

# 水稻抗稻瘟病基因的作用机制及其在分子育种中的应用

钱兰华<sup>1,①</sup>, 张正怡<sup>2,①</sup>, 朱正斌<sup>3</sup>, 沈子杰<sup>2</sup>, 孙小芹<sup>2</sup>, 王月<sup>2,②</sup>

[1. 苏州农业职业技术学院, 江苏 苏州 215008;

2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园) 江苏省植物资源保护与利用重点实验室, 江苏 南京 210014;

3. 苏州市种子管理站, 江苏 苏州 215011]

**摘要:** 稻瘟病是影响全球水稻(*Oryza sativa* Linn.)生产最严重的真菌性病害之一。抗稻瘟病基因的功能解析及其在分子育种中的合理利用,是实现水稻高产、稳产与粮食安全保障的关键路径。近年来,随着水稻和稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)基因组研究的不断深入,抗稻瘟病基因在病原识别、信号传导、免疫激活以及适合度调控等方面的作用机制不断被揭示。特别是在核苷酸结合位点-富含亮氨酸的重复序列受体类抗病蛋白的研究中,关于其直接识别、间接识别、整合结构域识别以及与效应因子的协同进化等方面取得了突破性进展,为分子育种奠定了理论基础。与此同时,结合抗病性功能标记开发、R基因聚合策略与CRISPR/Cas9等基因编辑技术的分子育种手段,也为培育广谱、持久抗病水稻新品种提供了有效支撑。本文系统综述了水稻抗稻瘟病基因的作用机制研究进展,并探讨其在分子育种中的实际应用和未来发展方向,旨在为稻瘟病绿色防控与优质抗病水稻品种选育提供理论依据与实践指导。

**关键词:** 水稻; 稻瘟病; 抗稻瘟病基因; 分子育种

中图分类号: Q786; S511 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2025)05-0043-15

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2025.05.05

**Action mechanisms of rice blast resistance genes of *Oryza sativa* and their applications in molecular breeding** QIAN Lanhua<sup>1,①</sup>, ZHANG Zhengyi<sup>2,①</sup>, ZHU Zhengbin<sup>3</sup>, SHEN Zijie<sup>2</sup>, SUN Xiaoqin<sup>2</sup>, WANG Yue<sup>2,②</sup> [1. Suzhou Polytechnic Institute of Agriculture, Suzhou 215008, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Conservation and Utilization of Plant Resources, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China; 3. Seed Administrative Station of Suzhou, Suzhou 215011, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2025, 34(5): 43-57

**Abstract:** Rice blast is one of the most devastating fungal diseases affecting global rice (*Oryza sativa* Linn.) production. The functional analysis of rice blast resistance genes and their rational utilization in molecular breeding are key approaches to achieving high and stable yields as well as ensuring food security. In recent years, with the in-depth genomic studies of *O. sativa* and *Magnaporthe oryzae*, the action mechanisms of rice blast resistance genes in pathogen recognition, signal transduction, immune activation, and fitness regulation, etc. have been continuously revealed. Notably, breakthrough progress has been made in the research of disease-resistant proteins such as nucleotide-binding site-leucine-rich repeat receptors, including their direct recognition, indirect recognition, integrated domain recognition, and co-evolution with effectors, laying a theoretical foundation for molecular breeding. Meanwhile,

收稿日期: 2025-05-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(32171483; 32401281)

作者简介: 钱兰华(1976—),女,江苏兴化人,本科,副教授,主要从事植物病虫害的综合防治研究。

张正怡(2002—),女,广东广州人,硕士研究生,主要从事植物抗病基因的演化及功能解析研究。

① 共同第一作者

② 通信作者 E-mail: yuewang@cnbg.net

引用格式: 钱兰华, 张正怡, 朱正斌, 等. 水稻抗稻瘟病基因的作用机制及其在分子育种中的应用[J]. 植物资源与环境学报, 2025, 34(5): 43-57.

molecular breeding strategies combining development of disease resistance functional markers, *R* gene pyramiding strategy, and gene-editing technologies such as CRISPR/Cas9 also provide effective supports for developing new rice cultivars with broad-spectrum and durable resistance. This article systematically reviews the research progress on the action mechanisms of rice blast resistance genes of *O. sativa*, and discusses their practical applications and future directions in molecular breeding, aiming to provide theoretical evidence and practical guidance for green prevention and control of rice blast and breeding high-quality disease-resistant rice cultivars.

**Key words:** rice (*Oryza sativa* Linn.); rice blast; rice blast resistance gene; molecular breeding

水稻(*Oryza sativa* Linn.)是全球超过半数人口赖以生存的主要粮食作物,其稳定生产对保障全球粮食安全有重要意义。水稻在种植过程中易遭受多种病害的侵袭,包括真菌、细菌、病毒、支原体以及线虫等100余种病原体,其中真菌性病害超过50种。稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)位居全球农作物十大真菌病害之首,其引发的稻瘟病是当前水稻最严重的病害之一<sup>[1]</sup>。该病在中国和世界各主要稻区流行,且可在水稻整个生育期发生,危害秧苗、叶片、穗部与节间,分别形成苗瘟、叶瘟、穗瘟与节瘟。稻瘟病可造成全球范围内水稻产量减少10%~30%,已成为制约水稻生产的重要因子,并构成全球粮食安全的重大隐患<sup>[2]</sup>。

当前,防治稻瘟病主要依赖抗病品种的选育与农药的施用。然而,农药防治易引发环境污染,并对人类健康构成潜在威胁<sup>[3]</sup>。传统的抗病品种选育多依赖自然发病条件,易受环境波动影响,导致筛选结果的稳定性和重复性较差。自2008年起,中国在水稻新品种审定中实施稻瘟病抗性的“一票否决”制,在一定程度上提升了栽培品种的稻瘟病抗性水平。植物在长期与病原微生物的共演化过程中,形成了复杂的免疫防御系统,以应对致病因子的侵袭<sup>[4]</sup>。随着生物技术的快速发展,基于水稻及病原菌的分子鉴定,系统解析品种抗病性及其抗病基因(disease resistance gene, *R*基因)组成,并利用水稻自身的*R*基因资源开展抗病育种,已成为防治稻瘟病的有效策略。本文以水稻抗稻瘟病基因为主要研究对象,综述了水稻抗稻瘟病的分子机制、抗稻瘟病基因的克隆及其在水稻抗病育种中的应用等研究进展,并从广谱稻瘟病*R*基因挖掘的重要性、抗稻瘟病机制的解析及育种应用、适合度效应对*R*基因应用的影响等方面进行了总结和展望,旨在为稻瘟病防控与抗病育种提供理论基础与实践参考。

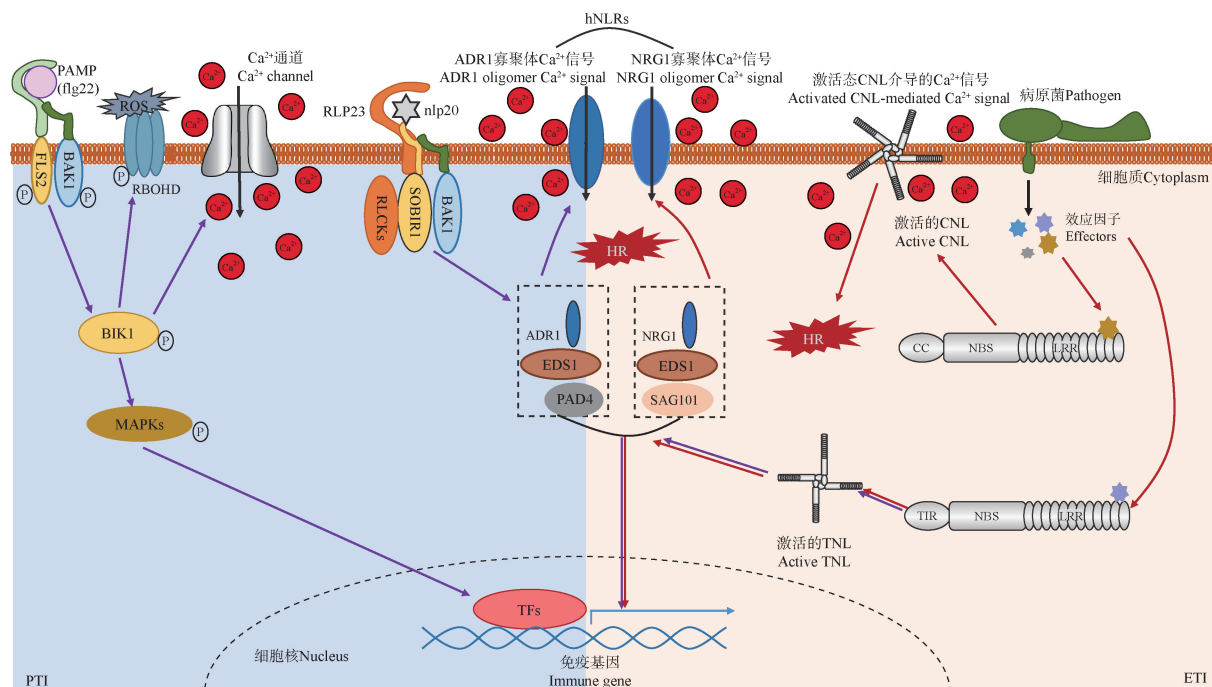
## 1 水稻抗稻瘟病的分子机制

### 1.1 植物免疫系统

免疫系统的激活是植物产生抗病性的生理基础,在植物和病原微生物的长期共进化过程中,植物逐渐形成了双层的先天免疫系统,用于感知并响应多种生物胁迫<sup>[5]</sup>。这2层免疫防御体系分别为病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)触发的免疫反应机制(PAMP-triggered immunity, PTI)和病原菌效应因子(effector)触发的免疫反应机制(effector-triggered immunity, ETI)。2006年,植物免疫领域著名学者Jones等提出了植物与病原菌互作的“Z”字模型(zigzag model),系统阐述了PTI与ETI在免疫响应过程中的动态关系<sup>[6]</sup>。PTI和ETI具有不同的信号传递步骤(图1),并分别涉及细胞表面模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)和核苷酸结合位点-富含亮氨酸重复序列受体(nucleotide-binding site-leucine-rich repeat receptor, NLR)的激活。PTI通过PRR识别PAMP等信号,从而激活免疫反应;而ETI则由细胞内NLR免疫受体识别特异性效应因子后触发,通常诱导更强烈的免疫反应<sup>[7]</sup>。尽管PTI与ETI在感知机制和信号传递路径上存在差异,但二者在免疫应答中依赖于许多共同的核心成分。其下游信号通路,如丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联反应、钙信号传导、活性氧爆发和植物激素等信号通路,均存在显著重叠;PTI和ETI之间存在协同作用,能够相互增强,从而激发更强烈的植物防御反应以抵御病原体感染<sup>[7-9]</sup>。

### 1.2 PTI反应机制

PTI反应通过位于细胞膜上的PRR识别胞外的PAMP信号,并将免疫信号传入细胞内。PRR是一类膜定位蛋白,主要分为2大类:类受体激酶



PAMP: 病原相关分子模式 Pathogen-associated molecular pattern; flg22: 鞭毛蛋白衍生的 22 氨基酸肽段 Flagellin-derived 22-amino acid peptide; FLS2: 鞭毛感应蛋白 2 Flagellin-sensing 2; BAK1: BRI1 关联激酶 1 BRI1-associated kinase 1; BIK1: 灰霉病诱导激酶 1 Botrytis-induced kinase 1; RBOHD: 呼吸爆发氧化酶同源蛋白 D Respiratory burst oxidase homolog protein D; ROS: 活性氧 Reactive oxygen species; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶 Mitogen-activated protein kinase; TF: 转录因子 Transcription factor; RLP23: 类受体蛋白 23 Receptor-like protein 23; SOBIR1: BIR1-1 抑制子 Suppressor of BIR1-1; RLCK: 受体样细胞质激酶 Receptor-like cytoplasmic kinase; nlp20: 坏死及乙烯诱导肽-1 样蛋白 20 Necrosis- and ethylene-inducing peptide-1-like protein 20; EDS1: 疾病易感性增强蛋白 1 Enhanced disease susceptibility 1; PAD4: 植物抗毒素缺陷蛋白 4 Phytoalexin deficient 4; ADR1: 激活的抗病蛋白 1 Activated disease resistance 1; NRG1: N 需求基因 1 N requirement gene 1; SAG101: 衰老相关基因 101 Senescence-associated gene 101; TIR: Toll/白细胞介素-1 受体 Toll/interleukin-1 receptor; CC: 卷曲螺旋 Coiled-coil; NBS: 核苷酸结合位点 Nucleotide-binding site; LRR: 富含亮氨酸重复序列 Leucine-rich repeat; hNLR: 辅助-核苷酸结合位点-富含亮氨酸重复序列受体 Helper-nucleotide-binding site-leucine-rich repeat receptor; TNL: TIR-核苷酸结合位点-富含亮氨酸重复序列受体 TIR-nucleotide-binding site-leucine-rich repeat receptor; CNL: CC-核苷酸结合位点-富含亮氨酸重复序列受体 CC-nucleotide-binding site-leucine-rich repeat receptor; HR: 超敏反应 Hypersensitive response; P: 磷酸化 Phosphorylation.

PTI: PAMP 触发的免疫反应机制 PAMP-triggered immunity; ETI: 效应因子触发的免疫反应机制 Effector-triggered immunity.

图 1 植物免疫信号网络  
Fig. 1 Plant immune signaling network

(receptor-like kinase, RLK) 和类受体蛋白 (receptor-like protein, RLP)<sup>[10]</sup>。二者在共受体的招募机制上存在差异<sup>[5]</sup>。

RLK 蛋白通常由胞外配体感知结构域、跨膜结构域和胞内激酶结构域 3 个部分组成。其中,胞外配体感知结构域决定配体结合的特异性,不同 RLK 蛋白可识别不同类别的信号分子。例如:富含亮氨酸重复序列 (leucine-rich repeat, LRR) 的受体激酶鞭毛感应蛋白 2 (flagellin-sensing 2, FLS2) 能够识别细菌鞭毛蛋白衍生的 22 氨基酸肽段 (flagellin-derived 22-amino acid peptide, flg22), 并与共受体 BRI1 关联受体激酶 1 (BRI1-associated kinase 1, BAK1) 形成复合物;flg22 的结合触发 FLS2 和灰霉病诱导激酶 1

(botrytis-induced kinase 1, BIK1) 之间的转磷酸化,将 BAK1 从 FLS2-BAK1 复合物中解离,然后,BIK1 磷酸化呼吸爆发氧化酶同源蛋白 D (respiratory burst oxidase homolog protein D, RBOHD) 以诱导活性氧的产生。BIK1 还可以激活 MAPK 级联反应,并通过磷酸化相关转录因子 (transcription factor, TF) 诱导防御基因表达<sup>[9]</sup>。含有赖氨酸基序 (lysine motif, LysM) 的 RLK 可识别真菌几丁质等多糖类分子;而带有凝毒素结构域的 RLK 则常与 ATP 或细菌脂多糖等分子结合<sup>[11-12]</sup>。胞内激酶结构域通常具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性,在配体识别后可磷酸化下游靶蛋白,从而完成免疫信号的传导<sup>[13]</sup>。

与 RLK 蛋白不同,RLP 蛋白缺乏胞内激酶结构

域,需与含激酶活性的辅助蛋白形成复合物以诱导下游免疫反应<sup>[14-15]</sup>。如类受体蛋白 23 (receptor-like protein 23, RLP23) 通过与 BIR1-1 抑制子 (suppressor of BIR1-1, SOBIR1) 形成蛋白复合物,同时招募 BAK1,并和不同受体样胞质激酶 (receptor-like cytoplasmic kinase, RLCK) 结合,在复合物感应到坏死及乙烯诱导肽-1 样蛋白 20 (necrosis- and ethylene-inducing peptide-1-like protein 20, nlp20) 后, SOBIR1 通过连接疾病易感性增强蛋白 1 (enhanced disease susceptibility 1, EDS1)、植物抗毒素缺陷蛋白 4 (phytoalexin deficient 4, PAD4) 和激活的抗病蛋白 1 (activated disease resistance 1, ADR1) 形成的复合体 EDS1-PAD4-ADR1, 激活下游防御基因表达。在水稻基因组中,已鉴定出约 1 130 个 *RLK* 基因和 90 个 *RLP* 基因,其编码蛋白通过激活多种信号通路,参与调控多种生理和免疫过程<sup>[16-17]</sup>。

在水稻中,研究较为深入的 PRRs 包括几丁质激发子结合蛋白 (chitin elicitor binding protein, CEBiP)、几丁质激发子受体激酶 1 (chitin elicitor receptor kinase 1, CERK1)、BIK1、溶菌酶基序受体样激酶 4 (lysine motif receptor-like kinase 4, LYP4)、细胞壁关联激酶家族 (wall-associated kinases, WAKs) 等。其中,部分蛋白质在水稻抗稻瘟病过程中发挥重要作用,如 CEBiP 可以与 CERK1 形成抗病信号复合体,进而介导免疫应答<sup>[18]</sup>。研究表明:*OsCEBiP* 的敲除或者 *OsCERK1* 的表达被干扰均会显著降低水稻对稻瘟病的抗性<sup>[18-19]</sup>。含有 LRR 结构域的 BIK1,是 MAPK 信号转导通路中的关键组分,可被抗病信号分子识别,过表达 *OsBIK1* 能显著增强转基因水稻对稻瘟病的抗性<sup>[20]</sup>。WAKs 作为一类细胞壁相关受体激酶,在水稻中也具有抗病功能,过量表达 *OsWAK14*、*OsWAK25*、*OsWAK91* 和 *OsWAK92* 等均可显著提高水稻对稻瘟病的抗性<sup>[21]</sup>。

### 1.3 ETI 反应机制

在病原菌侵染初期,植物宿主首先通过触发 PTI 反应来抵御入侵。然而,为了突破寄主的免疫屏障,部分病原菌进化出能够逃避、抑制或破坏 PTI 反应机制的策略。这类病原菌通常通过分泌效应因子进入植物细胞,以削弱 PTI 反应,并促进自身的侵染过程。植物若无法识别这些效应因子,即表现出效应因子诱导的敏感性 (effector triggered-sensitivity, ETS), 导致感病。为应对 ETS 反应,植物进一步进化出第 2 种

防御机制 ETI。NLR 蛋白在效应因子触发的 ETI 过程中起着核心作用,根据 N 端结构域的不同, NLR 主要分为 3 类:含有 Toll/白细胞介素-1 受体 (Toll/interleukin-1 receptor, TIR) 的 NLR (TIR-NLR, TNL)、含有卷曲螺旋 (coiled coil, CC) 的 NLR (CC-NLR, CNL) 以及含有抗白粉病蛋白 8 的 NLR (resistance to powdery mildew 8-NLR, RNL)。不同 NLR 的作用机制存在差异, TNL 通常在细胞质中形成四聚抗病小体,并依赖 TIR 结构域的 NADase 活性产生信号分子,激活下游的 EDS1, EDS1 是 TNL 信号的核心枢纽,与 PAD4、衰老相关基因 101 (senescence-associated gene 101, SAG101) 等蛋白形成不同复合物进行信号传递,并通过 ADR1 型和 N 需求基因 1 (N requirement gene 1, NRG1) 型 2 类辅助 NLR (helper NLR, hNLR) 在质膜上形成  $Ca^{2+}$  通透性阳离子通道,调节细胞质  $Ca^{2+}$  水平,将免疫信号扩大。CNL 在激活后形成五聚抗病小体,通过其 N 端 CC 结构域在细胞膜上构建  $Ca^{2+}$  通道,介导胞外  $Ca^{2+}$  内流,触发免疫和细胞死亡。TNL 和 CNL 都可以引发超敏反应 (hypersensitive response, HR)。RNL 主要作为 hNLR,协助其他 NLR 激活免疫<sup>[9]</sup>。在 ETI 反应过程中,能够被植物免疫受体识别、诱导免疫反应的效应因子被称为无毒蛋白,其编码基因称为无毒基因 (avirulence, Avr); 反之,不能被识别或可促进侵染的效应因子称为毒性蛋白,对应基因为毒性基因 (virulence, Vir)。ETI 反应伴随的局部 HR 反应,通常比 PTI 更快速且更强烈,以抑制病原菌的扩展<sup>[22]</sup>。

目前已在水稻中鉴定出多种可以触发 ETI 反应的抗稻瘟病基因对,包括 *Pib/AvrPib*<sup>[23-24]</sup>、*Pi-ta/AvrPita*<sup>[25-26]</sup>、*Piz-t/AvrPiz-t*<sup>[27-28]</sup>、*Pik/Avr-Pik*<sup>[29-30]</sup>、*Pia/Avr-Pia*<sup>[29,31]</sup>、*Pii/Avr-Pii*<sup>[29]</sup>、*Pi54/Avr-Pi54*<sup>[32]</sup>、*PiCO39/Avr1-CO39*<sup>[33]</sup>、*Pi9/AvrPi9*<sup>[34-35]</sup> 等。其中, *Pia* 位点由 *RGA4* 和 *RGA5* 2 个协同作用的 NLR 基因组成。*RGA5* 可识别效应因子 Avr1-CO39 和 Avr-Pia,识别后对 *RGA4* 的抑制作用被解除,从而激活抗病反应<sup>[31]</sup>; Avr-Pii 可与水稻中的 OsExo70-F2 和 OsExo70-F3 蛋白相互作用,这 2 个因子是 Pii 发挥抗病作用的关键组分<sup>[36]</sup>。*Piz-t* 可以特异性地识别 AvrPiz-t,后者通过多种机制激发水稻免疫反应,如通过抑制 bZIP 类转录因子 APIP5 的转录活性和蛋白积累来促进细胞死亡<sup>[37]</sup>,通过抑制 E3 泛素连接酶 APIP10 的体外泛素化活性以削弱免疫反应<sup>[38]</sup>,以及

通过促进胰蛋白酶抑制剂 AP4 的积累来增强免疫应答<sup>[39]</sup>。尽管已有多个 *R* 基因编码蛋白与其对应的效应因子被鉴定,并证实他们在植物免疫应答中发挥关键作用,但目前部分抗病蛋白与其对应的 AVR 蛋白之间的分子互作机制仍不清晰。例如: Pib/AvrPib 及 Pi9/AvrPi9 等抗性蛋白与效应因子的具体识别模式和作用机制尚未完全被全面解析。

#### 1.4 抗稻瘟病基因与效应因子的协同演化

自植物起源以来,植物与病原菌之间就处于持续的“攻防”关系中,并通过协同进化的方式在地球上共存,争夺生存空间<sup>[40]</sup>。1955年,Flor<sup>[41]</sup>开创性地提出“基因对基因”(gene for gene)假说,指出植物的 *R* 基因与 *Avr* 基因之间存在特异性的互作关系,即植物仅在编码的 *R* 蛋白能够识别病原菌 AVR 蛋白的情况下才表现出抗病性。这种识别模式通常被认为是 *R* 蛋白与 AVR 蛋白的直接相互作用(图 2-A)。

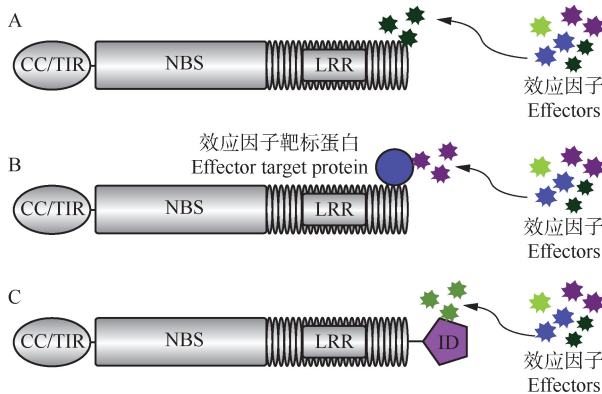
在直接识别模式下,病原菌的 *Avr* 基因受植物 *R* 基因施加的选择压力驱动,能够被识别的病原菌在进化过程中会被淘汰,成功逃避识别的病原菌得以保留并传播<sup>[42]</sup>。为了突破宿主抗性,病原菌会通过改变 AVR 蛋白的结构(在不影响其致病功能的前提下)来避免被 *R* 蛋白识别<sup>[42]</sup>;与此同时,植物也需要不断进化出能够重新识别突变后 AVR 蛋白的新 *R* 基因,以

维持免疫防御功能。双方由此形成了“军备竞赛”的共进化关系,推动了 *R* 基因与 *Avr* 基因在种群中的高水平核苷酸多态性的产生与维持<sup>[43]</sup>。

水稻中 *Pik* 位点与 *Avr-pik* 之间的相互关系是“军备竞赛”共进化的典型代表。目前,已发现 *Pik* 位点有 7 种等位基因(*Pil*、*Pik*、*Pikm*、*Pikp*、*Piks*、*Pikh* 和 *Pike*),其编码蛋白可特异性识别不同的 *Avr-Pik* 效应因子(*Avr-PikA*、*Avr-PikB*、*Avr-PikC*、*Avr-PikD* 和 *Avr-PikE*)<sup>[44]</sup>。其中,*Avr-PikD* 被认为是进化最早且分布最广的成员,*Pikp* 和 *Piks* 可特异识别 *Avr-PikD*, *Pik* 可识别 *Avr-PikD* 和 *Avr-PikE*, *Pikh* 和 *Pikm* 可识别 *Avr-PikA*、*Avr-PikD* 和 *Avr-PikE*<sup>[44]</sup>。这种复杂的特异性识别网络揭示了 *R* 基因与 *Avr* 基因在长期进化中形成的动态博弈与相互驱动适应机制。

随着研究的深入,越来越多的证据表明 *R* 蛋白对 AVR 蛋白的识别在多数情况下并非直接发生<sup>[45]</sup>。当病原菌的效应因子进入植物细胞后,NLR 蛋白往往并不直接结合效应因子,而是通过“监测”其作用靶蛋白的状态变化来间接感知入侵信号,从而启动免疫反应(图 2-B)。该间接识别模式主要包括保卫模型(guard model)<sup>[46]</sup>与诱饵模型(decoy model)<sup>[47]</sup>2 种类型。在保卫模型中,效应因子作用于具有免疫功能的靶蛋白,NLR 蛋白对这些关键靶蛋白进行监测,当靶蛋白被修饰或功能受到干扰时,NLR 蛋白被激活,引发免疫反应;诱饵模型与传统的保卫模型不同,作为诱饵的蛋白只需要在效应因子结合时使自身的变化被相应 *NLR* 基因识别即可,其本身并不在植物免疫系统中发挥功能<sup>[45,48]</sup>。

此外,部分 *NLR* 基因在进化过程中融合了效应因子攻击目标的结构域,形成带有整合结构域(integrated domain, ID)的 *NLR-ID* 蛋白,这些结构域本身并不承担生物学功能,而是充当“诱饵”,在与效应因子结合后通过结构变化诱导 *NLR* 蛋白激活免疫响应<sup>[49]</sup>(图 2-C)。水稻中的 *Pia* 位点即为 1 个典型的 *NLR* 成对协作与结构域融合模型,其编码的 *RGA5* 蛋白融合了重金属相关结构域(heavy metal-associated domain, HMA),为稻瘟病菌效应因子 *Avr1-CO39* 和 *Avr-Pia* 的靶点;当 HMA 结构域与效应因子结合后,*RGA5* 激活自身并解除对 *RGA4* 的抑制,后者进一步启动免疫信号通路<sup>[29,31]</sup>。除 *Pia* 外,水稻中 *Pi-ta* 等 *R* 基因也被发现具有外源结构域融



CC: 卷曲螺旋 Coiled-coil; TIR: Toll/白细胞介素-1受体 Toll/interleukin-1 receptor; NBS: 核苷酸结合位点 Nucleotide-binding site; LRR: 富含亮氨酸重复序列 Leucine-rich repeat; ID: 整合结构域 Integrated domain.

A: 直接识别 Direct recognition; B: 间接识别 Indirect recognition; C: 整合结构域识别 Integrated domain recognition.

图 2 核苷酸结合位点-富含亮氨酸重复序列受体 (NLR) 识别病原效应因子的机制

Fig. 2 Mechanisms by which nucleotide-binding site-leucine-rich repeat receptor (NLR) recognize pathogen effectors

合现象,例如 *Pi-ta* 融合了硫氧还原蛋白结构域 (thioredoxin, TRX), 但其在抗病中的具体功能仍有待进一步阐明。

### 1.5 抗稻瘟病基因的适合度效应

在植物长期演化过程中, *R* 基因虽能赋予植物抗病性为其带来生存优势, 但植物免疫系统的激活及抗病能力的增强, 往往以牺牲正常生长发育与生殖能力为代价, 即导致适合度下降<sup>[50]</sup>。为了应对病原菌的快速进化压力, 植物 *R* 基因在序列和结构上表现出高度多样化<sup>[51]</sup>。在基因组水平上, *R* 基因结构多样性主要分为存在/缺失型 (presence/absence, P/A 型) 与非存在/缺失型 (non-presence/absence, 非 P/A 型) 2 类<sup>[52]</sup>。对水稻全基因组 *R* 基因的研究表明: 约 11% 的 *R* 基因具有存在/缺失多态性, 而其余约 89% 则属于非 P/A 型<sup>[53]</sup>。随着研究的深入, 越来越多的证据表明并非所有的 *R* 基因都存在适合度代价, 目前的理论倾向认为, 不同存在形式的 *R* 基因对植物适合度的影响存在差异, 即 P/A 型 *R* 基因更可能引发适合度代价, 而非 P/A 型 *R* 基因则可能带来适合度上的利益<sup>[54]</sup>。

在水稻的 *R* 基因中, *Pi-ta* 属于非 P/A 型<sup>[26]</sup>。*Pi-ta* 广泛存在于栽培稻及具有 AA 基因组的 6 种野生稻中, 尚未发现缺失该基因的种质资源<sup>[55]</sup>。单倍型网络分析发现, *Pi-ta* 仅存在 1 个抗病单倍型 (第 918 位氨基酸为丝氨酸), 但却存在大量不具抗病功能的感病单倍型, 其保留机制目前尚不明确<sup>[56]</sup>。Wang 等<sup>[57]</sup> 通过全基因组关联分析 (genome-wide

association study, GWAS) 发现, *Pi-ta* 的易感等位基因与种子质量呈正相关, 提示其可能因对植物具有适合度益处而被长期保留。然而, 适合度效应在其中所起的具体作用有待进一步研究与验证。

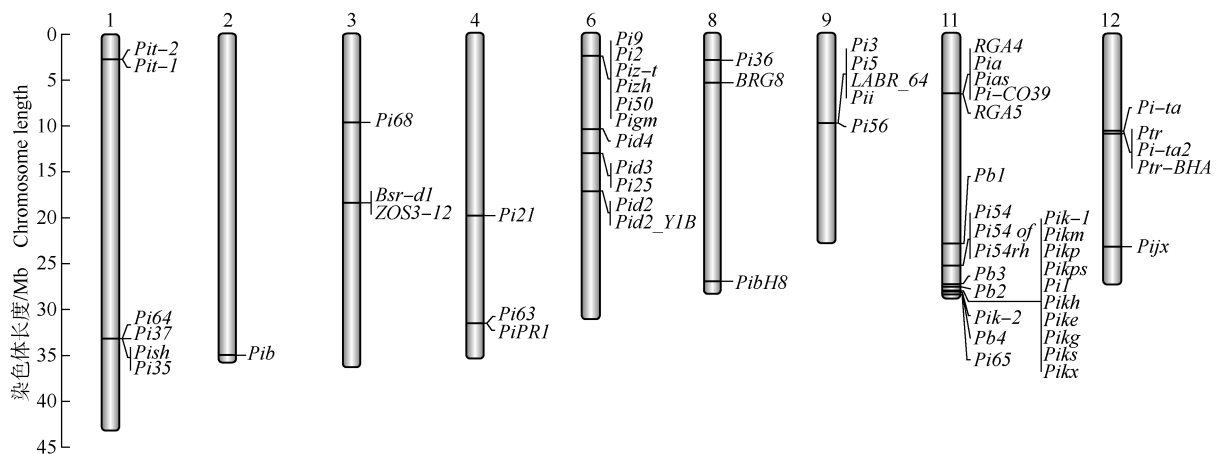
## 2 水稻抗稻瘟病基因的克隆

*R* 基因是植物免疫系统的核心组分, 在病原识别与抗病性激活过程中发挥关键作用<sup>[58]</sup>。迄今为止, 已有 100 多个 *R* 基因/等位基因及 500 余个与稻瘟病相关的数量性状位点 (quantitative trait locus, QTL) 被鉴定, 其中 30 多个 *R* 基因已被克隆 (图 3)。这些 *R* 基因在水稻染色体上的分布并不均匀, 主要集中于 6、11 和 12 号染色体上。根据其分布特征, 水稻抗稻瘟病基因的存在方式大致可分为以基因簇、单基因及成对的形式。

### 2.1 以基因簇形式存在的抗稻瘟病基因

*NLR* 基因是植物中最大、最关键的一类 *R* 基因家族<sup>[59]</sup>。*NLR* 蛋白通常包括 3 个结构域 (CC/TIR/RPW8、NB-ARC、LRR), 共同构成一个精密的“分子开关”, 在适当时机启动植物免疫系统, 有效抑制或限制病原的侵染<sup>[60]</sup>。多数水稻抗稻瘟病基因属于 *NLR* 类, 并以基因簇形式分布, 尤其集中在 6、11 和 12 号染色体上。

6 号染色体短臂近着丝粒区域聚集了如 *Pi2*、*Pi9*、*Pi25*、*Pigm* 和 *Piz-t* 等 *R* 基因, 这些基因通常呈现高度序列相似性, 紧密连锁或互为等位基因<sup>[61]</sup>。



染色体上方数字为染色体编号 The numbers above the chromosomes indicate the chromosome numbers.

图 3 水稻染色体上抗稻瘟病基因的分布  
Fig. 3 Distribution of rice blast resistance genes on *Oryza sativa* Linn. chromosomes

在该区域的 *Piz* 位点已发现至少 6 个抗病等位基因,包括 *Pigm*、*Piz-t*、*Pizh*、*Pi2*、*Pi9* 和 *Pi50*。研究表明:水稻品种‘谷美 4 号’(‘Gumei 4’)对 9 个中国稻瘟病菌生理小种的广谱抗性由同一显性位点 *Pigm* 控制;*Pigm* 包含多个成员,其中 *PigmR* 赋予水稻广谱抗性,而 *PigmS* 则通过竞争性抑制 *PigmR* 的同聚体化来调控抗病强度;*PigmS* 的表达受表观遗传机制精密调控,其增加的种子产量有助于弥补 *PigmR* 所带来的适合度代价,实现抗病与产量的平衡<sup>[62]</sup>。

11 号染色体上的 *Pik* 位点是水稻基因组上较大的基因簇之一。该位点包括多个等位基因,如 *Pik-1*、*Pi1*、*Pikg*、*Pikm*、*Pikp* 和 *Piks*,均属于 NLR 类 *R* 基因;其中,*Pik-1*、*Pi1*、*Pikm* 和 *Pikp* 具有较高的序列同源性。*Pi54* 属于 CC-NBS-LRR 家族,最初在印度水稻中被鉴定,表现出对当地稻瘟病菌株的高抗病性,并具有广谱抗病效果<sup>[63]</sup>。

在 12 号染色体着丝粒附近也发现了较为密集的抗病基因簇,其中 *Pi-ta* 及其附近区域尤为重要。尽管该区域聚集了多个 *R* 基因,但目前已克隆成功的基因只包括 *Pi-ta*、*Ptr* 和 *Pijx*。*Pi-ta* 最早被鉴定,包含 2 个外显子和 1 个内含子,编码 1 个 928 个氨基酸的细胞质膜受体,属于 CC-NBS-LRR 类蛋白<sup>[26]</sup>。在 *Pi-ta* 介导的水稻抗病功能缺失突变体 M2354 中,发现 1 个新基因 *Ptr*,并证明了该基因的突变会导致 *Pi-ta* 信号通路受损,但由于二者紧密连锁,早期研究未能成功克隆 *Ptr*<sup>[64]</sup>。后续研究利用 M2354 突变体材料,成功克隆了 *Ptr* 基因,发现其并不编码经典的 NBS-LRR 蛋白,而是一个具有 U-box/armadillo (ARM) 结构域的蛋白<sup>[65]</sup>。尽管该蛋白结构上具有 E3 连接酶的特征,但目前尚未检测到其 E3 连接酶活性<sup>[66]</sup>。

## 2.2 以单基因形式存在的抗稻瘟病基因

除了以基因簇形式存在外,部分水稻 *R* 基因也以单基因形式独立发挥作用。如 *Pib* 是目前惟一克隆自 2 号染色体的 *R* 基因,编码 1 个由 1 251 个氨基酸组成的 NBS-LRR 蛋白,其表达受温度、光照等环境因子诱导调控<sup>[67]</sup>。作为最早被鉴定出来的抗稻瘟病基因之一,*Pib* 对日本大多数稻瘟病菌小种具有广谱抗病性,在中国亦可有效抵御 ZB13 和 ZC15 2 个菌株<sup>[23]</sup>。

*Pid3* 最初被认为是假基因,位于 6 号染色体,其第 2 208 位核苷酸在多数粳稻 (*Oryza sativa* subsp.

*japonica* Kato.) 品种中存在无义突变,而在籼稻 (*Oryza sativa* subsp. *indica* Kato.)、光稈稻 (*Oryza glaberrima* Steud.) 及含 AA 基因组的野生稻中则未出现<sup>[68]</sup>。后续在水稻品种‘谷美 2 号’(‘Gumei 2’)中鉴定出 *Pid3* 的功能性等位基因 *Pi25*,该基因可介导对稻瘟病菌小种 js001-20 的抗性;*Pi25* 位于 6 号染色体,编码 1 个典型的 CC-NBS-LRR 类蛋白,不含内含子,该蛋白由 924 个氨基酸组成<sup>[69]</sup>。与 *Pid3* 相比,*Pi25* 在第 459 位核苷酸处存在单核苷酸替换。序列分析表明:水稻品种‘日本晴’(‘Nipponbare’)中 *Pi25* 的感病等位基因在第 2 209 位核苷酸发生了无义突变,产生 1 个含有 736 个氨基酸残基的截短蛋白,从而失去抗病功能<sup>[17]</sup>。*Pb1* 是位于 11 号染色体的 *R* 基因,尽管与 *Pik* 抗病基因簇位于同一染色体,但在结构上相对独立。*Pb1* 编码 1 个由 1 296 个氨基酸组成的蛋白,其 NBS 区域缺失典型的 P-loop 结构及若干保守功能基序,提示其在信号激活或下游信号传导中可能采用非典型机制<sup>[70]</sup>。*Pijx* 是近期从野生稻中克隆得到的 *R* 基因,位于 12 号染色体,编码 1 个 CC-NBS-LRR 类蛋白,对穗瘟病菌株表现出广谱抗性<sup>[2]</sup>。

*Pid2* 是位于 6 号染色体的单拷贝基因,编码 1 个含 845 个氨基酸的 RLK 蛋白,包括 3 个主要结构域:胞外 B-凝集素结构域、跨膜结构域和胞内丝氨酸/苏氨酸激酶结构域;定位于细胞质膜上,并在不同组织中组成型表达,其转基因植株后代对 ZB15 菌株表现出抗病特异性<sup>[71]</sup>。*Pid2* 第 441 位氨基酸位点是区分抗感病等位基因的关键位点,其中,抗病型为异亮氨酸,感病型为甲硫氨酸<sup>[72]</sup>。由于其具有 1 个新颖的胞外结构域,*Pi-d2* 被认为代表了一类新型植物 *R* 基因。

## 2.3 以成对形式存在的抗稻瘟病基因

尽管多数 NLR 蛋白能够独立识别 AVR 效应因子并触发 ETI 反应,但也有部分 *R* 基因以成对形式协同发挥抗病功能。在水稻抗稻瘟病的 *R* 基因中,*Pik* 是成对激活免疫反应的典型 *NLR* 基因,其位点包含 *Pik-1* 和 *Pik-2* 2 个基因,位于 11 号染色体,二者以头对头方式串联排列,并具有共同的启动子区域。二者表达产物可形成异源二聚体,协同介导免疫反应;值得注意的是,除保守结构域外,*Pik-1* 和 *Pik-2* 之间并无显著的序列同源性,且 *Pik-2* 缺乏典型的 CC 结构域<sup>[73]</sup>。尽管如此,*Pik-1* 和 *Pik-2* 的协同作用

对 *Pik* 介导的抗病功能至关重要,其中,*Pik-1* 负责直接识别稻瘟病菌的效应因子 *Avr-Pik*,随后与 *Pik-2* 形成复合体,协同激活免疫信号通路<sup>[30]</sup>。

*Pi5* 是位于 9 号染色体的另一个重要抗病位点,其包含 *Pi5-1* 和 *Pi5-2* 2 个基因,这 2 个基因同样以头对头形式排列,分别编码由 1 025 和 1 063 个氨基酸组成的 NLR 蛋白。研究表明:*Pi5-1* 和 *Pi5-2* 在介导对稻瘟病的抗病反应中缺一不可<sup>[55]</sup>。基因表达分析显示:*Pi5-1* 的表达在受到稻瘟病菌感染后被诱导,其转录产物仅在病原菌攻击下显著积累;而 *Pi5-2* 则表现为组成性表达,其在植株中持续存在<sup>[55]</sup>。

除了上述典型的头对头排列的 NLR 成对基因外,水稻中还存在一些非典型的 NLR 基因对,同样能够协同介导效应因子的识别与免疫反应的激活。如位于 1 号染色体的 *Pit* 最早在印度尼西亚水稻品种‘Tjahaja’中被鉴定出,表现出对稻瘟病菌的广谱抗性<sup>[74]</sup>。最新研究表明:*Pit* 位点包含 2 个高度相似的基因 *Pit-1* 和 *Pit-2*,两者编码的蛋白可形成稳定的异源二聚体,共同发挥抗病功能<sup>[75]</sup>。类似地,位于 2 号染色体上的 *Pib* 编码的蛋白及其同源蛋白 *PibH8* 也可形成异源二聚体,介导对携带 *AvrPib* 效应因子的稻瘟病菌的完全抗病反应<sup>[76]</sup>。

### 3 抗稻瘟病基因在水稻抗病育种中的应用

DNA 分子标记技术已广泛应用于辅助植物育种。基于此发展起来的功能标记(functional marker, FM)是一种以控制表型的功能基因为基础开发的分子标记技术,在育种研究中展现出显著的应用优势<sup>[77]</sup>。功能标记的开发依赖于功能基因的鉴定、分离及克隆。此外,利用基因工程技术导入或敲除目标功能基因,也可实现水稻新种质的创造。抗稻瘟病品种的培育是防控稻瘟病的主要策略之一,随着生物技术的不断进步,众多抗稻瘟病基因已被克隆,并在水稻抗病育种中得到有效应用。

#### 3.1 基于抗稻瘟病基因开发水稻抗病种质筛选标记

抗病种质的筛选是水稻抗稻瘟病育种的关键环节。利用已克隆的抗稻瘟病基因中存在的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)或插入-缺失(insertion-deletion, InDel)变异开发功能标记,可高效地辅助抗病种质的精准识别。目前,已有 *Pi35*、

*Pi64*、*Pit*、*Pib*、*Bsr-d1*、*Pi21*、*Pi2*、*Pi9*、*Pi25*、*Pi50* 等 *R* 基因被成功开发相应的功能标记。Fjellstrom 等<sup>[78]</sup> 基于 Wang 等<sup>[23]</sup> 报道的 *Pib* 基因内部抗、感等位基因在功能基序的差异,设计出显性功能标记 *Pibdom*,被应用于检测不同品种中是否存在 *Pib* 抗病等位基因。随后,刘洋等<sup>[79]</sup> 对籼稻品种‘9311’的 *Pib* 位点进行测序,开发了显性标记 *Lys145*,用于识别感病等位基因,并通过 *Pibdom* 和 *Lys145* 联合使用,可准确区分不同水稻品种中 *Pib* 的基因型。Liu 等<sup>[80]</sup> 通过比较 *Pit* 的功能性与非功能性等位基因,发现功能性等位基因 *PitK59* 的上游序列插入了 1 个长末端重复反转座子 *Renovator*,该反转座子的存在对 *Pit* 的抗病功能至关重要;基于 *Renovator* 序列设计引物后,成功开发出可用于种质筛选的标记 *tNpb/tK59*。在 *Pik* 位点存在 *Pi1*、*Pikh*、*Pikm* 和 *Pikp*,通过开发对应的功能标记,可对不同基因型的抗病或感病种质进行精准筛选<sup>[30,81-83]</sup>。

作物抗病性通常分为水平抗性(数量抗性)和垂直抗性(质量抗性)2 类。水平抗性通常由多个微效基因控制,具有非小种专化性,较为稳定持久;而垂直抗性则由单个或少数主效基因控制,表现为小种专化性,抗病性强但易丧失。部分 *R* 基因不具明显小种专化性,但抗病性广谱且持久,在控制稻瘟病方面具有更大的应用前景。例如:非小种专化性 *R* 基因 *Pi35* 是 *Pish* 的等位变异基因。马建等<sup>[84]</sup> 通过比对抗病品种中的功能等位基因 *Pi35/Pish* 与感病品种中的变异序列 *pi35-LTH*,发现二者编码的蛋白存在 1 个关键氨基酸差异,基于此开发了功能标记 *Pi35-dCAPS*。使用该标记扩增出 241 和 31 bp 2 条条带表示存在 *Pi35* 抗病等位基因,扩增出 272 bp 单条带则表示为 *Pish* 或感病等位基因,从而实现了不同品种中 *Pi35* 的特异性鉴定。

孙立亭等<sup>[85]</sup> 通过对比重复基序,分析 *Pb1* 和 *Pi5* 与感病品种‘日本晴’中的等位基因差异位点,设计出 1 对 InDel 标记 M1。该标记仅能在含有 *Pb1* 的材料中扩增出 160 bp 的条带。借助 *R* 基因功能标记或特异引物扫描水稻基因组中的 *R* 基因,已成为分子辅助育种的重要手段<sup>[81-85]</sup>。然而,由于稻瘟病菌在自然条件下表现出高度的生理小种多样性与变异性,单一抗稻瘟病基因的水稻品种常在推广 3~5 a 后丧失抗病性<sup>[86-88]</sup>。为此,基因聚合育种方法应运而生,即通过将多个抗病相关目标基因聚合至同一基因组

背景中,不仅可拓宽品种的抗性谱,还能增强其对某特定生理小种的抗病性,从而成为培育持久抗病品种的优先策略<sup>[89-90]</sup>。

在水稻早期抗病育种实践中,常采用与 *R* 基因紧密连锁的分子标记进行基因聚合<sup>[91-92]</sup>。例如:刘凯等<sup>[93]</sup>以同时携带 *Pi-ta* 和 *Pib* 的‘武运粳 8 号’(‘Wuyunjing 8’)和携带 *Pi9* 的‘盐稻 10 号’(‘Yandao 10’)为亲本,通过杂交及功能标记选择,成功获得兼具 3 个基因的新品种‘盐稻 1626’(‘Yandao 1626’),在黄淮海粳稻区具有较好适应性和抗病性,成为优质抗病新品种的代表。马作斌等<sup>[94]</sup>则在携带 *Pib* 的‘辽粳 9234’(‘Liaojing 9234’)和携带 *Pi-ta* 的‘铁粳 7 号’(‘Tiejing 7’)杂交后代中,分别使用 *Pib* 和 *Pi-ta* 的显性标记进行辅助选择,获得了同时含有 2 种抗稻瘟病基因的稳定品种‘铁粳 16’(‘Tiejing 16’),该品种在扩大抗性谱的同时也保留了良好的农艺性状,为水稻抗病育种提供了新的种质资源。李俊周等<sup>[95]</sup>以广谱抗病品种‘镇稻 88’(‘Zhendao 88’)与优质品种‘方欣 4 号’(‘Fangxin 4’)为亲本,通过分子标记辅助选择的方法,成功聚合了抗稻瘟病基因 *Pi-ta2*、*Pia* 和 *Pi5*,获得新抗病粳稻品种‘豫农粳 12’(‘Yunongjing 12’),在原种植区表现出优良的抗病性和高产特性,具有良好的推广应用前景。

### 3.2 基于基因编辑技术创建水稻抗稻瘟病种质

通过基因组编辑提升作物抗病性,主要可以从 2 个方面进行改良:一是对 *R* 基因进行修饰,二是对感病基因(susceptible gene, *S* 基因)进行改造。植物中的 *S* 基因可能是参与免疫负调控的调节因子,也可能与寄主植物的正常发育密切相关<sup>[96]</sup>。通过敲除或失活 *S* 基因,能够在降低病原菌选择压力的同时,有效消除植物的易感状态,从而提高植物对病害的广谱抗性,并具备更持久的防御效果<sup>[97-98]</sup>。而通过人工设计识别范围更广的 *R* 基因变体,也可以显著增强作物的抗病能力<sup>[97-100]</sup>。

目前,应用最广泛的基因编辑系统是 CRISPR/Cas9。该系统在促进植物反向遗传学进展方面发挥了革命性作用,并在基因功能研究与作物遗传改良中展现出巨大潜力。CRISPR/Cas9 系统在植物基因组中可实现多种类型的编辑,包括基因敲除、定点插入或替换、单碱基替换及调控基因表达等<sup>[101-104]</sup>。目前,该技术已在多种作物中成功实现了重要农艺性状

的改良,如水稻的产量<sup>[105-106]</sup>、稻米品质<sup>[107-108]</sup>、非生物胁迫抗性<sup>[109-110]</sup>、除草剂抗性<sup>[111-112]</sup>及抗病性<sup>[97-100]</sup>等方面。

在水稻抗稻瘟病研究中,利用 CRISPR/Cas9 系统分别对 *OsERF922* 和 *OsSEC3A* 2 个 *S* 基因的编码区域进行编辑,并对其突变体后代进行病理表型分析,结果发现这些突变体表现出明显的稻瘟病抗性<sup>[97-98]</sup>。水稻 *Pi2I* 是典型的 *S* 基因,其编码 1 个包含 HMA 结构域的蛋白,该基因天然存在的小片段缺失可产生具有隐性抗病性的等位基因,利用 CRISPR/Cas9 技术对 *Pi2I* 基因进行精准编辑,可以在不影响稻米品质的前提下有效增强水稻对稻瘟病的抗性<sup>[99-100]</sup>;类似的,在不影响水稻主要农艺性状的基础上,敲除 *Bsr-d1* 基因也能赋予水稻更广谱的稻瘟病抗性<sup>[113]</sup>。此外,天然种质资源所蕴含的遗传多样性为作物抗病改良提供了丰富的遗传基础,而 CRISPR/Cas9 系统则为快速创建种质多样性群体提供了高效工具<sup>[114]</sup>。因此,利用 CRISPR/Cas9 编辑技术开展水稻抗稻瘟病种质的创建,具有广阔的应用前景与无限的发展潜力。

## 4 总结和展望

### 4.1 持续挖掘广谱稻瘟病 *R* 基因的必要性

稻瘟病是水稻生产中最具毁灭性的真菌病害之一,可在水稻整个生育期内发生,造成不同程度的损失。其中,在水稻穗形成阶段发生感染,常常导致穗不育、籽粒垩白或不实,严重时甚至引发绝收<sup>[115]</sup>。据农业农村部统计,中国近年来稻瘟病发生面积呈逐年上升趋势,防控形势日趋严峻。

当前,利用抗稻瘟病基因培育具有广谱抗病性的水稻新品种,已成为防控稻瘟病最经济、最有效、最环保的策略之一<sup>[2]</sup>。然而,该方法在实践应用中仍面临诸多挑战,主要包括以下 2 点:1) 现有 *R* 基因的抗谱覆盖面有限。目前已克隆的大多数 *R* 基因主要赋予幼苗期的稻瘟病抗性,但稻瘟病在幼苗期与抽穗期的发病机制存在差异,因此,这些 *R* 基因在后期如抽穗期等关键阶段往往难以提供足够的保护,最终仍可能导致显著减产<sup>[116-117]</sup>;2) 稻瘟病菌致病小种更新迅速,导致部分单一 *R* 基因很快失效,抗病性难以持久<sup>[118]</sup>。因此,持续挖掘并利用新的广谱、持久的 *R* 基因,仍是当前和未来抗稻瘟病育种工作的重点。

为应对上述问题,应将现代生物技术与传统方法相结合。一方面,可持续收集来源于不同国家或生态区域的水稻种质资源,广泛开展多地、多小种的系统性抗谱鉴定,筛选在整个生育周期内表现出稻瘟病抗性的种质。另一方面,对野生稻或近缘属中未开发的 *R* 基因进行挖掘,借助 GWAS 等现代遗传学手段,对控制广谱稻瘟病抗性的关键基因进行精确定位与克隆,从而为后续水稻抗稻瘟病分子育种积累丰富的基因资源和理论基础。

#### 4.2 水稻抗稻瘟病机制的解析及育种应用

近年来,随着对病原菌致病机制以及植物 *R* 基因功能机制研究的不断深入,新的分子抗病育种策略不断涌现。研究发现,敲除受效应因子直接攻击的宿主蛋白的编码基因,可作为一种可行的分子育种手段以提高植物抗病性<sup>[119]</sup>。然而,若效应因子攻击的宿主蛋白同时参与植物的正常生长发育、代谢或其他抗性过程,敲除后则可能对植物生理造成整体负面影响,从而限制该策略的推广应用。

近年来,对植物最大 *R* 基因家族 *NLR* 基因所编码抗病蛋白的作用机制研究取得重大进展,*R* 基因的结构改造或人工设计逐渐成为植物抗病研究领域的热点。研究表明:部分 *NLR* 类 *R* 基因在长期演化过程中,会将其监测对象蛋白的结构域整合入自身编码序列中,形成带有整合结构域的 *NLR* 基因,即 *NLR-ID*<sup>[49]</sup>。例如:拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] 中的 *NLR* 基因 *RRS1* 融合了转录因子结构域 *WRKY*,该结构域可被丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 效应因子 *AvrRps4* 攻击,从而激活 *RRS1*,启动免疫反应;一旦删除该 *WRKY* 结构域,*RRS1* 则处于失活状态<sup>[120]</sup>。在水稻中也存在类似机制,如 *Pia* 位点的 *RGAS* 基因编码蛋白融合了 *HMA* 结构域,可在受到 *Avr-Pia* 攻击后被激活,触发免疫反应<sup>[121]</sup>。这一“整合诱饵机制”是否普遍存在于不同植物类群中,仍有待进一步探究。若这些 *ID* 可作为诱饵蛋白识别病原效应因子,那么,在明确效应因子互作对象的基础上,通过基因工程手段将其融合至 *NLR* 基因中,有望成为构建新型 *R* 基因的前沿策略<sup>[47,49]</sup>。

在植物中,*R* 基因常具有多拷贝,并以基因簇形式分布于染色体上,也有少数以单拷贝形式存在。以水稻和拟南芥为例,单拷贝形式 *R* 基因分别占其基因组中 *R* 基因的 28.91% 和 15.15%<sup>[60]</sup>。为了应对病原菌的快速变异,植物需不断产生新的 *R* 基因。研

究表明:基因簇中多个拷贝之间的重组是新 *R* 基因产生的主要机制之一<sup>[122-125]</sup>。最典型的例子是拟南芥 *Rpp8* 基因,其理论上可通过已有的 210 个位点的非同义突变,生成高达  $1.6 \times 10^{63}$  种氨基酸序列的重组体<sup>[124,126]</sup>。这种特殊的遗传机制使得成千上万的 *R* 基因重组体得以保留,大大丰富了 *R* 基因的遗传多样性,也增强了对多种病害的防御能力。

以基因簇形式存在的多拷贝抗病基因可以通过重组交换,持续产生新的 *R* 基因,但对于那些以单拷贝形式存在的 *R* 基因而言,其进化速度如何与病原菌相匹配仍不清楚。鉴于植物的生长速度和进化速率远低于病原菌,水稻中以单拷贝形式存在的 *R* 基因如何利用有限的“分子工具”感知和抵御进化速度快、种类繁多的病原菌,这一问题的解析将有助于深入理解水稻抗稻瘟病机制,并为抗稻瘟病基因的挖掘和育种应用提供理论支撑。

#### 4.3 适合度效应对 *R* 基因应用的影响

为适应外部复杂多变的环境,植物在进化过程中形成了多种机制以在生长与防御之间实现动态权衡<sup>[127-131]</sup>。研究表明不同类型的 *R* 基因在适合度效应上可能存在差异。例如:在拟南芥和水稻中,非 P/A 型 *R* 基因分别占 *R* 基因总数的近 80% 和 89%,明显高于 P/A 型 *R* 基因的比例,提示非 P/A 型 *R* 基因可能具有更强的保留优势<sup>[53,132]</sup>。

Macqueen 等<sup>[133]</sup> 将拟南芥中非 P/A 型 *R* 基因 *RPS2* 进行敲除,发现突变体的适应性显著降低,表明该基因对植物的生存具有重要意义,这在一定程度上解释了即便某些 *RPS2* 感病等位基因本身并不具备抗病功能,仍然能够在不同生态型中被自然选择保留下来。因此,在 *R* 基因聚合育种过程中,不能简单地将多个 *R* 基因叠加视为“加性效应”,而应深入理解不同 *R* 基因之间的遗传结构、调控关系及适合度影响,才能实现最优的抗病配置方案。

此外,抗病性状不应孤立考量,其与其他农艺性状的协同关系也应纳入综合评估。例如:水稻中的 *PigmR* 虽具有广谱稻瘟病抗性,但常伴随籽粒变小、产量降低等负面农艺性状<sup>[134]</sup>;而 *OsSPL14* (*IPA1*) 则同时具备抗病能力与产量提升效应,既可增强稻瘟病抗性<sup>[135]</sup>,又可通过调控分蘖数提高穗粒数,从而提升产量<sup>[136]</sup>。此外,从野生稻资源中挖掘 *R* 基因时,应优先考虑不引起明显适合度代价的基因,如 *Xa23* 可在不影响适合度的前提下增强水稻对稻瘟病的

抗性<sup>[137]</sup>。

实现产量与抗病之间的协同提升,是现代农业可持续发展的核心战略。通过多学科交叉融合,推动育种理念由“被动抗病”向“主动设计”转变,是培育高产、广谱抗病新品种,特别是“绿色超级稻”的关键路径。然而,当前关于非 P/A 型 R 基因是否存在适合度代价的研究结果仍存在较大争议。一方面,R 基因与产量相关基因之间可能存在紧密连锁,影响实验判断<sup>[138]</sup>;另一方面,适合度的评估受环境因子干扰较大,可能因方法不同而结果不一<sup>[139]</sup>。因此,获得单个 R 基因(尤其是非 P/A 型)近等基因系,并在严格控制的实验条件下评估其适合度效应,是今后研究的重要方向。

#### 参考文献:

- [1] ZHAI K, LIANG D, LI H, et al. NLRs guard metabolism to coordinate pattern- and effector-triggered immunity [J]. *Nature*, 2022, 601: 245–251.
- [2] XIAO N, WU Y, ZHANG X, et al. *Pijx* confers broad-spectrum seedling and panicle blast resistance by promoting the degradation of ATP  $\beta$  subunit and OsRbohC-mediated ROS burst in rice [J]. *Molecular Plant*, 2024, 17: 672–675.
- [3] 王占春, 钟桂涛, 张贝贝, 等. 水稻稻瘟病抗性基因研究进展 [J]. *遗传*, 2025, 47(5): 533–545.
- [4] CHEN J, ZHAO Y, LUO X, et al. NLR surveillance of pathogen interference with hormone receptors induces immunity [J]. *Nature*, 2023, 613: 145–152.
- [5] YU X Q, NIU H Q, LIU C, et al. PTI-ETI synergistic signal mechanisms in plant immunity [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22: 2113–2128.
- [6] JONES J D G, DANGL J L. The plant immune system [J]. *Nature*, 2006, 444: 323–329.
- [7] YUAN M, NGOU B P M, DING P, et al. PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2021, 62: 102030.
- [8] PRUITT R N, LOCCI F, WANKE F, et al. The EDS1-PAD4-ADR1 node mediates *Arabidopsis* pattern-triggered immunity [J]. *Nature*, 2021, 598: 495–499.
- [9] CHANG M, CHEN H, LIU F, et al. PTI and ETI: convergent pathways with diverse elicitors [J]. *Trends in Plant Science*, 2022, 27(2): 113–115.
- [10] LIU X, HU X, TU Z, et al. The roles of *Magnaporthe oryzae* avirulence effectors involved in blast resistance/susceptibility [J]. *Frontier in Plant Science*, 2024, 15: 1478159.
- [11] ZIPFEL C. Plant pattern-recognition receptors [J]. *Trends in Immunology*, 2014, 35(7): 345–351.
- [12] RANF S, GISCH N, SCHÄFFER M, et al. A lectin S-domain receptor kinase mediates lipopolysaccharide sensing in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Immunology*, 2015, 16: 426–433.
- [13] KAWAI T, AKIRA S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors [J]. *Nature Immunology*, 2010, 11: 373–384.
- [14] ZIPFEL C. Pattern-recognition receptors in plant innate immunity [J]. *Current Opinion in Immunology*, 2008, 20: 10–16.
- [15] LI S X, LIU Y, ZHANG Y M, et al. Convergent reduction of immune receptor repertoires during plant adaptation to diverse special lifestyles and habitats [J]. *Nature Plants*, 2025, 11: 248–262.
- [16] SHIU S H, KARLOWSKI W M, PAN R, et al. Comparative analysis of the receptor-like kinase family in *Arabidopsis* and rice [J]. *The Plant Cell*, 2004, 16: 1220–1234.
- [17] CHEN X, RONALD P C. Innate immunity in rice [J]. *Trends in Plant Science*, 2011, 16(8): 451–459.
- [18] SHIMIZU T, NAKANO T, TAKAMIZAWA D, et al. Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice [J]. *The Plant Journal*, 2010, 64: 204–214.
- [19] KAKU H, NISHIZAWA Y, ISHII-MINAMI N, et al. Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(29): 11086–11091.
- [20] LU D, WU S, GAO X, et al. A receptor-like cytoplasmic kinase, BIK1, associates with a flagellin receptor complex to initiate plant innate immunity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(1): 496–501.
- [21] DELTEIL A, GOBBATO E, CAYROL B, et al. Several wall-associated kinases participate positively and negatively in basal defense against rice blast fungus [J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16: 17.
- [22] CHIANG Y H, COAKER G. Effector-triggered immunity: NLR immune perception and downstream defense responses [J]. *The Arabidopsis Book*, 2015, 13: e0183.
- [23] WANG Z X, YANO M, YAMANOUCI 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]. *The Plant Journal*, 1999, 19: 55–64.
- [24] ZHANG S, WANG L, WU W, et al. Function and evolution of *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AvrPib* responding to the rice blast resistance gene *Pib* [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 11642.
- [25] ORBACH M J, FARRALL L, SWEIGARD J A, et al. A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene *Pi-ta* [J]. *The Plant Cell*, 2000, 12: 2019–2032.
- [26] 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]. *The Plant Cell*, 2000, 12:

- 2033–2045.
- [27] ZHOU B, QU S, LIU G, 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 Interactions*, 2006, 19 ( 11 ): 1216–1228.
- [28] LI W, WANG B, WU J, et al. 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* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, 22(4) : 411–420.
- [29] YOSHIDA K, SAITOH H, FUJISAWA S, et al. Association genetics reveals three novel avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae* [J]. *The Plant Cell*, 2009, 21: 1573–1591.
- [30] ZHAI C, LIN F, DONG Z, et al. The isolation and characterization of *Pik*, a rice blast resistance gene which emerged after rice domestication [J]. *New Phytologist*, 2010, 189: 321–334.
- [31] OKUYAMA Y, KANZAKI H, ABE A, et al. A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice *Pia*-blast resistance gene consisting of two adjacent NBS-LRR protein genes [J]. *The Plant Journal*, 2011, 66(3) : 467–479.
- [32] SHARMA T R, RAI A K, GUPTA S K, et al. Broad-spectrum blast resistance gene *Pi-k<sup>h</sup>* cloned from rice line Tetep designated as *Pi54* [J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2010, 19(1) : 87–89.
- [33] RIBOT C, CÉSARI S, ABIDI I, et al. The *Magnaporthe oryzae* effector AVR1-CO39 is translocated into rice cells independently of a fungal-derived machinery [J]. *The Plant Journal*, 2013, 74: 1–12.
- [34] QU S, LIU G, ZHOU B, et al. 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 [J]. *Genetics*, 2006, 172: 1901–1914.
- [35] WU J, KOU Y, BAO J, et al. Comparative genomics identifies the *Magnaporthe oryzae* avirulence effector *AvrPi9* that triggers *Pi9*-mediated blast resistance in rice [J]. *New Phytologist*, 2015, 206: 1463–1475.
- [36] FUJISAKI K, ABE Y, ITO A, et al. Rice Exo70 interacts with a fungal effector, AVR-Pii, and is required for AVR-Pii-triggered immunity [J]. *The Plant Journal*, 2015, 83: 875–887.
- [37] WANG R, NING Y, SHI X, et al. Immunity to rice blast disease by suppression of effector-triggered necrosis [J]. *Current Biology*: CB, 2016, 26(18) : 2399–2411.
- [38] WANG J, WANG R, FANG H, et al. Two VOZ transcription factors link an E3 ligase and an NLR immune receptor to modulate immunity in rice [J]. *Molecular Plant*, 2021, 14: 253–266.
- [39] ZHANG C, FANG H, SHI X, et al. A fungal effector and a rice NLR protein have antagonistic effects on a Bowman-Birk trypsin inhibitor [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18: 2354–2363.
- [40] SINGH P K, RAY S, THAKUR S, et al. Co-evolutionary interactions between host resistance and pathogen avirulence genes in rice-*Magnaporthe oryzae* pathosystem [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2018, 115: 9–19.
- [41] FLOR H H. Host-parasite interaction in flax rust-its genetics and other implications [J]. *Phytopathology*, 1955, 45(12) : 680–685.
- [42] DODDS P N, LAWRENCE G J, CATANZARITI A-M, et al. Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(23) : 8888–8893.
- [43] WANG B, EBBOLE D J, WANG Z. The arms race between *Magnaporthe oryzae* and rice: diversity and interaction of *Avr* and *R* genes [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2017, 16 ( 12 ): 2746–2760.
- [44] KANZAKI H, YOSHIDA K, SAITOH H, et al. Arms race co-evolution of *Magnaporthe oryzae AVR-Pik* and rice *Pik* genes driven by their physical interactions [J]. *The Plant Journal*, 2012, 72: 894–907.
- [45] VAN DER HOORN R A L, KAMOUN S. From Guard to Decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors [J]. *The Plant Cell*, 2008, 20: 2009–2017.
- [46] VAN DER D BIEZEN E A, JONES J D G. Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1998, 23(12) : 454–456.
- [47] KOURELIS J, VAN DER HOORN R A L. Defended to the nines: 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms for R protein function [J]. *The Plant Cell*, 2018, 30: 285–299.
- [48] SHAO F, GOLSTEIN C, ADE J, et al. Cleavage of *Arabidopsis* PBS1 by a bacterial type III effector [J]. *Science*, 2003, 301: 1230–1233.
- [49] MARCHAL C, MICHALOPOULOU V A, ZOU Z, et al. Show me your ID: NLR immune receptors with integrated domains in plants [J]. *Essays in Biochemistry*, 2022, 66: 527–539.
- [50] WANG J, LONG X, CHERN M, et al. Understanding the molecular mechanisms of trade-offs between plant growth and immunity [J]. *Science China Life Sciences*, 2021, 64 ( 2 ): 234–241.
- [51] MICHELMORE R W, CHRISTOPOULOU M, CALDWELL K S. Impacts of resistance gene genetics, function, and evolution on a durable future [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2013, 51: 291–319.
- [52] LEE R R Q, CHAE E. Variation patterns of NLR clusters in *Arabidopsis thaliana* genomes [J]. *Plant Communications*, 2020, 1 ( 4 ): 100089.
- [53] YANG S, ZHANG X, YUE J X, et al. Recent duplications dominate NBS-encoding gene expansion in two woody species [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2008, 280: 187–198.
- [54] LIU J, ZHANG S, XIE P F, et al. Fitness benefits play a vital role in the retention of the *Pi-ta* susceptible alleles [J]. *Genetics*, 2022, 220: iyac019.

- [55] LEE S K, SONG M Y, SEO Y S, et al. Rice *Pi5*-mediated resistance to *Magnaporthe oryzae* requires the presence of two coiled-coil-nucleotide-binding-leucine-rich repeat genes [J]. *Genetics*, 2009, 181: 1627-1638.
- [56] WANG X, JIA Y, SHU Q Y, et al. Haplotype diversity at the *Pi-ta* locus in cultivated rice and its wild relatives [J]. *Phytopathology*, 2008, 98(12): 1305-1311.
- [57] WANG X, JIA M H, GHAI P, et al. Genome-wide association of rice blast disease resistance and yield-related components of rice [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2015, 28(12): 1383-1392.
- [58] YOUNAS M U, QASIM M, AHMAD I, et al. Allelic variation in rice blast resistance: a pathway to sustainable disease management [J]. *Molecular Biology Reports*, 2024, 51: 935.
- [59] SHAO Z Q, XUE J Y, WANG Q, et al. Revisiting the origin of plant NBS-LRR genes [J]. *Trends in Plant Science*, 2019, 24(1): 9-12.
- [60] LIU Y, ZENG Z, ZHANG Y M, et al. An angiosperm NLR atlas reveals that NLR gene reduction is associated with ecological specialization and signal transduction component deletion [J]. *Molecular Plant*, 2021, 14: 2015-2031.
- [61] WANG B H, EBBOLE D J, WANG Z H. The arms race between *Magnaporthe oryzae* and rice: diversity and interaction of *Avr* and *R* genes [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2017, 16(12): 2746-2760.
- [62] DENG Y, ZHU X, SHEN Y, et al. 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 [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 113: 705-713.
- [63] DAS A, 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 and Integrative Genomics*, 2012, 12: 215-228.
- [64] JIA Y, MARTIN R. Identification of a new locus, *Ptr(t)*, required for rice blast resistance gene *Pi-ta*-mediated resistance [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2008, 21(4): 396-403.
- [65] XIAO G, LAKSANAVILAT N, CESARI S, et al. The unconventional resistance protein PTR recognizes the *Magnaporthe oryzae* effector AVR-Pita in an allele-specific manner [J]. *Nature Plants*, 2024, 10: 994-1004.
- [66] ZHAO H, WANG X, JIA Y, et al. The rice blast resistance gene *Ptr* encodes an atypical protein required for broad-spectrum disease resistance [J]. *Nature Communication*, 2018, 9: 2039.
- [67] RAMKUMAR G, MADHAV M S, DEVI S J S R, et al. Nucleotide variation and identification of novel blast resistance alleles of *Pib* by allele mining strategy [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2015, 21(2): 301-304.
- [68] SHANG J, TAO Y, CHEN X, et al. Identification of a new rice blast resistance gene, *Pid3*, by genomewide comparison of paired nucleotide-binding site-leucine-rich repeat genes and their pseudogene alleles between the two sequenced rice genomes [J]. *Genetics*, 2009, 182: 1303-1311.
- [69] CHEN J, SHI Y, LIU W, et al. A *Pid3* allele from rice cultivar Gumei2 confers resistance to *Magnaporthe oryzae* [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2011, 38(5): 209-216.
- [70] HAYASHI N, INOUE H, KATO T, et al. Durable panicle blast-resistance gene *Pb1* encodes an atypical CC-NBS-LRR protein and was generated by acquiring a promoter through local genome duplication [J]. *The Plant Journal*, 2010, 64: 498-510.
- [71] CHEN X, LI S, XU J, et al. Identification of two blast resistance genes in a rice variety, Digu [J]. *Journal of Phytopathology*, 2004, 152(2): 77-85.
- [72] CHEN X, SHANG J, CHEN D, et al. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance [J]. *The Plant Journal*, 2006, 46: 794-804.
- [73] OIKAWA K, FUJISAKI K, SHIMIZU M, et al. The blast pathogen effector AVR-Pik binds and stabilizes rice heavy metal-associated (HMA) proteins to co-opt their function in immunity [J]. *PLoS Pathogen*, 2024, 20(11): e1012647.
- [74] HAYASHI K, YOSHIDA H. Refunctionalization of the ancient rice blast disease resistance gene *Pit* by the recruitment of a retrotransposon as a promoter [J]. *The Plant Journal*, 2009, 57: 413-425.
- [75] LI Y, WANG Q, JIA H, et al. An NLR paralog *Pit2* generated from tandem duplication of *Pit1* fine-tunes *Pit1* localization and function [J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 4610.
- [76] WANG Z, YANG D, ZHONG G, et al. Nucleotide-binding leucine-rich repeat receptor homologs *Pib* and *PibH8* interact and contribute to immunity in rice [J]. *Plant Physiology*, 2024, 195: 3010-3023.
- [77] ANDERSEN J R, LÜBBERSTEDT T. Functional markers in plants [J]. *Trends in Plant Science*, 2003, 8(11): 554-560.
- [78] 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.
- [79] 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.
- [80] LIU G, LU G, ZENG L, et al. Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9(t)* and *Pi2(t)*, are physically linked on rice chromosome 6 [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2002, 267(4): 472-480.
- [81] HUA L, WU J, CHEN C, 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: 1047-1055.
- [82] YUAN B, ZHAI C, WANG W, 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: 1017-1028.
- [83] 王 军, 杨 杰, 朱金燕, 等. 稻瘟病抗病基因 *Pi-k<sup>h</sup>* 功能标记的开发及江苏粳稻品种中 *Pi-k<sup>h</sup>* 的变异[J]. 中国水稻科学, 2014, 28(2): 141-147.
- [84] 马 建, 马小定, 赵志超, 等. 水稻抗稻瘟病基因 *Pi35* 功能性分子标记的开发及其应用[J]. 作物学报, 2015, 41(12): 1779-1790.
- [85] 孙立亭, 林添资, 景德道, 等. 江苏省多基因聚合对水稻稻瘟病抗性的效应分析及 *Pb1* 基因功能标记开发[J]. 南方农业学报, 2019, 50(5): 913-923.
- [86] 沈 瑛, 朱培良, 袁筱萍. 中国稻瘟病菌的遗传多样性[J]. 植物病理学报, 1993, 23(4): 309-313.
- [87] CHEN D, ZEIGLER R S, LEUNG H, et al. Population structure of *Pyricularia grisea* at two screening sites in the Philippines[J]. Genetics, 1995, 85(9): 1011-1020.
- [88] LI W, CHERN M, YIN J, et al. Recent advances in broad-spectrum resistance to the rice blast disease[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2019, 50: 114-120.
- [89] 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.
- [90] 李玉莹, 李声春, 李晓方. 分子标记辅助选择聚合水稻抗虫抗病基因育种研究进展[J]. 广东农业科学, 2016, 43(6): 119-126.
- [91] 张 荟, 周 鹏, 涂诗航, 等. 利用分子标记辅助选择技术创制抗稻瘟病水稻新恢复系[J]. 分子植物育种, 2015, 13(9): 1918-1922.
- [92] HITTALMANI S, PARCO A, MEW T V, et al. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100: 1121-1128.
- [93] 刘 凯, 宛柏杰, 赵绍路, 等. 利用分子标记辅助选择聚合水稻 *Pi-ta*, *Pi-b* 和 *Pi-9* 基因[J]. 西南农业学报, 2021, 34(5): 926-931.
- [94] 马作斌, 赵家铭, 崔月峰, 等. 分子标记辅助选育抗稻瘟病水稻新品种‘铁粳 16’[J]. 分子植物育种, 2021, 19(2): 512-517.
- [95] 李俊周, 吕传威, 王伟杰, 等. 利用分子标记辅助选育抗稻瘟病粳稻品种‘豫农粳 12’[J]. 分子植物育种, 2022, 20(8): 2650-2656.
- [96] GORSHKOV V, TSERS I. Plant susceptible responses: the underestimated side of plant-pathogen interactions[J]. Biological Reviews, 2022, 97: 45-66.
- [97] WANG F, WANG C, LIU P, et al. Enhanced rice blast resistance by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the ERF transcription factor gene *OsERF922*[J]. PLoS ONE, 2016, 11(4): e0154027.
- [98] MA J, CHEN J, WANG M, et al. Disruption of *OsSEC3A* increases the content of salicylic acid and induces plant defense responses in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(5): 1051-1064.
- [99] LI S, SHEN L, HU P, et al. Developing disease-resistant thermosensitive male sterile rice by multiplex gene editing[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2019, 61(12): 1201-1205.
- [100] NAWAZ G, USMAN B, PENG H, et al. Knockout of *Pi21* by CRISPR/Cas9 and iTRAQ-based proteomic analysis of mutants revealed new insights into *M. oryzae* resistance in elite rice line[J]. Genes, 2020, 11: 735.
- [101] SHI J, GAO H, WANG H, et al. *ARGOS8* variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions[J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15: 207-216.
- [102] CAI Y, CHEN L, LIU X, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of *GmFT2a* delays flowering time in soya bean[J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16: 176-185.
- [103] GU X, LANG J, CHANG Y, et al. Cleavable donor-assisted CRISPR/Cas9 system significantly improves the efficiency of large DNA insertion in *Physcomitrium patens*[J]. The Plant Journal, 2025, 121: e70020.
- [104] ANZALONE A V, KOBLAN L W, LIU D R. Genome editing with CRISPR-Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors[J]. Nature Biotechnology, 2020, 38: 824-844.
- [105] BARMAN H N, SHENG Z, FIAZ S, et al. Generation of a new thermo-sensitive genic male sterile rice line by targeted mutagenesis of *TMS5* gene through CRISPR/Cas9 system[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19: 109.
- [106] MIAO C, XIAO L, HUA K, et al. Mutations in a subfamily of abscisic acid receptor genes promote rice growth and productivity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(23): 6058-6063.
- [107] ZHANG J, ZHANG H, BOTELLA J R, et al. Generation of new glutinous rice by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the *Waxy* gene in elite rice varieties[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2018, 60(5): 369-375.
- [108] FIAZ S, AHMAD S, NOOR M A, et al. Applications of the CRISPR/Cas9 system for rice grain quality improvement: perspectives and opportunities[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20: 888.
- [109] TANG L, MAO B, LI Y, et al. Knockout of *OsNramp5* using the CRISPR/Cas9 system produces low Cd-accumulating *indica* rice without compromising yield[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 14438.
- [110] YANG C H, ZHANG Y, HUANG C F. Reduction in cadmium accumulation in japonica rice grains by CRISPR/Cas9-mediated editing of *OsNRAMP5*[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2019, 18(3): 688-697.
- [111] SUN Y, ZHANG X, WU C, et al. Engineering herbicide-resistant rice plants through CRISPR/Cas9-mediated homologous recombination of acetolactate synthase[J]. Molecular Plant, 2016, 9: 628-631.
- [112] WANG F, XU Y, LI W, et al. Creating a novel herbicide-tolerance *OsALS* allele using CRISPR/Cas9-mediated gene editing[J]. The Crop Journal, 2021, 9: 305-312.

- [113] ZHANG Y, LIN X F, LI L, et al. CRISPR/Cas9-mediated knockout of *Bsr-d1* enhances the blast resistance of rice in Northeast China[J]. *Plant Cell Reports*, 2024, 43: 100.
- [114] DELTCHEVA E, CHYLINSKI K, SHARMA C M, et al. CRISPR RNA maturation by *trans*-encoded small RNA and host factor RNase III[J]. *Nature*, 2011, 471: 602–607.
- [115] KUMAR V, JAIN P, VENKADESAN S, et al. Understanding rice-*Magnaporthe Oryzae* interaction in resistant and susceptible cultivars of rice under panicle blast infection using a time-course transcriptome analysis[J]. *Genes*, 2021, 12: 301.
- [116] ZHUANG J Y, MA W B, WU J L, et al. Mapping of leaf and neck blast resistance genes with resistance gene analog, RAPD and RFLP in rice[J]. *Euphytica*, 2002, 128: 363–370.
- [117] ISHIHARA T, HAYANO-SAITO Y, OIDE S, et al. Quantitative trait locus analysis of resistance to panicle blast in the rice cultivar Miyazakimochi[J]. *Rice*, 2014, 7: 2.
- [118] ZHAN J, THRALL P H, PAPAÏX J, et al. Playing on a pathogen's weakness: using evolution to guide sustainable plant disease control strategies[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2015, 53: 19–43.
- [119] LIU T, JI J, CHENG Y, et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of *GmTAPI* confers enhanced resistance to *Phytophthora sojae* in soybean[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2023, 65(7): 1609–1612.
- [120] WILLIAMS S J, SOHN K H, WAN L, et al. Structural basis for assembly and function of a heterodimeric plant immune receptor[J]. *Science*, 2014, 344: 299–303.
- [121] CESARI S, KANZAKI H, FUJIWARA T, et al. The NB-LRR proteins RGA4 and RGA5 interact functionally and physically to confer disease resistance[J]. *The EMBO Journal*, 2014, 33: 1941–1959.
- [122] PARNISKE M, HAMMOND-KOSACK K E, GOLSTEIN C, et al. Novel disease resistance specificities result from sequence exchange between tandemly repeated genes at the *Cf-4/9* locus of tomato[J]. *Cell*, 1997, 91: 821–832.
- [123] LUCK J E, LAWRENCE G J, DODDS P N, et al. Regions outside of the leucine-rich repeats of flax rust resistance proteins play a role in specificity determination[J]. *The Plant Cell*, 2000, 12: 1367–1377.
- [124] MACQUEEN A, TIAN D, CHANG W, et al. Population genetics of the highly polymorphic *rpp8* gene family[J]. *Genes*, 2019, 10: 691.
- [125] SANCHEZ-MARTIN J, WIDRIG V, HERREN G, et al. Wheat Pm4 resistance to powdery mildew is controlled by alternative splice variants encoding chimeric proteins[J]. *Nature Plants*, 2021, 7: 327–341.
- [126] TIAN D, TRAW M B, CHEN J Q, et al. Fitness costs of R-gene-mediated resistance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature*, 2003, 423: 70–74.
- [127] HERMS D A, MATTSON W J. The dilemma of plants: to grow or defend[J]. *The Quarterly Review of Biology*, 1992, 67(3): 283–335.
- [128] MELDAU S, BALDWIN I T. Just in time: circadian defense patterns and the optimal defense hypothesis[J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2013, 8(6): e24410.
- [129] WALLING L L. Adaptive defense responses to pathogens and insects[J]. *Advances in Botanical Research*, 2009, 51: 551–612.
- [130] HILKER M, SCHWACHTJE J, BAIER M, et al. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system[J]. *Biological Reviews*, 2016, 91(4): 1118–1133.
- [131] SCOVILLE A G, BARNETT L L, BOBYL-ROELS S, et al. Differential regulation of a MYB transcription factor is correlated with transgenerational epigenetic inheritance of trichome density in *Mimulus guttatus*[J]. *New Phytologist*, 2011, 191(1): 251–263.
- [132] VAN DE WEYER A L, MONTEIRO F, FURZER O J, et al. A species-wide inventory of NLR genes and alleles in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Cell*, 2019, 178: 1260–1272.
- [133] MACQUEEN A, SUN X, BERGELSON J. Genetic architecture and pleiotropy shape costs of *Rps2*-mediated resistance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature Plants*, 2016, 2: 16110.
- [134] DENG Y, ZHAI K, XIE Z, et al. Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance[J]. *Plant Science*, 2017, 355: 962–965.
- [135] ZHANG L L, HUANG Y Y, ZHENG Y P, et al. Osa-miR535 targets *SQUAMOSA promoter binding protein-like 4* to regulate blast disease resistance in rice[J]. *The Plant Journal*, 2022, 110: 166–178.
- [136] MIURA K, IKEDA M, MATSUBARA A, et al. *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(6): 545–549.
- [137] WANG C, ZHANG X, FAN Y, et al. XA23 is an executor R protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice[J]. *Molecular Plant*, 2015, 8: 290–302.
- [138] ORTELLI S, WINZELER H, WINZELER M, et al. Leaf rust resistance gene *Lr9* and winter wheat yield reduction: I. yield and yield components[J]. *Crop Science*, 1996, 36: 1590–1595.
- [139] LAINE A L. Disease resistance: not so costly after all[J]. *Nature Plants*, 2016, 2: 16121.

(责任编辑:郭严冬)