

华南籼稻骨干亲本稻瘟病基因检测与抗性评价

陈 睿,陈子强,凌 波,农 雯,田大刚,陈建民

(福建省农业科学院生物技术研究所,福州 350003)

摘要: 选用 *Pi2*、*Piz-t*、*Pi9*、*Pi25*、*Pi5*、*Pita*、*Pia*、*Ptr*、*Pil*、*Pikm*、*Pi54* 等 11 个抗稻瘟病基因的功能性分子标记,对华南稻区近年育成的 90 个籼稻骨干亲本进行抗性基因鉴定与稻瘟病抗性评价。结果表明,综合抗性等级达到高抗、抗、中抗、中感、感及高感的亲本分别为 0 份、3 份、35 份、38 份、14 份和 0 份,且年度间表现较为一致。不同鉴定时期的稻瘟病抗性级别相关性分析进一步显示,苗瘟与叶瘟、苗瘟与穗颈瘟以及叶瘟与穗颈瘟的抗性级别呈极显著正相关。对上述 11 个抗性基因在 90 个亲本中的分布进行检测,发现除 *Pi9* 基因以外,其他 10 个抗性基因在亲本中的分布频率分别为 75.56% (*Pi54*)、70.0% (*Pi5*)、47.78% (*Pi2*)、31.11% (*Pi25* 和 *Pia*)、20.0% (*Ptr*)、15.56% (*Pil*)、13.32% (*Pita*)、4.44% (*Pikm*) 和 1.11% (*Piz-t*)。11 个抗性基因在不同省际间育成亲本中的分布频率差异较大。进一步结果表明,随着聚合抗性基因数量的增加,亲本抗性水平呈相应提升趋势,但不同抗性基因组合对于提升水稻亲本抗病性的贡献呈现明显差异。本研究为华南稻区新育成籼型常规水稻品种的合理布局及抗稻瘟病基因的育种应用提供有益的参考。

关键词: 籼稻;稻瘟病;基因;抗性

Detection and Evaluation of Blast Resistance Genes in Backbone *Indica* Rice Parents from South China

CHEN Rui, CHEN Ziqiang, LING Bo, NONG Wen, TIAN Dagang, CHEN Jianmin

(Biotechnology Institute of Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003)

Abstract: By deployment of 11 functional markers of blast resistance genes, including *Pi2*, *Piz-t*, *Pi9*, *Pi25*, *Pi5*, *Pita*, *Pia*, *Ptr*, *Pil*, *Pikm*, and *Pi54*, this study analyzed the resistance gene diversity in the newly-developed 90 *indica* rice varieties from south China. The results showed that 0, 3, 35, 38, 14, and 0 varieties exhibited high-resistance, resistance, moderate resistance, moderate susceptibility, susceptibility, and high-susceptibility, respectively. The results tested for blast resistance were highly correlated in years. By analyzing the correlation among different detection stages, significant positive correlations in seedling blast and leaf blast, seedling blast and neck blast, as well as leaf blast and neck blast were observed. Except *Pi9*, the frequency of other 10 resistance genes in population were 75.56% (*Pi54*), 70.0% (*Pi5*), 47.78% (*Pi2*), 31.11% (*Pi25* and *Pia*), 20.0% (*Ptr*), 15.56% (*Pil*), 13.32% (*Pita*), 4.44% (*Pikm*) and 1.11% (*Piz-t*), respectively. Moreover, the distribution frequency of 11 resistance genes varied significantly among parents from different provinces. Further results also indicated that as the number of resistance genes increased, the level of resistance of parents showed a corresponding upward trend. Furthermore, the contribution of different resistance gene combinations to improve the disease resistance of rice parents showed significant differences. The current study provided a basis for the rational distribution of resistant conventional *indica* rice varieties with different genotypes in South China.

Key words: *Indica* rice; blast; gene; resistance

收稿日期: 2023-08-28 修回日期: 2023-10-23 网络出版日期: 2023-10-31

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230828001>

第一作者研究方向为水稻遗传育种, E-mail: candy_chenrui@163.com

通信作者: 陈建民, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: cjm@fjage.org

基金项目: 福建省属公益类科研院所基本科研专项(2021R1027009, 2022R1027003)

Foundation project: Fujian Province Public Welfare Scientific Research Program (2021R1027009, 2022R1027003)

稻瘟病是水稻的三大病害之一,由子囊菌(*Magnaporthe oryzae*)引起,发病时导致水稻减产10%~35%^[1]。21世纪以来,中国每年稻瘟病发病面积在480万公顷左右,稻瘟病造成粮食重大损失,严重威胁着粮食安全^[2-3]。近年来,随着华南稻区优质水稻品种的大面积推广种植,感病品种随之增多,稻瘟病已成为福建及华南稻区水稻生产最主要的病害。稻瘟病防治的方法主要包括化学防治和培育抗性品种,以喷施农药为主的化学防治会导致水稻品质退化、生态环境破坏,发掘抗性基因以培育抗性品种是目前防治稻瘟病最经济有效的途径^[4-6]。

自20世纪60年代日本开启稻瘟病基因遗传研究以来,水稻抗稻瘟病分子机制的研究逐渐深入,迄今已鉴定出100多个稻瘟病相关抗病基因,其中20多个已被克隆并进行功能研究^[1, 4]。基于基因功能序列开发的分子标记,汪文娟等^[7]分析了8个抗稻瘟病基因在华南328个籼型杂交水稻组合的分布,结果显示含有不同抗稻瘟基因的组合表现出不同水平的抗瘟性,*Pi2*与*Pi1*对华南稻区稻瘟病的抗性贡献最大,其他抗病基因的贡献大小依次是*Pik-h*、*Pik-p*、*Pita*、*Pii*与*Piz-t*。陆展华等^[8]利用5个主效稻瘟病抗病基因的分子标记鉴定70份广东省主栽水稻品种和骨干亲本的综合抗性,表明*Pi2*基因的抗性贡献率最高,*Pib*和*Pita*对主栽品种的贡献极低。王晓玲等^[9]分析了11个主效抗性基因在江西省82个籼粳稻骨干亲本的稻瘟病抗性,鉴定发现*Pia*基因可能是粳稻强抗性所必需的,*Pi9*基因可能

是籼稻强抗性所必需的。黎玲等^[10]利用11个主效稻瘟病抗性基因的分子标记对48个常规稻、15个不育系和129个杂交稻进行了检测,结果显示*Pita*在各个品系中均广泛存在,广谱抗性基因分布较少,抗性基因聚合可以有效提高对稻瘟病的田间抗性。上述研究表明抗稻瘟病水稻品种具有一定的地域性,筛选携带多个抗性基因的水稻品种是培育抗病材料的重要措施^[11]。

本研究选用*Pi2*、*Piz-t*、*Pi9*、*Pi25*、*Pi5*、*Pita*、*Pia*、*Ptr*、*Pi1*、*Pikm*、*Pi54*等11个抗稻瘟病基因的功能性分子标记,对华南稻区近年育成的90份籼稻骨干亲本进行抗性基因鉴定与稻瘟病抗性评价,试图探明上述基因在华南籼稻亲本中的分布以及与抗病性之间的相关性,以期合理利用抗性基因的聚合育种提供理论依据和有益的抗源亲本。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 供试的90份优质籼稻亲本分别来源于华南地区福建(40份)、广东(24份)和广西(26份),经过株型、生育期、品质、产量及抗性等农艺性状指标评价,适宜在福建稻作区种植,因此作为育种骨干亲本进行研究,这些籼稻亲本于2021、2022年在福建省农业科学院生物技术研究基地(福建泰宁县)种植。每份亲本种植6行,每行7株,株行距20 cm×20 cm,常规田间管理,亲本详细信息见表1。

表1 供试籼稻骨干亲本

Table 1 The *indica* rice backbone parents used in this study

编号 Code	水稻亲本 Rice parents	来源 Origin	编号 Code	水稻亲本 Rice parents	来源 Origin	编号 Code	水稻亲本 Rice parents	来源 Origin
XR01	福泰8522	福建	XR13	闽诚稻7号	福建	XR25	金泰油占	福建
XR02	福泰736	福建	XR14	泉珍12号	福建	XR26	金泰香丝	福建
XR03	福泰738	福建	XR15	佳禾165	福建	XR27	金玉香丝	福建
XR04	福泰768	福建	XR16	佳福香占	福建	XR28	福泰香丝	福建
XR05	田黄101	福建	XR17	福泰2582	福建	XR29	福泰晶占	福建
XR06	东联早2号	福建	XR18	福泰3233	福建	XR30	金泰晶占	福建
XR07	东联红	福建	XR19	福泰3622	福建	XR31	青阳1号	福建
XR08	东联红2号	福建	XR20	金泰占	福建	XR32	青阳2号	福建
XR09	福香占	福建	XR21	福泰占	福建	XR33	青阳3号	福建
XR10	福占1号	福建	XR22	金玉油占	福建	XR34	青阳5号	福建
XR11	金油占	福建	XR23	黄莉油占	福建	XR35	青阳7号	福建
XR12	玉华占	福建	XR24	茉莉油占	福建	XR36	闽诚稻3号	福建

表 1 (续)

编号 Code	水稻亲本 Rice parents	来源 Origin	编号 Code	水稻亲本 Rice parents	来源 Origin	编号 Code	水稻亲本 Rice parents	来源 Origin
XR37	博稻 339	福建	XR55	广晶莉占	广东	XR73	万香 696	广西
XR38	泉香丝 20	福建	XR56	广晶丝苗	广东	XR74	桂农丰	广西
XR39	泰香丝 20	福建	XR57	广软占	广东	XR75	桂丰 9 号	广西
XR40	金香丝 20	福建	XR58	五山软占	广东	XR76	桂育 11 号	广西
XR41	美香新占	广东	XR59	五粤华占	广东	XR77	桂育 12 号	广西
XR42	五粤占 3 号	广东	XR60	广黄占	广东	XR78	桂育 15 号	广西
XR43	十九香	广东	XR61	南油丝苗	广东	XR79	桂育 17 号	广西
XR44	南晶香占	广东	XR62	固广油占	广东	XR80	桂丰 30	广西
XR45	粤香 430	广东	XR63	玉晶油占	广东	XR81	桂丰香占	广西
XR46	粤农丝苗	广东	XR64	粤泰油占	广东	XR82	桂野香占	广西
XR47	粤禾丝苗	广东	XR65	和丰香雅丝	广西	XR83	阌香 463	广西
XR48	华航 51 号	广东	XR66	桂野丰	广西	XR84	广粮香 2 号	广西
XR49	美巴香占	广东	XR67	力拓 5 号	广西	XR85	广粮香占	广西
XR50	粤银软占	广东	XR68	力拓 6 号	广西	XR86	广粮香丝	广西
XR51	广晶软占	广东	XR69	万川香占	广西	XR87	粮发香丝	广西
XR52	广晶油占	广东	XR70	万香九九	广西	XR88	粮发香油占	广西
XR53	黄广晶占	广东	XR71	万香占 1 号	广西	XR89	那谷香	广西
XR54	广晶美占	广东	XR72	万香红	广西	XR90	珍香 9 号	广西

1.1.2 菌株来源 稻瘟病室内抗谱测定选用ZA₆₃、ZB₉、ZC₁₅、ZG₁、ZB₃₁、EC₁₃、ZB₁、EC₉和EZ₁₅等9个生理小种,均为单孢分离菌株,来源于福建建阳、上杭、将乐和泰宁,是根据上一年稻瘟病菌生理小种的致病性测定情况挑选出的代表性菌株,在稻瘟病单基因系的致病性上具有丰富的多样性,所有菌株均保存于福建省农业科学院生物技术研究所。

1.2 抗性鉴定

1.2.1 室内苗瘟鉴定 室内接菌菌株均为单孢分离菌株,每个籼稻亲本均接种9个菌株,每重复20株,3次重复,供试材料于2021、2022年在福建省泰宁基地种植,参照赵沙沙等^[12]稻瘟病菌孢子的分离方法和李刚等^[13]提供的室内稻瘟病抗性的检测方法,对供试材料进行苗瘟鉴定。病级调查按照国际水稻研究所稻瘟病圃苗瘟分级标准进行:0级为高抗,1~2级为抗,3级为中抗,4~5级为中感,6~7级为感,8~9级为高感^[13]。

1.2.2 自然诱发鉴定 优质籼稻亲本在病区的调查与评价方法参照福建省区试品种稻瘟性抗性调查与鉴定方法^[14]。叶瘟抗性级别标准:0级为高抗,1~2级为抗,3级为中抗,4~5级为中感,6~7级为感,8~9级为高感。穗颈瘟级别根据穗瘟发病率划分

为:0级为高抗,1~2级为抗,3级为中抗,4~5级为中感,6~7级为感,8~9级为高感。综合抗性等级根据综合抗性指数划分:综合指数=叶瘟病级×0.25+穗瘟发病率计算值×0.25+穗瘟损失率计算值×0.5,综合抗性指数<0.1为高抗,综合抗性指数0.1~2.0为抗,综合抗性指数2.1~4.0为中抗,综合抗性指数4.1~6.0为中感,综合抗性指数6.1~7.5为感,综合抗性指数≥7.6为高感。

1.2.3 稻瘟病抗性的综合评价 根据室内抗谱测定与自然诱发鉴定结果较差者,综合评判水稻亲本稻瘟病抗性级别,由高至低排序为:高抗、抗、中抗、中感、感、高感等6个级别。最终稻瘟病抗性等级取2年抗性鉴定结果表现较差者,即第1年稻瘟病抗性鉴定表现为中抗,第2年稻瘟病抗性鉴定表现为中感,则最终鉴定结果为中感。为了便于分析稻瘟病抗性基因与稻瘟病抗性关系,将高抗~中抗(综合抗性指数≤4.0)均统计为抗病,中感~高感(综合抗性指数>4.0)均统计为感病。

1.3 抗病基因标记检测

利用开发的Pi2、Piz-t、Pi9、Pigm、Pi25、Pi5、Pita、Pia、Ptr、Pil、Pikm、Pi54等11个抗稻瘟病基因的功能性分子标记(表2),对供试材料分别进行上

述抗稻瘟病基因检测。待水稻生长至分蘖盛期,采集3~4片幼嫩叶混于2.0 mL的离心管,液氮研磨至粉末,CTAB法提取水稻基因组DNA^[15]。PCR反应体系:2.5 μL 10×buffer,2.0 μL dNTP (2.5 mmol/L),正向、反向引物各1.0 μL (10 μmol/L),DNA 1.0 μL,Taq Polymerase 0.5 μL,ddH₂O补至25 μL体系。扩

增程序:94 ℃ 3 min;94 ℃ 30 S,55~60 ℃ 30 S,72 ℃ 1 min,共35个循环;72 ℃ 5 min,4 ℃保存。以PCR产物为模板,在相应内切酶最适宜温度下酶切处理4 h。PCR或酶切反应产物在6%~8%的聚丙烯酰胺凝胶或1.5%的琼脂糖凝胶电泳分离检测。

表2 抗稻瘟病基因特异标记检测

Table 2 Specific molecular markers information for detecting blast resistance gene

目的 基因 Tatget gene	分子标记 Molecular marker	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')		片段大小(bp) Expected size		参考文献 References
		正向引物 Forward primer	反向引物 Revsed primer	抗 Resistance	感 Susceptibility	
Pi2	Pi9-Pro	TGATTATGTTTTTATGTGGGG	ATTAGTGAGATCCATTGTTCC	111	/	[16]
	Pi2-LRR	CGTTGTATAGGACAGTTTCATT	AATCTAGGCACTCAAGTG TTC	399/Pst I	/	
Piz-t	Pi9-Pro	TGATTATGTTTTTATGTGGGG	ATTAGTGAGATCCATTGTTCC	111	/	[16]
	Pi2-LRR	CGTTGTATAGGACAGTTTCATT	AATCTAGGCACTCAAGTG TTC	439/Pst I	/	
Pi9	Pi9-Pro	TGATTATGTTTTTATGTGGGG	ATTAGTGAGATCCATTGTTCC	128	/	[16]
Pi5	M-Pi5	ATAGATCATGCGCCCTCTTG	TCATACCCCATTCGGTCATT	206	307	[17]
Pi25	CAP3	CCTCACGTTTCTACGTCTTG	CACACCATTTCTGATGAACC	409/Nde I	/	[18]
Pita	YL155/YL87	AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	CTACCAACAAGTTCATCAAA	1042	/	[19-20]
	YL183/YL87	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	CTACCAACAAGTTCATCAAA	/	1042	
Pia	PIA	GCGACTGACACTTTCAATAGC	CGGTAGAGCAATTTAGAAGCAG	189	/	[21]
Ptr	Z12	TGCAGATTTGACTGCTCGGT	GGGATCTTCCTCGCCAAA	212	223	[22]
Pi54	MAS	CAATCTCCAAAGTTTTCAGG	GCTTCAATCACTGCTAGACC	216	359	[23]
Pil	M-Pil	GTGCTGCTGTGGCTAGTTTG	AGTCCCGCTCAATTTTCT	460	/	[24]
Pikm	Pikm 1	TGAGCTCAAGGCAAGAGTTGAGGA	TGTTCCAGCAACTCGATGAG	174	213	[25]
	Pikm 2	CAGTAGCTGTGTCTCAGAACTATG	AAGGTACCTCTTTTCGCCAG	290	332	

399/Pst I,439/Pst I和409/Nde I:相应引物扩增后利用Pst I或Nde I酶切后的片段大小
399/Pst I, 439/Pst I and 409/Nde I: The size of the fragment after amplification using the corresponding primers and digestion with Pst I or Nde I enzyme

2 结果与分析

2.1 不同亲本稻瘟病抗性表现

连续两年稻瘟病自然诱发和室内接菌鉴定与评价结果表明,供试亲本综合抗性等级达到高抗、抗、中抗、中感、感和高感的分别为0份、3份、35份、38份、14份和0份(表3)。苗、叶瘟及穗颈瘟鉴定结果显示,供试亲本的抗性水平在年度间表现基本一致,苗瘟表现抗病的亲本有45份,占50%;叶瘟表现抗病的亲本有38份,占42.22%;穗颈瘟表现抗病的亲本有20份,占22.22%。

籼稻骨干亲本年度间相同鉴定时期的抗性级别总体差异不大,重复性较好。不同鉴定时期的稻瘟病抗性级别相关性分析表明,苗瘟抗性级别与叶

瘟抗性级别($r=0.765, P<0.01$)、苗瘟抗性级别与穗颈瘟抗性级别($r=0.571, P<0.01$)、叶瘟抗性级别与穗颈瘟抗性级别($r=0.535, P<0.01$)均呈极显著正相关。但部分骨干亲本不同鉴定时期的抗性级别差异较大,如玉华占(XR12)的苗瘟、叶瘟、穗颈瘟抗性级别及综合指数分别为R、S、MS和4.75,广黄占(XR60)的苗瘟、叶瘟、穗颈瘟抗性级别及综合指数分别为MR、MS、S和3.95,万川香占(XR69)的苗瘟、叶瘟、穗颈瘟抗性级别及综合指数分别为R、R、S和4.25,桂育12号(XR77)的苗瘟、叶瘟、穗颈瘟抗性级别及综合指数分别为R、MR、S和6.55,这些差异可能是由于部分骨干亲本中携带了对苗瘟、叶瘟或穗颈瘟特异性的稻瘟病抗性基因所致(表3)。

表3 籼稻骨干亲本的稻瘟病抗性
Table 3 Blast resistance of the *indica* rice backbone parents

编号 Code	抗稻瘟病基因 Rice blast resistance gene	苗瘟抗 性级别 Seedling blast resistance level	叶瘟抗 性级别 Leaf blast resistance level	穗颈瘟 抗性级别 Neck blast resistance level	稻瘟抗性 综合指数 Blast resistance composite index	综合抗 性级别 Comprehensive resistance level
XR01	<i>Pita+Pi54</i>	R	MR	MS	3.75	MR
XR02	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi1+Pikm</i>	R	R	MR	1.95	R
XR03	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi54</i>	MR	MR	MR	3.75	MR
XR04	<i>Pi2+Pi5+Pita+Ptr+Pi54</i>	MR	MR	MR	3.50	MR
XR05	<i>Pi5+Pita+Pia+Ptr+Pi1+Pikm</i>	R	R	R	2.25	MR
XR06	<i>Pi5+Pita</i>	R	MS	MS	5.75	MS
XR07	<i>Pi2+Pi5+Pia</i>	MS	MS	S	5.80	MS
XR08	<i>Pita+Pi1</i>	MS	MR	S	6.25	S
XR09	<i>Pi2+Pi25+Ptr+Pi54</i>	R	MR	MR	3.50	MR
XR10	<i>Pi5+Pita+Pi54</i>	MS	MS	S	5.25	MS
XR11	<i>Pi2+Pia+Pi54</i>	HR	R	R	2.25	MR
XR12	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi1+Pi54</i>	R	S	MS	4.75	MS
XR13	<i>Pi2+Pi25+Pita+Pi54</i>	R	MR	R	2.50	MR
XR14	<i>Pi1+Pikm</i>	MS	MS	MS	4.55	MS
XR15	<i>Pi2+Pita+Pia+Pi54</i>	HR	R	R	1.50	R
XR16	<i>Pi2+Pi5+Pi25</i>	MR	R	MS	4.25	MS
XR17	<i>Pi5+Pia+Pi1+Pi54</i>	R	S	MR	3.25	MR
XR18	<i>Pi2+Pi54</i>	MS	MS	S	4.25	MS
XR19	<i>Pi54</i>	MS	MS	MS	3.80	MR
XR20	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi1</i>	R	R	MR	2.25	MR
XR21	<i>Pia+Pi54</i>	MR	R	MS	3.50	MR
XR22	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	MS	MS	3.95	MR
XR23	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	MS	MS	HS	6.05	S
XR24	<i>Pi2+Pi25</i>	R	MR	MS	2.95	MR
XR25	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi1</i>	R	MR	MR	2.75	MR
XR26	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Ptr+Pi54</i>	HR	R	MR	3.25	MR
XR27	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi54</i>	MS	R	S	5.00	MS
XR28	<i>Pi2+Pi5+Ptr+Pi54</i>	R	MR	MS	4.50	MS
XR29	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	MS	MS	MS	4.25	MS
XR30	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi1+Pi54</i>	R	MR	MR	3.50	MR
XR31	<i>Pi5+Pi1+Pikm</i>	MR	R	MS	3.95	MR

表 3 (续)

编号 Code	抗稻瘟病基因 Rice blast resistance gene	苗瘟抗 性级别 Seedling blast resistance level	叶瘟抗 性级别 Leaf blast resistance level	穗颈瘟 抗性级别 Neck blast resistance level	稻瘟抗性 综合指数 Blast resistance composite index	综合抗 性级别 Comprehensive resistance level
XR32	<i>Pi5</i>	S	MS	MS	4.95	MS
XR33	<i>Pi2+Pi5+Pi25</i>	MR	MR	MS	4.25	MS
XR34	<i>Pi2+Pi25+Pia+Pi54</i>	R	MR	MR	2.75	MR
XR35	<i>Ptr+Pi54</i>	MS	MS	S	6.25	S
XR36	<i>Pi2+Ptr+Pi54</i>	R	R	R	2.00	R
XR37	<i>Pi54</i>	S	S	HS	7.25	S
XR38	<i>Pi5+Pia+Pi54</i>	MS	S	S	6.75	S
XR39	<i>Pi5+Pia</i>	MS	MS	S	4.95	MS
XR40	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	MS	MS	MS	4.25	MS
XR41	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	MS	MS	4.50	MS
XR42	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia</i>	MS	MS	MS	4.95	MS
XR43	<i>Ptr+Pi54</i>	S	S	HS	6.50	S
XR44	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia+Pi54</i>	R	MR	MS	3.50	MR
XR45	<i>Ptr+Pi54</i>	MS	MS	S	5.30	MS
XR46	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia+Pi54</i>	MS	MS	MS	4.25	MS
XR47	<i>Pi2+Pia+Pi54</i>	MS	MS	S	5.55	MS
XR48	<i>Pi2+Pi25+Pi54</i>	MR	MR	MS	3.25	MR
XR49	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	S	S	6.25	S
XR50	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia+Pi54</i>	MR	MS	MS	3.75	MR
XR51	<i>Pi2+Pi25+Pia+Pi54</i>	MR	MR	MS	2.95	MR
XR52	<i>Pi2+Pi5+Pi54</i>	MS	MS	MS	4.50	MS
XR53	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia</i>	MR	MS	MS	3.75	MR
XR54	<i>Pi2+Pi25+Pia+Pi54</i>	MR	MR	MR	2.55	MR
XR55	<i>Pi5+Pi54</i>	MR	MR	MS	3.75	MR
XR56	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi54</i>	MR	MR	MS	2.95	MR
XR57	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi54</i>	MR	MR	MS	3.75	MR
XR58	<i>Pi2+Pi25+Pi54</i>	S	MS	S	5.50	MS
XR59	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi1</i>	R	R	MR	2.75	MR
XR60	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi54</i>	MR	MS	S	3.95	MR
XR61	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia+Pi54</i>	MS	MS	MS	3.50	MR

表3 (续)

编号 Code	抗稻瘟病基因 Rice blast resistance gene	苗瘟抗 性级别 Seedling blast resistance level	叶瘟抗 性级别 Leaf blast resistance level	穗颈瘟 抗性级别 Neck blast resistance level	稻瘟抗性 综合指数 Blast resistance composite index	综合抗 性级别 Comprehensive resistance level
XR62	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi54</i>	MS	MS	S	4.50	MS
XR63	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi1+Pi54</i>	R	R	MR	2.25	MR
XR64	<i>Pi2+Pi5+Pi54</i>	R	MS	S	4.25	MS
XR65	<i>Pi5+Pita+Ptr+Pi54</i>	MS	S	S	4.95	MS
XR66	<i>Pi5+Pia</i>	MS	S	MS	4.25	MS
XR67	<i>Pi54</i>	S	S	HS	7.30	S
XR68	<i>Pita+Pi54</i>	MS	S	S	6.65	S
XR69	<i>Pi5</i>	R	R	S	4.25	MS
XR70	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	MS	MS	3.75	MR
XR71	<i>Pi54</i>	MS	MS	S	4.25	MS
XR72	<i>Piz-t+Pi5+Pita+Pi1</i>	R	R	MR	3.25	MR
XR73	<i>Pi2+Pia+Pi54</i>	R	MR	MS	3.95	MR
XR74	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	MS	MS	S	5.45	MS
XR75	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	S	S	4.95	MS
XR76	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	S	S	HS	7.50	S
XR77	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	R	MR	S	6.55	S
XR78	<i>Pi5+Pia+Pi54</i>	MS	S	S	5.80	MS
XR79	<i>Pi5+Pi54</i>	MR	MS	MS	4.50	MS
XR80	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	S	S	6.25	S
XR81	<i>Pi1</i>	MR	MR	S	4.95	MS
XR82	<i>Pi5+Pita+Ptr+Pi54</i>	MS	S	S	5.50	MS
XR83	<i>Pi5+Pi54</i>	S	S	S	6.25	S
XR84	<i>Pi5+Pi25+Pi54</i>	MS	MS	S	5.75	MS
XR85	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia+Pi54</i>	MR	MS	MS	4.50	MS
XR86	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi54</i>	MR	MR	MR	3.25	MR
XR87	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	MS	S	5.80	MS
XR88	<i>Pi5+Pi54</i>	MS	MS	S	5.20	MS
XR89	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	S	S	S	5.95	MS
XR90	<i>Pi5+Pia</i>	MS	S	S	6.35	S

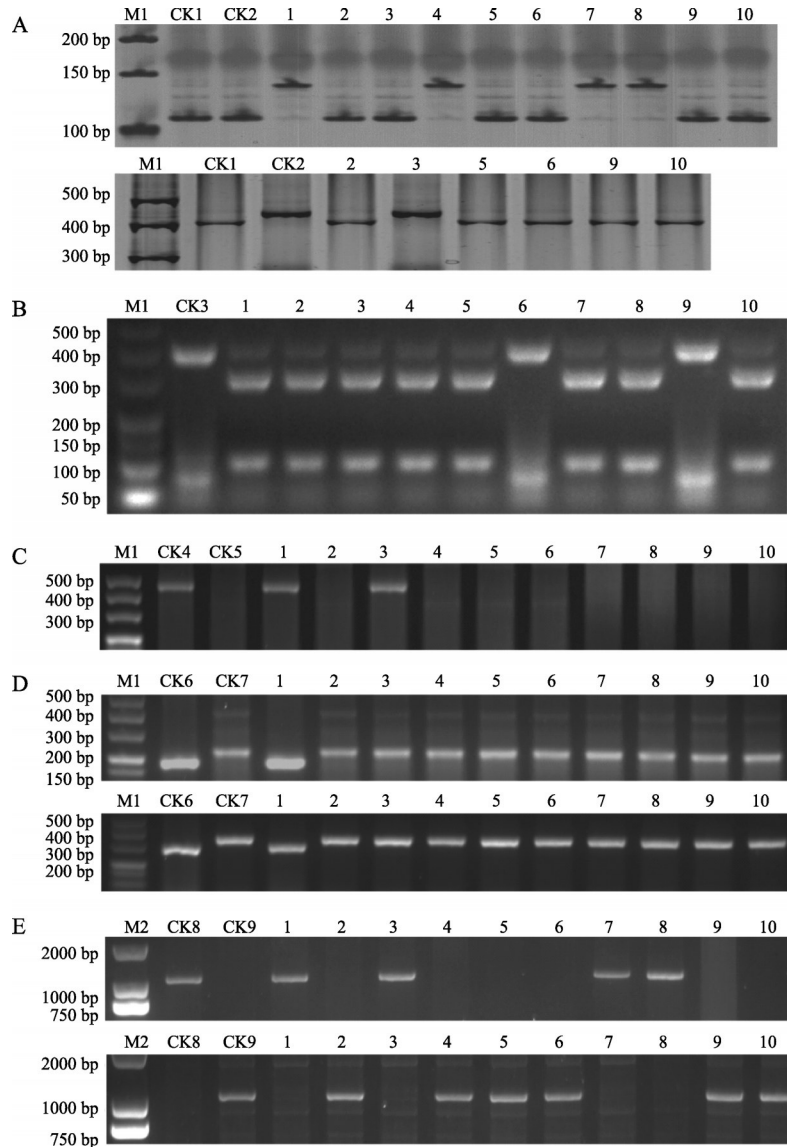
HR:高抗;R:抗;MR:中抗;MS:中感;S:感;HS:高感;下同

HR: High-resistance; R: Resistance; MR: Moderate resistance; MS: Moderate susceptibility; S: Susceptibility; HS: High-susceptibility; The same as below

2.2 稻瘟病抗性基因的鉴定与分析

本研究检测了 *Pi2*、*Piz-t*、*Pi9*、*Pi25*、*Pi5*、*Pita*、*Pta*、*Ptr*、*Pil*、*Pikm* 和 *Pi54* 等 11 个抗性基因在华南籼稻骨干亲本中的分布情况(图 1、表 3),除 *Pi9* 基因以外,其他 10 个抗性基因在 90 份籼稻亲本中均有不同的分布频率,以 *Pi54* 基因分布频率最高,达到

75.56%,其次是 *Pi5* 基因,达到 70.0%;*Pi2* 基因的分布频率也较高,达到 47.78%;其余基因分布频率则逐次降低,依次为 *Pi25* 和 *Pia*(31.11%)、*Ptr*(20.0%)、*Pil*(15.56%)、*Pita*(13.32%)、*Pikm*(4.44%) 和 *Piz-t*(1.11%)(图 2),表明抗性基因在不同籼稻骨干亲本中的分布频率差异较大。



M1:DL500; M2:DL2000;CK1: *Pi2*(+); CK2: *Piz-t*(+); CK3: *Pi25*(+);CK4: *Pil*(+);CK5: *Pil*(-);CK6: *Pikm* (+);CK7: *Pikm* (-);CK8: *Pita* (+);CK9: *Pita* (-);1~10 分别:XR05、XR28、XR72、XR35、XR52、XR53、XR65、XR68、XR85、XR86。A: *Pi2* 与 *Piz-t* 基因的电泳鉴定;

B~C:*Pi25*、*Pil* 基因的电泳鉴定;D: 分别利用 *Pikm* 1、*Pikm* 2 分子标记鉴定 *Pikm* 基因的电泳图;

E: 分别利用 YL155/YL87、YL183/YL87 分子标记鉴定 *Pita* 基因的电泳图

M1:DL500; M2:DL2000;CK1: *Pi2*(+); CK2: *Piz-t*(+); CK3: *Pi25*(+);CK4: *Pil*(+);CK5: *Pil*(-);CK6: *Pikm* (+);CK7: *Pikm* (-);CK8: *Pita* (+);CK9: *Pita* (-);1-10: XR05, XR28, XR72, XR35, XR52, XR53, XR65, XR68, XR85, XR86。A: The electrophoresis identification of *Pi2* and *Piz-t* genes; B-C: The electrophoretic identification of *Pi25* and *Pil* genes, respectively; D: Identify the electrophoretogram of *Pikm* using molecular markers *Pikm* 1 and *Pikm* 2, respectively; E: Identify the electrophoretogram of *Pita* using molecular markers YL155/YL87 and YL183/YL87 molecular markers, respectively

图 1 部分籼稻骨干亲本抗性基因电泳检测

Fig.1 Electrophoretic detection of resistance genes in the part of *indica* rice backbone parents

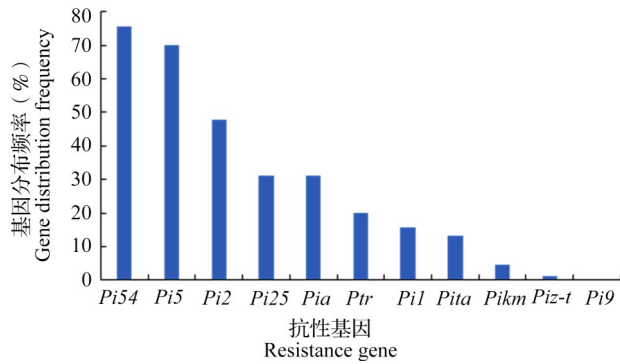
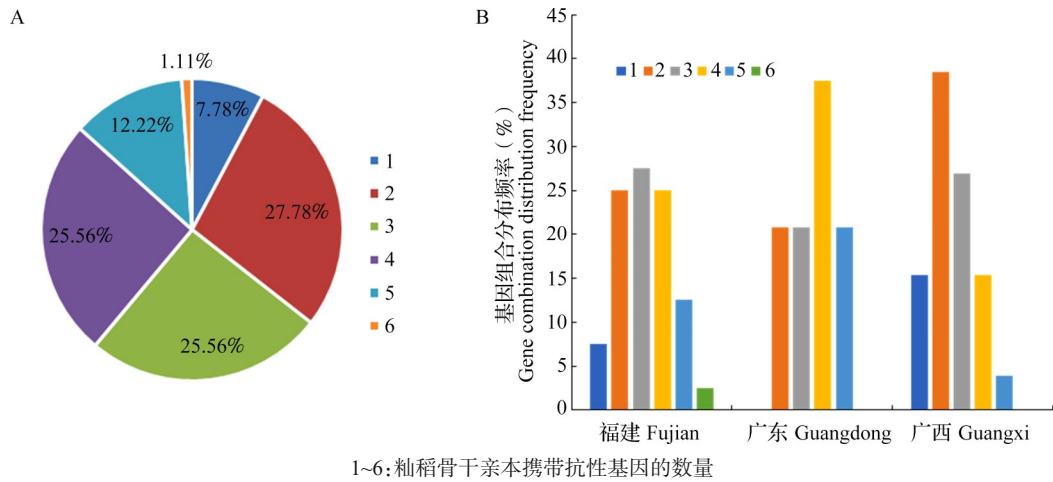


图2 稻瘟病抗性基因在籼稻骨干亲本中的分布
Fig.2 Distribution of blast resistance genes in the *indica* rice backbone parents

在携带抗性基因数量方面,所有籼稻骨干亲本均携带1个及以上的抗性基因(图3A、表4)。其中,以携带2~4个抗性基因的亲本居多,分别为25份、23份和23份,占全部亲本的78.89%;携带1个抗性

基因的亲本7份,占比7.78%;携带5个抗性基因的亲本11份,占比12.22%;携带6个抗性基因的亲本仅1份,占比1.11%。总体而言,携带极端少数或多数抗性基因的籼稻骨干亲本所占比例均较低。

进一步分析不同省份育成亲本携带抗性基因数量发现,福建育成的40份亲本中,携带2~5个抗性基因的亲本达36份,占比90.0%,携带1个抗性基因的亲本仅3份,占比7.50%,携带6个抗性基因的亲本仅1份,占比2.50%;广东育成的24份亲本中,携带2、3、4、5个抗性基因的亲本分别为5份、5份、9份和5份,占比分别为20.83%、20.83%、37.50%和20.83%;广西育成的26份亲本中,携带2~3个抗性基因的亲本17份,占比65.38%,携带1、4、5个抗性基因的亲本为4份、4份和1份,占比分别为15.38%、15.38%和3.85%(图3B),说明来源于省际间的籼稻骨干亲本携带抗性基因的数量存在着多样性。



1~6: 籼稻骨干亲本携带抗性基因的数量
1-6: The number of blast resistance genes carried by the *indica* rice backbone parents

图3 稻瘟病抗性基因组合在籼稻骨干亲本中的占比

Fig.3 Percentage of blast resistance gene combinations in the *indica* rice backbone parents

表4 籼稻骨干亲本抗瘟基因数量及其抗性评价

Table 4 The number of blast resistance genes in the *indica* rice backbone parents and their resistance evaluation

抗性基因数量 Resistance gene number	骨干亲本 Main parents	抗性频率(%) Resistance frequency	各抗性等级骨干亲本 Resistance grade of parents			
			抗R	中抗MR	中感MS	感S
1	7	14.29	0	1	4	2
2	25	24.00	0	6	11	8
3	23	21.74	1	4	14	4
4	23	73.91	1	16	6	0
5	11	72.73	1	7	3	0
6	1	100.00	0	1	0	0

抗性频率:综合抗性等级R、MR的骨干亲本数量占该抗性基因数量骨干亲本总数的比值
Resistance frequency: The proportion of R and MR grade parents with comprehensive resistance levels R and MR to the total number of backbone parents in the specific resistance gene number

就抗性基因区域分布而言, *Pi5* 和 *Pi54* 基因在福建、广东和广西育成亲本中广泛分布, *Pi2*、*Pi25* 基因在福建和广东育成亲本中分布频率较高, 在广西育成亲本的分布频率较低(图4)。在广东育成的亲本中, *Pi54*、*Pi2*、*Pi5*、*Pi25* 和 *Pia* 等基因的分布频率较高, 分别为 87.5%、79.2%、66.7%、50.0% 和 50.0%; 福建育成的籼稻亲本中, *Pi54*、*Pi5*、*Pi2* 和 *Pi25* 等基因的分布频率较高, 分别为 65%、55%、52.5% 和 32.5%; 广西育成的籼稻亲本中, *Pi54*、*Pi5*、*Pia* 和 *Ptr* 等基因分布频率分别为 87.5%、87.5%、25.0% 和 25.0%。此外, *Pikm* 基因仅在福建育成亲本中检出, *Piz-t* 基因仅在广西育成亲本中检出。综上所述, 11 个抗性基因在省际间的籼稻骨干亲本中分布频率差异较大。

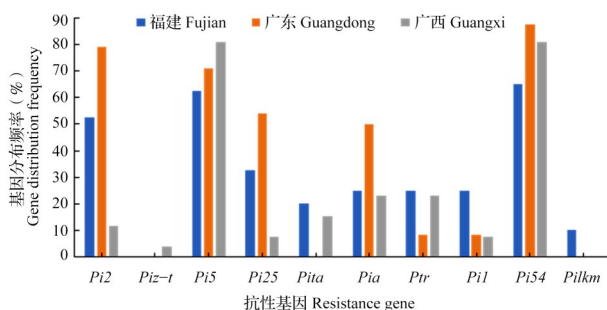


图4 稻瘟病抗性基因的区域分布

Fig.4 Distribution of blast resistance genes of different districts

2.3 基因组合分布与抗性相关性分析

为探明供试亲本的抗性基因类型或数量与亲本稻瘟病抗性之间的相关性, 对 11 个抗瘟基因在供试亲本中的分布与田间抗性进行分析, 结果表明, 在选取的 90 份籼稻骨干亲本中, 携带 1~6 个抗瘟基因的亲本分别有 14.29%、24.0%、21.74%、73.91%、72.73% 和 100.0% 表现为抗病(表4), 随着聚合抗性基因数量的增加, 亲本抗性水平呈相应提升趋势。根据稻瘟病抗性综合评价结果, 携带 1~3 个抗性基因亲本的苗瘟、叶瘟和穗颈瘟抗性级别多数为感病或中感, 综合抗性表现较弱; 苗瘟、叶瘟、穗颈瘟和综合抗性级别均为中抗及以上的亲本 19 份, 其中, 福建育成亲本 14 份, 广东育成亲本 3 份, 广西育成亲本 2 份。以上结果说明, 福建育成亲本的稻瘟病抗性整体表现优于广东、广西的育成亲本。如闽诚稻 3 号、佳禾 165 和福泰 736 等 3 份表现抗病的亲本均为福建育成, 聚合 6 个抗性基因、综合表现中抗的亲本田黄 101 也来源于福建。综上骨干亲本所携带的抗病基因数量与其抗性强弱呈正相关趋势, 福建育成亲本的抗性优于广东、广西两地。

进一步分析携带 *Pi2*、*Piz-t*、*Pi9*、*Pi25*、*Pi5*、*Pita*、

Pia、*Ptr*、*Pil*、*Pikm* 和 *Pi54* 等不同抗性基因对提升亲本抗性频率的贡献。结果显示, 不同抗性基因对提升水稻亲本抗病性的贡献表现出明显差异(图5)。携带 *Piz-t* 基因的亲本仅 1 份, 表现为抗病的亲本频率为 100.0%; 携带 *Pikm* 和 *Pil* 基因亲本有 4 份和 14 份, 表现为抗病的亲本频率分别为 75.0% 和 71.43%; 携带 *Pi2* (43 份)、*Pi25* (28 份)、*Pia* (28 份) 和 *Pita* (12 份) 基因的亲本, 表现为抗病的亲本频率分别为 65.12%、64.29%、64.29% 和 50.0%。结合抗性基因在骨干亲本分布频率表明, *Pi54*、*Pi5*、*Ptr* 和 *Pita* 等 4 个基因抗性表现较弱, 在福建稻瘟病抗性育种中利用价值不大; 携带 *Piz-t*、*Pikm*、*Pil*、*Pi2*、*Pi25* 和 *Pia* 等基因亲本的抗性表现较好, 在福建稻瘟病抗性育种中有一定利用价值, 它们对福建抗性育种贡献大小依次是 *Piz-t*、*Pikm*、*Pil*、*Pi2*、*Pi25* 和 *Pia* 基因。

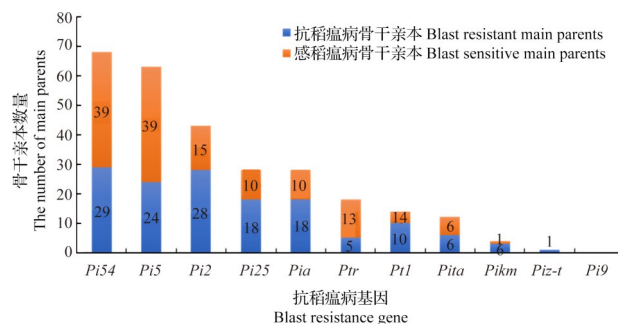


图5 基因型与籼稻骨干亲本抗性相关分析

Fig.5 Correlation analysis between gene type and blast resistance of the indica rice backbone parents

结合供试亲本的田间抗性表现, 分析不同抗性基因组合对水稻抗病性的贡献, 将携带完全相同抗性基因的亲本归为相同基因型, 合计得到 44 种基因组合(表5)。携带 *Pi5*+*Pi54* 基因组合的水稻亲本最多(11 份, 占比 12.2%), 抗病率为 27.3%; 携带 *Pi5*+*Ptr*+*Pi54* 基因组合的水稻亲本次之(7 份, 占比 7.8%), 抗病率为 0; 18 种类型抗性基因组合的水稻亲本抗稻瘟病水平可达到中抗以上。其中, *Pi2*+*Pi5*+*Pi25*+*Pi54* 基因组合(亲本 5 份, 抗病率 60.0%)、*Pi2*+*Pi5*+*Pi25*+*Pia*+*Pi54* 基因组合(亲本 5 份, 抗病率 60.0%)、*Pi2*+*Pi25*+*Pia*+*Pi54* 基因组合(亲本 3 份, 抗病率 100.0%)、*Pi2*+*Pi5*+*Pi25*+*Pil* 基因组合(亲本 2 份, 抗病率 100.0%)、*Pi2*+*Pi5*+*Pia*+*Pi54* 基因组合(亲本 2 份, 抗病率 100.0%)、*Pi2*+*Pi5*+*Pia*+*Pil*+*Pi54* 基因组合(亲本 2 份, 抗病率 100.0%)是较好的 6 个抗性基因组合。研究同时发现, 携带相同抗瘟基因型的亲本, 其抗性表现基本一致, 表明抗性基因型是决定品种抗病水平的关键性因素。

表5 不同抗性基因组合在籼稻骨干亲本中的分布及其抗性水平
Table 5 The distribution of blast resistance genes combinations in the backbone parents of *indica* rice and their resistance levels

基因组合 Gene combination	材料数 Number of material	占比(%) Proportion	抗病率(%) Disease resistance rate	基因组合 Gene combination	材料数 Number of material	占比(%) Proportion	抗病率(%) Disease resistance rate
<i>Pi1</i>	1	1.1	0	<i>Pi2+Pia+Pi54</i>	3	3.3	66.7
<i>Pi5</i>	2	2.2	0	<i>Pi5+Ptr+Pi54</i>	7	7.8	0
<i>Pi54</i>	4	4.4	25.0	<i>Pi2+Pi5+Ptr+Pi54</i>	1	1.1	0
<i>Pi1+Pikm</i>	1	1.1	0	<i>Pi2+Pi25+Pita+Pi54</i>	1	1.1	100.0
<i>Pi5+Pita</i>	1	1.1	0	<i>Pi2+Pi25+Ptr+Pi54</i>	1	1.1	100.0
<i>Pi2+Pi54</i>	1	1.1	0	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi1</i>	1	1.1	100.0
<i>Pi2+Pi25</i>	1	1.1	100.0	<i>Pi2+Pita+Pia+Pi54</i>	1	1.1	100.0
<i>Pia+Pi54</i>	1	1.1	100.0	<i>Pi5+Pia+Pi1+Pi54</i>	1	1.1	100.0
<i>Pita+Pi1</i>	1	1.1	0	<i>Piz-t+Pi5+Pita+Pi1</i>	1	1.1	100.0
<i>Pita+Pi54</i>	2	2.2	50.0	<i>Pi5+Pita+Ptr+Pi54</i>	2	2.2	0
<i>Ptr+Pi54</i>	3	3.3	0	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia</i>	2	2.2	50.0
<i>Pi5+Pia</i>	3	3.3	0	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi1</i>	2	2.2	100.0
<i>Pi5+Pi54</i>	11	12.2	27.3	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi54</i>	2	2.2	100.0
<i>Pi2+Pi5+Pia</i>	1	1.1	0	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi54</i>	5	5.6	60.0
<i>Pi5+Pi25+Pi54</i>	1	1.1	0	<i>Pi2+Pi25+Pia+Pi54</i>	3	3.3	100.0
<i>Pi5+Pita+Pi54</i>	1	1.1	0	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi1+Pi54</i>	1	1.1	0
<i>Pi2+Ptr+Pi54</i>	1	1.1	100.0	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pi1+Pikm</i>	1	1.1	100.0
<i>Pi5+Pi1+Pikm</i>	1	1.1	100.0	<i>Pi2+Pi5+Pita+Ptr+Pi54</i>	1	1.1	100.0
<i>Pi2+Pi5+Pi25</i>	2	2.2	0	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Ptr+Pi54</i>	1	1.1	100.0
<i>Pi2+Pi5+Pi54</i>	2	2.2	0	<i>Pi2+Pi5+Pi25+Pia+Pi54</i>	5	5.6	60.0
<i>Pi5+Pia+Pi54</i>	2	2.2	0	<i>Pi2+Pi5+Pia+Pi1+Pi54</i>	2	2.2	100.0
<i>Pi2+Pi25+Pi54</i>	2	2.2	50.0	<i>Pi5+Pita+Pia+Ptr+Pi1+Pikm</i>	1	1.1	100.0

抗病率:综合抗性级别R、MR的骨干亲本数量占该抗性基因组合骨干亲本总数的比值;占比:特定抗性基因组合的材料数占90份骨干亲本的比值

Disease resistance rate: The ratio of backbone parents with comprehensive resistance levels R and MR to the total number of backbone parents in the resistance gene combination; Proportion: the ratio of the number of materials in the specific resistance gene combination to the ninety backbone parents

3 讨论

3.1 稻瘟病抗性基因在育成品种中的分布及抗性表现

稻瘟病抗性基因的挖掘和利用是选育抗病品种的前提和基础^[26]。本研究发现*Pi54*、*Pi5*和*Pi2*基因在华南稻区育种中应用较广泛,*Pi25*、*Pia*、*Ptr*、*Pi1*和*Pita*基因分布较少;*Pikm*和*Piz-t*基因分布频率很低,*Pikm*基因仅在福建育成的4份亲本中检出,*Piz-t*基因仅在广西育成品种万山红中检出,所有亲本均

未检出*Pi9*基因。抗性基因不均衡的分布表明华南稻区常规籼稻育种过程中*Pi9*等稻瘟病抗性基因没有得到充分利用,应在后续研究中聚合不同抗性基因来提高品种抗性。同时,随着水稻遗传学与分子生物学的发展,新的稻瘟病抗性基因不断被鉴定,对不同类型抗瘟基因的分析与应用具有重要的意义。

抗性基因聚合的抗性增强效应在华南籼稻骨干亲本中同样适用^[7-8,27-28]。苗瘟、叶瘟、穗颈瘟和综合抗性评价均表现为抗病的亲本,如佳禾165、福泰

736和田黄101等可优先用于福建地区抗性育种或品种推广。据了解,上述3个品种已在福建省及南方稻区生产上面积推广应用,深受种植户喜爱,具有良好的应用前景(结果未发表)。华南籼稻骨干亲本抗性基因组合类型丰富,40.9%的基因组合的抗性水平达到中抗以上。水稻抗稻瘟病的定向改良可借鉴 $Pi2+Pi25+Pia+Pi54$ 、 $Pi2+Pi5+Pi25+Pi1$ 、 $Pi2+Pi5+Pia+Pi54$ 和 $Pi2+Pi5+Pia+Pi1+Pi54$ 等抗性基因组合。此外,个别亲本携带3~5个抗性基因仍表现感病,可能是由于某些抗病基因之间存在复杂的相互抑制作用,从而导致水稻抗病性降低,其具体机制仍有待进一步研究及验证。

3.2 稻瘟病抗性评价探讨

稻瘟病菌在水稻的不同生育时期、不同部位均可侵染,其中穗颈瘟对水稻的产量危害最大,一旦发生流行将给水稻产量造成巨大损失^[9]。而稻瘟病抗性检测往往依赖病圃鉴定,受气候条件影响较大。两年的调查发现供试亲本苗瘟抗性级别、叶瘟抗性级别和穗瘟抗性级别之间两两呈极显著正相关,且发生苗瘟、叶瘟的品种必定发生穗颈瘟。该结果表明苗瘟、叶瘟在一定程度可以反映穗颈瘟的抗性水平,具有一定的参考价值。因此,可以根据温室接菌进行苗瘟、叶瘟鉴定来推测水稻品种穗颈瘟抗性,提高稻瘟病抗性鉴定的效率和准确性。

参考文献

- [1] Li W T, Chern M S, Yin J J, Yin J, Wang J, Chen X W. Recent advances in broad-spectrum resistance to the rice blast disease. *Current Opinion in Plant Biology*, 2019, 50: 114-120
- [2] 陆明红, 刘万才, 朱凤, 张求东, 夏凤. 2014年稻瘟病重发原因分析与治理对策探讨. *中国植保导刊*, 2015, 35(6): 35-39
Lu M H, Liu W C, Zhu F, Zhang Q D, Xia F. Analysis on the cause seriously rice blast in 2014 and discussion on its countermeasures. *China Plant Protection*, 2015, 35(6): 35-39
- [3] 谢华安. 杂交水稻抗病虫育种实践与思考. *中国稻米*, 2020, 26(1): 1-5
Xie H A. Practice and thinking of hybrid rice breeding with disease-resistant and insect-resistant. *Chinese Rice*, 2020, 26(1): 1-5
- [4] 毛洧, 陈学伟, 王静. 水稻抗稻瘟病机制的研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2022, 52(10): 1495-1510
Mao W, Chen X W, Wang J. Recent progress on rice resistance to blast disease. *Scientia Sinica (Vitae)*, 2022, 52(10): 1495-1510
- [5] 曹妮, 陈渊, 季芝娟, 曾宇翔, 杨长登, 梁燕. 水稻抗稻瘟病分子机制研究进展. *中国水稻科学*, 2019, 33(6): 489-498
Cao N, Chen Y, Ji Z J, Zeng Y X, Yang C D, Liang Y. Recent progress in molecular mechanism of rice blast resistance. *Chinese Journal of Rice Science*, 2019, 33(6): 489-498
- [6] Sharma S K. Recent chemical and biological control measures for rice blast disease-review. *Progressive Agriculture*, 2015, 15(2): 157-161
- [7] 汪文娟, 周继勇, 汪聪颖, 苏菁, 封金奇, 陈炳, 冯爱卿, 杨健源, 陈深, 朱小源. 八个抗稻瘟病基因在华南籼型杂交水稻中的分布. *中国水稻科学*, 2017, 31(3): 299-306
Wang W J, Zhou J Y, Wang C Y, Su J, Feng J Q, Cheng B, Feng A Q, Yang J Y, Chen S, Zhu X Y. Distribution of eight rice blast resistance genes in *indica* hybrid rice in China. *Chinese Journal of Rice Science*, 2017, 31(3): 299-306
- [8] 陆展华, 付巍巍, 刘维, 卢东柏, 王晓飞, 王石光, 何秀英. 广东省主栽水稻品种稻瘟病主效抗性基因的鉴定及分析. *植物病理学报*, 2020, 50(6): 711-722
Lu Z H, Fu W W, Liu W, Lu D B, Wang X F, Wang S G, He X Y. Identify and analysis of major resistance genes to *Magnaporthe oryzae* in main rice varieties in Guangdong Province. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2020, 50(6): 711-722
- [9] 王晓玲, 吴婷, 唐书升, 李霞, 王智权, 肖宇龙, 余传源. 82份籼梗稻骨干亲本抗稻瘟病基因的分子检测. *热带作物学报*, 2021, 42(5): 1199-1208
Wang X L, Wu T, Tang S S, Li X, Wang Z Q, Xiao Y L, Yu C Y. Molecular marker detection of blast resistance genes in 82 main parents of *Indica* and *Japonica* Rice. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(5): 1199-1208
- [10] 黎玲, 吕启明, 彭志荣, 潘求一, 李毅, 张政兵, 尹丽, 石银丰, 邓华凤, 邢俊杰. 籼型水稻中稻瘟病抗性基因分布及抗性研究. *杂交水稻*, 2022, 37(1): 30-37
Li L, Lü Q M, Peng Z R, Pan Q Y, Li Y, Zhang Z B, Yin L, Shi Y F, Deng H F, Xing J J. Distribution of blast resistance genes and varietal resistance in *indica* rice. *Hybrid Rice*, 2022, 37(1): 30-37
- [11] 王东元, 张昊, 王玲, 贾辰昊, 赵博, 左南, 仝骁鹏, 赵飞, 裴忠有. 107份梗稻抗稻瘟病基因和恢复基因的分子检测与分析. *分子植物育种*, 2021, 19(8): 2644-2659
Wang D Y, Zhang H, Wang L, Jia C H, Zhao B, Zuo N, Tong X P, Zhao F, Pei Z Y. Molecular detection and analysis of blast resistance genes and restorer genes in 107 *japonica* rice. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19(8): 2644-2659
- [12] 赵沙沙, 田永宏, 余华强, 孙永建, 曹国长, 陈波, 房振兵, 范兵. 稻瘟病菌孢子的分离和保存方法. *湖北农业科学*, 2015, 54(24): 6252-6254
Zhao S S, Tian Y H, Yu H Q, Sun Y J, Cao G C, Chen B, Fang Z B, Fan B. The methods of isolation and preservation of the single spore of rice blast fungus. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, 54(24): 6252-6254
- [13] 李刚, 袁彩勇, 曹奎荣, 孙祥良, 李军, 王健, 程保山, 罗伯祥, 徐卫军, 唐九友, 储成才. 544份水稻种质稻瘟病抗性鉴定及抗性基因的分布研究. *中国农业大学学报*, 2018, 23(5): 22-28

- Li G, Yuan C Y, Cao K R, Sun X L, Li J, Wang J, Chen B S, Luo B X, Xu W J, Tang J Y, Chu C C. Evaluation and distribution of the blast resistance genes of 544 rice material. *Journal of China Agricultural University*, 2018, 23(5):22-28
- [14] 中华人民共和国农业部. NY/T2646-2014水稻品种试验稻瘟病抗性鉴定与评价技术规程. 北京:中国标准出版社, 2014
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. NY/2646-2014 technical specification for identification and evaluation of blast resistance in rice variety regional test. Beijing: Standards Press of China, 2014
- [15] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8(19): 4321-4325
- [16] Tian D G, Chen Z J, Chen Z Q, Zhou Y C, Wang Z H, Wang F, Chen S B. Allele-specific marker-based assessment revealed that the rice blast resistance genes *Pi2* and *Pi9* have not been widely deployed in Chinese *indica* rice cultivars. *Rice*, 2016, 9(1): 19
- [17] 高利军, 高汉亮, 颜群, 周萌, 周维永, 张晋, 邓国富. 4个抗稻瘟病基因分子标记的建立及在水稻亲本中的分布. *杂交水稻*, 2010(S1): 294-298
Gao L J, Gao H L, Yan Q, Zhou M, Zhou W Y, Zhang J, Deng G F. Establishment of markers for four blast genes and marker distribution in rice parents. *Hybrid Rice*, 2010(S1): 294-298
- [18] Wang H M, Chen J, Shi Y F, Pan G, Shen H C, Wu J L. Development and validation of CAPS markers for marker-assisted selection of rice blast resistance gene *Pi25*. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(11): 1960-1968
- [19] Jia Y L, Wang Z H, Fjellstrom R G, Moldenhauer K A K, Azam M A, Correll J, Lee F N, Xia Y W, Rutger, J. N. Rice *Pi-ta* gene confers resistance to the major pathotypes of the rice blast fungus in the United States. *Phytopathology*, 2004, 94(3): 296-301
- [20] Jia Y L, Wang Z H, Singh P. Development of dominant rice blast *Pita* resistance gene markers. *Crop Science*, 2002, 42(6): 2145-2149
- [21] Zeng X S, Yang X F, Zhao Z H, Lin F, Wang L, Pan Q H. Characterization and fine mapping of the rice blast resistance gene *Pia*. *Science China (Life Sciences)*, 2011, 54(4): 372-378
- [22] Zhao H J, Wang X Y, Jia Y L, Minkenberg B, Wheatley M, Fan J B, Jia M H, Famoso A, Edwards J D, Wamishe Y, Valent B, Wang G L, Yang Y N. The rice blast resistance gene *Pir* encodes an atypical protein required for broad-spectrum disease resistance. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2039
- [23] Ramkumar G, Srinivasarao K, Mohan K M, Sudarshan I, Sivarajani A K P, Gopalakrishna K, Neeraja C N, Balachandran S M, Sundaram R M, Prasad M S, Rani N S, Prasad A M R, Viraktamath B C, Madhav M S. Development and validation of functional marker targeting an InDel in the major rice blast disease resistance gene *Pi54* (*Pik^h*). *Molecular Breeding*, 2011, 27(1): 129-135
- [24] Liu K Q, Wu H, Yan Q, Wang W H, Chen X L, Zhou W Y, Li R F, Gao L J, Wei S F, Deng G F. Development and application of specific marker of blast resistance gene *Pil* in rice. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 29(6): 1241-1244
- [25] Costanzo S, Jia Y L. Sequence variation at the rice blast resistance gene *Pi-km* locus: Implications for the development of allele specific markers. *Plant Science*, 2010, 178(6): 523-530
- [26] 朱业宝, 方珊茹, 沈伟峰, 陈立喆, 江川, 王金英. 国外引进水稻种质资源的稻瘟病抗性基因检测与评价. *植物遗传资源学报*, 2020, 21(2): 418-430
Zhu Y B, Fang S R, Shen W F, Chen L Z, Jiang C, Wang J Y. Detection and evaluation of blast resistance genes in exotic rice germplasm resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(2): 418-430
- [27] 何弯弯, 王健康, 丁成伟, 郭荣良, 吴玉玲, 王友霜, 赵轶鹏, 胡婷婷. *Pib*、*Pi9*、*Pi2*、*Pi54*和*Pish*在粳稻品种(系)中的分布及对穗颈瘟的抗性. *西南农业学报*, 2022, 35(3): 497-502
He W W, Wang J K, Ding C W, Guo R L, Wu Y L, Wang Y S, Zhao Y P, Hu T T. Distribution of *Pib*, *Pi9*, *Pi2*, *Pi54* and *Pish* genes in *Japonica* rice varieties (lines) and resistance to panicle blast. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(3): 497-502
- [28] Kanyange L, Kamau J, Ombori O, Ndayiragije A, Muthini M. Genotyping for blast (*Pyricularia oryzae*) resistance genes in F_2 population of supra aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Genomics*, 2019(1):1