

中国植物病理学会生物技术委员会

第二届全国稻瘟病会议论文集



华农冬景—巢湖

2003年12月18-21日

广州 华南农业大学

序 言

水稻,是我国最重要的粮食作物之一,也是分子生物学研究中重要的模式作物;稻瘟病,则是水稻最严重的病害之一,也是植物病理学研究的模式体系。在中国植物病理学会生物技术委员会积极筹措下,于2001年9月5日至7日在云南农业大学植物病理重点实验室召开了第一届全国水稻稻瘟病学术讨论会。与会代表一致认为,为了应对在基础研究方面来自世界各国顶尖实验室的竞争压力,以及在应用基础研究方面来自全国不同稻作生态区抗病品种感病化问题带来的日益严重的各种挑战,我们应该把稻瘟病学术研讨会作为一个开放的、恒定的平台,以便于全国的稻瘟病工作者,以及与之相关的其它研究领域的研究者有组织、有计划地进行交流和合作。

两年后的今天,经过中国植物病理学会生物技术专业委员会长时间的酝酿和协调,以及60多位代表的积极参与和支持,我们克服了SARS等许多的困难,终于在万木竞绿、紫荆争艳的南国又一次地搭起了这一平台。需要特别指出的是,本次大会得到了华南农业大学校长骆世明教授以及其他领导的关心和支持,广东省农业科学院植物保护研究所作为协办单位也积极地参与了本次大会的组织工作。在此一并表示衷心的感谢。

在过去的两年多时间里,水稻和稻瘟病菌的基因组测序工作都已基本完成。由此,极大地推进和扩展了稻瘟病体系研究的深度和广度。就本次大会而言,无论从与会代表的规模,大会报告的内容,以及收录于本论文集的论文来看都充分地反映了这一时代特征。不过言,我们在稻瘟病体系研究的许多方面已经跟上了世界发展的潮流,某些方面甚至走在了世界的前列。另一方面,我们也必须清醒地认识到,就全国的稻瘟病体系研究而言,我们的总体水平充其量也就是“小康水平”。因此,如何充分地利用我国稻瘟病体系研究中独特而丰富的研究资源和力量,尽快地达到“先进水平”,这是我们今天必须思考和努力、交流与合作的大课题。不待言,这也是我们大家能够走到一起来的根本原因。在此,我代表大会组织委员会感谢各位代表的参与和支持了。

第二届全国稻瘟病会议

暨中国植物病理学会生物技术专业委员会会议

组织委员会

潘庆华



2003年12月18日于华南农业大学5号楼

第二届全国稻瘟病会议 暨中国植物病理学会生物技术委员会会议

大会组织委员会

名誉主任：骆世明教授（生态学家、华南农业大学校长）、彭友良教授（中国植物病理学会理事长、中国农业大学）

主任：李德葆教授（生物技术委员会主任、浙江大学）、潘庆华教授（华南农业大学）

副主任（A、B、C 顺序）：陈海如教授（云南农业大学校长）、李振歧院士（西北农林科技大学）、伍尚忠研究员（广东省农业科学院）、谢联辉院士（福建农林科技大学）、郑小波教授（南京农业大学校长）

委员（A、B、C 顺序）：陈保善教授（广西大学）、陈志强教授（华南农业大学）、何朝族研究员（中国科学院微生物所）、凌忠专研究员（中国农科院作物所）、沈瑛研究员（中国农科院水稻所）、孙国昌研究员（浙江省农业科学院）、王继春研究员（吉林省农业科学院）、王石平教授（华中农业大学）、王振中教授（华南农业大学）、王宗华教授（福建农林科技大学）、朱立煌研究员（中国科学院遗传发育所）、朱有勇教授（云南农业大学）

秘书：王玲老师（华南农业大学）、朱小源研究员（广东省农业科学院）

主办单位

华南农业大学华南稻瘟病研究中心

支持单位

华南农业大学资源环境学院

华南农业大学科学技术处

广东省农业科学院植物保护研究所

第二届全国稻瘟病会议
暨中国植物病理学会生物技术委员会会议

论文集目录

综述

稻瘟病菌基因组学研究进展.....	1
植物抗病基因的基因组学研究.....	6
四川省水稻抗稻瘟病育种现状及发展方向	11

抗病基因

Fine mapping of the blast resistance gene <u>Pi15</u> , linked to <u>Pii</u> , on rice chromosome 9	16
持久抗瘟稻种三黄占2号的抗性评价及分子遗传分析.....	26
三黄占2号及其衍生品种抗稻瘟病特征研究.....	35
籼稻品种浙辐802抗稻瘟病基因的鉴定与分离.....	40
我国部分杂交稻和常规早籼、晚粳品种(系)的抗瘟性.....	47
水稻空间诱变育种抗稻瘟病研究初报	58
水稻标记性状近等基因系材料稻瘟病疑似症状的排除研究简报	64

无毒基因

利用 RAPD 分子标记定位 2 个水稻稻瘟病菌非致病性基因.....	65
稻瘟病菌无毒基因 <i>AvrPi-2</i> 的 RAPD 标记 SCAR 转化	73
稻瘟病菌基因编码区中微卫星序列的频率和分布	79
稻瘟病菌突变菌株的分子鉴定	89

鉴别品种及分子指纹

Development of Chinese near isogenic line of rice and their differentiating ability of Pathogenic races of blast fungus.....	95
---	----

Construction of a New Differential System with Single Resistance Gene for Each Line for Pathogenic Races of Blast Fungus in China.....	103
稻瘟病菌群体的分子遗传学研究 IV. 由五个亚群体组成的广东省稻瘟病菌群体遗传结构的分析.....	108
稻瘟病菌群体的分子遗传学研究 V. 广东省地区特异性宗谱菌株的分子指纹和致病型分析.....	119
我国北方部分稻区稻瘟病菌群体遗传结构研究.....	131
湖南烟溪病圃稻瘟病菌的有性态及微卫星标记的遗传多样性分析.....	139
四川部分稻瘟病菌的分子指纹聚类分析.....	147
与稻瘟病菌基因组保守序列 Pot2 相关的性状研究 (摘要)	152
水稻品种多样性混合间栽持续控制稻瘟病研究.....	153
湖南两类稻瘟病生态系病菌群体遗传多样性研究.....	155
其他	
植物源组分 P3D 对稻瘟菌侵染过程的影响.....	156
水稻同核异质雄性不育细胞质及其正常细胞质 mtDNA 差异与抗稻瘟病菌 90-2 菌株的研究.....	163
作者索引.....	167

稻瘟病菌基因组学研究进展

王洪凯¹ 林福呈² 李德葆¹

(1 浙江大学生物技术研究所 2 浙江大学生命科学院微生物研究所)

摘要: 稻瘟病是世界性水稻病害, 经过过去几十年的遗传研究, 稻瘟病与水稻的互作已经成为植物与病原物相互作用的研究模式。近几年稻瘟病菌基因组研究进展很迅速。本文主要对 BAC 叠连群及其序列测定、EST 测序、基因组测序、功能分析等方面的研究进展进行综述。

稻瘟病是水稻的毁灭性病害, 世界各地水稻产区都有此病发生。由于稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*) 每年可给水稻造成 11-30% 产量损失, 约合 1.57 亿美元 (<http://www.fungalgenomics.ncsu.edu>), 足可以让世上 6 千万人口生活一年, 因此它受到世界各国科学家的关注, 对这个病害的研究已有近 150 年的研究历史。该病菌还可以侵染其它禾谷作物, 包括大小麦, 也可以引起严重的草皮病害。稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*) 具有许多病原菌生命循环的重要特点: (1) 分化形成称为附着胞的特异的侵染结构。(2) 在这个过程中需要粘胶、疏水蛋白、黑色素、甘油等物质的合成与参与。(3) 附着胞具有穿透寄主表皮的功能^[1]。(4) 具有特异的信号传导途径, 调节附着胞、侵染栓等侵染结构的形态分化 (morphogenesis)。(5) 在 *M. grisea* 和其寄主之间存在基因对基因关系, 涉及到主要的真菌无毒基因和植物抗性基因^[2]。因此, 稻瘟病菌致病的分子生物学及其与水稻的互作研究业已成为丝状病原真菌分子生物学的研究模式, 其致病的分子生物学及其与水稻寄主的互作研究是解决寻找防病途径的关键。

Magnaporthe grisea 是经典遗传学的和分子遗传学的好材料, 而且是真菌-植物互作研究的模式系统^[3]。近十几年的研究获得了许多关于与侵染相关的形态分化和致病因子的遗传资源和信息, 为稻瘟病菌基因组研究打下了坚实的基础^[4]。1998 年, 世界上研究稻瘟病的几个重要的实验室成立国际稻瘟病基因组联盟, 目标是获得稻瘟病菌的全部基因组序列并在基因组学研究方面进行合作 (<http://www.riceblast.org>)。2001 年 7 月 9 日至 10 日在美国 Wisconsin-Madison 大学召开了第一界国际稻瘟病菌研讨会, 稻瘟病菌功能基因组学的研究成为热点。美国北卡大学在 Ralph Dean 教授的领导下已组建了真菌功能基因组学研究所 (<http://www.fungalgenomics.ncsu.edu>), 着手该菌的第七条染色体全序列分析, 并与得克萨斯农工大学 Dan Ebbole 博士合作开展 ESTs 文库测定和分析工作。2002 年 9 月 11 至 14 日, 在日本召开了第二界国际稻瘟病大会, 进一步推动了稻瘟病菌功能基因组学及其病原菌的致病的分子机理研究。本文对稻瘟病菌基因组学方面的研究进行综述。

1 BAC 叠连群及其序列测定

稻瘟病菌有 7 条染色体, 基因组大小约 40Mb。经过几个实验室的共同努力, 一个由 203 个分子标记绘成的高密度的遗传图谱已经完成, 总共大约为 900CM 大小^[5]。到目前为止, 全世界已经用不同的稻瘟菌株构建了三个细菌人工染色体 (BAC) 文库。2001 年已经对一个约 110kbp 的 BAC 克隆进行了测序并完成注释, 鉴定到了 26 个开放阅读框 (ORF)^[6]。研究结果显示基因密度约为 4.2kb/基因, 稻瘟病基因组约有 9000 个基因^[7]。在这个克隆中有一个 53kb 的包括 18 个 ORF 的区域与脉胞霉 *Neurospora crassa* 的基因组的一部分排列相同。在稻瘟病菌和脉胞霉中, 这些 ORF 的氨基酸序列和基因结构也非常保守。稻瘟病菌菌株 70-15 的 BAC 文库含有 9216 个 BAC 克隆^[8], 每个克隆约有 130kb 的 DNA 片断。在 Dean 的实验室, 已经有 12674 个 BAC 克隆末端测序已经完

成,通过指纹分析,由BAC叠连群组成的所有7条染色体的物理图谱已经完成,并与稻瘟病菌的遗传图谱相整合^[9]。

稻瘟病菌的7号染色体最小,约有4.2 Mb^[10]。625个7号染色体特异的BAC克隆构成了5个叠连群,覆盖了7号染色体的95%^[11]。*MAT1-2*交配型位点定位于克隆12F21,该克隆的序列测定已经完成^[12]。

2 EST 测序

稻瘟病菌 cDNA 文库的随机克隆测序研究在几个实验室中同时进行,获得了大量的基因表达序列标签(EST)。目前,在GenBank中约有3000个EST,主要来源于附着胞形成阶段的cDNA文库和在以水稻细胞壁为唯一C源的少量营养培养基(Vogel培养基)上生长的菌丝体阶段的cDNA文库。另外,通过差异杂交,筛选到在附着胞形成早期阶段(萌发2.5小时)高表达基因的减量cDNA文库。对其中的cDNA序列测定,获得了158个EST^[13]。而稻瘟病菌最大的EST数据库在美国德克萨斯州的A&M大学,目前,已有10282条EST的序列被测定,这些EST来自5个cDNA文库,文库分别由生长在少量营养培养基、完全培养基和氮缺乏培养基上的附着胞、菌丝体、分生孢子阶段分离的RNA形成的cDNA构成。所有这些EST的序列和相关信息可以登录URL:plpalinux.tamu.edu查询。通过与GenBank收录的EST分析,3800多个特异基因得到鉴定。其中59%的基因与脉胞霉的基因有很高的同源性,而只有46%的基因与酵母的基因有较高的同源性^[14]。预计在今后的2年内,将有来自代表不同细胞类型和生长条件的8个cDNA文库的23000条另外的EST完成序列测定。

英国Exeter大学Nicholas J. Talbot教授已与Manchester大学开展了稻瘟病菌和其它相关的植物病原真菌功能基因组学研究(见<http://www.ex.ac.uk/biology/talbot/>),已拥有7000多条稻瘟病菌ESTs序列。

EST的序列分析方法也用于鉴定稻瘟病菌侵染水稻叶片过程中真菌表达的基因^[15, 16]。当稻瘟病菌接种到水稻叶片后,分别在接种后的84、96、和120小时收集RNA,构建cDNA文库,对511个克隆进行了序列测定,其中72个是真菌的基因^[15]。表达量最大基因的是与脉胞霉葡萄糖抑制酶基因(glucose-repressible gene)的同源基因。在Dean的实验室,稻瘟病菌接种到水稻叶片后48小时的RNA反转录构建了cDNA文库,对其中的619个随机克隆进行了序列测定,只有20个与GenBank收录的真菌基因有同源性^[16]。由于这两个cDNA文库都是稻瘟病菌株70-15接种在水稻品种Nipponbare上构建的,真菌基因的丰度差异可能是由于接种的时间不同,病菌在水稻叶片中积累的生物量不同造成的。Raruyaree测定了通过差异杂交结果推测是真菌基因的另外的460个克隆^[16],其中40%是已知的稻瘟病菌的基因,包括*MPG1*和*PUB4*基因。最近,蛋白质组学方法也被用于研究稻瘟病菌侵染水稻叶片后表达的蛋白。不过,由于研究的目的是水稻,没有真菌基因被鉴定出来^[17]。

3 基因组测序

一般来讲,由于缺乏研究经费,植物病原真菌的整个基因组序列测定研究工作比其他真核生物真菌病原物和细菌病原物的落后。在最重要的发展是模式丝状子囊真菌脉胞霉全基因组测序基本完成(大于10倍全基因组,985个叠连群),此菌与稻瘟病菌亲缘关系较近。2001年另一个振奋的消息是美国IFAFS和国家科学基金共同支持用短枪法(shot-gun approach)测定6倍于稻瘟病菌株70-15基因组的研究项目。序列测定、序列拼接和注释将在怀特合得/马撒楚塞特基因组技术研究中心全面展开,脉胞霉全基因组测序也是在该研究中心进行的。所有的稻瘟病菌的测序和分析结果每月公布一次,全部公开。2002年7月Ralph Dean教授与美国Whitehead研究所

共同发布了稻瘟病菌全序列。叠连群的拼接和注释工作将在 MagnaportheDB (数据库) 最后完成^[4]。

由于 6 倍的序列测定可能不足以完成整个基因组的拼接, 但可以提供启动稻瘟病菌功能基因组研究所需的序列信息。由 Raph Dean 领导的 ICBG 合作组织积极寻求美国和国际其他研究基金完成整个基因组计划。在 2001 年美国国家科学基金组成了一个由 Mark Farman 领导的科研小组, 对稻瘟病菌的两个菌株 70-15 和 ML32 的着丝粒约 40kb 的区域进行分离和测序研究。通过这个项目, 将提供有关着丝粒的组成和结构的重要信息。并对稻瘟病菌整个基因组的拼接完成非常重要, 因为短枪法没有覆盖着丝粒约区域^[4]。

4 功能分析

经过世界各国科学家近十年的努力, 已经克隆和分析了包括 *MPG1*, *CPKA1*, *PTH11*, *PMK1*, *MPS1*, *MAGB*, *MAC1*, *PDE1*, *PSL1*, *TPS1* 等近 40 个参与稻瘟病菌生活史各个阶段的功能基因^[18], 并为全面开展该病菌分子生物学打下了良好的基础^[19]。根据最新研究, Balhadere 和 Talbot (2000) 总结了参与附着胞分化及其功能的三条信号途径, 即 cAMP、*MAPK* 和异源三聚体 G 蛋白介导的信号途径, 但研究尚需进一步明确^[2]。但对稻瘟病菌表面的信号受体因子 (Sensors) 是如何接受外界的信号传导至细胞内而导致 cAMP 积累等一系列反应目前尚缺乏进一步的分子依据^[20]。

在 Dean 的实验室, 由稻瘟病菌附着胞形成阶段和菌丝生长阶段的 cDNA 文库制作的包含 4582 个 cDNA 克隆的基因芯片已经用于基因表达研究。在稻瘟病菌附着胞形成阶段相关基因的表达和附着胞形成缺陷突变体的基因表达特点已经用上述的芯片进行了检测^[21]。结果显示 30 个基因对附着胞形成具有上调作用, 其中的一些, 如 *MPG1* 和 *THNR* 是稻瘟病菌已知的与附着胞形成及致病性相关的基因。29 个基因, 包括那些与葡萄糖抑制酶基因的同源基因和 3-磷酸甘油脱氢酶基因, 在营养生长阶段高表达。通过差异杂交方法, 2 个附着胞形成阶段的特异基因被鉴定出来, 它们与禾本白粉菌 (*Erysiphe graminis*) 的 *Egh16* 同源, 被 *PMK1* 基因调节。通过 Northern 杂交分析, 证明它们在附着胞形成阶段特异表达。经基因敲除验证, 它们是稻瘟病菌中新发现的毒性因子^[4]。

5 目前的研究及以后的展望

美国研究稻瘟病菌功能基因组的 Paradigm Genetics 公司在 2001 年宣布, 他们应用公司自己的测得的序列信息, 研制了包含 8000 个已经注释的基因的基因芯片, 这些芯片可以代表稻瘟病菌的主要基因信息, 将非常有助于研究基因的表达特性 (<http://www.paragene.com>)。同时, 该公司还正在 John Hamer 教授的指导下, 采用新策略快速有效地分析基因的功能。Paradigm Genetics 公司的科学家还发展了转座子重排基因敲除 (TAGKO) 技术^[22], 在稻瘟病菌的基因发现和打断方面效率很高。TAGKO 技术利用细菌转座子突变方法, 用随机插入转座子对稻瘟病菌的 cosmid 文库进行突变, 该技术在序列测定和真菌转化方面很有用处。另外, 其它的方法也适用于稻瘟病菌的大规模基因功能分析研究, 如 RNAi 基因沉默等^[23]。

美国国家科学基金会的植物基因组项目资助以 Dean 为首的研究稻瘟病菌和水稻的科学家组成研究组, 利用稻瘟病菌-水稻体系进行真菌-植物互作的基因组分析研究, 有关信息可登录网站查询 (www.cals.ncsu.edu/fungal-genomics)。在这个为期 4 年的项目中, 将产生来自代表稻瘟病不同侵染阶段的 7 个不同的 cDNA 文库的 35000 条 EST, 并将用于基因芯片的制作开发。利用这些芯片, 可以研究水稻-稻瘟病菌互作早期阶段的基因表达鉴定, 构建稻瘟病菌不同突变体在与水稻互作过程中不同发育阶段的基因表达模式。该研究组还要构建一个包含 5 万个插入突变子的突变库, 用于鉴定稻瘟病菌致病相关基因。候选基因的敲除突变子通过基因芯片和基因组分析获

得。这个项目的研究结果将合并形成一个植物-病原物的互作数据库，在本质上加深人们对真菌致病性和水稻防卫基因的相互作用过程的认识。

总的来讲，稻瘟病菌的基因组学研究还刚起步不久，但稻瘟病菌界已经展开了很好的合作，应用基因组方法，对这个重要的病原菌进行研究。随着研究的深入，该菌的分子遗传和水稻-稻瘟病菌互作研究方面必将得到重要的结果。这项研究对于还能真菌研究界提供序列信息和研究方法，应用于相应类群的比较基因组学和功能基因组学的研究领域。

参 考 文 献

- [1] Dean RA. Signal pathways and appressorium morphogenesis. *Ann. Rev. Phytopathol.*,1997, 35:211-234.
- [2] Balhadere, V. P., and Talbot, N. J. (2000). Fungal pathogenicity-establishing infection. In M. Dickson (ed.) *Molecular Plant Pathology* (Annual Plant Review, vol.4) pp1-25.
- [3] Valent B. Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology*,1990,80:33-36.
- [4] Xu J-R, Xue C. Time for a blast: genomics of *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant Pathology*,2002,3(3):173-176.
- [5] Nitta N, Farman ML, Leong SA. Genome organization of *Magnaporthe grisea*: integration of genetic maps, clustering of transposable element and identification of genome duplications and rearrangements. *Theoret. Appl. Genet.*, 1997,95:20-32.
- [6] Diaz-Perez SV, Crouch VW, Orbach MJ. Construction and characterization of a *Magnaporthe grisea* bacterial artificial chromosome library. *Fung. Genet. Bio.*,1996,20:280-288.
- [7] Hamer L, Pan H, Adachi K, et al. Regions of microsynteny in *Magnaporthe grisea* and *Neurospora crassa*. *Fung. Genet. Bio.*, 2001b, 33:137-143.
- [8] Zhu H, Choi S, Johnston A, et al. A large-insert(130kb) bacterial artificial chromosome library of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Fung. Genet. Biol.*, 1997, 21:337-347.
- [9] Martin SL, Blackmon BP, Rajagopalan R, et al. MagnaportheDB: a federated solution for integrating physical and genetic map data with BAC end derived sequences for the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Nucl. Acids Res.*,2002,30:212-124.
- [10] Zhu H, Blackmon BP, Sasinowski M, et al. Physical map and organization of chromosome 7 in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Genome Res.*,1999,9:739-750.
- [11] Mitchell TK, Martin S, Thon MR, et al. BAC by BAC sequencing of the rice pathogen fungus *Magnaporthe grisea* chromosome 7. P81. in: the Abstracts for animal & microbe genomes X, 12-16. 2002, San Diego, CA.
- [12] Chao CCT, Ellingboe AH. Selection for mating competence in *Magnaporthe grisea* pathogenic to rice. *Can. J. Bot.*, 1991, 69:130-134.
- [13] Kamakura T, Xiao J, Choi W, et al. cDNA Subtractive cloning of genes expressed during early stage of appressorium formation by *Magnaporthe grisea*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1999. 63:407-413.
- [14] Ebbole DL, Yuan J, Li D, et al. Gene discovery in the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*: Analysis of ESTs. P81 in the Abstracts for animal & microbe genomes X, 12-16. 2002, San Diego, CA.
- [15] Kim S, Ahn IP, Lee YH. Analysis of genes expressed during rice- *Magnaporthe grisea* interactions. *MPMI*,2001,14:340-346.
- [16] Rauiyaree R, Choi W, Fang E, et al. Genes expressed during early stages of rice infection with the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Mol. plant pathol.* ,2001,2:347-354.

- [17] Konishi H, Ishiguro K, Komatsu S. A proteomics approach towards understanding blast fungus infection of rice grown under different levels of nitrogen fertilization. *Proteomics*,2001,1:162-171.
- [18] Hamer JE, Talbot NJ. Infection -related development in the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Curr. Opin. Microbiol.*,1998, 1:693-697.
- [19] Foster AJ, Jenkinson JM, Talbot NJ. Trehalose synthesis and metabolism are required at different stages of plantinfection by *Magnaporthe grisea*. *EMBO J.* 2003, 22(2):225-35.
- [20] Tucker SL, Talbot NJ. Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi. *Ann.Rew.Phytopatnol.*,2001,39:385-417.
- [21] Takano Y, Choi W, Dean RA. cDNA microarray analysis to identify genes preferentially expressed during appressorium formation in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. P256 in: the Abstracts for animal & microbe genomes X, 12-16. 2002, San Diego, CA.
- [22] Hamer L, Adachi K, Montenegro-Chamorro MV, et al. Gene discovery and gene function assignment in filamentous fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001a, 98:110-115.
- [23] Sweigard JA, Ebbole DL. Functional analysis of pathogenicity genes in a genomics world. *Curr. Opin. Microbiol.*,2001,4:387-392.

植物抗病基因的基因组学研究

朱小源 杨健源 杨祁云 曾列先

(广东省农业科学院植物保护研究所, 广州天河五山 510640)

摘要: 本文就植物基因组学方法在植物抗病性研究上的应用作了部分领域的回顾。从结构基因组、比较基因组、功能基因组以及生物信息学方面, 简述了植物抗病基因近年来部分研究进展。

关键词: 基因组学 植物抗病性 抗性基因

基因组学 (Genomics) 近十年发展迅速, 特别是模式植物拟南芥和水稻, 前者属单子叶植物、后者属双子叶植物。拟南芥和水稻已分别在 2000 年和 2002 年完成了全基因组测序框架图, 部分水稻染色体如第 1、4、10 也相继完成全序列测定^[1, 2, 3, 4]。随着日益完善的高分辨率遗传图、物理图成功的构建以及染色体全序列测序的完成, 模式植物基因的定位克隆技术障碍已变得越来越少。功能基因组的启动使得人们对基因的研究从原来表型的描述进入了分子结构、产物以及生化机制的研究。基因组学研究已成为生物学研究的重要领域。

植物抗病性研究是生物学以及基因组学研究的热点领域, 本文就基因组学发展趋势及其对抗病性研究的影响拟作一简述。

1. 基因组学

基因组学最初是由 Thomas Roderick 于 1986 年提出的, 其内容是指基因组作图 (Mapping) 和测序 (Sequencing)。近年来, 人们把基因组学分为结构基因组学和功能基因组学。前者目标是构建出高分辨率的遗传图 (Genetic map) 和物理图 (Physical map), 其中物理图已包括测序; 后者主要是利用结构基因组学提供的生物材料和信息, 全基因组或全系统地理解生物的遗传体系 (Hieter, 1997)。此外, 基因组学还派生出比较基因组学、生物信息学和蛋白组学。

2. 结构基因组学与植物抗病性

2.1 全基因组测序

生物技术及计算机技术的迅速发展使得人们对庞大的生物 DNA 序列分析及数据的处理能力日益增强, 随着技术的成熟以及研究成本的降低, 生物核酸的序列分析已从模式生物扩展到其它重要生物。例如, 从水稻和拟南芥的测序到经济作物如香蕉、柑橘的测序, 从寄主到病原物如稻瘟病和黄单孢杆菌等。除少数生物的全序列分析外, 生物里富含基因家族的基因岛 (Gene-rich island) 也成为基因组测序的重要目标。其中抗病基因家族的序列分析是抗病基因研究的一个热门领域。

2.2 抗病基因结构类型

许多克隆的植物抗病基因序列分析表明, 大多抗病基因是含有核酸结合位点 (NBS) 和富含亮氨酸重复区域 (LRR) 结构的编码蛋白^[5]。NBS 可以分为两个差异显著的类群: 含有白介素-1 (TIR) 受体的和不含白介素-1 的 (non-TIR)。含有 TIR 受体的基因有: 烟草抗 TMV 的 N 基因、亚麻抗锈病 L6 基因、拟南芥抗霜霉病的 RPP5 基因; 不含 TIR 的基因有: 拟南芥抗丁香假单胞菌 RPS2

资助项目: 国家自然科学基金 (30170604), 广东省自然科学基金 (000138), 国家“863”项目 (2001AA2410111)
作者简介: 朱小源 (1965~), 男, 副研究员, 主要从事水稻抗稻瘟病研究。

和 RPM1、番茄抗细菌性叶斑病基因 Prf、水稻抗稻瘟病基因 Pita、Pib、抗白叶枯病基因 Xa21、Xa1。

2. 3 植物抗病基因数量

拟南芥和水稻基因组的测序分析使得人们对植物抗病基因的数量和组成有了进一步的认识。对一百九十万个拟南芥基因组序列分析表明, 约 14% 的基因涉及到抗病性的信号传递和编码抗微生物蛋白^[6]。对超过拟南芥基因组一半以上的六千七百万的碱基分析结果表明, 有 120 个由植物抗病基因编码的 NBS 类似产物^[7]。估计拟南芥整个基因组含有 200 个左右的 NBS 编码基因, 其中 TIR 型基因为 150 个左右, non-TIR 型基因约 50 个, NBS 类型基因约占拟南芥全基因组基因的 1%, 此外, 这些基因往往是以基因族形式出现^[7]。根据水稻基因组 5% 的 BAC 末端序列分析结果, 水稻基因组的 NBS 编码基因估计为 750-1500 个, 是拟南芥的好几倍^[7], 水稻的 NBS 均为 non-TIR 类型, 目前尚未在禾本科植物中发现 TIR 型的抗病基因^[7], 这是否预示单子叶植物抗病基因与双子叶抗病基因在序列进化的不同? 这个问题尚有待进一步的验证。

2. 4 抗病基因的序列分析

目前只有为数有限的抗病基因进行了全序列分析, 如拟南芥的 RPP5 基因 (编码 NBS-LRR 型蛋白)、番茄的 Pto (编码蛋白激酶) 和抗叶霉病基因 Cf4/9 (编码 LRR-跨膜蛋白)、莴苣的 Dm3 基因 (编码 NBS-LRR 型蛋白, 完成部分序列)。RPP5 基因族在 90 个 Kb 区域含有 8-10 个同源物^[10]。Cf4/9 由分布于 36 个 Kb 的 5 个抗性基因组成, 其同源物散步在 Lox 片段上, 这个基因对该区域的复制起到重要作用^[11]。在 Pto 族里, 由 5 个同源物分布于一个 NBS-LRR 基因 Prf 的 60Kb 区域, 该基因对 Pto 基因的两个成员的功能有直接的调控作用^[12]。莴苣的 DM3 区域是迄今为止报道的最大的抗病基因位点, 至少有 24 个抗性基因同源物分布在 3.5Mb 区域, 该区域除了与 DM3 相关的同源物, 其它序列未发现编码的功能基因^[13]。植物抗病基因及其相关区域的大小与植物基因组的大小是否存在密切关系? 尚有待今后研究。

3. 比较基因组学与植物抗病性

3. 1 抗病基因的共线性

在生物进化过程中, 真核植物的染色体重排只发生在有限的局部区域, 相关物种的基因组有明显的共线性 (Synteny)。这是单子叶植物和双子叶植物基因组研究的共同结果。随着水稻和拟南芥等植物基因组研究的深入, 人们预测一旦这些模式植物与其它种属的共线性关系得以确立, 利用模式植物基因信息可推断其它植物相关种属基因的位置。关于抗病性基因共线性的研究才开始起步。一些研究结果表明, 植物抗病基因很可能位于基因组不稳定的区域, 因此, 缺乏保守的共线性位置, 在禾本科植物里, 抗性基因候选序列的位点也未表现出良好的共线性^[14]。虽然利用水稻基因组的共线性原理, 图位克隆了大麦的抗秆锈病 Rpg1 基因, 这仅限于与抗性基因连锁的标记在水稻和大麦中存在共线性, 而 Rpg1 基因的同源物在水稻却无法找到^[16]。在茄科植物里, 抗性基因同源物虽然常在其共线性位置, 但其这些基因调控的抗性专化性并不保守。在一些种属里, 抗性基因似乎常位于染色体的着丝点或者中心粒附近, 例如, 莴苣的 2 个抗性基因、大麦的 Rpg1 基因、番茄的 Mi 基因, 如果这现象普遍存在于抗病基因家族, 那么, 这可能是抗病基因缺乏共线性的原因, 因为着丝点或中心粒附近的染色体区域是基因重组的热点区域。

3. 2 抗病基因的同源性

抗性基因间序列存在相似性, 人们利用这一特性, 设计了特异的 PCR 扩增引物来克隆不同物种的抗性基因候选序列^[7]。这些序列往往定位于已知的抗性基因位点上^[20]。通过 PCR 技术已发现超过 130 个已知抗性基因 NBS 编码同源序列^[7], 利用这个技术克隆的其它物种的抗性基因同源序列的数量还在不断增加。这一领域的研究, 将大大加快我们对已定位的抗性基因序列的鉴定与分析。

3. 3 抗病基因鉴定与分离方法

植物细菌或酵母人工染色体 (BAC、YAC) 克隆的应用。目前除了拟南芥和水稻外, 抗病基因候选序列的定位通常是经过作图群体进行。已有报道拟南芥的抗性基因直接通过 YAC 克隆跨叠群进行定位, 而无须通过作图分离群体。随着拟南芥、水稻、玉米以及大豆基因组研究的突破, 这些作物的基因定位及鉴定将变得更为迅速、精确。以往基因的定位分析, 常受到作图亲本的多态性限制, 因此, 许多基因无法研究下去, 特别是性质相近的抗病基因, 如抗性基因的专化性。而跨叠群杂交法则无须考虑多态性问题, 利用该杂交技术策略, 发展基因芯片技术, 将大大加快人们对抗性基因的鉴定及分离。

3. 4 抗性基因序列的比较与抗性基因分化

人们可以通过比较不同基因的序列差异分析抗性基因的分化。但目前还没有足够的抗性基因个体用于这方面的研究, 尽管如此, 研究基因序列的差异依然是抗性基因研究的重要技术思路, 因为, 抗性基因序列的细微改变就会导致不同的专化性抗性^[22]。目前有限的研究尚不能对抗性基因的分化作出令人满意的解释。有研究表明, 抗性基因在基因组演变中是比较保守的, 如与拟南芥抗性基因 RPM1 的连锁区域的序列分析得出这一结论^[15]; 而番茄抗性基因 Cf-4/Cf-9 和拟南芥抗性基因 RPP5 的基因簇研究结果与上述相反, 认为抗性基因进化是迅速的^[10, 11]。因此, 抗性基因分化的机制尚须大量的研究才能得出可靠的结论。大多数的抗病基因序列研究表明, 抗性基因的小种专化性与 NBS-LRR 基因的 LRR 区域有关, 但并不是唯一的^[23]。

编码 NBS-LRR 蛋白的基因在植物中普遍存在, 但人们对其功能的认识还有限, 部分研究表明, NBS-LRR 与植物抗病性信号传递和病菌无毒基因识别有关^[26], 因此, 近年来, 对植物抗病性分化以及小种专化性的研究往往重点放在 NBS-LRR 结构及功能分析上, 如抗小麦锈病基因 L、rp3、番茄抗叶霉基因 cf-2、5。随着越来越多的抗性基因克隆及分析, 人们对植物抗病性专化性将有深入的认识。

4. 功能基因组学与植物抗病性

基因表达的系列表达技术以及 DNA 序列的功能性预测大大提高我们分析基因和蛋白功能的能力。目前该技术虽然有待完善, 但从今后的发展看, 该领域的研究将成为人们十分关注的焦点, 该方面技术也会以惊人的速度发展与完善。

已有人利用基因芯片方法研究病原与寄主亲和及非亲和的基因表达。这些分析不单研究控制亲和性的基因, 而且可以帮助研究者发现其它参与防卫反应的多种基因。Baldwin 等利用含 1500 个 EST 或基因的基因芯片在小麦上鉴定了 117 个抗 *Cochliobolus caeboum* 病原的基因, 包括了诱导或超表达的基因。通过基因调控反应的分析, 人们可以发现参与调控抗性或与抗病相关的基因族群^[24]。

系列表达研究虽然可以推测某个基因的功能, 但还须进行基因对基因 (gene-by-gene) 的确证。这种确证试验是通过依据在亲和或非亲和反应中诱导的基因或蛋白的数据比较而进行的, 虽然许多蛋白在互作反应中被诱导, 但与抗性基因相关的蛋白只是少数几个^[25]。研究表型与核酸序列关系的候选抗性基因方法可以用于补充系列表达试验, 但是系列表达试验和候选抗性基因方法对基因的鉴定仍不够完整。因此, 近来又发展了高效的反向遗传学方法如活性诱导基因沉默 (VIGS)、活性超表达、基因敲除等方法。

目前植物基因的克隆大多是依据图位克隆法和转座子标签法进行的。更高效及经济的方法有待进一步开发, 如功能基因组的候选抗性基因法以及电子克隆相结合可以大大加快基因克隆的步伐, 同时可节约试验成本。

5. 生物信息学与植物抗病性

生物信息学对于结构基因组、比较基因组以及功能基因组均有重要意义,对于植物抗病性研究同样重要。生物信息学可以帮助研究者深入研究抗性基因的结构、功能,高效率地将研究结果与相关大量的研究数据进行比较,快速地预测基因的功能以及结构特点。目前在模式植物水稻和拟南芥已构建了大量的 DNA 序列数据和 EST 数据,这些数据在公立机构或私立公司网站上已向全世界公布,如美国的国家生物技术中心(NCBI)、日本的水稻基因组研究项目(IRGP)、孟山都公司、先正达公司等。

拟南芥 NBS 编码的序列数据已在美国国家基因组研究中心网站公布,数据库包括与抗性基因相关的 NBS 序列,染色体位置、功能及相关资料等。这些数据可以用于其它植物抗病基因的研究,如同源序列的比较,抗性代谢途径,信号传递及防卫反应机制等。相应的比较软件也应运而生,如 PSI-BLAST,这些工具可以使我们借助于模式植物的研究成果,研究其它植物抗性基因,这方面已用不少的研究报道,涉及到植物与植物之间以及植物与线虫、动物等,特别是植物细胞死亡途径方面。

6. 小结

我们正处于生物技术迅猛发展时代,与若干年前相比,许多技术已得到惊人的发展。如今,基因的研究已从单个基因的鉴定与调控分析转变成控制抗性的全基因组特征分析。越来越多的抗性基因将被克隆,基因的结构和功能分析将使我们深入认识植物抗病性基因的分化以及专化性,大规模的试验技术(Large-scale approach)使我们有更多机会获得更为合理的抗性基因,更为主动及预见性地控制植物病害的危害。

参考文献:

- [1] Dennis C., Surridge C. Arabidopsis thaliana genome. [J] Nature 2000, 14; 408, 791
- [2] Sasaki T., Matsumoto T., Yamamoto K., et al. The genome sequence and structure of rice chromosome 1. [J] Nature, 2002, 420:312-316
- [3] Feng Q. Zhang Y.J., Hao P., et al. Sequence and analysis of rice chromosome 4. [J] Nature, 2002, 420:316-320
- [4] The Rice Chromosome 1 Sequencing Consortium. In-Depth View of Structure, Activity, and Evolution of Rice Chromosome 10. [J] Science, 2003, 300:1566-1569.
- [5] Michelmore R.W., Meyers B.C. Clusters of resistance genes in plants Devolve by divergent selection and a birth-and-death process. [J] Genome Res, 1998, 8:1113-1130.
- [6] Bevan M., Bancroft I., Bent E., et al. Analysis of 1.9 Mb of contiguous sequence from chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana*. [J] Nature, 1998, 391:485-488.
- [7] Meyers B.C., Dickerman A.W., Michelmore R.W., et al. Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. [J] Plant Journal, 1999, 20:317-332.
- [8] Kunkel B. N. A useful weed put to work - genetic analysis of disease resistance in *Arabidopsis thaliana*. [J] Trends Genet, 1996, 12:63-69.
- [9] Holub E.B. Organization of resistance genes in *Arabidopsis*. In *The Gene-for-Gene Relationship in Host-Parasite Interactions*. Edited by Crute IR, Holub EB, Burdon J. Wallingford, UK: CAB International; 1997:5-26.
- [10] Noel L., Moores T.L., van der Biezen E.A., et al. Pronounced intraspecific haplotype divergence at the *RPP5* complex disease resistance locus of *Arabidopsis*. [J] Plant Cell 1999, 11:2099-2112.
- [11] Harrison K., Wulff B.B., Jones J.D. 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.
- [12] Salmeron J.M., Oldroyd G.E., Rommens C.M., et al. Tomato *Prf* is a member of the leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes and lies embedded within the *Pto* kinase gene cluster. [J] Cell, 1996, 86:123-133.
- [13] Meyers B.C., Chin D.B., Shen K.A. et al. The major resistance gene cluster in lettuce is highly duplicated and spans several megabases. [J] Plant Cell, 1998, 10:1817-1832.

- [14] Liester D., Kurth J., Laurie D.A., *et al.* Rapid reorganization of resistance gene homologues in cereal genomes. [J]PNAS, 1998, 95:370-375.
- [15] Stahl E.A., Dwyer G., Mauricio R. Dynamics of disease resistance polymorphism at the *Rpm1* locus of *Arabidopsis*. [J]Nature 1999, 400:667-671.
- [16] Brueggeman R., Rostoks N., Kudrna D., *et al.* The barley stem rust-resistance gene *Rpg1* is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases [J]PNAS 2002 99: 9328-9333
- [17] Leister D., Ballvora A., Salamini F., Gebhardt C. A PCR-based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. [J]Nat. Genetics 1996, 14:421-429.
- [18] Yu Y. G., Buss G.R., Maroof M.A. Isolation of a superfamily of candidate disease-resistance genes in soybean based on a conserved nucleotide-binding site. [J]PNAS, 1996, 93:11751-11756
- [19] Rivkin M.I., Vallejos C.E., McClean P.E. Disease-resistance related sequences in common bean. [J]Genome, 1999, 42:41-47
- [20] Wang Z., Taramino, G., Yang D., *et al.* Rice ESTs with disease-resistance gene- or defense-response gene-like sequence mapped to regions containing major resistance genes or QTLs. [J]Mol Genet Genomics, 2001 265:302-310
- [21] Mozo T., Dewar K., Dunn P., *et al.* A complete BAC-based physical map of the *Arabidopsis thaliana* genome. [J]Nat Genet 1999, 22:271-275
- [22] Caicedo A.L., Schaal B.A., Kunkel B.N. Diversity and molecular evolution of the *RPS2* resistance gene in *Arabidopsis thaliana*. [J]PNAS, 1999, 96:302-306
- [23] Ellis J.G., Lawrence G.J., Luck J.E., Dodds P. N. Identification of regions in alleles of the flax rust resistance gene *L* that determine differences in gene-for-gene specificity. [J]Plant Cell, 1999, 11:495-506
- [24] Rushton P.J., Somssich I.E. Transcriptional control of plant genes responsive to pathogens. [J]Curr Opin Plant Biol, 1998, 1:311-315.
- [25] Kitajima S., Sato F. Plant pathogenesis-related proteins: molecular mechanisms of gene expression and protein function. [M]J Biochem (Tokyo) 1999, 125:1-8.
- [26] Baker B., Zambryski P., Staskawicz B., Dinesh-Kumar S.P. Signaling in plant-microbe interactions. [J]Science 1997, 276:726-733.

四川省水稻抗稻瘟病育种现状及发展方向*

黄 富 程开禄 罗庆明 潘学贤 刘兴义

(四川省农业科学院水稻高粱研究所, 泸州 646100)

摘要 稻瘟病是四川省水稻的主要病害, 实践证明, 选育种植抗病品种是控制该病害的最经济有效的措施。1981 年开始, 植病工作者与遗传育种者经过 20 年的协作攻关, 研究制定了一套适合四川生态特点的有关病菌生理小种、水稻品种抗瘟性鉴定的规范化技术和评价体系, 探明稻瘟病菌致病性变异和水稻品种抗瘟性丧失规律, 筛选出 200 多份稻瘟病抗源材料, 育成穗颈瘟 1~5 级的抗病品种(组合)27 个, 累计推广面积达 2750 万 hm^2 , 有效地控制了稻瘟病的流行。在此基础上, 提出今后重点研究领域和抗病育种策略。

关键词 水稻, 稻瘟病, 抗病育种

稻瘟病是四川省水稻的主要病害之一, 其发生范围广, 流行速度快, 药剂难以防治。实践证明, 选育种植抗病品种是控制该病害的最经济有效的措施。“六五”以来, 组织了多学科、多部门协作攻关, 对稻瘟病的防治采取了以利用抗病品种为核心, 配以农业措施和适当的化学农药的综合防治措施, 有效地控制了稻瘟病的流行危害, 确保了水稻持续高产稳产。

1 水稻抗稻瘟病育种现状

1.1 抗性鉴定 在川西和川南两个生态区设立病圃对各育种攻关单位的育种新材料、新品系、省区试新品种进行抗稻瘟病性鉴定、筛选、评价, 并以此作为品种审定的重要指标之一。通过吸收国内外的研究成果和多年探索, 研究制定了一套适合四川生态特点的有关稻瘟病菌生理小种鉴定、重要品种(组合)抗谱测定、人工接种苗叶瘟鉴定、病圃田自然诱发叶、颈瘟鉴定的规范化技术和评价体系^[1]。抓住菌源代表性和及时对诱发品种辅以人工接种这两个技术关键, 确保病圃田发病均匀充分。

1.2 抗源筛选及利用 采用滚动式多年连续鉴定筛选方法, 广泛收集国内外种质资源进行系统鉴定评价, 筛选出 200 余份稻瘟病抗源提供给各水稻育种攻关单位利用。其中, 仅本所利用抗源科 17、红 410、窄叶青 8 号、温抗 3 号、IRBN127 等分别育成泸科 3 号、泸红早 1 号、泸早 872、K17A 和多恢 57, 累计推广面积 650 万 hm^2 。

1.3 稻瘟病菌生理小种监测 1979 年开始, 利用全国统一的 7 个鉴别品种对四川东南部稻区稻瘟病菌生理小种进行了系统的监测, 结果表明, 1979~1983 年, 以 ZG 群为优势种群, 出现频率为 67.7%。1984 年, ZB 群小种上升为优势小种, 出现频率为 44.6%, ZG 群下降到 9.2%, 导致汕优 2 号丧失抗瘟性^[2]。1985~2000 年, 尽管年度间优势小种有较大差异, 但都以 ZB 群为优势种群, 出现频率为 55.5%~75.8%。

1.4 抗稻瘟病育种取得重大进展 通过多系育种育成了抗病恢复系多恢一号、泸恢 615 等, 组

*四川省育种攻关项目(96-11001-7-2)和四川省青年科技基金项目资助。

配出以汕优多系一号、冈优 615 为代表的一批高产抗病组合。通过多亲本复合交育成高配合力恢复系 CDR22 等, 组配出冈优 22 等新组合, 及时更换了已丧失抗病性的主栽品种汕优 63、D 优 63。据初步统计, 1993~1998 年全省育成、审定的水稻品种共计 60 个, 其中, 中粳迟熟杂交稻组合 35 个, 中粳早、中熟杂交稻组合 18 个, 常规糯稻 3 个, 常规粳稻 4 个, 经 3 个区试抗瘟性鉴定单位连续 2 年鉴定穗颈瘟 1~5 级的品种(组合)27 个, 5~7 级的品种(组合)17 个。满足了不同生态区推广种植, 累计推广面积达 2750 万 hm^2 , 有效地控制了稻瘟病的流行。

2 水稻抗稻瘟病育种发展方向

2.1 改进稻瘟病菌致病性变异监测

稻瘟病菌属于比较易变的真菌, 其致病性变异是导致水稻品种抗瘟性丧失的主要原因。稻瘟病菌致病性变异监测是抗病育种和抗病品种合理利用的重要基础工作, 掌握稻瘟病菌致病性变异动态, 可为制订抗病育种策略和指导抗病品种合理布局以及病害测报和防治提供理论依据。

1987~1996 年共测到“63 菌系”(对汕优 63 致病的菌株统称“63”菌系)菌株 522 个, 其中 ZB 群出现频率 71.8%, ZA 和 ZC 群分别为 11.7%和 10.9%。可见, 无法用现行全国统一的 7 个鉴别品种鉴定的生理小种组成变异来合理解释汕优 63 抗瘟性丧失原因。然而, 针对汕优 63 而言, 稻瘟病菌的致病性确实发生了变异, “63 菌系”从 1987 年的 7.5%上升到了 1998 年的 93.5%, 最终导致汕优 63 丧失抗瘟性^[3]。经过多年实践探索, 提出了增加主栽品种和主推抗病品种作为稻瘟病菌致病性变异监测的辅助鉴别品种, 将致病性变异监测直接与生产实际结合起来, 为主栽品种抗瘟性丧失预测提供科学依据。辅助鉴别品种是开放式的, 根据生产实际可作适当调整, 目前选择的 7 个辅助鉴别品种是: 冈优 22、II 优 838、汕优多 1、II 优 802、汕优 149、II 优多 57 和汕优 63。

2.2 开展主栽品种抗瘟性丧失预测

实践证明, 新品种的推广应用, 特别是抗病品种的单一化种植, 使田间的病菌类型对新品种的寄生适合度不同, 寄生适合度强的病菌上升成为新的优势小种, 导致新品种在推广种植 3~5 年后丧失抗性, 引起稻瘟病的暴发和流行^[4,5]。因此, 必须对主栽品种抗瘟性丧失进行预测, 以便采取主动措施控制稻瘟病的流行。通过长期的实践探索, 形成了以病圃田系统监测主栽品种抗瘟性变化趋势和监测病菌潜在致病小种上升动态相结合的监测体系, 成功地对汕优 63、冈优 22 等主栽品种抗瘟性丧失进行了准确的预测^[6,7]。

作好抗病品种的合理布局, 避免单一化种植, 防止在病菌—寄主群体互作中形成定向选择, 以保持自然界病菌群体的相对稳定, 从而延长抗性品种的使用寿命。据 1998 年初步统计, 全省种植杂交稻品种 38 个, 种植面积在 10000 hm^2 以上的品种 19 个, 其中, 冈优 22 占杂交稻种植面积的 40.9%, II 优 838 占 12.9%, 汕优多 1 占 5.4%、II 优 802 占 4.8%。1998 年抗瘟性监测结果表明, 上述 4 个主栽品种的叶瘟分别为 7、5、5、5 级, 颈瘟分别为 7、7、5、7 级, 已出现感病化趋势, 应及时调整品种布局^[7]。朱有勇等根据生物多样性理论提出了水稻抗感品种间作技术, 有效地控制了稻瘟病的流行^[8]。近年来, 四川南部稻区推广了杂交稻中间作高秆糯稻(高感稻瘟病品种), 显著地降低了糯稻上稻瘟病的发生危害程度。有关抗病品种合理布局的具体措施还有待进一步深入研究。