

水稻抗稻瘟病分子育种的现状及展望*

肖 亮, 蒋建雄*, 易自力, 谭炎宁, 曾慧杰, 王志成

(湖南农业大学细胞工程实验室, 湖南长沙 410128)

摘 要: 稻瘟病是世界水稻产区最主要的病害。目前除了传统的抗稻瘟病育种外还大规模开展抗性基因的分子育种研究。本文综述了国内外利用已克隆的稻瘟病抗性基因以及各种外源基因进行转基因育种, 稻瘟病抗性基因的分子标记筛选及辅助选择育种研究进展。同时, 根据我国目前抗瘟育种的现状及所面临的问题提出新策略。

关键词: 水稻; 稻瘟病; 抗性基因; 分子育种

中图分类号: S511

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2006)01-0079-06

Present Status and Prospect of Molecular Breeding for Blast Resistance

XIAO Liang, JIANG Jian-xiong*, YI Zi-li, TAN Yang-ning,
ZEN G Hui-jie and WANG Zhi-cheng

(Lab. of Cell Engineering, Hunan Agriculture University, Changsha Hunan 410128, China)

Abstract Blast is one of the most devastating rice disease. In the present review, in addition to use conventional breeding method, molecular breeding strategy is also extensively used to improve rice resistance to blast in the world. Now transgenic strategy using both blast resistance development genes and foreign genes, and molecular marker assisted selection to improve blast resistance were presented. Some breeding strategies to improve blast resistance are suggested based on present status of breeding.

Key words Rice; Blast of rice; Resistance gene; Molecular breeding

稻瘟病 (*Pyricularia grisea*) 是危害我国水稻产区的三大主要病害之一, 被人们俗称为“水稻癌症”。稻瘟病流行年份重病区一般减产 10% ~ 20%, 严重的地方减产 40% ~ 50%, 有的地方甚至颗粒无收。传统的防治方法是通过不断更换农药品种和加大农药使用量来防治稻瘟病, 这无疑会破坏生态和损害人体健康。实践证明, 培育和利用对稻瘟病具有高度抗性水稻栽培品种是最经济有效的措施。

但长期以来由于常规育种年限长且目标性状选择不明显等因素导致了育种工作进展缓慢。20

世纪 90 年代建立在 DNA 多态性基础上的分子标记技术以其本身遗传物质作为标记克服了形态标记不准确的缺陷而为复杂性状的分析提供了有效工具。目前, 国内外育种学家在分子育种培育抗稻瘟病品系领域已取得一些进展。本文就抗稻瘟病的转基因育种和稻瘟病抗性基因的分子标记辅助选择育种取得的进展以及分子育种工作的方向作一综述。

1 抗稻瘟病转基因育种现状

上世纪 80 年代兴起的遗传转化技术由于可

* 收稿日期: 2005-07-18 修回日期: 2005-09-15

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (204101)

作者简介: 肖 亮 (1979-), 男, 硕士研究生, 主要从事植物抗病育种研究。

* 通讯作者: E-mail: jxjiang2002@yahoo.com.cn.

打破生殖隔离定向改造动植物而被国内外育种学家广泛关注。我国对水稻的基因工程研究起步较早,转基因育种工作始于1989年,当时杨虹等^[1]用原生质体融合技术将Bt基因导入水稻“台梗209”。经过十多年发展已建立起以基因枪法和农杆菌介导法为主的十多种遗传转化技术体系,并培育出了一大批对稻瘟病具有抗性的材料和品系。

1.1 水稻自身防卫基因的克隆与稻瘟病抗性改良

研究表明稻瘟病抗性是由广谱的质量抗性和高水平的数量抗性组成^[2,3]。质量抗性受主效基因控制,数量性状由微效多基因控制。主效基因也被称为防卫基因(R基因),是植物-病原菌相互关系中的关键因子和抗病机制研究的基础。其作用原理是:水稻防卫反应基因(R基因)在与稻瘟病菌无毒基因(avr基因)识别的同时,通过信号传导途径诱导一系列抗病防卫反应基因表达,产生系统获得抗性^[4](systemic acquired resistance, SAR)。自Johal和Briggs^[5]利用转座子标签法首次从玉米中克隆到抗圆斑病基因HM1至今,人们已经利用各种手段从粮食作物、经济作物和其他作物中克隆到48个植物抗病防卫基因。其中大部分基因从双子叶模式植物番茄(*Lycopersicon esculentum*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中获得。在粮食作物中,克隆到15个抗病基因,其中小麦(*Triticum aestivum*)1个,玉米(*Zea mays*)2个,大麦(*Hordeum vulgare*)3个,马铃薯(*Solanum tuberosum*)4个,水稻(*Oryza sativa*)5个。在水稻中克隆到的5个抗性基因包括3个抗白叶枯病基因(Xa-1、Xa-21和Xa-21D)和2个抗稻瘟病基因(Pi-b和Pi-ta)。Pi-b基因是首个在水稻中被克隆的抗稻瘟病基因,它是Wang等^[6]利用图位策略克隆出来的。其表达产物含有一个核苷酸结合位点(nucleotide binding site, NBS)和亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)。而后用PEG法将Pi-b基因转化感病品种Nipponbare得到496株转基因水稻植株,其中112株对生理小种003表现抗性,2个T2代株系的抗感分离比表现3:1。Pi-ta基因是Bryan等^[7]通过图位策略克隆而来。它编码的受体蛋白位于细胞质,N端含有核苷酸结合位点,C端包括富含亮氨酸区域,与Pi-b同属于NBS/LRR类型。但Pi-ta基因的遗传转化并未见报道。

1.2 外源防卫基因的导入与稻瘟病抗性改良

就目前的报道而言,研究者通过基因工程的方法来改造水稻的抗稻瘟病能力主要是向易感品种中导入防卫基因。防卫基因大致可分为两类:一类是主要参与植物的生长发育,在抗病性诱发过程中赋予抗病防卫基因,如有些病程相关蛋白(PR)基因和富羟糖蛋白(HRGP)基因等。另一类是与抗病性有直接关系或主要赋予植物抗病性的基因如植保素合成中不同酶的基因。目前通过转入自身或其他植物的防卫反应相关基因来提高水稻对稻瘟病的抗性,已有大量的尝试,并取得了一些成果(表1)。

1.2.1 病程相关蛋白基因的导入与稻瘟病抗性改良

病程相关蛋白是指植物在病理或病理相关环境下诱导产生的一类蛋白。植物被病原菌等因子感染或诱导后,产生PR的量与诱导物的剂量呈正相关。诱导产生的PR参与植物的局部和系统诱导抗性,能直接攻击病原菌,类似于动物体内的免疫蛋白,因此也被称为“植物免疫蛋白”。目前已经克隆并鉴定出的水稻的几类PR蛋白基因包括能降解真菌细胞壁几丁质酶基因 β -1,3-葡聚糖酶基因和溶菌酶基因等。表1中Nishizawa等^[11]通过农杆菌介导法将几丁质酶基因cht-2和cht-3导入粳稻品种Nipponbare和Koshihikari中。该实验采用CaMV35S强启动子启动,在R0代,cht-2基因表达产物在细胞内积累,而cht-3基因表达产物在细胞外积累,二者都对稻瘟病菌表现出了极高的抗性,而且几丁质酶的高水平表达和稻瘟病抗性在接下来的几代中在好几个株系中都能得到稳定的遗传。许明辉等^[27]用来源于云南各地属于48个稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)生理小种的63个菌株,对受体品种南29及其10个T0代转溶菌酶基因水稻植株繁衍的36个T5代品系进行温室接种鉴定。结果表明,受体品种南29对38.1%的菌株(24个)表现出抗病性,转基因品系对72%以上的菌株表现抗病,对稻瘟病的抗性比对照大幅度提高,由此证明溶菌酶基因对稻瘟病具有一定的广谱抗性。还有研究表明,将 β -1,3-葡聚糖酶基因与几丁质酶基因串联起来导入植物细胞中能大大增强植物的抗病能力。在这个方面,冯道荣等^[13]将含有串联的水稻碱性几丁质酶基因(RC24)和苜蓿 β -1,3-Glu基因的pGB12质粒和含有hpt的p35H质粒用基因枪同时导入华南地区一优良籼稻(*Oryza sativa*, L. ssp. *indica*)。

“七丝软占”中,并获得对广东省 5 个代表菌株表现出不同抗性的转基因植株 17 株, Southern blot 证明这 17 个植株同时整合了 RC24 和 β -1, 3-Glu

利用双抗真菌蛋白基因提高水稻抗病性,获得的转基因植株及其后代不仅对多个稻瘟病生理小种表现出抗性提高

表 1 水稻抗稻瘟病遗传转化的外源基因及方法

Table 1 Foreign genes and method of blast resistance genetic transformation

外源基因 Foreign genes	名称 Name	转化方法 Method	作者 Authors	参考文献 References
	外源 DNA 片段	胚浸泡法	潘重光等 1993	[8]
STS	1, 2-二苯乙烯合成酶基因	PEG 法	Lorenzen 等 1997	[9]
		基因枪	田文忠等 1998	[10]
Pi-b	抗稻瘟病基因	PEG 法	Wang 等 1999	[6]
Cht-2+ Cht-3	几丁质酶基因	农杆菌介导法	Nishizawa 等 1999	[11]
		基因枪	许新萍等 2001	[12]
RC 24+ U-1, 3-Glu	水稻碱性几丁质酶基因+ 苜蓿葡聚糖酶基因	基因枪	冯道荣等 1999	[13]
		基因枪	许明辉等 2000	[14]
RC 24+ U-1, 3-Glu+ B-RIP	水稻碱性几丁质酶基因+ 苜蓿葡聚糖酶基因+ 大麦核糖体失活蛋白基因	基因枪	冯道荣等 1999	[15]
C1+ R+ C2	玉米色素苷调节基因	基因枪	Gandikota 等 2001	[16]
TCS	天花粉蛋白基因	农杆菌介导法	明小天等 2000	[17]
		基因枪	Yuan 等 2002	[18]
Wasabi	植保素合成酶基因	农杆菌介导法	Kanzaki 等 2002	[19]
Rir1b		PEG 法	Schaffrath 等 2002	[20]
Rs-afp1	抗真菌蛋白基因	农杆菌介导法	姚方印等 2002	[21]
Fer	豌豆铁蛋白基因	农杆菌介导法	徐小晖等 2003	[22]
GO	葡萄糖氧化酶基因	农杆菌介导法	彭 昊等 2003	[23]
SchiA+ TchiB	烟草几丁质酶基因	花粉管通道法	李小湘等 2003	[24]
PA L	苯丙氨酸解氨酶基因	基因枪	黎军英等 2004	[25]
Afp	巨曲霉防卫蛋白基因	农杆菌介导法	Coca 等 2004	[26]

1. 2. 2 植保素合成相关基因的导入与稻瘟病抗性改良 植保素 (phytoalexin) 是植物受病原体感染后产生的低分子量抗菌化合物, 在植物抗病反应中起着重要的作用。植保素含量与水稻抗病性紧密相关, 植保素含量高的品种其抗病性也高。花色苷 (anthocyanin) 是植保素合成途径的代谢产物, Gandikota 等^[16]将来自玉米的参与花色苷合成的两个调节基因 C1 (coloured-1) 和 R (red) 及查尔酮合成酶基因 C2 (coloured-2) 同时转入粳稻台北 309, 转基因植株 R1 代提高了对稻瘟病的抗性。trans-reseratrol 是植物体内普遍存在的一类植保素, 1, 2-二苯乙烯 (stilbene) 合成酶是其合成途径中的关键酶之一。有研究表明, 将葡萄的 stilbene 合成酶基因在其自身启动子驱动下转入水稻能提高水稻对稻瘟病的抗性^[9]。这些结果表明通过导入多个与植保素合成相关基因来增强水稻对稻瘟病的抗性是可行的。

1. 2. 3 外源 DNA 片段的导入与稻瘟病抗性改良

基于周光宇提出的染色体水平下 DNA 片段杂

交假设, 通过胚浸泡法和花粉管通道法等将含有稻瘟病抗性基因的外源 DNA 片段导入受体细胞中, 以期在后代的变异群体中筛选到对稻瘟病具有抗性的转基因株。此项研究也有人尝试并得到一些结果。

2 稻瘟病抗性基因的分子标记及定位

开发利用新型的以 PCR 为基础的分子标记是基因定位和遗传图谱构建的重要前提。目前大约有 20 多种分子标记, 常用的有 RFLP、RAPD、AFLP 及 SSR 等。用于定位稻瘟病抗性基因的作图群体主要是近等基因系 (NILs)、重组自交系 (RILs)、双单倍体群体 (DH)、回交群体 (BC) 和自交群体 (F2)。据统计目前应用经典遗传学、同工酶以及分子标记的方法定位的稻瘟病抗性基因累计已超过 40 个, 就分子标记一项就定位了 20 多个 (表 2), 而且每年仍有增加。

表 2 应用分子标记定位的水稻稻瘟病抗性基因

Table 2 List of blast resistance genes mapped with molecular markers

抗性基因 Resistance gene	抗性供体 Resistance donor	作图群体 Mapping population	标记方法 Method	染色体 Chromosome	标记 Marker	距离 Distance	研究者 Researcher
H-1(t)	Lac23	NILs	RFLP	11	RZ536	14.0	Yu等 1991
	Lac23	F2	RFLP	11	RZ536	11.4	Mew等 1994
H-2(t)	5137	NILs	RFLP	6	RG64	2.8	Yu等 1991
		F2	RFLP	6	RG64	2.1	Mew等 1994
H-3(t)	Pai-Kan-Tao	F2	RAPD	3	OPS-08 OPS-09		Inukai等 1994
H-4(t)	Tetep	NILs	RFLP	12	RG689 RZ397	15.4 18.1	Yu等 1991
H-5(t)	Moroberekan	RILs	RFLP	4	RG498	5-10	Wang等 1994
H-6(t)	Apura	DH	RFLP	12	RG869	15.3	Yu等 1991
H-7(t)	Moroberekan	RILs	RFLP	11	RG103	5-10	Wang等 1994
H-10(t)	Tongil	BC	RAPD	5	RRF6	3.8	Napvi等 1995
					RRh18	2.9	
Pi-zh(t)	Zhaiyeqing8	DH	RAPD	8	BP127	2.4	朱立煌等 1994
Pi-h-1(t)	Hongjiaozhan	F2	RFLP	12	RG869	5.1	郑康乐等 1995
H-18(t)	水源 365		RFLP	11	ZR536	5.4	
H-20(t)	IR24		RFLP	12	XNpb402	14.0	
					XNpb088	1.0	
H-21(t)				12	RG241	8.1	
H-24(t)	IR64	DH	RFLP	1	K5		Sallaud等 2003
H-25(t)	IR64	DH	RFLP	2	RG520		Sallaud等 2003
H-26(t)	IR64	DH	RFLP	5	RG313		Sallaud等 2003
H-27(t)	IR64	DH	RFLP	6	Est-2		Sallaud等 2003
H-28(t)	IR64	DH	RFLP	10	RZ500		Sallaud等 2003
H-29(t)	IR64	DH	RFLP	8	RZ617 RGA-IR86		Sallaud等 2003
H-30(t)	IR64	DH	RFLP	11	OpZ11-f RGA-IR14		Sallaud等 2003
H-31(t)	IR64	DH	RFLP	12	010-800		Sallaud等 2003
H-32(t)	IR64	DH	RFLP	12	AF6		Sallaud等 2003
H-33(t)	IR64	DH	RFLP	8	Y2643L	0.9	Berruyer等 2003
					R1813	0.7	
Pitq5	Teqing	RILs	RFLP	2	RG520 RG446b		Tabien等 2000
Pitq1	Teqing	RILs	RFLP	6	C236	2.2	Tabien等 2000
					RZ508	7.2	
Pitq6	Teqing	RILs	RFLP	12	RG869 L102		Tabien等 2000
Pi-lm2	Lemont	RILs	RFLP	11			Tabien等 2000
H-62(t)	Yashiro-mochi			12	RG869		Wu等 1996

首批稻瘟病抗性基因被 Goto Yamasaki 和 Kiyosawa 等定位。它们是 Pia Pi Hk Pik^s Pik^h Pik^m Pik^p Piz Piz¹ Ht^a Pita² Pib Ht 和 Pish^[28,29]。之后 Yu Mackill 和 Bonman 等将抗病品种 LAC23 5176 Pai-Kan-Tao Tetep 与易感籼稻品种 Co39 杂交,通过近等基因系 (NILs) 定位了新的抗性基因 Pi1 H2(= Piz⁵) Pi3 和 Piz4 表 2 中, Wang 等^[30]利用感病材料 Co39 导入粳稻持久抗病品种 Moroberekan 的抗性基因构建重组自交系,并于 F7 代用 127 个 RFLP 标记检测抗病池和感病池,定位 Pi-5(t) 和 Pi-7(t) 基因。前者在第 4 条染色体上,位于标记 RG498 和 RG788 之间,后者在第 11 条染色体上,位于标记 RG16 和 RG103 之间。10 个控制部分抗性的 QTLs, 这些 QTLs 分别位于第 8 号染色体

上,控制着病斑大小。Yu 等^[31]在另一组合 DH 群体中定位了 Pi-6(t) 基因。12 条染色体上,位于 RG869 和 Sdh1 之间。^[32]将含有抗稻瘟病基因籼稻窄叶青 8 号和粳稻易感品种京系 17 的 DH 群体构建抗病池和感病池,通过两池的 RAPD 分析发现了多个与抗稻瘟病基因连锁的 RFLP 标记多个,并进一步用 2 个独立的分离群体将窄叶青 8 号的抗性基因 Pi-zh [= Pi-11(t)] 定位在第 8 号染色体上,离 BP127 为 2.4 cM,这是第 1 次在第 8 号染色体上发现有稻瘟病抗性基因。Berruyer 等^[33]将抗病品种 IR64 和易感品种 Azucena 杂交通过 DH 群体定位了 Pi-33(t) 8 条染色体上,离标记 Y2643L 为 0.9 cM,离标记 R1813 为 0.7 cM

。Mew等^[34]在Yu等^[35]的工作基础上对Pi-1(t)、Pi-2(t)和Pi-4(t)分别进行了更精密的定位使标记基因更加逼近抗性位点。^[36]等又在Mew的基础上对Pi-2(t)再次精确定位。RG64和AP22之间,遗传图距分别是0.9 cM和1.2 cM。

Mew将Pi-2(t)定位于两分子标记RG64和RZ612之间,遗传图距分别是2.1 cM和7.2 cM。

1988年美国康乃尔大学的McCouch等^[37]利用RFLP构建第一张较完整的水稻分子图谱以来,每年都会有大量分子标记被发现从而对抗性基因进行进一步精确定位。目前已知的水稻抗稻瘟病抗性基因并不均匀分布在水稻的12条染色体上。6、11、12这三条染色体上每条有超过9个抗性基因的位点,而第9条染色体上至今未发现有抗性基因的存在。

基因数目已经注册到了第62号即Pi-62(t),可能由于研究者的材料和方法的不同使得原本存在于同一染色体上同一区域的同一基因被重复命名。

。抗性基因的定位及命名有待等位性测验的完善。

。抗性基因的定位及命名有待等位性测验的完善。

3 展望

我国水稻的抗稻瘟病研究已有70多年历史。自1974年浙江省农业科学院组织“”

开展了品种抗性、

。“”,我国又重点开展了水稻抗稻瘟病育种和综合防治研究,先后育成一批高产、^[38]、

育种学家们从2000多份国外引进的水稻品种资源中,筛选出磐1号、2号、^[38]、BL1-BL10等优良的种质资源,育成中花8号、9号、

10号和中花11号,湘州5、浙733等大面积推广应用的抗瘟品种,取得了显著的经济效益和社会效益。2005年在海南三亚召开的“”

。目前我国在对水稻抗瘟基因的克隆及功能研究上的报道较少,而国外对此研究相对较多。

。目前我国在对水稻抗瘟基因的克隆及功能研究上的报道较少,而国外对此研究相对较多。

。目前我国在对水稻抗瘟基因的克隆及功能研究上的报道较少,而国外对此研究相对较多。

学Ronald教授领导的小组正在致力于抗病基因Pi-3和Pi-5的克隆;日本国家农业科学研究所Kawasaki教授正在克隆抗病基因Pi-ta2^[39]等。

一般的抗性材料在该地区播种3~5a均不同程度丧失抗性。

。提高抗瘟病品种抗性的持久性是解决问题的关键所在。稻瘟病菌的变异机制、“”

3大难题。3大难题无疑是每个育种工作者必须面对和思考的问题。

笔者认为至少有两个方面的工作可以开展:①提高稻瘟病基因的抗病持久性。

将强启动子与抗性基因串联后同时导入某一水稻品种中以加强该抗性基因的表达效果,从而提高抗病持久性。②

培育多基因宽抗谱品系。

筛选出更多的抗瘟基因分子标记,大力开展标记辅助育种工作,必能尽快提高我国水稻品种的整体抗瘟水平。

李家新. 苏云金芽孢杆菌δ内毒素基因导入水稻原生质体后获得转基因植株[J]. 中国农业科学, 1989, 22(5): 1~5.

Ahn S W. International collaboration on breeding for resistance to rice blast [A]. Zeigler RS, Leong S A, Teng P S. Rice Blast Disease [C]. Wallingford: CAB International, 1994. 65~86.

杨祁云, 霍超斌, 等. 水稻品种对稻瘟病的质量抗性和数量抗性的初步研究 [J]. 中国水稻科学, 1996, 10(3): 181~184.

Van Loon L C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins [J]. Eur J Plant Pathol, 1997, 103: 753~765.

Jhal G S, Briggs S P. Reductase activity encoded by the HM1 disease resistance gene in maize [J]. Science, 1992, 258: 985~987.

Wang Z X, Yano M, Yamanouchi U, et al. The H-b gene for 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.

Bryan G T, Wu K S, Farrall L, et al. A single amino-acid

- difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast gene *H-ta* [J]. *Plant Cell*, 2000, 12: 2033~2045.
- [8] 叶正祥, 吴爱珍, 等. 导入模糊多基因提高上农香糯抗性的研究 [J]. *上海农学院学报*, 1993, 11(4): 284~ 290.
- [9] Stark-Lorenzen P, Nelke B, HnBle G, *et al.* Transfer of a grapevine stilbene synthase gene to rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Cell Reports*, 1997, 16: 668~ 673.
- [10] 丁力, 曹守云, 等. 植物抗毒素转化水稻和转基因植物的生物鉴定 [J]. *植物学报*, 1998, 40(9): 803~ 808.
- [11] Nishizawa Y, Nishio Z, Nakazono K, *et al.* Enhanced resistance to blast (*Magnaporthe grisea*) in transgenic Japonica Rice by constitutive expression of rice chitinase [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 383~ 390.
- [12] 陈金婷, 张健中, 等. 抗稻瘟病和纹枯病的转基因水稻新品系 [J]. *中山大学学报 (自然科学版)*, 2001, 40(3): 131~ 132.
- [13] 许新萍, 卫剑文, 等. 使用双抗真菌蛋白基因提高水稻抗病性的研究 [J]. *植物学报*, 1999, 41(11): 1187~ 1191.
- [14] 唐祚舜, 谭亚玲, 等. 几丁质酶-葡聚糖酶双价基因导入滇型杂交稻恢复系提高稻瘟病抗性的研究 [J]. *遗传学报*, 2003, 30(4): 330~ 334.
- [15] 卫剑文, 许新萍, 等. 转多个抗真菌蛋白基因水稻植株的获得及其抗稻瘟病菌的初步研究 [J]. *中山大学学报 (自然科学版)*, 1999, 38(4): 62~ 66.
- [16] Gandikota M, de Kochko A, Chen L L, *et al.* Development of transgenic rice plants expressing maize anthocyanin genes and increased blast resistance [J]. *Molecular Breed*, 2001, 7: 73~ 83.
- [17] 王莉江. 利用土壤农杆菌将天花粉蛋白基因转入水稻植株并检测抗稻瘟病活性 [J]. *科学通报*, 2000, 45(10): 1080~ 1084.
- [18] Yuan H, Ming X, Wang L, *et al.* Expression of a gene encoding trichosanthin in transgenic rice plants enhances resistance to fungus blast disease [J]. *Plant Cell Reports*, 2002, 20: 992~ 998.
- [19] Kanzaki H, Nirasawa S, Saitoh H, *et al.* Overexpression of the wasabi defense gene confers enhanced resistance to blast fungus (*Magnaporthe grisea*) in transgenic rice [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 805~ 814.
- [20] Schaffrath U, Mauch F, Freydl E, *et al.* Constitutive expression of the defense-related *Rrlb* gene in transgenic rice plants confers enhanced resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 43: 59~ 66.
- [21] 李广贤, 杨, 等. 农杆菌介导抗真菌 α -硫蛋白 *Rs-afp1* 基因导入水稻获得转基因植株 [J]. *山东农业科学*, 2002, 3: 20~ 21.
- [22] 郭泽建, 程志强, 等. 铁蛋白基因的水稻转化及其功能初步分析 [J]. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2003, 29(1): 49~ 54.
- [23] 王志兴, 窦道龙, 等. 由根癌农杆菌介导将葡萄糖氧化酶基因转入水稻 [J]. *农业生物技术学报*, 2001, 11(1): 16~ 19.
- [24] 何迎春, 高必达. 水稻花器介导法转目标基因的研究 [J]. *中国水稻科学*, 2003, 17(3): 196~ 200.
- [25] 郭泽建, 张炳欣. 转 PAL 基因水稻抗稻瘟病性和过氧化物酶活性的研究 [J]. *中国水稻科学*, 2004, 18(4): 303~ 308.
- [26] Coca M, Bortolotti C, Rufat M, *et al.* Transgenic rice plants expressing the antifungal AFP protein from *Aspergillus giganteus* show enhanced resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 00: 1~ 15.
- [27] 李成云, 李进斌, 等. 转溶菌酶基因水稻稻瘟病抗谱分析 [J]. *中国农业科学*, 2003, 36(4): 387~ 392.
- [28] Ezuka A. Breeding for and genetics of blast resistance in Japan [A]. In: *Proce RiceBlast Workshop* [C]. IRRI, Los Banos, The Philippines, 1979, 27~ 48.
- [29] Imbe T, Matsumoto S. Inheritance of resistance of rice varieties to the blast fungus strains virulent to the variety "Reiho" (in Japanese with English summary) [J]. *Japan J Breed*, 1985, 35: 332~ 339.
- [30] Wang G L, Mackll D J, Bonman J M, *et al.* RFLP Mapping of Genes Conferring Complete and Partial Resistance to Blast in a Durably Resistant Rice Cultivar [J]. *Genetics*, 1994, 136: 1421~ 1434.
- [31] Yu Z H, Mackill D J, Bonman J M, *et al.* Tagging genes for blast resistance in rice via linkage to RFLP makers [J]. *Theor Appl Genet*, 1991, 81: 471~ 476.
- [32] 徐吉臣, 陈, 等. 用分子标记定位一个未知的抗稻瘟病基因 [J]. *中国水稻科学 (B辑)*, 1994, 24: 1048~ 1052.
- [33] Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, *et al.* Identification and fine mapping of *Pi33* the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1* [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 1139~ 1147.
- [34] Mew T V, Parco A S, Hittalmani S, *et al.* Fine-mapping of major genes for blast resistance in rice [J]. *Rice Genet Newsl*, 1994, 11: 126~ 128.
- [35] Yu Z H. Molecular mapping of rice (*Oryza sativa* L.) gene via linkage to restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers [D]. Ithaca, N. Y. Cornell University, 1991.
- [36] 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.
- [37] McCouch S R, Kochert G, Yu Z H, *et al.* Molecular mapping of rice chromosomes [J]. *Theor Appl Genet*, 1988, 76: 815~ 829.
- [38] 孙漱汎. 中国部分水稻主栽品种对稻瘟病的抗性分析和利用评价 [J]. *中国农业科学*, 1996, 29(6): 55~ 59.
- [39] 贾育林, 夏英武. 植物抗病分子机制研究进展 [J]. *植物学通报*, 2004, 21(5): 521~ 530.