

## 特约综述 Invited Review

## 水稻对稻瘟病的广谱抗性: 分子机制及其育种应用

袁熹, 李大勇, 宋凤鸣\*

浙江大学生物技术研究所, 杭州310058

**摘要:** 稻瘟病是水稻上最严重的真菌病害之一。由于多数抗瘟基因具有较高的小种特异性, 并且稻瘟菌小种变异频繁, 水稻品种抗瘟性极易丧失, 因此发掘和利用广谱抗性基因是控制稻瘟病的最有效途径之一。本文综述了水稻对稻瘟病广谱抗性基因特性、作用机制与育种应用及其最新研究进展, 为今后水稻-稻瘟病互作的分子机制研究和广谱抗性基因的育种利用提供思路。

**关键词:** 水稻; 广谱抗性; 稻瘟病

作物病害一直是制约农作物高产、稳产、优质以及安全生产的主要瓶颈之一。在对病菌侵染的抗病反应中, 植物先天免疫系统发挥了重要作用。植物先天免疫系统由不同层次的免疫反应组成, 目前已知有两个主要的免疫反应, 即病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)激发的免疫反应(PAMP-triggered immunity, PTI)和效应蛋白(effector)激发的免疫反应(effector-triggered immunity, ETI) (Boller和He 2009; Monaghan和Zipfel 2012; Schwessinger和Ronald 2012; Thomma等2011; Zhang和Zhou 2010)。PTI由植物细胞表面的式样识别受体(pattern recognition receptor)感知并识别病菌PAMP (如鞭毛蛋白flg22、延伸因子Tu-EF、几丁质等)后激活, 对非病原菌和病原菌均有效(Bernoux等2011; Segonzac和Zipfel 2011; Zhang和Zhou 2010); 而ETI则由植物中特异性抗病R蛋白与病原菌特定效应子之间的专化性相互识别后激活, 只针对与植物共进化形成“基因对基因”关系的病原菌有效(Boller和He 2009), 因而是一种高度专化性的抗病性。

抗病品种一直是作物病害防治中最有效、最经济的措施。生产上, 推广使用的抗病品种中抗病性通常是高度专化的ETI抗性, 只对一种病菌的1个或少数几个小种有效, 而且常常因病菌种群结构的演化以及新小种的产生而丧失, 极大地缩短了抗病品种的使用寿命, 造成病害流行。因此, 培育和利用广谱抗病品种是作物病害控制的有效途径之一, 而寻找植物广谱抗病性基因是作物抗病育种和抗病性改良的重要任务。广谱抗性是指对同一病原菌的不同小种或对2种或以上病菌所表

现出的抗病性。有关植物广谱抗病性及其遗传机制已有不少研究, 并且克隆鉴定了一些广谱抗性的基因(Azizi等2016; Liu等2014; Liu和Wang 2016)。本文以最近水稻稻瘟病广谱抗性基因*Pigm*的克隆鉴定及其作用机制的发现(Deng等2017)为基础, 重点介绍近年来水稻对稻瘟病的广谱抗性基因特性、作用机制与育种应用及其研究进展。

### 1 水稻稻瘟病R基因

近二十年来, 国内外学者就水稻对稻瘟病的主效抗病基因或位点(*R genes or locus*)展开了较为深入系统的研究, 并且利用分子标记等手段定位了水稻稻瘟病R基因100多个。目前鉴定到的抗稻瘟病R基因中, 45%来源于粳稻, 51%来源于籼稻, 其余4%来源于野生稻。这些抗稻瘟病R基因分布在除第3号染色体外的所有水稻染色体上, 50%以上位于第6、11和12号染色体上, 分别约占14%、24%和15%; 且在这3条染色体上均存在一个很大的抗稻瘟病R基因簇, 如6号和12号染色体的着丝粒附近及11号染色体的长臂近末端区域, 同一区域的抗稻瘟病R基因多为等位基因或紧密连锁。自1999年第一个抗稻瘟病R基因*Pib*克隆(Wang等1999)以来, 运用图位克隆法等技术已经克隆鉴定了27个R基因, 如*Pi1* (Hua等2012)、*Pi2/Piz5* (Zhou等2006)、*Pi3/Pi5/Pii* (Lee等2009)、*Pi9* (Qu等2006)、*pi21* (Fukuoka等2009)、*Pi25* (Wu等2005)、*Pi36* (Liu等2007a)、*Pi37* (Lin等2007)、*Pi54/Pikh* (Sharma

收稿 2017-05-19 修定 2017-07-22

资助 国家重点研发计划项目(2016YFD0100600)。

\* 通讯作者(E-mail: fmsong@zju.edu.cn)。

等2010)、*Pi56* (Liu等2013)、*Pi63* (Xu等2014)、*Pi64* (Ma等2015)、*Pia* (Zeng等2011)、*PiCo39* (Cesari等2013)、*Pib* (Wang等1999)、*Pit* (Hayashi等2010a)、*Pita* (Bryan等2000)、*Piz-t* (Zhou等2006)、*Pid2* (Chen等2006)、*Pid3* (Chen等2011)、*Pik* (Kanzaki等2012)、*Pik-m* (Ashikawa等2008)、*Pik-p* (Yuan等2011)、*Pike* (Chen等2015)、*Pbl* (Fujii等2000)、*Pish* (Takahashi等2010)和*Pigm* (Deng等2017)。在这些克隆鉴定的抗稻瘟病*R*基因中,*pi21*是唯一一个隐性基因,其他均为显性基因。从*R*蛋白的结构特性来看,*Pid2*编码B-凝集素受体蛋白激酶(Chen等2006),*pi21*编码富含脯氨酸的蛋白(Fukuoka和Okuno 2001),其他25个均编码NBS-LRR型蛋白。*Pik*、*Pik-m*、*Pik-p*、*Pi1*、*Pike*、*Pi5*和*Pia*由双基因控制抗性;*Pi2/Piz5*和*Piz-t*、*Pid3*和*Pi25*则互为

等位基因;*Pita*是第一个报道的可以与其对应的无毒基因互作的抗稻瘟病主效基因(张海涛和王石平2016)。

## 2 水稻稻瘟病的广谱抗性基因

一般认为,广谱抗性大多由多基因控制的,但也可由双基因和单个*R*基因控制。目前已经鉴定到一些对稻瘟病表现广谱抗性的*R*基因,但这些*R*基因的存在形式与特性、抗谱等各有不同(表1和2)。

### 2.1 以基因簇形式存在的广谱抗性*R*基因

在一些水稻染色体上发现*R*基因簇,其中有些*R*基因控制对稻瘟病的广谱抗性。第6号染色体短臂靠近着丝粒附近的*R*基因,如*Pi2/Piz5*、*Pi9*、*Piz-t*、*Pi40*、*Pigm*等(Wu等2016),都表现对稻瘟病的广谱抗性。*Pi9*来自四倍体小粒野生稻(*Oryza*

表1 已报道的水稻稻瘟病广谱抗性基因(或位点)及其抗谱特征

Table 1 Reported broad-spectrum *R* genes and their resistance spectrum

<i>R</i> 基因	品种来源	产地	染色体	抗谱	文献
<i>Pi1</i>	‘LAC23’	西非	11	抗我国9个稻区的菌株	Hua等2012
<i>Pi2/Piz5</i>	‘Fukunishiki’	日本	6	抗455个菲律宾菌株、我国13个稻区792个菌株、16个国家/地区36个菌株	Chen等2001
<i>Pi3/Pi5/Pii</i>	‘Tetep’	越南	9	抗6个菲律宾小种和26个韩国菌株	Jeon等2003
<i>Pi9</i>	小粒野生稻( <i>O. minuta</i> )	菲律宾	6	抗13个国家/地区43个菌株	Qu等2006
<i>Pi33</i>	‘IR64’	菲律宾	8	抗55个国家的2000多个菌株	Berruyer等2003
<i>Pi39</i>	‘Q15’	中国	12	抗我国5个省的475个菌株	Liu等2007b
<i>Pi40</i>	澳洲野生稻( <i>O. australiensis</i> )	澳大利亚	6	抗大部分韩国和菲律宾菌株	Suh等2009
<i>Pi47</i> 和 <i>Pi48</i>	‘湘资3150’	中国	11、12	抗303个菌株中的95.4%	Huang等2011
<i>Pi49</i>	‘魔王谷’	中国	11	抗157个小种的97.4%,在我国16个病圃中持续14年保持高抗	Sun等2013
<i>Pi51</i>	‘D69’	中国	6	抗56个菌株	Xiao等2012
<i>Pi54/Pikh</i>	‘Tetep’	越南	11	抗印度各地区小种	Sharma等2010
<i>Pi56</i>	‘三黄占2号’	中国	9	抗20个标准菌株中的19个菌株	Liu等2013
<i>Pi57</i>	长雄野生稻( <i>O. longistaminata</i> )	非洲	12	抗16个云南菌株	Xu等2015
<i>Pid2</i> 和 <i>Pid3</i>	‘地谷’	中国	6	抗16个供试菌株中的7个菌株	Chen等2006, 2009
<i>Piz-t</i>	‘TKM1’	日本	6	抗7个菌株	Zhou等2006
<i>Pigm</i>	‘谷梅4号’	中国	6	抗世界各地的50个菌株	Deng等2017
<i>Pita</i>	‘Yashiro-mochi’	日本	12	抗大部分欧洲菌株和2个非洲菌株	Bryan等2000
<i>Pitb</i>	‘自选2号’	中国	12	抗ZA、ZB和ZC小种的15个菌株	Sun等2016
<i>Pib</i>	‘BL1’	日本	2	抗16个日本稻瘟病菌小种菌株和来自印尼、泰国、中国、巴西和菲律宾等国的7个小种菌株	RoyChowdhury等2012
<i>bsr-d1</i>	‘地谷’	中国	3	RNAi和敲除株系抗9个不同稻瘟病菌株	Li等2017

表2 部分抗性的R基因及其抗谱

Table 2 Partial resistance R genes and their resistance spectrum

R基因	品种来源	产地	染色体	抗谱	文献
<i>pi21</i>	‘Owarihatamochi’	日本	4	抗世界各地的10个菌株	Fukuoka和Okuno 2001
<i>Pi63</i>	‘Kahei’	日本	4	高抗Kyu9439013和H10-168-1菌株	Xu等2014
<i>Pi64</i>	‘羊毛谷’	中国	1	抗47个籼稻源菌株中的33个	Ma等2015
<i>Pb1</i>	‘Modan’	日本	11	抗16个日本菌株和7个来自印尼、泰国、中国、巴西和菲律宾的菌株	Hayashi等2010b
<i>Pia</i>	‘Aichi Asahi’	日本	11	抗除江苏省小种外的小种	Zeng等2011

*minuta*), 是第一个克隆鉴定的广谱抗稻瘟病R基因, 抗来自13个国家/地区的43个菌株, 且不产生任何过敏性病斑(Qu等2006)。Pi9位点是一个由6个串联NBS-LRR基因组成的基因簇, 分别为*Nbs1-Pi9~Nbs6-Pi9*, 其中*Nbs2-Pi9*即为Pi9位点控制广谱抗性的唯一功能基因(Qu等2006)。Pi2/Piz5来自籼稻品种‘Fukunishiki’, 抗来自菲律宾的455个菌株及我国13个水稻栽培区的792个菌株(Chen等1996, 2001), 也抗来自16个国家/地区的43个菌株中的36个菌株(Liu等2002)。Pi2位点是一个由9个NBS-LRR基因组成的基因簇, 命名为*Nbs1-Pi2~Nbs9-Pi2*, 其中*Nbs4-Pi2*为Pi2 (Zhou等2006)。Pi2与Piz-t高度同源, Piz-t来源于籼稻品种‘TKM1’, 抗7个菌株, 分子鉴定表明*Nbs4-Pizt*是Piz-t (Zhou等2006)。进一步发现, Pi2和Piz-t编码的蛋白只有8个氨基酸的差异, 均存在于3个连续LRR结构域内(Zhou等2006)。Pi40来自野生水稻(*O. australiensis*), 抗大部分供试的韩国和菲律宾菌株, Pi40位点包含6个NBS-LRR基因(Jeung等2007)。Pigm来源于我国四川的籼稻品种‘谷梅4号’, 抗来自世界各地的50个菌株, 在我国不同稻区种植中均未发生稻瘟病(Deng等2006, 2017)。Pigm位点包含13个NBS-LRR基因, 命名为R1~R13, 其中R4、R6和R8等3个基因具有完整序列, 存在一个Ty3/gypsy转座子(Deng等2017)。通过基因敲除和转基因功能互补验证, 证明R6为Pigm位点的R基因, 而R8为感性基因(Deng等2017)。Pi51抗供试的所有56个菌株, 位于第6号染色体短臂一个100.8 kb区域内, 该区域内还包括Pi2、Pi9、Piz-t、Pigm和Pi40等R基因(Xiao等2012)。

Pi33是第一个报道的利用已克隆稻瘟菌毒性基因ACE1预测的R基因, 也是目前已知抗稻瘟基因

中抗谱相对较广的一个R基因(Couch和Kohn 2002), 抗来自55个国家的2 000多个菌株(Berruyer等2003)。Pi33位于第8号染色体短臂一段240 kb区域上(Berruyer等2003; Ballini等2007), 包含6个LRR受体激酶基因和3个NBS-LRR基因。研究表明Pi33和ACE1的互作可以激活一些PR基因上调表达(Vergne等2007)。

Pi3、Pi5和Pii紧密连锁, 对16个不同菌株有基本相同的抗谱, 且都定位在第9号染色体的相同区段(Yi等2004)。携带Pi5的重组自交系RIL125、RIL249和RIL260抗来自菲律宾稻瘟病菌4个谱系中的至少6个小种, RIL249还抗来自韩国29个菌株中的26个菌株(Jeon等2003)。Pi5定位于130 kb的区段, 含2个NBS-LRR基因Pi5-1和Pi5-2。单独导入Pi5-1和Pi5-2的水稻株系依然感病, 只有同时携带Pi5-1和Pi5-2的植株抗病, 说明Pi5是由2个基因控制的抗病位点(Lee等2009)。

第11号染色体长臂上也存在一个R基因簇, 即Pik位点。最早从‘Tetep’品种中鉴定到的Pi54/Pikh就位于该位点中(Sharma等2010), 对来自印度各地区的菌株表现很高很稳定的抗性(Thakur等2015)。Pi54/Pikh蛋白不仅包含一个典型的LRR结构域, 还有一个独特的锌指结构域(Arora等2015), 这一锌指结构域的功能可能与LRR区域暴露从而促进R-Avr互作有关(Gupta等2012)。Pikh基因簇位点还存在另一个广谱抗性基因Pil, 来自西非的水稻品种‘LAC23’ (Mackill和Bonman 1992)。测试了Pil对来自全国9个稻区19个栽培季的稻瘟病菌株的抗性谱, 结果表明Pil抗大部分供试菌株, 尤其是来自广东的1 292个菌株, 但不抗来自吉林的一些菌株(Hua等2012)。Pi49位于第11号染色体K10和K134标记之间, 是‘魔王谷’中控制稻瘟病抗性的单

基因, 对157个稻瘟菌株中的97.4%表现抗性, 在全国16个病圃中持续14年保持高抗(Sun等2013)。*Pi-hk1*来源于‘黑壳子粳’, 抗5个不同的供试菌株, 定位于第11号染色体标记P3586和ILP3之间, 包含3个NBS-LRR基因(Wu等2013)。

第12号染色体短臂也存在一个R基因簇。*Pitb*来自籼稻广谱抗病品种‘自选2号’, 高抗归属于ZA、ZB和ZC等小种的15个菌株(Sun等2016)。*Pi39*来自我国水稻品种‘Q15’, 抗我国5个省的475个菌株, 特别是对来自广东稻区的菌株具有显著抗性(Hua等2015; Liu等2007b)。*Pi57*来自长雄野生稻(*O. longistaminata*), 抗云南省的16个菌株(Xu等2015)。*Pita*是单拷贝的R基因, 位于第12号染色体, 编码一个928个氨基酸、含NBS-LRR结构域的细胞质膜受体蛋白(Bryan等2000)。*Pita*位点上的两个抗感基因编码的蛋白仅有一个氨基酸的差异, 其作用机制是Pita蛋白与稻瘟病菌的无毒蛋白AVR-Pita互作引发抗病反应(Zhou等2007)。*Pita*蛋白缺乏经典的LRR结构域, 但含有一个不完全重复的氨基酸序列组成的富亮氨酸结构域(LRD) (Bryan等2000)。研究发现, *Pita*蛋白LRD中第918位氨基酸的差异, 决定了等位基因的功能, 即第918位氨基酸为丙氨酸则抗病, 而为丝氨酸则表现为感病(Bryan等2000)。*Pita*抗大部分来自欧洲及2个来自非洲的稻瘟病菌菌株(Roumen等1997; Séré等2007)。

*Pi47*和*Pi48*来自湖南的籼稻品种‘湘资3150’, 分别位于第11染色体RM206与RM224标记之间和第12号染色体RM5364与RM7102标记之间。‘湘资3150’的抗性由*Pi47*和*Pi48*共同决定, 抗303个稻瘟病菌株中的95.4%, 表现较高和较稳定的广谱抗性(Huang等2011)。

## 2.2 以单基因形式存在的广谱抗性R基因

在水稻中也发现一些以单基因形式存在的广谱抗性R基因。定位于第9号染色体的*Pi56*来源于水稻品种‘三黄占2号’, 抗20个标准菌株中的19个菌株(Liu等2013)。在抗病品种‘三黄占2号’和‘BC-10’中, *Pi56*编码一个743个氨基酸的NBS-LRR蛋白, 其表达受稻瘟病菌侵染的强烈诱导; 而在感病品种‘特粘占13号’中*Pi56*编码产物缺失LRR结构域, 且不受稻瘟病菌诱导(Liu等2013)。

*Pi64*来自于广谱抗病品种‘羊毛谷’, 是一个与叶瘟、穗颈瘟抗性相关的R基因, 位于第1号染色

体一段43 kb区域。该区域有2个完整ORF, 即*NBS-1* (ORF-13)和*NBS-2* (ORF16), 均编码NBS-LRR蛋白。研究证明*NBS-2*是*Pi64*。携带*Pi64*的转基因水稻株系抗47个来自籼稻菌株中的33个菌株, 但不抗来自粳稻的所有53个供试菌株, 说明*Pi64*只在籼稻品种中控制广谱抗性(Ma等2015)。

*Pib*是由日本学者克隆鉴定的第一个抗稻瘟病R基因, 也能控制穗颈瘟抗性, 抗16个日本稻瘟病菌菌株和来自印尼、泰国、中国、巴西和菲律宾等国的7个菌株(Miyamoto 1996; RoyChowdhury等2012)。*Pib*位于第2号染色体长臂末端附近区域, 属于NBS-LRR成员(Wang等1999)。

*Pi63*来自日本南部水稻品种‘Kahei’, 表现很强的田间抗性, 对Kyu9439013和H10-168-1菌株具高水平抗性。*Pi63*定位于第4号染色体, 该区段含7个NBS-LRR抗性基因*RG1~RG7*, 只有*RG3*和稻瘟病抗性相关。水稻品种‘Kahei’的高水平广谱抗性由多基因控制, *Pi36*所调控的抗性与其表达量密切相关, 表明*Pi36*对稻瘟病的抗性具有剂量效应(Xu等2014)。

研究表明, 一些表现部分抗性或非小种专化抗性的R基因具有较广抗谱, 如*pi21*、*Pi63*、*Pi64*等。*pi21*是已报道的唯一一个隐性R基因, 编码一个含重金属结合结构域和蛋白互作基序的富含脯氨酸蛋白, 是非小种专一性抗病基因。*pi21*突变后, 水稻对稻瘟病的抗性提高, 抗来自世界各地的10个稻瘟病菌菌株, 但并不是完全抗性, 且所调控的抗病反应较慢, 这种低速诱导的抗病反应可能是一种新的持久抗病反应机制, 但是一个与*pi21*紧密连锁的基因, 会造成稻米的食用品质下降, 使其在应用方面受到一定限制(Fukuoka等2009), 而其在广亲和品种‘02428’中的等位基因*pi21t*对6个江苏省代表小种表现出免疫反应(朱金燕等2014)。此外, *Pia*是一个具较弱抗性的R基因, 对除来自江苏省外的稻瘟病菌菌株表现出较弱的广谱抗性(Zeng等2011)。最近我国学者发现, 来源于‘地谷’的广谱抗瘟基因*bsr-d1*编码一个C2H2型锌指蛋白, 参与非小种专化性抗病反应, 因为RNAi干涉株系与基因敲除株系提高对9个不同稻瘟病菌株的抗性, 而过量表达株系则降低抗病性(Li等2017)。研究表明, *bsr-d1*表达受上游MYB转录因子的调控, 而*bsr-d1*则调控下游过氧化物酶基因的表达(Li等

2017)。此外,在3 000份水稻材料中,*bsr-d1*位点分布于其中10%,说明*bsr-d1*在人工驯化过程中得到进一步选择(Li等2017)。

### 3 水稻对稻瘟病广谱抗性的机制

如前述,已经鉴定到100多个抗稻瘟病*R*基因,其中26个*R*基因控制了对稻瘟病的广谱抗性(表1和表2)。这些*R*基因编码的蛋白分别属于包括核苷酸结合位点(nucleotide binding sites, NBS)和富含亮氨酸重复(Leucine rich repeat, LRR)蛋白(NBS-LRR)、受体蛋白激酶(receptor-like kinase protein, RLK)或富脯氨酸类蛋白。相应地,在稻瘟病菌中也克隆鉴定了部分广谱抗性*R*基因相应的无毒基因,如*AvrPiz-t*、*AvrPia*、*AvrPii*、*AvrPik/km/kp*、*ACE1*和*AvrPi9* (Bohnert等2004; Li等2009; Miki等2009; Orbach等2000; Wu等2015)。研究表明,水稻抗性*R*蛋白和稻瘟病菌*Avr*蛋白间的互作存在不同机制,第一类为直接互作并介导ETI,第二类为非直接互作并介导ETI。

#### 3.1 水稻*R*蛋白与稻瘟菌*Avr*蛋白直接互作介导的ETI

在已知的水稻*R*基因中,只有*Pita*能与其相应的稻瘟病菌无毒蛋白*AvrPita*蛋白发生直接互作,并激活*Pita*依赖的抗病反应,且*Pita*蛋白中的LRR结构域突变后会导致*Pita-AvrPita*间互作关系的消失(Bryan等2000)。最近发现,水稻*R*蛋白*Pik*和*RGA4/RGA5*也是通过直接结合的方式分别与稻瘟病菌无毒蛋白*Avr-Pik*以及*Avr-Pia*和*Avr1-CO39*相互识别(Kanzak等2012; Cesari等2013)。

#### 3.2 水稻*R*蛋白和稻瘟菌*Avr*蛋白间接互作介导的ETI

大多数水稻*R*蛋白与稻瘟病菌*Avr*蛋白之间并无直接互作关系,通过与其他寄主蛋白因子的非直接互作来调控*R-Avr*对所介导的免疫反应。*AvrPiz-t*是稻瘟病广谱抗性基因*Piz-t*相对应的无毒蛋白,*AvrPiz-t*和*Piz-t*间不存在直接互作关系。采用酵母双杂交技术鉴定到12个*AvrPiz-t*互作蛋白APIPs (*AvrPiz-t* interacting proteins) (Park等2012)。APIP6编码Ring finger型E3泛素连接酶。研究发现,*AvrPiz-t*能破坏APIP6的泛素连接酶活性,并抑制APIP6介导的PTI反应,这与APIP6 RNAi水稻植株增强对稻瘟病菌的感病性相一致(Park等2012)。APIP10也是一个E3泛素连接酶,且能与*AvrPiz-t*互

作。APIP10与*AvrPiz-t*互作后导致其自身的降解,但APIP10也可以促进*AvrPiz-t*泛素化水平,引起*AvrPiz-t*降解。在*Piz-t*背景下沉默APIP10后,可引起*Piz-t*的表达上调,且增强水稻植株对稻瘟病菌的抗性(Park等2016)。最新发现,*AvrPiz-t*还与一个bZIP转录因子类型的靶标蛋白APIP5在细胞质中发生互作,并特异性地抑制APIP5转录活性(Wang等2016)。在水稻中抑制APIP5基因表达会引起细胞死亡,而*AvrPiz-t*则通过抑制APIP5蛋白积累加剧由APIP5引起的细胞死亡。*R*蛋白*Piz-t*同样能与APIP5互作,并稳定APIP5蛋白积累,从而抑制细胞坏死,并阻止稻瘟病菌从活体营养阶段过渡到死体营养阶段(Wang等2016)。另外,APIP5正调控*Piz-t*蛋白积累,并诱导效应子引发的ETI (Wang等2016)。这一研究揭示了水稻*R*蛋白*Piz-t*通过稳定稻瘟病菌无毒蛋白*AvrPiz-t*在水稻中的靶标蛋白APIP5,从而调控免疫反应。这一机制类似于拟南芥中由RIN4介导的RPM1-*AvrRpm1*和RPS2-*AvrRps2*所调控的免疫反应(Khan等2016)。

#### 3.3 基因天然变异调控水稻广谱抗性

我国学者Li等(2017)利用广谱高抗品种‘地谷’与66份非广谱抗病材料进行全基因组关联分析,并结合‘地谷’与高感品种‘丽江新团黑谷’为亲本构建的重组自交系进行共相关分析,发现了一个编码C2H2转录因子的基因*Bsr-d1*启动子存在一处天然的单核苷酸变异,可以提高广谱持久抗稻瘟病性,而对产量性状和稻米品质没有明显影响。研究发现,在全球收集的3 000份水稻中,来自26个国家的313份水稻材料含有*Bsr-d1*变异位点,表明该位点在育种应用中已获得一定程度的定向选择。进一步发现,在‘地谷’中*Bsr-d1*启动子区的单核苷酸替换,导致上游MYB转录因子MYBS1对*Bsr-d1*的启动子结合增强,从而抑制*Bsr-d1*在稻瘟病菌侵染后的诱导表达,并导致*BSR-D1*直接调控的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>降解酶基因表达下调,细胞内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>富集,从而提高水稻对稻瘟病的广谱抗性。这一发现揭示了在水稻等植物中C2H2转录因子和MYB转录因子协调减弱H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>降解,来提高广谱抗性的新机制,因而极大地丰富了有关水稻等植物免疫反应和抗病性的分子机理。

#### 3.4 表观遗传修饰调控水稻广谱抗性

表观遗传调控(epigenetic regulation)在植物抗病反应中的功能正日益被人们所熟知(Espinas等

2016; Zhu等2016)。最近, Deng等(2017)从起源于我国农家品种‘谷梅4号’中鉴定了一个既调控稻瘟病广谱持久抗性又不影响最终产量新位点*Pigm*。*Pigm*是一个包含多个NBS-LRR类抗病基因的基因簇, 其中只有*PigmR*和*PigmS* 2个基因具有生物学功能。*PigmR*在水稻的叶、茎秆和穗等器官组成型表达, *PigmR*蛋白自身互作形成同源二聚体, 调控对稻瘟病的广谱抗性, 但*PigmR*导致千粒重降低, 产量下降; 而*PigmS*则主要控制产量性状, 其蛋白*PigmS*可与*PigmR*竞争形成异源二聚体, 并抑制*PigmR*介导的稻瘟病广谱抗性。研究发现, *PigmR*-*PigmS*调控广谱抗性与产量性状之间的平衡主要由*PigmS*的表达水平来实现。在水稻中不同组织中*PigmS*表达水平受其启动子中的转座子和表观遗传机制所调控(Deng等2017)。*PigmS*基因启动子有2个串联小转座子MITE1和MITE2, 导致*PigmS*在叶片中的表达水平降低。更为重要的是, *PigmS*的表达受表观遗传所调控。与花粉中*PigmS*启动子的CHH甲基化水平相比, *Pigm*近等基因系植株叶片中*PigmS*启动子区域的甲基化水平显著升高, 表明*PigmS*在花粉和叶片中的表达差异来自于启动子区域CHH甲基化水平差异所导致。同时, 依赖RNA的DNA甲基化(RNA dependent DNA methylation, RdDM)通路中相关基因沉默后或敲除*PigmS*启动子中MITE1和MITE2转座子, 均可显著提高*PigmS*的表达水平, 但弱化了*PigmR*介导的稻瘟病抗性。正是由于表观遗传机制对*PigmS*基因表达的精确调控, 使得*PigmS*在花粉中特异地高表达, 提高结实率, 并抵消*PigmR*对产量的影响; 而在叶片、茎秆等部位则仅有很低的表达水平, 不会显著抑制*PigmR*的作用, 使*PigmR*能完全发挥其抗病功能(Deng等2017; Wang和Valent 2017)。因此, 这一发现表明表观遗传机制调控*Pigm*位点2个*R*基因的表达水平, 从而实现广谱抗性与产量的平衡, 不仅在理论上提出了水稻对稻瘟病抗性中免疫反应的新调控机制, 而且为利用*Pigm*基因培育广谱抗性水稻新品种的育种实践提供理论指导。在一定程度上解释了在水稻育种中经常观察到的产量等农艺性状好的品种抗性差, 而抗性好的品种则农艺性状差的现象。

#### 4 水稻稻瘟病广谱抗性*R*基因的应用

一些控制稻瘟病菌广谱抗性基因在显著提高

抗病性的同时并不影响主要农艺性状, 因而具有巨大的育种价值。研究发现, 多个*R*基因聚合后可以显著增强抗病性, 而且抗谱显著增宽。聚合了*Pi1*、*Pi2/Piz5*和*Pi3/Pi5/Pii*的水稻品系, 不仅提高了对某些小种的抗性水平, 而且抗谱也比单基因品系更宽(刘士平等2003); 聚合*Pi46*和*Pita*近等基因系的抗谱比单基因品系更宽(Xiao等2016); 在*pi21*、*Pi34*和*Pi35*的近等基因系组合中, *pi21*和*Pi35*组合的近等基因系抗性最强(Yasuda等2014)。最近克隆鉴定的*Pigm*已经被国内30多家种子公司和育种单位应用于水稻抗病分子育种中, 如利用*Pigm*位点已经培育出具有高抗、广谱抗性以及高产的杂交水稻品种‘隆两优3189’(Deng等2017); 同时将*Pigm*导入到寒地优良粳稻品种‘空育131’、‘龙粳26’和‘垦鉴稻6’中, 与亲本相比, 导入系对稻瘟病菌的抗谱大幅提高, 抗性频率最高达98.4%(田红刚等2016)。利用*Pigm*基因选育的水稻品种既有稻瘟病广谱抗性又不影响产量, 具有很大的应用价值, 部分品种已进入区试和审定。

与此同时, 一些稻瘟病抗性基因与控制其他病害的抗性基因或抗虫基因, 通过聚合育种途径培育抗多种病害或兼抗病抗虫的水稻广谱抗性品种。利用分子标记辅助选择聚合广谱抗性基因*Pi9*和其他抗病或抗虫基因, 培育出一批具有广谱抗性的水稻品种, 如将*Pi9*导入水稻恢复系品种‘M12’中, 培育出聚合水稻白叶枯病*R*基因*Xa21*和*Pi9*的双抗品种(倪大虎等2005)。将水稻白叶枯病*R*基因*Xa23*和*Pi9*聚合到感病杂交稻恢复系‘闽恢3139’中, 获得4个双抗稻瘟病和白叶枯病的改良系(陈建民等2009)。将稻飞虱抗性基因*bph20*、*bph21*和*Pi9*导入优异保持系博IIIIB, 选育出兼抗稻瘟病和稻飞虱的双抗材料(赵鹏等2013)。

#### 5 小结与展望

在过去二十年间, 水稻抗病性分子机制研究取得显著进展, 特别是水稻对稻瘟病的抗性机制方面更是成果显著, 在理论上增进并丰富了对水稻-稻瘟病菌互作机制的认识, 同时在上应用上加速在水稻种质资源中挖掘发现新的*R*基因, 通过聚合育种、转基因、全基因组关联分析、CRISPR/Cas9基因编辑等技术, 培育具广谱抗性的水稻新品种和新材料。今后的基础研究可从以下三个方面入手: (1)水稻对稻瘟病广谱抗性的分子机制。*Pigm*

的克隆鉴定及其作用机制的发现,在认识水稻广谱抗性机制方面取得突破,但总体来说目前对水稻广谱抗性的本质及其调控机制的认知还有限(Deng等2017)。就*Pigm*的作用机制而言,稻瘟菌感染前后*PigmR*和*PigmS*是如何互作的?*Pigm*控制的广谱抗性是否是因为稻瘟病菌中效应蛋白*AvrPigmR*在稻瘟菌中非常保守?而这样的无毒蛋白是如何与*PigmR*和*PigmS*互作的?(2)水稻R蛋白与稻瘟病菌*Avr*蛋白互作后激活的下游信号通路。目前已经鉴定到不少广谱抗性的R基因及其相应*Avr*基因,但这些R和*Avr*蛋白互作后激活的下游信号通路或调控的下游靶标蛋白等并不清楚。有证据表明稻瘟病菌*AvrPiz-t*蛋白可以通过破坏E3泛素连接酶*APIP6*的活性来抑制水稻PTI,但是其它*Avr*蛋白的作用机理还未知。*PigmR*和*PigmS*如何通过与其他蛋白互作来调控或平衡广谱抗性和产量性状的信号途径等关键问题有待研究阐明。水稻如何通过调控SA和JA等抗性相关激素的水平来改变*PigmR*引起的广谱抗性所带来的不利影响?最新研究发现广谱抗性基因*Pb1*可以与转录因子OsWRKY45互作来激活水稻免疫反应(Inoue等2013),但是要系统地认识R蛋白介导的抗病信号途径还有待进一步的研究。(3)表观遗传修饰在调控R基因功能中的作用机制。最近研究发现,表观遗传修饰在植物的对各种逆境胁迫适应性方面起到了重要的作用(Espinas等2016; Zhu等2016)。病原菌感染后可以引起寄主植物全基因组DNA甲基化水平和特异位点甲基化状态的改变,而这些变化往往与免疫反应相关基因表达变化密切相关(Boyko和Kovalchuk 2011)。*Pigm*作用机制的发现表明,表观遗传机制能改变R基因位点表观遗传修饰,进而调控植物免疫反应。但是,表观遗传机制如何通过调控*PigmS*表达来实现广谱抗性和产量的平衡等问题仍需研究阐明。

### 参考文献

- Arora K, Rai AK, Gupta SK, Singh PK, Narula A, Sharma TR (2015). Phenotypic expression of blast resistance gene *Pi54* is not affected by its chromosomal position. *Plant Cell Rep*, 34 (1): 63–70
- Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, Kanamori H, Wu JZ, Matsumoto T, Ono K, Yano M (2008). Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer *Pikm*-specific rice blast resistance. *Genetics*, 180 (4): 2267–2277
- Azizi P, Rafii MY, Abdullah SN, Nejat N, Maziah M, Hanafi MM, Latif MA, Sahebi M (2016). Toward understanding of rice innate immunity against *Magnaporthe oryzae*. *Crit Rev Biotechnol*, 36 (1): 165–174
- Ballini E, Berruyer R, Morel JB, Lebrun MH, Nottoghem JL, Tharreau D (2007). Modern elite rice varieties of the “Green Revolution” have retained a large introgression from wild rice around the *Pi33* rice blast resistance locus. *New Phytol*, 175 (2): 340–350
- Bernoux M, Ellis JG, Dodds PN (2011). New insights in plant immunity signaling activation. *Curr Opin Plant Biol*, 14 (5): 512–518
- Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, Gaillard S, Berger A, Dioh W, Lebrun MH, Tharreau D (2003). Identification and fine mapping of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. *Theor App Genet*, 107 (6): 1139–1147
- Bohnert HU, Fudal I, Dioh W, Tharreau D, Nottoghem JL, Lebrun MH (2004). A putative polyketide synthase/peptide synthetase from *Magnaporthe grisea* signals pathogen attack to resistant rice. *Plant Cell*, 16 (9): 2499–2513
- Boller T, He SY (2009). Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science*, 324 (5928): 742–744
- Boyko A, Kovalchuk I (2011). Genetic and epigenetic effects of plant-pathogen interactions: an evolutionary perspective. *Mol Plant*, 4 (6): 1014–1023
- Bryan GT, Wu KS, Farrall L, Jia Y, Hershey HP, McAdams SA, Faulk KN, Donaldson GK, Tarchini R, Valent B (2000). A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*. *Plant Cell*, 12 (11): 2033–2046
- Cesari S, Thilliez G, Ribot C, Chalvon V, Michel C, Jauneau A, Rivas S, Alaux L, Kanzaki H, Okuyama Y, et al (2013). The rice resistance protein pair RGA4/RGA5 recognizes the *Magnaporthe oryzae* effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by direct binding. *Plant Cell*, 25 (4): 1463–1481
- Chen DH, Zeigler RS, Ahn SW, Nelson RJ (1996). Phenotypic characterization of the rice blast resistance gene *Pi-2(t)*. *Plant Dis*, 80 (1): 52–56
- Chen HL, Chen BT, Zhang DP, Xie YF, Zhang QF (2001). Pathotypes of *Pyricularia grisea* in rice fields of central and southern China. *Plant Dis*, 85 (8): 843–850
- Chen J, Peng P, Tian J, He Y, Zhang L, Liu Z, Yin D, Zhang Z (2015). *Pike*, a rice blast resistance allele consisting of two adjacent NBS-LRR genes, was identified as a novel allele at the *Pik* locus. *Mol Breed*, 35 (5): 117
- Chen J, Shi YF, Liu WZ, Chai RY, Fu YP, Zhuang JY, Wu JL (2011). A *Pid3* allele from rice cultivar Gumei2 confers resistance to *Magnaporthe oryzae*. *J Genet Genom*, 38 (5): 209–216
- Chen JM, Fu ZY, Quan BQ, Tian DG, Li G, Wang F (2009). Breeding hybrid rice restoring line with double resistance to rice blast and bacterial blight by marker-assisted selection. *Mol Plant Breed*, 7 (3): 465–470 (in Chinese with English abstract) [陈建民, 付志英, 权宝权, 田大刚, 李刚, 王锋(2009). 分子标记辅助培育双抗稻瘟病和白叶枯病杂交稻恢复系. *分子植物育种*, 7 (3): 465–470]
- Chen X, Shang J, Chen D, Lei C, Zou Y, Zhai W, Liu G, Xu J, Ling Z,

- Cao G, et al (2006). A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *Plant J*, 46 (5): 794–804
- Couch BC, Kohn LM (2002). A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M-grisea*. *Mycologia*, 94 (4): 683–693
- Deng Y, Zhai K, Xie Z, Yang D, Zhu X, Liu J, Wang X, Qin P, Yang Y, Zhang G, et al (2017). Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance. *Science*, 355 (6328): 962–965
- Deng Y, Zhu X, Shen Y, He Z (2006). Genetic characterization and fine mapping of the blast resistance locus *Pigm(t)* tightly linked to *Pi2* and *Pi9* in a broad-spectrum resistant Chinese variety. *Theor Appl Genet*, 113 (4): 705–713
- Espinosa NA, Saze H, Saijo Y (2016). Epigenetic control of defense signaling and priming in plants. *Front Plant Sci*, 7: 1201
- Fujii K, Hayano-Saito Y, Saito K, Sugiura N, Hayashi N, Tsuji T, Iizawa T, Iwasaki M (2000). Identification of a RFLP marker tightly linked to the panicle blast resistance gene, *Pb1*, in rice. *Breeding Sci*, 50 (3): 183–188
- Fukuoka S, Okuno K (2001). QTL analysis and mapping of *pi21*, a recessive gene for field resistance to rice blast in Japanese upland rice. *Theor Appl Genet*, 103 (2): 185–190
- Fukuoka S, Saka N, Koga H, Ono K, Shimizu T, Ebana K, Hayashi N, Takahashi A, Hirochika H, Okuno K, et al (2009). Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science*, 325 (5943): 998–1001
- Gupta SK, Rai AK, Kanwar SS, Sharma TR (2012). Comparative analysis of zinc finger proteins involved in plant disease resistance. *PLoS One*, 7 (8): e42578
- Hayashi K, Yasuda N, Fujita Y, Koizumi S, Yoshida H (2010a). Identification of the blast resistance gene *Pit* in rice cultivars using functional markers. *Theor Appl Genet* 121 (7): 1357–1367
- Hayashi N, Inoue H, Kato T, Funao T, Shirota M, Shimizu T, Kanamori H, Yamane H, Hayano-Saito Y, Matsumoto T, et al (2010b). Durable panicle blast-resistance gene *Pb1* encodes an atypical CC-NBS-LRR protein and was generated by acquiring a promoter through local genome duplication. *Plant J*, 64 (3): 498–510
- Hua L, Wu J, Chen C, Wu W, He X, Lin F, Wang L, Ashikawa I, Matsumoto T, Wang L, et al (2012). The isolation of *Pi1*, an allele at the *Pik* locus which confers broad spectrum resistance to rice blast. *Theor Appl Genet*, 125 (5): 1047–1055
- Hua LX, Liang LQ, He XY, Wang L, Zhang WS, Liu W, Liu XQ, Lin F (2015). Development of a marker specific for the rice blast resistance gene *Pi39* in the Chinese cultivar Q15 and its use in genetic improvement. *Biotechnol Bioeng*, 29 (3): 448–456
- Huang HM, Huang L, Feng GP, Wang SH, Wang Y, Liu JL, Jiang N, Yan WT, Xu LC, Sun PY, et al (2011). Molecular mapping of the new blast resistance genes *Pi47* and *Pi48* in the durably resistant local rice cultivar Xiangzi 3150. *Phytopathology*, 101 (5): 620–626
- Inoue H, Hayashi N, Matsushita A, Xinqiong L, Nakayama A, Sugano S, Jiang CJ, Takatsuji H (2013). Blast resistance of CC-NB-LRR protein *Pb1* is mediated by WRKY45 through protein-protein interaction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (23): 9577–9582
- Jeon JS, Chen D, Yi GH, Wang GL, Ronald PC (2003). Genetic and physical mapping of *Pi5(t)*, a locus associated with broad-spectrum resistance to rice blast. *Mol Genet Genomics*, 269 (2): 280–289
- Jeung JU, Kim BR, Cho YC, Han SS, Moon HP, Lee YT, Jena KK (2007). A novel gene, *Pi40(t)*, linked to the DNA markers derived from NBS-LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance in rice. *Theor Appl Genet*, 115 (8): 1163–1177
- Kanzaki H, Yoshida K, Saitoh H, Fujisaki K, Hirabuchi A, Alaux L, Fournier E, Tharreau D, Terauchi R (2012). Arms race co-evolution of *Magnaporthe oryzae* AVR-Pik and rice *Pik* genes driven by their physical interactions. *Plant J*, 72 (6): 894–907
- Khan M, Subramaniam R, Desveaux D (2016). Of guards, decoys, baits and traps: pathogen perception in plants by type III effector sensors. *Curr Opin Microbiol*, 29: 49–55
- Lee SK, Song MY, Seo YS, Kim HK, Ko S, Cao PJ, Suh JP, Yi G, Roh JH, Lee S, et al (2009). Rice *Pi5*-mediated resistance to *Magnaporthe oryzae* requires the presence of two coiled-coil-nucleotide-binding-leucine-rich repeat genes. *Genetics*, 181 (4): 1627–1638
- Li W, Wang B, Wu J, Lu G, Hu Y, Zhang X, Zhang Z, Zhao Q, Feng Q, Zhang H, et al (2009). The *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AvrPiz-t* encodes a predicted secreted protein that triggers the immunity in rice mediated by the blast resistance gene *Piz-t*. *Mol Plant-Microbe Interact*, 22 (4): 411–420
- Li W, Zhu Z, Chern M, Yin J, Yang C, Ran L, Cheng M, He M, Wang K, Wang J, et al (2017). A natural allele of a transcription factor in rice confers broad-spectrum blast resistance. *Cell*, 170 (1): 114–126
- Lin F, Chen S, Que Z, Wang L, Liu X, Pan Q (2007). The blast resistance gene *Pi37* encodes a nucleotide binding site leucine-rich repeat protein and is a member of a resistance gene cluster on rice chromosome 1. *Genetics*, 177 (3): 1871–1880
- Liu G, Lu G, Zeng L, Wang GL (2002). Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9(t)* and *Pi2(t)*, are physically linked on rice chromosome 6. *Mol Genet Genomics*, 267 (4): 472–480
- Liu SP, Li X, Wang ZY, Li XH, He YQ (2003). Gene pyramiding to increase the blast resistance in rice. *Mol Plant Breed*, 1 (1): 22–26 (in Chinese with English abstract) [刘士平, 李信, 汪朝阳, 李香花, 何予卿(2003). 基因聚合对水稻稻瘟病的抗性影响. 分子植物育种, 1 (1): 22–26]
- Liu W, Liu J, Triplett L, Leach JE, Wang GL (2014). Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol*, 52: 213–241
- Liu W, Wang GL (2016). Plant innate immunity in rice: a defense against pathogen infection. *Nat Sci Rev*, (3): 295–308
- Liu XQ, Lin F, Wang L, Pan QH (2007a). The in silico map-based cloning of *Pi36*, a rice coiled-coil-nucleotide-binding site-leucine-rich repeat gene that confers race-specific resistance to the blast fungus. *Genetics*, 176 (4): 2541–2549
- Liu XQ, Yang QZ, Lin F, Hua LX, Wang CT, Wang L, Pan QH (2007b). Identification and fine mapping of *Pi39(t)*, a major gene conferring the broad-spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae*. *Mol*



- Genet Genomics, 278 (4): 403–410
- Liu Y, Liu B, Zhu X, Yang J, Bordeos A, Wang G, Leach JE, Leung H (2013). Fine-mapping and molecular marker development for *Pi56(t)*, a NBS-LRR gene conferring broad-spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice. *Theor Appl Genet*, 126 (4): 985–998
- Ma J, Lei C, Xu X, Hao K, Wang J, Cheng Z, Ma X, Ma J, Zhou K, Zhang X, et al (2015). *Pi64*, encoding a novel CC-NBS-LRR protein, confers resistance to leaf and neck blast in rice. *Mol Plant-Microbe Interact*, 28 (5): 558–568
- Mackill DJ, Bonman JM (1992). Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology*, 82 (7): 746–749
- Miki S, Matsui K, Kito H, Otsuka K, Ashizawa T, Yasuda N, Fukiya S, Sato J, Hirayae K, Fujita Y, et al (2009). Molecular cloning and characterization of the *AVR-Pia* locus from a Japanese field isolate of *Magnaporthe oryzae*. *Mol Plant Pathol*, 10 (3): 361–374
- Miyamoto M (1996). High resolution mapping of the *Indica*-derived rice blast resistance genes. I. *Pi-b*. *Mol Plant-Microbe Interact*, 9 (1): 6
- Monaghan J, Zipfel C (2012). Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. *Curr Opin Plant Biol*, 15 (4): 349–357
- Ni DH, Yi CX, Li L, Wang XF, Wang WX, Yang JB (2005). Pyramiding *Xa21* and *Pi9(t)* in rice by marker-assisted selection. *Mol Plant Breed*, 3 (3): 329–334 (in Chinese with English abstract) [倪大虎, 易成新, 李莉, 汪秀峰, 王文相, 杨剑波(2005). 利用分子标记辅助选择聚合水稻基因 $Xa21$ 和 $Pi9(t)$ . 分子植物育种, 3 (3): 329–334]
- Orbach MJ, Farrall L, Sweigard JA, Chumley FG, Valent B (2000). A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene *Pi-ta*. *Plant Cell*, 12 (11): 2019–2032
- Park CH, Chen S, Shirsekar G, Zhou B, Khang CH, Songkumarn P, Afzal AJ, Ning Y, Wang R, Bellizzi M, et al (2012). The *Magnaporthe oryzae* effector AvrPiz-t targets the RING E3 ubiquitin ligase APIP6 to suppress pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity in rice. *Plant Cell*, 24 (11): 4748–4762
- Park CH, Shirsekar G, Bellizzi M, Chen S, Songkumarn P, Xie X, Shi X, Ning Y, Zhou B, Suttiviriya P, et al (2016). The E3 ligase APIP10 connects the effector AvrPiz-t to the NLR receptor Piz-t in rice. *PLoS Pathog*, 12 (3): e1005529
- Qu S, Liu G, Zhou B, Bellizzi M, Zeng L, Dai L, Han B, Wang GL (2006). The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice. *Genetics*, 172 (3): 1901–1914
- Roumen E, Levy M, Nottoghem JL (1997). Characterisation of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathotype analysis. *Eur J Plant Pathol*, 103 (4): 363–371
- RoyChowdhury M, Jia Y, Jia MH, Fjellstrom R, Cartwright RD (2012). Identification of the rice blast resistance gene *Pib* in the national small grains collection. *Phytopathology*, 102 (7): 700–706
- Schwessinger B, Ronald PC (2012). Plant innate immunity: perception of conserved microbial signatures. *Annu Rev Plant Biol*, 63: 451–482
- Segonzac C, Zipfel C (2011). Activation of plant pattern-recognition receptors by bacteria. *Curr Opin Microbiol*, 14 (14): 54–61
- Séré Y, Onasanya A, Afolabi A, Mignouna HD, Akator K (2007). Genetic diversity of the blast fungus, *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, in Burkina Faso. *Afr J Biotechnol*, 6 (22): 2568–2577
- Sharma TR, Rai AK, Gupta SK, Singh NK (2010). Broad-spectrum blast resistance gene *Pi-k(h)* cloned from rice line Tetep designated as *Pi54*. *J Plant Biochem Biot*, 19 (1): 87–89
- Suh JP, Roh JH, Cho YC, Han SS, Kim YG, Jena KK (2009). The *Pi40* gene for durable resistance to rice blast and molecular analysis of *Pi40*-advanced backcross breeding lines. *Phytopathology*, 99 (3): 243–250
- Sun HM, Wu LH, Guo LP, Song FG, Zheng Z, Cheng Z (2016). Genetic analysis and molecular mapping of *Pitb* with broad-spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice. *Euphytica*, 209 (3): 547–554
- Sun PY, Liu JL, Wang Y, Jiang N, Wang SH, Dai YS, Gao J, Li ZQ, Pan SJ, Wang D, et al (2013). Molecular mapping of the blast resistance gene *Pi49* in the durably resistant rice cultivar Mowangu. *Euphytica*, 192 (1): 45–54
- Takahashi A, Hayashi N, Miyao A, Hirochika H (2010). Unique features of the rice blast resistance *Pish* locus revealed by large scale retrotransposon-tagging. *BMC Plant Biol*, 10: 175
- Thakur S, Singh PK, Das A, Rathour R, Variar M, Prashanthi SK, Singh AK, Singh UD, Chand D, Singh NK, et al (2015). Extensive sequence variation in rice blast resistance gene *Pi54* makes it broad spectrum in nature. *FrontPlant Sci*, 6: 345
- Thomma BP, Nurnberger T, Joosten MH (2011). Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. *Plant Cell*, 23 (1): 4–15
- Tian HG, Chen HQ, Hu J, Lei CL, Zhu XD, Qian Q (2016). Effect of introgressed *Pigm* gene on rice blast resistance and yield traits in *Japonica* rice in cold area. *J Shenyang Agric Univ*, 47 (5): 520–526 (in Chinese with English abstract) [田红刚, 陈红旗, 胡江, 雷财林, 朱旭东, 钱前(2016). 抗稻瘟病基因 $Pigm$ 导入对寒地粳稻抗病性和产量性状的影响. 沈阳农业大学学报, 47 (5): 520–526]
- Vergne E, Ballini E, Marques S, Mammari BS, Droc G, Gaillard S, Bourot S, DeRose R, Tharreau D, Nottoghem JL, et al (2007). Early and specific gene expression triggered by rice resistance gene *Pi33* in response to infection by ACE1 avirulent blast fungus. *New Phytol*, 174 (1): 159–171
- Wang GL, Valent B (2017). Durable resistance to rice blast. *Science*, 355 (6328): 906–907
- Wang R, Ning Y, Shi X, He F, Zhang C, Fan J, Jiang N, Zhang Y, Zhang T, Hu Y, et al (2016). Immunity to rice blast disease by suppression of effector-triggered necrosis. *Curr Biol*, 26 (18): 2399–2411
- Wang ZX, Yano M, Yamanouchi U, Iwamoto M, Monna L, Hayasaka H, Katayose Y, Sasaki T (1999). The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. *Plant J*, 19 (1): 55–64
- Wu JL, Fan YY, Li DB, Zheng KL, Leung H, Zhuang JY (2005). Genetic control of rice blast resistance in the durably resistant cultivar Gumei 2 against multiple isolates. *Theor Appl Genet*, 111 (1):

- 50–56
- Wu J, Kou Y, Bao J, Li Y, Tang M, Zhu X, Ponaya A, Xiao G, Li J, Li C, et al (2015). Comparative genomics identifies the *Magnaporthe oryzae* avirulence effector AvrPi9 that triggers *Pi9*-mediated blast resistance in rice. *New Phytol*, 206 (4): 1463–1475
- Wu Y, Bao Y, Xie L, Su Y, Chu R, He W, Huang J, Wang J, Zhang H (2013). Fine mapping and identification of blast resistance gene *Pi-hk1* in a broad-spectrum resistant japonica rice landrace. *Phytopathology*, 103 (11): 1162–1168
- Wu Y, Yu L, Pan C, Dai Z, Li Y, Xiao N, Zhang X, Ji H, Huang N, Zhao B, et al (2016). Development of near-isogenic lines with different alleles of *Piz* locus and analysis of their breeding effect under Yangdao 6 background. *Mol Breeding*, 36 (2): 12
- Xiao WM, Luo LX, Wang H, Guo T, Liu YZ, Zhou JY, Zhu XY, Yang QY, Chen ZQ (2016). Pyramiding of *Pi46* and *Pita* to improve blast resistance and to evaluate the resistance effect of the two *R* genes. *J Integr Agr*, 15 (10): 2290–2298
- Xiao WM, Yang QY, Wang H, Duan J, Guo T, Liu YZ, Zhu XY, Chen ZQ (2012). Identification and fine mapping of a major *R* gene to *Magnaporthe oryzae* in a broad-spectrum resistant germplasm in rice. *Mol Breeding*, 30 (4): 1715–1726
- Xu P, Dong LY, Zhou JW, Li J, Zhang Y, Hu FY, Liu SF, Wang Q, Deng W, Deng XN, et al (2015). Identification and mapping of a novel blast resistance gene *Pi57(t)* in *Oryza longistaminata*. *Euphytica*, 205 (1): 95–102
- Xu X, Hayashi N, Wang CT, Fukuoka S, Kawasaki S, Takatsuji H, Jiang CJ (2014). Rice blast resistance gene *Pikahei-1(t)*, a member of a resistance gene cluster on chromosome 4, encodes a nucleotide-binding site and leucine-rich repeat protein. *Mol Breeding*, 34 (2): 691–700
- Yasuda N, Mitsunaga T, Hayashi K, Koizumi S, Fujita Y (2014). Effects of pyramiding quantitative resistance genes *pi21*, *Pi34*, and *Pi35* on rice leaf blast disease. *Plant Dis*, 99 (7): 904–909
- Yi G, Lee SK, Hong YK, Cho YC, Nam MH, Kim SC, Han SS, Wang GL, Hahn TR, Ronald PC, Jeon JS (2004). Use of *Pi5(t)* markers in marker-assisted selection to screen for cultivars with resistance to *Magnaporthe grisea*. *Theor Appl Genet*, 109 (5): 978–985
- Yuan B, Zhai C, Wang W, Zeng X, Xu X, Hu H, Lin F, Wang L, Pan Q (2011). The *Pik-p* resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice is mediated by a pair of closely linked CC-NBS-LRR genes. *Theor Appl Genet*, 122 (5): 1017–1028
- Zeng XS, Yang XF, Zhao ZH, Lin F, Wang L, Pan QH (2011). Characterization and fine mapping of the rice blast resistance gene *Pia*. *Sci China Life Sci*, 54 (4): 372–378
- Zhang HT, Wang SP (2016). Progress in functional genomic studies of rice disease resistance. *Chin Bull Life Sci*, 28 (10): 1189–1199 (in Chinese with English abstract) [张海涛, 王石平(2016). 水稻抗病功能基因组研究进展. *生命科学*, 28 (10): 1189–1199]
- Zhang J, Zhou JM (2010). Plant immunity triggered by microbial molecular signatures. *Mol Plant*, 3 (5): 783–793
- Zhao P, Feng RR, Xiao QZ, Yang PZ, Lin W, Liu PQ, Li RB (2013). Pyramiding brown planthopper genes, *bph20(t)* and *bph21(t)* and rice blast resistant gene *Pi9* in rice (*Oryza sativa* L.). *J Southern Agric*, 44 (6): 885–892 (in Chinese with English abstract) [赵鹏, 冯冉冉, 肖巧珍, 杨培忠, 林纬, 刘丕庆, 李容柏(2013). 聚合抗褐飞虱基因***bph20(t)***和***bph21(t)***及抗稻瘟病基因***Pi9***水稻株系筛选. *南方农业学报*, 44 (6): 885–892]
- Zhou B, Qu SH, Liu GF, Dolan M, Sakai H, Lu GD, Bellizzi M, Wang GL (2006). The eight amino-acid differences within three leucine-rich repeats between *Pi2* and *Piz-t* resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*. *Mol Plant Microbe Interact*, 19 (11): 1216–1228
- Zhou E, Jia Y, Singh P, Correll JC, Lee FN (2007). Instability of the *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AVR-Pita* alters virulence. *Fungal Genet Biol*, 44 (10): 1024–1034
- Zhu JY, Wang J, Fan FJ, Li WQ, Wang FQ, Zhong WG, Yang J (2014). Identification and application of one new rice blast broad-spectrum resistance allele *pi21t*. *Acta Agric Boreali Sin*, 29 (6): 11–15 (in Chinese with English abstract) [朱金燕, 王军, 范方军, 李文奇, 王芳权, 仲维功, 杨杰(2014). 水稻稻瘟病广谱抗病新等位基因***pi21t***的鉴定及其抗性应用. *华北农学报*, 29 (6): 11–15]
- Zhu QH, Shan WX, Ayliffe MA, Wang MB (2016). Epigenetic mechanisms: an emerging player in plant-microbe interactions. *Mol Plant Microbe Interact*, 29 (3): 187–196

## Rice broad-spectrum resistance against blast disease: molecular mechanism and applications

YUAN Xi, LI Da-Yong, SONG Feng-Ming\*

*Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*

**Abstract:** Rice blast, caused by *Magnaporthe oryzae*, is one of the most devastating diseases in rice production. Due to the high level of specificity of most blast resistance genes and the high frequency of variation in *M. grisea*, loss of resistance in most of the resistant cultivars is one of the most challenges in rice breeding and production. Utilization of broad-spectrum resistance is a promising strategy to control the blast disease in rice field. In this review, we summarized the characteristic, molecular mechanism, breeding utilization of the identified *R* genes that regulate rice broad-spectrum resistance against *M. oryzae* and also discussed the future challenges in the elucidation of the molecular mechanism of broad-spectrum resistance in rice.

**Key words:** rice; broad-spectrum resistance; blast disease (*Magnaporthe oryzae*)

---

Received 2017-05-19 Accepted 2017-07-22

This work was supported by the National Key Research & Development Plan (Grant No. 2016YFD0100600).

\*Corresponding author (E-mail: fmsong@zju.edu.cn).