

优质稻品种粤农丝苗稻瘟病广谱抗性 遗传及基因组成分析

陆展华, 刘 维, 卢东柏, 王晓飞, 王石光, 何秀英

(广东省农业科学院水稻研究所 / 广东省水稻育种新技术重点实验室, 广州 510640)

摘要: 粤农丝苗是广东省近年来选育的常规优质稻主栽品种, 对稻瘟病具有很强的抗性, 可作为恢复系亲本应用于杂交稻育种。本研究利用来源于华南稻区的稻瘟病菌株对粤农丝苗的抗谱进行测定。结果显示, 粤农丝苗具有广谱抗性; 为深入了解该品种的抗性基因组成和抗性遗传规律, 对粤农丝苗 × 丽江新团黑谷的 F_2 遗传分离群体进行抗病遗传分析, 结果表明粤农丝苗的稻瘟病抗性可能受多基因控制; 以 *Pi1*、*Pi2*、*Pi9*、*Pib*、*Pita* 等主效抗病基因分子标记进行检测, 结果表明粤农丝苗至少包含 *Pi2* 和 *Pib* 两个抗性位点。本研究结果初步揭示了粤农丝苗高抗稻瘟病的遗传基础, 为抗病品种的推广应用提供重要分子依据。

关键词: 水稻; 粤农丝苗; 稻瘟病; 抗性遗传

Genetic Analysis and Gene Identification of High-Quality Rice 'Yuenong Simiao' with Broad Spectrum Resistance Against Rice Blast

LU Zhan-hua, LIU Wei, LU Dong-bai, WANG Xiao-fei, WANG Shi-guang, HE Xiu-ying

(Rice Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/

Guangdong Key Laboratory of New Technology in Rice Breeding, Guangzhou 510640)

Abstract: Rice 'Yuenong Simiao' recently bred in Guangdong Province, China, with a strong resistance to rice blast, is a leading high-quality cultivar for regular cultivation, which can also be used as a hybrid rice restorer line. In this study, it has been revealed that 'Yuenong Simiao' has a broad spectrum of resistance against rice blast strains from South China. Genetic analysis of genetically segregated F_2 population of 'Yuenong Simiao' × 'Lijiangxintuanheigu' showed that the broad resistance spectrum of 'Yuenong Simiao' may be controlled by multiple genes. Using the molecular markers of major resistance genes *Pi1*, *Pi2*, *Pi9*, *Pib* and *Pita*, we have detected that 'Yuenong Simiao' contains at least *Pi2* and *Pib* resistance loci. These results have revealed the cultivar's genetic basis of high resistance to rice blast, and provides important molecular basis for extending the cultivation of disease-resistant cultivars.

Key words: rice; 'Yuenong Simiao'; rice blast; resistance heredity

收稿日期: 2019-11-28 修回日期: 2019-12-27 网络出版日期: 2020-02-13

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191128001>

第一作者研究方向为水稻抗病遗传机制和育种应用研究, E-mail: aaslzh@163.com

通信作者: 何秀英, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: xyhe@163.com

基金项目: 广州市科技计划 (201804010467); 广东省自然科学基金 (2018A0303130172, 2017A030313183); 广东省现代农业产业技术体系水稻创新团队项目 (2019KJ105); 广东省重点领域研发计划项目 (2018B020202004, 2018B020206002); 科技创新战略专项资金 (R2016PY-JG001, R2018QD-008)

Foundation project: Guangzhou Science and Technology Plan (201804010467), Natural Science Foundation of Guangdong Province (2018A0303130172, 2017A030313183), Rice Innovation Team Project of Modern Agricultural Industrial Technology SWsystem in Guangdong Province (2019KJ105), Research and Development Program in Key Areas of Guangdong Province (2018B020202004, 2018B020206002), Special Fund for Science and Technology Innovation Strategy (R2016PY-JG001, R2018QD-008)

稻瘟病由稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*) 引起, 是一种世界性的稻作病害。全球每年因稻瘟病造成的水稻产量损失达 11%~30%^[1], 我国每年因稻瘟病所造成的稻谷损失高达数亿公斤, 严重影响粮食生产安全。在众多的防治措施中, 培育和种植抗病品种仍是有效控制该病害最为经济和绿色的方法。抗性基因是水稻品种抗病的重要遗传基础和关键。因此, 明确抗病品种, 尤其是广谱抗性品种稻瘟病抗性基因的组成, 不仅有助于抗病品种的种植布局, 还可作为重要抗源应用于新的抗病品种的培育。

粤农丝苗 (粤审稻 2011023) 是本研究团队近年来以广适性优质稻品种为母本、高抗稻瘟病中间材料为父本, 经过多代系选育成的高抗稻瘟病新品种, 具有高抗稻瘟病、优质、高产、抗倒伏等优良特性^[2], 目前已通过广东 (2011)、海南 (2013)、广西 (2017) 和湖北 (2017) 等省品种审定, 及湖南、江西、安徽、河南等省引种备案, 并在上述区域获得了大面积推广应用。粤农丝苗不仅可作为常规稻使用, 还可作为三系、两系杂交稻恢复系 (即恢复系 R1212) 使用, 有力提升了杂交稻组合的稻瘟病抗性, 具有广阔的应用前景。因此, 为了深入剖析粤农丝苗的抗病遗传特点, 本研究通过系谱分析、抗谱测定、抗性基因检测和抗性遗传分析等揭示其稻瘟病抗性遗传基础, 可为稻瘟病广谱抗性的遗传机制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

稻瘟病菌生理小种鉴别品种: 特特普、珍龙 13、四丰 43、东农 363、关东 51、合江 18 和丽江新团黑谷为广东省农业科学院水稻研究所收集。遗传分析群体: 以粤农丝苗为母本, 丽江新团黑谷为父本, 杂交获得 F₁, F₁ 自交后获得的 F₂ 遗传分离群体。抗病对照种选取广东省主栽抗源品种三黄占 2 号、粤香占、IR36、青六矮、珍桂矮、广陆矮; 以普感稻瘟病品种 ‘CO39’ 为感病对照种。稻瘟病菌生理小种: ZB 和 ZC 群小种为主, 稻瘟病样为从广东省阳江市、广州市从化区、惠州市龙门县等稻瘟病高发区取回的稻瘟病样品, 参照杨军等^[3]方法分离获得稻瘟病单孢。

1.2 试验方法

1.2.1 抗谱鉴定试验 粤农丝苗稻瘟病菌抗谱测定委托广东省农业科学院植物保护研究所于 2017 年 7-8 月份在试验温室进行。抗病对照种三黄占 2 号、粤香占、IR36、青六矮、珍桂矮、广陆矮, 感病对照种 ‘CO39’ 的种子均采用盆栽早播早育, 设置 2

次重复。当幼苗生长至 3.5~4 叶龄时, 以广东省稻瘟病小种 (ZB 和 ZC 群) 等 24 个稻瘟病菌株进行温室人工喷雾接种, 接种菌液浓度约为 50 个孢子 /100 倍显微镜视野。接种 6~7 d 后, 当感病对照品种充分发病时, 按照 Pan 等^[4]描述的分级标准调查各品种的反应型: 0~2 级是抗性反应 (R), 即菌株不亲和性反应; 3~5 级是感病反应 (S), 即菌株亲和性反应, 统计各品种的抗性频率。

1.2.2 鉴别菌株的筛选和生理小种分型 本试验于 2017 年 4 月在广东省农业科学院水稻研究所温室对粤农丝苗、稻瘟病鉴别品种 (表 1) 和粤农丝苗 × 丽江新团黑谷的 F₂ 遗传分离群体进行盆栽早播早育, 设置 2 次重复。当幼苗生长至 3.5~4 叶龄时, 利用分离到的稻瘟病菌株对粤农丝苗和稻瘟病鉴别品种进行喷雾接菌, 培养 1 周后按抗谱测定试验的方法调查发病情况, 筛选粤农丝苗免疫、丽江新团黑谷感病的菌株作为遗传分析试验用菌, 并记录稻瘟病鉴别品种抗感反应。生理小种的致病型命名按照全国稻瘟病菌生理小种联合试验组 (1980) 所描述的方法^[5]。将筛选到的菌株对粤农丝苗 × 丽江新团黑谷的 F₂ 遗传分离群体进行喷雾接菌, 记录抗、感单株, 并进行统计学分析。

表 1 本研究所用的稻瘟病鉴别品种

Table 1 Differential cultivars for identification of resistance against rice blast in this research

鉴别品种 Differential cultivar	品种类别 Cultivar type	已鉴定或推测的抗病基因 Identified or putative resistance gene (s)
特特普 Tetep	籼稻	<i>Pik-h, Pi1, Pi5, Pi4-b</i>
珍龙 13 Zhenlong 13	籼稻	未明
四丰 43 Sifeng 43	籼稻	<i>Pia, Pitb/Pit</i>
东农 363 Dongnong363	粳稻	<i>Pik, Pia</i>
关东 51 Kanto 51	粳稻	<i>Pik</i>
合江 18 Hejiang 18	粳稻	<i>Pia, Pii</i>
丽江新团黑谷 LTH	粳稻	未明

LTH: Lijingxintuanheigu, the same as below

1.2.3 抗病基因分子标记检测

本研究所用标记为已克隆主效抗稻瘟病基因的功能标记 (表 2)。检测样品以 CTAB 法提取叶片总 DNA, 按 15 μL 反应体系进行 PCR 扩增, 根据扩增产物的大小在 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳、银染显色或 3% 的琼脂糖凝胶电泳进行荧光染色观察。

表 2 本研究所用到的 PCR 引物信息
Table 2 PCR primers used in this research

检测基因 Detected Gene	引物名称 Primer	序列 Sequences (5' -3')	退火温度 (℃) Annealing temperature	片段大小 (bp) Length	内切酶 Endonuclease	参考文献 Reference
<i>Pi1</i>	Pi1-6SNP	F: CAATAGTCCAGCTAAAACGG	58	179	<i>Rsa</i> I	[6]
		R: CATTGCGCCTTTACCTTGT				
<i>Pi2</i>	Pi2-SNP	F: TACTCTTCGTTGTATAGGAC	58	462	<i>Hinf</i> I	[7]
		R: GGAGGAGGAGATGAAATAGAATC				
<i>Pi9</i>	195r-1	F: ATGGTCCTTTATCTTTATTG	56	2000	/	[7]
		R: TTGCTCCATCTCCTCTGTT				
<i>Pib</i>	Pibdom	F: GAACAATGCCAAACTTGAGA	60	365	/	[8]
		R: GGGTCCACATGTCAGTGAGC				
<i>Pita</i>	YL155/YL87	F: AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	55	1042	/	[9]
		R: CTACCAACAAGTTCATCAA				

2 结果与分析

2.1 粤农丝苗稻瘟病抗谱分析

稻瘟病抗谱测定结果显示,粤农丝苗对 ZB 群小种的抗频为 95.24%,对 ZC 群小种的抗频为 100%,广谱抗稻瘟病品种三黄占 2 号分别为 90.48% 和 100%,高感稻瘟病品种 CO39 分别为 9.52% 和 0,而其他抗源品种抗频均相对较低(图 1)。由此表明,用广东省的优势稻瘟病菌株鉴定,粤农丝苗的稻瘟病抗谱比广谱抗病品种三黄占 2 号更广,是一个广谱的抗稻瘟病品种。

2.2 粤农丝苗系谱及抗源分析

为了明确粤农丝苗的稻瘟病抗性来源,本研究对其系谱进行了分析。从系谱(图 2)来看,粤农丝苗的稻瘟病抗性来源包括:IR36、粳粳 89、特粳占 13、黄新占、黄华占、丰八占、丰华占、特青 2 号、以及 28 占、丰丝占、粤泰 13。这些抗源中除丰丝占、粤泰 13 为高抗稻瘟病之外,其余抗源均为中等抗性水平。而粤农丝苗的直接亲本黄华占、粤泰 13 对稻瘟病抗性分别为抗、高抗。由此可见,粤农丝苗稻瘟病抗性基因来源复杂多样,在系选过程中,以上各类抗源的有机组合形成了粤农丝苗广谱抗稻瘟病的遗传基础。

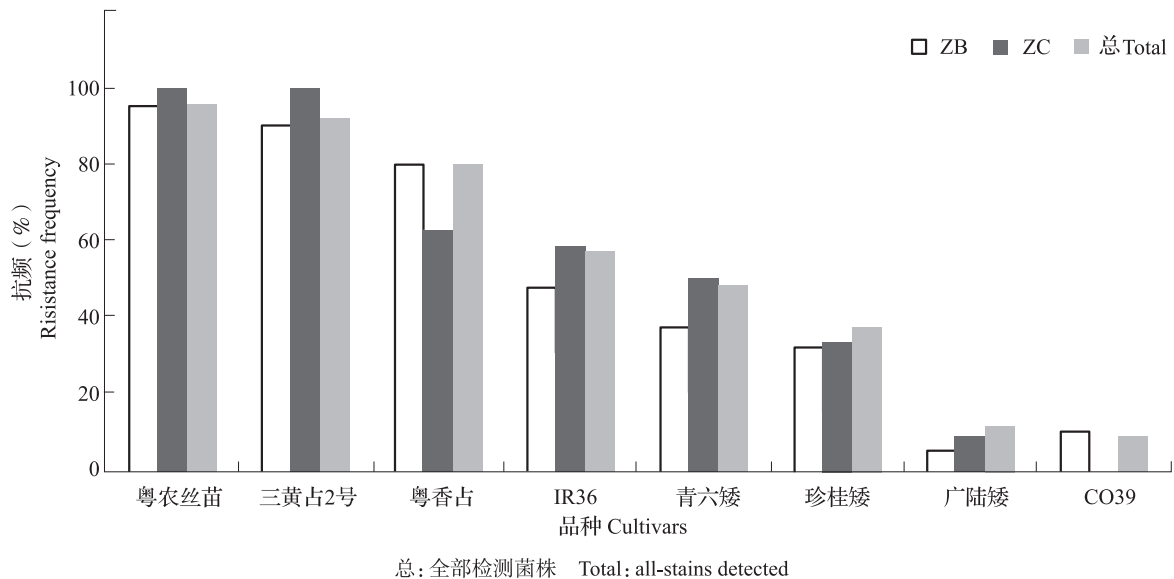


图 1 粤农丝苗与 6 个稻瘟病抗源品种及感病参考品种的抗频比较

Fig. 1 Rice blast resistance frequency of rice ‘Yuenong Simiao’, and 6 resistance sources and susceptible cultivars

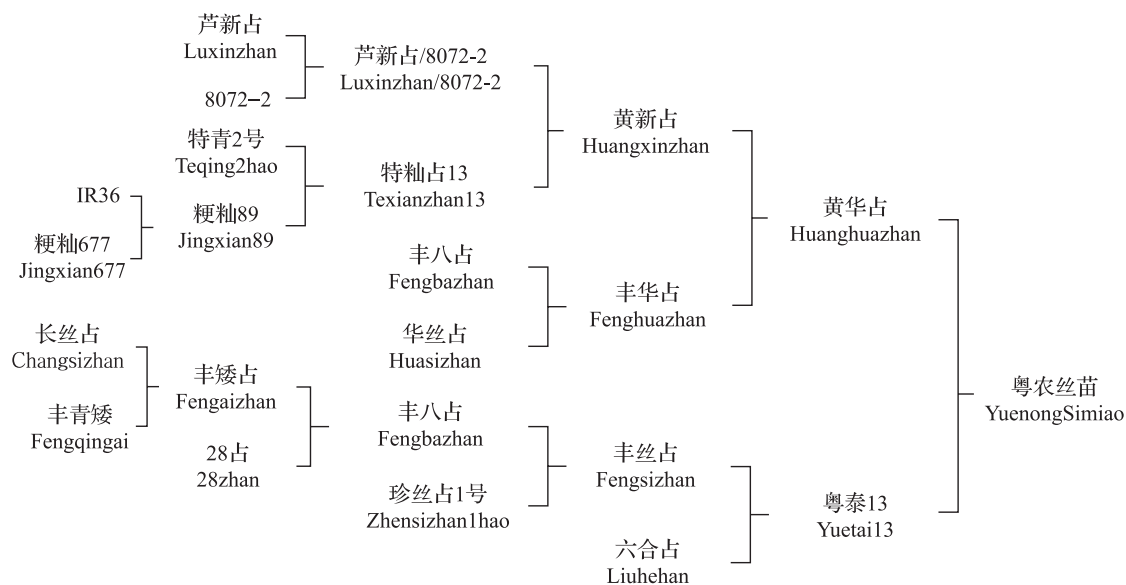


图 2 粤农丝苗的系谱图
Fig. 2 Lineage of rice ‘Yuenong Simiao’

2.3 粤农丝苗抗性遗传分析

为了明确粤农丝苗的抗稻瘟病遗传规律,本研究从粤北、粤西等地采的病样中分离到对粤农丝苗无毒、对丽江新团黑谷有毒的菌株 GD142003。经菌株致病型鉴定,鉴别品种特特普、珍龙 13、四丰 43、东农 363、关东 51、合江 18 和丽江新团黑谷的抗性分别为 R、S、S、S、S、S、S,生理小种为 ZB 型。并利用 GD142003 对粤农丝苗 × 丽江新团黑谷的 F₂ 遗传分离群体的 419 个单株进行接菌(图 3、表 3),接种 1 周后调查 F₂ 群体抗、感单株数分别为 339 和 80(R:S=4.2:1),卡方检验不符合单基因控制(3:1)遗传规律,表明该品种的抗稻瘟病性可能受多基因控制。

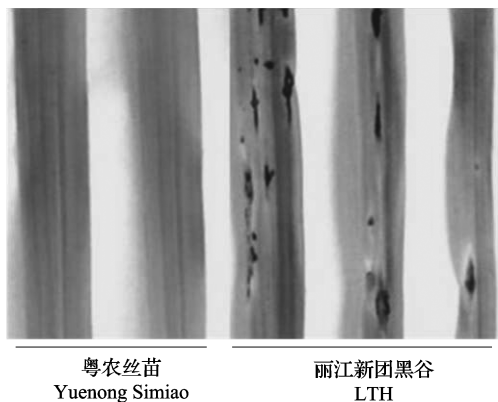


图 3 GD142003 菌株对粤农丝苗和丽江新团黑谷的接菌结果

Fig. 3 Results of inoculation of rice ‘Yuenong Simiao’ and ‘LTH’ with GD142003 strain

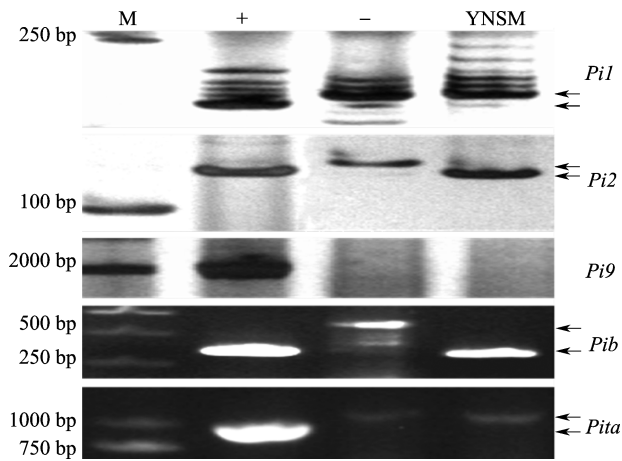
表 3 粤农丝苗 × 丽江新团黑谷 F₂ 世代抗感反应 χ^2 检验
Table 3 Reaction of rice ‘Yuenong Simiao’ × ‘LTH’ F₂ against isolates

群体 Population	期望比值 ^a Expected ratio	期望单株数目 Expected No. of individuals		观测单株数目 Observed No. of individuals	
		抗病 R	感病 S	抗病 R	感病 S
F ₂	3:1 ($\chi^2=7.48$, $P_{0.01}=6.63$)	314	105	339	80

^a: 根据单个显性基因的分离规律
^a: According to segregation rule of a single dominant gene

2.4 粤农丝苗抗病基因组成分析

利用已知抗稻瘟病基因标记对粤农丝苗可能存在的抗性基因进行了分子检测,结果显示,粤农丝苗基因组中 *Pi1* 的功能标记检测的基因型与丽江新团黑谷一致,为阴性; *Pi2* 功能标记 *Pi2*-SNP 检测的基因型与供体亲本 C101A51 一致,为阳性;而 *Pi9* 检测结果与和丽江新团黑谷一致,为阴性; *Pib* 的基因型检测结果与供体亲本 k014 一致,为阳性; *Pita* 的基因型与阴性对照一致(图 4)。这些结果表明粤农丝苗基因组至少携带 *Pi2* 和 *Pib* 基因,进一步证实了粤农丝苗的稻瘟病广谱抗性是由多基因控制的。



+: 基因供体亲本, 其中 *Pi1* 供体亲本为 C101LAC, *Pi2* 供体亲本为 C101A51, *Pi9* 供体亲本为 IRBL-22, *Pib* 供体亲本为 k014, *Pita* 供体亲本为特青 2 号; -: 阴性对照, 丽江新团黑谷; M: 分子标记; YNSM: 粤农丝苗

+: the gene donor, *Pi1* from 'C101LAC', *Pi2* from 'C101A51', *Pi9* from 'IRBL-22', *Pib* from 'k014', *Pita* from 'Teqing 2 hao'. -: the negative control, LTH. M: molecular marker, YNSM: Yuenong Simiao

图 4 粤农丝苗抗稻瘟病基因组成分析

Fig. 4 Analysis of rice-blast resistance genes in rice 'Yuenong Simiao'

3 讨论

粤农丝苗米质优、抗倒性强, 多年多点表现出优良的稻瘟病抗性, 而且其抗病性有较好的遗传力。与当前业内熟知的广适性品种黄华占主要作为常规稻, 恢复系华占仅作为杂交稻父本应用显著不同, 粤农丝苗不仅作为常规稻或骨干抗源, 还作为三系、两系杂交稻父本进行利用。从 2013 年至今一直被列为广东省农业主导品种之一, 作为常规稻, 其在华南稻区乃至长江中下游稻区作为直播稻、再生稻被广泛种植利用。以粤农丝苗作为骨干亲本选育出优质、高产、高抗稻瘟病新品种粤禾丝苗^[10]、粤金农占^[11]等常规稻品种。作为两系、三系杂交稻恢复系已被国内众多种业企业和科研单位使用, 并育成系列杂交稻品种通过国家或省级品种审定(国家水稻数据中心: <http://www.ricedata.cn>), 其中隆两优 1212(国审稻 20170022)和晶两优 1212(国审稻 20186010)在 2019 年被农业农村部确认为超级稻。

抗病基因是水稻抗病的遗传基础, 了解抗病品种的抗性基因构成是抗病品种培育的前提。迄今为止, 已至少有 84 个主效抗稻瘟病基因被报道, 其中 *Pi1*、*Pi2*、*Pi9*、*Pik*、*Pigm*、*Bsr-d1* 和 *Bsr-k1* 等 27 个基因已被成功克隆^[6, 12-20]。这些基因多数由多基因控制(如 *Pi-z* 基因簇的 *Pi2*、*Pi9*、*Pi50* 和 *Pigm*

等), 少数通过双基因或主效单基因控制^[21-22]。其中 *Pi1*、*Pi2*、*Pi9*、*Pigm* 等被广泛应用于分子标记辅助育种^[18, 23-24]。从抗性基因的来源来看, 目前克隆且被广泛应用的抗性基因多数来自地方稻品种或野生稻资源。*Pigm* 的基因供体谷梅 4 号是四川地方稻品种^[13]。*Pi2* 来源于国际水稻研究所创建的籼型近等基因系 'C101A51', 在华南杂交稻的分布达 22.87%^[25-26]。*Pi9* 则是来源于小粒野生稻^[27], 并且 *Pi9* 在国内育种上的应用存在较大差异, 在东北稻区粳稻品种中被检出率高达 45.8%^[28], 而在广东籼稻主栽品种中未鉴定到^[25]。当前, 随着农业供给侧改革的推进和优质化发展, 以上抗源无论在直接利用程度, 还是在稻米品质或综合农艺性状等方面都存在明显不足, 难以适应新形势下的水稻产业优质化发展需求。本研究对优质稻高抗稻瘟病品种粤农丝苗的抗稻瘟病基因进行了遗传分析, 通过分子标记检测发现其至少携带 *Pi2* 和 *Pib* 两个抗病基因。这一研究结果为将来以粤农丝苗为抗源利用分子标记辅助选择培育新的优质抗病品种和组合提供重要的分子依据。

虽然 *Pi2*/*Pi9* 等多个主效单基因对品种的广谱抗性起关键作用, 不同抗性基因的聚合仍可以拓宽稻瘟病抗谱^[29-30], 并且 *Pib* 作为广泛分布的基因其抗性贡献率非常小^[31-34]。本研究结果显示, 粤农丝苗的稻瘟病抗性受多基因控制, 且至少包含 *Pi2* 和 *Pib* 等抗稻瘟病基因, 其中 *Pi2* 为已知的广谱抗性基因, 对粤农丝苗的抗性起着重要作用, 暗示可能还存在新的抗性位点。为此, 我们正通过 BSA 分析法和基因组重测序技术, 并通过创建重组自交系和近等基因系群体, 揭示其可能的新的抗性位点。

参考文献

- [1] Liu J, Wang X, Mitchell T, Hu Y, Liu X, W G L. Recent progress and understanding of the molecular mechanisms of the rice-*Magnaporthe oryzae* interaction. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 11(3): 419-427
- [2] 何秀英, 廖耀平, 陈钊明, 程永盛, 陈粤汉, 刘维. 优质抗病水稻新品种粤农丝苗的选育及应用. *中国稻米*, 2014, 20(2): 69-70
- [3] He X Y, Liao Y P, Chen Z M, Cheng Y S, Chen Y H, Liu W. Breeding and application of a new rice variety Yuenongsimiao with good quality and disease resistance. *China Rice*, 2014, 20(2): 69-70
- [4] 杨军, 薛芳, 王海凤, 郭涛, 金桂秀, 王佳, 陈峰, 张士永. 水稻稻瘟病菌单孢分离技术及常见问题分析. *山东农业科学*, 2017, 49(2): 132-135
- [5] Yang J, Xue F, Wang H F, Guo T, Jin G X, Wang J, Chen F, Zhang S Y. Single spore isolation technology and common

- problem analysis of rice blast pathogen *Magnaporthe oryzae*. Shandong Agricultural Sciences, 2017, 49(2): 132-135
- [4] Pan Q H, Wang L, Ikehashi H. 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
- [5] 全国稻瘟病菌生理小种联合试验组. 我国稻瘟病菌生理小种研究. 植物病理学报, 1980, 10(2): 71-82
All China Cooperation of Research on Physiological Races of *Pyricularia oryzae*. Research on physiological races of rice blast fungus in China. Acta Phytopathologica Sinica, 1980, 10(2): 71-82
- [6] Hua L X, Wu J Z, Chen C X, Wu W H, He X Y, Lin F, Wang L, Ashikawa I, Matsumoto T, Wang L, Pan Q H. The isolation of *Pi1*, an allele at the *Pik* locus which confers broad spectrum resistance to rice blast. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 125(5): 1047-1055
- [7] 华丽霞, 汪文娟, 陈深, 汪聪颖, 曾烈先, 杨健源, 朱小源, 苏菁. 抗稻瘟病 *Pi2/9/z-t* 基因特异性分子标记的开发. 中国水稻科学, 2015, 29(3): 305-310
Hua L X, Wang W J, Chen S, Wang C Y, Zeng L X, Yang J Y, Zhu X Y, Su J. Development of specific DNA markers for detecting the rice blast resistance gene alleles *Pi2/9/z-t*. Chinese Journal of Rice Science, 2015, 29(3): 305-310
- [8] 刘洋, 徐培洲, 张红宇, 徐建第, 吴发强, 吴先军. 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 Y, Xu P Z, Zhang H Y, Xu J D, Wu F Q, Wu X J. Marker-assisted selection and application of blast resistant gene *Pib* in rice. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(1): 9-14
- [9] 赵国珍, 严宗卜, Christopher Deren, 戴陆园. 利用分子标记和接种鉴定分析美国水稻育种亲本的稻瘟病抗性. 分子植物育种, 2012, 10(2): 207-213
Zhao G Z, Yan Z B, Christopher D, Dai L Y. Analysis of rice blast resistance in rice breeding parents from USA using molecular markers and pathogenicity assays. Molecular Plant Breeding, 2012, 10(2): 207-213
- [10] 何秀英, 廖耀平, 陈钊明, 程永盛, 陈粤汉, 刘维, 卢东柏. 高产优质抗病水稻新品种粤禾丝苗的选育及特征特性. 中国稻米, 2015, 21(S1): 42-43
He X Y, Liao Y P, Chen Z M, Cheng Y S, Chen Y H, Liu W, Lu D B. Breeding and characteristics of a new rice variety Yuehesimiao with high yield, good quality, and disease resistance. China Rice, 2015, 21(S1): 42-43
- [11] 何秀英, 刘维, 廖耀平, 陈钊明, 卢东柏, 程永盛, 陆展华, 陈粤汉. 抗病优质水稻新品种粤金农占的选育及栽培要点. 农业科技通讯, 2017(10): 193-194
He X Y, Liu W, Liao Y P, Chen Z M, Lu D B, Cheng Y S, Lu Z H, Chen Y H. Breeding and cultivation techniques of a new rice variety Yuejinnongzhan with high yield and disease resistance. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2017(10): 193-194
- [12] Wang G L, Mackill D J, Bonman J M, McCouch S R, Champoux M C, Nelson R J. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. Genetics, 1994, 136(4): 1421-1434
- [13] Deng Y, Zhu X, Shen Y, He Z H. 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. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 113(4): 705-713
- [14] Qu S, Liu G, Zhou B, Bellizzi M, Zeng L R, Dai L Y, Han B, Wang G L. The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice. Genetics, 2006, 172(3): 1901-1914
- [15] Okuyama Y, Kanzaki H, Abe A, Yoshida K, Tamiru M, Saitoh H, Fujibe T, Matsumura H, Shenton M, Galam D C, Undan J, Ito A, Sone T, Terauchi R. A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice *Pia*-blast resistance gene consisting of two adjacent NBS-LRR protein genes. The Plant Journal, 2011, 66(3): 467-479
- [16] Yuan B, Zhai C, Wang W J, Zeng X S, Xu X K, Hu H Q, Lin F, Wang L, Pan Q H. The *Pik-p* resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice is mediated by a pair of closely linked CC-NBS-LRR genes. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122(5): 1017-1028
- [17] He X Y, Liu X Q, Wang L, Wang L, Cheng Y S, Chen Z M, Liao Y P, Pan Q H. Identification of the novel recessive gene *pi55(t)* conferring resistance to *Magnaporthe oryzae*. Science China Life Sciences, 2012, 55(2): 141-149
- [18] Deng Y W, Zhai K R, Xie Z, Yang D Y, Zhu X D, Liu J Z, Wang X, Qin P, Yang Y Z, Zhang G M, Li Q, Zhang J F, Wu S Q, Milazzo J, Mao B Z, Wang E T, Xie H A, Tharreau D, He Z H. Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance. Science, 2017, 355(6328): 962-965.
- [19] Li W T, Zhu Z, Chern M, Yin J J, Yang C, Ran L, Cheng M P, He M, Wang K, Wang J, Zhou X G, Zhu X B, Cheney Z X, Wang J C, Zhao W, Ma B T, Qin P, Chen W L, Wang Y P, Liu J L, Wang W M, Wu X J, Li P, Wang J R, Zhu L H, Li S G, Chen X W. A natural allele of a transcription factor in rice confers broad-spectrum blast resistance. Cell, 2017, 170(1): 114-126
- [20] Wang G L, Valent B. Durable resistance to rice blast. Science, 2017, 355(6328): 906-907
- [21] 何秀英, 王玲, 吴伟怀, 陈钊明, 林菲, 程永盛, 刘维, 陈粤汉, 廖耀平. 水稻稻瘟病抗性基因的定位、克隆及育种应用研究进展. 中国农学通报, 2014, 30(6): 1-12
He X Y, Wang L, Wu W H, Chen Z M, Lin F, Cheng Y S, Liu W, Chen Y H, Liao Y P. The progress of mapping, isolation of the genes resisting to blast and their breeding application in rice. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(6): 1-12
- [22] 袁熹, 李大勇, 宋凤鸣. 水稻对稻瘟病的广谱抗性: 分子机制及其育种应用. 植物生理学报, 2017, 53(8): 1348-1358
Yuan X, Li D, Song F M. Rice broad-spectrum resistance against blast disease: molecular mechanism and applications. Plant Physiology Journal, 2017, 53(8): 1348-1358
- [23] 孙富, 唐梅, 何聪, 卢宏琮. 分子标记辅助聚合基因 *Pi1* 和 *Pi2* 改良红色特种籼稻稻瘟病抗性研究. 湖北农业科学, 2018, 57(18): 23-27
Sun F, Tang M, He C, Lu H C. Improvement of rice blast resistance in red rice by pyramiding of *Pi1* and *Pi2* through molecular marker-assisted selection. Hubei Agricultural

- Sciences, 2018, 57(18): 23-27
- [24] 行璇, 刘雄伦, 陈海龙, 杨丰宇, 李永聪, 廖花, 游亮, 刘金灵, 戴良英, 王国梁. 分子标记辅助选择 *Pi9* 基因改良 R288 的稻瘟病抗性. 作物研究, 2016, 30(5): 487-491
- [25] Xing X, Liu X L, Chen H L, Yang F Y, Li Y C, Liao H, You L, Liu J L, Dai L Y, Wang G L. Improving blast resistance of rice restorer R288 by molecular marker-assisted selection of *Pi9* gene. Crop Research, 2016, 30(5): 487-491
- [26] 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, Chen 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
- [27] 陈深, 苏菁, 华丽霞, 汪文娟, 汪聪颖, 杨健源, 曾列先, 朱小源. 水稻恢复系华占抗稻瘟病遗传分析及基因鉴定. 植物病理学报, 2015, 45(6): 598-605
Chen S, Su J, Hua L X, Wang W J, Wang C Y, Yang J Y, Zeng L X, Zhu X Y. Genetic analysis and gene identification of restorer line Huazhan against rice blast. Acta Phytopathologica Sinica, 2015, 45(6): 598-605
- [28] Liu G, Lu G, Zeng L, Wang G L. Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9(t)* and *Pi2(t)*, are physically linked on rice chromosome 6. Molecular Genetics and Genomics, 2002, 267(4): 472-480
- [29] 邹德堂, 姜思达, 赵宏伟, 郭丽颖, 孙健, 刘化龙, 辛威. 广谱抗性基因 *Pi9* 在黑龙江省水稻品种中的分布. 东北农业大学学报, 2016, 47(7): 1-8
Zou D T, Jiang S D, Zhao H W, Guo L Y, Sun J, Liu H L, Xin W. Distribution of broad-spectrum resistance gene-*Pi9* in the rice cultivars of Heilongjiang province. Journal of Northeast Agricultural University, 2016, 47(7): 1-8
- [30] 杜太宗, 余显权, 朱速松, 李光正, 丁军. 稻瘟病抗性基因 *Pi1* 与 *Pi9* 聚合材料的抗性鉴定. 贵州农业科学, 2015, 43(4): 35-38
- Du T Z, Yu X Q, Zhu S S, Li G Z, Ding J. Resistance evaluation of polymeric rice material with blast resistance genes *Pi1* and *Pi9*. Guizhou Agricultural Sciences, 2015, 43(4): 35-38
- [31] 杜雪树, 夏明元, 李进波, 戚华雄. 水稻抗瘟性分子标记辅助育种的实践和策略. 分子植物育种, 2019, 17(13): 4383-4389
- Du X S, Xia M Y, Li J B, Qi H X. Practice and strategy of the blast resistance breeding with molecular marker-assisted breeding in rice. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(13): 4383-4389
- [32] 何海燕, 柴荣耀, 邱海萍, 毛雪琴, 王艳丽, 孙国仓. 五个抗稻瘟病基因在浙江省水稻品种中的分布和抗性评价. 浙江农业学报, 2019, 31(6): 922-929
He H Y, Cai R Y, Qiu H P, Mao X Q, Wang Y L, Sun G C. Distribution and resistance evaluation of 5 rice blast-resistant genes in cultivated rice varieties in Zhejiang. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2019, 31(6): 922-929
- [33] 王丽丽, 赵家铭, 马作斌, 郑文静, 马殿荣. 辽宁地区水稻资源抗稻瘟病基因的检测分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 325-339
Wang L L, Zhao J M, Ma Z B, Zheng W J, Ma D R. Identifying and analyzing to rice blast resistant genes in rice germplasm resources of Liaoning province. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(2): 325-339
- [34] 岂长燕, 许兴涛, 马建, 王帅, 田鹏, 孟令志, 闫文秀, 赵志超, 王洁, 王久林, 雷财林. 抗稻瘟病基因 *Pib*、*Pita*、*Pi5*、*Pi25* 和 *Pi54* 在我国水稻微核心种质中的分布. 植物遗传资源学报, 2019, 20(5): 1240-1246, 1254
Qi C Y, Xu X T, Ma J, Wang S, Tian P, Meng L Z, Yan W X, Zhao Z C, Wang H, Wang J L, Lei C L. Distribution of blast resistance genes *Pib*, *Pita*, *Pi5*, *Pi25* and *Pi54* in mini-core collection of Chinese rice germplasm. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(5): 1240-1246, 1254