菌的侵染发生于孕穗期^[59]。除此之外, 使用药剂浸种后对稻曲病并无防效, 对水稻催芽后接种稻曲病菌后期也不会发病^[60]。总而言之, 尽管稻曲病菌能够侵染水稻的一些幼嫩组织, 但是并不能说明其为系统性病害, 目前的研究结果更倾向于稻曲病菌为水稻穗部特异性病害。

5.3 侵染过程

组织解剖发现, 稻曲病菌在水稻孕穗期侵染正在发育但尚未受精的小穗, 感染后不能正常受精形成种子^[9, 61]。ASHIZAWA 等^[62]用 GFP 荧光标记的菌株在水稻孕穗期进行人工接种发现, 稻曲病菌的分生孢子在小穗表面萌发形成菌丝, 逐渐通过外稃和内稃的间隙侵入小穗内部。由于此时并未发现小穗上有感染部位, 因而该阶段可能是稻曲病菌进行附生性定殖阶段。随着菌丝的不断侵入, 包括花药、花丝、柱头和浆片的整个花器被菌丝完全包裹, 逐渐形成稻曲球。同样采用 GFP 标记菌株, HU 等^[62]认为, 稻曲病菌最先定殖于雄蕊的花丝。TANG 等^[9]通过对人工接种和自然发病的稻曲球进行细致的组织解剖认为, 稻曲病菌主要侵染雄蕊的花丝, 偶尔侵染柱头和浆片, 并未发现侵染子房。稻曲病菌的菌丝沿着雄蕊花丝基部不断侵染, 并未产生附着胞或吸器等特异性侵染结构^[9]。综上, 稻曲病菌在水稻孕穗期通过侵染水稻花丝形成病害, 至于自然界中分生孢子在何时以何种方式进入水稻小穗尚未可知。

5.4 稻曲病菌的人工接种

由于稻曲病的发病对温湿度等环境条件要求较高, 因而人工接种是稻曲病研究中的一大难题。稻曲病菌的人工接种方法主要有注射法和喷雾法, 常用的接种菌源有稻曲病菌的分生孢子、新鲜的厚垣孢子和子囊孢子。目前接种效果较好的方案为: 选择产孢量高和

孢子萌发率好的菌株,使用PBS振荡培养5~7 d后将菌丝打碎与孢子液混合后在水稻孕穗中后期进行注射接种。稻曲菌接种通常选择在傍晚,将注射针头呈45°夹角向下插入水稻穗苞中部,注入接种液直至液体溢出。模拟田间发病的阴雨天气,调节温棚内温度在22℃~25℃之间,用喷淋处理,使相对湿度处于水稻抽穗后外表保持湿润的状态。人工接种10 d左右出现病粒,解剖病粒可见花药、花丝和花柱被白色菌丝缠绕和包围^[63-64]。

6 稻曲病菌的基因组和致病基因的研究

6.1 稻曲病菌基因组

稻曲病菌基因组大小约为39.4 Mb,基因密度较低,预测包含8 426个编码基因。基因组序列进化分析表明,稻曲病菌与绿僵菌属的亲缘关系最近。基因组数据分析表明,稻曲病菌多糖降解机制薄弱,几乎不能降解果胶纤维素等细胞壁成分,稻曲病菌参与营养吸收、能量代谢及附着胞形成的蛋白数量少,从寄主获得营养的能力较为有限。稻曲病菌中参与次级代谢的蛋白数量少,对寄主产生的植物保护素解毒作用差,寄主适应范围小。这也许是稻曲病只能从水稻花器获得大量营养从而形成病害的遗传基础^[65]。在此基础上,ZHANG等^[66]结合基因组和基因表达谱,构建了蛋白互作数据库(<http://sunlab.cau.edu.cn/uvpid/>),为稻曲病菌基因功能及与水稻互作机制的研究提供便利。

6.2 稻曲病菌的致病基因

由于同源重组等定向敲除靶基因的方法在稻曲病菌中敲除效率很低,因而目前对稻曲病菌致病基因的研究相对较少。目前,通过T-DNA随机插入的方法,获得了*UvSpo76*、*Uvt-726*、*UvSUN2*、*UvT-B1464R*和*Uvt-1241*基因的插入突变体,初步研究表明这些基因与稻曲病菌孢子形成、菌丝生长和致病性相关^[67-71]。目前为止,仅有*UvHOG1*、*UvPRO1*、*Uvt3277*和*UvSLT2*这4个基因通过定向敲除或RNAi的方法明确了其功能^[71-74],其中,*UvHOG1*参与应激反应、菌丝生长和次级代谢^[72],*UvPRO1*和*Uvt3277*参与孢子形成、菌丝生长和致病性^[71,73],*UvSLT2*基因与应激反应和产孢量相关。其中,*UvSLT2*研究中使用了CRISPR-Cas9和同源重组相结合的方法,这是目前稻曲病菌基因定向敲除最有效的方法,为稻曲病菌基因功能研究打下了基础。

此外,效应蛋白可能与稻曲病菌的致病性密切相关,在稻曲病菌628个分泌蛋白中超过18个效应蛋白能够抑制寄主的超敏反应,13个效应蛋白会导致本生

烟细胞死亡。由此可见,稻曲病菌的效应蛋白可能在应对植物防御机制的过程中发挥着重要作用^[75]。

7 稻曲病的防治

7.1 抗病品种的筛选

选育抗病品种是减轻稻曲病危害最经济和有效的措施。水稻品种间对稻曲病的抗性差异很大,目前尚未发现完全不感病的品种。通过对不同类型品种进行抗性鉴定后发现,感病趋势一般表现为:糯型品种>粳型品种>籼型品种,晚稻>早稻,杂交稻>常规稻,籼型三系杂交稻>籼型两系杂交稻^[76-77]。鉴定抗性基因以及筛选与抗性基因紧密连锁的分子标记,通过分子标记辅助选择抗病品种,是提高水稻品种抗病能力的有效途径^[78]。李余生等^[79-80]利用抗性品种与感病品种构建重组自交系,研究表明,稻曲病抗性遗传存在主基因效应,有2对等效主基因加多基因混合的遗传模式。综合徐建龙和李余生等选择抗性父本和感病母本创建近等基因系通过分子标记进行基因定位的结果,与抗病性相关的主效基因可能存在于第10号和11号染色体上^[81-82]。根据水稻基因组检索出的抗性同源序列,以具有结构共性的保守序列为基础设计简并引物,可用RGA-PCR技术检测不同水稻品种的稻曲病抗性,使抗性品种的筛选更为简易^[83-84]。目前,对稻曲病病原菌学缺乏深入系统的研究,稻曲病人工接种难度较大,稻曲病抗源筛选条件缺乏等原因致使抗性品种的筛选和鉴定相对滞后。因而对稻曲病菌的生活史、致病机制以及稻曲病-水稻相互作用机制等理论基础进行深入的研究尤为重要和迫切。

7.2 化学防治

目前稻曲病最常用且有效的防治方法是在孕穗早期使用杀菌剂,大部分杀菌剂如立克秀、丙环唑、苯醚甲环唑和井冈霉素等均有较好防效^[23]。黄世文等^[85-86]认为,在“叶枕平”、破口期分2次细雾喷雾施用750 g/hm² NXF2014-12对稻曲病防效较好。王庆庆等^[87]认为,具体的喷药时间根据穗型不同有所区别,大穗型在接近一半主穗旗叶叶枕到达2叶时即抽穗前10~15 d,小穗型在绝大部分主穗叶枕平时即抽穗前5~7 d喷施效果理想。发病较重的田块可在齐穗期再次施药以减少稻曲病的发生与传染^[88]。但是过度依赖化学农药容易使病原菌产生抗药性,并且会造成环境污染。

7.3 生物防治

生物农药具有无毒无残留、不易产生抗药性及绿色环保等特点,是防治稻曲病的重要手段。目前应用较

多的是生防细菌,如复配枯草芽孢杆菌水剂纹曲宁^[89]。真菌类的木霉菌处于防治稻曲病的试验阶段,对稻曲病菌的抑制活性亦较高^[90]。另外,还可利用基因工程的方法诱导 Harpin 蛋白,激发水稻产生抗病性从而有效抑制稻曲病的发生^[92]。由于自然环境差别较大,生防菌在受到温湿度等外界环境影响的条件下,防治效果会随着其定殖能力的变差而降低,具有不稳定性。因而在实际生产运用中需要不断的优化生防菌的定殖能力,也可与化学农药交替使用,从而增强对稻曲病的防治效果^[93]。

7.4 合理的栽培措施

由于稻曲病的发生受自然环境影响较大,优先选择生育期较早的水稻品种,避免孕穗期与稻曲病发生所需的低温高湿环境相重叠,尽可能选择抗倒伏、抗病品种。播种前,用杀菌剂拌种或浸种有利于增强种子抗病性,但是目前种子处理是否可以防治稻曲病尚有争议。插秧前翻耕土地,铲除杂物以消灭越冬菌核。种植过程中避免因种植密度较大造成稻田通风情况差、湿度偏高,给稻曲病的发生提供优良的环境条件。种植过程中合理施肥,尤其是氮肥,过量施用易导致稻株叶片过大且稻株氮碳比失调,造成水稻贪青晚熟,容易发病。此外,通过科学灌水,增强根系活力,可以提高抗病性。田间早期发现稻曲球,应及时将染病植株移出田块避免传染,水稻收获后需进行深翻,并撒生石灰进行消毒。

8 问题与展望

如今,越来越多的研究者致力于抗稻曲病基因的鉴定和稻曲病致病机制的研究。然而,尚有很多问题需要我们去探索,比如:稻曲病菌在田间如何越冬?自然界中稻曲病菌感染水稻的过程是怎样?稻曲菌能否产生更多类型的毒素,这些毒素对人畜有何危害?效应蛋白和致病基因在稻曲病菌感染过程中如何发挥作用?稻曲病菌如何拦截水稻的营养供应?水稻中是否存在抗稻曲病的基因?如何通过快速早期诊断预测稻曲病的发生和流行?随着稻曲病菌基因组序列的公布和稻曲病菌基因敲除以及人工接种方法的优化,这些问题的解答将为控制稻曲病的发生提供新的视角。

参考文献

- [1] TANAKA E, ASHIZAWA T S, TANAKA C. *Villosiclava virens* gen. nov., comb. nov., teleomorph of *Ustilagoidea virens*, the causal agent of rice false smut[J]. *Mycotaxon*, 2008, 106: 491-501.
- [2] RUSH M C, AKM S, JONES J P, et al. Outbreak of false smut of rice in Louisiana[J]. *Plant Disease*, 2007, 84(1): 100-105.
- [3] GUO X, LI Y, FAN J, et al. Progress in the study of false smut disease in rice[J]. *JAST*, 2012, 11: 1211-1217.
- [4] IKEGAMI H. Studies on the false smut of rice. IX. Occurrence and development of sclerotia of the rice false smut fungus [J]. *Research Bulletin of the Faculty of Agriculture, Gifu University*, 1963, 18: 47-53.
- [5] KOISO Y, LI Y, IWASAKI S, et al. Ustiloxins, antimitotic cyclic peptides from false smut balls on rice panicles caused by *Ustilagoidea virens*[J]. *J Antibiot*, 1994, 47(7): 765-773.
- [6] 田鸿, 陶家凤. 水稻稻曲病菌厚垣孢子萌发特性及稻曲病菌毒素对水稻、玉米、小麦种子萌发的影响[J]. *西南农业学报*, 2000, 13(3): 113-116.
- [7] IKEGAMI H. Studies on the false smut of rice, IV. Infection of the false smut due to inoculation with chlamydospores and ascospores at the booting stage of rice plants[J]. *Research Bulletin of the Faculty of Agriculture, Gifu University*, 1960, 45-51.
- [8] WANG G. The sexual stage of *Ustilagoidea virens* and the infection process of ascospores on rice [J]. *Journal of Zhejiang Wanli University*, 1995, 4(1): 1-7.
- [9] TANG Y, JIN J, HU D, et al. Elucidation of the infection process of *Ustilagoidea virens* (teleomorph: *Villosiclava virens*) in rice spikelets[J]. *Plant Pathol*, 2013, 62(1): 1-8.
- [10] FAN J, GUO XY, LI L, et al. Infection of *Ustilagoidea virens* intercepts rice seed formation but activates grain-filling-related genes[J]. *J Integr Plant Biol*, 2015, 57(6): 14-16.
- [11] SUZ UKI M, KETTERLING M G, LI Q B, et al. Viviparous1 alters global gene expression patterns through regulation of abscisic acid signaling[J]. *Plant Physiol*, 2003, 132(3): 1 664-1 677.
- [12] 陈月娣, 王超, 徐铁平, 等. 籼梗交超级晚梗稻曲病药剂控制时机的探讨[J]. *浙江农业科学*, 2013(11): 1 451-1 453.
- [13] KOISO Y, MORISAKI N, YAMASHITA Y, et al. Isolation and structure of an antimitotic cyclic peptide, ustiloxin F: chemical interrelation with a homologous peptide, ustiloxin B [J]. *J Antibiot*, 2010, 29(39): 15-21.
- [14] WANG X, WANG J, LAI D, et al. Ustiloxin G, a new cyclopeptide mycotoxin from rice false smut balls[J]. *Toxins*, 2017, 9(2): 54-60.
- [15] LIN X, BIAN Y, MOU R, et al. Isolation, identification, and characterization of *Ustilagoidea virens* from rice false smut balls with high ustilotoxin production potential [J]. *J Basic Microbiol*, 2018, 58(8): 647-716.
- [16] SUN W, WANG A, XU D, et al. New Ustilaginoidins from rice false smut balls caused by *Villosiclava virens* and their phytotoxic and cytotoxic activities[J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(25): 5 151-5 162.
- [17] SUN W, DONG X, XU D, et al. Preparative separation of main Ustilaginoidins from rice false smut balls by high-speed counter-current chromatography[J]. *Toxins*, 2016, 8(1): 20-25.
- [18] MENG J, SUN W, MAO Z, et al. Main Ustilaginoidins and their distribution in rice false smut balls [J]. *Toxins*, 2015, 7(10): 4 023 - 4 034.
- [19] LU S, SUN W, MENG J, et al. Bioactive bis-naphtho- γ -pyrones from rice false smut pathogen *Ustilagoidea virens* [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(13): 3 501-3 508.

- [20] 季宏平. 水稻稻曲病产量损失及药剂防治的初步研究[J]. 黑龙江农业科学, 2000 (4): 8-19.
- [21] 谢子正, 赵帅锋, 许渭根, 等. 籼粳杂交稻稻曲病病情分级标准研究[J]. 中国稻米, 2018, 24 (1): 64-67.
- [22] 饶汉宗, 谢子正, 李阳, 等. 浙南山区单季杂交稻稻曲病发生与气候的关系及防控[J]. 中国稻米, 2018, 24(5): 85-92.
- [23] 陆明红, 刘万才, 朱凤. 稻曲病近年流行规律及治理对策探讨[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(5): 45-48.
- [24] 张宝棣, 黎毓干, 康必鉴. 广东稻曲病的研究稻曲菌生理特性及厚垣孢子微观特征[J]. 云南农业大学学报, 1995, 10(1): 35-39.
- [25] 邓启得. 菌核在稻曲病菌生活史中的作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [26] KIM KW, PARK E W. Ultrastructure of spined conidia and hyphae of the rice false smut fungus *Ustilaginoidea virens* [J]. *Micron*, 2007, 38(6): 626-631.
- [27] 燕玮婷, 刘二明, 邓林伟, 等. 稻曲病菌不同颜色厚垣孢子超微结构比较[J]. 植物病理学报, 2010, 40(5): 538-542.
- [28] 王疏, 白元俊, 周永力. 稻曲病菌的病原学 [J]. 植物病理学报, 1998, 28(1): 20-25.
- [29] 吕建平, 缪巧明, 杨虹, 等. 稻曲病厚垣孢子在侵染循环中的作用[J]. 西南农业学报, 1994, (4): 93-97.
- [30] 王疏, 白元俊, 周永力, 等. 稻曲病菌的病原学[J]. 植物病理学报, 1998, 28(1): 19-24.
- [31] MULDER J L, HOLLIDAY P. *Ustilaginoidea virens* descriptions of fungi and bacteria [J]. *Imi Descriptions of Fungi & Bacteria*, 1971, 30: 299-306.
- [32] 张君成, 张炳欣, 陈志谊, 等. 稻曲病菌分生孢子的生物学研究[J]. 植物病理学报, 2003, 33(1): 44-47.
- [33] 周永力, 章琦. 稻曲病菌分离技术的初探 [J]. 中国水稻科学, 1999, 13(3): 186-188.
- [34] 谭小平, 宋建伟, 刘二明, 等. 湖南稻曲病菌群体遗传多样性分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2008, 34(6): 694-697.
- [35] 李阳. 稻曲病菌的生物学、侵染特性及遗传多样性研究[D]. 华中农业大学, 2007.
- [36] 周永力, 樊金娟, 曾超珍, 等. 稻曲病菌遗传多样性与群体结构的初步分析[J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 442-448.
- [37] 陈元平. 四川稻曲病菌群体多样性研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2008.
- [38] 王梅. 水稻对稻曲病的田间抗性及其稻曲病菌群体遗传结构研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007.
- [39] 潘雅姣, 樊金娟, 付彬英, 等. 采用 AFLP 技术分析稻曲病菌的遗传多样性 I: 同一块稻田中稻曲病菌的遗传结构[J]. 植物病理学报, 2006, 36(4): 337-341.
- [40] 张敏, 李竞生, 刘坚, 等. 四川省籼稻区水稻稻曲病菌遗传多样性分析[J]. 植物保护学报, 2009, 36(2): 113-118.
- [41] WANG W B, ZHANG R S, LUO C P, et al. Biological characteristics and genetic diversity of *Ustilaginoidea virens* from rice regions in China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(14): 2 762-2 773.
- [42] WANG F, ZHANG S, LIU M G, et al. Genetic diversity analysis reveals that geographical environment plays a more important role than rice cultivar in *Villosiclava virens* population selection[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(9): 2 811-2 820.
- [43] SUN X, KANG S, ZHANG Y, et al. Correction: genetic diversity and population structure of rice pathogen *Ustilaginoidea virens* in China [J]. *Plos One*, 2013, 8(9): 1-10.
- [44] 尹小乐, 陈志谊, 于俊杰, 等. 江苏省水稻区域试验品种对稻曲病的抗性评价及稻曲病菌致病力分化研究 [J]. 西南农业学报, 2014, 27(4): 1 459-1 465.
- [45] WANG G L. Studies on the infection period and the infection gate of the chlamydospores of *Ustilaginoidea virens* (Cooke) Tak. on rice[J]. *J Plant Protect*, 1992, 51(6): 425-426.
- [46] FAN J, GUO X Y, HUANG F, et al. Epiphytic colonization of *Ustilaginoidea virens* on biotic and abiotic surfaces implies the widespread presence of primary inoculum for rice false smut disease [J]. *Plant Pathol*, 2014, 63(4): 937-945.
- [47] FAN R H, WANG Y Q, LIU B, et al. The process of asexual spore formation and examination of chlamydospore germination of *Ustilaginoidea virens*[J]. *Mycosystema*, 2010, 6(3): 77-78.
- [48] SINGH R A and DUBEY K S. Effect of different treatments on the dormancy of sclerotia of *Claviceps oryzae-sativae*[J]. *Curr Sci*, 1980, 3: 115-116.
- [49] MINGLI Y, QIDE D, LINLIN F, et al. The role of *Ustilaginoidea virens* sclerotia in increasing incidence of rice false smut disease in the subtropical zone in China [J]. *Eur J Plant Pathol*, 2018, 150(3): 669-677.
- [50] 金敏忠, 黎煜. 水稻稻曲病菌菌核田间发生情况调查[J]. 浙江农业科学, 1987(5): 238-239.
- [51] FAN L L, YONG M L, LI D Y, et al. Effect of temperature on the development of sclerotia in *Villosiclava virens* [J]. *J Integr Agr*, 2016, 15(11): 2 550-2 555.
- [52] 李丹阳, 邓启得, 雍明丽, 等. 稻曲病菌菌核降解微生物的筛选与作用机制分析[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(2): 258-264.
- [53] SHETTY S A, SHETTY H S. An alternative host for *Ustilaginoidea virens* (Cke.) Tak[J]. *Intern Rice Res News*, 1985.
- [54] SHETTY S A, SHETTY H S. Role of *Panicum trypheron* in annual recurrence of false smut of rice[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1987, 88(3): 409-411.
- [55] ASHIZAWA T, TAKAHASHI M, ARAI M, et al. Rice false smut pathogen, *Ustilaginoidea virens*, invades through small gap at the apex of a rice spikelet before heading [J]. *J Gen Plant Pathol*, 2012, 78(4): 255-259.
- [56] IKEGAMI H. Studies on the false smut of Rice. Y. Seedling inoculation with the chlamydospores of the false smut fungus [J]. *Jpn J Phytopathol*, 1962, 27: 16-23.
- [57] SCHROUD P, TEBEST D O. Germination and infection of rice roots by spores of *Ustilaginoidea virens*[J]. *AAES Res Ser*, 2005, 540: 143-151.
- [58] LI W, LI L, FENG A, et al. Rice false smut fungus, inhibits pollen germination and degrades the integuments of rice ovule [J]. *Am J Plant Sci*, 2013, 4(12): 2 295-2 304.
- [59] 邓根生, 陈嘉孚, 杨治华, 等. 稻曲病菌厚垣孢子在侵染循环中作用的研究[J]. 中国农学通报, 1990, 6(2): 20-22.
- [60] 杜毅, 褚茗莉, 王疏, 等. 稻曲病发生规律与栽培防治研究初报[J]. 辽宁农业科学, 1990(6): 11-14.
- [61] JING F, GUO X Y, LIANG L, et al. Infection of *Ustilaginoidea virens* intercepts rice seed formation but activates grain - filling - related

- genes[J]. *J Integr Plant Biol*, 2015, 57(6):14-19.
- [62] HU M, LUO L, WANG S, et al. Infection processes of *Ustilaginoidea virens* during artificial inoculation of rice panicles [J]. *Eur J Plant Pathol*, 2014, 139(1): 67-77.
- [63] 杨秀娟, 王舒婷, 阮宏椿, 等. 水稻稻曲病室内人工接种技术[J]. 植物保护学报, 2011, 38(5):395-400.
- [64] 王舒婷. 水稻稻曲病人工接种技术及病菌遗传多样性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [65] ZHANG Y, ZHANG K, FANG A, et al. Specific adaptation of *Ustilaginoidea virens* in occupying host florets revealed by comparative and functional genomics[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 1 156-1 163.
- [66] ZHANG K, LI Y, LI T, et al. Pathogenicity genes in *Ustilaginoidea virens* revealed by a predicted protein-protein interaction network[J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(3): 12-19.
- [67] YU J J, NIE Y F, YU M N, et al. Characterization of T-DNA insertion flanking genes of enhanced-conidiation *Ustilaginoidea virens* mutant A2588[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(24): 5 132-5 141.
- [68] HUANG L, YU M, HU J, et al. Analysis of biological phenotypes and molecular cloning of T-DNA integration flanking sequences of *Ustilaginoidea virens* mutant strain B-726[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(16): 3 344-3 353.
- [69] YU M, YU J, HU J, et al. Identification of pathogenicity-related genes in the rice pathogen *Ustilaginoidea virens* through random insertional mutagenesis[J]. *Fungal Genet Biol*, 2015, 76: 10-19.
- [70] WANG Y H, LIU Y F, LU F, et al. Molecular characterization of T-DNA integration into *Ustilaginoidea virens* mutant B1464 [J]. *Chin J Rice Sci*, 2015, 29(3): 311-318.
- [71] LV B, ZHENG L, LIU H, et al. Use of random T-DNA mutagenesis in identification of gene *UvPRO1*, a regulator of conidiation, stress response, and virulence in *Ustilaginoidea virens* [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7(100): 2 086-2 089.
- [72] ZHENG D, YI W, YU H, et al. *UvHOG1* is important for hyphal growth and stress responses in the rice false smut fungus *Ustilaginoidea virens*[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 24 824-24 827.
- [73] ZHENG M T, DING H, HUANG L, et al. Low-affinity iron transport protein *Uvt3277* is important for pathogenesis in the rice false smut fungus *Ustilaginoidea virens*[J]. *Curr Genet*, 2016, 63(1): 1-14.
- [74] LIANG Y, HAN Y, WANG C, et al. Targeted deletion of the *USTA* and *UvSLT2* Genes efficiently in *Ustilaginoidea virens* with the CRISPR-Cas9 System[J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 699-703.
- [75] FANG A, HAN Y, ZHANG N, et al. Identification and characterization of plant cell death-inducing secreted proteins from *Ustilaginoidea virens*[J]. *MPMI*, 2016, 29(5): 405-409.
- [76] 姜慎. 34 个水稻品种对稻曲病的抗性评价及抗相关稻曲病的生化分析[D]. 海口: 海南大学, 2010.
- [77] 刘永锋, 陆凡, 陈志谊. 江苏省水稻主栽及后备品种对稻曲病的抗性[J]. 作物杂志, 2000(6):11-13.
- [78] 黄桃翠, 范玉刚, 李贤勇. 水稻稻曲病抗性育种研究进展[J]. 农业科技通讯, 2017(5):207-211.
- [79] LI Y S, HUANG S D, YANG J. Analysis of quantitative trait loci for resistance to rice false smut [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(5): 778-783.
- [80] 李余生, 朱镇, 张亚东, 等. 水稻稻曲病抗性的主基因+多基因混合遗传模型分析[J]. 作物学报, 2008, 34(10):1 728-1 733.
- [81] 徐建龙, 薛庆中, 罗利军, 等. 近等基因导入系定位水稻抗稻曲病数量性状位点的研究初报 [J]. 浙江农业学报, 2002, 14(1):16-21.
- [82] 李余生, 黄胜东, 杨娟, 等. 水稻抗稻曲病数量性状座位及效应分析[J]. 作物学报, 2011, 37(5):778-783.
- [83] 郑先武, 翟文学, 李晓兵, 等. 水稻 NBS-LRR 类 R 基因同源序列[J]. 中国科学, 2001, 31(1):43-51.
- [84] 余育超. 全球水稻微核心种质抗病基因同源序列多态性及与稻曲病抗性关联的分析[D]. 成都: 四川师范大学, 2012.
- [85] 汪爱娟, 王国荣, 孙磊, 等. 稻曲病防治药剂筛选及防控技术研究[J]. 中国稻米, 2015, 21(6):45-51.
- [86] 乐丽红, 陈忠平, 程飞虎. 南方粳稻稻曲病防治药剂及防治适期探讨[J]. 中国稻米, 2018, 24(2):60-63.
- [87] 王庆庆, 黄典平, 任功平, 等. 水稻稻曲病的发生机理与防治[J]. 农业科技通讯, 2017(10):177-179.
- [88] 胡东维, 梁五生, 赖朝晖. 稻曲病菌成灾机制与防控技术研究进展[J]. 植物保护学报, 2018, 1:1-5.
- [89] 刘邳洲, 陈志谊, 傅锡敏, 等. 生物杀菌剂纹曲宁田间高效使用技术研究[J]. 江苏农业科学, 2006(3):76-77.
- [90] 石华. 防治稻曲病——生防杀菌剂研制成功 [N]. 农民日报, 2014-02-29(4版).
- [91] 梁志怀, 魏林, 安哲宇, 等. 生防木霉菌耐三唑类杀菌剂菌株的选育[J]. 中国生物防治学报, 2010, 26(1):60-65.
- [92] 邵敏, 吴智丹, 陈宝君, 等. 转 *hrl* 基因水稻对稻曲病抗性分析[J]. 中国生物防治学报, 2008, 24(4):335-338.
- [93] 马佳, 张薇, 耿雷跃, 等. 水稻稻曲病生物防治研究进展[J]. 河北农业科学, 2016, 20(5):59-62.

Research Progress of Rice False Smut

CHEN Xu, QIU Jiehua, XIONG Meng, SHU Yazhou, HUANG Shiwen, KOU Yanjun*

(China National Rice Research Institute/State Key Laboratory of Rice Biology, Hangzhou 310006; 1st author: chenxu0227@126.com; *Corresponding author:kouyanjun@caas.cn)

Abstract: Rice false smut, caused by *Ustilaginoidea virens*, results in seriously yield losses and grain quality reduction in rice. Recently, it has risen from a minor disease to one of the most devastating fungal diseases of rice. With the deepening of the research on the *U. virens*, a better understanding of the pathogenic mechanism of *U. virens* was acquired and the new prevention and disease control technologies were developed. In this review, the harm, biological characteristics and pathogenic mechanism of rice false smut were summarized in order to provide a theoretical basis for the continuous and in-depth study of rice false smut and a reference for the development of new method for the control of rice false smut.

Key words: rice false smut; rice; biological characteristics; infection mechanism