

朱勇良, 范方军, 谢裕林, 等. 江苏省迟熟中粳新品系稻瘟病抗病基因检测与抗性评价[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(19): 106–109.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.19.028

江苏省迟熟中粳新品系稻瘟病抗病 基因检测与抗性评价

朱勇良¹, 范方军², 谢裕林¹, 伍应保¹, 乔中英¹, 张建栋¹

(1. 江苏太湖地区农业科学研究所, 江苏苏州 215155; 2. 江苏省农业科学院粮食作物研究所, 江苏南京 210014)

摘要:通过对江苏省育种单位提供的 95 份迟熟中粳新材料进行稻瘟病抗性基因检测与穗颈瘟抗性分析发现, 携带 *Pi-ta* 基因的材料有 59 份, 携带 *Pi-b* 基因的材料有 74 份, 携带 *Pi-kh* 基因的材料有 85 份, 同时携带 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-kh* 抗病基因的材料有 37 份; 其中有 1 份材料苗瘟抗性等级为 5 级, 其穗颈瘟抗性等级为 7 级, 另外有 12 份材料的稻瘟病抗性综合指数 > 5.00。结果表明, *Pi-ta* 等抗病基因的抗性正在丧失。

关键词:迟熟中粳; 稻瘟病; 抗性基因; 抗性评价; 抗性丧失

中图分类号: S435.111.4⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)19-0106-04

江苏省太湖稻区以种植单季晚粳稻居多, 近年来为了主动对接农业供给侧改革, 对品种成熟期性状的研究已拓展到迟熟中粳稻的选育和应用方面, 并且取得了较好的成效, 如苏香粳 3 号的审定和在适种地区作为特优早熟品种的产业化配套应用。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。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。

水稻稻瘟病的抗性受多基因或数量性状位点 (quantitative trait locus, 简称 QTL) 控制, 随着分子生物学的发展

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。*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 号染色体长臂末端^[1-3]。Bryan 等将水稻稻瘟病基因 *Pi-ta* 定位于水稻第 12 号染色体靠近着丝点附近的区域, 并进行了克隆^[4]。稻瘟病抗病基因 *Pi54*, 最初被命名为 *Pi-kh*, 来源于水稻品种 Tetep, 与简单重复序列 (simple sequence repeats, 简称 SSR) 标记 TRS26 和 TRS33 紧密连锁^[5]。Xu 等将稻瘟病基因 *Pi-kh* 精细定位在水稻第 11 号染色体上单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, 简称 SNP) 标记 Kh45F ~ KhA3R 之间的 270 kb 区间内, *PiQ-kh* 仅包含 1 个外显子, 编码 1 个由 330 个氨基酸组成的含核苷酸结合位点-亮氨酸重复序列 (nucleotide binding site-leucine rich repeat, 简称 NBS-LRR) 结构的抗病蛋白^[6]。

本研究选择 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-kh*/*Pi54* 等抗病基因的功能标记, 检测 2016 年迟熟中粳稻预备试验 95 份试验材料, 结合苗瘟和穗颈瘟人工接种鉴定, 对抗病基因进行抗病性评价。

收稿日期: 2017-03-28

基金项目: 江苏省苏州市农业科技创新项目 (编号: SNG201641); 苏州市农业科学院基金 (编号: 8111703#)。

作者简介: 朱勇良 (1965—), 男, 江苏苏州人, 副研究员, 主要从事水稻遗传育种和绿色高产栽培研究。E-mail: 13145041388@126.com。

学报, 2008, 14(17): 160–161.

[11] Chen Z Y, Tang W. Molecular mechanisms regulating storage root formation in plants [J]. International Journal of Environmental & Agriculture Research, 2017, 3(1): 2454–1850.

[12] 李华成, 陈中义, 周 璟. 外来入侵植物空心莲子草根系发育调控研究进展 [J]. 长江大学学报 (自科版), 2014(5): 66–70.

[13] 何 玲, 李建军, 王 宁, 等. 不同土壤基质中水花生生长和荧光响应差异 [J]. 江苏农业科学, 2010, 38(4): 110–112.

[14] 谢 磊. 土壤增温对喜旱莲子草根系表型、茎和叶特征的影响 [D]. 武汉: 华中师范大学, 2009.

[15] 陶 勇, 陈少风, 江明喜. 空心莲子草对水分变化的形态适应研究 [J]. 长江流域资源与环境, 2004, 13(5): 454–459.

[16] 陈燕丽. 空心莲子草根的生长动态及入侵的物理和化学控制 [D]. 荆州: 长江大学, 2011.

[17] Geng Y P, Pan X Y, Xu C Y, et al. Phenotypic plasticity rather than locally adapted ecotypes allows the invasive alligator weed to colonize

a wide range of habitats [J]. Biological Invasions, 2007, 9(3): 245–256.

[18] 任永哲, 徐艳花, 丁锦平, 等. 非生物因素调控植物根系发育可塑性的研究进展 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(9): 34–38.

[19] 耿宇鹏, 张文驹, 李 博, 等. 表型可塑性对外来植物的入侵能力 [J]. 生物多样性, 2004, 12(4): 447–455.

[20] González - Megías A. Diversity - habitat heterogeneity relationship at different spatial and temporal scales [J]. Ecography, 2007, 30(1): 31–41.

[21] Warren S D, Alt M, Olson K D, et al. The relationship between the spectral diversity of satellite imagery, habitat heterogeneity, and plant species richness [J]. Ecological Informatics, 2014, 24: 160–168.

[22] Haury J, Druel A, Cabral T, et al. Which adaptations of some invasive *Ludwigia* spp. (Rosidae, Onagraceae) populations occur in contrasting hydrological conditions in Western France? [J]. Hydrobiologia, 2014, 737(1): 45–56.

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为 2016 年江苏省迟熟中粳稻预备试验新品系,由江苏省农业科学院迟熟中粳稻预备试验鉴定点提供,共 95 份。

1.2 DNA 提取

采用十二烷基苯磺酸钠法提取水稻基因组 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 μL)含 2.0 μL 模板 DNA (约 15 ng/L)、2.0 μL 引物(4 pmol/L)、2.0 μL 10 × Buffer (25 mmol/L)、1.2 μL MgCl₂ (25 mmol/L)、0.4 μL dNTP (2.5 mmol/L)、0.2 μL TaqDNA 聚合酶(5 U/μL)、12.2 μL 灭菌双蒸水。在 Biometra PCR 仪上进行扩增,反应条件:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 45 s,55 ℃ 45 s,72 ℃ 45 s,共 35 个循环;72 ℃ 再延伸 10 min。反应产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离,用溴化乙锭染色,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 2015 年分离得到的江苏省稻瘟病菌代表菌株,分别为 ZB7、ZC11、ZD5、ZE3、ZF1、ZG1,并由植物保护研究所进行接种鉴定。水稻苗瘟抗性鉴定采用苗期喷雾法进行接种,每个处理 3 次重复。苗瘟抗性分为 6 级,0 级为免疫,1 级为高抗,2 级为抗病,3 级为中抗,4 级为感病,5 级为高感。

水稻穗颈瘟的抗性鉴定采用上述稻瘟病菌菌株孢子的混合液在水稻孕穗初期进行注射接种。在水稻成熟后进行水稻穗颈瘟的抗性调查。穗颈瘟抗性分为 6 级,0 级为无病,1 级为抗病,3 级为中抗,5 级为中感,7 级为感,9 级为高感。

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-ta*、*Pi-b*、*Pi-kh*/*Pi54* 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^[7];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* 基因不能扩增出目的片段,但 *NPi-b* 引物扩增出 803 bp 片段的材料携带有感病基因^[2];抗病基因 *Pi-kh* 功能标记为共显性标记,扩增片段大小为 216 bp(抗)/359 bp(感)^[8]。

表 1 用于 PCR 反应的引物名称、序列及预期片段长度

目的基因	引物名称	序列 (5'→3')	片段长度 (bp)
<i>Pi-ta</i>	<i>Pi-ta-F</i>	AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	1 042
	<i>Pi-ta-R</i>	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>Pi-ta</i>	<i>NPi-ta-F</i>	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	1 042
	<i>NPi-ta-R</i>	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>Pi-b</i>	<i>Pi-b-F</i>	GAACAATGCCCAAACTTGAGA	365
	<i>Pi-b-R</i>	GGGTCCACATGTCAGTGAGC	
<i>Pi-b</i>	<i>NPi-b-F</i>	TGGTGCTCGGTAGTCACT	803
	<i>NPi-b-R</i>	GGGAAGCGGATCCCTAGGTCT	
<i>Pi-kh</i>	<i>Pi54-F</i>	CAATCTCCAAAGTTTTCAGG	216/359
	<i>Pi54-R</i>	GCTTCAATCACTGCTAGACC	

2 结果与分析

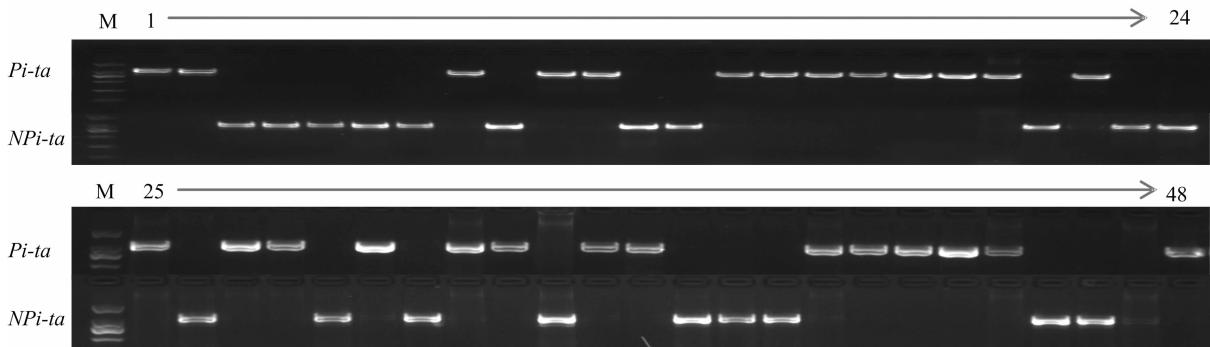
2.1 抗稻瘟病基因功能标记检测

利用抗稻瘟病基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-kh* 标记检测 95 份试验材料,由表 2 可知,检测到携带 *Pi-ta* 抗病基因的材料有 59 份(部分结果见图 1),携带 *Pi-b* 抗病基因的材料有 74 份,携带 *Pi-kh* 抗病基因的材料有 85 份。检测到仅携带 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-kh* 基因的材料分别有 1、3、3 份,同时携带 *Pi-ta*、*Pi-b* 基因的材料有 5 份,同时携带 *Pi-ta*、*Pi-kh* 基因的材料有 16 份(1 份 *Pi-ta* 检测为杂合),同时携带 *Pi-b*、*Pi-kh* 基因的材料有 29 份,3 个基因都携带的材料有 37 份,3 个基因都不携带的材料有 1 份。

表 2 供试材料抗病基因的分布及与苗瘟抗性等级的相关性

抗病基因	材料数 (份)	各苗瘟抗性等级的材料数(份)					
		0	1	2	3	4	5
no	1	0	0	1	0	0	0
<i>Pi-ta</i>	1	0	1	0	0	0	0
<i>Pi-b</i>	3	0	1	2	0	0	0
<i>Pi-kh</i>	3	1	0	1	1	0	0
<i>Pi-ta</i> + <i>Pi-b</i>	5	0	1	2	1	1	0
<i>Pi-ta</i> + <i>Pi-kh</i>	16	0	11	5	0	0	0
<i>Pi-b</i> + <i>Pi-kh</i>	29	0	8	14	5	2	0
<i>Pi-ta</i> + <i>Pi-b</i> + <i>Pi-kh</i>	37	2	22	5	6	1	1
总计	95	3	44	30	13	4	1

注:“no”表示不含抗病基因。表 4 同。



M 为 DNA marker; 1~48 为表 3 中对应的材料
图 1 *Pi-ta* 基因功能标记引物对部分材料的检测结果

2.2 水稻苗瘟的抗性鉴定

由表 2 可知,苗瘟等级为 0 级的材料有 3 份,苗瘟等级为

1 级的材料有 44 份,苗瘟等级为 2 级的材料有 30 份,苗瘟等级为 3 级的材料有 13 份,苗瘟等级为 4 级的材料有 4 份,苗

瘟等级为 5 级的材料有 1 份。携带抗病基因 $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-kh$ 的水稻品种,其苗瘟抗性等级绝大部分都在中抗及以上,但同时携带抗病基因 $Pi-ta$ 、 $Pi-kh$ 的水稻品种,苗瘟抗性更高,大部分品种都达到高抗及以上水平,但也有 1 个品种同时携带抗病基因 $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-kh$,苗瘟抗性等级为高感。

2.3 水稻穗颈瘟的抗性鉴定

由表 3 可知,在水稻孕穗初期人工接种鉴定穗颈瘟抗性等级为 0、1 级的材料均有 0 份,为 3 级的材料有 7 份,为 5 级的材料有 51 份,为 7 级的材料有 35 份,为 9 级的材料有 2 份。

表 3 95 份材料苗瘟、穗颈瘟人工鉴定与分子标记检测结果

编号	材料	苗瘟抗性等级 (级)	穗颈瘟抗性等级 (级)	稻瘟病抗性综合指数	$Pi-ta$ 基因	$Pi-b$ 基因	$Pi-kh$ 基因	编号	材料	苗瘟抗性等级 (级)	穗颈瘟抗性等级 (级)	稻瘟病抗性综合指数	$Pi-ta$ 基因	$Pi-b$ 基因	$Pi-kh$ 基因
1	宁 5837	1	5	4.50	+	+	+	49	瑞合 02	3	3	5.00	+	+	+
2	华丰 053	1	5	4.50	+	+	+	50	瑞友 16028	1	5	5.00	-	+	+
3	W028	2	7	6.25	-	+	+	51	苏 1785	1	5	5.00	-	+	+
4	W024	2	7	6.25	-	+	+	52	仪 3271	4	9	7.75	-	+	+
5	盐稻 5366	3	7	6.50	-	+	+	53	扬辐粳 5018	3	7	6.50	-	-	+
6	盐稻 5109	2	7	6.25	+	+	+	54	扬辐粳 5008	1	5	4.50	+	+	+
7	泰粳 244	2	7	6.25	-	-	-	55	泗 15-301	2	3	3.75	-	+	+
8	泰粳 5854	0	3	3.00	+	+	+	56	南粳 53013	1	5	4.50	+	+	+
9	泰粳 5354	2	7	6.25	-	+	+	57	南粳 52005	1	5	4.50	+	+	+
10	通粳 15-2	2	3	4.25	+	+	-	58	瑞华 011	1	5	4.50	+	+	+
11	N12-348	2	7	6.25	+	-	+	59	中江粳 16-8	1	5	5.00	+	-	+
12	5199	2	7	6.25	-	+	+	60	淮粳 6380	2	5	4.75	+	-	+
13	5370	3	5	5.00	-	+	+	61	宁 5840	4	5	5.75	+	+	+
14	常粳 16-5	2	5	5.25	+	-	+	62	S1318	1	5	5.00	-	+	+
15	常粳 16-6	2	7	6.25	+	+	+	63	云粳 1 号	2	7	6.25	-	+	-
16	镇稻 458	3	5	5.00	+	+	+	64	5214	3	7	6.50	-	+	+
17	镇稻 451	1	5	4.50	+	+	+	65	武粳 K16	1	7	6.00	+	+	+
18	镇糯 817	1	5	4.50	+	+	+	66	中江糯 378	1	5	4.50	+	+	+
19	隆粳 84	3	7	6.50	+	+	+	67	焦粳 884	1	5	5.00	+	-	+
20	星粳 771	1	5	5.00	+	-	+	68	中种粳 1555	4	5	5.75	+	+	-
21	盐鉴 3785	2	7	6.25	-	-	+	69	迟粳 075	3	7	6.50	+	+	+
22	扬农粳 7937	1	5	5.00	+	+	+	70	禾粳 170	2	5	4.75	-	+	+
23	徐农 31723	2	7	6.25	-	+	+	71	苏秀 867	2	5	4.75	-	+	+
24	徐 32075	3	5	5.50	-	+	+	72	宁 5820	1	5	4.50	+	+	-
25	姜丰 457	5	7	7.00	+	+	+	73	C16-5	2	7	6.25	+	-	+
26	H048	2	7	6.25	-	+	+	74	淮 399	1	7	6.00	+	-	+
27	金粳 263	3	7	6.50	+	+	+	75	C16-6	2	5	5.25	+	+	+
28	宁 5826	1	5	5.00	+	+	+	76	151465	2	5	4.75	+	+	-
29	武 5218	1	5	4.50	-	+	+	77	151493	2	5	4.75	-	+	-
30	武 5445	1	7	6.00	+	+	+	78	保科稻 1566	2	7	6.25	-	+	+
31	武粳 107	2	7	6.25	-	+	+	79	保丰 1536	3	7	6.50	+	+	-
32	金糯 262	1	5	4.50	+	+	+	80	练 601	1	5	4.50	+	+	+
33	H332	1	7	6.00	+	-	+	81	嘉粳 808	1	5	4.50	+	+	+
34	5373	1	5	5.00	-	+	+	82	沪稻 36 号	1	3	3.50	+	-	+
35	华粳 043	2	5	4.75	+	-	+	83	徐稻 9158	4	7	6.25	-	+	+
36	华粳 0031	1	7	6.00	+	+	+	84	灵谷粳 6 号	1	5	4.50	+	-	+
37	华粳 5286	3	7	6.50	-	+	+	85	射粳 1 号	1	7	6.00	-	+	-
38	振稻 25196	1	5	5.00	-	+	+	86	皖垦粳 117	1	5	5.00	+	+	+
39	振稻 25186	0	5	4.25	-	-	+	87	皖垦粳 218	1	5	4.50	+	-	+
40	农种 1451	1	5	5.00	+	+	+	88	淮 869	1	5	4.50	+	-	-
41	金梗糯 5215	2	7	6.25	+	+	+	89	淮 700	1	5	4.50	+	+	+
42	金梗稻 5237	2	7	6.25	+	+	+	90	淮 862	0	5	4.75	+	+	+
43	扬粳 5479	1	5	5.00	+	-	+	91	宁 5833	1	3	3.50	+	+	+
44	扬粳 5515	1	9	7.00	+	-	+	92	海陵糯稻	2	5	5.25	-	+	+
45	福梗 5394	2	7	6.25	-	+	+	93	苏 1795	2	7	6.25	-	+	+
46	宁 5838	1	5	5.00	-	+	+	94	金稻 58	1	3	3.50	+	-	+
47	华丰 054	1	5	5.00	-	+	+	95	仪 162	1	5	4.50	+	+	+
48	宁 5838	3	5	5.00	+	+	+								

注:“+”表示携带抗病基因;“-”表示携带感病基因。

2.4 抗稻瘟病基因与穗颈瘟抗性的关系

由表 4 可知,携带 $Pi-ta$ 抗病基因的材料有 59 份,携带 $Pi-b$ 基因的材料有 74 份,携带 $Pi-kh$ 基因的材料有 85 份。不携带这 3 个抗病基因的材料有 1 份,它的稻瘟病抗病等级为 7 级。只携带其中 1 个抗病基因的材料有 7 份,其中稻瘟病抗病等级为 5 级的材料有 3 份,为 7 级的材料有 4 份;携带 2 个基因的材料有 50 份,其中稻瘟病抗病等级为 3 级的材料有 4 份,为 5 级的材料有 25 份,为 7 级的材料有 19 份,为 9 级的材料有 2 份;携带 3 个抗病基因的材料有 37 份,其中稻瘟病抗病等级为 3 级的材料有 3 份,为 5 级的材料有 23 份,

表 4 供试材料抗病基因的分布及与穗颈瘟抗性等级的相关性

抗病基因	材料数量 (份)	各穗颈瘟抗性等级的材料数量(份)					
		0 级	1 级	3 级	5 级	7 级	9 级
no	1	0	0	0	0	1	0
$Pi-ta$	1	0	0	0	1	0	0
$Pi-b$	3	0	0	0	1	2	0
$Pi-kh$	3	0	0	0	1	2	0
$Pi-ta + Pi-b$	5	0	0	1	3	1	0
$Pi-ta + Pi-kh$	16	0	0	2	9	4	1
$Pi-b + Pi-kh$	29	0	0	1	13	14	1
$Pi-ta + Pi-b + Pi-kh$	37	0	0	3	23	11	0
总计	95	0	0	7	51	35	2

3 结论与讨论

传统的水稻抗病育种一般通过杂交、回交、复交等方法,这种育种方法既耗时又耗力。分子标记辅助选择是结合生物技术的一种新型育种方法,主要利用与目的基因紧密连锁或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。

水稻抗病育种一直是育种家的重点研究内容之一,特别是稻瘟病的抗病育种^[9-11]。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。本研究利用 $Pi-b$ 、 $Pi-ta$ 、 $Pi-kh$ 功能标记对 2016 年迟熟中梗稻预备试验 95 份材料进行抗病基因检测,携带 $Pi-b$ 、 $Pi-ta$ 、 $Pi-kh$ 抗病基因的品种,其苗瘟抗性等级基本达到中抗水平,同时携带 $Pi-ta$ 、 $Pi-kh$ 抗病基因的大部分品种抗性穗颈瘟达到 5 级,表现为中感。分别携带 $Pi-b$ 和 $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 和 $Pi-kh$ 的品种,穗颈瘟表现为中感、感病或高感。同时携带 $Pi-b$ 、 $Pi-ta$ 、 $Pi-kh$ 抗病基因的品种有 1 份苗瘟抗性等级为 5 级,其穗颈瘟抗性等级达到 7 级,另外还有 6 份材料苗瘟为 1 级(高抗),但穗颈瘟达到 7 级,苗瘟和穗颈瘟抗性表现不一致,表明苗瘟和穗颈瘟抗性控制可能不一致。携带有 3 个抗病基因的材料有 37 份,稻瘟病抗性综合指数 > 5.00 的材料有 12 份,达不到江苏品种审定标准,这与范方军等的研究结果^[12]不一致,表明随着江苏省稻瘟病生理小种的进化,稻瘟病抗病基因 $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-kh$ 的抗性正在丧失,亟须进一步挖掘利用其他抗病基因。

参考文献:

[1] 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]. Plant Journal, 1999, 19(1): 55-64.

为 7 级的材料有 11 份,为 9 级的材料有 0 份。该结果表明,只携带 1 个抗病基因或不携带抗病基因的材料其抗性都为 5 级或以上,且大部分都在 7 级或以上,携带 2 个或 3 个抗病基因的材料其抗性等级可达到 3 级,且大部分材料的抗性等级为 5 级。同时携带稻瘟病抗病基因 $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi-kh$ 的材料有 37 份,其中 3 份穗颈瘟为中抗,其余为感病,表明聚合这 3 个基因的材料穗颈瘟表现既有抗病也有感病,说明这些材料的抗性不是由这 3 个基因互作产生的,须要进一步挖掘这些材料的抗病基因,并应用于穗颈瘟的抗病育种研究中。

[2] 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.

[3] 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.

[4] 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.

[5] 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.

[6] 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.

[7] Wang Z, Jia Y, Rutger J N, 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.

[8] 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]. Molecular Breeding, 2011(27): 129-135.

[9] 张银霞, 张敏, 田蕾, 等. 宁夏水稻品种抗稻瘟病基因 $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 和 $Pi9$ 的检测分析 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(9): 35-39.

[10] 张亚玲, 赵宏森, 曹有鑫, 等. 抗性频率、联合致病性系数和联合抗病性系数在水稻品种抗瘟性评价中的应用 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(7): 158-161.

[11] 王伟刚, 刘永峰. 中国稻瘟病菌遗传多样性研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 196-198.

[12] 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.