

于雅洁, 曹鹏辉, 宋云生, 等. 江苏太湖地区粳稻稻瘟病抗性基因( *Pi2*、*Pita*、*Pib* ) 的分布及抗病效应[ J ]. 江苏农业学报, 2024, 40( 5 ): 769-776.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.05.001

## 江苏太湖地区粳稻稻瘟病抗性基因( *Pi2*、*Pita*、*Pib* ) 的分布及抗病效应

于雅洁, 曹鹏辉, 宋云生, 陈 飞, 乔中英, 董明辉, 朱勇良, 谢裕林, 袁彩勇  
(江苏太湖地区农业科学研究所, 江苏 苏州 215104)

**摘要:** 为分析稻瘟病抗性基因 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 在江苏太湖地区粳稻稻瘟病抗性育种中的作用, 利用五引物扩增受阻突变体系( PARMS ) 检测技术, 检测水稻稻瘟病抗性基因 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 在江苏太湖地区农业科学研究所筛选培育的 799 份高世代稳定试验材料中的分布情况, 并结合穗颈瘟人工接种鉴定结果分析基因型与抗性的关系。结果表明, 在 799 份供试水稻品种中, 以抗性基因 *Pib* 的分布频率最高, 抗性基因 *Pita* 的分布频率也相对较高, 抗性基因 *Pi2* 分布频率较低, 多数材料携带 2 个抗性基因; 在抗性基因组合中, *Pita*+*Pib* 组合检出率较高, 为 44. 81% ( 358/799 )。田间抗病性鉴定结果表明, 当供试材料中只存在单一抗病基因时, 中抗级别以上材料占比为 33. 60% ( 86/256 ), 当供试材料中存在复合基因型时, 中抗级别以上材料占比为 61. 02% ( 299/490 ), 表明抗性基因共存可以有效增强植株对稻瘟病的抗性。本研究结果为江苏太湖地区粳稻稻瘟病抗性基因聚合育种的选择提供了理论支持。

**关键词:** 稻瘟病; PARMS 技术; 抗性基因; 抗病育种

中图分类号: S511; S435.111.4<sup>+</sup>1

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440( 2024 ) 05-0769-08

## Distribution and resistant effects of blast resistant genes ( *Pi2* , *Pita* , *Pib* ) in japonica rice in Taihu area of Jiangsu province

YU Yajie, CAO Penghui, SONG Yunsheng, CHEN Fei, QIAO Zhongying, DONG Minghui, ZHU Yongliang, XIE Yulin, YUAN Caiyong

( Jiangsu Taihu Area Institute of Agricultural Sciences, Suzhou 215104, China )

**Abstract:** In order to analyze the role of rice blast resistance genes *Pi2* , *Pita* and *Pib* in japonica rice blast resistance breeding in areas of Taihu area of Jiangsu province, penta-primer amplification refractory mutation system ( PARMS ) detecting technology was used to detect the distribution of rice blast resistance genes *Pi2* , *Pita* and *Pib* in 799 high generation stable test materials screened and bred by Jiangsu Taihu Area Institute of Agricultural Sciences, and to analyze the relationship between genotype and resistance in combination with the results of artificial inoculation and identification of seedling blast and neck panicle blast. The results showed that among the 799 test materials, most of them carried two resistance

genes, the distribution frequency of resistance gene *Pib* was the highest, the distribution frequency of resistance gene *Pita* was high, and the distribution frequency of resistance gene *Pi2* was low. In the resistance gene combination, the detection rate of *Pita*+*Pib* combination was relatively high, which was 44. 81% ( 358/799 ). The results of field disease resistance identification showed that when there was only one single disease resistance gene in the test materi-

收稿日期: 2024-01-23

基金项目: 江苏省“333”高层次人才培养项目; 苏州市科技计划项目 ( SNG2022012 ); 江苏太湖地区农业科学研究所院基金项目 ( 21008 )

作者简介: 于雅洁( 1995- ), 女, 山东威海人, 硕士研究生, 研究实习生, 主要从事水稻遗传育种的研究。 ( E-mail ) 781911361@ qq. com

通讯作者: 袁彩勇, ( E-mail ) hysdycy@ 163. com

als, materials with medium resistance or above accounted for 33.60% (86/256). When there were composite genotypes in the test materials, materials with medium resistance or above accounted for 61.02% (299/490), indicating that the coexistence of resistance genes could effectively enhance the resistance to rice blast. The results provide theoretical support for the selection of *japonica* rice blast resistance gene polymerization breeding in the Taihu region of Jiangsu province.

**Key words:** rice blast; penta-primer amplification refractory mutation system (PARMS) technology; resistance genes; disease-resistance breeding

水稻 (*Oryza sativa* L.) 作为全球主要粮食作物之一,对人类社会生存和发展具有不可替代的重要性,全球约有一半的人口将稻米作为主食。在中国,水稻在维护粮食安全与保障农业生产中占据十分重要的地位,其产量在全球范围内也遥遥领先<sup>[1]</sup>。作为第一大粮食作物,2022 年江苏省水稻的种植面积达到了  $2.20 \times 10^6$  hm<sup>2</sup> 以上。然而,水稻在其生长发育过程中面临着诸多挑战,其中最为关键的是各种病原菌的侵染,特别是稻瘟病病菌 (*Magnaporthe oryzae*) 引起的稻瘟病<sup>[2-3]</sup>。稻瘟病,也被称为稻热病,是一种严重的真菌类病害<sup>[4]</sup>,它不仅严重威胁着水稻产量,导致水稻年均产量损失 20%~30%,在疫情严重的年份甚至可达 50% 以上,重病田颗粒无收,被称为水稻的“癌症”<sup>[5]</sup>。同时,稻瘟病的发生还严重影响稻米品质,它通过改变稻米的直链淀粉及蛋白质等的含量使大米食味品质造成一定的降低。

面对稻瘟病的威胁,科学家们一直致力于寻找有效的控制策略。利用抗病基因培育和推广抗病品种是控制稻瘟病最为经济有效和绿色安全的防治手段。抗稻瘟病基因的研究最初是由日本学者于 20 世纪 60 年代中期展开的,日本学者通过研究鉴定出 8 个抗性位点上的 14 个抗病基因<sup>[6]</sup>。在中国,稻瘟病病菌主要分为 8 个亚群和 50 余个生理小种,这些生理小种之间存在显著的遗传差异<sup>[7]</sup>。迄今,已有 100 多个稻瘟病主效抗性基因被鉴定,同时鉴定出 34 个部分抗性基因<sup>[8]</sup>。现阶段,28 个主效抗性基因 (*Pit*、*Pish*、*Pi37*、*Pi64*、*Pib*、*Pid2*、*Pid3*、*Pi25*、*Pi2*、*Pi9*、*Pizt*、*Pi50*、*Pigm*、*Pizh*、*Pi36*、*Pi5*、*Pü*、*Pia*、*Pi-CO39*、*Pi1*、*Pi54*、*Pi54rh*、*Pikm*、*Pikp*、*Pik*、*Pike*、*Pita* 和 *Ptr*) 及 5 个部分抗性基因 (*Pi21*、*Pi35*、*Pi63*、*Pb1* 和 *Pid3-II*) 被成功克隆。其中,*Pib* 基因来源于水稻品种 BL1,该基因位于水稻第 2 号染色体长臂近末端的区域。作为第 1 个通过图位克隆得到的稻瘟病抗性基因,*Pib* 编码 1 个由 1 251 个氨基酸组成的蛋白

质,对日本大多数稻瘟病病菌小种均可以产生抗性<sup>[9-11]</sup>;作为主效抗稻瘟病基因,*Pi-ta* 基因被首次克隆于供体品种 Yashiro-mochi 中<sup>[12]</sup>,该基因位于细胞质膜上<sup>[13]</sup>,水稻第 12 号染色体靠近着丝点的区域,限制性片段长度多态性 (RFLP) 标记 *RG241* 和 *RZ397* 之间,编码 1 个长度为 928 个氨基酸的细胞质膜受体蛋白质<sup>[12]</sup>,与无毒基因产物 AVR-Pita 直接互作<sup>[14]</sup>; *Pi-2* 基因来自哥伦比亚水稻品种 5173,初步定位结果显示,它定位在 6 号染色体分子标记 *RG64* 和 *RZ612* 之间,遗传距离分别是 2.1 cM 和 7.2 cM,精细定位结果显示,它定位在分子标记 *RG64* 和 *AP22* 之间,遗传距离分别为 0.9 cM 和 1.2 cM<sup>[15]</sup>,该基因编码 1 个 NBS-LRR 类蛋白<sup>[16]</sup>,其抗谱广,对中国收集的 792 个稻瘟病病菌小种中的绝大多数都表现出抗性<sup>[17]</sup>。以上抗性基因的发现和克隆对于理解水稻的抗病机理以及育种工作具有重要的意义。

本研究采用的五引物扩增受阻突变体系 (PARMS) 检测技术一般用于单核苷酸多态性聚合酶链式反应 (SNP PCR) 分析,属于第 3 代分子标记<sup>[18]</sup>。与传统分子检测技术相比,PARMS 在进行 SNP 等位基因基因型检测方面具有高准确性和低成本的显著优势,因而在近年来的农学研究中得到了广泛应用<sup>[19-21]</sup>。

本研究拟以稻瘟病抗性基因 *Pi2*、*Pita* 和 *Pib* 为主要研究对象,通过对江苏太湖地区农业科学研究所筛选培育的 799 份高世代材料进行 PARMS 检测,结合田间穗颈瘟自然鉴定、诱发鉴定及抗病性评估,全面评估以上抗性基因在抵御稻瘟病方面的效应,并为江苏太湖地区的水稻抗病品种选育提供科学依据和新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

本研究团队前期引进了优异抗稻瘟病种质资源 128 份,经过初步抗性鉴定结合基因检测,筛选出中

等抗病性的种质资源 35 份,作为主要抗性亲本。随后以这些亲本与优质丰产水稻新种质或中间材料进行配组筛选,形成 799 份高代试验材料。

供试稻瘟病菌菌株为江苏省农业科学院植物保护研究所提供的 5 个代表性菌株,编号为 2021-3、2021-43、2021-71、2021-150 和 2021-497。

## 1.2 供试水稻材料穗颈瘟抗性的鉴定

穗颈瘟田间抗性的鉴定采用病区自然诱发法,鉴定圃设在江苏省常州市金坛试验基地(31°40'16.29" N, 119°21'47.79"E),该地区日照充足、雨量充沛,属北亚热带季风性湿润气候,利于稻瘟病的发生。每个供试品种种植 4 行,每行 5 株,株行距为 20 cm×20 cm。将供试材料与稻瘟病诱发品种苏御糯交错种植以增强病菌的自然侵染力。随后在水稻生长期观察并记录成熟期穗颈瘟发病情况,抗性鉴定标准参照国际水稻研究所的分级标准<sup>[22]</sup>[0 级:无病、高抗(HR);1 级:病穗率≤5.0%、抗稻瘟病(R);3 级:病穗率在 5.1%~10.0%、中抗(MR);5 级:病穗率在 10.1%~25.0%、中感(MS);7 级:病穗率在 25.1%~50.0%、感(S);9 级:病穗率在 50.1%~100.0%、高感(HS)]。在水稻生长的全生育期内不对病害进行防治,生长过程中的虫害防治和肥水管理按照大田常规生产操作。

## 1.3 水稻叶片 DNA 的提取

采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法提取 DNA。具体操作步骤如下:取植株叶片样品剪碎放入 2 ml EP 管中,加入 2 粒钢珠和 100 μl CTAB 溶

液,用植物破碎机高速振荡 5 min 将叶片打碎;向其中加入 400 μl CTAB 溶液,上下翻转几次使其混合均匀,随后将 EP 管放入 65 ℃ 水浴锅中,每 15 min 翻转 1 次,水浴时长 1 h;取出 EP 管,放在离心机中,4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移至新的 EP 管中;向 EP 管中加入 500 μl 三氯甲烷与异戊醇混合液(24:1,体积比)并剧烈振荡,随后置于离心机中,4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移至新的离心管中,重复上述操作;吸取上清液,加入 2 倍体积的异丙醇,-20 ℃ 静置 30 min;4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,吸去上清液。此时遗留下来的沉淀即为目的 DNA,加入 500 μl 乙醇进行吹打,随后放入离心机中 4 ℃、12 000 r/min 离心后烘干,加入灭菌水溶解,并放入 4 ℃ 冰箱内保存备用。

## 1.4 PARMS 引物与 PCR 扩增体系

试验所需引物由武汉景肽生物科技有限公司合成,详细的标记引物序列见表 1。PCR 扩增反应体系为 10.00 μl,其中包括 5.00 μl 2×PARMS master mix(包含 2 条通用荧光引物),0.15 μl 10 μmol/L Allele-T 标记引物,0.15 μl 10 μmol/L Allele-C 标记引物,0.40 μl 10 μmol/L 通用引物,1.00 μl 模板 DNA(10~100 ng),3.30 μl 的 ddH<sub>2</sub>O。PCR 反应程序为:94 ℃ 15 min;94 ℃ 20 s,65 ℃(每循环降低 0.8 ℃) 1 min,共 10 个循环;94 ℃ 20 s,57 ℃ 1 min,共 32 个循环。

表 1 分子标记引物序列及荧光信号间的对应关系

Table 1 Molecular marker primer sequence and corresponding fluorescence signal

在染色体上的位置	基因名称	标记名称	引物名称	引物序列(5'→3')	荧光信号	等位基因型
6-10432612	<i>Pi2</i>	SYS- <i>Pi2</i>	SYS- <i>Pi2</i> -Fg	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTCTGCCATGCAGAATGCAG	FAM	G
			SYS- <i>Pi2</i> -Fl	GAAGGTCGGAGTCAACGATTCTCTGCCATGCAGAATGCAT	HEX	T
			SYS- <i>Pi2</i> -R	CAACCATTGAGCTTCAGCAAG	-	-
2-35115218	<i>Pib</i>	SYS- <i>Pib</i>	SYS- <i>Pib</i> -Fa	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGATTGACATCTGGGTTCTCA	FAM	T
			SYS- <i>Pib</i> -Fg	GAAGGTCGGAGTCAACGATTATTTGACATCTGGGTTCTCG	HEX	C
			SYS- <i>Pib</i> -R	GGGGAACAAGTGATATGG	-	-
12-10609769	<i>Pita</i>	SYS- <i>Pita</i>	SYS- <i>Pita</i> -Fc	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTCTTCTATATCTCTTTAAATATGTTTATAC	FAM	C
			SYS- <i>Pita</i> -Fg	GAAGGTCGGAGTCAACGATTCTCTTCTATATCTCTTTAAATATGTTTATAG	HEX	G
			SYS- <i>Pita</i> -R	AGACTATTTGCTTAGGAGTACGCTGC	-	-

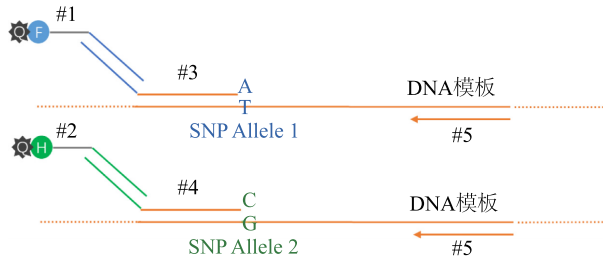
FAM:6-羧基荧光素;HEX:六氯-6-甲基荧光素。

## 1.5 基因分型的鉴定

PCR 完成后,使用 TECAN infinite M1000 酶标仪读取扫描 FAM(6-羧基荧光素)、HEX(六氯-6-甲

基荧光素)和 ROX(6-羟基黄曲霉素 B)信号,PARMS SNP 荧光信号和分型原理如图 1 所示。随后利用在线软件 Snpdecoder(<http://www.snpway.com>)

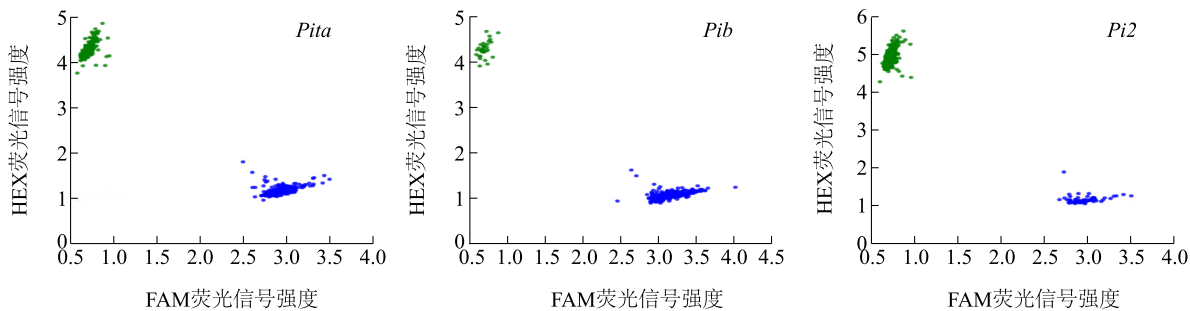
com/snpdecoder/) 解析转换荧光信号, 将荧光信号生成清晰直观的分型图, 并根据不同颜色, 输出基因型结果。



#1: Allele 1 (等位基因 1) 6-羧基荧光素荧光通用引物; #2: Allele 2 (等位基因 2) 六氯-6-甲基荧光素荧光通用引物; #3: Allele 1 (等位基因 1) 特异扩增引物 (标记引物); #4: Allele 2 (等位基因 2) 特异扩增引物 (标记引物); #5: Locus 特异扩增引物 (标记引物)。

图 1 PARMS SNP 检测原理

Fig.1 Detection principle of PARMS SNP



图中每个点代表 1 份水稻材料, 其中绿点及蓝点分别代表 HEX (六氯-6-甲基荧光素) 及 FAM (6-羧基荧光素) 荧光信号检出数。

图 2 抗性基因荧光扫描分型结果

Fig.2 Fluorescence scanning typing results of resistance genes

由图 3 可知, 抗性基因 *Pib* 在试验材料中的分布频率最高, 检出率达到 88.86% (710/799), 暗示其在区域内的材料中分布广泛。*Pita* 抗性基因的检出率为 57.45% (459/799), *Pi2* 抗性基因的检出率则相对较低, 仅为 16.90% (135/799), 表明不同基因在供试材料中的分布存在差异。

进一步的分析结果显示, 在这些材料中, 单独携带 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 基因的材料分别占 0.38% (3/799)、3.63% (29/799)、28.04% (224/799), 即仅携带 1 个抗性基因的材料占 32.04% (256/799)。在基因组合方面, 同时携带 2 种抗病基因的材料, 如 *Pi2*+*Pib*、*Pi2*+*Pita*、*Pita*+*Pib* 的检出率分别为 7.51% (60/799)、0.50% (4/799)、44.81% (358/799), 共占 52.82% (422/799), 同时携带 *Pita* 和 *Pib* 基因的

## 1.6 统计分析

采用办公软件 WPS 进行数据整理和图表绘制, 对获得的数据进行描述性统计分析。利用 SPSS statistics 26 软件进行单基因逻辑回归分析, 获得各基因与抗性间的回归系数 ( $B$ )、显著性检验的  $P$  值及优势比 ( $OR$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗稻瘟病基因的分布特征检测

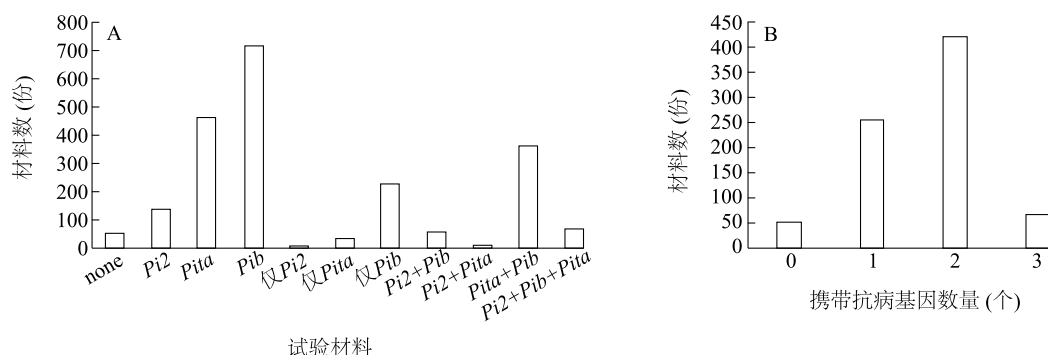
本研究对 799 份高世代稳定试验材料进行了 PARMS 检测, FAM 和 HEX 报告荧光信号的散点图如图 2 所示, 图中 1 个点代表 1 份水稻材料, 其中绿色点代表 HEX 荧光信号检出数, 对应感病纯合基因; 蓝色点代表 FAM 荧光信号检出数, 对应抗病纯合基因。随后对稻瘟病抗性基因 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 展开分布频率分析。

材料的高检出率表明这 2 个基因可能在抗性提升上具有协同效应。同时携带 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 3 个基因的材料占 8.51% (68/799), 而完全不含这 3 个基因的材料则占 6.63% (53/799)。

### 2.2 抗稻瘟病基因对穗颈瘟抗性的贡献

通过逻辑回归法分析各基因对穗颈瘟抗性的贡献。由图 4 可知, *Pita* 与穗颈瘟抗性间的回归系数 ( $B$ ) 为 1.12, 达到极显著水平 ( $P < 0.01$ ), *Pi2* 与穗颈瘟抗性间的  $B$  为 0.74, 同样达到极显著水平 ( $P < 0.01$ ), 表明 *Pita* 和 *Pi2* 对供试材料的抗性有极显著的贡献; *Pib* 与穗颈瘟抗性间的  $B$  为 0.64, 达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。 *Pita*、*Pi2*、*Pib* 的优势比 ( $OR$ ) 分别为 3.05、2.09、1.90, 表明携带 *Pita*、*Pi2*、*Pib* 基因对稻瘟病抗性的贡献分别是不携带 *Pita*、*Pi2*、*Pib* 基因的 3.05 倍、2.09 倍、1.90 倍。

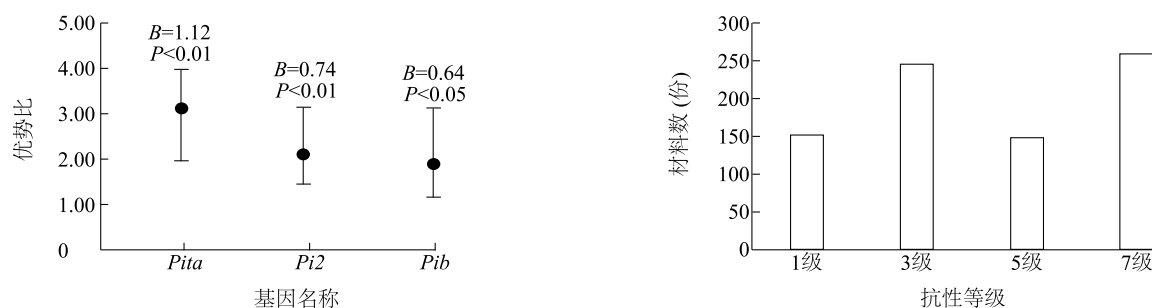




none: 完全不含 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 3 个基因的材料。

图3 抗病基因及基因组合在供试品种中的分布(A)及携带不同抗病基因数的材料在供试品种中的分布(B)

Fig.3 Distribution of disease resistance genes and gene combinations in the tested varieties (A) and the distribution of the materials carrying different numbers of disease resistance genes in the tested varieties (B)



图中黑点为优势比值,黑点上下黑线分别为各优势比的 95% 置信区间。 $B$ : 回归系数。

图4 单个抗性基因对穗颈瘟抗性贡献的逻辑回归分析

Fig.4 Logistic regression analysis of contribution to neck panicle blast resistance by single resistance gene

## 2.3 供试品种穗颈瘟抗性分析

对 799 份水稻材料田间诱发穗颈瘟发病情况展开分析,结果如图 5 所示,抗性达到 1 级(抗)的材料有 151 份,抗性达到 3 级(中抗)的材料有 244 份,抗性达到 5 级(中感)的材料有 147 份,抗性达到 7 级(感)材料的有 257 份,暂未从供试材料中发现抗性达到 0 级(高抗)或 9 级(高感)的材料。由此表明,供试材料中存在不同程度的抗性反应。799 份材料中,抗性达中抗及以上( $\leq 3$  级)的品种占比为 49.44% (395/799);感病( $\geq 5$  级)的品种占比为 50.56% (404/799)。以上结果表明供试材料整体抗性较好。

## 2.4 抗稻瘟病基因与对穗颈瘟抗性的关联性分析

在供试材料中,不同抗病基因及其组合在抗病性表现上呈现明显差异。抗性基因间的聚合叠加效应如表 2 及图 6 所示,仅含有单一抗病基因的

图5 供试材料抗性等级分布情况

Fig.5 Distribution of resistance levels of test materials

256 份材料平均抗病等级为 4.94 级,其中中抗及以上级别以上的材料占比为 33.60% (86/256),表明单一基因的抗性效果相对有限。相比之下,含有 2 个抗病基因(*Pi2*+*Pib*、*Pi2*+*Pita* 和 *Pita*+*Pib*)的 422 份材料平均抗病等级为 3.81 级,中抗及以上级别的材料占比达到 59.24% (250/422),这一结果说明基因组合在增强抗病性方面的重要性。特别是 *Pita*+*Pib* 组合,中抗及以上级别以上的材料检出率达到 51.18% (216/422),该结果可能表明这 2 个基因在协同提高抗病性方面具有潜力。当材料中存在 3 种抗病基因(*Pi2*+*Pita*+*Pib*)时平均抗病等级为 3.38 级,中抗及以上级别的占比大幅度提升至 72.06% (49/68),表明多重抗病基因的协同作用在提高稻瘟病抗性方面的效果更好。此外,即使在不携带任何一种检测基因的材料中,仍有 18.87% (10/53) 的材料表现出对穗颈瘟的抗性,这 53 份材料的平均抗病等级为 5.98 级,暗示这些材料中可能存在其他未知的抗病基因或抗病机制。

表 2 不同抗性基因组合的田间抗病性鉴定

Table 2 Identification of disease resistance in different combinations of resistance genes in the field

抗性基因	材料数 (份)	抗病等级(级)				中抗及以上 级别材料数 (份)
		1	3	5	7	
无	53	3	7	4	39	10
<i>Pi2</i>	3	1	1	0	1	2
<i>Pita</i>	29	5	7	10	7	12
<i>Pib</i>	224	34	38	42	110	72
<i>Pi2+Pib</i>	60	15	16	11	18	31
<i>Pi2+Pita</i>	4	1	2	1	0	3
<i>Pita+Pib</i>	358	77	139	69	73	216
<i>Pi2+Pib+Pita</i>	68	15	34	10	9	49
合计	799	151	244	147	257	395

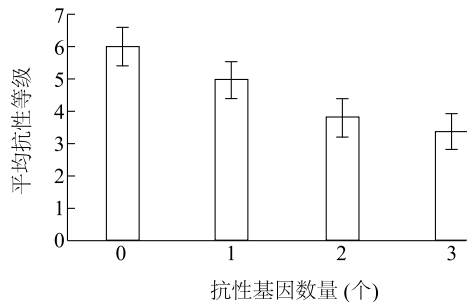


图 6 抗性基因数量与平均抗性等级间的关系

Fig.6 Relationship between the number of resistance genes and the average resistance level

### 3 讨论

水稻稻瘟病抗性作为典型的质量-数量性状,既受基因控制又受多种环境因素的影响<sup>[23-24]</sup>。稻瘟病的发生对水稻的增产与稳产都会产生很大的威胁<sup>[25-26]</sup>。同时,对稻瘟病的抗性是否过关也是江苏省水稻新品种审定中关键的衡量指标。由于稻瘟病菌具有复杂性与多样性,因此现阶段种植抗病品种依旧是最经济有效且环保的防治稻瘟病的手段。通过对江苏粳稻区稻瘟病抗性基因进行鉴定及对田间抗性进行分析,可以有效掌握稻瘟病抗性基因的潜在价值,提高水稻育种效率。采用传统育种手段筛选抗病品种,不仅选择效率低且耗时耗力。利用 PARMS 技术进行分子标记辅助选择育种,不仅可以大大提升选择效率,而且可以有效提升选择的准确率,因此该手段近年来在农学遗传育种研究中

得到了较为广泛的应用。卿冬进等<sup>[27]</sup>利用 PARMS 技术建立 *Pigm* 基因的荧光分子标记,并以此标记进行稻瘟病检测,结合田间表型验证了该方法构建的分子标记具有较强的可靠性。刘军化等<sup>[28]</sup>利用 PARMS 技术检测 9 个抗稻瘟病基因(*Pi1*、*Pib*、*Pi2*、*Pi5*、*Pi9*、*Pita*、*Pigm*、*Pik*、*Pik-m*)在 87 份水稻材料中的分布情况,探究稻瘟病抗性基因抗性效率,发现 87 份材料中有 10 份材料仅含有单基因,多数材料至少含有 2 个聚合基因,其中以 *Pi5* 基因分布最广。吴子帅等<sup>[29]</sup>利用 PARMS 技术检测 14 个稻瘟病抗性基因在 121 份常规籼稻品种中的分布情况,并借此分析基因型和抗性的关系。

王小秋等<sup>[30]</sup>对 14 个稻瘟病抗性基因在江苏省近年育成的 195 个粳稻新品种/品系中的分布展开分析,发现 *Pib*、*Pita* 和 *Pikh* 基因在供试品种中的分布频率较高,其分布频率均保持在 45.00% 以上,以上 3 个基因中又以 *Pib* 基因分布最广,检出率高达 72.00%;陈涛等<sup>[31]</sup>通过对 40 个品种和 665 个新品系的抗性基因进行检测,发现被检样品中广泛存在 *Pi-ta* 与 *Pi-b* 基因,其中 *Pi-b* 基因检出率高于 *Pi-ta* 基因;范方军等<sup>[32]</sup>利用 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 的功能标记对江苏省迟熟中粳稻预试 64 份品系进行稻瘟病抗性检测,发现抗病基因 *Pi-b* 检出率高达 76.56%(49/64)。本研究利用 PARMS 技术,有针对性地检测江苏太湖地区农业科学研究所筛选培育的 799 份高代材料中 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 抗性基因的分布情况,研究结果表明,799 份高代材料中携带 *Pita* 及

*Pib* 抗病基因的材料占比均超过 50.00%,其中以 *Pib* 抗性基因在样本中的检出率最高(88.86%),说明 *Pita* 及 *Pib* 基因广泛存在于供试材料中,其中以 *Pib* 抗病基因的应用最广,与前人研究结果一致,表明 *Pib* 基因可能是太湖稻区主要的稻瘟病抗病基因。

范方军等<sup>[32]</sup>通过对 *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm*、*Pi54* 4 个水稻抗病基因组合进行研究,发现在含有 2 个抗病基因的组合中,*Pi-ta*+*Pi-b* 的检出率相对较高,在 64 份材料中有 7 份;戴小军等<sup>[33]</sup>通过对 70 个水稻品种中的 4 个稻瘟病抗性基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi9*、*Pikm* 进行检测,发现相对于其他抗性基因组合,*Pi-ta*+*Pi-b* 抗病基因组合检出率最高。本研究发现,在含有 2 个抗病基因的组合中,*Pita*+*Pib* 抗性基因组合检出率高达 44.81%,说明供试材料中 *Pita* 与 *Pib* 基因聚合作用较强,这与范方军等<sup>[32]</sup>、戴小军等<sup>[33]</sup>的研究结果一致,表明这 2 个基因在协同提高抗病性方面可能存在较大潜力。

本研究针对基因型与田间抗病性表现进行了分析,分析结果表明,799 份检测材料中,中抗级别及以上材料占 49.44%(395/799),当检测材料中同时存在基因 *Pita* 与 *Pib* 时,水稻材料对穗颈瘟的抗性表现出更强的抗性,反映这 2 种基因在防治稻瘟病上的潜在协同作用;当同时存在基因 *Pi2* 与 *Pita* 时,中抗级别以上材料有 3 份,占 75.00%(3/4),但由于样本数量较少,无法证明其是否具有普遍规律。此外,含有抗性基因的供试材料中,随着抗性基因数量的增多,中抗级别及以上材料的检出率逐渐提高,其中三基因型(*Pi2*+*Pita*+*Pib*)的抗性级别相对最高,暗示与单一基因型相比,多抗性基因共存使水稻对稻瘟病抵抗力显著增强。除此之外,存在即使不携带 *Pi2*、*Pita*、*Pib* 基因的材料仍对穗颈瘟具有抗性的情况,说明在供试品种中存在其他稻瘟病抗性基因,其抗病效率需要进一步分析。研究结果表明,即使材料中存在相同的抗病基因,但表现出的稻瘟病抗病等级仍不同,这可能是由于除检测的 3 个抗病基因之外,材料中携带其他抗病基因,针对此现象,后续还需要针对其他抗病基因展开研究。

## 参考文献:

[1] 李云峰,任德勇. 水稻穗发育与高产育种[J]. 中国农业科学, 2023,56(7):1215-1217.

[2] TALBOT N J. On the trail of a cereal killer: exploring the biology of *Magnaporthe grisea*[J]. Annual Review of Microbiology, 2003, 57:177-202.

[3] 沙月霞,黄泽阳,马 瑞. 嗜碱假单胞菌 Ej2 对稻瘟病的防治效果及对水稻内源激素的影响[J]. 中国农业科学, 2022, 55(2):320-328.

[4] 杨海龙,王 蕾,李 白,等. 浙江省稻瘟病研究进展[J]. 中国稻米, 2023, 29(3):46-50.

[5] 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.

[6] 周海平,张 帆,陈 凯,等. 水稻种质资源稻瘟病抗性全基因组关联分析[J]. 作物学报, 2023, 49(5):1170-1183.

[7] 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.

[8] 吴云雨,肖 宁,余 玲,等. 长江下游粳稻稻瘟病广谱抗性基因组合模式分析[J]. 中国农业科学, 2021, 54(9):1881-1893.

[9] WANG Z X, YANO M, YAMANOUCI 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 Journal, 1999, 19(1):55-64.

[10] 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.

[11] 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.

[12] 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]. American Society of Plant Biologists, 2000, 12(11):2033-2046. DOI:10.1105/TPC.12.11.2033.

[13] HITTALMANI S, PARCO A, MEW T V, et al. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2000, 100(7):1121-1128.

[14] 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.

[15] 吴金红,蒋江松,陈惠兰,等. 水稻稻瘟病抗性基因 *Pi-2(t)* 的精细定位[J]. 作物学报, 2002, 28(4):505-509.

[16] 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* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2006, 19(11):1216-1228.

[17] CHEN H L, CHEN B T, ZHANG D P, et al. Pathotypes of *Pyricularia grisea* in rice fields of central and southern China[J]. Plant Disease, 2001, 85(8):843-850.

[18] SIMS D, SUDBERY I, ILOTT N E, et al. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses[J]. Nature Re-

- views Genetics, 2014, 15(2): 121-132.
- [19] 李灵慧, 吴然然, 陈景斌, 等. 基于 PARMS 技术的绿豆抗叶斑病基因 *VrTAF5* 分子标记的开发[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(6): 1386-1392.
- [20] MARTÍNEZ-ZAPATER JOSÉ M, RODRÍGUEZ V, IBÁÑEZ A, et al. High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology[J]. Bmc Genomics, 2007, 8(1): 424.
- [21] 卿冬进, 刘开强, 邓国富, 等. 基于 PARMS 技术的水稻粒形基因 *GW8* 分子标记的开发[J]. 西南农业学报, 2019, 32(3): 463-469.
- [22] 李旭升, 徐建龙, 向小娇, 等. 水稻重测序核心种质资源的稻瘟病抗性鉴定与评价[J]. 作物学报, 2017, 43(6): 795-810.
- [23] 杨婷婷, 刘雄伦, 谭令辞, 等. 水稻 *Pi9* 基因序列标记的开发及其抗瘟育种应用[J]. 作物研究, 2014, 28(3): 231-235.
- [24] 徐小金, 董波, 陶跃之, 等. 粳稻品种 Oochikara 稻瘟病抗性基因挖掘[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(5): 961-967.
- [25] 陈晴晴, 沈文杰, 胡逸群, 等. 安徽省引种水稻抗稻瘟病和白叶枯病分析[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(19): 97-101.
- [26] 宛柏杰, 张梦龙, 岳红亮, 等. 分子标记辅助选育抗稻瘟病水稻新品种中科盐 8 号[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(17): 21-26.
- [27] 卿冬进, 刘开强, 杨燕宇, 等. 基于 PARMS 技术的抗稻瘟病基因 *Pigm* 分子标记的开发[J]. 西南农业学报, 2018, 31(8): 1617-1621.
- [28] 刘军化, 黄成志, 蒋静玥, 等. 87 份水稻材料中抗稻瘟病基因分子检测[J]. 西南农业学报, 2022, 35(9): 2030-2037.
- [29] 吴子帅, 李虎, 陈传华, 等. 常规籼稻品种的稻瘟病抗性基因及穗颈瘟抗性分析[J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(5): 718-724.
- [30] 王小秋, 杜海波, 陈夕军, 等. 江苏近年育成粳稻新品种/系的稻瘟病抗性基因及穗颈瘟抗性分析[J]. 中国水稻科学, 2020, 34(5): 413-424.
- [31] 陈涛, 何重, 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]. 农业科学与技术(英文版), 2015, 16(3): 454-458, 469.
- [32] 范方军, 王芳权, 刘永峰, 等. *Pi-b*、*Pi-ta*、*Pikm* 和 *Pi54* 对水稻穗颈瘟的抗性评价[J]. 华北农学报, 2014, 29(3): 221-226.
- [33] 戴小军, 杨远柱, 周亮, 等. 抗稻瘟病水稻资源抗性基因 *Pi-ta*、*Pib*、*Pi9* 以及 *Pikm* 的分布研究[J]. 生命科学研究, 2012, 16(4): 340-344, 356.

(责任编辑: 陈海霞)