

DOI: 10.13376/j.cbls/2016157

文章编号: 1004-0374(2016)10-1189-11



王石平, 博士, 现任华中农业大学生命科学技术学院教授。主要研究内容和方向包括: (1) 分离克隆调控水稻质量抗性和数量抗性的优良基因; (2) 探索水稻抗病信号转导途径和抗病分子机理。发表相关研究论文 80 余篇, 并获得国家自然科学基金二等奖和湖北省自然科学一等奖各 1 项。

## 水稻抗病功能基因组研究进展

张海涛, 王石平\*

(华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070)

**摘要:** 作物抗病机制研究对抗性改良有重要的理论和实践意义。水稻是世界上主要粮食作物之一。目前, 越来越多的水稻主效抗病基因和抗病相关基因被克隆。对于这些基因的研究可以提高人们对水稻-病原菌互作的认识, 并有利于发掘水稻中新的抗性基因。现主要对近年来在水稻抗病研究中取得的成果进行概述和展望。

**关键词:** 水稻; 病原菌; 主效抗病基因; 抗病相关基因

**中图分类号:** Q812; S432.23; S511 **文献标志码:** A

## Progress in functional genomic studies of rice disease resistance

ZHANG Hai-Tao, WANG Shi-Ping\*

(National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Studies of disease resistance mechanisms of plants will facilitate crop improvement. Rice is a major food crop globally. Presently, many major disease resistance genes and disease resistance-related genes have been isolated in rice. Studies of these genes have improved our understanding of rice-pathogen interactions, and are helpful in detecting novel genes involved in rice resistance. This review summarizes recent progress and prospects in rice disease resistance.

**Key words:** rice; pathogen; major disease resistance gene; disease resistance-related gene

水稻是我国以及其他亚洲国家重要的粮食作物之一。即使在越来越科学的管理下, 水稻在大田生产过程中仍避免不了病害的威胁。病害对水稻的产量和品质产生重要的影响, 同时也造成了环境污染。

水稻常见的病害主要有稻瘟病、纹枯病和白叶枯病。另外, 危害比较严重的还有稻曲病、细菌性条斑病(细条病)、条纹叶枯病和黑条矮缩病等。

其中, 稻瘟病、纹枯病和稻曲病的病原是真菌; 白

收稿日期: 2016-07-13

基金项目: 国家重点研发计划“水稻功能基因组研究与应用”项目(2016YFD0100900); 国家自然科学基金面上项目(31272032)

\*通信作者: E-mail: swang@mail.hzau.edu.cn

叶枯病和细条病的病原是细菌；条纹叶枯病和黑条矮缩病的病原是以灰飞虱等昆虫为媒介的病毒。目前对于水稻抗病机理研究得较为清楚的是白叶枯病和稻瘟病。

植物对病原的抗性可以分为两个方面——质量抗性和数量抗性。质量抗性一般由单个主效抗病基因 (major disease resistance gene, *MR* 基因) 提供, 抗性水平高、反应强烈<sup>[1]</sup>；而数量抗性一般由多个基因或者数量性状位点 (quantitative trait loci, *QTL*) 控制, 抗性水平较低<sup>[2]</sup>。此外, 参与质量抗性的主效抗病基因多与植物与病原菌的识别和互作相关, 所以, 其抗谱具有病原菌种属特异性或者生理小种特异性；而参与数量抗性的基因, 通常称为抗病相关基因, 可能位于植物与病原菌互作信号转导路径的下游, 所以, 其抗谱大多没有病原菌种属或者生理小种特异性<sup>[2]</sup>。

人们对植物与病原菌互作的认知在不断加深, 并提出了植物先天免疫系统模型。该模型将植物先天免疫系统分为两部分：病原相关分子模体 (pathogen-associated molecular pattern, *PAMP*) 诱导的免疫反应 (*PAMP*-triggered immunity, *PTI*) 和效应子诱导的免疫反应 (effector-triggered immunity, *ETI*)<sup>[3]</sup>。病原相关分子模体是广泛存在于病原菌中且相对较为保守的分子。模体诱导的免疫反应就是植物通过细胞膜上的受体蛋白对其进行识别而产生的免疫反应。效应子是病原菌产生的特异性分子, 多数参与其致病过程。效应子诱导的免疫反应, 通常是指植物中一类编码 *NBS-LRR* (nucleotide binding site-leucine-rich repeat) 蛋白的抗病基因 (disease resistance gene, *R* 基因) 识别对应的效应子进而产生的免疫反应。进一步研究发现, 植物先天免疫系统模型也有其局限性；模体诱导的免疫反应和效应子诱导的免疫反应两者之间也会有交叉<sup>[1,4]</sup>。

水稻的抗病研究和改良一直是育种工作的重要内容。水稻抗病基因的挖掘和研究在近 20 年进展迅速, 大量的水稻主效抗病基因和相关基因被报道。同时, 这些研究结果也表明, 水稻抗病机理除了符合常见的植物抗病反应特征外, 也呈现出很多独特的性质, 尤其在水稻抗白叶枯病方面<sup>[1]</sup>。

## 1 抗白叶枯病主效基因

水稻白叶枯病由黄单胞杆菌水稻变种 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*) 引起, 也称为白叶枯菌。该病原菌属于革兰氏阴性细菌, 有鞭毛, 易通

过水稻的水孔和伤口侵入<sup>[5]</sup>。由于白叶枯菌有地域性, 目前研究使用的水稻白叶枯菌有很多生理小种, 最常见的是由国际水稻研究所分离鉴定的菲律宾小种系列。另外, 也有使用日本小种、韩国小种和中国小种。

目前, 水稻中已经报道鉴定的白叶枯病主效抗病基因至少有 40 个<sup>[6-7]</sup>。已经成功分离克隆的主效抗病基因有 10 个, 包括 *Xa1*、*Xa3/Xa26*、*xa5*、*Xa10*、*xa13*、*Xa21*、*Xa23*、*xa25*、*Xa27* 和 *xa41(t)*<sup>[6-17]</sup>。其中, 有 4 个是隐性主效抗病基因。另外, 从已克隆的白叶枯病主效抗病基因编码产物来看, 种类丰富多样, 其抗病机理也各有不同。这一点和常见的其他植物主效抗病基因大多数编码 *NBS-LRR* 蛋白不同。此外, 这些克隆的主效抗病基因中, 至少有 6 个基因发挥功能与白叶枯菌的类转录激活子效应子 (transcription activator-like effector, *TALE*) 互作有关。

类转录激活子存在于黄单胞杆菌 (*Xanthomonas*) 和青枯劳尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*) 中。在病原菌感染过程中, *TALE* 可以通过细菌的 III 型分泌系统 (type III secretion system, *T3S* system) 被注入宿主植物细胞内, 并随后结合在宿主基因组相应靶基因的启动子上, 从而激活靶基因表达<sup>[18]</sup>。*TALE* 是一类结构上极为相似的效应子, 在不同的白叶枯菌生理小种中的种类和数目不同。其蛋白质结构的中间部分, 是由几乎完全相同的单元组成的重复区, 重复单元数从 1.5 到 33.5 不等, 每个重复单元仅在第 12 位和第 13 位氨基酸残基有变化<sup>[19]</sup>。这种重复区已经被证实是类转录激活子与植物 DNA 结合的重要结构, 而每个重复单元的第 12 和 13 位氨基酸残基被称为重复区可变双残基 (repeat-variable diresidue, *RVD*), 与 DNA 链上的一个碱基相对应<sup>[20-22]</sup>。受调控的靶基因启动子上被类转录激活子识别的序列被称为 *UPT* (up-regulated by *TALE*) 盒或 *EBE* (effector-binding element) 元件<sup>[23-24]</sup>。在水稻中, *TALE* 对宿主基因的调控过程还利用了水稻细胞的 *TFIIA $\gamma$ 5*, 该蛋白是 RNA 聚合酶 II 对应基本转录因子的  $\gamma$  亚基。同时, 不光是白叶枯菌中的 *TALE* 可以与 *TFIIA $\gamma$ 5* 结合, 同属黄单胞杆菌的细条病菌中的 *TALE* 也能与其结合<sup>[25]</sup>。

### 1.1 受 *TALE* 诱导的显性主效抗病基因

*Xa27* 是受白叶枯菌 *TALE* *AvrXa27* 诱导表达的主效抗病基因。该基因和它的等位隐性基因编码相同的蛋白质, 两者的区别在于显性 *Xa27* 启动子中含有 *AvrXa27* 结合的位点 *UPT<sub>AvrXa27</sub>*<sup>[26]</sup>。受诱导后,

翻译出来的XA27蛋白可以被转运到胞外, 可能参与水稻维管束细胞次生细胞壁的加厚, 使水稻抗白叶枯病<sup>[11]</sup>。

*Xa10* 是受白叶枯菌 TALE AvrXa10 诱导表达的显性主效抗病基因, 显性 *Xa10* 启动子区含有 AvrXa10 的结合位点  $UPT_{AvrXa10}$ 。XA10 是内质网膜蛋白, 可以形成六聚体, 它与维持细胞  $Ca^{2+}$  离子的平衡有关<sup>[17]</sup>。

*Xa23* 是受白叶枯菌 TALE AvrXa23 诱导表达的显性主效抗病基因。和 *Xa27* 一样, *Xa23* 和它的等位隐性基因编码相同的蛋白质, 只是 *Xa23* 基因的启动子区含有 AvrXa23 结合的位点  $UPT_{AvrXa23}$ 。*Xa23* 的抗谱极广, 这是由于 AvrXa23 在几乎所有的白叶枯菌株中都存在<sup>[7,27]</sup>。

*Xa27*、*Xa10* 和 *Xa23* 都编码很小的蛋白质, 并且与已知蛋白没有相似性。尽管 *Xa23* 编码的蛋白质长度和 *Xa27* 一样, 但是两者并没有同源性。而 *Xa23* 编码蛋白质的序列和 *Xa10* 却有同源性, 尽管两个基因的 DNA 序列同源性并不高<sup>[7]</sup>。

## 1.2 TALE结合位点发生变异的隐性主效抗病基因

水稻隐性抗白叶枯病基因 *xal3* 介导对白叶枯菌株 PXO99 的特异性抗性。研究发现, 该基因显性等位基因 *Xa13* 的启动子中含有 TALE PthXo1 的结合位点  $UPT_{PthXo1}$ , 从而导致在 PXO99 侵染过程中 *Xa13* 被诱导表达<sup>[23]</sup>。而隐性抗病基因 *xal3* 启动子中, 该结合位点发生变异, 导致不能被 PthXo1 识别, 因此, *xal3* 不会被诱导表达<sup>[13,23,28]</sup>。*Xa13* 和 *xal3* 基因都编码属于 MtN3/saliva 家族的蛋白。XA13 蛋白位于细胞膜上, 可以与膜上的铜转运类蛋白 COPT1 和 COPT5 互作, 帮助铜从细胞间隙进入细胞中, 从而促进铜从木质部导管 - 细胞间隙 - 细胞内的流向<sup>[29]</sup>。铜是植物所必需微量元素, 并且对白叶枯菌的生长有抑制作用, 而 PXO99 对铜比其他菌株更为敏感。植物从土壤吸收的铜离子由根和茎中的导管运到其他部位, 白叶枯菌也恰巧通过导管进行繁殖和传播。所以, PXO99 通过调控宿主水稻的基因表达影响铜离子的再分配, 从而利于自身侵染和繁殖<sup>[29]</sup>。隐性 *xal3* 由于不受诱导, 导管中的铜含量不利于 PXO99 的生长, 所以表现出抗病<sup>[29]</sup>。

隐性抗病基因 *xa25* 介导对白叶枯菌株 PXO339 的特异性抗性。和 *Xa13* 类似, 显性基因 *Xa25* 的启动子中含有 TALE PthXo2 的结合位点  $UPT_{PthXo2}$ , 可被诱导表达。而隐形基因 *xa25* 的启动子中, 该结合位点存在一处突变, 因此不能被 PthXo2 识别,

也就不会被诱导表达<sup>[16,30]</sup>。*Xa25* 和 *xa25* 基因同样也编码 MtN3/saliva 家族蛋白, 其具体抗病机制暂不明确。

与 *xal3* 和 *xa25* 类似, 隐性抗病基因 *xa41(t)* 和其等位显性基因 *Os11N3* 同样也编码 MtN3/saliva 家族蛋白。*Os11N3* 启动子中含有 AvrXa7、PthXo3、TalC 或者 Tal5 4 种 TALE 的结合位点, 并可以受其诱导表达<sup>[24,31-32]</sup>。隐性基因 *xa41(t)* 是通过种质资源筛选, 在非洲栽培稻中发现的。隐性基因 *xa41(t)* 启动子中对应的 AvrXa7 和 Tal5 识别位点发生了缺失突变, 可以对含这两种 TALE 的白叶枯菌产生抗性<sup>[6]</sup>。

MtN3/saliva 蛋白普遍存在于真核生物中, 最初在大豆根瘤和果蝇中发现<sup>[1]</sup>。这类蛋白具有多次跨膜结构, 位于细胞膜上。此类蛋白来源于动物和植物的多个成员, 可以作为糖类的转运子发挥功能, 所以也被称为 SWEET 蛋白<sup>[33-34]</sup>。同时, 由于显性 *Xa13*、*Xa25* 和 *Os11N3* 具有受特异 TALE 诱导表达的现象, 而其启动子突变后的隐性基因才具有抗病功能, 所以 *Xa13*、*Xa25* 和 *Os11N3* 又被称为感病基因 (susceptibility gene, S 基因)。其中, *Xa13* 也被称为 *Os8N3* 或者 *OsSWEET11*, *Xa25* 也叫做 *OsSWEET13*, 而 *Os11N3* 也叫 *OsSWEET14*<sup>[28,30,32,34-35]</sup>。

## 1.3 一个独特的隐性抗病基因

水稻隐性抗白叶枯病基因 *xa5* 编码突变的 TFIIA $\gamma$ 5<sup>V39E</sup>。和其显性基因 *TFIIA $\gamma$ 5/Xa5* 相比, *xa5* 编码的蛋白仅含有一处氨基酸突变<sup>[10,14]</sup>。实验表明, TFIIA $\gamma$ 5/XA5 蛋白参与了 TALE 调控水稻基因表达的过程, 而 *xa5* 编码的 TFIIA $\gamma$ 5<sup>V39E</sup>/*xa5* 阻碍了其与其与 TALE 的结合, 从而影响了白叶枯菌的侵染, 使水稻抗病<sup>[25,36]</sup>。这种关系在 *Xa27* 或 *Xa23* 和 *xa5* 的聚合实验中得到证实。将 *Xa27* 或 *Xa23* 和 *xa5* 聚合后, *Xa27* 或 *Xa23* 不能受到 TALE AvrXa27 或 AvrXa23 诱导表达, 也不能再提供相应的抗性<sup>[25,37]</sup>。另外, 实验表明, 细条病菌中的 TALE 也可以与 TFIIA $\gamma$ 5/XA5 结合, 而携带 *xa5* 的水稻品种也会对细条病菌产生抗性<sup>[25]</sup>。

## 1.4 编码NBS-LRR蛋白的主效抗病基因

*Xa1* 是已克隆的白叶枯病主效抗病基因中唯一编码 NBS-LRR 蛋白的。该基因是显性抗病基因, 特异性介导对白叶枯菌日本小种 1 的抗性, 且其表达量受白叶枯菌侵染和创伤的诱导<sup>[9]</sup>。根据 *Xa1* 编码蛋白的类型和植物先天免疫系统模型, 该基因可能调控效应子诱导的免疫反应, 但是目前没有相关后续研究报道。

### 1.5 编码受体激酶类细胞膜蛋白的主效抗病基因

*Xa21* 是水稻中最早被克隆的抗白叶枯病主效基因，可以介导对多种生理小种的抗性，编码富亮氨酸重复受体激酶 (leucine-rich repeat receptor kinase) 类蛋白<sup>[8]</sup>。*XA21* 蛋白识别白叶枯菌中的 RaxX 蛋白，并且只识别 41 位酪氨酸残基经硫修饰后的蛋白<sup>[38]</sup>。而 *raxX* 基因在含有 *raxSTAB* 操纵子的白叶枯菌中非常保守。从编码产物的结构上看，*Xa21* 和拟南芥中启动模体诱导的免疫反应的基因 (拟南芥 *FLS2*) 属于同类，都是位于细胞膜的受体激酶<sup>[39]</sup>。所以，*Xa21* 也被归纳为启动模体诱导的免疫反应的基因。目前，许多 *XA21* 结合 (*XA21 binding*, XB) 蛋白已经被报道。其中 XB24/ATPase 可以促进 *XA21* 自磷酸化，使其稳定在非活化状态<sup>[40]</sup>。XB3 属于 E3 泛素连接酶，是 *XA21* 激酶的底物，也是 *Xa21* 介导抗性所必需的<sup>[41]</sup>。XB15 是磷酸酯酶，可以负调控 *XA21* 的活性<sup>[42]</sup>。而 XB10 是转录因子 WRKY62，可以与 *XA21* 的激酶在细胞核内互作，从而调节下游基因的表达<sup>[43]</sup>。

*Xa3/Xa26* 在中国水稻品种中被广泛应用，介导对许多白叶枯菌生理小种的抗性，但其抗谱与 *Xa21* 不同。该基因也编码富亮氨酸重复受体激酶类蛋白<sup>[12,44]</sup>。*Xa3/Xa26* 发挥功能时存在剂量效应，并会受到遗传背景的影响<sup>[45]</sup>。*Xa3/Xa26* 具有持久抗性，推测其可能识别白叶枯菌中较为保守稳定的成分<sup>[46]</sup>。而 *Xa21* 与 *Xa3/Xa26* 结构域互换后的抗病结果也表明，两者在下游的防御反应中可能有交叉<sup>[47]</sup>。一些 *Xa3/Xa26* 的下游蛋白也被鉴定出来，包括正向调控抗病反应的 OsDR8、转录因子 WRKY13 和 WRKY45-2、C3H12 以及负向调控抗病反应的 OsDR10<sup>[1]</sup>。这些蛋白不仅参与抗白叶枯病的反应，有些还参与对其他病原菌的抗性反应，这些结果暗示 *Xa3/Xa26* 的下游反应和其他病原菌的抗性反应有重叠<sup>[1]</sup>。

## 2 抗稻瘟病主效基因

稻瘟病是水稻生产中常见且危害严重的一种真菌病害，其病原菌是半知菌亚门梨孢属的灰梨孢 (*Magnaporthe grisea*)。不过研究发现这种病原菌实际上包含不能相互杂交的 2 个种，以水稻为宿主的病原菌后来改称为 *Magnaporthe oryzae*，而原名用于指以马唐属等为宿主的病原菌<sup>[48]</sup>。不过，目前这两种英文名在各类文献中指稻瘟菌的时候都有使用，并不统一。稻瘟病在水稻的整个生育期都可能发病，根据危害的时期和部位等可以分为苗瘟、叶

瘟、节瘟、穗颈瘟和谷粒瘟等，其中穗颈瘟对产量的影响极大。

目前，关于水稻抗稻瘟病主效基因的定位早已超过 100 个，而报道克隆的有 24 个<sup>[49-51]</sup>。与已克隆的抗白叶枯病基因相比，这 24 个基因的多样性并不丰富，其中 22 个基因编码 NBS-LRR 蛋白，一个编码 B-凝集素受体激酶，另一个编码含脯氨酸蛋白。不过，即使编码同一类蛋白，这些基因仍表现出很多不同的特性。

### 2.1 *Pik*、*Pikm*、*Pik-p*、*Pil*和*Pike*是由双基因控制的复等位基因

*Pik*、*Pikm* 和 *Pik-p* 最初是被当做单基因定位的，且定位结果显示三者都位于第 11 染色体上相同位置，推测可能是等位基因<sup>[52]</sup>。*Pikm* 来源于水稻品种 Tusyuake，其基因组在此定位区间共含有 2 个相邻的编码 NBS-LRR 的基因，为 *Pikm1-TS* 和 *Pikm2-TS*。互补实验显示，这两个基因中的任何一个单独转入感病品种都不能使其抗病。只有当 2 个基因同时转入感病品种，才能使其抗稻瘟病，而且抗谱和 *Pikm* 相符<sup>[53]</sup>。这 2 个基因虽然都编码 NBS-LRR，但是它们并不具有同源性，在长度和结构等方面也不相同。其中，*Pikm1-TS* 会受到病原菌诱导表达，而 *Pikm2-TS* 不会<sup>[53]</sup>。*Pikm* 的克隆是首次发现两个不同的 NBS-LRR 共同调控一种特异性的病原菌抗性。

*Pik-p* 存在于水稻品种 K60，定位区间与 *Pikm* 相似。功能互补实验显示，其抗性也是由同样编码 NBS-LRR 的 *Pikp-1* 和 *Pikp-2* 基因共同控制。抗性品种中抑制其中任何一个基因的表达，都会使抗性减弱；而单独将其任何一个转入感病品种也不能提高抗性<sup>[54]</sup>。序列分析也表明，这两个基因分别与控制 *Pikm* 抗性的两个基因等位并同源，*Pikp-1* 和 *Pikp-2* 之间也没有同源性<sup>[54]</sup>。

同样的情况也在 *Pik*、*Pil* 和 *Pike* 的克隆中出现。*Pik* 存在于水稻品种 Kusabue，由两个编码 NBS-LRR 的 *Pik-1* 和 *Pik-2* 同时控制<sup>[55]</sup>。*Pil* 存在于品种 C101LAC，由编码 NBS-LRR 的 *Pil-5C* 和 *Pil-6C* 共同控制<sup>[56]</sup>。*Pike* 存在于水稻品种湘早 143，由编码 NBS-LRR 的 *Pike-1* 和 *Pike-2* 一同控制<sup>[51]</sup>。序列分析也表明，这些基因都分别与控制 *Pikm* 抗性的两个基因等位且高度同源，而控制同一抗性的两个基因之间没有同源性。

*Pik*、*Pikm*、*Pik-p*、*Pil* 和 *Pike* 的克隆表明，这些抗谱特异的基因是典型的复等位基因。而这几个基因的抗性都是由两个并不相同的 NBS-LRR 共

同控制的, 这在其他抗病基因的研究中并不常见。而这几个基因的克隆也为研究 NBS-LRR 蛋白抗病的分子机制提供了线索。

## 2.2 *Pi5*和*Pia*也由双基因控制

*Pi5* 的抗性由编码 CC-NBS-LRR (coiled-coil NBS-LRR) 的 *Pi5-1* 和 *Pi5-2* 共同控制。不过, 这两个基因结构较为相似, 位置相近, 并且都有独特的羧基端序列<sup>[57]</sup>。

*Pia* 的抗性由编码 CC-NBS-LRR 的 *SasRGA4* 和编码 NBS-LRR 的 *SasRGA5* 共同控制。*SasRGA5* 没有 CC 结构, 其 C 端有一段序列与重金属相关蛋白相似<sup>[58]</sup>。研究也表明, *SasRGA4* 和 *SasRGA5* 共同识别稻瘟病菌效应子 (也称为无毒蛋白) *AvrPia* 引起水稻超敏反应, 从而产生抗性<sup>[58]</sup>。

## 2.3 *Pi2*和*Piz-t*是等位基因, *Pi9*是*Pi2*和*Piz-t*的旁系同源基因(paralog)

*Pi2*、*Pi9* 和 *Piz-t* 都是定位在第 6 染色体上同一位置的抗病基因。该位点是由多个编码 NBS-LRR 蛋白的基因组成的基因簇, 不同的水稻品种中含有的基因数目有所不同, 也被称为 *Pi2/9* 位点。其中, *Pi2* 和 *Piz-t* 互为等位基因, 都是由基因簇中的 *Nbs4* 控制<sup>[59]</sup>。而 *Pi9* 是由基因簇中的 *Nbs2* 控制, 是 *Pi2* 和 *Piz-t* 的旁系同源基因<sup>[60-61]</sup>。这 3 个基因的抗谱都比较广, 且不完全相同。这个位点的基因成员间有不同程度的同源性, 是进行抗病基因进化研究的理想实例<sup>[61]</sup>。

## 2.4 *Pid3*和*Pi25*也是等位基因

*Pid3* 位于第 6 染色体上, 编码 NBS-LRR 蛋白。有意思的是, 在绝大多数粳稻品种中, 该基因含有无义突变, 造成蛋白质翻译的提前终止。而在籼稻、非洲栽培稻和一些 AA 基因组的野生稻中, 该基因可以完整翻译, 从而提供抗性<sup>[62]</sup>。

*Pi25* 是从谷梅 2 中发掘的 *Pid3* 等位基因。不过, 和 *Pid3* 相比, 其编码区只有一个核苷酸不同, 且不改变编码的氨基酸残基<sup>[63]</sup>。

## 2.5 *Pi37*、*Pi64*和*Pish*位于同一个基因簇

*Pi37* 来源于水稻品种 St.No.1, 位于第 1 染色体上一个基因簇中。该基因簇共包含 4 个编码 NBS-LRR 的基因, 其中的第 3 个就是 *Pi37*。抗感品种的序列分析说明, *Pi37* 显隐性基因编码产物的差别在于 NBS 区的 2 处氨基酸残基变异。而关于此基因簇的研究也发现, 这 4 个基因之间存在复制关系<sup>[64]</sup>。

*Pish* 是通过接种含有 *avrPish* 的稻瘟病菌株,

对日本晴 Tos17 突变体进行筛选定位出来的。*Pish* 和 *Pi37* 位于同一个基因簇, *Pish* 是其中第 4 个编码 NBS-LRR 的成员<sup>[65]</sup>。

*Pi64* 来源于品种羊毛谷。*Pi64* 与 *Pish* 和 *Pi37* 位于同一个基因簇, 不过在羊毛谷中, 这个区域只有 2 个成员。*Pi64* 是其中的 *NBS-2*, 与 *Pish* 或 *Pi37* 基因簇中的第 2 个成员是等位基因, 其编码产物属于 CC-NBS-LRR 类<sup>[49]</sup>。

## 2.6 其他编码NBS-LRR的抗稻瘟病主效基因

*Pb1*、*Pib*、*Pit*、*Pita*、*Pi36*、*Pi54* 和 *Pi63* 单个基因都能够抗稻瘟病。*Pib* 是第一个被克隆的抗稻瘟病主效基因, 编码 NBS-LRR 蛋白<sup>[66]</sup>。*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, 其隐性等位基因编码产物仅在 LRR 区含有一处氨基酸残基变异。此外, *Pita* 蛋白的 LRR 结构域由长度差别很大的非典型亮氨酸重复组成<sup>[67]</sup>。*Pi36* 来源于水稻品种 Kasalath, 编码 CC-NBS-LRR。*Pi36* 与其隐性等位基因之间的差别也是由 LRR 区的一处氨基酸残基变异造成的<sup>[68]</sup>。*Pit* 来源于品种 K59, 编码 CC-NBS-LRR, 其显隐性基因之间虽然在编码区也存在差异, 但是显性基因启动子含有的转座子插入才是其抗性的重要决定因素<sup>[69]</sup>。*Pi54* 来源于水稻品种特特普, 编码 NBS-LRR<sup>[70]</sup>。*Pi54* 定位的过程中使用过 *Pi-kh* 的名称, 但是克隆过程发现其和 *Pik* 并不在同一位置, 后来进行了名称变更<sup>[70-71]</sup>。*Pb1* 来源于籼稻 Modan, 编码一个非典型的 CC-NBS-LRR。该编码产物没有 NBS-LRR 保守的 P-loop 结构, 在 CC 结构域后面插入了一段和已知蛋白没有同源性的肽段。同时, *Pb1* 所在的染色体区段存在复制, 其上游存在一个 *P5* 基因。而 *P5* 编码产物比 *Pb1* 仅多一个谷氨酸, 并且在超量表达的情况下可以抗病。而染色体片段复制造成 *Pb1* 表达模式的改变是其成为抗稻瘟病主效基因的重要原因<sup>[72]</sup>。*Pi63* 来源于水稻品种 Kahei, 编码 CC-NBS-LRR 蛋白<sup>[50]</sup>。

## 2.7 *Pi-d2*编码B-凝集素受体激酶

*Pi-d2* 来源于水稻品种地谷, 编码 B-凝集素受体激酶。*Pi-d2* 与其隐性基因相比, 编码蛋白仅有一个氨基酸差异, 位于预测的跨膜区中。不过, 显隐性 *Pi-d2* 蛋白都定位于细胞膜上, 其功能上的差异暂时还不清楚<sup>[73]</sup>。

## 2.8 *pi21*是唯一一个已克隆的隐性抗稻瘟病基因

和其他已克隆的抗稻瘟病基因不同, *pi21* 是唯一的隐性基因, 不过其抗谱没有特异性, 并在生产

中有一定的应用。和显性基因相比, *pi21* 同样编码富含脯氨酸的蛋白, 只是在富含脯氨酸的结构域中存在缺失。研究发现, 这种缺失可以解除其对植物防御反应的阻滞<sup>[74]</sup>。此外, *pi21* 与控制低食用品质的基因连锁, 不过可以通过重组将两者分开<sup>[74]</sup>。

总体说来, 已经克隆的抗稻瘟病主效基因有2个明显的特点, 一是有部分位点是由2个NBS-LRR控制的; 二是很多抗病基因存在等位现象或者位于同一个基因簇中, 尤其是等位性的特点, 为研究者通过进行种质资源品种测序等方法深入挖掘基因资源, 寻找更优良的抗病基因提供了理论基础。据此, 人们已经从种质资源品种中找到了许多新的抗病等位基因<sup>[75-77]</sup>。

### 3 抗其他病害主效基因

相对于水稻抗白叶枯病和抗稻瘟病的研究, 目前还没有发现抗稻曲病、纹枯病和黑条矮缩病的主效基因, 但是目前的研究中, 已经克隆了一个抗水稻条纹叶枯病主效基因, 鉴定并定位了2个抗细条病主效基因。

条纹叶枯病是由条纹叶枯病毒 (rice stripe virus, RSV) 引起的一种水稻病害, 通常以灰飞虱为媒介传播。该病毒是纤病毒属的RNA病毒。目前唯一克隆的主效抗病基因 *STVII* 来源于水稻品种 Kasalath, 编码磺基转移酶 OsSOT1, 可以催化水杨酸生成磺化的水杨酸, 而后者对 RSV 复制有更强的抑制作用<sup>[78]</sup>。其隐性基因不能催化水杨酸磺化。

细条病是由黄单胞杆菌稻生变种 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, *Xoc*), 也称为细条病菌引起的。细条病菌与白叶枯菌同属黄单胞杆菌属, 也可以产生 TALE 作用于水稻细胞。目前, 还没有抗细条病主效抗病基因被克隆出来, 不过, 已经有2个主效基因完成了定位。第一个定位的主效抗细条病基因是隐性 *bls1*, 来源于广西的普通野生稻, 已定位于第6染色体<sup>[79]</sup>。而另一个显性抗细条病主效基因是 *Xo1*, 来源于美国水稻品种 Carolina Gold Select, 已定位于水稻第4染色体上。*Xo1* 的抗性与 TALE 有关, 且促使 *Xo1* 抗病的不是 TALE 蛋白中的 RVD, 而是重复单元的数目, 最少3.5个重复单元便可以使抗性产生<sup>[80]</sup>。*Xo1* 不仅介导对细条病菌的抗性, 还能介导对非洲来源的白叶枯菌的抗性。*Xo1* 的抗性和番茄 *Bs4* 介导的抗性有很大的相似, 都可以识别 TALE 的重复结构<sup>[80-81]</sup>。

## 4 调控对多种病原菌抗性的抗病相关基因

抗病相关基因正向或负向调控抗病反应。因为通常抗病相关基因调控的抗性水平比主效抗病基因调控的抗性水平低, 研究者需要通过超量表达或者抑制表达方法研究抗病相关基因。整体看, 已报道的抗病相关基因种类非常多, 不过, 也有许多基因属于同一家族或参与同一生理途径, 下面仅列举几种常见的类型。

### 4.1 GH3家族中涉及生长素信号途径的基因

生长素是重要的植物激素, 吲哚-3-乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 是生长素的一种主要形式。然而, 越来越多的研究发现, 很多植物病原菌也可以产生 IAA, IAA 可能在植物-病原菌互作过程中扮演重要的角色<sup>[82]</sup>。植物 *GH3* 基因家族成员编码具有酰胺合成酶活性的蛋白<sup>[83]</sup>。其中的 II 类 *GH3* 蛋白负责将 IAA 与氨基酸相连, 从而使 IAA 失活。超量表达水稻 *OsGH3-2* 或 *OsGH3-8* 后, 水稻体内游离生长素的含量下降, 但是对白叶枯病、细条病和稻瘟病产生广谱抗性<sup>[84, 85]</sup>。超量表达 *OsGH3.1* 后, 可以使水稻抗稻瘟病<sup>[86]</sup>。

### 4.2 WRKY类转录因子编码基因

WRKY 是植物特有的一类转录因子, 广泛参与植物各种生理过程。参与水稻与病原菌互作的 WRKY 既有正调控水稻抗病反应的, 也有负调控水稻抗病反应的<sup>[87]</sup>。另外, 这类蛋白往往也参与对多种病原菌的防御反应。超量表达水稻 *WRKY13* 基因, 可以提高水稻对白叶枯病和细条病的抗性<sup>[88-89]</sup>。*WRKY45* 在水稻中有两种等位基因 *WRKY45-1* 和 *WRKY45-2*。超量表达 *WRKY45-1* 的 cDNA 或者 *WRKY45-2* 都可以增强水稻对白叶枯菌的抗性<sup>[90-91]</sup>。而 *WRKY45-1* 内含子中含有产生小 RNA TE-siR815 的前体, 超量表达 *WRKY45-1* 基因组 DNA 造成大量产生 TE-siR815, 后者影响水稻抗性, 从而造成超量表达 *WRKY45-1* 基因组 DNA 的水稻感病<sup>[92]</sup>。另外, 超量表达 *WRKY45-1* 的 cDNA 或者 *WRKY45-2* 还可以增强水稻对稻瘟病和细条病的抗性<sup>[91, 93]</sup>。此外, *WRKY45* 蛋白可以与 *Pb1* 互作, 从而减少其降解, 参与 *Pb1* 介导的抗稻瘟病反应<sup>[94]</sup>。在水稻中超量表达 *WRKY30* 后, 可以提高茉莉酸含量和病程相关基因的表达, 从而增强对稻瘟病和纹枯病的抗性<sup>[95]</sup>。

*WRKY62* 负调控抗白叶枯病主效基因 *Xa21* 介导的抗性<sup>[43]</sup>。超量表达 *WRKY28* 或者 *WRKY76* 的水稻对稻瘟病的感病性会加剧<sup>[96-97]</sup>。*WRKY42* 也负

调控对稻瘟病的抗性, 其超量表达植株感稻瘟病, 而抑制表达植株抗稻瘟病。在水稻抗稻瘟病反应中, WRKY45-2 激活 *WRKY13* 表达, 而 *WRKY13* 抑制 *WRKY42* 表达, 通过这个转录调控级联, 促进水稻抗稻瘟病<sup>[98]</sup>。

#### 4.3 水杨酸和茉莉酸信号转导途径中的成员

拟南芥 *NPR1* 是水杨酸介导的系统获得性抗性中的一个重要基因, 它在水稻中的同源基因是 *NHI*。超量表达 *NHI*, 组成型激活水稻防御反应, 可以提高对白叶枯病的抗性<sup>[99]</sup>。

*OsPAD4* 参与水稻系统抗性的调控。但与拟南芥不同, *OsPAD4* 所介导的防御反应是依赖茉莉酸, 而不是水杨酸<sup>[100]</sup>。

#### 4.4 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号级联中的成员

研究者已经在水稻中鉴定了多个 MAPK 调控水稻-病原菌的互作。MPK6 是一个功能复杂的 MAPK。在超量表达 *MPK6* 的水稻中, 有假病斑产生, 并对白叶枯病产生局部抗性。而 *mpk6* 突变体水稻具有系统获得性抗性。所以, MPK6 在水稻与白叶枯菌的反应中具有双重功能<sup>[101]</sup>。水稻 *MPK5/OsMPK5* 负调控对白叶枯病和稻瘟病的抗性, 它的功能受到钙依赖的蛋白激酶调控<sup>[102-104]</sup>。水稻 *OsMPK12* 正调控对白叶枯病的抗性<sup>[103]</sup>。另外, 水稻中还有一个名为 *OsMPK6*(不同于前述 *MPK6*) 的 MAPK, 可以通过磷酸化激活 *WRKY45*, 从而参与水稻抗病反应<sup>[105]</sup>。

水稻的丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶(MAPK kinase kinase, MAPKKK) 基因家族由超过 70 个成员组成, 虽然很多基因的表达受到病原菌侵染的影响<sup>[106]</sup>, 目前只有一个 MAPKKK 基因被证实参与调控水稻抗病反应。*OsEDR1/MPKKK1* 是拟南芥 *EDR1* 在水稻中的同源基因。*OsEDR1/MPKKK1* 突变体和抑制表达植株自发形成假病斑, 并对白叶枯病产生抗性, 但同时对于稻瘟病会更加敏感<sup>[107]</sup>。

## 5 总结与展望

过去 20 年中, 植物抗病, 特别是水稻抗病领域取得了巨大进步, 尤其在水稻抗白叶枯病和抗稻瘟病研究领域, 一大批主效抗病基因被定位和克隆。通过对这些基因及其抗病机制的研究, 人们对水稻与病原菌互作已经有了初步认识。同时, 根据这些认识和理解, 人们已经从水稻种质资源中深入挖掘出新的抗病基因。随着基因组编辑技术的发展和进

步, 人们也在研究过程中创造出了新的抗病基因。相信随着研究的进一步发展, 将来人们会更加全面地理解水稻的抗病反应, 并能在水稻抗性改良中取得更大的进展。

病害是我国水稻生产中长期面临的危害之一, 其造成的产量损失巨大, 而目前流行的防治措施以农药喷施为主, 不仅造成食物中农药残留, 还会破坏环境, 加重农民负担。而绿色超级稻的提出, 为应对病害威胁提供了新的方法<sup>[108]</sup>。同时, 通过改良水稻品种所含有的抗性基因, 可以显著降低农药喷施的副作用。随着各类抗病主效基因和抗病相关基因的不断克隆和解析, 未来将能够向育种工作提供大量的抗性基因资源。通过基因聚合、转基因以及正在发展的基因编辑等技术, 人们能培育出更多含有多种抗性基因的水稻新品种和新材料。

### [参 考 文 献]

- [1] Zhang H, Wang S. Rice versus *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: a unique pathosystem. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16: 188-95
- [2] Kou Y, Wang S. Broad-spectrum and durability: understanding of quantitative disease resistance. *Curr Opin Plant Biol*, 2010, 13: 181-5
- [3] Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444: 323-9
- [4] Thomma BP, Nurnberger T, Joosten MH. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. *Plant Cell*, 2011, 23: 4-15
- [5] Nino-Liu DO, Ronald PC, Bogdanove AJ. *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. *Mol Plant Pathol*, 2006, 7: 303-24
- [6] Hutin M, Sabot F, Ghesquiere A, et al. A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum *OsSWEET14* resistance allele to bacterial blight from wild rice. *Plant J*, 2015, 84: 694-703
- [7] Wang C, Zhang X, Fan Y, et al. XA23 is an executor R protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Mol Plant*, 2015, 8: 290-302
- [8] Song WY, Wang GL, Chen LL, et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science*, 1995, 270: 1804-6
- [9] Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al. Expression of *Xa1*, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 1663-8
- [10] Iyer AS, McCouch SR. The rice bacterial blight resistance gene *xa5* encodes a novel form of disease resistance. *Mol Plant Microbe Interact*, 2004, 17: 1348-54
- [11] Gu K, Yang B, Tian D, et al. R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature*, 2005, 435: 1122-5
- [12] Sun X, Cao Y, Yang Z, et al. *Xa26*, a gene conferring

- resistance to *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J*, 2004, 37: 517-27
- [13] Chu Z, Yuan M, Yao J, et al. Promoter mutations of an essential gene for pollen development result in disease resistance in rice. *Genes Dev*, 2006, 20: 1250-5
- [14] Jiang GH, Xia ZH, Zhou YL, et al. Testifying the rice bacterial blight resistance gene *xa5* by genetic complementation and further analyzing *xa5* (*Xa5*) in comparison with its homolog *TFIIAγ1*. *Mol Genet Genomics*, 2006, 275: 354-66
- [15] Xiang Y, Cao Y, Xu C, et al. *Xa3*, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as *Xa26*. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 1347-55
- [16] Liu Q, Yuan M, Zhou Y, et al. A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. *Plant Cell Environ*, 2011, 34: 1958-69
- [17] Tian D, Wang J, Zeng X, et al. The rice TAL effector-dependent resistance protein XA10 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum. *Plant Cell*, 2014, 26: 497-515
- [18] Zhang J, Yin Z, White F. TAL effectors and the executor *R* genes. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 641
- [19] Boch J, Bonas U. *Xanthomonas* AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. *Annu Rev Phytopathol*, 2010, 48: 419-36
- [20] Moscou MJ, Bogdanove AJ. A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. *Science*, 2009, 326: 1501
- [21] Boch J, Scholze H, Schornack S, et al. Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science*, 2009, 326: 1509-12
- [22] Deng D, Yan C, Pan X, et al. Structural basis for sequence-specific recognition of DNA by TAL effectors. *Science*, 2012, 335: 720-3
- [23] Yuan T, Li X, Xiao J, et al. Characterization of *Xanthomonas oryzae*-responsive *cis*-acting element in the promoter of rice race-specific susceptibility gene *Xa13*. *Mol Plant*, 2011, 4: 300-9
- [24] Antony G, Zhou J, Huang S, et al. Rice *xa13* recessive resistance to bacterial blight is defeated by induction of the disease susceptibility gene *Os-11N3*. *Plant Cell*, 2010, 22: 3864-76
- [25] Yuan M, Ke Y, Huang R, et al. A host basal transcription factor is a key component for infection of rice by TALE-carrying bacteria. *Elife*, 2016, 5: e19605
- [26] Romer P, Recht S, Lahaye T. A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 20526-31
- [27] Wang CL, Qin TF, Yu HM, et al. The broad bacterial blight resistance of rice line CBB23 is triggered by a novel transcription activator-like (TAL) effector of *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*. *Mol Plant Pathol*, 2014, 15: 333-41
- [28] Yang B, Sugio A, White FF. *Os8N3* is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 10503-8
- [29] Yuan M, Chu Z, Li X, et al. The bacterial pathogen *Xanthomonas oryzae* overcomes rice defenses by regulating host copper redistribution. *Plant Cell*, 2010, 22: 3164-76
- [30] Zhou J, Peng Z, Long J, et al. Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J*, 2015, 82: 632-43
- [31] Yu Y, Streubel J, Balzergue S, et al. Colonization of rice leaf blades by an African strain of *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* depends on a new TAL effector that induces the rice nodulin-3 *Os11N3* gene. *Mol Plant Microbe Interact*, 2011, 24: 1102-13
- [32] Streubel J, Pesce C, Hutin M, et al. Five phylogenetically close rice *SWEET* genes confer TAL effector-mediated susceptibility to *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*. *New Phytol*, 2013, 200: 808-19
- [33] Chen LQ, Qu XQ, Hou BH, et al. Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. *Science*, 2012, 335: 207-11
- [34] Chen LQ, Hou BH, Lalonde S, et al. Sugar transporters for intercellular exchange and nutrition of pathogens. *Nature*, 2010, 468: 527-32
- [35] Li T, Liu B, Spalding MH, et al. High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice. *Nat Biotechnol*, 2012, 30: 390-2
- [36] Iyer-Pascuzzi AS, Jiang H, Huang L, et al. Genetic and functional characterization of the rice bacterial blight disease resistance gene *xa5*. *Phytopathology*, 2008, 98: 289-95
- [37] Gu K, Tian D, Qiu C, et al. Transcription activator-like type III effector AvrXa27 depends on OsTFIIAγ5 for the activation of *Xa27* transcription in rice that triggers disease resistance to *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*. *Mol Plant Pathol*, 2009, 10: 829-35
- [38] Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, et al. The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium. *Sci Adv*, 2015, 1: e1500245
- [39] Gomez-Gomez L, Boller T. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Mol Cell*, 2000, 5: 1003-11
- [40] Chen X, Chern M, Canlas PE, et al. An ATPase promotes autophosphorylation of the pattern recognition receptor XA21 and inhibits XA21-mediated immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 8029-34
- [41] Wang YS, Pi LY, Chen X, et al. Rice XA21 binding protein 3 is a ubiquitin ligase required for full *Xa21*-mediated disease resistance. *Plant Cell*, 2006, 18: 3635-46
- [42] Park CJ, Peng Y, Chen X, et al. Rice XB15, a protein phosphatase 2C, negatively regulates cell death and XA21-mediated innate immunity. *PLoS Biol*, 2008, 6: e231
- [43] Peng Y, Bartley LE, Chen X, et al. OsWRKY62 is a negative regulator of basal and *Xa21*-mediated defense against *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* in rice. *Mol Plant*, 2008, 1: 446-58

- [44] Sun X, Cao Y, Wang S. Point mutations with positive selection were a major force during the evolution of a receptor-kinase resistance gene family of rice. *Plant Physiol*, 2006, 140: 998-1008
- [45] Cao Y, Ding X, Cai M, et al. The expression pattern of a rice disease resistance gene *Xa3/Xa26* is differentially regulated by the genetic backgrounds and developmental stages that influence its function. *Genetics*, 2007, 177: 523-33
- [46] Li HJ, Li XH, Xiao JH, et al. Ortholog alleles at *Xa3/Xa26* locus confer conserved race-specific resistance against *Xanthomonas oryzae* in rice. *Mol Plant*, 2012, 5: 281-90
- [47] Zhao J, Fu J, Li X, et al. Dissection of the factors affecting development-controlled and race-specific disease resistance conferred by leucine-rich repeat receptor kinase-type *R* genes in rice. *Theor Appl Genet*, 2009, 119: 231-9
- [48] Couch BC, Kohn LM. A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. *Mycologia*, 2002, 94: 683-93
- [49] Ma J, Lei C, Xu X, et al. *Pi64*, encoding a novel CC-NBS-LRR protein, confers resistance to leaf and neck blast in rice. *Mol Plant Microbe Interact*, 2015, 28: 558-68
- [50] Xu X, Hayashi N, Wang CT, et al. 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*, 2014, 34: 691-700
- [51] Chen J, Peng P, Tian J, et al. *Pike*, a rice blast resistance allele consisting of two adjacent *NBS-LRR* genes, was identified as a novel allele at the *Pik* locus. *Mol Breeding*, 2015, 35: 1-15
- [52] Hayashi K, Yoshida H, Ashikawa I. Development of PCR-based allele-specific and InDel marker sets for nine rice blast resistance genes. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 251-60
- [53] Ashikawa I, Hayashi N, Yamane H, et al. Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer *Pikm*-specific rice blast resistance. *Genetics*, 2008, 180: 2267-76
- [54] 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. *Theor Appl Genet*, 2011, 122: 1017-28
- [55] Zhai C, Lin F, Dong Z, et al. The isolation and characterization of *Pik*, a rice blast resistance gene which emerged after rice domestication. *New Phytol*, 2011, 189: 321-34
- [56] Hua L, Wu J, Chen C, et al. The isolation of *Pil*, an allele at the *Pik* locus which confers broad spectrum resistance to rice blast. *Theor Appl Genet*, 2012, 125: 1047-55
- [57] Lee SK, Song MY, Seo YS, et al. Rice *Pi5*-mediated resistance to *Magnaporthe oryzae* requires the presence of two coiled-coil-nucleotide-binding-leucine-rich repeat genes. *Genetics*, 2009, 181: 1627-38
- [58] 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. *Plant J*, 2011, 66: 467-79
- [59] 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*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 19: 1216-28
- [60] 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. *Genetics*, 2006, 172: 1901-14
- [61] Zhou B, Dolan M, Sakai H, et al. The genomic dynamics and evolutionary mechanism of the *Pi2/9* locus in rice. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20: 63-71
- [62] 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. *Genetics*, 2009, 182: 1303-11
- [63] Chen J, Shi Y, Liu W, et al. A *Pid3* allele from rice cultivar Gumei2 confers resistance to *Magnaporthe oryzae*. *J Genet Genomics*, 2011, 38: 209-16
- [64] Lin F, Chen S, Que Z, et al. 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*, 2007, 177: 1871-80
- [65] Takahashi A, Hayashi N, Miyao A, et al. Unique features of the rice blast resistance *Pish* locus revealed by large scale retrotransposon-tagging. *BMC Plant Biol*, 2010, 10: 175
- [66] Wang ZX, Yano M, Yamanouchi 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. *Plant J*, 1999, 19: 55-64
- [67] Bryan GT, Wu KS, Farrall L, et al. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2033-46
- [68] Liu X, Lin F, Wang L, et al. 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*, 2007, 176: 2541-9
- [69] Hayashi K, Yoshida H. Refunctionalization of the ancient rice blast disease resistance gene *Pit* by the recruitment of a retrotransposon as a promoter. *Plant J*, 2009, 57: 413-25
- [70] Sharma TR, Rai AK, Gupta SK, et al. Broad-spectrum blast resistance gene *Pi-k<sup>h</sup>* cloned from rice line Tetep designated as *Pi54*. *J Plant Biochem Biotechnol*, 2010, 19: 87-9
- [71] Sharma TR, Madhav MS, Singh BK, et al. High-resolution mapping, cloning and molecular characterization of the *Pi-k<sup>h</sup>* gene of rice, which confers resistance to *Magnaporthe grisea*. *Mol Genet Genomics*, 2005, 274: 569-78
- [72] 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. *Plant J*, 2010, 64: 498-510
- [73] Chen X, Shang J, Chen D, et al. A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *Plant J*, 2006, 46: 794-804
- [74] Fukuoka S, Saka N, Koga H, et al. Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science*, 2009, 325: 998-1001
- [75] Das A, Soubam D, Singh PK, et al. A novel blast resistance gene, *Pi54rh* cloned from wild species of rice, *Oryza rhizomatis* confers broad spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae*. *Funct Integr Genomics*, 2012, 12: 215-28
- [76] Xu X, Lv Q, Shang J, et al. Excavation of *Pid3* orthologs with differential resistance spectra to *Magnaporthe oryzae* in rice resource. *PLoS One*, 2014, 9: e93275
- [77] Yang S, Li J, Zhang X, et al. Rapidly evolving *R* genes in diverse grass species confer resistance to rice blast disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 18572-7
- [78] Wang Q, Liu Y, He J, et al. *STV11* encodes a sulphotransferase and confers durable resistance to rice stripe virus. *Nat Commun*, 2014, 5: 4768
- [79] He WA, Huang DH, Li RB, et al. Identification of a resistance gene *bls1* to bacterial leaf streak in wild rice *Oryzarufipogon* Griff. *J Integr Agr*, 2012, 11: 962-9
- [80] Triplett LR, Cohen SP, Heffelfinger C, et al. A resistance locus in the American heirloom rice variety Carolina Gold Select is triggered by TAL effectors with diverse predicted targets and is effective against African strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *Plant J*, 2016, 87: 472-83
- [81] Schornack S, Ballvora A, Gurlebeck D, et al. The tomato resistance protein Bs4 is a predicted non-nuclear TIR-NB-LRR protein that mediates defense responses to severely truncated derivatives of AvrBs4 and overexpressed AvrBs3. *Plant J*, 2004, 37: 46-60
- [82] Fu J, Wang S. Insights into auxin signaling in plant-pathogen interactions. *Front Plant Sci*, 2011, 2: 74
- [83] Westfall CS, Herrmann J, Chen Q, et al. Modulating plant hormones by enzyme action: the GH3 family of acyl acid amido synthetases. *Plant Signal Behav*, 2010, 5: 1607-12
- [84] Ding X, Cao Y, Huang L, et al. Activation of the indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3-8 suppresses expansin expression and promotes salicylate- and jasmonate-independent basal immunity in rice. *Plant Cell*, 2008, 20: 228-40
- [85] Fu J, Liu H, Li Y, et al. Manipulating broad-spectrum disease resistance by suppressing pathogen-induced auxin accumulation in rice. *Plant Physiol*, 2011, 155: 589-602
- [86] Domingo C, Andres F, Tharreau D, et al. Constitutive expression of *OsGH3.1* reduces auxin content and enhances defense response and resistance to a fungal pathogen in rice. *Mol Plant Microbe Interact*, 2009, 22: 201-10
- [87] 成洪涛, 王石平. 水稻-病原互作中的重要角色: WRKY 类转录因子. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44: 784-93
- [88] Qiu D, Xiao J, Xie W, et al. Rice gene network inferred from expression profiling of plants overexpressing *OsWRKY13*, a positive regulator of disease resistance. *Mol Plant*, 2008, 1: 538-51
- [89] Qiu D, Xiao J, Ding X, et al. *OsWRKY13* mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20: 492-9
- [90] Shimono M, Koga H, Akagi A, et al. Rice *WRKY45* plays important roles in fungal and bacterial disease resistance. *Mol Plant Pathol*, 2012, 13: 83-94
- [91] Tao Z, Liu H, Qiu D, et al. A pair of allelic *WRKY* genes play opposite roles in rice-bacteria interactions. *Plant Physiol*, 2009, 151: 936-48
- [92] Zhang H, Tao Z, Hong H, et al. Transposon-derived small RNA is responsible for modified function of *WRKY45* locus. *Nat Plants*, 2016, 2: 16016
- [93] Shimono M, Sugano S, Nakayama A, et al. Rice *WRKY45* plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance. *Plant Cell*, 2007, 19: 2064-76
- [94] Inoue H, Hayashi N, Matsushita A, et al. Blast resistance of CC-NB-LRR protein Pb1 is mediated by *WRKY45* through protein-protein interaction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 9577-82
- [95] Peng X, Hu Y, Tang X, et al. Constitutive expression of rice *WRKY30* gene increases the endogenous jasmonic acid accumulation, *PR* gene expression and resistance to fungal pathogens in rice. *Planta*, 2012, 236: 1485-98
- [96] Yokotani N, Sato Y, Tanabe S, et al. *WRKY76* is a rice transcriptional repressor playing opposite roles in blast disease resistance and cold stress tolerance. *J Exp Bot*, 2013, 64: 5085-97
- [97] Chujo T, Miyamoto K, Shimogawa T, et al. *OsWRKY28*, a PAMP-responsive transrepressor, negatively regulates innate immune responses in rice against rice blast fungus. *Plant Mol Biol*, 2013, 82: 23-37
- [98] Cheng H, Liu H, Deng Y, et al. The *WRKY45-2* *WRKY13* *WRKY42* transcriptional regulatory cascade is required for rice resistance to fungal pathogen. *Plant Physiol*, 2015, 167: 1087-99
- [99] Chern M, Fitzgerald HA, Canlas PE, et al. Overexpression of a rice *NPR1* homolog leads to constitutive activation of defense response and hypersensitivity to light. *Mol Plant Microbe Interact*, 2005, 18: 511-20
- [100] Ke Y, Liu H, Li X, et al. Rice *OsPAD4* functions differently from *Arabidopsis* *AtPAD4* in host-pathogen interactions. *Plant J*, 2014, 78: 619-31
- [101] Shen X, Yuan B, Liu H, et al. Opposite functions of a rice mitogen-activated protein kinase during the process of resistance against *Xanthomonas oryzae*. *Plant J*, 2010, 64: 86-99
- [102] Xiong L, Yang Y. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase. *Plant Cell*, 2003, 15: 745-59
- [103] Seo YS, Chern M, Bartley LE, et al. Towards establishment of a rice stress response interactome. *PLoS*

- Genet, 2011, 7: e1002020
- [104] Xie K, Chen J, Wang Q, et al. Direct phosphorylation and activation of a mitogen-activated protein kinase by a calcium-dependent protein kinase in rice. *Plant Cell*, 2014, 26: 3077-89
- [105] Ueno Y, Yoshida R, Kishi-Kaboshi M, et al. Abiotic stresses antagonize the rice defence pathway through the tyrosine-dephosphorylation of *OsMPK6*. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1005231
- [106] Yang Z, Ma H, Hong H, et al. Transcriptome-based analysis of mitogen-activated protein kinase cascades in the rice response to *Xanthomonas oryzae* infection. *Rice:N Y*, 2015, 8: 4
- [107] Shen X, Liu H, Yuan B, et al. OsEDR1 negatively regulates rice bacterial resistance via activation of ethylene biosynthesis. *Plant Cell Environ*, 2011, 34: 179-91
- [108] 张启发. 绿色超级稻的构想与实践[M]. 北京: 科学出版社, 2009