

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.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.05.001

粳稻品种 Oochikara 稻瘟病抗性基因挖掘

徐小金^{1,2}, 董 波³, 陶跃之², 王 华²

(1. 浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004; 2. 浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 浙江 杭州 310021; 3. 浙江省农业科学院病毒学与生物技术研究所以, 浙江 杭州 310021)

摘要: 对水稻品种 Oochikara (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*) 进行稻瘟病抗性分析, 发现 Oochikara 对来自不同地区的 30 个稻瘟菌菌株具有高效的广谱抗性。利用等位基因挖掘技术, 从 Oochikara 鉴定出 4 个已知稻瘟病抗性基因 (*R* gene): *Pish*、*Pia*、*Pikm* 和 *Pita*。此外, 利用稻瘟菌菌株 08-7-3 对 Oochikara 和感病品种 E103 杂交后代进行稻瘟菌喷雾接种和遗传分析, 发现 Oochikara 还存在其他新的抗性基因。以上研究结果初步揭示了 Oochikara 对稻瘟病的抗性来源, 有助于利用 Oochikara 作为抗性中间材料开展稻瘟病抗性育种工作。

关键词: 稻瘟菌; 抗性基因; 等位挖掘; 喷雾接种

中图分类号: S511.2⁺20.353

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2016)05-0961-07

Rice blast-resistant gene mining in *japonica* rice cultivar Oochikara

XU Xiao-jin^{1,2}, DONG Bo³, TAO Yue-zhi², WANG Hua²

(1. College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; 2. Institute of Crop and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; 3. Institute of Virology and Biotechnology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: A rice *japonica* cultivar Oochikara confers broad spectrum resistance to thirty *Magnaporthe grisea* strains collected from different regions. Four known rice blast resistance genes (*R* gene), *Pish*, *Pia*, *Pikm* and *Pita* were identified from Oochikara by allele mining approach. Moreover, genetic analysis and inoculation with the *M. grisea* strain 08-7-3 by spraying were performed in the progenies derived from a cross of Oochikara and a blast susceptible cultivar E103 showed that there were some other novel *R* gene(s) in Oochikara. The findings revealed the source of rice blast resistance in Oochikara, which will facilitate the development of elite cultivars against rice blast using Oochikara as an intermediate material for breeding.

Key words: rice blast; resistance gene; allele mining; spraying inoculation

病害是提高农作物产量和质量的主要限制性因

素之一^[1]。植物与病原微生物在长期互作过程中进化出了多种防卫机制, 抗性基因 (*R*) 是主要防卫机制之一^[2]。由子囊菌 *Magnaporthe Oryzae* 引起的稻瘟病, 能使全球水稻减产 10%~30%, 严重时达到 50% 以上, 并直接造成几十亿美元的经济损失^[3-4]。实践证明, 选育和推广水稻抗病品种是有效控制这一病害最安全、经济和环保的方法, 而 *R* 基因的发现、克隆和利用又是抗病育种的基础和核心^[5]。许

收稿日期: 2016-03-02

基金项 目: 转基因生物新品种培育重大专项
(2012ZX08009001)

作者简介: 徐小金 (1988-), 男, 江西上饶人, 硕士研究生, 研究方向: 作物遗传育种。

通讯作者: 王 华, (Tel) 0571-86416058; (E-mail): wanghua3@hotmai.com

多野生稻种质资源具有不同生物或非生物胁迫抗性的优点,尤其是对各种病害的抗性^[6]。通过克隆这些野生稻中的 *R* 基因,了解其功能特性,并将其转移至栽培稻,有助于更有效地开展抗病育种工作,并已在实践中取得了成功。例如,对来自 13 个国家的 43 个稻瘟菌菌株表现高抗的 *R* 基因 *Pi9*,最初来源于野生稻 *Oryza minuta*^[7];白叶枯病抗性基因 *Xa21*、*Xa23* 和 *Xa27* 分别来自野生稻 *Oryza longistaminata*、*O. rufipogon* 和 *O. minuta*^[8],这 3 个抗性基因也已应用于生产实践,提高了水稻品种对白叶枯病的抗性。在过去 50 年里,水稻遗传学家和育种学家一直致力于稻瘟病 *R* 基因遗传机制研究和抗性种质资源收集,以便 *R* 基因在水稻育种中获得更多利用。

随着分子标记技术的发展,至今大约 100 个稻瘟病 *R* 基因被定位在除水稻 3 号染色体外的其余 11 条染色体上,其中 28 个已被克隆。在已克隆的 *R* 基因中,19 个基因通过图位克隆方法获得,另外 9 个基因由其他方法克隆得到,例如利用水稻内源 *Tos17* 反转座子构建的突变体库鉴定得到的 *Pish*^[9];利用 MutMap-Gap 方法从突变体中克隆获得的 *Pii*^[10]。对 *R* 基因的深入研究结果表明,许多稻瘟病抗性基因是等位基因或者紧密连锁,也称作抗性基因簇,例如,在水稻第 6 号染色体 *Pi2/9* 位点至少有 10 个不同的等位 *R* 基因^[11],其中 *Pi9*^[7]、*Pi2* 和 *Pizt*^[12]这 3 个 *R* 基因已被克隆;同样在 11 号染色体的 *Pik* 位点至少有 7 个等位 *R* 基因 (*Pik*、*Pikm*、*Piks*、*Pikh*、*Pikp*、*Pi7* 和 *Pi1*),其中 *Pik*^[13]、*Pikm*^[14]、*Pikh*^[15]、*Pikp*^[16]和 *Pi1*^[17]已被克隆。

在已克隆的 *R* 基因基础上,等位挖掘技术在抗性基因挖掘方面不仅有助于我们认识遗传变异和进化关系,而且可作为寻找新的等位基因或者同源基因的一种有效工具,例如从野生稻 A4 (*Oryza rufipogon*)、药用野生稻 (*Oryza officinalis*) 和根茎野生稻 (*Oryza rhizomatis*) 分别克隆得到 *Pid3-A4*^[18]、*Pi54 of*^[19]和 *Pi54rh*^[20],都是利用等位基因挖掘技术。而且,等位基因挖掘策略可以在相关基因中通过结构域重排或者基因重排实现更多相关功能的人工等位变异体的设计,这也为抗病育种提供了新的方法和有力的工具。

Oochikara 是中国 20 世纪 90 年代从日本引进的高产水稻品种,产量高达 11 250 kg/hm²,并且茎秆粗壮,抗倒伏,综合抗病性较强。本研究在鉴定日

本梗稻品种 Oochikara 稻瘟病抗性的基础上,以生育期与 Oochikara 相近的籼稻品种 E103 作为感病对照材料,选用产孢量高和不易变异的稻瘟菌野生型菌株 08-7-3 对亲本和后代进行了抗病性分析。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

稻瘟病抗性材料 Oochikara (*Oryza sativa* L.) 为日本梗稻品种;籼稻感病品种 E103 由中国水稻研究所吴建利研究员提供;稻瘟菌菌株 08-7-3 来自浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所,部分其他菌株由浙江省农业科学院病毒学与生物技术研究所以暨绍洪博士提供,以丽江新团黑谷 (LTH) 为背景的部分稻瘟病 *R* 基因单基因系来自于菲律宾国际水稻研究所 (IRRI) (表 1)。

表 1 水稻稻瘟病抗性单基因系

Table 1 Rice blast-resistant monogenic lines

编号	品系 (种)	抗性基因
M1	IRBLa-A	<i>Pia</i>
M2	IRBLi-F5	<i>Pii</i>
M3	IRBLKs-F5	<i>Piks</i>
M4	IRBLK-Ka	<i>Pik</i>
M5	IRBLkp-K60	<i>Pikp</i>
M6	IRBLkh-K3	<i>Pikh</i>
M7	IRBLz-Fu	<i>Piz</i>
M8	IRBLz5-CA	<i>Pi2</i>
M9	IRBLzt-T	<i>Pizt</i>
M10	IRBLta-K1	<i>Pita</i>
M11	IRBLb-B	<i>Pib</i>
M12	IRBLi-K59	<i>Pit</i>
M13	IRBLsh-B	<i>Pish</i>
M14	IRBL1-CL	<i>Pi1</i>
M15	IRBL3-CP4	<i>Pi3</i>
M16	IRBL5-M	<i>Pi5</i>
M17	IRBL7-M	<i>Pi7</i>
M18	IRBL9-W	<i>Pi9</i>
M19	IRBL12-M	<i>Pi12</i>
M20	IRBL19-A	<i>Pi19</i>
M21	IRBLkm-Ts	<i>Pikm</i>
M22	IRBL20-IR24	<i>Pi20</i>
M23	IRBLta2-Pi	<i>Pita2</i>
M24	IRBL11-Zh	<i>Pi11</i>

1.2 基因组 DNA 的提取及引物设计

水稻基因组 DNA 按照改良的 CTAB 法^[21] 提取。通过在线 Primer3 (<http://fokker.wi.mit.edu/primer3>) 设计引物,并根据水稻基因差异序列设计

分子标记,引物(表 2)合成和 DNA 测序由杭州擎科梓熙生物技术有限公司完成。PCR 在 Bio-Rad 公司产品 S1000 型热循环仪上进行。

表 2 R 基因扩增所用引物

Table 2 Primers for amplification of R genes

R 基因	引物名称	序列 (5'→3')	片段长度 (bp)	备注
<i>Pish</i>	Pish-1F	GGCCACATCTGAATAATATTGGGT	476	显性标记
	Pish-1R	GGACGGCAGATCTGCTAGAGA		
	Pish-2F	CAGGAGAAAGCAGAGCCCAG	4 175	cDNA 序列
	Pish-2R	CCGGACAGACCACAGGACTA		
<i>Pia</i>	Pia-1F	GCGACTGACACTTTCAATAGC	148/189	文献[22]
	Pia-1R	CGGTAGAGCAATTTAGAAGCAG		
	RGA4-1F	GAATCGGAGCGGATCGTAGC	3 401	cds 序列
	RGA4-1R	GAAGGCACCATGCCATTCC		
	RGA5-1F	AACGGCGTCGCACACTAAAA	5 000	cds 序列
	RGA5-1R	ATGGATGAAATCCTGCACCGA		
<i>Pik</i>	Pik-1F	TCGAGTTGCTGGAACAAGGG	575	显性标记
	Pik-1R	ACTGCGTTCCCAATGCATGA		
	Pik1-F	TCAGGAGGTGAGAGAGTAG	6 461	cds 序列
	Pik1-R	TTTAACTCGCCCTGAAT		
	Pik2-F	AATGGTTTCTTGCGGAGAT	3 532	cds 序列
	Pik2-R	CTGTCTGTGGCTCATACTC		
<i>Pita</i>	Pita-1F	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	1 042	文献[23]
	Pita-1R	CTACCAACAAGTTCATCAAA		
	Pita-2F	GATCTCCGACACCTGCTA	4 288	cds 序列
	Pita-2R	ACTAGGAACCACACCTTCTA		

1.3 稻瘟菌室内接种

将试验水稻种子催芽,播种至事先装有营养土的 120 mm×140 mm 塑料盆中,每盆约 30 粒。25 ℃ 培养至 3 叶期进行喷雾接种试验。试验菌株于 25 ℃ CM 培养基上生长 10 d,用 0.03% 吐温-20 水溶液从培养基洗下分生孢子,尼龙纱布过滤收集分生孢子,使用血球计数板在 10×10 倍显微镜下计数,制备一定浓度(1 ml 含 $2 \times 10^5 \sim 3 \times 10^5$ 个孢子)的孢子悬浮液,然后用连接压力泵的喷枪进行喷雾接种,接种后于 22 ℃ 恒温箱暗培养 48 h,继续按光周期 12 h/12 h(光照/黑暗)培养 5~7 d 进行病情统计。

1.4 Oochikara 抗性基因的等位挖掘

参照 Lü 等^[18] 从普通野生稻 A4 (*Oryza rufipogon*) 中克隆获得其直系同源基因 *Pid3-A4* 的方法。根据已克隆的稻瘟病 R 基因设计相应分子标

记,结合 PCR 和遗传分析等方法克隆目标基因的等位基因或直系同源基因。

2 结果与分析

2.1 Oochikara 和 E103 的稻瘟病抗谱分析

利用实验室从不同地区收集的 34 个稻瘟菌菌株对 Oochikara 和对照品种 E103 进行抗谱分析。苗期接种结果(表 3)表明,Oochikara 对 30 个稻瘟菌菌株表现高抗,抗谱频率为 88.2%;而对照粳稻品种 E103 仅对 5 个稻瘟菌菌株表现抗性(2 个菌株未检测成功),抗谱频率为 15.6%。由此可见,Oochikara 品种对稻瘟病菌具有高效的广谱抗性。

2.2 Oochikara 抗性基因的等位挖掘

为了解 Oochikara 稻瘟病抗性的来源,首先我们

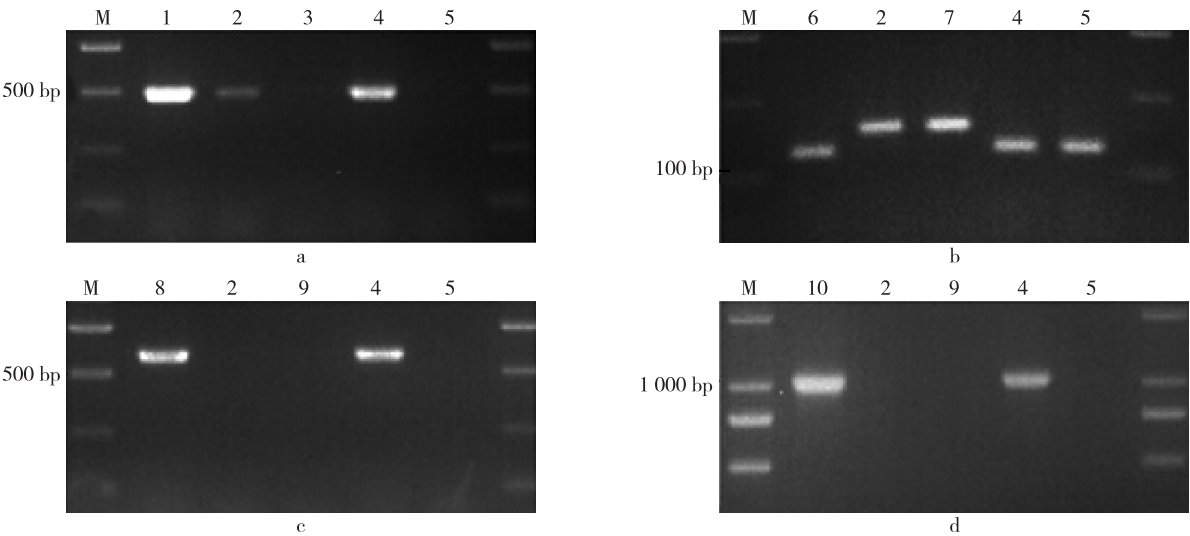
利用等位基因挖掘技术,对已报道的稻瘟病抗性基因进行标记检测和测序分析。PCR 结果(图 1)表明

Oochikara 可能含有 4 个已知抗性基因 *Pish*、*Pia*、*Pita* 和 *Pik* 位点(*Pik*、*Pik-s*、*Pikm*) 及其等位基因或

表 3 Oochikara 和 E103 稻瘟病抗谱评价
Table 3 Rice blast resistance of Oochikara and E103

稻瘟菌菌株	水稻品种		稻瘟菌菌株	水稻品种	
	Oochikara	E103		Oochikara	E103
08-7-3	R	S	R89	R	S
KJ201	R	S	MZ003-205B1	R	R
GUY11	S	S	CHC645	R	R
KJ197	R	S	CA89	R	S
KJ105	R	S	236-2	R	S
ROR1	R	R	CHL1743	R	S
C30	R	S	RO1-1	S	S
81278ZB15	R	S	193-1-1	R	S
CHE86061	R	S	E2007-046A2(TMC-1)	R	S
M2006-150A1	R	ND	98019A	R	S
MZ006123A1	R	S	318-2	R	S
X2007-A-7	R	S	75-1-127-5	S	S
IC-17	R	R	CHL441	R	S
C923-49	R	S	U850196	R	S
CHL440	R	S	C9240	R	S
PO6-6	S	S	TMC	R	S
B9002	R	R	2539	R	ND

R;抗病;S;感病;ND;无数据。



1: M13; 2: LTH; 3: CO39; 4: Oochikara; 5: E103; 6: M1; 7: Kasalath; 8: M21; 9: Nipponbare; 10: M10
a: 抗性基因 *Pish* 的 *Pish-I* 标记检测; b: 抗性基因 *Pia* 的 *Pia-I* 标记检测; c: 抗性基因 *Pik* 的 *Pik-I* 标记检测; d: 抗性基因 *Pita* 的 *Pita-I* 标记检测。M13: *Pish* 单基因系 IRBLsh-B; LTH: 丽江新团黑谷; M1: *Pia* 单基因系 IRBLa-A; M21: *Pikm* 单基因系 IRBLkm-Ts; M10: *Pita* 单基因系 IRBLta-K1; M: DNA marker。

图 1 稻瘟病抗性基因检测结果
Fig.1 Detection of the rice blast resistance gene

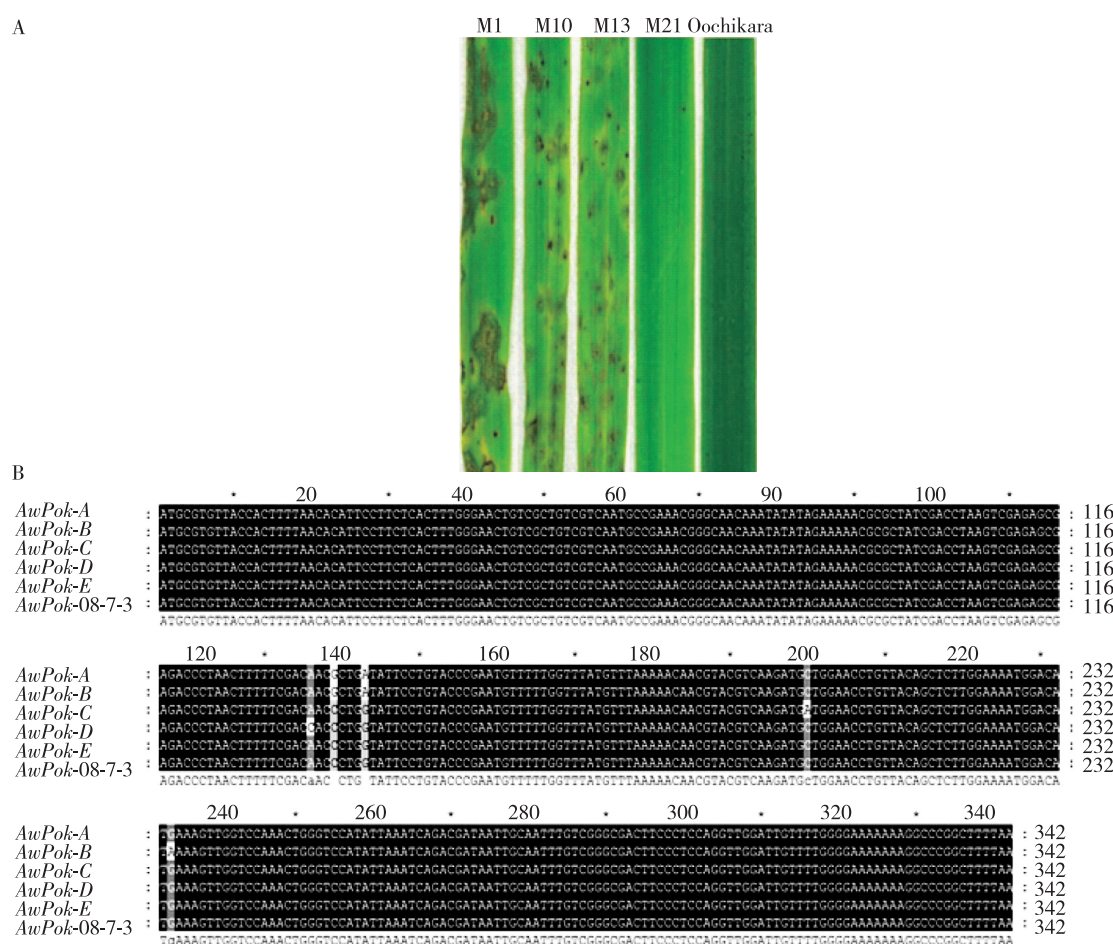
者同源基因。为了进一步确认以上 4 个基因,我们对来自于 *Oochikara* 的这 4 个目标基因进行序列分析,设计引物扩增其 CDS 和 cDNA 并做克隆测序(表 2)。从 *Oochikara* 克隆得到目的基因与已知的 *R* 基因或其复等位基因的序列比对分析证实 *Oochikara* 含有 *Pish*、*Pia*、*Pita* 和 *Pikm*。

2.3 Oochikara 对稻瘟菌菌株 08-7-3 的抗性分析

在等位抗性基因挖掘的基础上,我们利用稻瘟菌菌株 08-7-3 对 Oochikara 做进一步抗性分析。用稻瘟菌菌株 08-7-3 对已有抗性基因的单基因系和

Oochikara 进行喷雾接种。苗期喷雾接种结果表明, 单基因系 M1、M10 和 M13 对 08-7-3 呈感病反应, 而单基因系 M21 与 Oochikara 一样, 对该菌株表现免疫(图 2A)。说明 Oochikara 对稻瘟菌菌株 08-7-3 的抗性非 *R* 基因 *Pia*、*Pita* 和 *Pish* 所致, 而是由 *Pikm* 或 *Pi54* 及其他 *R* 基因产生。

为了验证 *R* 基因 *Pikm* 与稻瘟病菌株 08-7-3 的非亲和性,我们对菌株 08-7-3 的无毒基因 (*Avr gene*) 进行检测。结果表明,08-7-3 含有 *AvrPikm-E* 无毒基因(图 2B)。



A: 稻瘟菌菌株 08-7-3 对 4 个 *R* 基因单基因系和 Oochikara 的接种结果; B: 不同 *AvrPik* 基因序列比较。

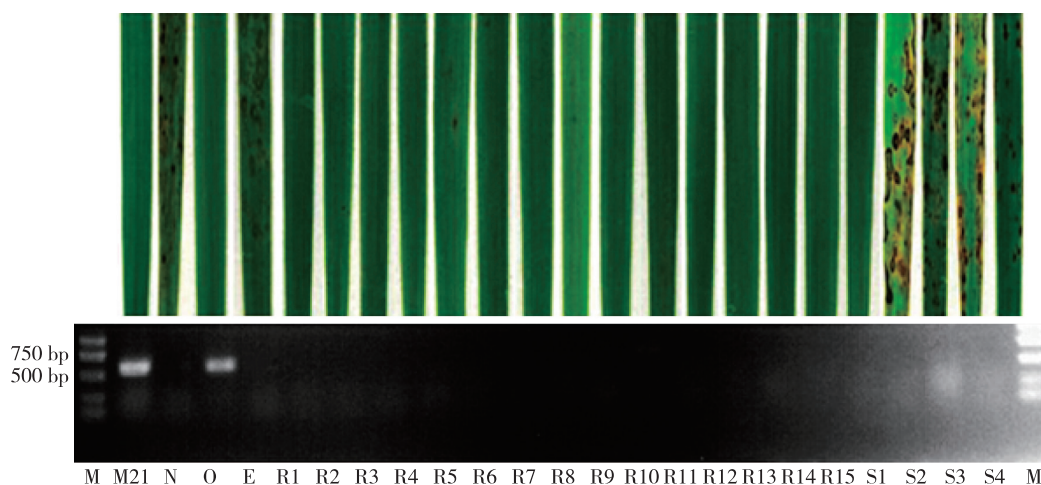
图2 Oochikara 对稻瘟菌菌株 08-7-3 的抗性分析及稻瘟菌菌株 08-7-3 无毒基因的检测

Fig.2 Resistance of Oochikara to *M. Oryzae* strain 08-7-3 and avirulence gene detection in 08-7-3

2.4 Oochikara 中 *R* 基因的遗传分析

为了进一步挖掘 Oochikara 中其他 *R* 基因,我们利用稻瘟菌菌株 08-7-3 对 Oochikara 和感病品种 E103 杂交后代 F₃ 株系进行喷雾接种试验,并利用

Pikm 的分子标记 *Pik-3* 对 19 个株系个体进行分子检测。结果显示,在不含有 *Pikm* 的 F_3 子代中,接种了 08-7-3 的植株发生了抗感分离(图 3),说明除 *Pikm* 外,还存在其他 *R* 基因使 Oochikara 对菌株 08-



N: Nipponbare; O: Oochikara; E: E103; R1~R15: 抗病单株; S1~S4: 感病单株; M: DNA marker。

图3 Oochikara×E103 F₃群体对稻瘟菌菌株 08-7-3 的抗性反应及 *Pikm* 检测

Fig.3 Rice blast resistance and *Pikm* detection in the F₃ population derived from a cross of Oochikara and E103

7-3 产生抗性反应。

3 讨论

本研究通过等位基因挖掘技术,从水稻品种 Oochikara 中克隆到了 4 个稻瘟病 *R* 基因(*Pish*、*Pia*、*Pikm* 和 *Pita*),稻瘟菌苗期接种和抗性遗传分析结果证明 Oochikara 对稻瘟菌菌株 08-7-3 具有抗性是由于:(1)稻瘟菌菌株 08-7-3 存在的 *AvrPik-E* 与 Oochikara 含有的 *Pikm* 不亲和性所致;(2)Oochikara 中还存在除 *Pish*、*Pia*、*Pikm* 和 *Pita* 外的其他 *R* 基因与菌株 08-7-3 不亲和。

根据基因对基因假说 (Gene for gene theory)^[24],*Pish*、*Pia* 和 *Pita* 的单基因系对稻瘟菌菌株 08-7-3 表现感病,说明菌株 08-7-3 不含有 *AvrPish*、*AvrPia* 和 *AvrPita*,同时也排除了 Oochikara 对菌株 08-7-3 的抗性来自于 *Pish*、*Pia* 和 *Pita*。除 *Pikm* 与 *AvrPik-E* 的不亲和性可以解释 Oochikara 对菌株 08-7-3 的抗性外,Oochikara 与感病品种 E103 的杂交后代中出现不含有 *Pikm* 的植株对 08-7-3 呈现免疫反应,这说明菌株 08-7-3 含有未知 *Avr* 基因与 Oochikara 的其他未知 *R* 基因存在不亲和性,从而导致这些分离后代表现抗性。因此,利用菌株 08-7-3 对不带有 *Pikm* 的高世代分离群体进行抗性接种鉴定,结合分子标记技术,有可能定位和克隆到 Oochikara 含有的未知 *R* 基因。

对培育抗病品种而言,具有广谱或持久抗性的

抗性基因的发掘与利用是抗病育种的基础和核心。此外,抗源材料综合农艺性状的优劣也是亲本选择的重要条件。Oochikara 品种产量高、株型好,利用该品种作为抗源可以减少或避免因自身不良农艺性状而产生的连锁累赘,而且 Oochikara 聚合了至少 5 个抗稻瘟病基因,通过一次杂交就可以往受体品种转育多个 *R* 基因,大大提高了育种效率。

参考文献:

- [1] MADDEN L V, WHEELIS M. The threat of plant pathogens as weapons against US crops[J]. Annual Review of Phytopathology, 2003, 41(4): 155-176.
- [2] HULBERT S H, WEBB C A, SMITH S M, et al. Resistance gene complexes: evolution and utilization [J]. Acta Medica Scandinavica, 2000, 195(5): 351-357.
- [3] BAKE B, ZAMBRYSKI P, STASKAWICZ B, et al. Signaling in plant-microbe interactions [J]. Science, 1997, 276 (5313): 726-733.
- [4] MOFFAT A S. Mapping the sequence of disease resistance [J]. Science, 1994, 265(5180): 1804-1805.
- [5] HE L, DE C, COVALEDA L, et al. Cloning, characterization, and evolution of the NBS-LRR-encoding resistance gene analogue family in polyploid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2004, 17(11): 1234-1241.
- [6] BARCLAY A. Feral play: Crop scientists use wide crosses to breed into cultivated rice varieties the hardiness of their wild kin [J]. Rice Today, 2004, 3(1): 14-19.
- [7] QU S H, LIU G F, WANG G L, et al. The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes an NBS-LRR protein and is a member

- of the multiple family in rice [J]. *Genetics*, 2006, 172 (3): 1901-1914.
- [8] LI H J, LI X H, WANG S P, et al. Ortholog alleles at *Xa3/Xa26* locus confer conserved race-specific resistance against *Xanthomonas oryzae* in rice [J]. *Molecular Plant*, 2012, 5 (1): 281-290.
- [9] TAKAHASHI A, HAYASHI N, MIYAO A, et al. Unique features of the rice blast resistance *Pish* locus revealed by large scale retro-transposon-tagging [J]. *Bmc Plant Biology*, 2010, 10 (1): 1-14.
- [10] TAKAGI H, UEMURA A, YAEGASHI H, et al. Mut Map-Gap; whole-genome resequencing of mutant F₂ progeny bulk combined with *de novo* assembly of gap regions identifies the rice blast resistance gene *Pii* [J]. *New Phytologist*, 2013, 200 (1): 276-283.
- [11] ZHU X Y, CHEN S, YANG J Y, et al. The identification of *Pi50(t)*, a new member of the rice blast resistance *Pi2/Pi9* multigene family [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124 (7): 1295-1304.
- [12] ZHOU B, QU S, WANG G L, 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 Interaction*, 2006, 19 (11): 1216-1228.
- [13] ZHAI C, LIN F, PAN Q H, et al. The isolation and characterization of *Pik*, a rice blast resistance gene which emerged after rice domestication [J]. *New Phytologist*, 2011, 189 (1): 321-334.
- [14] ASHIKAWA I, HAYASHI N, YANO M, 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.
- [15] SHARMA T R, MADHAV M S, SINGH N 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.
- [16] YUAN B, ZHAI C, PAN Q H, et al. The *Pik-p* resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice is mediated by a pair of closely linked *CC-NBS-LRR* genes [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122 (5): 1017-1028.
- [17] HUA L X, WU J Z, WANG L, et al. The isolation of *Pi1*, an allele at the *Pik* locus which confers broad spectrum resistance to rice blast [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125 (5): 1047-1055.
- [18] LV Q M, XU X, SHANG J J, et al. Functional analysis of *Pid3-A4*, an ortholog of rice blast resistance gene *Pid3* revealed by allele mining in common wild rice [J]. *Phytopathology*, 2013, 103 (6): 594-599.
- [19] DEVANNA N B, VIJAYAN J, SHARMA T R. The blast resistance gene *Pi54* of cloned from *Oryza officinalis* interacts with *Avr-Pi54* through its novel non-LRR domains [J]. *Plos One*, 2014, 9 (8): e104840.
- [20] DAS K, SOUBAM D, SINGH P K, et al. A novel blast resistance gene, *Pi54rh* cloned from wild species of rice, *Oryza rhizomatis* confers broad spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae* [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2012, 12 (2): 215-228.
- [21] SAGHAI-MAROOF M A, SOLIMAN K M, JORGENSEN R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81 (24): 8014-8018.
- [22] ZENG X S, YANG X F, PAN Q H. Characterization and fine mapping of the rice blast resistance gene *Pia* [J]. *Science China Life Sciences*, 2011, 54 (4): 372-378.
- [23] JIA Y L, MARTIN R. Identification of a new locus, *Ptr(t)*, required for rice blast resistance [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2008, 21 (4): 396-403.
- [24] FLORR H H. Current status of the gene-for-gene concept [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1971, 9 (1): 275-296.

(责任编辑:陈海霞)