

Pi-b、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 对水稻穗颈瘟的抗性评价

范方军¹,王芳权¹,刘永峰²,王 军¹,朱金燕¹,李文奇¹,仲维功¹,杨 杰¹

(1. 江苏省农业科学院 粮食作物研究所,江苏 南京 210014;2. 江苏省农业科学院 植物保护研究所,江苏 南京 210014)

摘要:利用水稻稻瘟病抗病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 的功能标记检测 2012 年江苏省迟熟中粳稻预试 64 份品系,结合水稻穗颈瘟抗性鉴定,解析稻瘟病抗病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 在江苏省粳稻稻瘟病抗性育种中的作用。结果表明,在 64 份材料中含稻瘟病基因 *Pi-b* 的有 49 份,含 *Pi-ta* 的 26 份,含 *Pikm* 的 19 份,含 *Pi54* 的 25 份。64 份品系的人工或病圃鉴定其抗性表现为 2 级中抗的有 10 份,3 级感病的有 43 份,4 级高感的有 11 份。64 份品系中含有抗稻瘟病基因 *Pi-ta*(26 个新品系),或 *Pi-b*、*Pikm* 和 *Pi54* 组合(4 个新品系),则该品系穗颈瘟抗性水平在 2 级中抗或 3 级感病,无 4 级高感,其他抗病基因组合其穗颈瘟抗性水平一般都存在 4 级高感。相关性分析表明,只有抗稻瘟病基因 *Pi-ta* 与穗颈瘟抗性存在显著相关性($r=0.344$, $P<0.01$)。

关键词:水稻;稻瘟病;功能标记

中图分类号:S435.11 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2014)03-0221-06

Evaluation of Resistance to Rice Panicle Blast with Resistant Genes *Pi-b*, *Pi-ta*, *Pikm* and *Pi54*

FAN Fang-jun¹, WANG Fang-quan¹, LIU Yong-feng², WANG Jun¹,
ZHU Jin-yan¹, LI Wen-qi¹, ZHONG Wei-gong¹, YANG Jie¹

(1. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: In this study, 64 late maturity japonica test lines of Jiangsu Province were detected with the functional markers of rice blast resistance genes *Pi-b*, *Pi-ta*, *Pikm* and *Pi54* in rice. Combined with the identification of rice panicle blast resistance, the role of blast resistance genes *Pi-b*, *Pi-ta*, *Pikm* and *Pi54* for Japonica rice breeding with blast resistance in Jiangsu Province has been analyzed. There were 49 lines containing rice blast resistance gene *Pi-b*, 26 lines containing *Pi-ta*, 19 lines containing *Pikm*, 25 lines containing *Pi54* in 64 lines. Through artificial or disease nursery identification, the resistance performance into 2 levels (Moderate resistance) of disease resistance were 10 lines, 3 levels (Susceptible) were 43 lines, 4 levels (High susceptible) were 11 lines. If new lines contain blast resistance genes *Pi-ta* (26 new lines), or combined with *Pi-b*, *Pikm* and *Pi54* (4 new lines), the levels of panicle blast resistance showed 2 levels (Moderate resistance) or 3 levels (Susceptible) and never 4 levels (High susceptible), while lines with other resistance gene combinations generally exhibited 4 grade levels of panicle blast resistance (High susceptible). A correlation showed that only the rice blast resistance gene *Pi-ta* has certain correlation with Panicle Blast Resistance ($r=0.344$, $P<0.01$).

Key words: Rice; Rice panicle blast; Functional markers

水稻是世界上最重要的粮食作物之一,超过一半的人以大米为主食。由稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*) 引起的稻瘟病是水稻的三大病害之一,对水稻

持续高产稳产和品质有重要的影响^[1-2]。稻瘟病在苗期和抽穗期均可发生,在抽穗期发病可导致白穗或半饱和穗,大大降低水稻产量,严重时可导致绝收。

收稿日期:2014-03-11

基金项目:江苏省农业科技自主创新基金项目(CX[11]4020);国家科技支撑计划重大项目(2011BAD16B03)

作者简介:范方军(1978-),男,江苏扬州人,助理研究员,硕士,主要从事水稻遗传育种研究。

通讯作者:杨 杰(1969-),男,四川南部人,研究员,博士,主要从事水稻遗传育种研究。

水稻对稻瘟病的抗性基本上受微效多基因或数量性状位点 (QTL) 控制,随着分子生物学的发展和水稻基因组测序的完成,定位并克隆了一批抗稻瘟病基因。目前已经被定位到的抗病基因或 QTL 有 120 多个,克隆的抗稻瘟病基因有 57 个。*Pi-b* 基因是第 1 个通过图位克隆得到的稻瘟病抗性基因,该基因位于水稻第 2 染色体长臂末端,Fjellstrom 等和刘洋等^[3-5]利用该抗病基因及其等位的感病基因的序列差异,设计基因标记进行抗稻瘟病基因 *Pi-b* 的选择;Bryan 等^[6]将水稻稻瘟病基因 *Pi-ta* 定位于水稻第 12 染色体靠近着丝点附近的区域,并进行了克隆,Jia 等和王忠华等^[7-8]利用该抗病基因和感病基因在 *Pi-ta* 位点上等位性序列上的差异开发基因标记进行抗病基因的选择;*Pikm* 定位于水稻第 11 染色体长臂近末端区域,并被精细定位在 BAC 克隆 OSJNBa0036K13 内的 84 kb 区间内^[9],*Pikm* 由 2 个紧密连锁的具有独立功能 NBS-LRR 类基因(*Pikm1-TS* 和 *Pikm2-TS*) 组成,*Pikm1-TS* 和 *Pikm2-TS* 的编码产物均是 NBS-LRR 类抗病蛋白,长度分别为 1 143 个氨基酸和 1 021 个氨基酸^[10];稻瘟病抗病基因 *Pi54*,最初被命名为 *Pik-h*,来源于水稻品种 Tetep,与 SSR 标记 TRS26 和 TRS33 紧密连锁^[11]。Xu 等^[12]将稻瘟病基因 *Pik-h* 精细定位在水稻第 11 染色体上 SNP 标记 Kh-45F ~ Kh-A-3R 之间的 270 kb 区间内,*Pik-h* 仅包含 1 个外显子,编码一个由 330 个氨基酸组成的 NBS-LRR 类抗病蛋白。育种实践表明,利用稻瘟病抗病基因培育抗病品种是防治稻瘟病最经济最有效的方法,但是由于稻瘟病菌生理小种多样性,单靠一个抗病基因,很难达到全生育期防控稻瘟病的效果。利用分子标记多基因聚合育种是解决此类问题的良好途径。分子标记辅助选择从分子水平上分析个体的遗传组成,从而实现对基因型的直接选择,进行分子育种,由于该标记一般为连锁标记,存在一定的缺陷。为了开展高效的分子育种,Andersen 等^[13]提出了基因功能标记的概念。基因功能标记 (Functional markers, FM) 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。水稻抗稻瘟病基因的克隆为开发基因功能标记提供了基础和前提。

对近几年已审定的江苏水稻品种进行稻瘟病基因的分子标记检测,绝大多数水稻品种含有稻瘟病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54*,表明稻瘟病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 是江苏省目前主要抗病基因。本研究利用水稻稻瘟病抗病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm*

和 *Pi54* 开发的基因功能标记,对 2012 年江苏省迟熟中粳稻预试品系进行检测,结合穗颈瘟人工接种及病圃自然发病相结合,对抗病基因进行抗病性评价。

1 材料和方法

1.1 试验材料

2012 年江苏省迟熟中粳稻预备试验品系,共 64 个,并命名为迟粳预 01 ~ 迟粳预 64。

1.2 DNA 提取

采用 SDS 法提取水稻基因组 DNA。以基因组 DNA 为模板,按下列反应体系进行 PCR 反应。反应体系 (20 μ L) 含模板 DNA (约 15 ng/L) 2 μ L、引物 (4 pmol/L) 2 μ L、10 \times Buffer (25 mmol/L) 2 μ L、MgCl₂ (25 mmol/L) 1.2 μ L、dNTP (2.5 mmol/L) 0.4 μ L、*Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ μ L) 0.2 μ L、灭菌双蒸水 12.2 μ L。在 Biometra PCR 仪上进行扩增,反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 45 s, (*Pi-b*、*Pi-ta* 和 *Pi54* 退火温度 55 $^{\circ}$ C, *Pikm-1* 退火温度 50 $^{\circ}$ C, *Pikm-2* 退火温度 60 $^{\circ}$ C) 45 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min。反应产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳分离,溴化乙啶染色,在紫外凝胶成像仪上观察并照相。

1.3 稻瘟病抗性鉴定方法

稻瘟病抗性鉴定的供试菌株为江苏省农业科学院植物保护研究所 2011 年分离得到的江苏省稻瘟病菌代表菌株:ZB29、ZC15、ZD1、ZE3、ZF1 和 ZG1。水稻穗颈瘟的抗性鉴定采用人工注射接种 (水稻孕穗初期注射接种) 和病圃自然发病同时鉴定 (如有发病等级不一致以发病重作为发病等级)。在水稻成熟后进行水稻穗颈瘟的抗性调查。穗颈瘟抗性等级分为 5 级:0 级为免疫,1 级为抗病,2 级为中抗,3 级为感病,4 级为高感。田间自然鉴定在江苏省金坛试验基地进行。将预试水稻品种间隔播种在诱发水稻品种间 (苏御糯、丽江黑谷),整个生育期内不防治病害;虫害防治和肥水使用参考大田生产。在水稻分蘖初期,田间撒播上年收集的稻瘟病菌标样,观察整个生育期内水稻稻瘟病病害的发生,在成熟期调查水稻穗颈瘟的发生情况。

1.4 稻瘟病基因功能标记的检测

根据等位基因特异 PCR 原理,针对 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pi54* 和 *Pikm* 抗感等位基因序列差异设计引物 (表 1),利用这些功能标记检测试验材料。利用 *Pi-ta* 引物检测到 1 042 bp 片段,同时 *Npi-ta* 引物扩增不出目的片段,这样的材料含有 *Pi-ta* 基因^[14];利用

Pi-b 引物检测到 365 bp 片段,同时 *Npi-b* 引物扩增不出目的片段,这样的材料含有 *Pi-b* 基因,而 *Pi-b* 不能扩增出目的片段,但是 *Npi-b* 引物扩增 803 bp 片段,携带有感病基因^[4];抗病基因 *Pi54* 功能标记为共显性标记,扩增片段 216 bp (抗)/359 bp (感)^[15]。抗病基因 *Pikm* 由 2 对引物扩增,*Pikm1* 引物扩增片段大小为 174 bp (抗)/213 bp (感),*Pikm2* 引物扩增片段大小为 290 bp (抗)/332 bp (感),2 对引物同时扩增出抗病目的片段,表明存在抗病基因 *Pikm*^[10]。

表 1 用于 PCR 反应的引物名称、序列及预期片段长度

Tab. 1 Name, sequences and expected fragment size of specific primers used for PCR			
目的基因 Target genes	引物名称 Primer name	序列(5' - 3') Sequence(5' - 3')	片段长度/bp Expected size
<i>Pi-ta</i>	<i>Pita</i> -F	AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	1 042
	<i>Pita</i> -R	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>pi-ta</i>	<i>NPita</i> -F	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	1 042
	<i>NPita</i> -R	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>Pi-b</i>	<i>Pib</i> -F	GAACAATGCCCAAACCTTGAGA	365
	<i>Pib</i> -R	GGGTCCACATGTCAGTGAGC	
<i>pi-b</i>	<i>NPib</i> -F	TCGGTGCCTCGGTAGTCAGT	803
	<i>NPib</i> -R	GGGAAGCGGATCCTAGGTCT	
<i>Pi54</i>	<i>Pi54</i> -F	CAATCTCCAAAGTTTTCAGG	216/359
	<i>Pi54</i> -R	GCTTCAATCACTGCTAGACC	
<i>Pi-km</i>	<i>Pi-km</i> 1F	TGAGCTCAAGGCAAGAGTTGAGGA	174/213
	<i>Pi-km</i> 1R	TGTTCCAGCAACTCGATGAG	
<i>Pi-km</i>	<i>Pi-km</i> 2F	CAGTAGCTGTGTCTCAGAACTATG	290/332
	<i>Pi-km</i> 2R	AAGGTACCTCTTTTCGGCCAG	

2 结果与分析

2.1 稻瘟病抗病基因功能标记检测试验材料

利用水稻稻瘟病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pi54* 和 *Pikm* 的功能标记检测 2012 年江苏省 64 份迟熟中粳稻预试材料,含有抗稻瘟病基因 *Pi-b* 的材料有 49 份,*Pi-ta* 的有 26 份,*Pi54* 的有 25 份,其中有 3 份材料为杂合,分别为迟粳预 13、迟粳预 14 和迟粳预 47 (图

1)。*Pikm* 基因由 2 个紧密连锁的具有独立功能 NBS-LRR 类基因组成,对 2 个基因分别用引物 *Pikm1* 和 *Pikm2* 进行检测,以 2 对引物同时检测到目的片段(*Pikm1* 片段长度 174 bp,*Pikm2* 片段长度 290 bp)为含有 *Pikm* 基因。供试材料共检测到 19 份品种含有 *Pikm* 基因。4 个抗病基因都检测到的材料只有 1 份,为迟粳预 39,4 个抗病基因都没有的材料有 2 份,为迟粳预 21 和迟粳预 29。

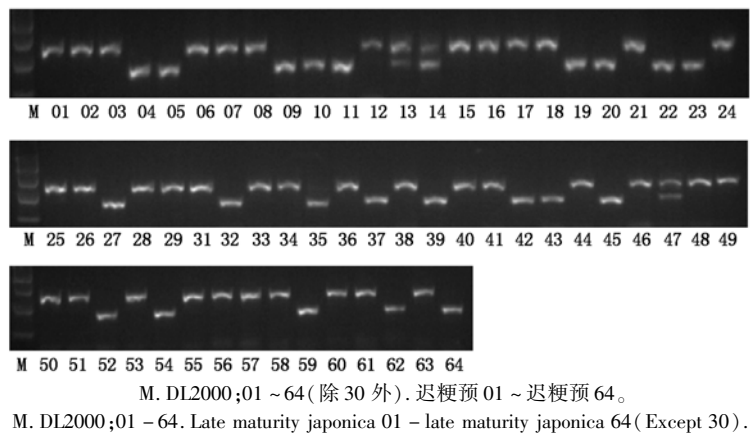


图 1 *Pi54* 的功能标记对 64 份材料扩增结果(除 30 外)

Fig. 1 The results of PCR using functional marker of *Pi54* for 64 materials (Except 30)

2.2 水稻穗颈瘟的抗性鉴定

水稻穗颈瘟的抗性鉴定采用人工注射接种和病菌自然发病同时鉴定(如有发病等级不一致以发病重作为发病等级)。64 份试验材料穗颈瘟达到 4 级

的有 11 份,表现为高感;3 级的有 43 份,为感病;2 级的有 10 份,为中抗,0 级免疫和 1 级抗病的材料未发现(表 2)。

表 2 64 份预试材料穗颈瘟抗性鉴定与标记检测

Tab. 2 Identification of resistance for panicle blast and marker detection for 64 test materials

品种 Varieties	<i>Pi-b</i>	<i>Pi-ta</i>	<i>Pikm</i>	<i>Pi54</i>	穗颈瘟 Panicle blast	
					人工 Artificial inoculation	病圃 Disease nursery
迟梗预 1	+	-	-	-	3	3
迟梗预 2	-	+	+	-	2	3
迟梗预 3	+	-	+	-	2	1
迟梗预 4	+	-	-	+	4	4
迟梗预 5	+	+	-	+	2	2
迟梗预 6	+	+	-	-	3	3
迟梗预 7	+	-	+	-	4	4
迟梗预 8	+	-	-	-	4	4
迟梗预 9	+	-	+	+	2	2
迟梗预 10	+	+	-	+	2	2
迟梗预 11	+	-	-	+	4	4
迟梗预 12	+	-	+	-	2	1
迟梗预 13	-	+	-	+-	3	2
迟梗预 14	+	-	-	+-	3	3
迟梗预 15	-	+	-	-	3	3
迟梗预 16	+	-	-	-	2	1
迟梗预 17	+	-	-	-	3	2
迟梗预 18	-	-	+	-	4	4
迟梗预 19	-	+	-	+	2	1
迟梗预 20	+	-	+	+	3	3
迟梗预 21	-	-	-	-	3	3
迟梗预 22	+	-	-	+	4	4
迟梗预 23	-	-	-	+	3	3
迟梗预 24	+	-	-	-	3	3
迟梗预 25	+	-	-	-	3	3
迟梗预 26	+	-	-	-	4	4
迟梗预 27	+	-	+	+	2	2
迟梗预 28	+	-	-	-	3	2
迟梗预 29	-	-	-	-	4	4
迟梗预 30	+	+	-	-	3	3
迟梗预 31	+	-	-	-	3	4
迟梗预 32	+	+	-	+	3	3
迟梗预 33	+	+	-	-	3	3
迟梗预 34	+	-	-	-	3	3
迟梗预 35	+	-	-	+	3	3
迟梗预 36	+	+	-	-	2	3
迟梗预 37	+	-	-	+	3	3
迟梗预 38	+	-	-	-	4	3
迟梗预 39	+	+	+	+	3	2
迟梗预 40	-	+	+	-	3	2
迟梗预 41	-	+	-	-	3	2
迟梗预 42	+	+	-	+	3	2
迟梗预 43	+	+	-	+	3	3
迟梗预 44	+	-	-	-	2	3
迟梗预 45	+	+	-	+	3	3
迟梗预 46	+	-	-	-	3	3
迟梗预 47	+	-	+	+-	3	3
迟梗预 48	+	-	-	-	3	3
迟梗预 49	+	-	+	-	3	2
迟梗预 50	+	+	-	-	3	3
迟梗预 51	+	+	+	-	2	3
迟梗预 52	+	-	-	+	3	3
迟梗预 53	+	-	+	-	3	3
迟梗预 54	+	+	-	+	3	3
迟梗预 55	+	+	-	-	2	2
迟梗预 56	+	+	-	-	2	3
迟梗预 57	-	-	+	-	3	2
迟梗预 58	-	+	+	-	3	2
迟梗预 59	+	-	+	+	2	2
迟梗预 60	-	+	+	-	3	3
迟梗预 61	+	+	-	+	2	3
迟梗预 62	-	+	-	-	3	3
迟梗预 63	-	-	+	+	4	4
迟梗预 64	+	-	-	-	3	3

2.3 水稻稻瘟病抗性与抗病基因的相关性分析

利用抗稻瘟病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 的功能标记检测试验材料,只检测到抗病基因 *Pi-b* 的有 16 份材料,1 份表现为 2 级中抗,11 份为 3 级感病,4 份为 4 级高感;只检测到抗病基因 *Pi-ta* 的 4 份材料全部表现为 3 级感病;只检测到抗病基因 *Pi54* 的有 1 份材料,表现为 3 级感病;只检测到抗病基因 *Pikm* 的材料有 2 份,1 份表现为 3 级感病,1 份为 4 级高感;在基因组合中,含有 2 个抗病基因 *Pi-b* 和 *Pi54* 的材料有 7 份,4 份表现为 3 级感病,3 份表现为 4 级高感;*Pi-b* 和 *Pikm* 的材料有 5 份,2 份表现为 2 级中抗,2 份表现为 3 级感病,1 份表现

为 4 级高感;*Pikm* 和 *Pi54* 的材料有 1 份,表现为 4 级高感。含有抗病基因 *Pi-ta* 和 *Pi-b*、*Pi-ta* 和 *Pi54*、*Pi-ta* 和 *Pikm* 的材料总共 12 份,都表现 2 级中抗或 3 级感病,无 4 级高感。含有上述 4 个抗病基因中的 3 个或 4 个时其抗性水平也都表现为 2 级中抗或 3 级感病,无 4 级高感。在 64 份材料中,有 11 份表现为 4 级高感,这 11 份材料通过标记检测均无抗病基因 *Pi-ta*,另外有 2 份材料均不含有上述 4 个抗病基因,但抗性水平 1 份表现为 3 级感病,1 份表现为 4 级高感(表 3),相关性分析表明,只有抗稻瘟病基因 *Pi-ta* 与穗颈瘟抗性存在显著的相关性($r = 0.344, P < 0.01$)。

总之,只要含有抗稻瘟病基因 *Pi-ta* (26 份新品系) 或 *Pi-b*、*Pikm* 和 *Pi54* 这 3 个基因组合(4 份新品系)其稻瘟病抗性水平表现为 2 级中抗或 3 级感病,

无 4 级高感,而其他抗病基因组合一般都存在 4 级高感。

表 3 供试材料抗病基因的分布及与抗性反应的相关性

Tab.3 Correlation between the genes and disease reactions of plant materials in present study

抗病基因 Genes contained	材料总数 No. of plant materials	抗病等级 0 Grade 0	抗病等级 1 Grade 1	抗病等级 2 Grade 2	抗病等级 3 Grade 3	抗病等级 4 Grade 4
no	2	0	0	0	1	1
<i>Pi-b</i>	16	0	0	1	11	4
<i>Pi-ta</i>	4	0	0	0	4	0
<i>Pi54</i>	1	0	0	0	1	0
<i>Pikm</i>	2	0	0	0	1	1
<i>Pi-b + Pi-ta</i>	7	0	0	1	6	0
<i>Pi-b + Pi54</i>	7	0	0	0	4	3
<i>Pi-b + Pikm</i>	5	0	0	2	2	1
<i>Pi-ta + Pi54</i>	1	0	0	1	0	0
<i>Pi-ta + Pikm</i>	4	0	0	0	4	0
<i>Pi54 + Pikm</i>	1	0	0	0	0	1
<i>Pi-b + Pi-ta + Pi54</i>	8	0	0	2	6	0
<i>Pi-b + Pi-ta + Pikm</i>	1	0	0	0	1	0
<i>Pi-ta + Pi54 + Pikm</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pi-b + Pi54 + Pikm</i>	4	0	0	3	1	0
<i>Pi-b + Pi-ta + Pi54 + Pikm</i>	1	0	0	0	1	0

3 讨论

传统的水稻抗病育种一般通过杂交、回交或复交等方法,这种育种方法既耗时耗力,也往往达不到预期目的。分子标记辅助选择是结合生物技术的一种新型育种方法,是利用与目的基因紧密连锁或者基因本身的分子标记选择基因型,不受水稻生育期和环境的影响,但一般是连锁标记,有时达不到选择效果。在分子标记辅助选择的基础上,Andersen 等^[13]提出基因功能标记(Functional marker, FM)的概念,功能标记来源于控制表型的基因序列内部,根据基因的表型功能,挖掘该序列中的多态性信息及对应序列的表型效应,从而开发出能够区分和预测等位基因及相对性状的 DNA 标记,因此,可以用功能标记直接检测自己想要的目的基因,可以预测该基因控制的目的性状,在作物遗传育种和功能基因组学研究中具有更加广阔的应用前景。

水稻抗病育种一直是育种家的重点内容之一,特别是稻瘟病的抗病育种。水稻稻瘟病基因的定位与克隆也一直是研究的热门。随着一大批水稻稻瘟病基因的定位与克隆,开发了一批稻瘟病基因功能标记。本研究根据对江苏已审定品种的抗病基因检测,并根据检测结果合成或开发 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 功能标记,利用这 4 个功能标记检测 2012 年江

苏省迟熟中梗预备试验 64 份材料,含有稻瘟病基因 *Pi-b* 的材料有 49 份,含 *Pi-ta* 的 26 份,含 *Pikm* 的 19 份,含 *Pi54* 的 25 份,表明这 4 个稻瘟病基因广泛存在于江苏省水稻品种中,也可能是江苏省未来几年主要的稻瘟病抗病基因。

水稻稻瘟病的抗病性鉴定显示有 11 份材料稻瘟病达到 4 级,为高感。这 11 份材料都未检测到 *Pi-ta* 基因,而含有 *Pi-ta* 基因的 26 份材料,其稻瘟病的抗病鉴定都未达到 4 级高感水平,表明抗病基因 *Pi-ta* 对江苏稻瘟病生理小种有很强的抗性。水稻品种中含有不同稻瘟病基因 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 组合,其抗病水平存在差异。在除 *Pi-ta* 抗病基因外其他 3 个抗病基因两两组合中,抗性水平都存在 4 级高感,其中含 *Pi-b* 和 *Pikm* 抗病基因的材料有 5 份,1 份达到 4 级;*Pi-b* 和 *Pi54* 的材料有 7 份,3 份达到 4 级;*Pikm* 和 *Pi54* 的材料有 1 份,抗性水平为 4 级,从这些结果中可以预测这 4 个抗病基因对江苏稻瘟病生理小种抗性水平 *Pi-ta* 最强,其次 *Pi-b*,再次 *Pikm*,最后为 *Pi54*。只含有稻瘟病基因 *Pi-b*、*Pikm* 和 *Pi54* 其中 2 个抗病基因,稻瘟病抗性水平都存在 4 级高感,但 3 个抗病基因都存在时,其抗性水平明显得到提高,在 64 份预试材料中有 4 份只含有稻瘟病基因 *Pi-b*、*Pikm* 和 *Pi54* 组合,其抗性水平 3 份为 2 级,1 份 3 级,无 4 级高感水平,表明抗

病基因的聚合可加强对生理小种的抗性,从而进一步验证了基因聚合提高抗性水平。

只有抗病基因 *Pi-b* 的 16 份材料,其中有 11 份抗性水平表现为 3 级,感病;只有抗病基因 *Pi54* 的有 1 份材料,抗性水平表现为 3 级,感病;只有抗病基因 *Pikm* 的 2 份材料,有 1 份抗性水平表现为 3 级,感病,这 13 份材料对稻瘟病的抗性水平均未达到 4 级高感,另外迟粳预 21 和迟粳预 29 不含有这 4 个抗病基因中的任何一个,但稻瘟病的抗性水平分别为 3 级感病和 4 级高感,表明在江苏省品种中还存在其他抗稻瘟病基因,这些抗病基因虽然分布不广泛,但抗性水平较高,可能是江苏目前引进的外源抗病基因,需要进一步的挖掘并加以利用。

参考文献:

- [1] Ziegler R S, Leong S, Teng P S. Rice blast disease [M]. Wallingford: CAB International, 1994: 267 – 292.
- [2] Baker B, Zambryski P, Staskawicz B J, *et al.* Signaling in plant-microbe interactions [J]. *Sciences*, 1997, 276: 726 – 733.
- [3] Wang Z X, Yano M, Yamanouchi U, *et al.* The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat repeat class of plant disease resistance genes [J]. *Plant J*, 1999, 19(1): 55 – 64.
- [4] Fjellstrom R, Conaway-Bormans C A, Mcclung A 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 Science*, 2004, 44(5): 1790 – 1798.
- [5] 刘 洋, 徐培洲, 张红宇, 等. 水稻抗稻瘟病 *Pi-b* 基因的分子标记辅助选择与应用 [J]. *中国农业科学*, 2008, 41(1): 9 – 14.
- [6] Bryan G T, Wu K S, 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(11): 2033 – 2046.
- [7] Jia Y L, Wang Z H, Singh P. Development of dominant rice blast *Pi-ta* resistance gene markers [J]. *Crop Science*, 2002, 42(6): 2145 – 2149.
- [8] 王忠华, 贾育林, 吴殿星, 等. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi-ta* 的分子标记辅助选择 [J]. *作物学报*, 2004, 30(12): 1259 – 1265.
- [9] Li L Y, Wang L, Jing J X, *et al.* The *Pikm* gene, conferring stable resistance to isolates of *Magnaporthe oryzae*, was finely mapped in a crossover-cold region on rice chromosome 11 [J]. *Mol Breeding*, 2007, 20(2): 179 – 188.
- [10] Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, *et al.* Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer *Pikm*-Specific rice blast resistance [J]. *Genetics*, 2008, 180(4): 2267 – 2276.
- [11] Sharma T R, Madhav M S, Singh B K, *et al.* High-resolution mapping cloning and molecular characterization of the *Pi-k(h)* gene of rice, which confers resistance to *Magnaporthe grisea* [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2005, 274(6): 569 – 578.
- [12] Xu X, Hayashi N, Wang C T, *et al.* Efficient authentic fine mapping of the rice blast resistance gene *Pik-h* in the *Pik* cluster, using new *Pik-h*-differentiating isolates [J]. *Molecular Breeding*, 2008, 22(2): 289 – 299.
- [13] Andersen J R, Lübberstedt T. Functional markers in plants [J]. *Trends in Plant Science*, 2003, 8(11): 554 – 560.
- [14] Wang Z, Jia Y, Rutger J N, *et al.* Rapid survey for presence of a blast resistance gene *Pita* in rice euhivars using the dominant DNA markers derived from portions of the *Pita* gene [J]. *Plant Breeding*, 2007, 126: 36 – 42.
- [15] Ramkumar G, Srinivasarao K, Mohan M K, *et al.* Development and validation of functional marker targeting an InDel in the major rice blast disease resistance gene *Pi54(Pikh)* [J]. *Mol Breeding*, 2011(27): 129 – 135.