

稻瘟病抗病基因 *Pita* 和 *Pib* 在中国水稻地方品种中的分布

杨 杰¹ 杨金欢^{1,2} 王 军¹ 范方军¹ 朱金燕¹ 曹 卿^{1,2} 田胜尼² 仲维功¹

(1. 江苏省农业科学院 粮食作物研究所 江苏省优质水稻工程技术研究中心, 江苏 南京 210014;

2. 安徽农业大学 生命科学院, 安徽 合肥 710058)

摘要: 主效抗稻瘟病基因 *Pita* 和 *Pib* 在我国很多稻区表现高水平的稻瘟病抗性, 被广泛应用于我国的水稻育种和生产。但这 2 个基因在国内品种资源中的分布及利用情况缺乏详细的资料, 致使育种利用上存在着盲目性。本研究利用 *Pita* 和 *Pib* 基因的功能标记, 检测和分析了我国 115 份水稻地方品种的 *Pita* 和 *Pib* 基因型。结果表明, *Pita* 在我国浙江、福建、广东、广西、贵州、四川、安徽、江西、河南、河北、吉林均有分布, 在江苏、上海、山东、湖南、湖北、辽宁没有发现; 而只有来自四川的地方品种桂东粳和来自河南的德国稻携带 *Pib*, 其他省均未发现。在江苏的主要推广粳稻品种中, 晚粳品种几乎都携带这两个基因, 部分迟熟中粳携带这两个基因, 中熟中粳多数不携带。

关键词: 水稻; 稻瘟病; 主栽品种; 抗性基因; 分子标记

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)03-0001-06

Distribution of Two Blast Resistant Genes *Pita* and *Pib* in Landrace Rice in China

YANG Jie¹, YANG Jin-huan^{1,2}, WANG Jun¹, FAN Fang-jun¹,
ZHU Jin-yan¹, CAO Qing^{1,2}, TIAN Sheng-ni², ZHONG Wei-gong¹

(1. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agriculture Sciences, Jiangsu High Quality

Rice R & D Center, Nanjing 210014, China;

2. College of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 710085, China)

Abstract: The two major blast resistance genes, *Pita* and *Pib*, showed broad resistance spectrum to Magnaporthe grisea isolates in many rice planting areas of China and has been utilized in rice breeding and commercial production. However, the distribution of this two genes in present rice germplasms has not been well investigated, resulting in the blindness of their utilization in rice breeding. In the present study, the existence of the two genes in 115 landrace rice germplasms and 19 rice leading cultivars were rapidly determined using the functional markers of *Pita/pita* and *Pib/pib* alleles. The results showed that 20 landrace accessions harbored *Pita* resistant allele and only 2 landrace accessions harbored *Pib* resistant allele. The *Pita* resistant allele distribute widely in china including Zhejiang Province, Fujian Province, Guangdong Province, Guangxi Province, Sichuan Province, Guizhou Province, Anhui Province, Jiangxi Province, Henan Province, Hebei Province, Jilin Province, but not found in Jiangsu Province, Shandong Province, Hunan Province, Hubei Province and Shanghai City. Only two landrace harbored the *Pib* resistant allele. However, 11 cultivars harbored *Pita* resistant allele and 8 cultivars harbored *Pib* resistant allele. Interestingly, the 8 cultivars harboring *Pib* carried the *Pita* resistant allele simultaneously. These results are useful for rational utilization and deployment of the rice cultivars and germplasm with the *Pita* and *Pib* genes and for incorporating and stacking these genes into elite present leading cultivars and lines by marker assisted selection in rice breeding programs nationwide.

Key words: Rice; Rice blast; Leading cultivar; Resistance gene; DNA marker

收稿日期: 2011-02-09

基金项目: 国家转基因生物新品种培育科技重大专项(2009ZX08001-005B, 019B); 国家科技支撑计划重大项目(2006BAD02A03); 江苏省自然科学基金项目(BK2009321); 江苏省农业科技自主创新基金项目; 江苏省六大人才高峰项目; 江苏省农业科学院基金项目(6110703; 6510806)

作者简介: 杨 杰(1969-), 男, 四川南部人, 副研究员, 博士, 主要从事水稻遗传育种方面的研究。杨金欢与第一作者同等贡献。

通讯作者: 仲维功(1954-), 男, 江苏兴化人, 研究员, 主要从事水稻遗传育种方面的研究。

由稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)引起的稻瘟病是水稻生产的主要限制因子之一,严重威胁着中国和世界的粮食安全生产。目前报到的有 80 多个稻瘟病抗性基因或 QTL,绝大多数抗稻瘟病基因采用分子标记进行了染色体定位^[1]。克隆了的抗稻瘟病基因有 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pi9*、*Pi2*、*Piz-t*、*Pid2*、*Pi36*、*Pi37*、*Pikm*、*Pit*、*Pi5*、*Pid3*、*Pikh*、*pi21* 和 *Pb1*^[2-19]。*Pb1* 是第 1 个克隆的穗颈瘟抗病基因^[16]。

实践证明,培育和合理利用抗病品种是控制此病害最经济有效和对环境安全的手段,而利用分子标记辅助选择(Marker-assisted selection, MAS)技术将多个具有不同抗谱的稻瘟病抗性基因聚合到同一个品种中,是改良水稻稻瘟病抗性的有效措施之一。

为开展高效分子育种,Andersen 等^[20]提出了基因功能标记概念。基因功能标记(Functional markers, FMs)是指一个分子标记位点代表一个特定的等位基因,并与该基因控制的性状相联系,通过对分子标记的筛选即能对性状进行筛选,所以在育种中有着广阔的应用前景。随着水稻分子生物学的进展,许多与水稻品质、抗病性、产量等相关的重要功能基因已被克隆,为水稻功能标记的开发奠定了基础,水稻的香米基因、广亲和基因等都已经开发了相

应的功能标记^[21-24]。开发成本低廉且简便实用的基因功能标记是开展高效水稻分子标记辅助选择育种的基础和前提。

Wang 和 Fjellstrom 等^[25,26]针对稻瘟病抗感等位基因功能基序的差异,采用等位基因特异 PCR 方法设计特异扩增 *Pita* 和 *Pib* 基因及其等位基因的功能标记。其基本原理是,针对突变型和野生型之间存在的 SNP,以该位点为引物的 3 端,设计引物。一个与野生型完全匹配,一个与突变型完全匹配。而另一条引物为相同引物。这样,两对引物为互补的等位基因特异引物,可以分别与野生型和突变型结合,进行特异扩增^[24]。本研究利用已开发的 *Pib*、*Pita* 功能标记,对我国的地方水稻品种资源进行了调查,为进一步利用这些资源提供有益信息。

1 材料和方法

1.1 供试材料

来自中国的地方品种有 115 份,由复旦大学卢宝荣教授提供;携带 *Pita* 的近等基因系 2 个,携带 *Pib*、*Pi9* 和 *Pil* 的近等基因系各 1 个,由国际水稻研究所育成;江苏省主要推广粳稻品种 19 个,由江苏省农科院粮食所保存(表 1)。

表 1 供试的栽培品种和地方品种

Tab. 1 The rice cultivars and landrace accessions used in this study

材料	来源	材料名称
Materials	Oringin	The name of materials
栽培稻	江苏	宁粳 1 号;连粳 4 号;连粳 6 号;连粳 7 号;南粳 44;南粳 45;盐稻 8 号;盐稻 9 号;武香粳 14;武育粳 3 号;武运粳 7 号;武运粳 20;淮稻 9 号;淮稻 10 号;徐稻 3 号;徐稻 4 号;镇稻 88;武运粳 8 号
Cultivar		
地方品种	浙江	嘉花 1 号
Landrace	安徽	傍秋糯;天坐早;秋前白;老红谷;白壳粳;中粳稻
	福建	黄枝糯;黑毛大东糯;白壳红;老白木
	广东	赤米内;串占赤;大糯;门教颖;日本谷;黄稻占;早水银占
	广西	六十日早;银丝白;百色糯谷
	贵州	白壳山谷;岩粘;黄丝晚谷;诗阳糯;青秆粘;顺河早;鸡油糯;红粘谷
	河北	韦南红芒稻;涿鹿老租;永年露水白;青龙卫国;青龙大白芒
	河南	黑稻;紫金兜;卡鸡糯
	黑龙江	改良国主
	湖北	利川大白谷;龙须占;红西糯;霸王鞭 2
	湖南	高山红;八十早;香禾糯;早大糯
	吉林	早生京租;早毛黄国主;当地北海道;黄尖头光陆羽稻
	江苏	江阴早;秃头糯稻;吴江粳;白芒粳;白日粳;叶里盘
	江西	湖北早;上饶早;建阳早;大糯;金包银;赣农 3 号;须谷早;排山糯
	四川	桂东粳;小谷;猪尿沱;贵阳棒;线谷;白壳酒谷;小酒谷;一枝箭;小毛香
	云南	麻线谷;小白谷;麻大谷;红秆齐头
	上海	密子晚;苞麻糯;黄种;解放种;东洋粳;鸭嘴中粳
	浙江	矮洋稻;老虎稻;雪里青;改良乌;紫红;三百粒头;白米儿;光粒粳
	陕西	麻酒谷;四沉沟江米稻;麻稻子;大红稻;催山谷;白秆子;乌脚粘
	山西	本地稻 1;毛稻
	辽宁	陆羽 132 号;卫国;援朝;信友早生
	山东	葫芦稻子;水稻;清水稻;红江米
杂草稻	安徽	傍秋糯;天坐早;秋前白;老红谷;白壳粳;中粳稻;肥东塘稻
Weedy rice	安徽	怀远塘稻;来安塘稻;全椒塘稻;肥东塘稻
	江苏	槽稻

1.2 DNA 提取

利用 SDS 法提取总 DNA。以总 DNA 为模板 , 按下列反应体系进行 PCR。反应体系 (20 μL) 为: DNA 1.0 μL (20 ~ 50 μg/L) , 上、下游引物各 0.5 μL (10 nmol/L) , 10 × Buffer 2.0 μL , MgCl₂ (5 mmol/L) 2 μL , *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μL (5 000 U/mL) , dNTP (2.5 mmol/L) 1 μL , 纯水 12.8 μL。扩增条件为 94℃、5 min; 94℃、45 s , 55℃、45 s , 72℃、1.5 min , 35 个循环; 72℃ , 延伸 10 min。PCR 产物在含有溴化乙淀 (EB) 的 1.0% 琼脂糖凝胶中 120 V 电泳 20 min , 再以凝胶成像系统照相。在相同条件下 , 每个 DNA 样品重复扩增并电泳检测 3 次以上 , 以确保扩增结果准确、可靠。

1.3 *Pib* 和 *Pita* 基因的分子检测

根据等位基因特异 PCR 原理 , 针对 *Pita* 等位基

因的 2 对引物的 PCR 扩增产物将有 2 种带型: 携带抗病等位基因的材料能够用 *Pita* 引物对扩增出 1 042 bp 片段 , 而同时用 *Npita* 引物对扩增不出产物 , 这样的材料携带抗病的 *Pita* 基因; 用 *Pita* 引物对不能扩增出目标产物 , 但是能用 *Npita* 引物对扩增出 1 042 bp 片段 , 这样的材料携带感病等位基因 *pita*。同理 , 针对 *Pib* 等位基因的 2 对引物的 PCR 扩增产物将有 2 种带型: 携带抗病等位基因的材料能够用 *Pib* 引物对扩增出 365 bp 片段 , 而同时用 *Npib* 引物对扩增不出产物 , 这样的材料携带抗病的 *Pib* 基因; 用 *Pib* 引物对不能扩增出目标产物 , 但是能用 *Npib* 引物对扩增出 803 bp 片段 , 这样的材料携带感病等位基因 *pib*。用于扩增两个等位基因的 PCR 引物见表 2。

表 2 用于 PCR 反应的引物名称、序列及预期片段长度

Tab.2 Name , sequences expected fragment size of specific primers used for PCR					
等位基因	引物	序列	片段长度 /bp	注	文献
Alleles	Primer	Primer sequence	Fragment size	Note	Reference
<i>Pita</i>	Pita-F	AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	1 042	抗病	Wang 2007
	Pita-R	CTACCAACAAGTTCATCAAA			
<i>pita</i>	Npita-F	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	1 042	感病	
	Npita-R	CTACCAACAAGTTCATCAAAS			
<i>Pib</i>	Pib-F	GAACAATGCCCAAACTTGAGA	365	抗病	Fjellstrom , 2004
	Pib-R	GGGTCCACATGTCAGTGAGC			
<i>pib</i>	Npib-F	TCGGTGCCTCGGTAGTCAGT	803	感病	
	Npib-R	GGGAAGCGGATCCTAGGTCTS			

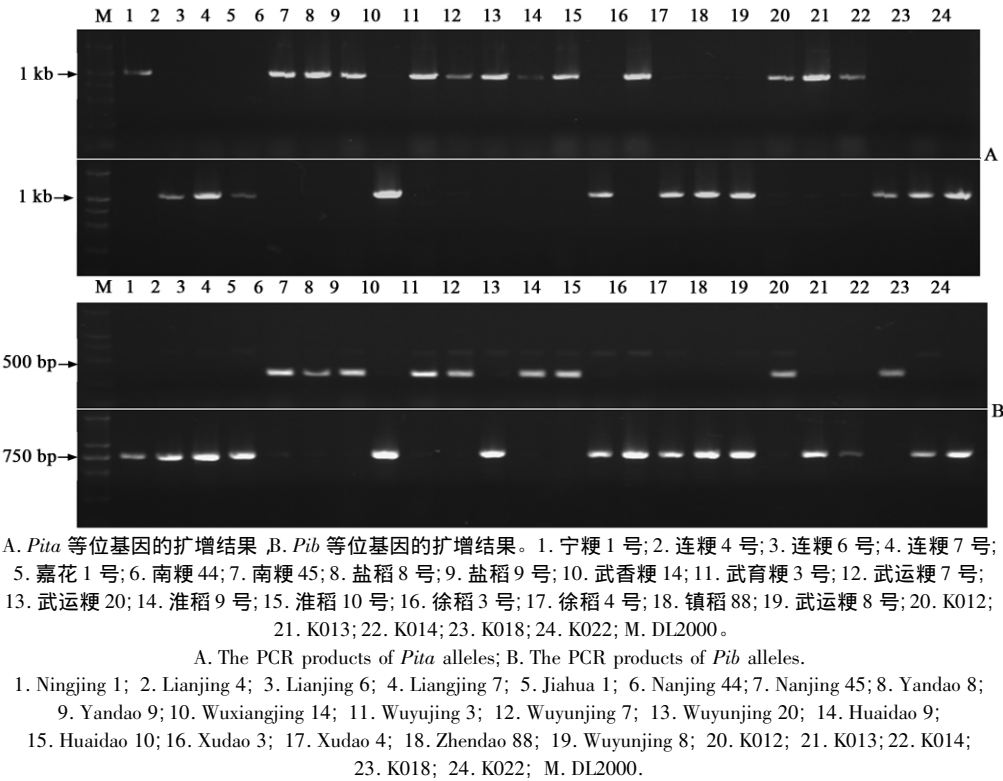


图 1 *Pita* 和 *Pib* 基因功能标记对 24 份材料扩增结果

Fig.1 The results of PCR using functional markers of *Pita* and *Pib* with 24 materials

2 结果与分析

2.1 利用 *Pita* 和 *Pib* 基因的功能标记检测和验证

图 1-A 中 20、21 为携带抗病等位基因 *Pita* 的近等基因系,作为正对照,23、24 是不携带 *Pita* 和 *Pib* 的近等基因系,作为负对照。图 1-A 为 *Pita* 引物对的扩增结果,图 1-B 为 *Npita* 引物对的扩增结果,可以看出 2 个携带 *Pita* 的近等基因系材料利用 *Pita* 引物对能扩增出 1 024 bp 的片段,利用 *Npita* 引物对不能扩增出产物;携带 *Pi9* 和 *Pi1* 的近等基因系的 2 个材料利用 *Pita* 引物对不能扩增出产物,利用 *Npita* 引物对能扩增出产物 1 024 bp 的片段。

图 1-B 中 22 为携带抗病等位基因 *Pib* 的近等基因系,作为正对照,23、24 是不携带 *Pita* 和 *Pib* 的近等基因系,作为负对照。图 1-A 为 *Pib* 引物对的扩增结果,图 1-B 为 *Npib* 引物对的扩增结果,可以看出携带 *Pib* 的近等基因系材料利用 *Pib* 引物对能扩增出 365 bp 的片段,利用 *Npib* 引物对不能扩增出产物;携带 *Pi9* 和 *Pi1* 的近等基因系的 2 个材料利

表 3 对水稻品种的鉴定结果

Tab.3 The genotype of *Pib* and *Pita* in cultivars determined with functional markers

类型 Types	品种名称 Name	<i>Pita</i>	<i>pita</i>	<i>Pib</i>	<i>pib</i>	来源 Origin
中熟中粳 Middle ripe Middle Jing	连粳 4	-	+	-	+	江苏
	连粳 6	-	+	-	+	江苏
	连粳 7	-	+	-	+	江苏
	徐稻 3	-	+	-	+	江苏
迟熟中粳 Late ripe in Jing	徐稻 4	-	+	-	+	江苏
	镇稻 88	-	+	-	+	江苏
	淮稻 9	-	+	-	+	江苏
	淮稻 10	+	-	-	+	江苏
晚粳 Lete Jing	盐稻 8	-	+	-	+	江苏
	盐稻 9	+	-	+	-	江苏
	南粳 45	+	-	+	-	江苏
	武育粳 3	+	-	-	+	江苏
近等基 因系 Isogenic lines	武运粳 8	+	-	+	-	江苏
	武运粳 7	+	-	+	-	江苏
	武香粳 14	+	-	+	-	江苏
	武运粳 20	+	-	+	-	江苏
	南粳 44	+	-	+	-	江苏
	宁粳 1	+	-	-	+	江苏
	嘉花 1	+	-	+	-	浙江
	K012(<i>Pita</i>)	+	-	-	+	IRRI
	K013(<i>Pita</i>)	+	-	-	+	IRRI
	K014(<i>Pib</i>)	-	+	+	-	IRRI
	K018(<i>Pi1</i>)	-	+	-	+	IRRI
	K022(<i>Pi9</i>)	-	+	-	+	IRRI

注: - . 不能获得特异条带; + . 能获得特异条带。

Note: - . No specific PCR product ; + . Specific PCR product.

用 *Pib* 引物对不能扩增出产物,利用 *Npib* 引物对能扩增出 803 bp 的片段。

2.2 对江苏省主要推广的粳稻品种基因型检测结果

6 个中熟中粳类型品种都不携带抗病的 *Pita* 和 *Pib* 等位基因;7 个迟熟中粳品种 5 个携带 *Pita* 抗病基因 3 个携带 *Pib* 抗病基因;6 个晚粳品种都携带 *Pita* 抗病基因 5 个携带 *Pib* 抗病基因。有意思的是 8 个携带 *Pib* 基因的品种都同时携带 *Pita* 基因(表 3)。

2.3 115 份地方品种资源基因型检测结果

从 115 份地方品种中检测到 20 个材料携带 *Pi-ta* 抗病基因。从地理分布看,抗病基因 *Pita* 在我国南方、东南、西南、东北、华北都有分布,但华东的安徽、江苏、山东、上海没有检测到抗病等位基因 *Pita*。在 115 份中国地方水稻品种中只检测到两个材料携带 *Pib* 抗病基因。6 份杂草稻资源都不携带 *Pita* 和 *Pib* 抗病基因。这说明抗病基因 *Pita* 在我国地方品种中分布较广,而抗病基因 *Pib* 分布较少(表 4)。

表 4 *Pita* 和 *Pib* 在 115 份资源中的分布

Tab.4 The geographical distribution of *Pita* and *Pib* gene in the Landrace rice of China

来源 Oringin	样本量 Samples	<i>Pita</i>	<i>Pib</i>
黑龙江 Heilongjiang	1	0	0
辽宁 Liaoning	4	0	0
吉林 Jilin	4	1	0
河北 Hebei	5	1	0
山西 Shanxi	2	0	0
河南 Henan	4	1	1
陕西 Shaanxi	7	0	0
山东 Shandong	4	0	0
江西 Jiangxi	8	2	0
湖北 Hubei	4	0	0
湖南 Hunan	4	0	0
四川 Sichuan	9	1	1
云南 Yunnan	4	0	0
贵州 Guizhou	8	4	0
江苏 Jiangsu	8	0	0
上海 Shanghai	6	0	0
安徽 Anhui	10	1	0
浙江 Zhejiang	8	4	0
福建 Fujian	4	2	0
广东 Guangdong	7	2	0
广西 Guangxi	4	1	0
总计 Total	115	20	2

3 讨论

3.1 基因功能标记应用

随着现代分子生物学的发展,水稻作为模式植物已开发了许多分子标记,为基因的定位、克隆和分子标记辅助选择奠定了基础。基因功能标记能够检测等位基因的变异,并与性状直接联系,通过对分子标

记的筛选即能对性状进行筛选。这对于难以进行表型鉴定的性状进行改良具有很大的优势。功能标记区别于常规的分子标记的最大特点就是功能标记不受粳籼特异性限制,不是连锁选择,能够进行基因型选择,尤其是在回交改良育种,可以准确进行跟踪目标基因,提高育种效率。所以在育种中有着广阔的应用前景。目前水稻稻瘟病已经克隆了 10 多个基因,但只有 *Pita* 和 *Pib* 基因开发了相应的功能标记。

3.2 抗病基因在水稻品种资源中的分布

研究表明,我国地方品种资源携带 *Pita* 抗病基因的频率较高,大约在 20%,而携带 *Pib* 抗病基因的频率在 1% 左右。比较栽培品种和地方品种,发现栽培品种携带这两个抗病基因的频率高于地方品种,说明通过遗传育种改良提高了栽培品种的抗病基因频率。

浙江嘉兴农业科学院一直重视稻瘟病的抗病育种工作,笔者发现浙江的高抗稻瘟病品种嘉花 1 号携带这两个基因,新选育的品系包括秀水 123、秀水 134、秀水 114、秀水 108 等也都同时携带这两个抗病基因,这可能与浙江一直重视稻瘟病遗传改良有关。武进农科所多用嘉兴的材料作为抗源,因此武进的品种武运粳 7、武运粳 8 号、武香粳 14、武运粳 20 都同时携带这两个抗病基因。

长期的生产实践证明,水稻抗病品种的选育和利用是防治稻瘟病经济有效的措施,但因稻瘟病菌的复杂性和易变性等特点,常造成抗病品种在推广种植几年后丧失抗瘟性,引起稻瘟病暴发和流行。陆凡等研究发现在江苏省抗病基因 *Pi-K^s*、*Pi-ta*、*Pi-ta²*、*Pi-sh* 的抗谱很窄,而 *Pib*、*Pi-i* 和 *Pi-z¹* 基因的抗谱比较宽^[28]。同时携带 *Pib*、*pita* 这两个抗病基因可能提高稻瘟病抗性,这可能是多数在江苏推广的品种都携带这两个抗病基因的重要原因。因此,聚合这两个抗病基因可能是提高稻瘟病抗性的重要途径。*Pita* 和 *Pib* 基因位于不同染色体,这两个抗病基因的功能标记为抗病基因 *Pita* 和 *Pib* 的资源筛选和聚合育种奠定了基础。

参考文献:

- [1] Liu J L, Wang X J, Mitchell T, *et al.* Recent progress and understanding of the molecular mechanisms of the rice-Magnaporthe oryzae interaction [J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 11(3): 419–427.
- [2] Wang Z, 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 [J]. Plant J, 1999, 19: 55–64.
- [3] Bryan G T, Wu K, Farrall L, *et al.* A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta* [J]. Plant Cell, 2000, 12: 2033–2045.
- [4] Qu S, Liu G, Zhou B, *et al.* 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 [J]. Genetics, 2006, 172: 1901–1914.
- [5] Zhou B, Qu S, Liu G, *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 [J]. Plant-Microbe Interact, 2006, 19: 1216–1228.
- [6] Zhou E, Jia Y, Singh P, *et al.* Instability of the Magnaporthe oryzae avirulence gene AVR-Pita alters virulence [J]. Fungal Genet Biol, 2007, 44: 1024–1034.
- [7] Chen X, Shang J, Chen D, *et al.* A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance [J]. Plant J, 2006, 46: 794–804.
- [8] Liu X, 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 [J]. Genetics, 2007b: 176, 2541–2549.
- [9] Liu J, Liu X, Dai L, *et al.* Recent progress in elucidating the structure, function and evolution of disease resistance genes in plants [J]. J Genet Genomics, 2007a, 34: 765–776.
- [10] Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, *et al.* Two adjacent nucleotidebinding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer Pikm-specific rice blast resistance [J]. Genetics, 2008, 180: 2267–2276.
- [11] Hayashi K, Yoshida H. Refunctionalization of the ancient rice blast disease resistance gene *Pit* by the recruitment of a retrotransposon as a promoter [J]. Plant J, 2009, 57: 413–425.
- [12] Lee S, Song M, Seo Y, *et al.* Rice *Pi5*-mediated resistance to Magnaporthe oryzae requires the presence of two coiled-coil-nucleotide-binding-leucine-rich repeat genes [J]. Genetics, 2009, 181: 1627–1638.
- [13] Shang J, Tao Y, Chen X, *et al.* Identification of a new rice blast resistance gene, *Pid3*, by genome-wide comparison of paired NBS-LRR genes and their pseudogene alleles between the two sequenced rice genomes [J]. Genetics, 2009, 182: 1303–1311.
- [14] Rai A K, Kumar S, Gautam N, *et al.* Cloned rice blast resistance gene *Pi-kh* confers broad spectrum resistance to Magnaporthe oryzae [C]//Abstract of the XIV Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions, 19–23 July 2003, Quebec Canada. International Society of Mo-

- lecular Plant-Microbe Interactions , Quebec , Canada , 2009.
- [15] Fukuoka S , Saka N , Koga H , *et al.* Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice [J]. *Science* , 2009 , 325: 998 – 1001.
- [16] Hayashi N , Inoue H , Kato T , *et al.* Durable panicle blast-resistance gene *Pbl* encodes an atypical CC-NBS-LRR protein and was generated by acquiring a promoter through local genome duplication [J]. *The Plant Journal* , 2010 , 64: 498 – 510.
- [17] 程芳艳 , 李春光 , 孟昭河 , 等. 利用显性标记对寒地水稻稻瘟病抗性基因 *Pi-b* 的检测 [J]. *华北农学报* , 2010 , 25(S1) : 272 – 275.
- [18] 崔 勇 , 刘自旭. 水稻稻瘟病抗性基因的研究 [J]. *山西农业科学* , 2008 , 12: 41 – 44.
- [19] 刘华招 , 陈温福 , 刘 延. 水稻 *Pi* 基因分子标记的物理图谱锚定 [J]. *华北农学报* , 2009 , 24(S2) : 11 – 14.
- [20] Andersen J R , Lübberstedt T. Functional markers in plants [J]. *Trends in Plant Science* , 2003 , 8: 554 – 560.
- [21] 王 丰 , 李金华 , 柳武革 , 等. 一种水稻香味基因功能标记的开发 [J]. *中国水稻科学* , 2008 , 22(4) : 347 – 352.
- [22] 陆艳婷 , 刘庆龙 , 王俊敏. 利用等位基因特异扩增快速检测水稻香味基因 [J]. *作物学报* , 2008 , 34(2) : 243 – 246.
- [23] 杨 杰 , 王 军 , 曹 卿 , 等. 水稻广亲和基因 *S5-n* 的功能标记开发及其应用 [J]. *作物学报* , 2009 , 35(11) : 2000 – 2007.
- [24] 杨有新 , 吴锦文 , 陈志雄 , 等. 基于功能性标记和测序发掘携带有 *S5n* 基因的水稻新种质 [J]. *科学通报* , 2009 , 54(15) : 2212 – 2218.
- [25] Fjellstrom R , Coneetta A. Anna M , *et al.* Development of DNA markers suitable for marker assisted selection of three *Pi* genes conferring resistance to multiple *Pyricularia grisea* pathotypes [J]. *Crop Sci* , 2004 , 44: 1790 – 1798.
- [26] Wang Z , Jia Y , Rutger J , *et al.* Rapid survey for presence of a blast resistance gene *Pita* in rice cultivars using the dominant DNA markers derived from portions of the *Pita* gene [J]. *Plant Breeding* , 2007 , 126: 36 – 42.
- [27] Michaels S D , Amasino R M. A robust method for detecting single-nucleotide changes as polymorphic markers by PCR [J]. *Plant J* , 1998 , 14: 381 – 385.
- [28] 陆 凡 , 陈志谊 , 刘永锋 , 等. 江苏省稻瘟病菌毒性的群体结构分析 [J]. *植物保护学报* , 2002 , 29(4) : 289 – 294.