

陈 涛, 张亚东, 朱 镇, 等. *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因在江苏省粳稻中的分布以及与穗颈瘟抗性的关系[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(1): 1-8.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.01.001

## *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因在江苏省粳稻中的分布以及与穗颈瘟抗性的关系

陈 涛, 张亚东, 朱 镇, 赵春芳, 赵庆勇, 赵 凌, 周丽慧, 姚 姝, 王才林  
(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/国家水稻改良中心南京分中心, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 利用稻瘟病抗性基因 *Pi-b*、*Pi-ta* 等位基因的显性标记对 48 份江苏省粳稻品种和 618 份粳稻新品系进行检测, 并结合 6 个代表性稻瘟病生理小种的穗颈瘟抗性鉴定反应, 分析抗性基因在江苏省粳稻中的分布及其与穗颈瘟抗性的关系。结果显示: 抗性基因 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 在江苏省粳稻品种和品系中存在广泛分布, 其中抗性基因 *Pi-b* 的频率明显高于 *Pi-ta*。不同生育类型的品种中, 抗性基因 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 在中熟中梗中的分布最少, 且 *pi-b/pi-ta* 基因组合品种所占比例最高。从基因组合与抗性的关系来看, 含单个抗性基因的新品系无论是感病率还是病情指数都明显低于不含 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因的品系, 且 *Pi-ta* 基因的抗性效果要好于 *Pi-b* 基因, 而同时含有两个抗性基因的新品系其抗性水平又优于只含单个抗性基因的粳稻品系。因此, 在育种中选择两个抗性基因互补的粳稻作亲本, 在后代群体中进行基因聚合, 是提高江苏省粳稻穗颈瘟抗性最快速、有效的方法。

**关键词:** 粳稻; 穗颈瘟抗性; *Pi-b* 基因; *Pi-ta* 基因

中图分类号: S511.2<sup>+</sup>2.032

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2016)01-0001-08

## Distribution of *Pi-b* and *Pi-ta* genes in japonica rice of Jiangsu province and their relationship with neck blast resistance

CHEN Tao, ZHANG Ya-dong, ZHU Zhen, ZHAO Chun-fang, ZHAO Qing-yong, ZHAO Ling, ZHOU Li-hui, YAO Shu, WANG Cai-lin

(Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu High Quality Rice R&D Center/Nanjing Branch of China National Center for Rice Improvement, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** To figure out the distribution of *Pi-b* and *Pi-ta* genes in japonica rice of Jiangsu province and their relationship with neck blast resistance, 48 japonica varieties and 618 japonica lines were detected using dominant markers of *Pi-b* and *Pi-ta* alleles, together with the evaluation of resistance for rice neck blast inoculated with 6 physiological races.

The results showed that the *Pi-b* and *Pi-ta* genes were widespread in the japonica rice varieties and lines, and the frequency of *Pi-b* was higher than that of *Pi-ta*. The middle maturity medium japonica varieties presented the least number of *Pi-b* and *Pi-ta* genes. The *pi-b/pi-ta* gene combination accounted for the largest percentage in all varieties. The relationship between gene distribution and resistance revealed that the susceptible rate and disease index of new lines with either *Pi-b* or *Pi-ta* were lower than those without *Pi-b* and *Pi-ta* genes, and *Pi-ta* gene showed

收稿日期: 2015-06-03

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[ CX(12)1003 ]; 江苏省科技支撑计划项目( BE2013301 ); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目( CARS-01-47 ); 国家自然科学基金基金项目( 31200144 )

作者简介: 陈 涛( 1980- ), 男, 四川阆中人, 硕士, 副研究员, 主要从事水稻分子遗传学研究。( E-mail ) chentao19801014@126.com

通讯作者: 王才林, ( Tel ) 13915941336; ( E-mail ) clwang@jaas.ac.cn

stronger effect than *Pi-ta*. Meanwhile, the resistance performance of lines carrying both genes was better than the lines with either gene. Therefore, selecting complementary varieties with the two resistance genes as parents to realize gene pyramiding is the most rapid and effective way to improve neck blast resistance of *japonica* rice.

**Key words:** *japonica* rice; neck blast resistance; *Pi-b* gene; *Pi-ta* gene

稻瘟病是由子囊菌 [*Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr., 无性世代为 *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.] 引起的一种严重危害水稻生产的真菌病害<sup>[1-2]</sup>。据统计,全球每年由稻瘟病造成的产量损失占粮食总产的 10%~20%,中国稻瘟病年发生面积  $4\times 10^6\sim 8\times 10^6\text{ hm}^2$ ,稻谷损失量近  $1.0\times 10^9\text{ kg}$ <sup>[2-3]</sup>。江苏省是中国水稻生产的重要省份,常年种植面积  $2.2\times 10^6\text{ hm}^2$  以上,其中粳稻种植面积超过 85%,而稻瘟病特别是穗颈瘟一直以来都是该地区粳稻高产、稳产的重要限制因素<sup>[5-6]</sup>。

实践证实,培育、推广抗病品种是防治稻瘟病流行最经济和有效的手段<sup>[7-8]</sup>。由于稻瘟病菌具有高度的遗传多样性和变异性,不同稻区生理小种非常复杂,这给抗病品种育种带来了严峻的挑战,因此发掘、鉴定新的抗性基因资源始终都是稻瘟病抗性育种的基础性工作<sup>[9]</sup>。迄今为止,已鉴定出 90 多个稻瘟病抗性基因和多个 QTL 位点,它们广泛分布在除第 3 染色体外的所有水稻染色体上,其中 *Pi-b* 和 *Pi-ta*、*Pi2*、*Pi36*、*Pi37* 等 20 多个基因已被克隆<sup>[10-11]</sup>。

长期以来,稻瘟病研究主要集中在苗瘟和叶瘟方面,对苗瘟、叶瘟与穗颈瘟的相互关系还缺乏足够的认识。由于不同研究者采用的水稻品种、病原菌小种等存在差别,因此稻瘟病不同发病时期是否存在相关性目前还并不十分清楚<sup>[12]</sup>。在这种情况下,穗颈瘟抗性育种势必存在较大的盲目性和偶然性。已有研究表明,稻瘟病抗性基因 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 在不同稻区的水稻品种中存在广泛分布<sup>[13-14]</sup>。如果它们可以在抗穗颈瘟育种中加以利用,将大幅度提高抗性品种的选择效率。

本研究利用分子标记对 48 份江苏省粳稻品种、618 份粳稻稳定品系进行 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因型的检测,并结合本地区 6 个代表性稻瘟菌生理小种的穗颈瘟抗性鉴定结果,分析并明确抗性基因与穗颈瘟抗性之间的相互关系,为通过分子标记辅助选择培育穗颈瘟抗病粳稻品种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料包括 48 份江苏省主要推广的粳稻品种,其中中熟中粳 15 份、迟熟中粳 15 份、早熟晚粳 13 份、中熟晚粳 5 份,还包括本课题组选育的 618 份粳稻稳定新品系( $F_{6,8}$ 世代),它们亲本来源广泛,具有很好的代表性。由于品系数量较多,试验分 2 年进行,其中 2011 年种植 282 份,2012 年种植 336 份。所有材料种植在江苏省农业科学院粮食作物研究所试验田。5 月 10 日播种,6 月 10 日移栽,每个品种(品系)种植 8 行,每行 40 株,株行距  $13.3\text{ cm}\times 26.7\text{ cm}$ ,按常规栽培方式进行管理。

供试稻瘟病菌菌株为江苏省农业科学院植物保护研究所从江苏省南京市、徐州市、盐城市、苏州市等不同生态区分离鉴定出的具有代表性的生理小种菌株,编号分别为 ZB<sub>29</sub>、ZC<sub>15</sub>、ZD<sub>1</sub>、ZE<sub>3</sub>、ZF<sub>1</sub> 和 ZG<sub>1</sub>。

### 1.2 菌种培养和穗颈瘟抗性鉴定

将单孢培养的新鲜菌块置于玉米粉稻汁培养基(稻秆 50 g,玉米粉 40 g,琼脂 20 g,补水至 1 000 ml)上,在 25℃ 恒温培养箱中培养 7~10 d,然后移到黑光灯下连续照光 3 d,待稻瘟病菌产生大量孢子后,用少量无菌水冲洗,并以灭菌纱布滤掉菌丝,配成孢子浓度约为  $1\text{ ml } 5\times 10^4$  个的悬浮液。

穗颈瘟抗性鉴定参照江苏省水稻品种(系)抗稻瘟病鉴定方法与抗性评价技术规程(DB32/T 1123-2007)执行,即在水稻孕穗破口前 7 d,用注射器分别吸取稻瘟病不同生理小种的菌株悬浮液 1 ml,从侧面注入穗苞。接种选择在当天下午 3:00 后,以避免菌液的蒸发,影响接种效果。每个品系同一菌株分别接种 5 个稻穗,并做好标记。接种后 60 d,按品系分小种收获人工接种的稻穗。抗性记载标准如下:0 级,无病,免疫;1 级,1/4 以下枝梗发病或穗颈有斑点,抗病;2 级,1/4 以上枝梗发病或主轴中部发病,或颈部有病,但对产量影响不大,中抗;3 级,主轴中部或颈部发病,对产量有

显著影响,感病;4级,穗颈发病造成白穗,高感。统计分析时,将0~2级定为抗病(R),3~4级定为感病(S)。计算感病率和病情指数,感病率=(3~4级品系数/总品系数)×100%,病情指数=Σ(各级品系数×各级代表值)/(总品系数×最高级代表值)。

表1 用于抗病等位基因 *Pi-b*、*Pi-ta* 和感病等位基因 *pi-b* 和 *pi-ta* 检测的引物

Table 1 The primers for detection of *Pi-ta* and *Pi-b* alleles

基因	引物名称	引物序列(5'→3')	片段长度(bp)	参考文献
<i>Pi-b</i>	<i>Pi-b</i> domF	GAACAATGCCCAAACCTTGAG	365	[16]
	<i>Pi-b</i> domR	GGGTCCACATGTCAGTGAGC		
<i>pi-b</i>	Lys145F	TCGGTGCCTCGGTAGTCACT	803	[17]
	Lys145R	GGGAAGCGGATCCTAGGTCT		
<i>Pi-ta</i>	YL155	AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	1 042	[18]
	YL87	CTACCAACAAGTTCATCAAA		
<i>pi-ta</i>	YL183	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	1 042	[19]
	YL87	CTACCAACAAGTTCATCAAA		

#### 1.4 PCR 扩增和琼脂糖凝胶电泳

PCR 反应总体积为 20.0 μl, 含 2.0 μl 10× Buffer(25.0 mmol/L)、0.4 μl dNTP(2.5 mmol/L)、正向和反向引物(4 pmol/μl)各 1.0 μl、模板 DNA(约 20 ng/μl)2.0 μl、*Taq* DNA 聚合酶(2 U/μl)0.4 μl、dd H<sub>2</sub>O 13.2 μl。PCR 扩增反应程序:95℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,58℃复性 30 s,72℃延伸 1 min 30 s,循环 35 次后,72℃延伸 10 min。反应产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳 20 min, DuRed 核酸染料染色,在凝胶成像系统下观察记载。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因和基因组合在江苏省推广水稻品种中的分布

利用检测稻瘟病抗性基因 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 及其感病等位基因 *pi-b* 和 *pi-ta* 的 4 对特异引物对 48 份江苏粳稻品种的 DNA 进行扩增。其中,引物 *Pi-b*domF/*Pi-b*domR 和 Lys145F/Lys145R 分别在含有 *Pi-b* 抗病等位基因品种徐稻 5 号、武运粳 21 号、盐粳 11 号等以及 *pi-b* 感病等位基因品种镇稻 88、徐稻 3 号、盐稻 8 号等中扩增出 365 bp 和 803 bp 的条带(表 2、图 1);而引物 YL155/YL87 和 YL183/YL87

### 1.3 DNA 提取和引物合成

水稻分蘖盛期选典型单株剪取各品种(品系)的新鲜叶片,采用 CTAB 法提取 DNA<sup>[15]</sup>。用于抗病等位基因 *pi-b* 和 *pi-ta* 和感病等位基因 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因型检测的引物名称、序列和扩增片段长度见表 1。引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。

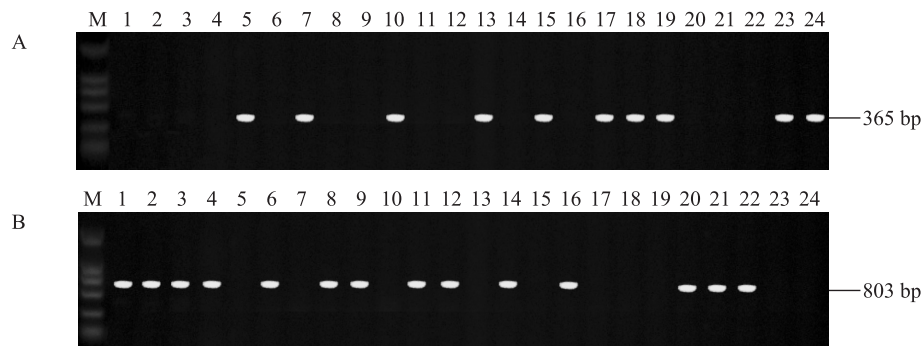
则只能分别在含有 *Pi-ta* 抗病等位基因品种南粳 49、扬粳 805、武运粳 7 号等以及 *pi-ta* 感病等位基因品种华粳 7 号、武运粳 24 号、镇稻 14 号等中扩增出 1 024 bp 相同大小的条带(表 2、图 2)。

从抗性基因的分布来看,48 份材料中检测到含 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 的品种数分别为 31 个和 22 个,所占比例分别为 64.6%和 45.8%,其中抗性基因 *Pi-b* 的频率明显高于 *Pi-ta*。在此基础上,按生育类型进行划分,可以发现抗性基因 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 在中熟中粳中所占比例分别仅为 33.3%和 20.0%,远低于它们在迟熟中粳、早熟晚粳和中熟晚粳中的分布(表 3)。

从基因型组合的分布来看,*Pi-b*/*Pi-ta* 出现的频率最高为 33.3%,其次为 *Pi-b*/*pi-ta*、*pi-b*/*pi-ta*,频率最低的组合为 *pi-b*/*Pi-ta*,仅为 12.5%。不同生育类型品种中,早熟晚粳和迟熟中粳同时含有 2 个抗性基因的比例较高,分别为 53.8%和 40.0%,其次为中熟晚粳,而中熟中粳中含 *Pi-b*/*Pi-ta* 的比例最低,仅为 13.3%。只含单个抗性基因的生育类型中,中熟晚粳的比例为 80.0%,其次为迟熟中粳和早熟晚粳,分别为 46.6%和 46.2%,而中熟中粳的比例最低,仅为 26.7%。而不含 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 的基因型组合中,中熟中粳所占比例为 60.0%,远高于其他 3 种生育类型(表 3)。

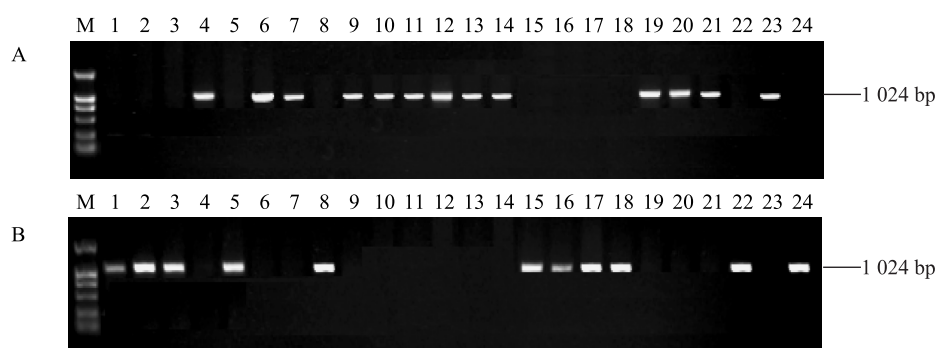
表 2 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因在 48 份江苏省粳稻品种中的分布Table 2 The distribution of resistance genes *Pi-b* and *Pi-ta* in 48 japonica rice varieties in Jiangsu province

生育期类型	品种名称	<i>Pi-b</i> 抗性基因	<i>Pi-ta</i> 抗性基因	生育期类型	品种名称	<i>Pi-b</i> 抗性基因	<i>Pi-ta</i> 抗性基因
中熟中梗	镇稻 88	-	-	迟熟中梗	华梗 7 号	+	-
	徐稻 3 号	-	-		武运梗 24 号	+	-
	盐稻 8 号	-	-		镇稻 14 号	+	-
	徐稻 4 号	-	-		南梗 49	+	+
	徐稻 5 号	+	-	早熟晚梗	南梗 9108	+	-
	华梗 6 号	-	+		扬梗 805	+	+
	武运梗 21 号	+	+		武运梗 7 号	+	+
	连梗 4 号	-	-		武梗 13	+	-
	淮稻 11 号	-	-		武香梗 14 号	+	+
	盐梗 11 号	+	-		武梗 15 号	+	+
	连梗 6 号	-	-		常农梗 4 号	+	+
	连梗 7 号	-	-		南梗 44	+	+
	苏香梗 3 号	+	-		武运梗 19 号	+	+
	盐稻 11 号	-	-		常农梗 5 号	+	+
	武运梗 27 号	+	+		武运梗 23 号	+	-
迟熟中梗	武育梗 3 号	-	+		镇稻 11 号	+	-
	武运梗 8 号	+	+		南梗 5055	+	-
	华梗 3 号	+	+		镇稻 15 号	+	-
	盐稻 9 号	+	+		扬梗 806	-	+
	淮稻 9 号	-	-	中熟晚梗	常农梗 3 号	-	+
	扬辐梗 8 号	-	-		宁梗 1 号	-	+
	淮稻 10 号	-	+		南梗 46	+	-
	南梗 45	+	+		武育梗 20 号	+	+
	淮稻 13 号	+	-		南梗 50	+	-

+代表含有 *Pi-b* 或 *Pi-ta* 抗性基因, -代表不含 *Pi-b* 或 *Pi-ta* 抗性基因。

A: *Pi-b* 抗病位点 PCR 扩增结果; B: *pi-b* 感病位点 PCR 扩增结果。M: DNA 分子量标准 (100~2 000 bp); 1: 镇稻 88; 2: 徐稻 3 号; 3: 盐稻 8 号; 4: 徐稻 4 号; 5: 徐稻 5 号; 6: 华梗 6 号; 7: 武运梗 21 号; 8: 连梗 4 号; 9: 淮稻 11 号; 10: 盐梗 11 号; 11: 连梗 6 号; 12: 连梗 7 号; 13: 苏香梗 3 号; 14: 盐稻 11 号; 15: 武运梗 27 号; 16: 武育梗 3 号; 17: 武运梗 8 号; 18: 华梗 3 号; 19: 盐稻 9 号; 20: 淮稻 9 号; 21: 扬辐梗 8 号; 22: 淮稻 10 号; 23: 南梗 45; 24: 淮稻 13 号。

图 1 部分供试粳稻品种 *Pi-b* 和 *pi-b* 抗、感等位基因的分子检测Fig.1 Molecular detection of *Pi-b* and *pi-b* alleles in some of tested japonica rice varieties



A: *Pi-ta* 抗病位点 PCR 扩增结果; B: *pi-ta* 感病位点 PCR 扩增结果。M: DNA 分子量标准 (100~2 000 bp); 1: 华粳 7 号; 2: 武运粳 24 号; 3: 镇稻 14 号; 4: 南粳 49; 5: 南粳 9108; 6: 扬粳 805; 7: 武运粳 7 号; 8: 武粳 13; 9: 武香粳 14 号; 10: 武粳 15 号; 11: 常农粳 4 号; 12: 南粳 44; 13: 武运粳 19 号; 14: 常农粳 5 号; 15: 武运粳 23 号; 16: 镇稻 11 号; 17: 南粳 5055; 18: 镇稻 15 号; 19: 扬粳 806; 20: 常农粳 3 号; 21: 宁粳 1 号; 22: 南粳 46; 23: 武育粳 20 号; 24: 南粳 50。

图 2 部分供试粳稻品种 *Pi-ta* 和 *pi-ta* 抗、感等位基因的分子检测

Fig.2 Molecular detection of *Pi-ta* and *pi-ta* alleles in some of tested japonica rice varieties

表 3 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因及其基因型组合在江苏省粳稻品种中的分布

Table 3 The distribution of *Pi-b*, *Pi-ta* and their combinations in japonica rice varieties in Jiangsu province

生育类型	份数	抗性基因				基因组合							
		<i>Pi-b</i>		<i>Pi-ta</i>		<i>Pi-b/Pi-ta</i>		<i>Pi-b/pi-ta</i>		<i>pi-b/Pi-ta</i>		<i>pi-b/pi-ta</i>	
		品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)
中熟中粳	15	5	33.3	3	20.0	2	13.3	3	20.0	1	6.7	9	60.0
迟熟中粳	15	11	73.3	8	53.3	6	40.0	5	33.3	2	13.3	2	13.3
早熟晚粳	13	12	92.3	8	61.5	7	53.8	5	38.5	1	7.7	0	0
中熟晚粳	5	3	60.0	3	60.0	1	20.0	2	40.0	2	40.0	0	0
合计	48	31	64.6	22	45.8	16	33.3	15	31.3	6	12.5	11	22.9

## 2.2 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因和基因组合在粳稻新品系中的分布

从粳稻新品系抗性基因及其基因组合 2 年的检测结果可以看出, 618 份材料中含抗性基因 *Pi-b* 的品系数所占比例为 92.1%, 含抗性基因 *Pi-ta* 的品系数所占比例为 34.6%, 抗性基因 *Pi-b* 的频率明显高于 *Pi-ta* 的频率。其中, 2012 年 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因的

频率均略高于 2011 年, 但两年的总趋势基本相同。按不同基因组合进行分析, 含单个抗性基因 *Pi-b* 的品系数最多, 为 59.7%, 同时含 2 个抗性基因的品系数次之, 为 32.4%; 而基因组合 *pi-ta/pi-b* 和 *Pi-ta/pi-b* 的品系数相对较少, 分别占 5.7% 和 2.3%。除 *pi-b/pi-ta* 基因组合在 2011 和 2012 年间变化较大外, 其他 3 种基因组合的变幅并不明显 (表 4)。

表 4 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因及其基因型组合在粳稻新品系中的分布

Table 4 The distribution of *Pi-b*, *Pi-ta* and their genotypic combinations in new japonica rice lines

年份	份数	抗性基因				基因组合							
		<i>Pi-b</i>		<i>Pi-ta</i>		<i>Pi-b/Pi-ta</i>		<i>Pi-b/pi-ta</i>		<i>pi-b/Pi-ta</i>		<i>pi-b/pi-ta</i>	
		品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)	品种数量	比例 (%)
2011	282	250	88.7	95	33.7	88	31.2	162	57.4	7	2.5	25	8.9
2012	336	319	94.9	119	35.4	112	33.3	207	61.6	7	2.1	10	3.0
合计	618	570	92.1	214	34.6	200	32.4	369	59.7	14	2.3	35	5.7



### 2.3 粳稻新品系 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 不同基因组合与 6 个稻瘟病生理小种的抗性关系

2011 和 2012 年,利用具有代表性的 6 个稻瘟病生理小种分别对 282 份和 336 份粳稻新品系进行穗颈瘟的人工接种鉴定。结果表明:基因组合为 *Pi-b/Pi-ta* 的粳稻品系,两年穗颈瘟感病率分别为 1.1%~21.6% 和 2.7%~26.8%,病情指数分别为 15.3~44.0 和 14.0~34.6;基因组合为 *Pi-b/pi-ta* 的粳稻品系,两年穗颈瘟感病率分别为 8.6%~65.4% 和 22.7%~62.3%,病情指数分别为 32.3~74.7 和 44.6~69.0;基因组合为 *pi-b/Pi-ta* 的粳稻品系,两年穗颈瘟感病率均为 14.3%~28.6%,病情指数分别为 14.3~42.9 和 25.0~35.7;而基因组合为 *pi-b/pi-ta* 的粳稻品系,两年穗颈瘟感病率分别为 32.0%~88.0% 和 50.0%~80.0%,病情指数分别为 48.0~82.0 和 52.5~80.0。合并分析

两年的数据,*Pi-b/Pi-ta*、*Pi-b/pi-ta*、*pi-b/Pi-ta* 和 *pi-b/pi-ta* 4 种基因组合粳稻品系的穗颈瘟感病率分别为 3.0%~23.0%、25.2%~47.2%、14.3%~28.6% 和 37.1%~74.3%,病情指数分别为 16.3~37.0、25.2~47.2、18.3~35.0 和 49.3~74.3 (表 5)。由此可见,两年汇总的鉴定结果与年度间的鉴定结果基本吻合。

综合不同稻瘟病菌生理小种的鉴定结果,发现同时含 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因的粳稻品系穗颈瘟感病率和病情指数都较低,不含 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因的品系穗颈瘟感病率和病情指数都较高,而只含 *Pi-b* 抗性基因的品系穗颈瘟感病率和病情指数均高于只含 *Pi-ta* 抗性基因的新品系。这说明 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因的聚合的确能够有效提高粳稻品系的穗颈瘟抗性,且 *Pi-ta* 基因的抗性效果要明显好于 *Pi-b* 基因。

表 5 接种 6 个稻瘟病菌生理小种后 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 不同基因组合粳稻新品系的穗颈瘟发病反应

Table 5 The disease occurrence of rice neck blast disease for new japonica rice lines with different *Pi-b* and *Pi-ta* combinations inoculated with 6 physiological races

生理小种	年份	<i>Pi-b/Pi-ta</i> 品系			<i>Pi-b/pi-ta</i> 品系			<i>pi-b/Pi-ta</i> 品系			<i>pi-b/pi-ta</i> 品系		
		感病数	感病率 (%)	病情指数	感病数	感病率 (%)	病情指数	感病数	感病率 (%)	病情指数	感病数	感病率 (%)	病情指数
ZB <sub>29</sub>	2011	10	11.4	13.1	33	20.4	37.3	1	14.3	14.3	15	60.0	65.0
	2012	3	2.7	14.3	63	30.4	45.2	1	14.3	25.0	5	50.0	65.0
	合计	13	6.5	13.8	96	26.0	41.7	2	14.3	19.6	20	57.1	65.0
ZC <sub>15</sub>	2011	1	1.1	16.5	14	8.6	32.6	1	14.3	28.6	19	76.0	75.0
	2012	16	14.3	31.0	129	62.3	69.0	1	14.3	32.1	7	70.0	67.5
	合计	17	8.5	24.6	143	38.8	53.0	2	14.3	30.4	26	74.3	72.9
ZD <sub>1</sub>	2011	19	21.6	41.2	106	65.4	74.7	2	28.6	42.9	22	88.0	82.0
	2012	27	24.1	31.0	64	30.9	44.6	2	28.6	32.1	4	40.0	55.0
	合计	46	23.0	35.5	170	46.1	57.8	4	28.6	37.5	26	74.3	74.3
ZE <sub>3</sub>	2011	2	2.3	20.2	48	29.6	46.9	1	14.3	35.7	14	56.0	72.0
	2012	4	3.6	13.8	47	22.7	39.7	1	14.3	28.6	8	80.0	80.0
	合计	6	3.0	16.6	95	25.7	42.9	2	14.3	32.1	22	62.9	74.3
ZF <sub>1</sub>	2011	11	12.5	26.1	75	46.3	56.3	1	14.3	21.4	18	72.0	67.0
	2012	6	5.4	19.9	99	47.8	52.1	2	28.6	35.7	6	60.0	62.5
	合计	17	8.5	22.6	174	47.2	53.9	3	21.4	28.6	24	68.6	65.7
ZG <sub>1</sub>	2011	6	6.8	24.4	23	14.2	32.3	1	14.3	32.1	8	32.0	48.0
	2012	30	26.8	29.5	70	33.8	46.7	2	28.6	32.1	5	50.0	52.5
	合计	36	18.0	27.3	93	25.2	40.4	3	21.4	32.1	13	37.1	49.3

### 3 讨 论

穗颈瘟是江苏省粳稻生产中一种常见的稻瘟病类型。病菌在孕穗期通过侵染感病品种穗颈和枝梗基部,阻断养分运输,形成大量枯枝甚至白穗,从而影响水稻的产量<sup>[20]</sup>。由于穗颈瘟前期病症不明显,难以进行有效化学预防,因此抗病品种的选育显得尤为重要。目前,水稻中已克隆的稻瘟病抗性基因较多,但真正与穗颈瘟抗性有关的基因只有 *Pb1*。该基因存在于巴基斯坦籼稻品种 Modan 中,很难快速用于江苏粳稻的穗颈瘟抗性改良<sup>[21]</sup>。

*Pi-b* 和 *Pi-ta* 是最早克隆的 2 个具有广谱抗性的稻瘟病基因,它们普遍存在于中国现有粳稻栽培品种中<sup>[22-23]</sup>。李进斌等<sup>[24]</sup>利用分子标记对 99 份云南省地方粳稻的稻瘟病抗性基因进行分析,发现含 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因的品种数分别为 18 和 28 个,所占比例分别为 18.2% 和 28.3%;刘华招等<sup>[25]</sup>对黑龙江省 36 份粳稻主栽品种进行 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因的分子检测,结果表明 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因的频率分别为 11.1% 和 16.7%;沈海波等<sup>[26]</sup>通过对吉林省 24 份粳稻主推品种中稻瘟病抗性基因的 PCR 检测,发现 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因的频率分别为 4.2% 和 37.5%。而本研究 48 份江苏省粳稻品种中 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因所占比例分别为 64.6% 和 45.8%。由此可以看出,这些稻瘟病抗性基因在中国不同稻区粳稻中的分布存在着差异,江苏品种中 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 基因出现的频率明显高于其他地区的粳稻品种,这可能与江苏粳稻品种选育过程中长期注重稻瘟病抗性有关<sup>[27]</sup>。

在明确 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因分布的基础上,本研究进一步探讨了它们在穗颈瘟抗病育种中的利用价值。通过对 618 份粳稻新品系 4 种基因型组合与抗性的关系分析,发现含单个抗性基因的新品系无论是感病率还是病情指数都明显低于不含 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因的品系,且 *Pi-ta* 基因的抗性效果要明显好于 *Pi-b* 基因,而同时含有两个抗性基因的新品系其抗性水平又优于只含单个抗性基因的粳稻品系,这与前人接种混合生理小种所得出的结论是基本一致的<sup>[28]</sup>。因此,在品种(系)中有效聚合 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 抗性基因,可以提高江苏省粳稻的穗颈瘟抗性,加快抗病育种进程。同时,本研究还发现不含或同时含有上述 2 个抗性基因的粳稻品系中,也存在一定的抗病或感病率,其原因可能是粳稻品系的亲

本来源不同,遗传背景复杂,除上述基因外,还存在其他主效抗性位点的作用<sup>[29]</sup>。因此,继续深入挖掘和评价粳稻中与穗颈瘟相关的抗性基因,对进一步提高品种穗颈瘟抗性水平具有重要意义。

此外,从本研究结果还可以看出,抗性基因 *Pi-b* 和 *Pi-ta* 在中熟中粳中的频率较低,不含两个抗性基因的品种数所占比例较高,这与育种中采用的骨干亲本多为镇稻 88、武育粳 3 号有关<sup>[30]</sup>。因此,尽可能选择两个抗性基因互补的优良中粳稻材料作亲本进行杂交,通过分子标记对后代植株进行筛选,从而实现基因聚合,这是目前提高江苏省中熟中粳水稻穗颈瘟抗性最快速、有效的方法。

致谢:感谢江苏省农业科学院植物保护研究所刘永峰研究员提供 ZB<sub>29</sub>、ZC<sub>15</sub>、ZD<sub>1</sub>、ZE<sub>3</sub>、ZF<sub>1</sub> 和 ZG<sub>1</sub> 6 个稻瘟病生理小种的菌株。

### 参考文献:

- [1] OU S H. Rice diseases [M]. UK: Commonwealth Mycological Institute, 1985: 109-201.
- [2] 何 重, 陈 涛, 张亚东, 等. 江苏部分粳稻品种和品系中稻瘟病抗性基因 *Pi-ta* 和 *Pi-B* 的基因型分析 [J]. 江苏农业学报, 2014, 30(5): 921-927.
- [3] SATTARI A, FAKHERI B, HASSAN F S C, et al. Blast resistance in rice: a review of breeding and biotechnology [J]. Intl J Agri Crop Sci, 2014, 7 (6): 329-333.
- [4] 吴 俊, 刘雄伦, 戴良英, 等. 水稻广谱抗稻瘟病基因研究进展 [J]. 生命科学, 2007, 19(2): 233-248.
- [5] 卮 军, 陆建飞. 江苏省水稻生产的比较优势分析 [J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2013, 34(1): 44-49.
- [6] 王才林, 张亚东, 朱 镇, 等. 抗病优质高产粳稻新品种选育研究 [J]. 华北农学报, 2011, 26(增刊): 118-123.
- [7] 吴建利, 柴荣耀, 樊叶扬, 等. 抗稻瘟病水稻材料谷梅 2 号中主效抗稻瘟病基因的成簇分布 [J]. 中国水稻科学, 2004, 18(5): 567-569.
- [8] 余 玲, 李爱宏, 潘存红, 等. 分子标记辅助选择培育抗病优质晚粳稻品种扬粳 806 [J]. 江苏农业科学, 2014, 42(8): 75-77.
- [9] 鄂志国, 张丽靖, 焦桂爱, 等. 稻瘟病抗性基因的鉴定及利用进展 [J]. 中国水稻科学, 2008, 22(5): 533-540.
- [10] MIAH G, RAFII M Y, ISMAIL M R, et al. Blast resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approaches [J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(3): 2369-2388.
- [11] 张佩胜, 赵春德, 余 宁, 等. 稻瘟病抗性基因的克隆及应用研究进展 [J]. 中国稻米, 2014, 20(5): 1-7.
- [12] 吴建利, 庄杰云, 李德葆, 等. 水稻对稻瘟病抗性的分子生物学研究进展 [J]. 中国水稻科学, 1999, 13(2): 123-128.

- [13] 时克,雷财林,程治军,等.稻瘟病抗性基因 *Pita* 和 *Pib* 在我国水稻主栽品种中的分布[J].植物遗传资源学报,2009,10(1):21-26.
- [14] 杨杰,杨金欢,王军,等.稻瘟病抗病基因 *Pita* 和 *Pib* 在中国水稻地方品种中的分布[J].华北农学报,2011,26(3):1-6.
- [15] LI W, LEI C, CHENG J, et al. Identification of SSR markers for a broad-spectrum blast resistance gene *Pi20(t)* for marker-assisted breeding[J]. Molecular Breeding, 2008, 22(1): 141-149.
- [16] 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 Science, 2004, 44(5): 1790-1798.
- [17] 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[J].中国农业科学,2008,41(1):9-14.
- [18] 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.
- [19] JIA Y L, WANG Z H, FJELLSTROM R G, et al. Rice *Pi-ta* gene confers resistance to the major pathotypes of the rice blast fungus in the United States[J]. Phytopathology, 2004, 94(3): 296-301.
- [20] 陈利锋,徐敬友.农业植物病理学(南方本)[M].北京:中国农业出版社,2001:100.
- [21] HAYASHI N, INOUE H, KATE 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(3): 498-510.
- [22] 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 class of plant disease resistance genes[J]. The Plant Journal, 1999, 19(1): 55-64.
- [23] 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]. The Plant Cell, 2000, 12(11): 2033-2046.
- [24] 李进斌,王甜,许明辉.云南地方稻种抗稻瘟病基因 *Pi-ta* 和 *Pi-b* 的鉴定[J].中国水稻科学,2012,26(5):593-599.
- [25] 刘华招,刘延,刘化龙,等.黑龙江省种植品种中稻瘟病抗性基因 *Pib* 和 *Pita* 的分布[J].东北农业大学学报,2011,42(4): 27-31.
- [26] 沈海波,付胜,杜文鑫,等.吉林省主推水稻品种抗稻瘟病基因的分子检测[J].安徽农业科学,2013,41(22):9186-9189.
- [27] 王才林,张亚东,朱镇,等.水稻优质抗病高产育种的研究与实践[J].江苏农业科学,2012,28(5):921-927.
- [28] 王军,杨杰,杨金欢,等.*Pi-ta*、*Pi-b* 基因在江苏粳稻穗颈瘟抗性育种中的价值分析[J].华北农学报,2012,27(6): 141-145.
- [29] 王军,杨杰,朱金燕,等.稻瘟病抗病基因 *Pi-k<sup>h</sup>* 功能标记的开发及江苏粳稻品种中 *Pi-k<sup>h</sup>* 的变异[J].中国水稻科学,2014,28(2):141-147.
- [30] 万建民.中国水稻遗传育种与品种系谱[M].北京:中国农业出版社,2010:383,400.

(责任编辑:张震林)