

水稻稻瘟病研究进展

温嘉伟, 任金平, 郭晓莉, 李莉, 刘晓梅, 孙辉, 王继春
(吉林省农业科学院植物保护研究所, 吉林公主岭 136100)

摘要: 从分子生物学在水稻遗传育种中的应用、稻瘟病菌生理小种的鉴别与变异和寄主与病原菌的互作关系三方面详细综述了稻瘟病防治的研究进展, 并对未来的工作方向和前景进行了展望。

关键词: 稻瘟病; 抗性基因; 生理小种

中图分类号: S435.111.4⁺1 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)03-0127-05

Progress of Study on Rice Blast

WEN Jia-wei, REN Jin-ping, GUO Xiao-li, LI Li, LIU Xiao-mei, SUN Hui, WANG Ji-chun

(Plant Protect Research Institute of Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling, Jilin 136100)

Abstract: This paper summarized three fields about controlling rice blast: inheritance and breeding of blast resistance in rice, method of identifying physiological race and interaction mechanism between race and rice. Then, it prospected for the future work.

Key words: rice blast; resistance genes; physiologic races

稻瘟病是由子囊菌 *Magnaprthe grisea* (Hebert) Barri[无性世代为 *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.] 引起的病害, 是世界上各稻区的主要的病害之一^[1]。目前很多情况下仍然依靠传统的化学药剂和种植抗病品种来控制此病害。但是由于人们对食品安全的日益重视及环保意识的逐渐加强, 化学药剂的使用已经不再是现代农业生产上首推的防治措施。而培育抗病品种由于受到病原菌小种遗传的复杂性、致病多样性及极易变异性三方面因素影响^[2], 导致新的抗病品种常常推广数年内便失去抗性。因此, 通过分析稻瘟病菌的遗传多样性, 标记无毒基因和抗瘟基因, 解决抗病育种周期长的问题, 将是未来工作的重点。

近年来, 随着分子生物学的发展, 以分子标记为目标, 定位了一系列的稻瘟病的抗性基因。这些成果为育种专家们培育新的抗病品种提供了大量有价值的信息。同时, 植物病理学家利用分子生物学技术, 从病原菌与水稻品种互作关系角度出发, 探求品种抗性机理, 为稻瘟病的防治提供理论依据。本文从分子生物学在水稻遗传育种中的应用、稻瘟病菌生理小种的鉴别和变异和寄主与病原菌的互作关系三方面综述了稻瘟病

的研究进展, 并对未来的工作进行了展望。

1 分子生物学在水稻遗传育种中的应用

1.1 分子标记的特点

分子标记可以直接反映DNA水平上的遗传多态性, 甚至包括单个核苷酸的变异。与其他的标记方法相比, 分子标记有许多优越性, 主要有以下五个方面: (1)直接以DNA的形式表现, 在生物体的任何组织、各个发育阶段均可检测到, 不受季节、环境限制, 不存在表达与否的问题; (2)数量多, 遍布整个基因组; (3)多态性高; (4)表现为中性, 不影响目标性状的表达; (5)许多标记表现为共显性的特点, 能区别纯合体和杂合体。

1.2 水稻抗瘟基因的鉴定与定位

20世纪80年代, 日本学者 Kiyosawa 等^[3]用经典遗传学方法鉴定出8个位点上的14个主效显性抗病基因, 包括 Pik 位点的 *Piks*、*Pikp*、*Pikh*、*Pikm* 和 *Pik*; Pita 位点的 *Pita* 和 *Pita2*; Piz 位点的 *Piz* 和 *Piz1*; 以及 *Pii*、*Pia*、*Pish*、*Pib* 和 *Pit* 等。目前, 已经有超过60个稻瘟病的抗性基因被定位到除第3号染色体外的11条染色体上(见表1), 同时发现大部分的抗性基因集中在第6、11、12号染色体上, 占已鉴定基因数的60%左右^[4]。

定位目标性状基因的方法主要有两种: 一是利用近等基因系或分离群体分组分析法(Bulked Segregant Analysis, BSA), BSA是F₂分离群体中研究的目标性状根据其表型(如抗病、感病)分成两组, 将每组内的一定数量植株的DNA进行混合, 形成按表型区分的DNA

收稿日期: 2008-10-10

基金项目: 吉林省科技厅资助项目(20076020)

第一作者简介: 温嘉伟(1981-), 男, 吉林省长春市人, 硕士, 研究实习员, 从事分子植物病理学研究。Tel: 15844026068, 0434-628062; E-mail: wjw913@tom.com.

通讯作者: 王继春

表 1 水稻稻瘟病抗性基因

抗性基因编号	染色体	供体	标记类型
<i>Pi27(t)</i> ⁵	1	Q 14	SSR
<i>Pi24(t)</i> ⁶	1	Azucena	RFLP RGA
<i>Pi37(t)</i> ⁷	1	Q1333	SSR STS
<i>Pi1</i> ⁸	1	K 59	RFLP
<i>Pi25(t)</i> ⁶	2	IR64	RFLP RGA
<i>Pi18</i> ⁹	2	BL1	RFLP RAPD
<i>Pitq5</i> ¹⁰	2	Tèqing	RFLP
<i>PiD1(t)</i> ¹¹	2	地谷	RFLP SSR
<i>Pig(t)</i> ¹¹²	2	Guanchangzhan	SSR
<i>Pi21</i> ¹³	4	Owarihatamochi	RFLP
<i>Pi10(t)</i> ¹⁴	5	Tongil	RFLP
<i>Pi23(t)</i> ¹⁵	5	Suw eon365	RFLP SSR
<i>Pi26(t)</i> ⁶	5	Azucena	RFLP RGA
<i>Pi2</i> ¹⁶	6	5173	RFLP
<i>Pi9</i> ¹⁷	6	O. minuta	RFLP
<i>Pi22(t)</i> ¹⁵	6	Suw eon365	RFLP SSR
<i>Pi25(t)</i> ¹⁸	6	Gumei2	RAPD RFLP
<i>Pi27(t)</i> ⁶	6	IR64	RFLP RGA
<i>Pitq1</i> ¹⁰	6	Tèqing	RFLP
<i>PiD2(t)</i>	6	地谷	RFLP SSR
<i>Piz1</i> ¹⁹	6	Fukunishiki	SSR RGA
<i>Pi17</i> ²⁰	7	DJI23	RFLP
<i>Pi11</i> ²¹	8	窄叶青 8 号	RAPD
<i>Pi29(t)</i> ⁶	8	IR64	RFLP RGA
<i>Pi33(t)</i> ²²	8	IR64	RFLP SSR
<i>Pi36(t)</i> ²³	8	Q61	RAPD SSR
<i>PiGD1(t)</i> ²⁴	8	三占黄 2	RGA
<i>Pi5</i> ²⁵	9	Moroberekan	AFLP
<i>Pi15</i> ²⁶	9	GA25	RAPD
<i>Pi28(t)</i> ⁶	10	Azucena	RFLP RGA
<i>Pi7</i> ²⁷	11	Moroberekan	RFLP
<i>Pi12</i> ²⁸	11	Moroberekan	RFLP
<i>Pi18</i> ¹⁵	11	Suw eon365	RFLP
<i>Pi25(t)</i> ²⁹	11	云系 2	RFLP SSR
<i>Pi30(t)</i> ⁶	11	IR64	RFLP RGA
<i>Pi44(t)</i> ³⁰	11	Moroberekan	AFLP
<i>PiCO39</i> ³¹	11	CO39	RFLP
<i>Pikm1</i> ³²	11	Tsuyuake	RFLP
<i>Pik1</i> ³³	11	Tetep	RAPD
<i>Pi1m2</i> ¹⁰	11	Lemont	RFLP
<i>Pb1</i> ³⁴	11	Moodan	RFLP
<i>Pi4</i> ¹⁶	12	Tetep	RFLP
<i>Pi6</i>	12	Aputa	RFLP
<i>Pi20</i> ³⁵	12	IR24	RFLP
<i>Pi21(t)</i> ¹⁵	12	Suw eon365	RFLP
<i>Pi24(t)</i> ¹⁸	12	Zhong 156	RGA RAPD
<i>Pi31(t)</i> ⁵	12	IR64	RFLP RGA
<i>Pi32(t)</i> ⁵	12	IR64	RFLP RGA
<i>Pi62(t)</i> ³⁶	12	Yashiro-mochi	RFLP
<i>Pi157(t)</i> ³⁷	12	Moroberekan	RFLP
<i>Pih1(t)</i> ³⁸	12	红占脚	RFLP
<i>Pita</i> ³⁹	12	K 1	RFLP RAPD
<i>Pita2</i> ³⁹	12	PiNO.4	RFLP
<i>Pitq6</i> ¹⁰	12	Tèqing	RFLP
<i>PiGD3(t)</i> ²⁵	12	三占黄 2	RFLP

池进行 SSR 分析。近等基因系和近等基因池的共同特点是被比较的两系或两池间除了目标基因所在的染色体区域外,染色体的其他任何部位的基因组成几乎是一样的。二是利用已有的连锁图进行标记,一旦发现某一目标基因被定位在某一染色体上,就可以选择分散在染色体不同位点的标记,逐渐逼近,找到与基因连锁的分子标记。

1.3 水稻抗稻瘟病基因的克隆与聚合

抗病基因是植物-病原物互作中的关键因子,因此,克隆抗病基因是植物抗病育种中的主要内容之一。图位克隆技术在近年来植物抗病基因克隆中应用越来越广泛,它是随着各种植物的分子标记图谱的相继建立而发展起来的,是根据功能基因在基因组中都有相对较稳定的基因座,利用分子标记技术对目的基因进行精细定位的基础上,用与目的基因紧密连锁的分子标记筛选 DNA 文库(包括 YAC, BAC, TAC, PAC 或 Cosmid 文库),从而构建目的基因区域的物理图谱,再利用此物理图谱通过染色体逐步逼近目的基因的方法,最终找到包含该目的基因的片段并克隆,再利用遗传转化证实克隆到的目的基因是否正确。目前 He 等^[41]利用此法克隆了位于第 2 染色体上的显性基因 *Pib*; Bryan 克隆了位于第 12 染色体着丝粒附近的基因 *Pita*。这两个基因也被公认为稻瘟病的主效抗性基因。南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室杨慧将 *Pib* 结构基因克隆到双元载体应用农杆菌介导法获得水稻品种日本晴转基因植株 30 株;李常银等克隆到了两个在稻瘟病敏感品系中高表达的新基因 *Pi-hit-1* 和 *Pi-hit-2*^[41]。

由于受到稻瘟病菌易变性的因素影响,只具有单一抗源的品种很容易丧失抗病性,而通过杂交聚合,将不同的抗性基因聚合到同一品种中,培育多抗品种被认为是获得优良抗病品种的重要途径之一^[42]。冯道容等将水稻碱性几丁质酶基因 *RC24* 和苜蓿 β -1, 3 葡聚糖酶基因转入籼稻品种,获得的转基因植株及其后代对多个稻瘟病生理小种表现出较高的抗性^[43]。许明辉等人证实了来源于 T4 噬菌体的溶菌酶基因也具有抗瘟功能^[44]。李进斌等将菜豆的几丁质酶基因和烟草的 β -1, 3 葡聚糖酶基因,来源 T4 噬菌体的溶菌酶基因聚合到同一材料,对所用的 8 个稻瘟病菌株都表现为高抗^[45]。

2 稻瘟病菌生理小种的鉴别与变异

2.1 稻瘟病菌生理小种鉴别的发展阶段

随着稻瘟病生理小种鉴别品种的不断完善,人们由不知道抗病基因的组成、遗传背景各不相同的品种水平提高到明确了各鉴别品种含有某个已知抗病基因的水平,直到目前达到创造了仅含一个抗病基因、具有

相同的普感遗传背景的单基因近等基因系的水平。主要可以分为以下四个阶段:(1)利用鉴别品种研究生理小种,世界范围的共同做法(1959~1976年);(2)以具有已知抗病基因的鉴别品种研究生理小种,以日本新鉴别品种的建立和应用为标志(1976~1986年);(3)用遗传背景相同的近等基因系鉴定稻瘟病菌生理小种,以国际水稻研究所(IRRI)的4个近等基因系的育成和应用为代表(1987~1993年);(4)应用单基因近等基因系研究生理小种,以中国6个单基因近等基因系的育成和国际上10多个国家的应用为标志(1994~至今)^[46]。

2.2 稻瘟病菌生理小种的鉴别品种

2.2.1 日本鉴别品种

在20世纪80年代中期以前,日本先后建立和利用3套鉴别品种。第一套品种分为T、C、N三个群共12个鉴别品种。由于这套鉴别品种是根据经验选定的,因此对小种的鉴定和致病性的分化研究不是十分的准确^[47]。1976年,日本建立了由9个粳稻品种组成的第二套鉴别品种^[48],此套鉴别品种是根据Flor的基因对基因学说,利用只具有一个彼此不同的主效抗病基因的品种组成的生理小种鉴别品种,能以最少的品种识别与各个抗病基因对应的病原菌致病性的全部基因型。第三套为清泽鉴别品种,主要用于水稻品种的抗性基因分析,没有作为日本统一使用的生理小种鉴别品种。

2.2.2 美国鉴别品种

1960年,Latterell用辛尼斯、拉克罗西、卡罗柔、瓦格-瓦格、拉米纳德 Str.3、沙田早 S、沙田早 P、CI5309、杜拉、NP125等10个鉴别品种,将来自美国、中美、南美、欧洲和亚洲的14个国家165个菌株鉴定为15个小种。1965年增加Rexoro和台中65组成12个品种的美国稻瘟病菌生理小种鉴别品种^[49]。

2.2.3 中国鉴别品种

1976年,通过全国21个省(区)、市的30多个单位协作研究,用来自全国的1793个菌株,接种212个水稻品种,根据品种的生理小种鉴别能力,选择有代表性的7个品种作为中国稻瘟病菌生理小种鉴别品种。这套鉴别品种由特特普、珍龙13、四丰43、东农363、关东51、合江18、丽江新团黑谷等7个品种组成。用这套鉴别品种把来自全国的827个菌株划分为7个群43个生理小种^[50]。

鉴于30多年来国际上没有一套可以统一使用的鉴别体系,中国农业科学院作物育种栽培研究所所以普感品种丽江新团黑谷为轮回亲本,创建了一套国际适用的鉴别稻瘟病菌生理小种的水稻近等基因系^[51]。这套近等基因系克服了目前国际上的各套鉴别品种的使用范围的局限性。

2.3 稻瘟病菌生理小种的遗传变异

稻瘟病菌生理小种的遗传多样性及致病性的易变

异性,是导致稻瘟病防治工作进展困难的主要原因。因此,深入了解其致病性变异的机制,将对稻瘟病的防治起到积极深远的影响。稻瘟病的变异是由突变、准性生殖和异核现象导致的^[52]。

2.3.1 突变

清泽等认为稻瘟病菌的1个菌系由非致病性向致病性突变,是新小种产生的主要原因。目前,科学家们已经克隆和分析了近40个参与稻瘟病菌生活史各个阶段的功能基因^[53]。获得具有标记的突变体,构建数量足够大的突变体库^[54],是了解所有基因功能和克隆致病相关基因的关键。迄今为止,国内外已经有部分实验室建立起突变群体数量不等稻瘟病菌突变体库。Sweigard^[55]、Pascale^[56]等利用REMI技术建成了一定数量的稻瘟病菌突变体库,并从中筛选到致病相关的突变体。李宏宇^[57]等利用AMTM技术获得1520个突变体,从中筛选到形态变异的突变体。迟归兵^[58]等以稻瘟病菌菌株P131和Y34为材料,利用REMI技术构建了含有8000个转化体的突变体库。尽管目前已构建一定数量的稻瘟病菌突变体库,但数量远远不够。

2.3.2 准性生殖

经紫外线诱变获得营养缺陷型,再进行互补共培养,证明了*M. grisea*的确完成了准性生殖,必须经3个阶段(异核体形成、不同核融合形成异质的二倍体和通过有丝分裂分离或单倍体化)即在人工控制下的确发生准性重组,这种高度的遗传重组将有助于解释这类有机体高度的变异性。

2.3.3 异核现象

稻瘟病菌的分生孢子、附着孢及菌丝的细胞是异核的,菌丝联结现象普遍,每个细胞有3~7个核,因此推断异核现象是变异的基础^[59]。

3 寄主与病原菌的互作关系

早在20世纪40年代,Flor博士在研究亚麻锈病抗性的遗传时就提出著名的“基因对基因”假说。此假说的核心内容是对寄主中的每一个显性抗性基因,在病原菌中就存在相应的显性无毒基因(avirulence, Avr)。一般认为,病原菌无毒基因编码的产物为激发子(elicitor)或激发子合成酶,而寄主中的抗性基因则编码受体蛋白(receptor),无毒基因直接或间接产物作为激发子与相应抗病基因产物识别并诱导寄主的防卫反应,从而表现小种品种互作的不亲和性。因此,无毒基因的克隆及其产物的结构功能分析,对于了解病原菌与寄主之间的互作、防卫反应信号在细胞中的传导以及抗病机制的研究都具有非常重要的意义。

1992年以后,利用分子生物学方法从稻瘟病菌中克隆到近30个功能基因,其中包括了重要的分子标记,中等重复系列WGR位点,转座子Grasshopper等,交配型控制基因*Mat1-1*、*Mat1-2*,寄主种专化型基因*PWL2*,也包括一些酶基因如*Cutinase*基因等^[60]。

胡海燕等^[61],以同一水稻品种接种不同小种稻瘟菌,利用抑制消减杂交(SSH)技术构建水稻—稻瘟菌非亲和/亲和和互作消减 cDNA 文库。经差异筛选、序列分析及 RT-PCR 验证,共获得 25 个独立的差异表达 cDNA 克隆。根据与它们同源基因的功能推测,这些 cDNA 克隆可能参与了对病原菌的防卫反应、转录和蛋白合成与修饰等一些重要的生物学过程。通过 RT-PCR 检测了差异表达基因在非亲和/亲和和互作早期的表达谱,所有被检测基因在非亲和/亲和和互作零点的表达水平均相同,而在接种后的其他时间点,它们的表达在互作反应中或被诱导或被抑制,说明这些表达的变化仅仅与接种的不同小种有关,肯定了所分离到的基因及其表达变化的可靠性,受不同小种病原菌侵染后,由于一些参与防卫反应的基因被诱导或被抑制的程度和持续时间的不同可能导致水稻小种特异的抗性。

4 展 望

稻瘟病的抗性研究一直以来都是科学家们研究的热点问题,随着近年来生物技术的发展,水稻和稻瘟病菌的全基因序列的测序工作的完成,越来越多有关抗性的生物学信息被人们发现并逐渐被利用,这对抗病育种与稻瘟病菌生理小种致病性方面的研究工作起到了实质性的提高。我们认为,正确利用先进的分子生物技术培育聚合或多系水稻品种,能够及时、准确地鉴别不同地域稻瘟病菌对品种的致病信息,并依此合理布局水稻品种,是今后一段时期稻瘟病研究的主要方向。

参考文献:

- [1] Ou S H. Rice disease[M]. Farnham Royal, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1985: 125, 539-582.
- [2] Sicard D, Micalakis Y, Dron M, et al. Genetic diversity and pathogenic variation of *colltotrichum lindemuthianum* in the three centers of diversity of its host *phaseolus vulgaris*[J]. *Phytopathology*, 1997, 87(8): 808-813.
- [3] 凌忠专,潘庆华,黄书钟,等.水稻抗稻瘟病育种[M].福州:福建科学技术出版社,1990: 737-745.
- [4] 张锦花,施碧红,赵明富,等.水稻抗稻瘟病基因研究概况[J].生物技术通报,2007(2): 18-26.
- [5] Zhu M, Wang L, Pan Q. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Genetics and Resistance*, 2004, 94(5): 515-519.
- [6] 项友斌,梁竹青,高明尉,等.农杆菌介导的苏云金杆菌杀虫基因 cryIA(b)和 cryIA(c)在水稻中的遗传转化及蛋白表达[J].生物工程学报,1999, 15(4): 494-500.
- [7] Chen S, Wang L, QUE Z, et al. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 111(8): 1563-1570.
- [8] Kaji R, Ogawa T, Nishimura M. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Breed Science(supple. 1)*, 1997, (47): 37.
- [9] Miyamoto M, Ando I, Rybka K, et al. High Resolution Mapping of the Indica-Derived Rice Blast Resistance Gene Pi-b[J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 1996(9): 6-13.
- [10] Tabien R E, Li Z, Paterson A H, et al. Survey of the Studies on Rice

- Blast Resistance Gene[s] J. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 101(8): 1215-1225.
- [11] 李仕贵,马玉清,王玉平,等.籼稻品种地谷抗稻瘟病基因的遗传分析和定位[J].自然科学进展,2000, 10(1): 44-48.
- [12] Zhou J H, Wang J L, Xu J C, et al. Identification and mapping of a rice blast resistance gene Pi-g(t) in the cultivar Guangchangzhan [J]. *Plant Pathology*, 2004, 53(2): 191-196.
- [13] Chai B F. Agrobacterium-mediated Transformation of Kentucky Bluegrass[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(8): 966-973.
- [14] Naqvi N I, Bonman J M, Mackill D J. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Molecular Breeding*, 1995, 1(4): 341-348.
- [15] Ahn S, Kim Y, Hong H, et al. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Euphytica*, 2000, 116: 17-22.
- [16] Teresita V, Mew A S, Parco S H, et al. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *International Rice Research Notes*, 1994, 19(4): 4-5.
- [17] Causse M, Ikuo Ando, Akira Saito. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Genetics*, 1994, 138: 1251-1274.
- [18] 吴建立,柴荣耀,庄杰云,等.抗稻瘟病水稻材料谷梅2号中主效抗稻瘟病基因的成簇分布[J].中国水稻科学,2004, 18(6): 567-569.
- [19] Bomans C A, Marchetti M A, Johnson C W, et al. Study Advances on Genetics of Blast Resistance of Rice[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004(107): 1014-1020.
- [20] 吴建利,庄杰云,李德葆,等.水稻对稻瘟病抗性的分子生物学研究进展[J].中国水稻科学,1999, 13(2): 123-128.
- [21] 朱立煌,徐吉臣,陈英,等.水稻对稻瘟病抗性的分子生物学研究进展[J].中国科学,1994, 24(10): 1048-1052.
- [22] Bernuyer R, Adr it H, Milazzo J, et al. Advances on the identification and characterization of broad-spectrum blast resistance genes in rice [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 1139-1147.
- [23] Liu X Q, Wang L, Chen S, et al. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Molecular Genetics and Genomics*, 2005, 274(4): 394-401.
- [24] 徐淑平,卫志明,黄健秋,等.根癌农杆菌介导 B. t. 基因和 CpTI 基因对花椰菜的转化[J].植物生理与分子生物学学报,2002, 28(3): 193-199.
- [25] Jeon J S, Chen D, Yi G H, et al. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Mol Gen Genomics*, 2003, 269: 280-289.
- [26] Pan Q, Hu Z, Takatoshi T, et al. Fine Mapping of the Blast Resistance Gene Pi15. Linked to Pi, on Rice Chromosome9[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(7): 871-877.
- [27] Wang G, Mackill D J, Bonman J M. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar[J]. *Genetics*, 1994, 136: 1421-1434.
- [28] Inukai T, Zeigler RS, Sarkarung S. Development of pre-isogenic lines for rice blast-resistance by marker-aided selection from a recombinant inbred population[J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 560-567.
- [29] Yang Q, Saito K, Yang P, et al. Proceedings of General Meeting of the Rice Blast in China[M]. 2001: 49-55.
- [30] Chen D H, Vina M D, Inukai T, et al. Molecular mapping of the blast resistance gene, Pi44(t), in a line derived from a durably resistant rice cultivar[J]. *Theor Appl Genet*, 1999, (98): 1046-1053.
- [31] Chauhan R S, Farman M L, Zhang H B, et al. Molecular Localization and Cloning of Rice Blast Resistance Gene[s] J. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267: 603-612.

- [32] Kaji R, Ogawa T. Survey of the Studies on Rice Blast Resistance Genes[J]. IRRN, 1996, 21:47.
- [33] Shama T R, Singh B K, Shanker P, et al. The first session of the General Assembly rice functional genomics 2003.
- [34] Fujii K, Hayano-Saito Y, Saito Y. Identification of a RFLP marker tightly linked to the panicle blast resistance gene Pbl, in rice[J]. Breeding Sci., 2000, 50: 183-188.
- [35] Imbe T, Ora S, Yanoria M T. Construction of several plant expression vectors using multiple cell wall degrading enzyme genes from *Trichoderma harzianum* and rice transformation[J]. Rice Genet News, 1997, (14): 60-61.
- [36] Wu K S, Martinez C, Lentini Z, et al. Analysis of a Mosaic Monosomic Alien Addition Line of Rice with Chromosome 7 of *Oryza officinalis* C-Genome and Its Backcross Progeny[J]. Rice Genetics III Proceedings of the Third International Rice Genetics Symposium 1996 (16): 669-674.
- [37] Naqvi N, Chattoo B. In Rice Genetics III Proceedings of the Third International Rice Genetics Symposium In; IRRN, 1996(16): 570-576.
- [38] 郑康乐, 钱惠荣, 庄云杰, 等. 应用 DNA 标记定位水稻的抗稻瘟病基因[J]. 植物病理学报, 1995, 25(4): 307-313.
- [39] Rybka K. Pi-ta2 and Pi-ta and a consideration of their origin[J]. Mol Plant-Microbe Interact, 1997, (10): 517-524.
- [40] He Z H, Dong H T, Cheng S J, et al. Molecular cloning of differentially expressed novel genes induced by *Magnaporthe grisea*[J]. Chinese Science bulletin, 1997, 42(2): 1748-1749.
- [41] 李常银, 杨谦, 王晓飞, 等. 抗稻瘟病新基因 pi-hit-1 的克隆与功能研究[J]. 高技术通讯, 2004, (10): 21-26.
- [42] Hittalm S, Parco A, Mew T V, et al. Fine mapping Appl Genet and DNA marker assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice[J]. Theor Appl Genet, 2000 (100): 1121-1128.
- [43] 冯道容, 许新萍, 卫剑文, 等. 使用双抗真菌蛋白基因提高水稻抗病性的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(11): 1187-1191.
- [44] 许明辉, 李成云, 李进斌, 等. 转溶菌酶基因水稻稻瘟病抗谱分析[J]. 中国农业科学, 2003, 36(4): 387-392.
- [45] 李进斌, 姚春馨, 许明辉, 等. 三个外源抗稻瘟病基因聚合与研究[J]. 西南农业学报, 2007, 20(1): 49-52.
- [46] 凌忠专, 雷财林, 王久林, 等. 稻瘟病生理小种研究的回顾与展望[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 1849-1859.
- [47] 山崎义人, 高坂淳尔. 稻瘟病与抗病育种[M]. 凌忠专, 孙昌其, 译. 北京: 农业出版社, 1990: 353.
- [48] Yamada M, Kiyosawa S, Yamaguchi T, et al. Proposal of a new method for differentiating races of *Pyricularia oryzae* Cavara in Japan [J]. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1976, 42: 216-219.
- [49] Latterell F M, Marchetti M A, Grove B R. Co-ordination of effort to establish an international system for race identification in *Pyricularia oryzae*. The Rice Blast Disease[M]. Baltimore, Maryland, US: Johns Hopkins Press, 1965: 257-274.
- [50] 全国稻瘟病生理小种联合试验组. 我国稻瘟病菌生理小种研究[J]. 植物病理学报, 1980, 10(2): 71-82.
- [51] Ling Z Z, Mew T V, Wang J L, et al. Development of near-isogenic lines as international differentials of the blast pathogen[J]. International Rice Research Newsletter, 1995, 20(1): 13-14.
- [52] 曾千春, 叶华智, 朱祯, 等. 稻瘟病分子生物学研究进展[J]. 生物技术通报, 2000(3): 1-7.
- [53] Yu Y C, Buss G R, Maroof M A. Isoastion of a superfamily of candidate disease resistance genes in soybean on a conserved nucleotide binding site[J]. PNAS, 1996, 93: 11751-11756.
- [54] Dean R A, Talbot N J, Ebbole D J, et al. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*[J]. Nature, 2005, 434: 980-986.
- [55] Sweigard J A, Carroll A M, Farrall L, et al. *Magnaporthe grisea* pathogenicity genes obtained through insertional mutagenesis[J]. MPMI, 1998, (11): 404-412.
- [56] Pascale V, Balhaens Andrew J, et al. Talbot Identification of pathogenicity mutants of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* by insertional mutagenesis[J]. MPMI, 1999, 12(2): 129-142.
- [57] 李宏宇, 潘初沂, 陈涵, 等. 稻瘟病菌 T-DNA 插入方法优化及其突变体分析[J]. 生物工程学报, 2003, 19(4): 419-423.
- [58] 迟归兵, 魏士平, 潘洪玉, 等. 稻瘟病菌 REMI 突变体库的构建[J]. 内蒙古民族大学学报, 2004, 19(3): 287-289.
- [59] 孙漱沅, 金敏忠, 张志明, 等. 水稻稻瘟病及其防治[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [60] 李露, 李成云, 杨明, 等. 稻瘟病菌致病机制及无毒基因的研究进展[J]. 云南农业科技, 2001(4): 41-44.
- [61] 胡海燕, 庄杰云, 柴荣耀, 等. 水稻对不同小种稻瘟菌抗性差异表达基因的鉴定[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(1): 1-6.

(上接第 122 页)

2.8 深化户籍制度改革, 实现农村劳动力合理流转

“小城镇”战略是解决中国农民问题的根本, 城乡一体化发展最根本是要给农民以城市待遇。而现行的二元户籍制度是制约城乡一体化的基础性制度, 必须深化城市户籍制度改革, 放开农民进城的枷锁, 才能实现农村经济的发展。改革户籍制度的基本思路是: 户口与福利脱钩, 消除农民和市民的身份差别, 逐步实现居住自由, 迁移登记的制度。基本措施是: 进一步放开中小城市户口, 对想落户的流转农民工准予落户, 大城市继续实行比较严格的户籍制度。对有稳定工作和住所并在城市工作时间较长, 在城市购买商品住房和有特殊贡献的流动人口办理长期居住证, 真正促进农村人

口合理流动, 实现城乡一体化发展。合理引导农民工流向。要把加快农村剩余劳动力转移, 实现农民充分就业、稳定就业作为重要任务。必须广开门路, 多渠道并举、多形式并存、多层次展开, 不断开拓农村剩余劳动力转移渠道, 努力实现农民工合理有序流动。要坚持两手抓, 一手继续抓好农村劳动力外出务工的组织和培训工作, 一手抓扶持农民工返乡创业工作, 形成促进输出与回流创业的良性互动。

参考文献:

- [1] 郑功成. 中国农民工问题与社会保护[M]. 北京: 人民出版社, 2007.
- [2] 程新征. 中国农民工若干问题研究[M]. 北京: 中央编译出版社, 2007.