

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2025.07.005

刘忠贤, 陈泉, 刘军化, 等. 水稻骨干亲本抗稻瘟病基因组成及抗性评价 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(7): 59-69.

水稻骨干亲本抗稻瘟病基因组成及抗性评价

刘忠贤, 陈泉, 刘军化, 但方,
黄世炎, 雷树凡, 吕直文, 黄成志

重庆三峡农业科学院, 重庆 万州 404155

摘要: 为探究三峡库区自育水稻骨干亲本稻瘟病基因的组成及抗性评价, 利用 7 个稻瘟病抗性主效基因的 SSR 分子标记鉴定骨干亲本中主效基因的聚合方式, 结合自然诱发和人工接种两种方式, 对不同抗病基因型的亲本进行田间抗性鉴定, 评价不同基因聚合方式亲本的抗性等级。结果表明: 70 份水稻骨干亲本中, *Pi-kh*、*Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi2*、*Pi9*、*Pi5*、*Pi-km* 基因的分布频率不同, 分别是 22.9%、7.1%、22.9%、95.7%、97.1%、75.7%、82.9%, 7 个抗性主效基因在骨干亲本中均有出现。全部亲本中含有的抗性基因均在 2 个及以上, 其中聚合 6 个抗性基因的亲本份数为 2 份, 表现为高抗; 聚合 5 个抗性基因的亲本份数为 17 份, 表型高抗的有 7 份、中抗 3 份、抗病 7 份; 聚合 4 个抗性基因的亲本份数为 35 份, 表型高抗的有 12 份、中抗 10 份、抗病 11 份、中感 2 份; 聚合 3 个抗性基因的亲本份数为 14 份, 表型高抗的有 1 份、中抗 12 份, 中感 1 份; 聚合 2 个抗性基因的亲本份数为 2 个, 表型抗病的有 1 份, 中抗 1 份。稻瘟病抗性基因聚合数量越多表型抗性越强, 但在抗性基因个数相同时抗性等级并不相同, 分析与基因的广谱性、当地优势生理小种及环境因素有关。在实际育种工作中选用亲本时, 应将抗性基因型检测与田间抗性鉴定相结合。

关键词: 水稻; 骨干亲本; 稻瘟病; 基因; 三峡库区

中图分类号: S435.111

文献标识码: A

文章编号: 1673-9868(2025)07-0059-11

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Composition of Blast Resistance Genes and Resistance Evaluation of Rice Backbone Parental Lines

LIU Zhongxian, CHEN Quan, LIU Junhua, DAN Fang,
HUANG Shiyan, LEI Shufan, LYU Zhiwen, HUANG Chengzhi

Chongqing Three Gorges Academy of Agricultural Sciences, Wanzhou Chongqing 404155, China

Abstract: To explore the composition of blast resistant genes and evaluate the resistance of rice backbone

收稿日期: 2025-03-06

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项(CSTB2022TIAD-KPX0009); 重庆市现代农业产业技术体系项目(CQMAITS202301); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-67); 重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJQN202201243, KJQN202301236)。

作者简介: 刘忠贤, 硕士, 农艺师, 主要从事水稻栽培育种研究。

通信作者: 黄成志, 正高级农艺师。

parental lines self-bred in the Three Gorges Reservoir area, provide high-quality backbone parental lines for efficient breeding of new rice varieties resistant to blast disease. Using SSR molecular markers of seven major rice blast resistance genes to identify the aggregation mode of major genes in the backbone parental lines. Combining natural induction and artificial inoculation to identify the field resistance of parental lines of different disease resistant genotypes and evaluate the level of resistance of parental lines with different gene aggregation methods. The result showed that among 70 rice backbone parental lines, the distribution frequency of *Pi-kh*, *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi2*, *Pi9*, *Pi5* and *Pi-km* genes was different at 22.9%, 7.1%, 22.9%, 95.7%, 97.1%, 75.7% and 82.9%, respectively. Seven major resistance genes all presented in the backbone parental lines. All of parental lines contained 2 or more resistance genes. Two of parental lines aggregated 6 resistance genes showing high resistance. Seventeen lines carried 5 resistance genes, including 7 lines with the phenotype of high resistance, 7 lines with resistance, and 3 lines with moderate resistance. The number of parental lines aggregated 4 resistance genes was 35, with 12 lines exhibiting high resistance, 11 lines exhibiting resistance, 10 lines exhibiting moderate resistance, and 2 lines exhibiting moderate susceptibility. There were 14 parental lines that aggregate 3 resistance genes, including 1 line with high resistance, 12 lines with moderate resistance, and 1 line with moderate susceptibility. 2 parental lines aggregated 2 resistance genes with 1 line exhibiting resistance and 1 line with moderate resistance. The more aggregation of resistance genes for rice blast disease, the higher the phenotypic disease resistance. However, when the number of resistance genes is the same, the resistance level is not same. This is related to the broad-spectrum of genes, local dominant physiological races, and environmental factors. When selecting parents in practical breeding work, resistance genotype detection should be combined with field resistance identification.

Key words: rice(*Orgza sativa* L.); backbone parental lines; rice blast disease; gene; Three Gorges Reservoir area

稻瘟病长期以来严重影响我国水稻粮食生产安全, 常年造成水稻减产 40%~50%, 严重时会造成水稻颗粒无收^[1-3], 因此, 全国各地农业植保部门将其作为水稻生产中的主要检疫病害, 农作物品种审定中也将水稻是否抗稻瘟病作为主要指标, 具有一票否决权^[4]。三峡库区地处长江中上游, 属于亚热带湿润气候区, 常年阴雨寡照, 高温高湿的气候条件更适宜稻瘟病菌的生长繁殖, 加上水稻抽穗灌浆期正处在高温伏旱季节, 于是形成了独特的稻瘟病致病菌群。近年来, 随着优质食用稻品种的大量引入, 稻瘟病的发生也呈上升趋势, 因此开展三峡库区水稻骨干亲本材料稻瘟病的抗性评价及基因型检测对安全生产具有积极意义。

基因聚合是获得品种稻瘟病抗性的有效方法^[5-7], 育种家们将抗性基因渗入到目标材料中, 创制了许多优良的抗性品种^[8-10]。由于大多数骨干亲本材料的基因型不明确, 水稻基因育种中还未出现具有突破意义的抗病虫基因及株型基因, 加之亲本选择、分子标记及实验条件的局限性也制约着分子标记辅助育种的进程^[11], 因此为分析我国各稻作区抗性基因的分布, 朱赫^[12]利用全基因组测序对 11 个稻瘟病抗性基因在 65 份骨干亲本中的分布情况进行了检测, 结果表明 *Pi2* 广泛分布, 而 *Pi-ta* 仅有 11%。李进波等^[13]研究表明 7 个已克隆的稻瘟病主效基因中, *Pi2* 是一个能抵御我国各稻区特别是西南稻区的稻瘟病, 且具有广谱抗性的基因, 在抗稻瘟病育种研究中有着非常重要的地位; 稻瘟病抗病基因 *Pi-kh* 是对稻瘟病菌具有广谱抗性的主效基因, 在四川、贵州、重庆、福建、吉林等地也具有较强的抗性。何弯弯等^[14]指出 *Pi-b* 基因在水稻抗性材料中出现的频率较高, 但其对稻瘟病的抗性贡献较小, 聚合其它抗性基因后对品种抗性作用的提升也不显著。MAO 等^[15]的研究表明 *Pi-ta*、*Pi5* 和 *Pi-b* 基因在全国各稻作区均有较广的分布, 且在不同区域表现不同的分布特点, *Pi-b* 基因在辽宁、上海和黄淮海稻作区分别最广, *Pi5* 基因在重庆稻作区分

布最广^[16-18]。杨好等^[19]发现 *Pi-b* 基因在四川盆地稻作区的水稻品种中分布最广。

针对稻瘟病菌生理小种存在高度变异的特点, 根据抗稻瘟病基因的 SSR 分子标记对三峡库区亲本筛选的有效性^[20], 对自主选育的 70 份水稻骨干亲本开展了稻瘟病基因型与抗性之间关系的研究, 探明 7 个稻瘟病抗性主效基因(*Pi-kh*、*Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi2*、*Pi9*、*Pi5* 和 *Pi-km*)在水稻骨干亲本中的分布情况, 运用田间抗性与人工接种相结合对稻瘟病进行抗性评价, 分析不同基因型对稻瘟病的田间抗性水平, 根据基因型和抗病性制定育种策略, 旨在更高效地选育出抗稻瘟病的水稻新品种。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为三峡库区自主选育的 70 份骨干材料(表 1), 父母本均来自三峡库区自主选育的优异水稻亲本材料, 对照材料为高秆糯稻, 由重庆三峡农业科学院水稻研究室提供。三峡库区近 3 年来流行且致病力强的稻瘟病致病菌 ZA11、ZB11、ZA12 和 ZB12, 由重庆三峡农业科学院分离、纯化、鉴定和保存。CTAB 提取液、氯仿/异戊醇、无水乙醇、75%乙醇、双蒸水由重庆三峡农业科学院配制。主要仪器: PCR 扩增仪(A300), 杭州朗基科学仪器有限公司; Gel DOCTMXR+凝胶成像系统(FR-200A), 上海复日科技有限公司; 电泳仪(DYY-12C), 北京市六一仪器厂; 电泳槽(DYC2-30), 北京市六一仪器厂; 高通量组织研磨器(YMY-240CL), 浙江托普云农科技股份有限公司; 水平摇床(WD-9405B), 上海一恒科学仪器有限公司。

表 1 供试水稻品种

编号	田间代号	亲本来源	编号	田间代号	亲本来源	编号	田间代号	亲本来源
1	FJ-1	神农 4 优 90	25	FJ-25	305A/万恢 76	49	FJ-49	宜香优 45
2	FJ-2	神 9 优 24	26	FJ-26	306A/万恢 76	50	FJ-50	陵香 1A/万恢 45
3	FJ-3	万 31 优 45	27	FJ-27	309A/万恢 76	51	FJ-51	万 22A/万恢 90
4	FJ-4	万 5 优 24	28	FJ-28	310A/万恢 76	52	FJ-52	万 31A/万恢 90
5	FJ-5	万 7 优 24	29	FJ-29	311A/万恢 76	53	FJ-53	神 9A/万恢 90
6	FJ-6	万 19 优 45	30	FJ-30	万香 79A/万恢 76	54	FJ-54	201A/R1057
7	FJ-7	万 22 优 45	31	FJ-31	神农 4A/万恢 76	55	FJ-55	203A/R1057
8	FJ-8	万丰优 21	32	FJ-32	陵香 1A/万恢 76	56	FJ-56	万 5A/R1057
9	FJ-9	陵香优 90	33	FJ-33	万香 79A/万恢 96	57	FJ-57	万 19A/R1057
10	FJ-10	万源优 45	34	FJ-34	神农 4 优 96	58	FJ-58	万 22A/R1057
11	FJ-11	万宝优 24	35	FJ-35	陵香 1A/万恢 96	59	FJ-59	万 31A/R1057
12	FJ-12	万源优 24	36	FJ-36	陵 9A/万恢 96	60	FJ-60	万 55A/R1057
13	FJ-13	万 5A/万恢 21	37	FJ-37	201A/万恢 99	61	FJ-61	万香 79A/R1057
14	FJ-14	万 19A/万恢 21	38	FJ-38	万 5A/万恢 99	62	FJ-62	神农 4A/R1057
15	FJ-15	万 22A/万恢 21	39	FJ-39	302A/万恢 45	63	FJ-63	陵香 1A/R1057
16	FJ-16	万 53A/万恢 21	40	FJ-40	303A/万恢 45	64	FJ-64	万 23A/R1048
17	FJ-17	万 55A/万恢 21	41	FJ-41	304A/万恢 45	65	FJ-65	万 31A/R1048
18	FJ-18	306A/万恢 24	42	FJ-42	305A/万恢 45	66	FJ-66	万 55A/R1048
19	FJ-19	309A/万恢 24	43	FJ-43	306A/万恢 45	67	FJ-67	万 73A/R1048
20	FJ-20	万 5A/万恢 24	44	FJ-44	307A/万恢 45	68	FJ-68	神 9A/R1048
21	FJ-21	万 31A/万恢 24	45	FJ-45	308A/万恢 45	69	FJ-69	神农 4A/R1048
22	FJ-22	万 55A/万恢 24	46	FJ-46	309A/万恢 45	70	FJ-70	莹丰优 232
23	FJ-23	302A/万恢 76	47	FJ-47	311A/万恢 45			
24	FJ-24	303A/万恢 76	48	FJ-48	神 9 优 45			

1.2 试验方法

1.2.1 稻瘟病菌悬浮液的配制

稻瘟病菌悬浮液采用稻秸浸出液(30 g 稻秸剪碎,用 1 000 mL 清水浸泡 16~24 h)与 PAD 培养基(200 g 马铃薯去皮,切碎,用 1 000 mL 清水浸泡 2 h)按 1:1 的比例配制。稻瘟病菌孢子的扩大培养:收集稻瘟病菌孢子时,用灭菌水洗脱稻秸上生长的稻瘟病菌孢子;再用 3 层灭菌纱布过滤,去除杂质;最后将孢子浓度调整至 2×10^5 个/mL 备用。孢子悬浮液现配现用,接种前将两种病原菌孢子悬浮液等体积混合,供田间喷雾接种。

1.2.2 稻瘟病田间抗性评价

2022—2024 年在重庆三峡农业科学院的稻瘟病抗性鉴定圃进行试验,采用自然发病和人工接种相结合的方法开展稻瘟病的抗病性鉴定。以每份水稻骨干材料为一小区,株行距 16 cm $\times$ 26 cm,每份材料 2 行,每行 10 株,共 20 株;各骨干材料间采用比法排列,每 10 份骨干材料间种 2 行高秆糯稻作为感病对照;在病圃四周种植感病水稻 3~6 行,作为诱发行;于水稻孕穗期至破口期前数天,用背负式喷雾器对目标小区接种 ZA11、ZB11、ZA12 和 ZB12 菌株孢子悬浮液 2~3 次,每 48 h 接种 1 次。整个生育期保持适量的水深、适当增施氮肥;可根据病圃害虫、杂草种类和程度使用一定的杀虫剂和除草剂,不使用任何杀菌剂;其他田间管理措施参照常规办法。当对照高秆糯稻充分发病时,对目标小区水稻骨干亲本进行表型调查(图 1),参照国际水稻所稻瘟病抗性评价分级标准(表 2)计算抗病比率。

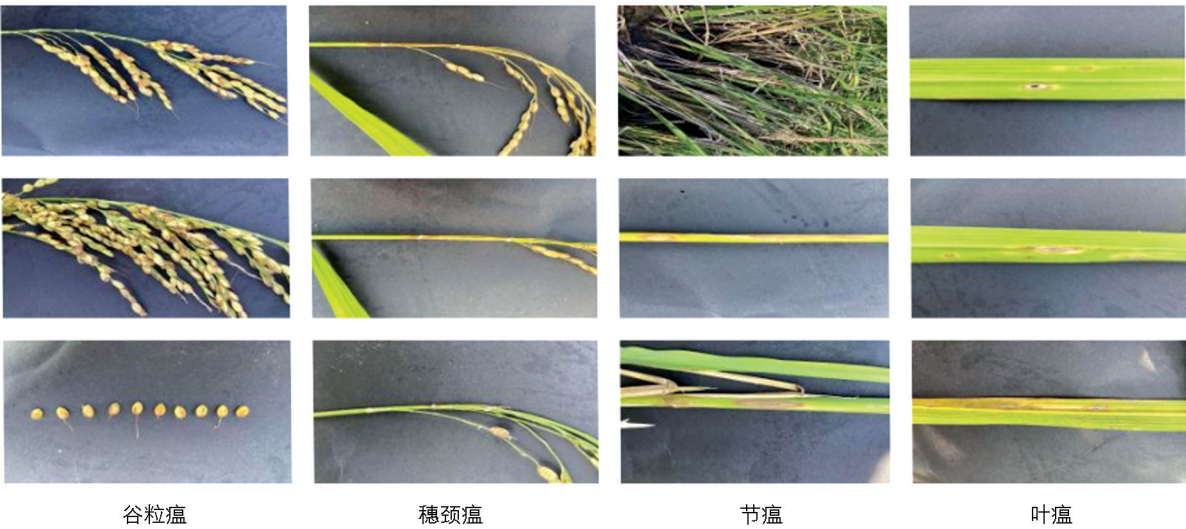


图 1 水稻不同部位稻瘟病田间表型

表 2 稻瘟病抗性评价分级标准

抗性等级	抗性类别	病情指数	抗性等级	抗性类别	病情指数
0	HR(高抗)	<0.1	3	MS(中感)	[15.0~25.0)
1	R(抗病)	[0.1~5.0)	4	S(感病)	[25.0~50.0)
2	MR(中抗)	[5.0~15.0)	5	HS(高感)	≥ 50.0

1.2.3 抗稻瘟病基因检测

选取 3~5 片亲本分蘖期的嫩绿叶片,采用 CTAB 法提取基因组 DNA。利用抗稻瘟病基因的 SSR 分子标记引物(表 3)进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(10.0 μ L): DNA 模板 1.0 μ L, 10 $\times$ PCR 缓冲液(含 $MgCl_2$) 1.0 μ L, 10 mmol/L 引物 1.0 μ L, 2.5 mmol/L dNTPs 0.5 μ L, 5 U/mL Taq DNA 聚合酶 0.5 μ L, ddH₂O

补足至 10.0 μ L。PCR 扩增程序：95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min；95 $^{\circ}$ C 30 s，55 $^{\circ}$ C 30 s，72 $^{\circ}$ C 30 s，进行 35 个循环；72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物加入 2.0 μ L 上样缓冲液充分混匀后，以 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测；取出后放入含溴化乙锭的 0.5 $\times$ TBE 缓冲液中染色 3~5 min；最后用凝胶成像系统进行扫描，记录结果。

表 3 抗稻瘟病基因的 SSR 分子标记引物

目的基因	引物名称	引物序列(5'-3')	预期片段/bp
<i>Pi-ta</i>	<i>Pi-ta</i> F	AGCAGGTTATAAGCTAGGCC	1 042
	<i>Pi-ta</i> R	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>pi-ta</i>	<i>NPi-ta</i> F	AGCAGGTTATAAGCTAGCTAT	1 042
	<i>NPi-ta</i> R	CTACCAACAAGTTCATCAAA	
<i>Pi-b</i>	<i>Pi-b</i> F	GAACAATGCCCAAACCTTGAGA	365
	<i>Pi-b</i> R	GGGTCCACATGTCAGTGAGC	
<i>Pi-b</i>	<i>NPi-b</i> F	TCGGTGCCTCGGTAGTCAGT	803
	<i>NPi-b</i> R	GGGAAGCGGATCCTAGGTCT	
<i>Pi-km1</i>	<i>Pi-km1</i> F	TGAGCTCAAGGCAAGAGTTGAGGA	174/213
	<i>Pi-km1</i> R	TGTTCCAGCAACTCGATGAG	
<i>Pi-km2</i>	<i>Pi-km2</i> F	CAGTAGCTGTGTCTCAGAACTATG	290/332
	<i>Pi-km2</i> R	AAGGTACCTCTTTTCGGCCAG	
<i>Pi5</i>	<i>Pi5</i> F	ATAGATCATGCGCCCTCTTG	206
	<i>Pi5</i> R	TCATACCCCATTCGGTCATT	307
<i>Pi9SNP</i>	<i>Pi9SNP</i> F	CGCCGGTTGATAAGTAAAAGCT	126
	<i>Pi9SNP</i> R	CAAGAACTAATATCTACCCATGG	
<i>Pi2SNP</i>	<i>Pi2SNP</i> F	F: TACTCTTCGTTGTATAGGAC	462
	<i>Pi2SNP</i> R	GGAGGAGGAGATGAAATAGAATC	
<i>Pi-kh</i>	<i>Pi-kh</i> F	CAATCTCCAAAGTTTTTCAGG	216
	<i>Pi-kh</i> R	GCTTCAATCACTGCTAGACC	359

1.3 数据与统计分析

采用 Origin 2021 对结果和数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 水稻骨干亲本稻瘟病(穗颈瘟)田间抗性鉴定结果

水稻骨干材料中不同基因型田间抗性等级不同，结果见表 4。虽然不同基因型抗性在不同年份之间存在一定的差异，但整体表型基本一致，70 份骨干亲本中表型为中感(MS)的有 3 份，其余均表现为抗性以上，其中表型高抗(HR)的骨干亲本份数为 22 份，占总数比例的 31.4%；表型抗病(R)的骨干亲本份数为 19 份，占总数比例的 27.1%；表型中抗(MR)的骨干亲本为 26 份，占总数比例的 37.1%，这与材料中携带抗病基因的个数大体呈现一致性。

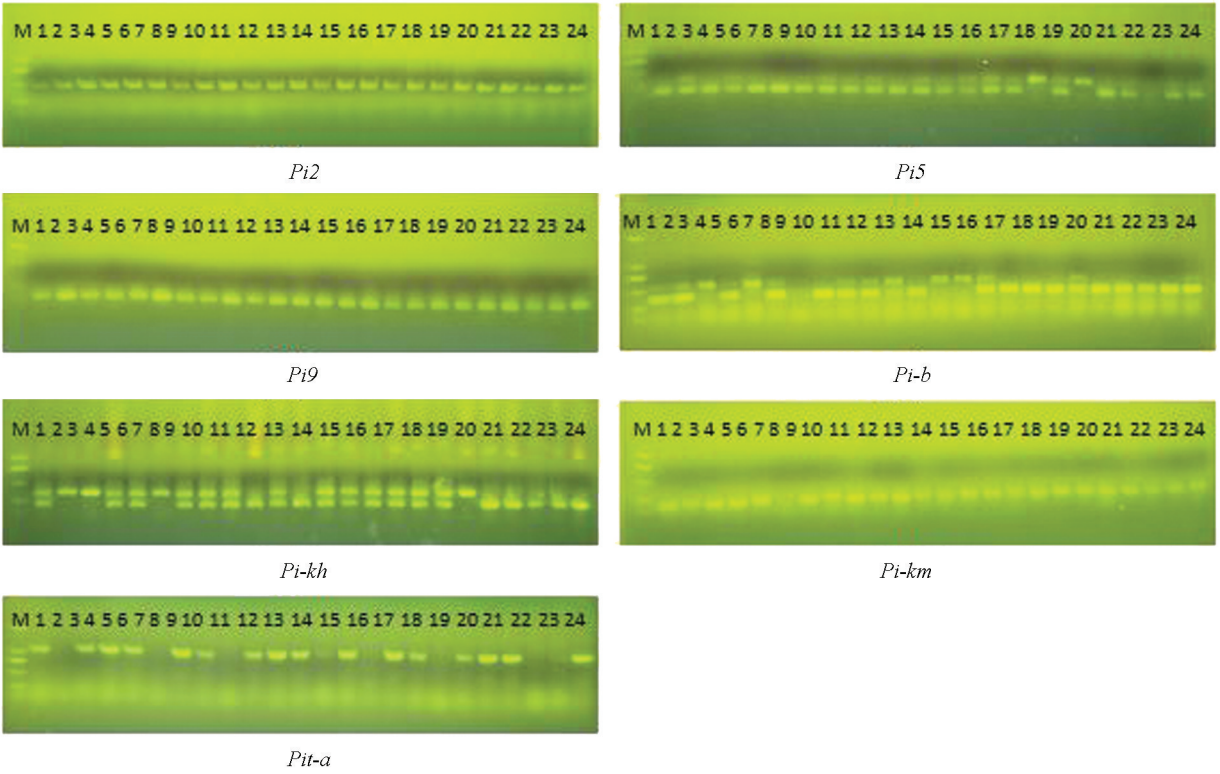
表 4 70 份供试水稻骨干亲本的田间穗颈瘟抗性

田间代码	抗性水平			平均值	田间代码	抗性水平			平均值
	2022 年	2023 年	2024 年			2022 年	2023 年	2024 年	
FJ-1	HR	R	HR	HR	FJ-36	—	R	R	R
FJ-2	HR	HR	—	HR	FJ-37	HR	R	—	R
FJ-3	R	—	HR	R	FJ-38	HR	HR	R	HR
FJ-4	MR	MR	MR	MR	FJ-39	R	R	—	R
FJ-5	R	R	R	R	FJ-40	MR	R	MR	MR
FJ-6	HR	R	HR	HR	FJ-41	MR	—	MR	MR
FJ-7	MR	R	MR	MR	FJ-42	R	MR	MR	MR
FJ-8	R	HR	HR	HR	FJ-43	HR	R	HR	HR
FJ-9	HR	—	HR	HR	FJ-44	MR	MR	R	MR
FJ-10	R	MR	—	MR	FJ-45	—	R	MR	R
FJ-11	MR	MS	R	MR	FJ-46	R	HR	R	R
FJ-12	MR	R	—	MR	FJ-47	MR	—	R	R
FJ-13	HR	—	HR	HR	FJ-48	HR	R	HR	HR
FJ-14	R	MR	R	R	FJ-49	MR	R	R	R
FJ-15	HR	R	HR	R	FJ-50	MR	—	MR	R
FJ-16	R	MR	R	R	FJ-51	MR	R	MR	MR
FJ-17	HR	HR	—	HR	FJ-52	MR	HR	HR	HR
FJ-18	MR	MS	MS	MS	FJ-53	HR	HR	—	HR
FJ-19	MR	MR	—	MR	FJ-54	—	MR	MR	MR
FJ-20	MS	MS	—	MS	FJ-55	MR	MR	MR	MR
FJ-21	—	MR	MS	MS	FJ-56	MR	MS	MR	MR
FJ-22	MR	MR	—	MR	FJ-57	—	MR	R	MR
FJ-23	HR	R	HR	HR	FJ-58	R	HR	HR	HR
FJ-24	R	HR	HR	HR	FJ-59	MR	MR	—	MR
FJ-25	R	HR	HR	HR	FJ-60	—	MR	MR	MR
FJ-26	MR	R	R	R	FJ-61	MR	MR	—	MR
FJ-27	HR	HR	HR	HR	FJ-62	MR	MR	—	MR
FJ-28	MR	R	MR	MR	FJ-63	HR	R	HR	HR
FJ-29	MR	MR	—	MR	FJ-64	—	MR	MR	MR
FJ-30	MR	R	R	R	FJ-65	R	HR	HR	HR
FJ-31	MR	HR	R	R	FJ-66	—	MR	MR	MR
FJ-32	—	HR	HR	HR	FJ-67	HR	MR	HR	HR
FJ-33	MR	HR	HR	HR	FJ-68	—	R	MR	MR
FJ-34	R	MR	R	R	FJ-69	R	R	MR	R
FJ-35	MR	R	R	R	FJ-70	MS	MR	MR	MR

注：平均值为 2022—2024 年鉴定表型的综合评价结果，若仅有两年的鉴定结果，则以抗病性最差的为准；“—”表示无鉴定结果。

2.2 水稻骨干亲本的基因型检测结果

从稻瘟病抗性基因分子标记检测结果(图 2)和抗性基因分析结果来看(表 5), 70 份骨干材料中全部含有抗性基因, 且抗病基因的个数均在 2 个及以上。将 70 份水稻骨干材料中 7 个抗稻瘟病基因的组合分布情况(表 5)与田间穗颈瘟的抗性水平(表 4)进行比对, 结果显示供试骨干亲本携带的抗性基因与聚合方式均不同, 抗性表现存在差异。具体表现为: 携带 $Pi-kh + Pi-b + Pi2 + Pi9 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 1 份, 表型为高抗; 携带 $Pi-kh + Pi-ta + Pi2 + Pi9 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 1 份, 表型为高抗; 携带 $Pi-kh + Pi-b + Pi2 + Pi9 + Pi-km$ 基因型的亲本有 2 份, 表型均为高抗; 携带 $Pi-kh + Pi2 + Pi9 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 4 份, 表型高抗的有 2 份, 抗病 2 份; 携带 $Pi-kh + Pi-ta + Pi2 + Pi9 + Pi-km$ 基因型的亲本有 1 份, 表型为高抗; 携带 $Pi-b + Pi2 + Pi9 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 7 份, 表型为高抗的有 1 份、中抗 3 份、抗性 3 份; 携带 $Pi-ta + Pi-b + Pi2 + Pi9 + Pi5$ 基因型的亲本有 1 份, 表型为抗病; 携带 $Pi-ta + Pi2 + Pi9 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 2 份, 表型高抗的有 1 份、抗病 1 份; 携带 $Pi-kh + Pi2 + Pi9 + Pi-km$ 基因型的亲本有 3 份, 表型抗病的有 2 份、中抗 1 份; 携带 $Pi2 + Pi9 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 27 份, 表型高抗的有 8 份、中抗 9 份、抗病 8 份、中感 2 份; 携带 $Pi-kh + Pi2 + Pi9 + Pi5$ 基因型的亲本有 3 份, 表型为高抗的有 2 份、抗病 1 份; 携带 $Pi-b + Pi2 + Pi9 + Pi5$ 基因型的亲本有 2 份, 表型均为高抗; 携带 $Pi2 + Pi9 + Pi-km$ 基因型的亲本有 6 份, 表型为中抗的有 4 份、高抗 1 份、中感 1 份; 携带 $Pi9 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 2 份, 表型均为中抗; 携带 $Pi2 + Pi9 + Pi5$ 基因型的亲本有 3 份, 表型均为中抗; 携带 $Pi-b + Pi2 + Pi9$ 基因型的亲本有 2 份, 表型均为中抗; 携带 $Pi2 + Pi5 + Pi-km$ 基因型的亲本有 1 份, 表型为中抗; 携带 $Pi2 + Pi9$ 基因型的亲本有 1 份, 表型为中抗; 携带 $Pi-kh + Pi-km$ 基因型的亲本有 1 份, 表型为抗病。



M 为 DL 2000 Plus DNA Marker, 1~24 分别为神农 4 优 90、神 9 优 24、万 31 优 45、万 5 优 24、万 7 优 24、万 19 优 45、万 22 优 45、万丰优 21、陵香优 90、万源优 45、万宝优 24、万源优 24、万 5A/万恢 21、万 19A/万恢 21、万 22A/万恢 21、万 53A/万恢 21、万 55A/万恢 21、306A/万恢 24、309A/万恢 24、万 5A/万恢 24、万 31A/万恢 24、万 55A/万恢 24、302A/万恢 76、303A/万恢 76。

图 2 部分骨干亲本的分子标记

表 5 70 份水稻骨干材料 7 个抗稻瘟病基因的组合分布情况

基因个数	基因组合	材料份数	田间代号
6	$Pi-kh+Pi-b+Pi2+Pi9+Pi5+Pi-km$	1	FJ-1
	$Pi-kh+Pi-ta+Pi2+Pi9+Pi5+Pi-km$	1	FJ-27
5	$Pi-kh+Pi-b+Pi2+Pi9+Pi-km$	2	FJ-2、FJ-25
	$Pi-kh+Pi2+Pi9+Pi5+Pi-km$	4	FJ-3、FJ-23、FJ-24、FJ-26
	$Pi-kh+Pi-ta+Pi2+Pi9+Pi-km$	1	FJ-13
	$Pi-b+Pi2+Pi9+Pi5+Pi-km$	7	FJ-19、FJ-33、FJ-34、FJ-35、FJ-36、FJ-61、FJ-62
	$Pi-ta+Pi-b+Pi2+Pi9+Pi5$	1	FJ-31
	$Pi-ta+Pi2+Pi9+Pi5+Pi-km$	2	FJ-38、FJ-46
4	$Pi-kh+Pi2+Pi9+Pi-km$	3	FJ-5、FJ-15、FJ-22
			FJ-6、FJ-8、FJ-10、FJ-14、FJ-16、FJ-20、FJ-21、
	$Pi2+Pi9+Pi5+Pi-km$	27	FJ-37、FJ-39、FJ-40、FJ-41、FJ-42、FJ-43、FJ-44、
			FJ-47、FJ-48、FJ-49、FJ-50、FJ-52、FJ-53、FJ-54、
			FJ-55、FJ-56、FJ-65、FJ-67、FJ-68、FJ-69
3	$Pi-kh+Pi2+Pi9+Pi5$	3	FJ-9、FJ-30、FJ-58
	$Pi-b+Pi2+Pi9+Pi5$	2	FJ-32、FJ-63
	$Pi2+Pi9+Pi-km$	6	FJ-7、FJ-11、FJ-12、FJ-17、FJ-18、FJ-66
	$Pi9+Pi5+Pi-km$	2	FJ-28、FJ-51
	$Pi2+Pi9+Pi5$	3	FJ-29、FJ-57、FJ-60
2	$Pi-b+Pi2+Pi9$	2	FJ-59、FJ-70
	$Pi2+Pi5+Pi-km$	1	FJ-64
	$Pi2+Pi9$	1	FJ-4
	$Pi-kh+Pi-km$	1	FJ-45

2.3 抗稻瘟病基因数量及基因聚合抗病性分析

由表 6 可知，抗病基因 $Pi-kh$ 、 $Pi-ta$ 、 $Pi-b$ 、 $Pi2$ 、 $Pi9$ 、 $Pi5$ 、 $Pi-km$ 分布频率各不相同，分别为 22.9%、7.1%、22.9%、95.7%、97.1%、75.7%、82.9%。携带 $Pi-ta$ 抗性基因的骨干亲本数量最少，仅有 5 个，占总数的 7.1%。携带 $Pi9$ 基因的骨干亲本数量最多，为 68 个，占总数的 97.1%；其次为携带 $Pi2$ 基因的骨干亲本，为 67 个，占总数的 95.7%；携带 $Pi-km$ 抗性基因的骨干亲本数为 58 个，占总数的 82.9%；携带 $Pi5$ 基因的骨干亲本数为 53 个，占总数的 75.7%。携带不同基因个数其抗病比率也不相同，具体表现为：聚合 6 个抗性基因的亲本份数为 2 份，表现为高抗；聚合 5 个抗性基因的亲本份数为 17 份，表型高抗的有 7 份、中抗 3 份、抗病 7 份；聚合 4 个抗性基因的亲本份数为 35 份，表型高抗的有 12 份、中抗 10 份、抗病 11 份、中感 2 份；聚合 3 个抗性基因的亲本份数为 14 份，表型高抗的有 1 份、中抗 12 份、中感 1 份；聚合 2 个抗性基因的亲本份数为 2 份，表型抗病的有 1 份、中抗 1 份。

表 6 7 个稻瘟病抗性基因在供试水稻骨干亲本中的分布频率

基因	携带该基因的亲本数/个	比例/%	基因	携带该基因的亲本数/个	比例/%
$Pi-kh$	16	22.9	$Pi9$	68	97.1
$Pi-ta$	5	7.1	$Pi5$	53	75.7
$Pi-b$	16	22.9	$Pi-km$	58	82.9
$Pi2$	67	95.7			

2.4 不同基因的聚合能力分析

通过分析不同基因聚合方式,发现 $Pi2$ 、 $Pi5$ 、 $Pi9$ 三者紧密连锁,70 份水稻骨干亲本中 3 个基因均含的数量为 51 个,含基因 $Pi2$ 和 $Pi9$ 的数量为 15 个,含基因 $Pi5$ 和 $Pi9$ 的数量为 2 个,含基因 $Pi2$ 和 $Pi5$ 的数量为 1 个,3 个基因都不含的骨干亲本数量只有 1 个,且含有 3 个基因的骨干亲本抗性明显高于含 2 个基因的亲本。该结果也证明了 $Pi2$ 、 $Pi5$ 、 $Pi9$ 之间存在紧密的关系,多以 2 个或 3 个结合的形式出现,结合抗性鉴定表明,三者之间存在抗性加性效应。

3 讨论与结论

3.1 讨论

3.1.1 骨干亲本中稻瘟病广谱抗性基因存在叠加效应

本研究明确了三峡库区自主选育水稻骨干亲本中的不同抗病基因型,结合抗性等级鉴定,结果表明,70 份骨干亲本中主效抗性基因的个数均在 2 个及以上,其中 $Pi9$ 和 $Pi2$ 的分布比率达到了 97.1% 和 95.7%,两者同时出现的概率占有基因聚合类型的 94.3%,且都是广谱抗性基因,在田间抗性鉴定中表现较好; $Pi-km$ 和 $Pi5$ 出现的频率分别是 82.9% 和 75.7%; $Pi-ta$ 基因出现的频率最低,只有 7.1%。总体而言,骨干亲本中聚合广谱抗性的基因个数越多抗性等级越高,两者基本呈正相关。这与袁喜等^[21]的研究结果基本一致。70 份水稻骨干亲本中聚合 6 个抗性主效基因的骨干亲本有 2 份,其田间抗性鉴定等级均达到高抗;聚合 5 个抗性主效基因的骨干亲本有 17 份,田间鉴定中表现为高抗的骨干亲本有 7 份,表现为中抗的亲本有 3 份,表现为抗病的亲本有 7 份,所有亲本均表现为抗病以上。从骨干亲本中聚合抗性主效基因的个数与田间抗性鉴定结果来看,聚合主效稻瘟病抗性基因数量越多,其田间抗性越强,说明骨干亲本中稻瘟病广谱抗性基因存在叠加效应。

3.1.2 抗稻瘟病基因型与田间表型存在环境互作效应

不同地区病原菌种类不同,且病原菌具有复杂的变异性。一般选育出来的品种在种植几年后便丧失抗性,因此聚合多个具有广谱抗性的主效基因对提高该地区品种综合抗性水平尤为重要。目前已有大量的抗性基因被克隆,但很多基因都存在抗性不强或抗菌谱较窄等缺陷^[22-24],因此,可加强相关基因的应用。相同的抗性基因会因组合不同呈现出不同的抗性等级,这主要与当地寄主蛋白因子有关。本研究出现了抗性基因个数相同但抗性等级不同的情况,主要是因为大多数水稻 R 蛋白与稻瘟病菌 Avr 蛋白之间并无直接的互作关系,而是通过与其他寄主蛋白因子的间接互作来调控 R-Avr 所介导的免疫反应。另外骨干亲本中或许还含有其他抗性基因与现有的基因产生拮抗作用,或与环境因素共同作用造成抗性等级不同^[25-27]。这也足以说明水稻抗性的强弱并不是抗性基因的简单叠加,而是基因与环境共同作用的结果。

3.1.3 本研究的局限性与改进方向

目前已报道的水稻稻瘟病抗性基因位点有 100 多个,克隆的抗性基因有 30 多个^[24]。本研究中只设置了 7 个主效基因的鉴定,具有一定的局限性,是否含其他主效基因并不是很清楚,比如 $Pi-gm$ 和 $Pi-d3$ 。试验选择 70 份骨干亲本作为研究对象,而未对其来源进行追溯,可适当增加亲本的基因型鉴定,有利于分析不同抗性基因的遗传力,以及从地方稻种质资源中发掘更多的具广谱抗性的基因^[28]。研究结果中分别含有 3 个和 4 个抗性基因的 FJ-18、FJ-20、FJ-21 的抗性鉴定反而低于含有 2 个抗性基因的 FJ-4、FJ-45,其是否含有其他与现有基因存在拮抗作用的抗性基因、或是否是该地区的病原菌种类导致有待进一步深入研究。

3.1.4 稻瘟病抗性基因在育种工作中的应用

自 2024 年,重庆市水稻新品种审定时已将稻瘟病抗性鉴定等级标准提高,未来在选育水稻新品种中应更加注重抗性基因的聚合。结合田间抗性鉴定,将抗性基因聚合仍是选育具有持久抗性品种的最有效的途径^[29-31],因此需明确骨干亲本中的基因型才能有目的地培育出田间表现高抗稻瘟病的水稻新品种。在选择

亲本时可优先选择聚合后能产生叠加效应的基因型,开展更多骨干亲本基因型的鉴定。另外,为加强本地区选育品种的广适性,应聚合其他具广谱抗性且出现频率较低的基因,比如骨干亲本中 *Pi-kh* 基因。通过分子鉴定明确水稻抗病品种选育过程中骨干亲本的基因聚合方式,有目标地提高本地区基因的渗入与聚合效率,有助于快速选育出适宜本地区的高抗性新品种^[32-33]。另外,还可以根据不同的水稻品种在实际生产中的发病情况,明确其基因聚合方式,推测各抗性基因或不同的抗性基因聚合方式在不同稻作区的抗病能力^[34],为水稻在稻瘟病抗性方面的绿色防控和抗病育种提供指导性参考意见。

3.2 结论

通过利用已克隆的 7 个稻瘟病抗性主效基因的 SSR 分子标记,对三峡库区自主选育的骨干亲本进行抗病基因型检测,结果发现所有骨干亲本均含有 2 个及以上的抗性基因,其中 *Pi9*、*Pi2* 基因出现的频率最高,分别为 97.1%和 95.7%;*Pi-ta* 基因出现的频率最低,只有 7.1%,后期在该地区水稻抗性育种中应加强对 *Pi-ta* 基因的选择。

参考文献:

- [1] 杨小林,戚华雄,殷得所,等. 水稻稻瘟病抗性 QTL 的定位分析 [J]. 植物病理学报, 2012, 42(6): 600-607.
- [2] LIANG T M, GUO X R, CHEN Z Q. Identification and Gene Mapping of a Blast Disease Resistance Gene in Rice Line IR65482 [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(13): 4308-4313.
- [3] DENG Y W, ZHAI K R, XIE Z, et al. Epigenetic Regulation of Antagonistic Receptors Confers Rice Blast Resistance with Yield Balance [J]. Science, 2017, 355(6328): 962-965.
- [4] 陈丽,孙建昌,王昕. 基于 BSA-seq 法的水稻稻瘟病抗性基因定位 [J]. 中国稻米, 2024, 30(6): 35-41, 48.
- [5] 李进斌,姚春馨,许明辉,等. 三个外源抗稻瘟病基因聚合与抗性研究 [J]. 西南农业学报, 2007, 20(1): 49-52.
- [6] 陈学伟,李仕贵,马玉清,等. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi-d(t)~1*、*Pi-b*、*Pi-ta~2* 的聚合及分子标记选择 [J]. 生物工程学报, 2004, 20(5): 708-714.
- [7] 刘士平,李信,汪朝阳,等. 基因聚合对水稻稻瘟病的抗性影响 [J]. 分子植物育种, 2003, 1(1): 22-26.
- [8] 王哉,蒋英健,谢留杰,等. 分子标记辅助选育含 *Pigm* 抗稻瘟病基因的水稻新品系 [J]. 浙江农业科学, 2023, 64(8): 1945-1948.
- [9] 毛艇,李鑫,刘研,等. 聚合 *gs3*、*Pita* 及 *Pib* 基因创制长粒高抗稻瘟病核心梗稻种质 [J]. 分子植物育种, 2023, 21(6): 1990-1998.
- [10] 谢旺有,陈锦文,谢少和,等. 抗稻瘟病基因 *Pi9* 导入籼稻恢复系泉恢 039 的应用研究 [J]. 福建农业学报, 2022, 37(10): 1266-1274.
- [11] 汤圣祥,王秀东,刘旭. 中国常规水稻品种的更替趋势和核心骨干亲本研究 [J]. 中国农业科学, 2012, 45(8): 1455-1464.
- [12] 朱赫. 西南稻区强优势不育系的多样性分析及稻瘟病抗性基因检测 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2020.
- [13] 李进波,夏明元,戚华雄. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi1* 和 *Pi2* 聚合系的获得及其抗性评价 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(5): 12-14, 31.
- [14] 何弯弯,王健康,丁成伟,等. 利用分子标记辅助选育抗稻瘟病梗稻新品系 [J]. 江西农业学报, 2020, 32(10): 18-22.
- [15] MAO T, ZHU M D, AHMAD S, et al. Superior Japonica Rice Variety YJ144 with Improved Rice Blast Resistance, Yield, and Quality Achieved Using Molecular Design and Multiple Breeding Strategies [J]. Molecular Breeding, 2021, 41(10): 65.
- [16] 谢水锋,宗士鹏,余飞宇,等. 上海市 11 种常规梗稻抗稻瘟病基因分子标记检测 [J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2022, 51(1): 56-63.
- [17] 桑世飞,王亚男,王君怡,等. 9 个抗稻瘟病基因在 291 份水稻种质资源中的分布及组合特征 [J]. 河南农业科学, 2022, 51(12): 19-27.
- [18] 刘军化,黄成志,蒋静玥,等. 87 份水稻材料中抗稻瘟病基因的分子检测 [J]. 西南农业学报, 2022, 35(9):

2030-2037.

[19] 杨好, 黄衍焱, 王剑, 等. 水稻中八个稻瘟病抗性基因特异分子标记的开发及应用 [J]. 中国水稻科学, 2024, 38(5): 525-534.

[20] 王宝祥, 刘艳, 邢运高, 等. 抗稻瘟病基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi54* 和 *Pikm* 在黄淮稻区水稻品种资源中的抗性分布 [J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(6): 1465-1471.

[21] 袁熹, 李大勇, 宋凤鸣. 水稻对稻瘟病的广谱抗性: 分子机制及其育种应用 [J]. 植物生理学报, 2017, 53(8): 1348-1358.

[22] 张雪梅, 冯慧, 白玉连, 等. 四川省杂交稻主栽品种抗稻瘟病基因型推导研究 [J]. 西南农业学报, 2012, 25(3): 894-897.

[23] 王东元, 张昊, 王玲, 等. 107 份粳稻抗稻瘟病基因和恢复基因的分子检测与分析 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(8): 2644-2659.

[24] 黄乾龙, 管玉圣, 欧阳杰, 等. 重庆自育水稻骨干亲本稻瘟病抗性评价及其抗病基因分布分析 [J]. 南方农业学报, 2019, 50(1): 8-15.

[25] 杨婕, 杨长登, 曾宇翔, 等. 水稻稻瘟病抗性基因挖掘与利用研究进展 [J]. 中国水稻科学, 2024, 38(6): 591-603.

[26] 杨德卫, 王莫, 韩利波, 等. 水稻稻瘟病抗性基因的克隆、育种利用及稻瘟菌无毒基因研究进展 [J]. 植物学报, 2019, 54(2): 265-276.

[27] 于苗苗, 戴正元, 潘存红, 等. 广谱稻瘟病抗性基因 *Pigm* 和 *Pi2* 的抗谱差异及与 *Pi1* 的互作效应 [J]. 作物学报, 2013, 39(11): 1927-1934.

[28] 徐志健, 农保选, 张宗琼, 等. 广西水稻地方品种核心种质抗稻瘟病鉴定及评价 [J]. 南方农业学报, 2020, 51(5): 1039-1046.

[29] QIN P, JIANG N, HU X C, et al. Breeding a Series of New Rice Restorer Lines with Blast Resistance and Low-to-intermediate Apparent Amylose Contents by Integrating Marker-assisted and Phenotypic Selection [J]. Journal of Phytopathology, 2021, 169(11-12): 667-677.

[30] HU Z J, HUANG YY, LIN X Y, et al. Loss and Natural Variations of Blast Fungal Avirulence Genes Breakdown Rice Resistance Genes in the Sichuan Basin of China [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13(5): 788-876.

[31] 陈思宇, 詹儒林, 姜成东, 等. 杧果 MiNPR1 抗病基因克隆及生物信息学分析 [J]. 中国南方果树, 2023, 52(4): 45-50.

[32] 刘佳, 李志, 高冠军, 等. 利用高世代回交群体定位水稻广谱抗稻瘟病 QTL [J]. 分子植物育种, 2015, 13(10): 2155-2162.

[33] 辛威. 寒地粳稻种质资源稻瘟病抗性鉴定及基因定位 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017.

[34] KARAMIAN F, NEZHAD A, ZAEIM A N. Blast Disease in Rice: A review [J]. International Journal of Scientific Research in Scienceand Technology, 2015, 5(3): 228-232.

责任编辑 周仁惠