

稻瘟病抗性基因的鉴定及利用进展

鄂志国¹ 张丽靖² 焦桂爱¹ 程本义¹ 王磊^{1,*}
(¹中国水稻研究所,浙江 杭州 310006 ;²浙江大学 宁波理工学院,浙江 宁波 315100 ; * 通讯联系人, E-mail : hzwanglei@gmail.com)

Highlights in Identification and Application of Resistance Genes to Rice Blast

E Zhi guo¹ , ZHANG Li jing² , JIAO Gui ai¹ , CHEN Ben yi¹ , WANG Lei^{1,*}
(¹China National Rice Research Institute , Hangzhou 310006 , China ; ²Ningbo Institute of Technology , Zhejiang University , Ningbo 315100 , China ; * Corresponding author , E mail : hzwanglei@gmail.com)

Abstract : Studies on host resistance to blast in rice have been extensively conducted since 1960s . Following the initial work of Kiyosawa's group in Japan for the identification of 14 resistance genes at eight loci and the development of Japanese differential cultivars (JDCs) , the inheritance of rice blast resistance was comprehensively studied at the International Rice Research Institute and in rice growing countries such as China . Up to December 2007 , at least 67 resistance alleles at 58 loci had been identified . These genes are located in cluster and distributed on all the rice chromosomes except chromosome 3 , of which 66 are dominant and the remaining one is recessive . Eight of the genes , namely , *Pi b* , *Pi ta* , *Pi z⁵* , *Pi z^t* , *Pi 9* , *Pi d2* , *Pi 36* and *Pi 37* , have been cloned , among which *Pi z⁵* , *Pi z^t* and *Pi 9* are allelic . Application of resistance genes to rice blast was also discussed .

Key words : rice ; rice blast ; resistance ; gene identification

摘 要 : 20 世纪 60 年代中期 ,日本率先开展了水稻品种抗稻瘟病基因分析的研究工作 ,鉴定了最初的 8 个抗性位点上的 14 个基因 ,并建立了一套抗稻瘟病基因分析用的鉴别体系 (JDCs , Japanese differential cultivars) ,随后 ,国际水稻研究所和中国等产稻国也逐渐开展了水稻稻瘟病抗性遗传的系统性研究。截至 2007 年 12 月 ,已至少报道了 58 个抗稻瘟病位点共 67 个主效基因。这些基因成簇地分布于除第 3 染色体外的所有水稻染色体上 ,其中 ,66 个为显性基因 ,1 个为隐性基因 ,包括 *Pi b*、*Pi ta*、*Pi z⁵*、*Pi z^t*、*Pi 9*、*Pi d2*、*Pi 36* 和 *Pi 37* 等 8 个已被克隆的基因 (*Pi z⁵*、*Pi z^t* 和 *Pi 9* 同为 *Pi z* 基因位点上的复等位基因) 。还讨论了合理利用抗性基因等问题。

关键词 : 水稻 ; 稻瘟病 ; 抗性 ; 基因鉴定

中图分类号 : Q943 . 2 ; S435 . 111 . 4 + 1 ; S511 . 034 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-7216(2008)05-0533-08

稻瘟病是由真菌 *Pyricularia grisea* Sacc . 引起的最具毁灭性的水稻病害之一 ,选育和利用抗病品种是控制稻瘟病的有效手段。然而 ,由于稻瘟菌小种的高度变异性 ,病原菌随着抗性基因的利用和布局 ,群体遗传结构随即发生变化 ,促使新老毒性基因不断交替。面对这种亘古不变的物种间生存竞争和协同进化 ,在探索持久抗性可行性的同时 ,还有相当一段时期要采用基因轮换、多基因聚合以及创造田间生物多样性等合理利用抗性基因的策略 ,而这都需要在不断发掘和鉴定抗性基因的基础上付诸实施。

20 世纪 60 年代以来 ,稻瘟病抗性基因的发掘和利用一直得到各国科学家的广泛关注。分子生物学技术加速了这一领域的发展 ,优异抗性基因 *Pi 9*、*Pi 33* 等的发现 ,掀起了发掘抗稻瘟病新基因的热潮 ,新基因的发现、鉴定、定位和克隆的报道屡见不鲜。本文对此作简要回顾 ,并对如何有效利用抗性基因进行探讨。

1 稻瘟病抗性基因鉴定的历史回顾

稻瘟病抗性的遗传分析工作最早可以追溯至 1922 年 ,但对水稻品种抗稻瘟病基因进行系统分析研究 ,直到 1966 年才由日本学者 Kiyosawa 及其研究小组率先开展^[1]。在分析比较了来自日本、中国、美国和菲律宾的多个抗性品种后 ,他们鉴定了 8 个位点上的 14 个抗性基因 ,即 *Pi k* 位点上的 *Pi k*、*Pi k^s*、*Pi k^p*、*Pi k^h* 和 *Pi k^m* , *Pi z* 位点上的 *Pi z* 和 *Pi z^t* , *Pi ta* 位点上的 *Pi ta* 和 *Pi ta²* ,以及 *Pi a*、*Pi b*、*Pi i*、*Pi t* 和 *Pi sh* ,继而以此为基础 ,建立了一套稻瘟病抗性基因鉴别体系 (JDCs , Japanese differential cultivars) ,每个 JDC 只携带一个稻瘟病

收稿日期 : 2007 12 18 ; 修改稿收到日期 : 2008 03 26。
基金项目 : 国家 863 计划资助项目 (2006AA10Z1E8) ; 农业部超级稻专项资助项目 (200706) ; 中国水稻研究所基本科研业务费资助项目 (2006RG006)。
第一作者简介 : 鄂志国 (1977 -) , 男 , 助理研究员 , 硕士研究生。

抗性基因^[1]。借助日本的 JDCs, 国际水稻研究所 (IRRI, International Rice Research Institute) 和中国、韩国等产稻国相继开展了早期稻瘟病抗性基因分析工作, 进而应用自己建立的近等基因系或筛选的抗源材料, 陆续发现了一批抗病新基因。

2 水稻抗瘟性类型和抗性基因鉴定进展

2.1 水稻对稻瘟病抗性的分类

水稻对稻瘟病的抗性大致可分完全抗性(或称质的抗性、主效基因抗性、垂直抗性等)和部分抗性(或称量的抗性、微效基因抗性、水平抗性等)两种。多数水稻品种的抗性属完全抗性, 受 1 对或数对主效基因控制, 呈显性或不完全显性, 个别呈隐性; 少数品种具有一定的抗性, 主要表现为田间发病轻, 受到微效基因的作用。一般而言, 主效基因具有很强的专化性, 决定品种的抗感差异, 但易因病原菌小种的更迭而丧失抗性; 微效基因专化抗性相对较弱, 往往与病斑大小等数量性状有关, 抗性不强但相对稳定。主效基因与微效基因相结合, 对维持水稻品种的持久抗性具有积极作用。

2.2 广谱抗瘟性主效基因的鉴定与定位

对多个稻瘟病生理小种表现抗性的基因, 称为广谱抗瘟基因。尽管水稻抗稻瘟病遗传研究已有较多的报道, 迄今已至少鉴定了 67 个主效抗性基因, 但是到目前为止, 已报道定位的广谱抗瘟性基因并不多。

Pi 33 是目前已知抗瘟基因中抗谱相当广的一个, 用从 55 个国家收集到的 2000 多个稻瘟菌小种对 *Pi 33* 进行抗谱检测, 发现 *Pi 33* 对其中绝大多数小种表现抗性^[2]。*Pi 33* 也是第一个报道的利用已克隆稻瘟菌毒性基因而预报的抗性基因, Berruyer 等^[2]通过观察对稻瘟菌毒性基因 *ACE1* 的反应, 筛选出含有与 *ACE1* 相对应抗性基因的品种 IR64, 随后利用 IR64 和易感品种 Azucena 杂交, 再通过加倍单倍体(DH)群体将它精细定位在第 8 染色体上标记 Y2643L 和 RM72 间的 (1.6 ± 0.2) cM 区间。

Pi 1 和 *Pi z⁵* 是另两个被定位的广谱高抗基因, *Pi z⁵* 目前已被克隆。1992 年, Mackill 等^[3-4]首先发现并命名了 *Pi 1* 和 *Pi 2(t)*, 并分别定位在第 11 染色体和第 6 染色体上, 经近等基因系等位性测定后发现 *Pi 1* 与 *Pi k* 紧密连锁, *Pi 2(t)* 与 *Pi z* 等位, 后将 *Pi 2(t)* 正式命名为 *Pi z⁵*。随后, Hittalmani 等^[5]将 *Pi 1* 进一步定位在标记 RZ536 与

Npb181 之间, 遗传距离分别为 7.9 cM 和 3.5 cM, 同时将 *Pi z⁵* 定位在 RZ612 与 RG64 之间, 图距分别是 7.2 cM 和 2.1 cM。Chen 等^[6]进行抗谱测定, 发现 *Pi 1* 和 *Pi z⁵* 对从中国收集到的 792 个稻瘟小种中的绝大部分表现抗性, 只有 7.55% 的小种能感染携带 *Pi z⁵* 的亲本 C101A51, 10.35% 的小种能感染 *Pi 1* 的亲本 C101LAC。

Pi i (*Pi 3*, *Pi 5*) 也表现出较广的抗谱。*Pi i* 基因的鉴定和定位早先曾出现过分歧, 但最终被 Jeon 等^[7]定位在第 9 染色体上 S04G03 与 C1454 之间的 170 kb 区间内, 并且被进一步证明与 *Pi 3*、*Pi 5* 是同一个基因^[8]。对 *Pi i* 抗谱测试, 发现它对属于 4 个菲律宾菌系的 6 个小种及 29 个韩国小种中的 26 个表现抗性^[7-8]。

近年来, 国内外一直十分重视发掘抗谱广、抗性强的持久抗瘟种质资源, 因为这些抗源的主效基因很可能具有较好的广谱持久抗性。相信随着研究的深入, 将会源源不断地有新的广抗谱主效基因被发现。截至 2007 年 12 月, 经国际注册或期刊报道的已定位主效抗稻瘟病基因达 67 个(表 1, 亦可访问国家水稻数据中心的基因数据库 <http://www.ricedata.cn/gene.htm> 浏览最新整理结果^[9]), 不仅拓宽了抗性遗传改良基因源, 也为基因间轮换和多基因聚合提供了选择基础。

2.3 抗瘟性数量性状座位(QTL)的鉴定与定位

在对主效抗瘟性基因进行鉴定的同时, 国内外有关学者也利用各类分子标记对一些持久抗瘟性品种进行了抗瘟性 QTL 分析。Wang 等^[22]利用 RFLP 标记在持久抗瘟性品种 Moroberekan 中定位了 19 个控制部分抗性的 QTLs, 它们共分布于 8 条染色体上, 其中, 10 个 QTLs 影响病斑数目, 7 个 QTLs 影响病叶面积, 2 个 QTLs 影响病斑大小, 研究还发现 19 个 QTLs 中有 3 个 QTLs 位于主效抗瘟基因 *Pi 7* 附近。Fukuoka 和 Okuno^[33]从田间抗性品种 Owarihatamochi 中利用 SSR 标记和 RFLP 标记定位了 4 个抗瘟性 QTLs, 分别位于第 4、第 9 和第 12 染色体上, 它们共解释 66.3% 的田间抗性变异, 并利用回交系将其中贡献率最大的 QTL (*pi 21*, 贡献率为 45.7%) 定位于第 4 染色体上两个分子标记 G271 与 G317 之间, 遗传图距分别是 5.0 cM 和 8.5 cM, 同时, *pi 21* 亦是第一个被定位的隐性抗瘟性基因位点。Zembayashi 等^[37-38]从 Chubu 32 中发现一个作用较大的 QTL, 能解释 45.6% 的表型抗性变异, 后命名为 *Pi 34* 并将它定位于第 11

表 1 截至 2007 年 12 月已定位的主效稻瘟病抗性基因

Table 1 .Summary of identified major resistance genes to rice blast up to December 2007 .

基因位点	等位基因	所用菌株(小种)	代表品种	染色体	连锁标记	参考文献
Gene locus	Allele	Strain (race) used	Representative variety	Chromosome	Linked marker	Reference
<i>Pi a</i>		B90002	Aichi Asahi	11		[1 ,10]
<i>Pi b</i> [#]		BN209	IR24 , BL1	2		[1 ,11]
<i>Pi f</i>		-	Chugoku 31- 1	11		[12]
<i>Pi i</i> (<i>Pi 3</i> , <i>Pi 5</i>)		PO6- 6 , PO3- 82 51	Tetep	9	S04G03 C1454	[7 , 8]
<i>Pi k</i>	<i>Pi k</i>	PO6- 6 , Ca89 , etc .	Kusabue	11		[1]
	<i>Pi k^g</i> (t)	日本小种 031 .1 ,etc .	GA20	11		[13]
	<i>Pi k^e</i>	V850196	Shin 2 , IR24	11	R543(2 .0 cM)	[1 , 13- 14]
	<i>Pi k^p</i>	PO6- 6 , Ca89 , etc .	K60	11		[1]
	<i>Pi kⁿ</i>	PO6- 6 , Ca89 , etc .	K3	11		[1 ,10]
	<i>Pi k^m</i>	PO6- 6 , Ca89 , etc .	Tsuyuake	11		[1]
<i>Pi sh</i>		Kyu77- 07A	Shin 2	1	<i>Pi t</i>	[1]
<i>Pi t</i>		V86010	K59	1		[1]
<i>Pi ta</i>	<i>Pi ta</i> (<i>Pi4</i>) [#]	IK81- 3 , IK81- 25	Pai kan- tao	12	RG241(5 .2 cM) , RZ397(3 .3 cM)	[3- 5]
	<i>Pi ta</i> ²	PO6- 6 , PO3- 82 51	Pi No .4	12	XNpb 088(0 .7 cM)	[3- 5 ,15]
<i>Pi z</i>	<i>Pi z</i>	IE- 1k	Fukunishiki	6	MRG5836(2 .9 cM)	[1 , 16]
	<i>Pi z</i> ⁵ (<i>Pi z</i>) [#]	IK81- 3 , IK81- 25 , etc .	A5173	6	RZ612(7 .2 cM) , RG64(2 .1 cM)	[3- 5]
	<i>Pi z</i> ^{t#}	IK81- 25 , PO6- 6 , etc .	Toride 1	6		[17]
	<i>Pi g</i> [#]	PO- 6 6	75- 1127	6		[18]
<i>Pi d</i> (t) ¹		ZB13	地谷 Digu	2	G1314A(1 .2 cM) , G45(10 .6 cM)	[19- 20]
<i>Pi d</i> 2 [#]		ZB15	地谷 Digu	6	RM527(3 .2 cM) , RM3(3 .4 cM)	[19- 20]
<i>Pi 1</i>		IK81- 3 , PO6 6 , etc .	LAC	11	RZ536(7 .9 cM) , Npb181(3 .5 cM)	[3- 5]
<i>Pi 6</i>		-	Apura	12	RG869 RG397	[21]
<i>Pi 7</i>		-	Moroberekan	11	RG103A RG16	[22]
<i>Pi 8</i>		日本小种 007 .0 , etc .	Kasalath	6	<i>Amp 3</i> , <i>Pgi 2</i>	[23]
<i>Pi 10</i> (t)		菲律宾小种 106	Tongil	5	RRF6(3 .8 cM) , RRH18(2 .9 cM)	[24]
<i>Pi 11</i> (<i>Pi zh</i>)		中 10 8 1 , 研 54 04	窄叶青 8 号 Zhaiyeqing 8	8	BP127A(14 .9 cM)	[25]
<i>Pi 12</i> (t)		-	Moroberekan	11		[26]
<i>Pi 13</i>		-	Maowangu	6	<i>Amp 3</i>	[27]
<i>Pi 14</i>		-	Maowangu	2	<i>Amp 1</i>	[27]
<i>Pi 15</i> [#]		CHL0416 , etc .	GA25	9	<i>BAPi15^h₄₈₆</i> (0 .35 cM)	[28]
<i>Pi 16</i> (t)		日本小种 007 .0 , etc .	Aus 373	2	<i>Amp 1</i>	[29]
<i>Pi 17</i> (t)		-	DJ123	7	<i>Est9</i>	[30]
<i>Pi 18</i>		KI 313	Suweon 365	11	RZ536(5 .4 cM)	[31]
<i>Pi 19</i>		CHN058- 3 1	Aichi Asahi	12	<i>Pi ta</i> ²	[32]
<i>Pi 20</i>		BN111	IR24	12	XNph88(1 .0 cM)	[14]
<i>pi 21</i>		-	Owarihatamochi	4	G271(5 .0 cM) , G317(8 .5 cM)	[33]
<i>Pi 21</i> (t)		KJ 101	Suweon 365	12	RG869	[31]
<i>Pi 22</i> (t)		KJ 201	Suweon 365	6	<i>Pi 2</i>	[31]
<i>Pi 24</i>		92- 183(ZC15)	中 156 Zhong 156	12	RG241A(0 cM)	[34- 35]
<i>Pi 25</i>		92- 183(ZC15)	谷梅 2 号 Gumei 2	6	A7(1 .7 cM) , RG456(1 .5 cM)	[34- 35]
<i>Pi 26</i>		Ca89	谷梅 2 号 Gumei 2	6	B10(5 .7 cM) , R674(25 .8 cM)	[34- 35]
<i>Pi 27</i> (t)		CHL0335 , etc .	Q14	1	RM151(12 .1 cM) , RM259(9 .8 cM)	[36]
<i>Pi 33</i>		PH14 , PH19 , etc .	IR64	8	Y2643L(0 .9 cM) , RM72(0 .7 cM)	[2]
<i>Pi 34</i>		-	Chubu 32	11	C1172 C30038	[37- 38]
<i>Pi 35</i> (t)		-	Hokkai 188	1	RM1216 RM1003	[39]
<i>Pi 36</i> [#]		CHL39	Kasalath	8	RM5647 CRG2	[40- 41]
<i>Pi 37</i> [#]		CHL1405 , etc .	St . No . 1	1	RM543(0 .7 cM) , RM319(1 .6 cM)	[42- 43]
<i>Pi 38</i>		B157	Tadukan	11	RM206 , RM21	[44]
<i>Pi 39</i> (t)		CHL724	Q15	12	RM27933(0 .09 cM) , RM27940(0 .18 cM)	[45]
<i>Pi 40</i> (t)		韩国小种 Korean strain	IR65482- 4 136 2- 2	6	RM527(1 .1 cM) , RM3330(2 .4 cM)	[46]
<i>Pi 44</i> (t)		C9240- 1 , etc .	Moroberekan	11	AF349(3 .3 cM)	[47]
<i>Pi 62</i> (t)		-	Yashiro- mochi	12		[48]
<i>Pi 157</i> (t)		-	Moroberekan	12		[49]
<i>Pb1</i>		-	Modan	11	C189(1 .2 cM)	[50]
<i>Pi CO39</i> (t)		6082	CO39	11	S2712(1 .0 cM)	[51]
<i>Pi h 1</i> (t)		ZB1	红脚占 Hongjiaozhan	12	RG869 (5 .1 cM)	[52]
<i>Pi tq1</i>		IB 54 , IG 1	特青 Teqing	6	C236 RG653	[53]
<i>Pi tq5</i>		IB 54	特青 Teqing	2	RG520 RZ446b	[53]
<i>Pi tq6</i>		IG 1	特青 Teqing	12	RG869 RZ397	[53]
<i>Pi lm2</i>		IG 17 , IB 49	Lemont	11	R4 RZ536	[53]
<i>Pi GD 1</i> (t)		PO6- 6	三黄占 2 号 Sanhuangzhan 2	8	XLRF- 8(3 .6 cM)	[54]
<i>Pi GD 2</i> (t)		PO6- 6	三黄占 2 号 Sanhuangzhan 2	10	r16(3 .9 cM)	[54]
<i>Pi GD 3</i> (t)		PO6- 6	三黄占 2 号 Sanhuangzhan 2	12	RM179(4 .8 cM)	[54]
<i>Pi g</i> (t)		Ken53- 33	Guangchangzhan	2	RM166(4 .0 cM) , RM208(6 .3 cM)	[55]
<i>Pi gm</i> (t)		CH109 , CH199 , etc .	谷梅 4 号 Gumei 4	6	C5483 C0428	[56]
<i>Pi y</i> (t)		四川 43 菌系 Sichuan 43	云引 Yunyin	11	RM202(3 .8 cM)	[57]
<i>Pi hk1</i> (t)		北 1 Hoku 1	黑壳子粳 Heikezijing	11	RM7654(0 .9 cM) , RM27381(1 .6 cM)	[58]

[#] 已克隆。
[#] Cloned .

染色体上相距 4.8 cM 的 C1172 和 C30038 区间。Nguyen 等^[39]从中国地方品种 Hokkai 188 中利用 SSR 标记定位了 2 个抗性 QTLs,将其中一个可解释 69.4%田间抗性变异的 QTL 命名为 *Pi35(t)*,并定位于第 1 染色体上相距 3.5 cM 的 RM1216 与 RM1003 之间,另一效应较小的 QTL 则被定位于第 8 染色体。Sallaud 等^[59]利用 QTL 定位策略从高抗稻瘟品种 IR64 中定位了 9 个抗瘟性位点,分别命名为 *Pi24(t)*至 *Pi32(t)*,其中有 5 个位点未见前人报道,该工作属 QTL 初定位,且部分基因命名与前人注册的符号重复,故表 1 未列出。

近年来,国内也在抗瘟性数量遗传方面做了大量的研究工作。如 Liu 等^[54]利用 RFLP 和 SSR 标记在持久抗瘟品种三黄占 2 号中检测到 5 个抗瘟性 QTLs,它们分别位于第 2、7、8 和 10 染色体上,共解释病斑叶面积 60.3%的变异。此外,三黄占 2 号中还至少携带 3 个主效抗瘟性基因,即 *PiGD1(t)*、*PiGD2(t)*和 *PiGD3(t)*^[54]。多个主效抗瘟性基因与多个抗性 QTLs 的共同作用,可能是品种保持持久抗瘟性的分子基础。

由于利用常规定位群体估计出的 QTL 置信区间一般都在 10.0 cM 以上,难以确定它是一个主效基因还是一个微效基因簇,因而有必要对 QTL 进行精细定位,在目标 QTL 区域建立高分辨率的标记图谱,分析目标 QTL 与这些标记间的连锁关系。

2.4 国内学者对源于中国品种的抗瘟性基因研究

Pizh。朱立煌等^[25]研究了广东籼稻品种窄叶青 8 号的抗性遗传,该品种是北方稻区籼粳交育种的重要抗源之一,对中国菌系黑 182、ZH7-2、中 1024 和中 10814 表现抗性,由 1 对显性基因控制,最初被命名为 *Pizh*,后更改为 *Pi11*。研究以窄叶青 8 号/京系 17 的 DH 群体为基础,利用 DNA 分池法和 RAPD 技术,发现了与抗性基因连锁的分子标记,并进一步用两个独立的分离群体将 *Pizh* 定位在第 8 染色体上,与最近的分子标记 BP127A 间的遗传图距是 14.9 cM。这也是首次在第 8 染色体上发现稻瘟病抗性基因。

Pi24、*Pi25* 和 *Pi26*。Zhuang 等^[34-35]分析了中 156/谷梅 2 号重组自交系群体对中国小种 92183 和菲律宾小种 Ca89 的抗性,定位了 3 个抗性主基因,分别命名为 *Pi24*、*Pi25*和 *Pi26*。其中,*Pi24*来源于中 156,表现叶瘟抗性,定位于第 12 染色体上且与 *Pi4*、*Pi6*、*Pi12*、*Pi19*、*Pिता*等 9 个基因成簇分布;*Pi25*和 *Pi26*来源于谷梅 2 号,分别

表现穗叶瘟抗性和叶瘟抗性,定位于第 6 染色体上且与 *Pi2*、*Pi9*和 *Pitq1*成簇分布。

*Pid2*和 *Pid(t)1*。Chen 等^[19]将中国地方品种地谷与 JDCs 的每个品种以及两个感病品种 (LTH 和 JNXN)分别杂交,后用中国稻瘟病菌小种 ZB13 和 ZB15 对其后代进行抗性分析,发现来自地谷的稻瘟病抗性基因受两对新显性基因控制,并分别命名为 *Pid(t)1*和 *Pid(t)2*。其中,*Pid(t)1*被定位于第 2 染色体上标记 G1314A 与 G45 之间,遗传图距分别是 1.2 cM 和 10.6 cM,*Pid(t)2*被定位于第 6 染色体上标记 RM527 与 RM3 之间,图距分别是 3.2 cM 和 3.4 cM。随后的深入研究中,Chen 通过图位克隆法将 *Pid(t)2*克隆出来,并正式命名为 *Pid2*^[20]。

Pi13、*Pi14*、*Pih1(t)*等。Pan 等^[27]从云南地方品种“Maowangu”中发现了 *Pi13*和 *Pi14*,并将它们分别定位在第 6 和第 2 染色体;郑康乐等^[47]利用我国高抗稻瘟病地方品种红脚占将抗性基因 *Pih1(t)*定位于第 12 染色体上;张建福等^[52]利用我国粳型抗瘟性品种云引在第 11 染色体上定位了 *Piy(t)*。其他来自我国地方品种的稻瘟抗性基因还有很多,见表 1。

我国是水稻起源地之一,古老的地方品种与稻瘟病菌之间有着悠久的共存历史,水稻地方品种与稻瘟病菌在长期的协同进化过程中,形成的抗性基因一般对病原菌有较宽的抗谱,表现为较好的广谱持久抗性。随着国内在稻瘟病抗性品种资源筛选评价、抗性基因定位、水稻与稻瘟菌互作机理等方面研究的深入,相信将会有更多的抗性基因被发现。

2.5 稻瘟病抗性基因的克隆

抗病基因的克隆是揭示抗病分子机制的重要环节。克隆水稻抗瘟性基因,解析其编码产物结构和功能,是揭示寄主与病原菌互作、抗病基因进化及抗病性分子机制的基础。目前,采用图位克隆方法已经克隆出 8 个抗瘟基因 (*Pib*、*Pिता*、*Piz⁵*、*Piz^t*、*Pi9*、*Pid2*、*Pi36*和 *Pi37*)。

*Pib*是由日本学者克隆的第 1 个稻瘟病抗性基因,编码 1251 个氨基酸,其氨基末端包含 1 个核苷酸结合位点 (NBS),羧基末端包含 1 个富亮氨酸重复 (LRR),属于 NBS LRR 抗病基因族成员,受温度和黑暗条件的诱导表达^[11]。*Pi9*是目前已克隆抗瘟性基因中抗谱最广的一个,编码产物同样具有 NBS LRR 结构域,它和 *Piz⁵*、*Piz^t*是复等位关系,*Piz⁵*和 *Piz^t*的编码产物仅有 8 个氨基酸的差异,

其差异可以特异识别各自的无毒蛋白^[17-18]。*Pi ta* 编码 1 个长度为 928 个氨基酸的细胞质膜受体蛋白,该蛋白含 NBS 结构和富亮氨酸结构域(LRD),*Pi ta* 位点上的抗感两基因的编码产物仅有一个氨基酸的差异,其抗病机制是 *Pi ta* 基因的编码产物能与稻瘟病菌的无毒基因 *AVR Pita* 表达产物相互作用引发抗病反应^[60]。*Pi d2* 是由中国科学院遗传与发育生物学研究所朱立煌研究小组克隆出来的,它编码 1 个长度为 825 个氨基酸的蛋白激酶,该激酶氨基端含有 B lectin 结构域,羧基端是个典型的丝氨酸/苏氨酸激酶结构域(STK),属于新的抗病基因类型,其抗感差异也是因 1 个单碱基突变造成的^[20]。*Pi 36*^[41]和 *Pi 37*^[43]是由华南农业大学潘庆华研究小组克隆出来的两个新基因,其编码产物同样都具有 NBS LRR 结构域,其中 *Pi 36* 属于单拷贝基因,编码 1 个长度为 1056 个氨基酸的蛋白产物;*Pi 37* 则编码 1 个长度为 1290 个氨基酸的蛋白产物。

目前,国内外许多实验室都致力于稻瘟病抗性基因的克隆,越来越多的稻瘟病抗性基因的克隆,将为水稻抗病机制的研究和分子标记辅助育种带来新的契机。

3 合理利用抗性基因

一些抗性基因曾经成功地控制了稻瘟病的危害,但一个抗病基因常在几年大面积推广应用之后,因新致病菌频率的上升和袭击而丧失抗性。例如 20 世纪 80 年代我国北方稻区大面积种植携带 *Pi z^t* 基因的中花 8 号和中花 9 号,长江下游稻区种植携带 *Pi k^s* 和 *Pi sh* 基因的品种,这些基因的应用当时都有效地控制了稻瘟病的危害,但后来都遭遇到新致病菌的侵袭而丧失抗性^[61]。面对稻瘟病菌群的快速变异,如何有效利用抗性基因和保持抗性基因的持久性,国内外学者进行了大量的探索。从抗性品种的选育和利用角度考虑,其技术途径可以归为两类,即遗传多样性利用和抗病基因聚合。

3.1 遗传多样性利用

利用抗病基因的遗传多样性来控制稻瘟病,在理论与实践早已得到重视,在应用上表现为不同抗病品种的轮换利用和合理布局,其理论依据是,稻瘟病是一种典型的寄主-病原菌共演化系统,主效抗性基因具有很强的专一性,在时空上合理搭配携带不同抗病基因的品种,可以延缓稻瘟菌小种的变异和致病性小种的流行。例如,历史上江苏省吴

江市曾是稻瘟病高发区,但自 1994 年开始,先后引进种植了 93-31、武育粳 5 号、9522 等携带不同抗性基因的广谱抗性品种,并逐渐形成多品种搭配布局,因而在 1994 年以后稻瘟病基本上得到了有效抑制^[62-63]。在北方稻区,原携有 *Pi z^t* 抗性基因的大面积种植品种中花 9 号因新的能侵染 *Pi z^t* 的致病小种迅速上升而导致抗性丧失,随后改种辽盐、辽粳等携带不同抗性基因的多个品种而将稻瘟病疫情加以控制^[61]。

利用田间生物遗传多样性来控制稻瘟病,也已取得一定成效,在应用上主要表现为不同类型品种的混栽。刘二明等^[64]研究表明,选择抗瘟性遗传背景差异大、株高差异突出的品种,以 1 行优质稻和 5 行杂交稻间栽,能起到控瘟增产的作用,而品种抗性遗传背景和株高相似的品种组合没有明显增产效果。唐旭等^[65]研究发现,采用水稻品种多样性种植和增施硅肥,可以降低植株氮含量,从而有效降低病害的发生与发病程度。由于混合间栽的品种在遗传上存在差异,稻瘟菌的特定生理小种侵染这种群体之后不能迅速传播开来,这是水稻多样性布局栽种能够降低稻瘟病发病的一个重要原因。

通过遗传多样性的利用来控制稻瘟病虽然取得了一些成效,但其大规模生产应用的可操作性仍存在疑义。对于抗病基因多样性的合理利用,必须事先了解稻瘟菌的毒性类型、组成和变异方向,而该问题迄今仍无法解决,因而难以确定抗性基因的时空布局;其次,大部分水稻品种的抗病基因组成并不明确,且同一个抗病基因在不同遗传背景下可能表现出不同的抗病能力,因而难以确定携带特定抗病基因或抗病基因组合的品种。对于田间生物多样性的合理利用,除了其控制机理和生态学效应尚待研究外,混栽品种的株高和成熟期等性状差异,将难以适应现代耕作制度的发展。

3.2 抗病基因的聚合

应用分子标记辅助选择聚合多个抗性基因,是培育具有持久抗性和综合抗性品种的有效策略。水稻抗病基因聚合研究首先在白叶枯病上取得成功^[66-67],并很快拓展应用于稻瘟病。一般而言,抗性基因聚合具有提高抗性水平和扩大抗谱两方面的作用,其理想状态是,抗性基因聚合后并不仅仅表现为各个抗病基因抗谱的简单累加,还表现为抗性基因之间的互作,能够抵抗单个抗病基因都不能抵抗的生理小种。IRRI 开展的水稻抗白叶枯病基因聚合研究提供了经典的范例,并展现出理想的聚合效

果^[66-67]。在抗稻瘟病基因聚合研究领域,根据前人研究,聚合品系均拓宽了抗谱,一般表现为单抗病基因的简单累加,但有时也会出现意外负作用,聚合品系反而对某个或某些小种的抗性降低。

凌忠专等^[68]以丽江新团黑谷为轮回亲本、JDCs 为抗瘟性基因供体构建了近等基因系,刘新展等^[69]继而利用这些材料培育了 3 组 5 份双抗性基因聚合材料,包括 $Pi\ k^p/Pi\ b$ 和 $Pi\ k/Pi\ ta^2$ 材料各 2 份、 $Pi\ k^m/Pi\ ta^2$ 材料 1 份,应用 12 个菌株接种结果表明,与单抗性基因系相比,双抗性基因系的抗病能力明显提高,具体表现为所含抗性基因的简单累加,但未发现任何类型的互作。丽江新团黑谷对籼、粳稻区所有被测的稻瘟菌菌株都表现高度的感病反应,一般认为它不携带任何主效抗稻瘟病基因,而 JDCs 所携带的抗稻瘟病基因都甚为明确,因此,这些研究为水稻抗稻瘟病基因聚合效应的累加提供了一个有力的证据。类似地,陈红旗等^[70]利用分子标记技术将 $Pi\ 1$ 、 $Pi\ 2$ 和 $Pi\ 33$ 聚合到杂交稻保持系金 23B 中,获得了新的抗稻瘟病品系 W1;金 23B、 $Pi\ 1$ 、 $Pi\ 2$ 和 $Pi\ 33$ 的抗病频率分别为 16.7%、50.0%、63.3% 和 56.7%,而 W1 的抗病频率高达 96.7%。

IRRI 以 CO39 为背景建立了分别携带 $Pi\ 1$ 、 $Pi\ z^5$ 和 $Pi\ ta$ 的近等基因系,以及分别携带 2~3 个抗性位点基因的一整套近等基因系,应用 6 个菲律宾稻瘟病菌小种分别接种。抗性基因聚合品系的抗谱均比任一个单抗性基因材料都广,但对小种 C9240-5 的抗性反而不如 $Pi\ 1$ 和 $Pi\ ta$ 单抗性基因材料;在 IRRI 和印度稻瘟病圃的自然诱发鉴定也表明,多基因聚合品系一般具有较强的抗性,但 $Pi\ z^5$ 和 $Pi\ ta$ 抗性基因聚合品系的抗性反而不如 $Pi\ z^5$ 单抗性基因品系^[5]。在中国的试验中,还发现 $Pi\ 1$ 和 $Pi\ ta$ 聚合品系的抗性不如单抗性基因品系^[71]。类似地,在 Lemont/特青的重组自交系群体中,也发现增加抗性基因数并不总是有利于提高抗性^[53]。这些结果似乎表明不同抗稻瘟病基因之间存在不良互作,但缺乏以往水稻抗稻瘟病基因定位研究结果的支持。反过来,大量的研究表明,一个水稻品种可能同时携带多个抗稻瘟病主基因,但往往只有部分基因得到识别或定位,更不用说还有大量未知的微效基因,而在近等基因系和抗性基因聚合品系构建过程中,实际上又无法保证遗传背景完全一致,抗性基因聚合品系的效应偏离,包括正向偏离和负向偏离,是否可能来源于背景差异,是个值得

探讨的问题。

另外,与其他类型的抗生物胁迫一样,主效抗性基因聚合品种的大规模应用存在一个潜在的风险。在主栽品种同时携带多个抗性基因的压力下,病原菌有可能形成可以克服所有这些抗性基因的超级小种;一旦这种情况发生,发掘新基因的难度将会比原来任何时候都大。因此,在主效基因聚合品种的选育和应用上,需要考虑规避风险的措施,如选育携带不同抗性基因或不同抗性基因聚合物的近等基因系,在生产上应用合成品种^[72];也就是说,需要综合应用抗病基因聚合和抗病基因遗传多样性利用这两条技术途径,来有效保证水稻的安全生产。

4 结语

有效防治水稻生产中的病害而又不对环境造成不利的影响,是我国乃至全世界稻瘟病抗性育种期望的目标。因此,在不断发掘和鉴定抗性基因的基础之上,探索抗性基因的合理利用途径,一直是水稻遗传育种研究的一个热点。借助现代分子生物学的研究方法和技术,剖析水稻品种的抗病基因组成,选育携带不同抗病基因聚合物的近等基因系型品种系列,结合各种材料的时空搭配,可进一步促进水稻抗稻瘟病基因的合理利用。

谢辞:本综述承蒙中国水稻研究所庄杰云研究员指导,特致谢忱!

参考文献:

- [1] International Rice Research Institute. Rice Breeding. Manila: IRRI, 1972: 203-225.
- [2] Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, et al. Identification and fine mapping of $Pi\ 33$, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. *Theor Appl Genet*, 2003, 107(6): 1139-1147.
- [3] Mackill D J, Bonman J M. Inheritance of blast resistance in near isogenic lines of rice. *Genetics*, 1992, 82(7): 746-749.
- [4] Inukai T, Nelson R J, Zeigler R S, et al. Allelism of blast resistance genes in near isogenic lines of rice. *Genetics*, 1994, 84(11): 1278-1283.
- [5] Hittalmani S, Parco A, Mew T W, et al. Fine mapping and DNA marker assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. *Theor Appl Genet*, 2000, 100(7): 1121-1128.
- [6] Chen H L, Chen B T, Zhang D P, et al. Pathotypes of *Pyricularia grisea* in rice fields of central and southern China. *Plant Dis*, 2001, 85(8): 843-850.
- [7] Jeon J S, Chen D, Yi G H, et al. Genetic and physical mapping of $Pi\ 5(t)$, a locus associated with broad spectrum resistance to rice blast. *Mol Genet Gen*, 2003, 269(2): 280-289.

- [8] Yi G, Lee S K, Hong Y K, et al. Use of *Pi5*(t) markers in marker assisted selection to screen for cultivars with resistance to *Magnaporthe grisea*. *Theor Appl Genet*, 2004, 109(7): 978-985.
- [9] 鄂志国, 庄杰云, 曹永生, 等. 基于 INTERNET 的水稻基因数据库信息系统. 中国水稻科学, 2006, 20(6): 670-672.
- [10] Tsunematsu H, Yanoria M, Ebron L A, et al. Development of monogenic lines of rices for blast resistance. *Breeding Sci*, 2000, 50: 229-234.
- [11] Wang Z X, Yano M, Yamanouchi U, et al. The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine rich repeat class of plant disease resistance genes. *Plant J*, 1999, 19(1): 55-64.
- [12] Toriyama K. Breeding for resistance of major rice disease in Japan//Rice Breeding. Manila: IRRI, 1972, 253-281.
- [13] Pan Q H, Wang L, Tanisaka T, et al. Allelism of rice blast resistance genes in two Chinese rice cultivars, and identification of two new resistance genes. *Plant Pathol*, 1998, 47(2): 165-170.
- [14] Imbe T, Oba S, Yanoria M J T, et al. A new gene for blast resistance in rice cultivar, IR24. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 60-61.
- [15] Rybka K, Miyamoto M, Ando I, et al. High resolution mapping of the indica derived rice blast resistance genes: *Pi ta²* and *Pi ta* and a consideration of their origin. *Mol Plant Microbe Interact*, 1997, 10(4): 517-524.
- [16] Conaway Bormans C W, Marchetti M A, Johnson C W, et al. Molecular markers linked to the blast resistance gene *Piz* in rice for use in marker assisted selection. *Theor Appl Genet*, 2003, 107(4): 1014-1020.
- [17] Zhou B, Qu S H, Wang G L, et al. The eight amino acid differences within three leucine rich repeats between *Pi2* and *Piz^t* resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 19: 1216-1228.
- [18] Qu S H, Liu G F, Wang G L, et al. The broad spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes an NBS LRR protein and is a member of a multi gene family in rice. *Genetics*, 2006, 172: 1901-1914.
- [19] Chen X W, Li S G, Xu J C, et al. Identification of two blast resistance genes in a rice variety, Digu. *J Phytopathol*, 2004, 152: 77-85.
- [20] Chen X W, Shang J J, Chen D X, et al. A B lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *Plant J*, 2006, 46: 794-804.
- [21] Causse M A, Fulton T M, Cho Y G, et al. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics*, 1994, 138: 1251-1274.
- [22] Wang G L, Mackill D J, Bonman J, et al. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. *Genetics*, 1994, 136: 1421-1433.
- [23] Pan Q H, Wang L, Ikehashi H, et al. Identification of a new blast resistance gene in the indica rice cultivar Kasalath using Japanese differential cultivars and isozyme markers. *Phytopathology*, 1996, 86: 1071-1075.
- [24] Naqvi N I, Bonman J M, Mackill D J, et al. Identification of RAPD markers linked to a major blast resistance gene in rice. *Mol Breeding*, 1995, 1(4): 341-348.
- [25] 朱立煌, 徐吉臣, 陈英, 等. 用分子标记定位一个未知的抗稻瘟病基因. 中国科学(B 辑), 1994, 24(10): 1048-1052.
- [26] Inukai T, Zeigler R S, Sarkarung S, et al. Development of pre isogenic lines for rice blast resistance by marker aided selection from a recombinant inbred population. *Theor Appl Genet*, 1996, 93(4): 560-567.
- [27] Pan Q H, Wang L, Ikehashi H, et al. Identification of two new genes conferring resistance to rice blast in the Chinese native cultivar 'Maowangu'. *Plant Breeding*, 1998, 117: 27-31.
- [28] Pan Q H, Hu Z D, Tanisaka T, et al. Fine mapping of the blast resistance gene *Pi15*, linked to *Pii*, on rice chromosome 9. *Acta Bot Sin*, 2003, 45(7): 871-877.
- [29] Pan Q H, Wang L, Tanisaka T. A new blast resistance gene identified in the Indian native rice cultivar Aus373 through allelism and linkage tests. *Plant Pathol*, 1999, 48: 288-293.
- [30] Pan Q H, Tanisaka T, Ikehashi H. Registration of new gene symbol *Pi17*(t) in DJ123. *Rice Genet Newsl*, 1996, 13: 18.
- [31] Ahn S N, Kim Y K, Hong H C, et al. Molecular mapping of a new gene for resistance to rice blast (*Pyricularia grisea* Sacc.). *Euphytica*, 2000, 116(1): 17-22.
- [32] Hayashi N, Imbe I T. Identification of a new resistance gene to a Chinese blast fungus isolate in the Japanese rice cultivar Aichi Asahi. *Phytopathology*, 1998, 88(8): 822-827.
- [33] Fukuoka S, Okuno K. QTL analysis and mapping of *pi21*, a recessive gene for field resistance to rice blast in Japanese upland rice. *Theor Appl Genet*, 2001, 103(2-3): 185-190.
- [34] Zhuang J Y, Ma W B, Wu J L, et al. Mapping of leaf and neck blast resistance genes with resistance gene analog, RAPD and RFLP in rice. *Euphytica*, 2002, 128(3): 363-370.
- [35] 吴建利, 柴荣耀, 樊叶杨, 等. 抗稻瘟病水稻材料谷梅 2 号中主效抗稻瘟病基因的成簇分布. 中国水稻科学, 2004, 18(6): 567-569.
- [36] Zhu M L, Wang L, Pan Q H. Identification and characterization of a new blast resistance gene located on rice chromosome 1 through linkage and differential analyses. *Phytopathology*, 2004, 94(5): 515-519.
- [37] Zenbayashi K, Ashizawa T, Tani T, et al. Mapping of the QTL (quantitative trait locus) conferring partial resistance to leaf blast in rice cultivar Chubu 32. *Theor Appl Genet*, 2002, 104(4): 547-552.
- [38] Zenbayashi K, Ashizawa T, Koizumi S. *Pi34 AVR Pi34*: a new gene for gene interaction for partial resistance in rice to blast caused by *Magnaporthe grisea*. *J Gen Plant Pathol*, 2005, 71(6): 395-401.
- [39] Nguyen T 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. *Theor Appl Genet*, 2006, 113(4): 697-704.
- [40] Liu X Q, Wang L, Chen S, et al. Genetic and physical mapping of *Pi36*(t), a novel rice blast resistance gene located on rice chromosome 8. *Mol Genet Gen*, 2005, 274(4): 394-401.
- [41] Liu X Q, Lin F, Wang L, et al. The *in silico* map based cloning of *Pi36*, a rice coiled coil nucleotide binding site leucine rich repeat gene that confers race specific resistance to the blast fungus. *Genetics*, 2007, 176(4): 2541-2549.
- [42] Chen S, Wang L, Que Z Q, et al. Genetic and physical mapping of *Pi37*(t), a new gene conferring resistance to rice blast

- in the famous cultivar St. No. 1. *Theor Appl Genet*, 2005, 111(8): 1563-1570.
- [43] Lin F, Chen S, Que Z Q, et al. The blast resistance gene *Pi37* encodes a nucleotide binding site leucine rich repeat protein and is a member of a resistance gene cluster on rice chromosome 1. *Genetics*, 2007, 177: 1871-1880.
- [44] Gowda M, Roy Barman S, Chattoo B B. Molecular mapping of a novel blast resistance gene *Pi38* in rice using SSLP and AFLP markers. *Plant Breeding*, 2006, 125(6): 596-599.
- [45] Liu X Q, Yang Q Z, Lin F, et al. Identification and fine mapping of *Pi39*(t), a major gene conferring the broad spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae*. *Mol Genet Gen*, 2007, 278(4): 403-410.
- [46] Jeung J U, Kim B R, Cho Y C, et al. A novel gene, *Pi40*(t), linked to the DNA markers derived from NBS LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance in rice. *Theor Appl Genet*, 2007, 115(8): 1163-1177.
- [47] Chen D H, Vina M D, Inukai T, et al. Molecular mapping of the blast resistance gene, *Pi44*(t), in a line derived from a durably resistant rice cultivar. *Theor Appl Genet*, 1999, 98(4): 1046-1053.
- [48] Wu K S, Martinez C, Lentini Z, et al. Cloning a blast resistance gene by chromosome walking//Khush G S. Rice Genetics. Proceedings of the Third International Rice Genetics Symposium, October 16-20, 1995. Manila: IRRI, 1996: 669-674.
- [49] Naqvi N I, Chattoo B B. Molecular genetic analysis and sequence characterized amplified region assisted selection of blast resistance in rice//Khush G S. Rice Genetics. Proceedings of the Third International Rice Genetics Symposium, October 16-20, 1995. Manila, Philippines: IRRI, 1996: 570-576.
- [50] Fujii K, Hayano S Y, Saito K, et al. Identification of a RFLP marker tightly linked to the panicle blast resistance gene, *Pb1*, in rice. *Breeding Sci*, 2000, 50: 183-188.
- [51] Chauhan R, Farman M, Zhang H B, et al. Genetic and physical mapping of a rice blast resistance locus, *Pi CO39*(t), that corresponds to the avirulence gene *AVR1 CO39* of *Magnaporthe grisea*. *Mol Genet Gen*, 2002, 267: 603-612.
- [52] 郑康乐, 钱惠荣, 庄杰云, 等. 应用 DNA 标记定位水稻的抗稻瘟病基因. 植物病理学报, 1995, 25(4): 307-313.
- [53] Tabien R E, Li Z, Paterson A H, et al. Mapping of four major rice blast resistance genes from 'Lemont' and 'Teqing' and evaluation of their combinatorial effect for field resistance. *Theor Appl Genet*, 2000, 101(8): 1215-1225.
- [54] Liu B, Zhang S H, Zhu X Y, et al. Candidate defense genes as predictors of quantitative blast resistance in rice. *Mol Plant Microbe Interact*, 2004, 17(10): 1146-1152.
- [55] Zhou J H, Wang J L, Xu J C, et al. Identification and mapping of a rice blast resistance gene *Pi g*(t) in the cultivar Guangchangzhan. *Plant Pathol*, 2004, 53(2): 191-196.
- [56] Deng Y, Zhu X D, Shen Y, et al. Genetic characterization and fine mapping of the blast resistance locus *Pigm*(t) tightly linked to *Pi2* and *Pi9* in a broad spectrum resistant Chinese variety. *Theor Appl Genet*, 2006, 113(4): 705-713.
- [57] 张建福, 王国英, 谢华安, 等. 粳稻云引抗稻瘟病基因的遗传分析及其定位. 农业生物技术学报, 2003, 11(3): 241-244.
- [58] 李培富, 史晓亮, 王建飞, 等. 太湖流域粳稻地方品种黑壳子粳抗稻瘟病基因的分子定位. 中国水稻科学, 2007, 21(6): 579-584.
- [59] Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, et al. Identification of five new blast resistance genes in the highly blast resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 794-803.
- [60] Tarchini R, Valent B. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pita*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2033-2045.
- [61] 雷财林, 凌忠专, 王久林, 等. 北方稻区稻瘟病菌生理小种变化与抗病育种策略. 作物杂志, 2000(3): 14-16.
- [62] 陆凡, 郑小波, 陈志谊, 等. 江苏省稻瘟病菌的毒性多样性及水稻品种的抗病性. 生物多样性, 2001, 9(3): 201-206.
- [63] 严大富, 花家禄, 陆凡, 等. 吴江稻区稻瘟病菌小种更替规律及抗瘟品种的利用. 江苏农业学报, 1999, 15(3): 141-146.
- [64] 刘二明, 朱有勇, 肖放华, 等. 水稻品种多样性混栽持续控制稻瘟病研究. 中国农业科学, 2003, 36(2): 164-168.
- [65] 唐旭, 郑毅, 汤利, 等. 不同品种间作条件下的氮硅营养对水稻稻瘟病发生的影响. 中国水稻科学, 2006, 20(6): 663-666.
- [66] Huang N, Angeles E R, Domingo J, et al. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: Marker assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 313-320.
- [67] 郑康乐, 庄杰云, 王汉荣. 基因聚合提高了水稻对白叶枯病的抗性. 遗传, 1998, 20(4): 4-6.
- [68] 凌忠专, Mew T W, 王久林, 等. 中国水稻近等基因系的育成及其稻瘟病菌生理小种鉴别能力. 中国农业科学, 2000, 33(4): 1-8.
- [69] 刘新展, 赵明富, 何月秋, 等. 以丽江新团黑谷为遗传背景的抗稻瘟病基因累加系的选育及其抗性鉴定. 作物学报, 2007, 33(1): 20-24.
- [70] 陈红旗, 陈宗祥, 倪深, 等. 利用分子标记技术聚合 3 个稻瘟病基因改良金 23B 的稻瘟病抗性. 中国水稻科学, 2008, 22(1): 23-27.
- [71] 何月秋, 唐文华, Leung H, 等. CO39 近等基因系抗稻瘟病性分析. 作物学报, 2001, 27(6): 838-841.
- [72] Witcombe J R, Hash C T. Resistance gene deployment strategies in cereal hybrids using marker assisted selection: Gene pyramiding, three way hybrids, and synthetic parent populations. *Euphytica*, 2000, 112: 175-186.