

# 宁夏水稻核心种质及后代抗稻瘟病基因型分析

李耀栋<sup>1</sup>, 李金吉<sup>1</sup>, 张 敏<sup>1</sup>, 田 蕾<sup>1,2</sup>, 杨淑琴<sup>1,2</sup>, 李培富<sup>1,2</sup>, 张银霞<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>宁夏大学农学院, 银川 750021; <sup>2</sup>宁夏优势特色作物现代分子育种重点实验室, 银川 750021)

**摘要:** 本研究以 96 份宁夏水稻核心种质资源和 47 份杂交后代为试验材料, 采用宁夏稻瘟病菌生理小种人工接种和自然诱发相结合的方法对其进行稻瘟病抗性的大田鉴定和病圃鉴定, 评价了每个材料的稻瘟病抗性; 同时采用 8 个主效抗稻瘟病基因的功能标记对上述材料进行抗病基因的分子检测, 得到了 28 个不同的抗稻瘟病基因型, 将不同基因型的稻瘟病抗性评价进行了差异显著性分析。结果表明, 同时含有 *Pita*, *Pib*, *Pikm*, *Pikh*, *Pi9* 和 *Pi5* 共 6 个抗病基因组成的基因型的水稻材料对稻瘟病的抗性极显著高于其它基因型的抗性。*Pita* 基因单独与 *Pikm*, *Pikh*, *Pi2*, *Pi5* 基因聚合时均表现出正向聚合效应, 其中 *Pita* 与 *Pikh* 基因的聚合效应最强。当 *Pib* 与 *Pita+Pikh* 聚合时, 表现出负向聚合效应。这为宁夏地区通过基因聚合方法选育广谱持久抗稻瘟病水稻新品种提供了重要的参考依据。

**关键词:** 水稻; 稻瘟病; 抗性基因; 基因型

## Analysis of Blast Resistance Genes in Japonica Rice Core Collection and Progeny in Ningxia

LI Yao-dong<sup>1</sup>, LI Jin-ji<sup>1</sup>, ZHANG Min<sup>1</sup>, TIAN Lei<sup>1,2</sup>, YANG Shu-qin<sup>1,2</sup>, LI Pei-fu<sup>1,2</sup>, ZHANG Yin-xia<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>College of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021; <sup>2</sup>Ningxia Key Laboratory of modern molecular breeding for dominant and characteristic crops, Yinchuan 750021)

**Abstract:** In this study, ninety-six rice core germplasm resources and these 47 hybrid progeny in Ningxia province were tested for rice blast resistance in the fields, by using artificial inoculation and natural infection with physiological races of rice blast pathogen. Moreover, eight functional markers, which associated to the respective rice blast resistance genes, were used for marker-assisted detection of the resistance genes in mentioned materials as well as additional 28 different Genotypes. As observed, the resistance of genotypes containing *Pita*, *Pib*, *Pikm*, *Pikh*, *P9* and *Pi5* represented significantly high level of resistance than that of other genotypes. The *Pita* gene, pyramiding with either of *Pikm*, *Pikh*, *Pi2* and *Pi5* genes, showed increased resistance to rice blast, and notably, stacking of *Pita* and *Pikh* genes showed highest resistance. However, *Pib* and *Pita+Pikh* in a genotype showed reduced rice blast

收稿日期: 2018-07-31

修回日期: 2018-08-31

网络出版日期:

URL(网络出版地址):

第一作者研究方向为水稻遗传育种研究, E-mail: yaodongl@126.com

通信作者: 张银霞, 研究方向为水稻抗病性分子育种, E-mail: zyxinxia2008@126.com

基金项目: 宁夏自然科学基金项目(2018AAC03009); 宁夏回国人员优先资助项目(宁人社函[2016]494号)

**Foundation project:** Ningxia Natural Science Foundation Project (2018AAC03009); Priority projects for returnees in Ningxia (Ning people's letter No. [2016]494)

resistance. Thus, this work provides an important reference in breeding for new rice varieties with broad-spectrum resistance, by pyramiding of rice blast resistance genes in Ningxia region.

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

稻瘟病是由稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*; 无性态: *Pyriculariaoryzae*) 引起的真菌病害, 一直以来都是水稻生产的严重障碍, 同时也是水稻育种家面临的巨大挑战。生产实践经验表明选育抗病品种是解决稻瘟病最为经济和有效的手段<sup>[1-4]</sup>。不同品种的稻瘟病抗性不同; 相同品种, 在不同地区环境、栽培时间、生长时期, 其产生的抗性也不同<sup>[5]</sup>。同时由于单一品种的长时间大面积种植, 稻瘟病菌生理小种群结构发生变化, 导致品种在 3~5 年后逐渐“丧失”抗性<sup>[6]</sup>。选育出能在各种复杂条件下表现持久抗病的品种是水稻抗病育种的热点方向之一。

近年来, 众多学者研究发现多基因聚合有助于提高品种抗性的持久性和广谱性<sup>[7-8]</sup>。Chen 等<sup>[9]</sup>利用 715 个菌株接种结果表明, *Pi1* 和 *Pi2* 的侵染率为 7.55% 和 10.35%, 将两个基因聚合后的侵染率仅为 1.96%, 说明基因聚合以后可以提高植株的抗性。于苗苗等<sup>[10]</sup>聚合两个抗谱重叠度存在较大差异的基因提高了植株的抗性。然而, 陈羽<sup>[11]</sup>研究发现 *Piz+Pi33* 与 *Piz+Pi54* 基因聚合以后的抗性频率都低于其单基因品系的抗性频率, 说明基因聚合以后的抗性反而降低并产生了负向效应, 这一研究结果表明单从抗谱简单叠加的角度去推导基因的聚合效应是不够严谨的。刘士平等<sup>[12]</sup>研究表明多个抗性基因聚合后, 并不简单地表现为单个抗病基因的抗谱之间的简单累加, 而是抗性基因之间表现为极显著的基因互作,

使其能够抵抗单个抗病基因不能抵抗的生理小种。这种互作导致抗性基因聚合品系的抗性效应发生偏离, 包括正向偏离和负向偏离 (Tabien, et al., 2000)。可见在两个或多个抗性基因的互作情况不确定的条件下将这些基因聚合, 反而可能由于出现负向聚合效应使得聚合体抗性低于聚合前的单基因品系。所以通过基因聚合培育抗病品种时有针对性地选出有高聚合效应的基因组合之后构建成最适基因型组合, 再按照基因型进行聚合育种, 这样就能在一定程度上避免负向聚合效应的影响, 从而更加高效的发挥抗病基因优势, 培育持久广谱高抗品种。

宁夏稻瘟病菌群体育性水平高, 稻瘟病常发造成的减产严重, 还严重威胁着水稻的品质<sup>[13]</sup>。在宁夏地区推广的水稻品种中, 有的品种存在高产优质但不抗稻瘟病的现象。所以通过分子标记辅助选择对这些品种聚合抗病基因的最适基因型组合, 增加其抗性。这种提高稻瘟病抗性的改良将具有很大的现实意义。本试验通过报道最为广泛的 8 个抗稻瘟病主效基因的分子标记和田间抗性鉴定相结合的方法, 试图发掘出宁夏地区最适的水稻稻瘟病抗性基因型, 以期为宁夏地区稻瘟病基因聚合育种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 供试水稻材料 本试验以 96 份宁夏水稻核心种质资源和 47 份杂交后代为试验材料。具体品种

名称及世代如表 1 所示。

各水稻种植区（贺兰，平罗，青铜峡，中卫，银川）

1. 1. 2 供试稻瘟病菌株 供试稻瘟病菌株由宁夏 收集到的致病性强且致病力频率高的稻瘟病菌经过

大学农学院植保实验室李文强老师提供，是从宁夏 单胞分离纯化后的菌株。

表 1 供试水稻材料编号和品种名称

Table 1 Varieties tested in this study					
材料编号	品种名称	材料编号	品种名称	材料编号	品种名称
Material number	Variety	Material number	Variety	Material number	Variety
17001	宁粳 3 号 Ningjing No.3	17035	宁糯 5 号 Ning glutinous No.5	17069	11NX-2417
17002	宁粳 7 号 Ningjing No.7	17036	黑兰稻 Heilan rice	17070	11NX-2324
17003	宁粳 9 号 Ningjing No.9	17037	小糯稻 Samll waxy	17071	2004J-58
17004	宁粳 12 号 Ningjing No.12	17038	小红板稻 Small red board rice	17072	2003Y-266
17005	宁粳 14 号 Ningjing No.14	17039	小琥板稻 Small succinate rice	17073	2012-784
17006	宁粳 15 号 Ningjing No.15	17040	小白板稻 Small white board rice	17074	2007-218
17007	宁粳 16 号 Ningjing No.16	17041	有芒大琥板稻 Rice with awn big succinate rice	17075	2007G-318
17008	宁粳 18 号 Ningjing No.18	17042	大琥板稻 Large succinate rice	17076	2009XZ-588
17009	宁粳 19 号 Ningjing No.19	17043	白皮小稻 White skin small rice	17077	2007XZ-181
17010	宁粳 23 号 Ningjing No.23	17044	宁香优 2 号 Ningxiangyou No.2	17078	2013-1
17011	宁粳 24 号 Ningjing No.24	17045	农科 843 Nongke No.843	17079	2013-409
17012	宁粳 25 号 Ningjing No.25	17046	沈稻 121 Shendao 121	17080	2012-131
17013	宁粳 28 号 Ningjing No.28	17047	花 94 Hua 94	17081	2012-162
17014	宁粳 31 号 Ningjing No.31	17048	花 119 Hua 119	17082	2011-173
17015	宁粳 32 号 Ningjing No.32	17049	花 92 Hua 92	17083	2012-336
17016	宁粳 33 号 Ningjing No.33	17050	花 96 Hua 96	17084	2013-1104
17017	宁粳 35 号 Ningjing No.35	17051	花 98 Hua 98	17085	2013-1120
17018	宁粳 36 号 Ningjing No.36	17052	花 117 Hua 117	17086	2013-1134
17019	宁粳 37 号 Ningjing No.37	17053	花 118 Hua 118	17087	SD-4
17020	宁粳 38 号 Ningjing No.38	17054	沈农 389 Shennong 389	17088	XM-307
17021	宁粳 39 号 Ningjing No.39	17055	节 11 Jie 11	17089	318
17022	宁粳 40 号 Ningjing No.40	17056	鉴 17 Jian 17	17090	SD-1
17023	宁粳 41 号 Ningjing No.41	17057	鉴 1310 Jian 1310	17091	SD-2
17024	宁粳 42 号 Ningjing No.42	17058	鉴 61 Jian 61	17092	913
17025	宁粳 43 号 Ningjing No.43	17059	鉴 24 Jian 24	17093	04-17
17026	宁粳 44 号 Ningjing No.44	17060	鉴 1342 Jian 1342	17094	优引 3 号 Youyin No.3

17027	宁粳 44 号② Ningjing No.44②	17061	鉴 1346 Jian 1346	17095	通系 08-4042 Tongxi 08-4042
17028	宁粳 45 号 Ningjing No.45	17062	鉴 1360 Jian 1360	17096	84-275
17029	宁粳 46 号 Ningjing No.46	17063	京宁 2 号 Jingning No.2	17097	优育 41 Youyu 41
17030	宁粳 47 号 Ningjing No.47	17064	京宁 7 号 Jingning No.2	17098	宁粳 51 号 Ningjing No.51
17031	宁香稻 1 号 Ningxiang rice No.1	17065	宁资 218 Ningzi 218	17099~17106	宁粳 43/香粳 2 号 Ningjing No.43/xiangjing No.2
17032	宁香稻 2 号 Ningxiang rice No.2	17066	宁大 143 Ningda 143	17107~17121	盐丰 47/宁粳 43 Yanfeng47/NingjingNo.43
17033	宁香稻 3 号 Ningxiang rice No.3	17067	89XW-216	17122~17129	宁粳 16/花 118 Ningjing No.16/Hua118
17034	毛毛糯 Maomao glutinous	17068	04QX-294	17130~17143	盐丰 47/宁粳 28 Yanfeng47/NingjingNo.28

17001~17098 是核心种质，17099~17143 是杂交后代，其中 17099~17121 为 F<sub>3</sub>，17122~17143 为 F<sub>4</sub>。  
17001-17098 is the core germplasm, 17099-17143 is a hybrid offspring, of which 17099-17121 is F<sub>3</sub>, 17122 -17143 is F<sub>4</sub>.

1.2 实验方法

1.2.1 宁夏水稻核心种质及后代稻瘟病抗性的鉴定 水稻材料在宁夏大学水稻育种基地种植，每个材料种 2 行，每行 10 株，株距 10cm，行距 26cm，每隔 2 行种植 1 行杨和白皮稻为诱发行。在水稻分蘖期将配制好的稻瘟病菌孢子悬浮液（浓度为 100 倍显微镜视野下 20 左右个孢子）混合后采用喷雾法人工接种并结合自然诱发的方式进行稻瘟病抗性鉴

定。在分蘖初期和盛期调查 3 次叶瘟，在抽穗期及黄熟期调查 2 次穗瘟。叶瘟的调查在每个小区以发病最重的 2~3 株的平均发病等级作为该品种的抗性级别，穗瘟的调查在每个小区随机抽查 10 株，记录发病率和病级。稻瘟病发病情况按照国际水稻所（IRRI）稻瘟病抗性评价叶瘟分级标准。抗性评价值越大，越容易感病。具体分级如表 2 所示。

表 2 稻瘟病抗性综合评价及分级标准  
Table 2 Comprehensive evaluation and grading standard of rice blast resistance

抗级	抗感类型	抗性评价
Resistance leve	Type	Resistance evaluation
0	高抗（HR）	< 0.1
1	抗病（R）	0.1-2.0
3	中抗（MR）	2.1-4.0
5	中感（MS）	4.1-6.0
7	感病（S）	6.1-7.5
9	高感（HS）	7.5-9.0

1.2.2 宁夏水稻核心种质及后代抗稻瘟病基因的分子检测 工程（上海）股份有限公司北京分公司合成，序列见表 3。

1.2.2.1 引物合成 PCR 特异性引物由生工生物

表 3 稻瘟病抗性基因引物序列

Table 3 Gene-specific primers of rice blast resistance

抗性基因	标记类型	序列 (5' → 3')	片段大小 (bp)	参考文献
Target Gene	Labelling pattern	Sequence (5' → 3' )	Fragment size (bp)	Reference
<i>Pita</i>	SNP	F:AGCAGGTTATAAGCTAGGCC R:CTACCAACAAGTTCATCAAA	1042	[14]
<i>Pib</i>	SNP	F:TCGGTGCCTCGGTAGTCAGT R:GGGAAGCGGATCCTAGGTCT	803	[15]
<i>Pikh</i>	InDel	F:CAATCTCTCAAAGTTTCAGG R:GCTTCAATCACTGCTAGACC	216/359	[16]
<i>Pikm</i>	InDel	F:CAGTAGCTGTGTCTCAGAACTATG R:AAGGTACCTCTTTTCGGCCAG	290/332	[17]
<i>Pi2</i>	SNP	F:CAGCGATGGTATGAGCACAA R:CGTTCCTATACTGCCACATCG	450/282	[18]
<i>Pi5</i>	SNP	F:ATAGATCATGCGCCCTCTTG R:TCATACCCCATTCGGTCATT	206/307	[18]
<i>Pi9</i>	SNP	F:GCTGTGCTCCAAATGAGGAT R:GCGATCTCACATCCTTTGCT	291/397	[19]
<i>Pid2</i>	SNP	F:TGTGAAGCAAATGATCACCA R:GGCAGTCGTATTGCTGTGAA	1009	[20]

1. 2. 2. 2 基因组总 DNA 提取及扩增 采用 SDS 法

提取总 DNA，并用琼脂糖电泳检测 DNA 质量浓度。以总 DNA 为模板进行 PCR 扩增，20 μL 反应体系：10×Buffer（含 Mg<sup>2+</sup>）2.0 μL，2.5 mol/mL dNTP0.4 μL，每种引物（2 mmol/L）各 1.0 μL，*Taq* 酶 0.2 μL，模板 DNA2.0 μL，最后用 ddH<sub>2</sub>O 补足 20 μL。PCR 反应程序：94℃，5 min；然后 35 个循环：94℃，45 s，退火温度依据引物说明而定，72℃，1.5 min；最后 72℃延伸 10 min。扩增产物经 12 g/L 琼脂糖凝胶电泳，核酸染料染色，紫外灯下观察拍照

表 4 供试材料的田间抗性鉴定结果  
Table 4 Field resistance identification results of the tested materials

材料编号 Numble	抗性 评价 Resistance evaluation	抗感类型 Type	材料编号 Numble	抗性 评价 Resistance evaluation	抗感类型 Type	材料编号 Numble	抗性 评价 Resistance evaluation	抗感类型 Type
17001	3. 75	中抗 (MR)	17049	3. 50	中抗 (MR)	17097	3. 25	中抗 (MR)
17002	3. 50	中抗 (MR)	17050	3. 00	中抗 (MR)	17098	3. 00	中抗 (MR)
17003	3. 25	中抗 (MR)	17051	3. 00	中抗 (MR)	17099	3. 25	中抗 (MR)
17004	4. 00	中抗 (MR)	17052	4. 00	中抗 (MR)	17100	3. 00	中抗 (MR)
17005	4. 00	中抗 (MR)	17053	3. 50	中抗 (MR)	17101	4. 25	中感 (MS)

1. 3 数据统计与分析

用 DPS 统计分析软件进行方差分析，用 Microsoft Excel 完成试验数据的处理和绘图。

2 结果与分析

2. 1 宁夏水稻核心种质及后代稻瘟病抗性的鉴定  
对宁夏水稻核心种质及后代材料按照国际水稻所稻瘟病发病级别的标准进行抗性鉴定。结果发现宁夏水稻核心种质对宁夏地区的稻瘟病以中抗和中感的材料居多。少数材料表现为感病和抗病。其详细鉴定结果如表 4 所示。

17006	3.50	中抗 (MR)	17054	3.00	中抗 (MR)	17102	4.25	中感 (MS)
17007	4.75	中感 (MS)	17055	3.50	中抗 (MR)	17103	5.00	中感 (MS)
17008	3.75	中抗 (MR)	17056	3.00	中抗 (MR)	17104	5.00	中感 (MS)
17009	3.50	中抗 (MR)	17057	3.50	中抗 (MR)	17105	5.50	中感 (MS)
17010	3.50	中抗 (MR)	17058	3.25	中抗 (MR)	17106	3.50	中抗 (MR)
17011	4.25	中感 (MS)	17059	4.00	中抗 (MR)	17107	5.50	中感 (MS)
17012	4.00	中抗 (MR)	17060	4.00	中抗 (MR)	17108	3.50	中抗 (MR)
17013	4.00	中抗 (MR)	17061	3.50	中抗 (MR)	17109	4.75	中感 (MS)
17014	3.75	中抗 (MR)	17062	4.00	中抗 (MR)	17110	3.50	中抗 (MR)
17015	4.25	中感 (MS)	17063	3.00	中抗 (MR)	17111	4.25	中感 (MS)
17016	3.75	中抗 (MR)	17064	4.00	中抗 (MR)	17112	5.25	中感 (MS)
17017	4.00	中抗 (MR)	17065	4.00	中抗 (MR)	17113	5.25	中感 (MS)
17018	3.50	中抗 (MR)	17066	4.25	中感 (MS)	17114	4.75	中感 (MS)
17019	4.50	中感 (MS)	17067	2.25	中抗 (MR)	17115	4.25	中感 (MS)
17020	4.25	中感 (MS)	17068	5.50	中感 (MS)	17116	3.25	中抗 (MR)
17021	3.00	中抗 (MR)	17069	4.00	中抗 (MR)	17117	3.50	中抗 (MR)
17022	3.75	中抗 (MR)	17070	4.00	中抗 (MR)	17118	5.50	中感 (MS)
17023	6.75	感病 (S)	17071	3.00	中抗 (MR)	17119	5.50	中感 (MS)
17024	6.50	感病 (S)	17072	3.50	中抗 (MR)	17120	5.50	中感 (MS)
17025	3.50	中抗 (MR)	17073	4.00	中抗 (MR)	17121	3.50	中抗 (MR)
17026	3.50	中抗 (MR)	17074	2.25	中抗 (MR)	17122	3.25	中抗 (MR)
17027	3.25	中抗 (MR)	17075	3.00	中抗 (MR)	17123	3.50	中抗 (MR)
17028	3.75	中抗 (MR)	17076	4.00	中抗 (MR)	17124	3.50	中抗 (MR)
17029	5.50	中感 (MS)	17077	3.75	中抗 (MR)	17125	3.25	中抗 (MR)
17030	4.00	中抗 (MR)	17078	3.00	中抗 (MR)	17126	4.00	中抗 (MR)
17031	3.00	中抗 (MR)	17079	4.00	中抗 (MR)	17127	4.00	中抗 (MR)
17032	2.25	中抗 (MR)	17080	4.00	中抗 (MR)	17128	4.00	中抗 (MR)
17033	3.00	中抗 (MR)	17081	3.00	中抗 (MR)	17129	3.00	中抗 (MR)
17034	3.00	中抗 (MR)	17082	3.25	中抗 (MR)	17130	3.50	中抗 (MR)
17035	2.25	中抗 (MR)	17083	3.00	中抗 (MR)	17131	3.25	中抗 (MR)
17036	3.50	中抗 (MR)	17084	4.00	中抗 (MR)	17132	3.50	中抗 (MR)
17037	4.75	中感 (MS)	17085	3.25	中抗 (MR)	17133	3.25	中抗 (MR)
17038	3.29	中抗 (MR)	17086	3.75	中抗 (MR)	17134	3.25	中抗 (MR)
17039	3.75	中抗 (MR)	17087	4.25	中感 (MS)	17135	3.00	中抗 (MR)
17040	5.50	中感 (MS)	17088	2.00	抗病 (R)	17136	5.00	中感 (MS)
17041	6.75	感病 (S)	17089	3.25	中抗 (MR)	17137	5.00	中感 (MS)
17042	3.50	中抗 (MR)	17090	4.00	中抗 (MR)	17138	4.75	中感 (MS)
17043	5.75	中感 (MS)	17091	4.25	中感 (MS)	17139	5.00	中感 (MS)
17044	3.00	中抗 (MR)	17092	5.25	中感 (MS)	17140	3.75	中抗 (MR)
17045	3.00	中抗 (MR)	17093	4.50	中感 (MS)	17141	5.00	中感 (MS)
17046	3.50	中抗 (MR)	17094	5.85	中感 (MS)	17142	2.50	中抗 (MR)
17047	3.50	中抗 (MR)	17095	4.00	中抗 (MR)	17143	2.50	中抗 (MR)
17048	2.00	抗病 (R)	17096	4.25	中感 (MS)			

2.2 宁夏水稻核心种质及后代抗稻瘟病基因的分  
子检测

在宁夏水稻核心种质及后代材料中均检测到了  
抗稻瘟病基因，其中含有抗病基因数量最少的是 1  
个基因，最多的是 6 个基因，基因数量相同的不同

种质的抗性有差异。这些基因中的某几个基因会随  
机聚合在不同的种质中，这就构成了不同的基因型，  
基因型相同的不同种质的抗性有差异。多数材料都  
含有 Pita 基因，这些材料的抗性也有差异。部分 PCR  
分子检测结果如图 1、图 2、图 3 所示。



M. 100 bp Ladder; 1. 宁粳 3 号 Ningjing No. 3; 2. 宁粳 7 号 Ningjing No. 7; 3. 宁粳 9 号 Ningjing No. 9; 4. 宁粳 12 号 Ningjing No. 12; 5. 宁粳 14 号 Ningjing No. 14; 6. 宁粳 15 号 Ningjing No. 15; 7. 宁粳 16 号 Ningjing No. 16; 8. 宁粳 18 号 Ningjing No. 18; 9. 宁粳 19 号 Ningjing No. 19; 10. 宁粳 23 号 Ningjing No. 23; 11. 宁粳 24 号 Ningjing No. 24; 12. 宁粳 25 号 Ningjing No. 25; 13. 宁粳 26 号 Ningjing No. 26; 14. 宁粳 27 号 Ningjing No. 27; 15. 宁粳 28 号 Ningjing No. 28; 16. 宁粳 31 号 Ningjing No. 31; 17. 宁粳 32 号 Ningjing No. 32; 18. 宁粳 33 号 Ningjing No. 33; 19. 宁粳 34 号 Ningjing No. 34; 20. 宁粳 35 号 Ningjing No. 35; 21. 宁粳 36 号 Ningjing No. 36; 22. 宁粳 37 号 Ningjing No. 37; 23. 宁粳 38 号 Ningjing No. 38; 24. 宁粳 39 号 Ningjing No. 39; 下同 The same below

图 1 部分水稻材料中抗性基因 *Pib* 的 PCR 扩增

Fig.1 PCR amplification of *Pib* gene in part of rice variety

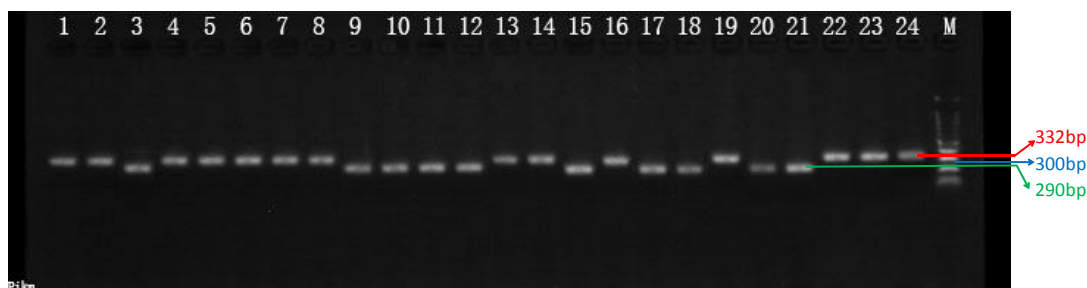


图 2 部分水稻材料中抗性基因 *Pikm* 的 PCR 扩增

Fig.2 PCR amplification of *Pikm* gene in part of rice variety

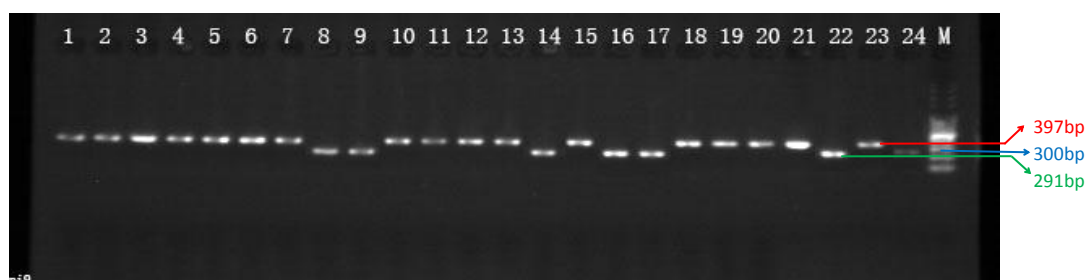


图 3 部分水稻材料中抗性基因 *Pi9* 的 PCR 扩增

Fig.3 PCR amplification of *Pi9* gene in part of rice variety

将所有材料的 PCR 扩增结果进行归纳整理后得到表 5。其中同一材料中基因个数最少的是 1 个，最多的是 6 个。基因个数由 1 到 6 的材料份数分别是 5 份，21 份，42 份，37 份，20 份和 18 份。含有

三个基因的材料份数最多。将不同的基因按照材料份数做频率分布表得到表 6。只含有 *Pita* 这 1 个基因的材料是 17023,17037,17041 共 3 份种质以及 17137 和 17138 共 2 份杂交后代。

表 5 抗稻瘟病基因的分子检测结果

Table 5 Outcome of marker-assisted detection of blast resistance genes

编号 Material number	基因 Gene								基因总数 Total	抗感类型 Resistance tybe
	<i>Pita</i>	<i>Pib</i>	<i>Pikm</i>	<i>Pi9</i>	<i>Pi2</i>	<i>Pi5</i>	<i>Pikh</i>	<i>Pid2</i>		
17001	+	-	-	-	-	-	+	-	2	中抗 (MR)
17002	+	-	-	-	-	-	+	-	2	中抗 (MR)
17003	+	-	+	-	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17004	+	-	-	-	-	-	+	-	2	中抗 (MR)
17005	+	-	-	-	+	-	+	-	3	中抗 (MR)
17006	+	-	-	-	+	+	+	-	4	中抗 (MR)
17007	+	-	-	-	-	-	+	-	2	中感 (MS)
17008	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17009	+	-	+	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17010	+	+	+	-	-	-	-	-	3	中抗 (MR)
17011	+	+	+	-	-	-	-	-	3	中感 (MS)
17012	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17013	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17014	+	+	-	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17015	+	+	+	+	-	-	+	-	5	中感 (MS)
17016	+	-	+	-	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17017	+	+	-	-	+	-	-	-	3	中抗 (MR)
17018	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17019	+	+	+	-	-	+	+	-	5	中抗 (MR)
17020	+	-	-	+	-	+	+	-	4	中感 (MS)
17021	+	-	-	-	+	+	+	-	4	中感 (MS)
17022	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17023	+	-	-	+	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17024	+	-	-	-	-	-	-	-	1	感病 (S)
17025	+	+	-	-	-	-	+	-	3	感病 (S)
17026	+	-	-	+	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17027	+	-	+	-	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17028	+	+	+	-	-	+	+	-	5	中抗 (MR)
17029	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17030	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中感 (MS)
17031	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17032	+	-	+	+	-	+	+	-	5	中抗 (MR)
17033	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17034	+	-	-	-	-	-	+	-	2	中抗 (MR)
17035	+	-	-	-	-	-	+	-	2	中抗 (MR)
17036	+	-	+	-	+	-	+	+	5	中抗 (MR)
17037	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17038	+	-	-	-	-	-	-	-	1	中感 (MS)
17039	+	-	-	-	+	-	-	-	2	中抗 (MR)
17040	+	-	+	-	-	-	-	-	2	中抗 (MR)
17041	+	-	-	-	-	+	-	-	2	中感 (MS)
17042	+	-	-	-	-	-	-	-	1	感病 (S)
17043	+	-	-	-	+	-	-	-	2	中抗 (MR)
17044	+	-	+	-	-	-	-	-	2	中感 (MS)
17045	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17046	+	-	-	+	-	+	+	-	4	中抗 (MR)



17047	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17048	+	+	+	+	-	+	+	-	6	中抗 (MR)
17049	+	-	-	-	+	-	+	-	3	抗病 (R)
17050	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17051	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17052	+	-	-	+	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17053	+	-	+	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17054	+	-	-	-	-	+	-	-	2	中抗 (MR)
17055	+	-	-	-	+	-	+	-	3	中抗 (MR)
17056	+	+	+	+	-	-	+	-	5	中抗 (MR)
17057	+	+	+	+	-	-	+	-	5	中抗 (MR)
17058	+	-	+	-	+	-	+	+	5	中抗 (MR)
17059	+	-	+	-	+	-	+	+	5	中抗 (MR)
17060	+	-	+	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17061	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17062	+	+	-	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17063	+	+	+	-	-	-	-	-	3	中抗 (MR)
17064	+	-	+	-	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17065	+	+	+	-	-	+	+	-	5	中抗 (MR)
17066	+	+	-	-	-	-	+	-	3	中感 (MS)
17067	+	+	+	+	-	+	+	-	6	中抗 (MR)
17068	+	-	-	+	-	+	+	-	4	中感 (MS)
17069	+	-	+	-	+	-	+	+	5	中抗 (MR)
17070	+	-	+	-	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17071	+	-	+	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17072	+	-	-	-	-	+	-	-	2	中抗 (MR)
17073	+	+	-	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17074	+	-	-	-	-	-	+	-	2	中抗 (MR)
17075	+	-	-	-	+	-	-	-	2	中抗 (MR)
17076	+	-	-	-	+	-	+	-	3	中抗 (MR)
17077	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17078	+	-	+	-	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17079	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17080	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17081	+	+	+	+	-	-	+	-	5	中抗 (MR)
17082	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17083	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中抗 (MR)
17084	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17085	+	-	+	+	-	-	+	-	4	中抗 (MR)
17086	+	-	+	-	-	-	-	+	3	中抗 (MR)
17087	+	+	-	+	-	-	+	-	4	中感 (MS)
17088	+	+	+	+	-	+	+	-	6	抗病 (R)
17089	+	-	+	-	+	-	+	-	4	中抗 (MR)
17090	+	-	+	-	+	-	+	+	5	中抗 (MR)
17091	+	-	+	-	-	+	+	-	4	中感 (MS)
17092	+	+	+	-	+	-	+	+	6	中感 (MS)
17093	+	-	+	+	-	-	+	-	4	中感 (MS)
17094	+	+	-	-	-	-	+	-	3	中感 (MS)
17095	+	-	-	+	-	+	+	-	4	中抗 (MR)
17096	+	-	-	+	-	+	+	-	4	中感 (MS)

17097	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17098	+	+	+	+	-	+	+	-	6	中抗 (MR)
17099	+	-	+	+	+	+	+	-	6	中抗 (MR)
17100	+	-	+	+	+	+	+	-	6	中抗 (MR)
17101	+	-	+	+	+	-	+	-	5	中感 (MS)
17102	+	-	-	+	+	-	+	-	4	中感 (MS)
17103	+	-	-	+	+	-	+	-	4	中感 (MS)
17104	+	-	-	-	+	-	-	-	2	中感 (MS)
17105	+	-	-	+	+	+	+	-	5	中感 (MS)
17106	+	-	-	+	+	-	+	-	4	中抗 (MR)
17107	+	-	+	+	+	+	+	-	6	中感 (MS)
17108	+	-	-	+	+	+	+	-	5	中抗 (MR)
17109	+	-	+	-	+	-	+	-	4	中感 (MS)
17110	+	-	+	+	+	+	+	-	6	中抗 (MR)
17111	+	-	-	+	+	+	+	-	5	中感 (MS)
17112	+	-	-	-	+	-	+	-	3	中感 (MS)
17113	+	-	-	-	+	-	+	-	3	中感 (MS)
17114	+	-	+	-	+	-	+	-	4	中感 (MS)
17115	+	-	-	+	+	+	+	-	5	中感 (MS)
17116	+	-	+	H	+	+	+	-	6	中抗 (MR)
17117	+	-	+	-	+	-	+	-	4	中抗 (MR)
17118	+	-	+	-	+	-	+	-	4	中感 (MS)
17119	+	-	+	+	-	+	+	-	5	中感 (MS)
17120	+	-	-	-	+	+	+	-	4	中感 (MS)
17121	+	-	-	+	+	-	+	-	4	中抗 (MR)
17122	-	-	+	+	+	-	-	-	3	中抗 (MR)
17123	+	-	+	-	+	-	+	-	4	中抗 (MR)
17124	+	-	-	-	+	-	-	-	2	中抗 (MR)
17125	+	-	-	-	+	-	-	-	2	中抗 (MR)
17126	+	-	-	-	+	-	-	-	2	中抗 (MR)
17127	+	-	-	-	-	+	-	-	2	中抗 (MR)
17128	-	-	+	H	+	-	-	-	3	中抗 (MR)
17129	-	-	+	+	+	-	-	-	3	中抗 (MR)
17130	+	-	+	-	-	-	-	+	3	中抗 (MR)
17131	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17132	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)
17133	+	-	+	-	-	+	-	-	3	中抗 (MR)
17134	+	-	+	-	-	+	-	-	3	中抗 (MR)
17135	+	-	+	-	-	-	-	+	3	中抗 (MR)
17136	+	+	+	-	-	-	-	-	3	中感 (MS)
17137	+	-	-	-	-	-	-	-	1	中感 (MS)
17138	+	-	-	-	-	-	-	-	1	中感 (MS)
17139	+	+	+	-	-	-	-	-	3	中感 (MS)
17140	+	+	+	-	-	-	-	-	3	中抗 (MR)
17141	+	-	+	-	-	-	-	-	2	中感 (MS)
17142	+	-	+	-	-	+	-	-	3	中抗 (MR)
17143	+	-	+	-	-	-	+	-	3	中抗 (MR)

+表示含有该基因；-表示不含有该基因；H 表示杂合

+ indicates that it contains the gene; -Indicates that it does not contain the gene; H means heterozygous.

表 6 抗稻瘟病基因的频率分布表

Table 6 Distribution of anti-blast genes								
抗稻瘟病基因								
Target Gene	<i>Pita</i>	<i>Pib</i>	<i>Pikm</i>	<i>Pi9</i>	<i>Pi2</i>	<i>Pi5</i>	<i>Pikh</i>	<i>Pid2</i>
携带基因的材料数	140	33	81	51	53	43	109	17
Variety Amount								
频率（精确四位小数）	0.9790	0.2308	0.5664	0.3566	0.3706	0.3007	0.7622	0.1189
Frequency (Keep 4 decimals)								

由表6可以看出*Pikm*，*Pikh*，*Pita*基因在宁夏的核心种质中频率均超过了0.5，其中*Pita*基因的频率最高，达到了0.9790。*Pid2*基因的频率为0.1189是频率最低的基因。

2.3 宁夏水稻核心种质及后代稻瘟病抗性的基因型分析

通过对宁夏水稻核心种质及后代稻瘟病抗性的鉴定和稻瘟病抗性基因的分子标记检测结果的分析，把含有完全相同抗病基因组合的材料归为同一个基因型。总共得到的基因型有28个，对所得到的基因型进行编号，并将同一基因型的不同品种的抗性评价计算平均值。结果如表7所示。

表 7 基因型编号和相应的基因情况

Table 7 Genotypes and resistance genes being present

编号	基因型	基因个数	平均抗性评价	编号	基因型	基因个数	平均抗性评价	编号	基因型	基因个数	平均抗性评价
Numb	Genotype	Gene	Average	Numb	Genotype	Gene	Average	Numb	Genotype	Gene	Average
le		Amount	evaluation	le		Amount	resistance evaluation	ble		Amount	resistance evaluation
1	<i>Pita, Pib, Pikm, Pi9, Pi5, Pikh,</i>	6	2.41	11	<i>Pita, Pikm, Pi2, Pikh, Pid2</i>	5	3.50	21	<i>Pita, Pi9, Pikh</i>	3	3.50
2	<i>Pita, Pib, Pikm, Pi9, Pikh,</i>	5	3.44	12	<i>Pita, Pikm, Pi2, Pikh,</i>	4	4.21	22	<i>Pita, Pi2, Pi5, Pikh</i>	4	4.42
3	<i>Pita, Pib, Pikm, Pi2, Pikh, Pid2</i>	6	3.89	13	<i>Pita, Pikm, Pi5, Pikh</i>	4	3.68	23	<i>Pita, Pi2, Pikh</i>	3	4.00
4	<i>Pita, Pib, Pikm, Pi5, Pikh,</i>	5	3.58	14	<i>Pita, Pikm, Pi5,</i>	3	3.00	24	<i>Pita, Pi2</i>	2	3.65
5	<i>Pita, Pib, Pikm,</i>	3	4.08	15	<i>Pita, Pikm, Pikh,</i>	3	3.50	25	<i>Pita, Pi5</i>	2	4.00
6	<i>Pita, Pib, Pi9, Pikh</i>	4	4.00	16	<i>Pita, Pikm, Pid2</i>	3	3.42	26	<i>Pita, Pikh</i>	2	3.46
7	<i>Pita, Pib, Pikh</i>	3	5.53	17	<i>Pita, Pikm</i>	2	4.83	27	<i>Pita</i>	1	5.60
8	<i>Pita, Pikm, Pi9, Pi2, Pi5, Pikh,</i>	6	3.70	18	<i>Pita, Pi9, Pi2, Pi5, Pikh</i>	5	4.38	28	<i>Pikm, Pi9, Pi2</i>	3	3.42
9	<i>Pita, Pikm, Pi9, Pi2, Pikh,</i>	5	3.94	19	<i>Pita, Pi9, Pi2, Pikh,</i>	4	4.06				
10	<i>Pita, Pikm, Pi9, Pikh,</i>	4	3.63	20	<i>Pita, Pi9, Pi5, Pikh</i>	4	4.07				

由表 7 可以看出：在所有的基因型中：1 号基因型的平均抗性评价最低，其平均抗性是 2.41，1 号基因型含本试验标记的基因分别是 *Pita*，*Pib*，*Pikm*，*Pi9*，*Pi5*，*Pikh*。27 号基因型的平均抗性评价最高，达到了 5.60，它含本试验标记的基因只有 *Pita*，也是含基因数最少的基因型。含基因数最多的基因组合有 1 号基因型、3 号基因型和 8 号基因型

共 3 个，他们都含有 6 个基因，分别是“*Pita*，*Pib*，*Pikm*，*Pi9*，*Pi5*，*Pikh*”、“*Pita*，*Pib*，*Pikm*，*Pi2*，*Pikh*，*Pid2*”和“*Pita*，*Pikm*，*Pi9*，*Pi2*，*Pi5*，*Pikh*”，它们的抗性评价分别是 2.41、3.89，3.70；由此可以看出虽然它们都含有 6 个抗性基因，但后面两个基因型的抗性评价却明显高于第一个基因型的抗性评价；17 号基因型（*Pita*，*Pikm*）、24 号基因型（*Pita*，

*Pi2*)、25 号基因型 (*Pita*, *Pi5*)、26 号基因型 (*Pita*, *Pikh*) , 27 号基因型 (*Pita*) 都含有基因 *Pita* , 但抗性评价表现出 26 号基因型<24 号基因型<25 号基因型<17 号基因型<27 号基因型; 说明 26 号基因型含有的基因 *Pikh* 与 *Pita* 的聚合效应比其他三个基因 (*Pikm*、*Pi2*、*Pi5*)与 *Pita* 的聚合效应都强; 并且 *Pikm*、*Pi2*、*Pi5* , *Pikh* 这四个基因单独与 *Pita* 聚合时均表现出正向的聚合效应。从 26 号基因型 (*Pita*, *Pikh*)、27 号基因型 (*Pita*) 和 7 号基因型 (*Pita*, *Pikh*, *Pib*) 的基因情况和抗性评价可以看出, 26 号基因型 (*Pita*, *Pikh*) 的抗性评价小于 27 号基因型 (*Pita*) 的抗性评价; 说明基因 *Pita* 与 *Pikh* 聚合后形成的 26 号基因型材料的抗性增强。然而 26 号基因型聚合一个 *Pib* 基因构成 7 号基因型 (*Pita*, *Pikh*, *Pib*)。结果 7 号基因型的抗性评价再次升高, 说明 *Pib* 基

因与 *Pita* 和 *Pikh* 之间存在负向聚合效应。对比分析基因型 1 和 2 可以看出, 这两个基因型组合之间的唯一差异是 *Pi5* 基因的不同, 这样的成对基因型组合还有基因型 8 和 9、13 和 15、18 和 19、20 和 21, 22 和 23。但前 3 对基因组合中 *Pi5* 基因表现出正向聚合效应, 后 3 对基因组合中 *Pi5* 基因表现为负向聚合效应; (类似的成对基因组合还有: 唯一差异为 *Pi2* 基因的基因型 9 和 10, 19 和 21; 唯一差异为 *Pikh* 基因的基因型 13 和 14, 26 和 27, 等。)说明同一基因在不同基因组合中的聚合效应也不相同。这也进一步说明这种效应是多个基因之间相互作用, 而不是在某几个特定的基因之间产生。

为了探究基因数量和抗性之间的关系, 将基因数量相同的水稻材料的抗性评价计算平均值, 结果如图 4 所示。

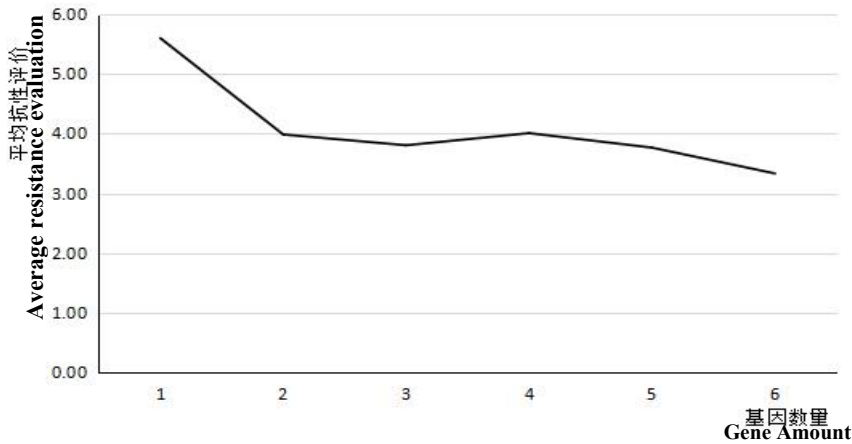


图 4 基因数量与平均抗性评价折线图

Fig.4 Line chart of gene amount about average resistance evaluation

由图 4 可以看出, 整体上随着基因数量的增加, 平均抗性评价趋于降低, 说明抗稻瘟病基因聚合在一定程度上提高了水稻对稻瘟病的抗性。同时基因数为 2 和基因数为 3 以及基因数为 4 的平均抗性评价差别不是很明显; 而且基因数为 4 的平均抗性评

价略高于基因数为 3 的平均抗性评价; 这也验证了基因聚合的负向效应。从抗性评价随着基因数的变化趋势可以看出, 含有一个抗性基因到含有两个抗性基因的抗性评价的变化幅度最大, 也就是聚合效应最为显著; 随后随着聚合的基因数量增多, 整体

上平均抗性评价虽然趋于降低,但是降幅逐渐放缓,可以推测虽然增加抗性基因的数量一定程度上增加了水稻的抗性,但基因聚合数量和抗性呈现对数增长;抗性基因数量和抗性水平之间存在一定的“收益递减”规律。

为了进一步探究各个基因型对稻瘟病抗性的差异,将不同基因型的抗性评价做方差分析。处理间  $P=0.0001<0.01$ ,说明,处理间存在极显著差异。利用 DPS 数据处理程序进一步做新复极差测验(对原数据倒数转换),结果如图 5 所示。

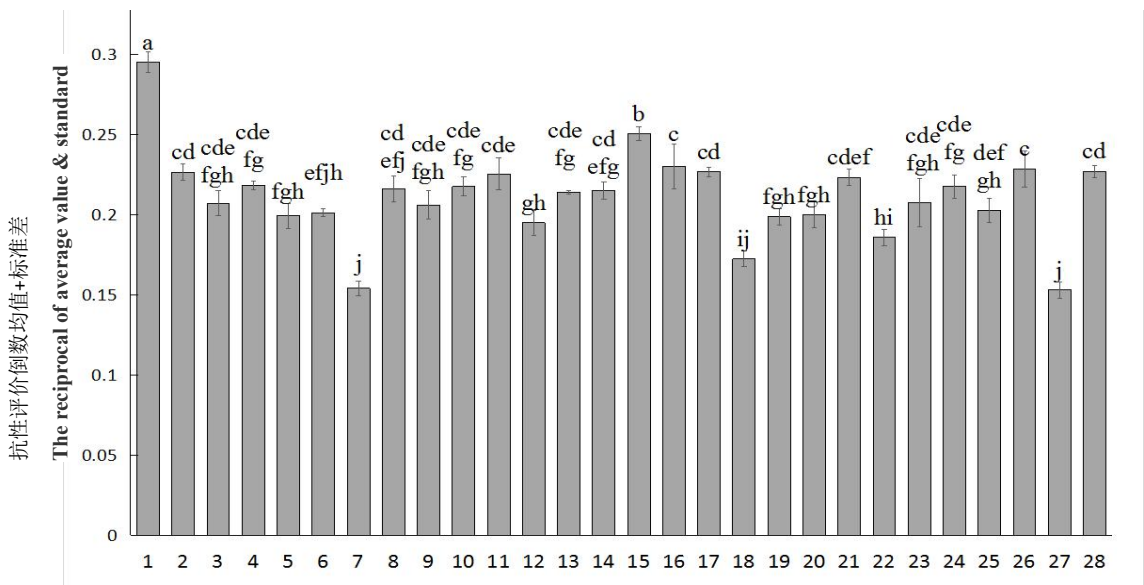


图 5 不同基因型平均抗性评价的差异显著性测验  
Fig.5 Difference saliency test of different genotypes

同时含有抗稻瘟病基因 *Pita*, *Pib*, *Pikm*, *Pikh*, *Pi9* 和 *Pi5* 的 1 号基因型和其他基因型存在显著差异。说明抗稻瘟病基因 *Pita*, *Pib*, *Pikm*, *Pikh*, *Pi9* 和 *Pi5* 发挥的正向聚合效应最为明显,所以如果仅从抗病的角度来看,这 6 个基因的聚合体是宁夏地区稻瘟病抗性最适的基因型。但是可能存在其他不良性状的连锁,所以还需要对农艺等其他性状进行进一步分析。由只含有 *Pita* 基因组成的 27 号基因型和其他基因型也存在显著差异,是抗病性最差的一个基因型。一定程度上说明, *Pita* 基因在宁夏地区的抗性优势不明显,但是 *Pita* 基因却广泛存在于宁夏的水稻材料中。

### 3 讨论

基因聚合育种是提高水稻稻瘟病广谱和持久抗

性的有效手段。就基因数量和抗性而言,本研究表明抗性基因数量越多的材料,其抗性也越强;这与前人的研究结果一致。同时本研究表明当基因数量不断增加时其抗性的增强程度变得缓慢,可以称之为聚合基因数量与抗性之间的“收益递减”规律。这也初步证明基因聚合时,基因数量并非越多越好。同时考虑到其他不良性状连锁累赘,就要求在基因聚合育种时对众多基因进行有目标性的选择,这种选择包括对基因对象本身的选择和对基因的数量的选择。

通常而言,基因聚合能够有效提高广谱抗性,这可能是由于非等位基因之间针对各自目标稻瘟病菌生理小种具有一定的互补效应(Philos,etal.,2005)。本研究中 *Pita* 基因分别与 *Pikh*, *Pikm*, *Pi2*, *Pi5* 基

因聚合后抗性增强,并且 *Pita* 与 *Pikh* 聚合后的抗性提升幅度最大,说明 *Pikh* 与 *Pita* 具有正向的聚合效应,可以作为一组基因聚合对象。同时本研究还发现当 *Pib* 基因聚合到 *Pita+Pikh* 的材料中时其抗性反而降低了很多,表现出了负向的聚合效应,所以不建议聚合育种时将 *Pib* 聚合到 *Pita+Pikh* 的材料中。

本实验发现同时含有 *Pita*, *Pib*, *Pikm*, *Pikh*, *Pi9* 和 *Pi5* 共 6 个抗病基因的基因型水稻材料对稻瘟病的抗性极显著高于其它基因型的抗性,是宁夏地区较为适合的基因型。*Pita* 基因以 0.979 的频率极为广泛地存在于宁夏的水稻品种中。王忠华等在 2004 年研究表明许多含 *Pita* 基因的水稻品种一直以来都非常抗病<sup>[2]</sup>。然而本实验标记的 8 个基因中,只含 *Pita* 基因的材料共计 5 份,占有所有材料的 3.5%。这 5 份材料稻瘟病抗性显著差于其他材料。造成这种现象的原因可能是在这少数的材料中存在能与 *Pita* 基因发生负向效应的其他基因使得材料整体抗性表现不佳,也可能正是由于广泛存在于各品种中,这种较高的出现频率使得宁夏地区的稻瘟病菌生理小种群结构发生变化,所以不能很好地发挥抗性。

谢辞:感谢宁夏大学农学院李文强教授惠赠宁夏各地区稻瘟病菌菌株。

## 参考文献

[1] Moytri R, Jia Y L, Richard D C. Structure, function, and co-evolution of rice blast resistance genes. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(3):381-393.

[2] 肖丹凤, 张佩胜, 王玲, 黄世文. 中国稻瘟病菌种群分布及优势生理小种的研究进展. *中国水稻科学*, 2013, 27(3):312-320.

Xiao Dan feng, Zhang Pei sheng, Wang Ling, Huang Shi wen. Research progress on the distribution of rice blast colony and the dominant species of rice plague in China . *Chinese rice science*, 2013, 27 (3): 312-320.

[3] Skamnioti P, Gurr S J. Against the grain: safeguarding rice from rice blast disease. *Trends Biotechnol*, 2009, 27(3):141-150.

[4] Ahn S W, Mukelar A. Rice blast management under upland conditions. In: *Progress in Upland Rice Research*. Manila : International Rice Research Institute, 1986:363-374.

[5] 任洋, 张国民, 马军韬, 等. 针对水稻稻瘟病防治技术的研究. *现代农业*, 2017(14):54.

Ren Yang, Zhang Guo min, Ma Jun tao, et al. Research on rice blast control technology. *Modern Agriculture*, 2017 (14):54.

[6] 曾凡松, 向礼波, 杨立军, 杨小林, 杨金松, 喻大昭. 251 份水稻品种(系)对稻瘟病的抗性鉴定及抗性多样性分析. *植物病理学报*, 2011, 41(04):399-410.

Zeng Fan song, Xiang Li Bo, Yang Li jun, Yang Xiao lin, Yang Jin song, Yu Da zhao. 251 rice varieties (lines) resistance identification and Resistance Diversity Analysis of rice blast resistance. *Journal of Plant Pathology*, 2011, 41 (04): 399-410.

[7] 李洪亮, 李荣田. 稻瘟病抗性基因 *Pi1* 和 *Pi2* 的聚合及其育种价值分析. *北方水稻*, 2010, 40(5):7-12, 21.

Li Hong liang, Li Rong tian. Aggregation of rice blast resistance genes *Pi1* and *Pi2* and their breeding value analysis. *Northern Rice*, 2010, 40 (5): 7-12, 21.

[8] 鲁秀梅, 张宁, 陈劲枫, 钱春桃. 作物基因聚合育种的研究进展. *分子植物育种*, 2017, 15(4):1445-1454.

Lu Xiu mei, Zhang Ning, Chen Jin feng, Qian Chun tao. Advances in crop gene pyramiding breeding . *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15 (4): 1445-1454.

[9] Chen H L, Chen B T, Zhang D P, Xie Y F, Zhang Q. Pathotypes of *Pyricularia grisea* in rice fields of central and southern China. *Plant Dis*, 2001, 8: 843-850

[10] 于苗苗, 戴正元, 潘存红, 陈夕军, 余玲, 张晓祥, 李育红, 肖宁, 龚红兵, 盛生兰, 潘学彪, 张洪熙, 李爱宏. 广谱稻瘟病抗性基因 *Pigm* 和 *Pi2* 的抗谱差异及与 *Pi1* 的互作效应. *作物学报*, 2013, 39(11):1927-1934.

- Yu Miao miao, Dai Zheng yuan, Pan Cun hong, Chen Xijun, Yu Ling, Zhang Xiao xiang, Li Yu hong, Xiao Ning, Gong Hong bing, Sheng Sheng lan, Diversity of resistance gene *Pigm* and *Pi2* of broad-spectrum rice blast resistance gene and interaction with *Pil* . crop journal, 2013, 39 (11): 1927-1934.
- [11] 陈羽. 扬稻 6 号背景下不同稻瘟病广谱抗性基因聚合效应研究. 扬州大学, 2017.
- Chen Yu. Polymerization effect of broad-spectrum resistance genes of *Magnaporthe grisea* under Yangda 6 background . Yangzhou University, 2017.
- [12] 刘士平, 李信, 汪朝阳, 李香花, 何予卿. 基因聚合对水稻稻瘟病的抗性影响. 分子植物育种, 2003(1):22-26.
- Liu Shi ping, Li Xin, Wang Zhao yang, Li Xiang hua, He Yu Qing. Effects of gene pyramiding on rice blast resistance. molecular plant breeding, 2003 (1): 22-26.
- [13] 李文强, 王源超, 郑小波. 宁夏稻瘟病菌的交配型与育性. 中国水稻科学, 2007(6):650-656.
- Li Wen qiang, Wang Yuan chao, Zheng Xiao bo. Mating type and fertility of *Magnaporthe grisea* in Ningxia. Chinese Journal of rice science, 2007 (6): 650-656.
- [14] Jia Y, Wang Z, Singh P. Development of dominant rice blast *Pita* resistance gene markers. Crop Science, 2002, 4(6):2145-2149.
- [15] 刘洋, 徐培洲, 张红宇, 等. 水稻抗稻瘟病 *Pib* 基因的分子标记辅助选择与应用. 中国农业科学, 2008, 41(1):9-14.
- Liu Yang, Xu Pei zhou, Zhang Hong yu, et al. Molecular marker assisted selection and application of rice blast resistance *Pib* gene . Chinese Agricultural Sciences, 2008, 41 (1): 9-14.
- [16] 王军, 杨杰, 朱金燕, 等. 稻瘟病抗病基因 *Pikh* 功能标记的开发及江苏粳稻品种中 *Pikh* 的变异. 中国水稻科学, 2014, 28(2):141-147.
- Wang Jun, Yang Jie, Zhu Jin yan, et al. Development of rice blast resistance gene *Pikh* functional marker and variation of *Pikh* in Jiangsu japonica rice varieties . Chinese rice Science, 2014, 28 (2): 141-147.
- [17] 张羽, 冯志峰, 崔明珠, 等. 稻瘟病抗性基因 *Pikm* 在陕西省稻种资源中的分布状况. 分子植物育种, 2013, 11(3):311-316.
- Zhang Yu, Feng Zhi feng, Cui Ming zhu, et al. Distribution of rice blast resistance gene *Pikm* in Rice Germplasm in Shaanxi province . Molecular Plant Breeding, 2013, 11 (3): 311-316.
- [18] 高利军, 高汉亮, 颜群, 等. 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. 第 1 届中国杂交水稻大会论文集. 北京: 农业出版社, 2010:294-2.
- Gao Li jun, Gao Han liang, Yan Qun, et al. The establishment of 4 molecular markers of rice blast resistance gene and distribution of the first Chinese Hybrid Rice conference in rice parents. Beijing: Agricultural Publishing House, 2010:294-2.
- [19] 张羽, 冯志峰, 张晗, 等. 陕西省水稻种质资源中 *Pi9* 基因的分布状况. 四川农业大学学报, 2013, 31(2):115-121.
- Zhang Yu, Feng Zhi feng, Zhang Han, et al. The distribution of *Pi9* gene in Rice Germplasm Resources in Shaanxi province . Journal of Sichuan Agricultural University, 2013, 31 (2): 115-121.
- [20] 陈德西, 陈学伟, 雷财林, 马炳田, 王玉平, 李仕贵. 转 *Pi-d2* 基因水稻对稻瘟病的抗性分析. 中国水稻科学, 2010, 24(1):31-35.
- Chen De xi, Chen Xue wei, Lei Cai lin, Ma Bing tian, Wang Yu ping, Li Shi gui. Analysis of resistance of *Pi-d2* transgenic rice to rice blast . Chinese rice science, 2010, 24 (1): 31-35.
- [21] 王忠华, 贾育林, Robert G. Fjellstrom. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi-ta* 与 *Pi-ta-2* 之间的关系. 浙江万里学院学报, 2004(2):94-97.
- Wang Zhong hua, Jia Yu lin, Robert G. Fjellstrom. relationship between rice blast resistance gene *Pi-ta* and *Pi-ta-2* . Journal of Zhejiang Wanli University, 2004 (2): 94-97.