

水稻品种资源对细菌性条斑病菌的抗性评价

冯爱卿, 陈 深, 杨健源, 汪聪颖, 汪文娟, 苏 菁, 曾列先, 朱小源

(广东省农业科学院植物保护研究所/广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640)

摘要:选育和应用抗病品种是防治水稻细菌性病害最经济、有效的方法, 抗性资源的筛选及利用是选育抗病品种的前提。本研究利用苗期喷雾法对中国 59 个水稻品种、318 份国外稻种资源以及 13 个抗白叶枯病近等基因系进行了细菌性条斑病抗性评价。测定的 59 个中国水稻品种对测试的细菌性条斑病病原均表现出感病; 在鉴定的 318 个国外稻种资源中, 抗细菌性条斑病的材料有 82 个, 其中高抗和抗的稻种资源有 POPONG、IR63372-8、WEDA HEENATI、BALAYAN、GHARIBE 等 17 份; 在测试的 13 个抗白叶枯病近等基因系中, 仅有 IRBB5 表现出抗细菌性条斑病, 对白叶枯病抗谱较广的 IRBB21、CBB23 对测试的病菌表现出高感。应用 SPSS 统计软件, 对 82 个抗细菌性条斑病的稻种资源和 13 个抗白叶枯病近等基因系的细菌性条斑病和白叶枯病的抗性相关性分析结果分别为 r 值 0.103 和 P 值 0.358 (>0.05)、 r 值 0.527 和 P 值 0.064 (>0.05), 表明测试稻种对两病的抗性没表现出相关性。利用 *xa5* 基因功能标记, 对 79 个抗细菌性条斑病资源进行了 *xa5* 基因检测, 结果显示有 30 个品种含有 *xa5* 基因, 其余 49 个不含 *xa5* 基因。本研究筛选出的 49 个抗性稻种资源对抗细菌性条斑病基因的挖掘以及品种的创制具有重要的价值。

关键词:细菌性条斑病; 稻种资源; 抗白叶枯病品种; 抗性鉴定

Evaluation of the Resistance of Rice Germplasm Against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*

FENG Ai-qing, CHEN Shen, YANG Jian-yuan, WANG Cong-ying, WANG Wen-juan,
SU Jing, ZENG Lie-xian, ZHU Xiao-yuan

(Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Guangdong
Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640)

Abstract: Application of resistant varieties is one of the most economical and effective measure to control rice bacterial leaf streak (BLS). Exploration of resistant germplasm is the fundamental work for further developing resistance varieties. Fifty-nine of Chinese rice varieties (hybrid combinations), 318 of foreign germplasm accessions and 13 of near-isogenic lines (NILs) with resistance to bacterial blight (BB) were test for BLS resistance. All of Chinese rice varieties were susceptible to BLS, while 82 of imported rice accessions were highly resistant or resistant, including POPONG, IR63372-8, WEDA HEENATI, BALAYAN, GHARIBE etc. One BB near-isogenic line IRBB5 was resistant to BLS, while IRBB21 and CBB23 with broad spectrum resistance to bacterial blight were highly susceptible to BLS. Ninety-five of rice germplasm accessions were selected to analyze the association between the resistances of BB and BLS. No correlation between two diseases was detected in 82 rice germplasm accessions ($r = 0.103$, P -value = 0.358) and 13 of BB NILs ($r = 0.527$, P -value = 0.064). By deploying the functional marker of *xa5*, thirty of 79 tested germplasm accessions with good resistance to BLS had been detected with the *xa5* gene, while the other forty-nine accessions did not carried *xa5*, these accessions could be the important resources in gene mining and

收稿日期: 2018-05-03 修回日期: 2018-06-19 网络出版日期: 2018-09-08

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.s.20180904.1659.002.html>

基金项目: 国家水稻产业技术体系 (CARS-01-32); 广东省现代农业产业技术体系创新团队 (2017LM1075); 广东省科技项目 (2015B020231003, 2015A020210081, 2016B090918116, 2016A050502030, 2017A020224014); 广东省农业科学院学科团队建设项目 (201613TD)

第一作者研究方向为水稻抗病资源挖掘及病害防控研究。E-mail: fengaq@gdppri.com

通信作者: 朱小源, 研究方向为水稻抗病性研究。E-mail: zhuxy@gdppri.com

breeding for BLS resistance.

Key words: bacterial leaf streak; rice germplasm; bacterial blight resistance varieties; resistance evaluation

水稻细菌性条斑病(Rice bacterial leaf streak,简称细条病)自1918年在菲律宾发现以来,已逐渐发展成亚洲和非洲水稻产区的主要病害之一^[1-2]。在中国,该病于1957年在广东省珠江三角洲首次发现,目前主要分布于华南、华中、华东及西南地区^[3-4]。该病具有传染快、根治难度大的特点。一般造成水稻减产6%~40%,病害严重时减产40%以上^[5-6]。近年由于杂交稻的推广、南繁稻种的调运、台风暴雨发生频繁、药剂防效偏低以及缺乏有效的抗病品种等综合因素的影响,发病面积逐渐扩大,成为威胁华南、长江流域稻区安全生产的重要细菌性病害。

水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*,简称Xoo)和细菌性条斑病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*,简称Xoc)均由稻黄单胞菌侵染引起,两者从水稻苗期到抽穗期均可发生,以分蘖末期至抽穗前期发病严重,均可引起叶片干枯,危害严重时影响抽穗灌浆,造成严重损失。但两病在发生部位、病斑特征、菌脓特征、侵入部位等存在明显的差异,Xoc与Xoo致病机理虽有类似,但部分致病基因不一致,Xoo致病机理由一套“生态位专一特性”的基因决定,而Xoc对寄主植株的致病性主要由hrp基因簇决定^[7-8]。正是这些不同点的存在,导致细菌性条斑病的抗性鉴定方法、抗性品种的应用、抗病基因等有别于白叶枯病。

挖掘和培育抗病品种是防控水稻细菌性病害最环保、高效的方法。目前至少有40个抗白叶枯病主效基因被鉴定,并广泛应用于抗病育种,但是被鉴定并可利用的抗细菌性条斑病基因极其有限,目前仅Triplett等^[9]、Xie等^[10]、Zhao等^[11]分别鉴定到1个显性主效抗性基因Xol1、1个隐性抗性基因qBlSr5a及1个非寄主抗性基因Rxol。Xol1被定位于第4染色体长臂上、与Xal1紧密连锁,qBlSr5a在xa5座位上,因此,以上2个基因是新基因还是已报道的白叶枯病抗性基因尚需进一步确认。而Rxol是来源于玉米的抗性基因,被直接应用于抗病育种及生产上尚存在转基因瓶颈问题。因此,鉴定筛选新的抗细菌性条斑病的稻种资源、挖掘新的抗病基因是我国乃至全世界水稻生产国迫切需要解决的问题。本研究通过苗期喷雾法对377个国内外品种资源和13个含有白叶枯病抗性基因品种进行了细菌

性条斑病抗性鉴定,在此基础上完成了82个抗细条病稻种资源、13个抗白叶枯病近等基因系对白叶枯病、细菌性条斑病的抗性相关性分析以及对筛选出的79个抗细条病资源进行了xa5基因检测,明确了测试品种资源对细菌性条斑病的抗性,为挖掘细菌性条斑病抗性基因以及抗病种质创新提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 接种菌株 水稻细菌性条斑病抗性鉴定接种菌株为来自中国的广东茂名、致病性稳定的菌株GDXc1608;水稻白叶枯病抗性鉴定菌株为华南白叶枯病强毒菌系V型菌代表菌株GDXo6027^[12]。以上菌株均已应用于冯雯杰等^[13]、李云飞等^[14]所建立的多重PCR检测技术并进行了分子鉴定。

1.1.2 供试水稻品种 测试的377个国内外稻种新资源包括来自中国的广东、广西、云南、四川的59个主栽新品种(9个常规稻、50个杂交稻),来自孟加拉国、巴西、印度、印度尼西亚、伊朗、意大利、科特迪瓦、日本、马达加斯加岛、菲律宾、斯里兰卡、塞内加尔、美国、澳大利亚、马来西亚等52个国家的稻种资源318份,抗白叶枯病近等基因系13个,包括IRBB1、IRBB2、IRBB3、IRBB4、IRBB5、IRBB7、IRBB8、IRBB10、IRBB11、IRBB13、IRBB14、IRBB21、CBB23。细菌性条斑病菌株致病力鉴定的鉴别寄主:IRBB4、IRBB5、IRBB14、IRBB21、IR24、金刚30^[5,15]。

1.2 试验方法

1.2.1 细菌性条斑病抗性鉴定和评价方法 2016年8-9月将供测试的水稻品种播种在搪瓷盆内,每个品种播种10~12粒,每个盆内种植6个鉴别寄主和18个供试品种,设2次重复。接种时期在秧苗大部分长至3.5~4叶龄时,采用人工喷雾的方法,每盆喷菌液量为20~30 mL,以叶片布满液珠为止。接种菌株在PDA培养基上28℃下培养,接种菌龄为48~72 h,以麦法兰氏分度计比浊法,配制 3×10^8 个CUF/mL细菌悬浮液进行接种。接种后置于培养箱中24 h,温度为28℃,湿度保持在95%以上。然后放在恒温室中15~20 d,定时喷雾保湿,温度为28~32℃,当感病对照品种发病充分时调查各品种病级情况。按国际水稻所分级标准衡量品种的抗感

性,以病斑占叶面积百分比为指标:高抗(HR),无病征;抗(R),小于1%;中抗(MR),1%~5%;中感(MS),6%~25%;感(S),26%~50%;高感(HS),51%~100%^[16]。

1.2.2 白叶枯病抗性鉴定和评价方法 2017 年晚造测试的 82 个抗细菌性条斑病稻种资源、13 个抗白叶枯病近等基因系品种种植于广东省农业科学院钟落潭白云基地发病环境适宜的试验田中,每个品种种植 10 丛,密度为 0.2 m×0.2 m,重复 2 次。用人工剪叶方法于水稻孕穗期接菌,菌液浓度为 3×10^8 个 CUF/mL,每个品种接种 8 丛。接种 21 d 后,调查接种叶片病斑长度及叶长,各品种随机调查 10 片叶,取 2 次重复的平均值,参照 SES 标准换算相应病级,抗性分级标准如下:高抗(HR),病斑长 1 cm 以下;抗(R),病斑长 1~3 cm;中抗(MR),病斑长 3 cm 以上,病斑与叶长的比率 $\leq 25\%$;中感(MS),病斑与叶长的比率 25%~50% (包含 50%);感(S),病斑与叶长的比率 50%~75% (包含 75%);高感(HS),病斑与叶长的比率大于 75%^[17-19]。

1.2.3 稻种资源 *xa5* 基因检测方法 参考 Iyer-Pascuzzi 等^[20]开发的抗白叶枯病 *xa5* 基因特异性功能标记检测方法,对国外稻种资源中筛选出的 79 个抗细条病资源品种进行检测。每个品种分别从 3 棵独立单株中剪取叶片,用 SDS 微量 DNA 提取法提取基因组 DNA,分别用上下游引物,进行扩增,用对应地限制性内切酶(如 Bsr1、Sml1)酶切扩增产物,电泳检测酶切带型来判断各品种含有 *xa5* 基因的情况。PCR 反应条件:总体系为 20 μ L,水稻 DNA 模板 1 μ L(约 20~30 ng/ μ L),BioTeke 2×PCR 混合缓冲液 10 μ L,引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L,用 ddH₂O 补足体系。PCR 反应程序:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 30 s,55 °C 30 s,72 °C 延伸 1 min,35 个循环;72 °C 延伸 5 min。扩增结束后,以各管 PCR 产物为模板,用限制性内切酶(Bsr1 和 Sml1)进行酶切。酶切体系为 10 μ L,其中:PCR 产物 5 μ L,10×酶切 Buffer 1 μ L,限制性内切酶 0.3 μ L,用 ddH₂O 补足体系。在相应的最适宜酶切温度下(Bsr1 用 NEBbuffer 3.1,65 °C;Sml1 用 NEBCut-Smart,55 °C)酶切 4 h 后,加入 Loading Buffer,用 2% 的琼脂糖凝胶电泳,条件为 120 V,30 min。

1.2.4 数据分析统计方法 抗细条病稻种资源和抗白叶枯病近等基因系品种对细菌性条斑病和白叶枯病的抗性相关性分析采用 SPSS 统计软件进行统

计,计算 *P* 值(significance probability)和 *r* 值(Pearson Correlations)。判断标准如下:当 *P* 值 > 0.05 时相关性系数 *r* 值没有统计学意义,无论 *r* 值大小,都表明两者之间没有相关性;当 *P* 值 < 0.05 时,*r* 值具有统计学意义,证明两者具有相关性。再看 *r* 值,在 *r* > 0 时说明两变量正相关,在 *r* < 0 时说明两变量负相关。 $|r| \geq 0.8$,两变量高度相关; $0.5 \leq |r| < 0.8$,说明两变量中度相关; $0.3 \leq |r| < 0.5$,两变量低度相关; $0 \leq |r| < 0.3$,两变量基本不相关。

2 结果与分析

2.1 抗性鉴定数据的有效性

本研究中感病对照品种金刚 30 在苗期喷雾接种试验中病斑占叶面积百分比为 80%,抗性评价为高感,鉴定结果被认为有效且强度适宜。此外,在苗期喷雾接种,品种的抗感表型明显不同(图 1),感病品种叶片呈现水渍状、黄色、扩展长条斑,菌脓较多,此症状为感病反应,而抗病品种叶片只呈现黄褐至黑褐色短条斑,菌脓较少,此症状为抗病反应。因此,本研究评价体系及鉴定结果是可靠的。



天优华占 深优 9708 云光 14 号 FULKATI KULOB ARC 11559

图 1 苗期人工喷雾接种抗感品种表型

Fig. 1 Phenotype of the resistant and susceptible genotypes against BLS with artificial spray inoculation at the seedling stage

2.2 稻种资源对细菌性条斑病的抗性评价

377 份稻种资源中对细菌性条斑病表现高抗、抗、中抗、中感、感、高感的资源所占比例分别为 0.80% (3 份)、3.71% (14 份)、17.24% (65 份)、

34.75% (131 份)、31.03% (117 份)、12.47% (47 份) (图 2)。被鉴定的 59 个中国品种中没有发现抗性品种 (表 1), 318 个国外稻种资源中表现抗病的资源有 82 份 (表 2), 占 25.79%, 来自 23 个国家, 筛选出表现高抗和抗的稻种资源有 FULKATI、IR 43、SHADA SHAITA、SOLOI、SREERAMPUR SHAITA、SULTANJATA、TI KU、WEDA HEENATI、DA 29 (SR 26 B)、BALAYAN、GHARIBE、CHANDARHAT、JABOR SAIL、DHALA BHADOI、UPRH 184、POPONG、IR 63372-8 等 17 份, 这些资源可进一步用于细菌性条斑病抗病基因挖掘和抗病新组合的创制。

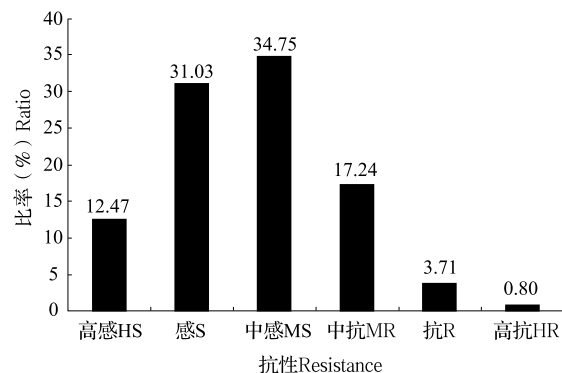


图 2 377 份稻种资源对细菌性条斑病抗性类型比率图

Fig. 2 The ratio of different resistance types in the 377 rice accessions

表 1 中国部分水稻品种对细菌性条斑病抗性

Table 1 Evaluation for bacterial leaf streak resistance in domestic rice varieties

品种 Variety	病斑占叶面积百分比 (%) Leaf area diseased	抗性 Resistance	品种 Variety	病斑占叶面积百分比 (%) Leaf area diseased	抗性 Resistance
H 两优 6835	10	中感	兆两优 7213	60	高感
云光 101	20	中感	丰源优 219	60	高感
新银占	20	中感	中浙优 10 号	60	高感
泰优 99	30	感	晶两优华占	60	高感
银丰优 422	30	感	五优 308	60	高感
华优 008	30	感	丰优香占	65	高感
合美占	30	感	田丰优 109	65	高感
云光 17 号	40	感	中优 5617	65	高感
云光 104	40	感	Y 两优 2 号	70	高感
F 优 498	40	感	内香 8518	70	高感
广信优 5113	40	感	内香 8156	70	高感
特优玉 1 号	40	感	宜香优 7808	70	高感
粤晶丝苗 2 号	40	感	中优 177	70	高感
玉香油占	40	感	天优 96	70	高感
五山丝苗	40	感	钱优 1 号	70	高感
白香占	45	感	深优 9583	70	高感
广 8 优 2168	45	感	宜香 9 号	80	高感
广 8 优 169	45	感	宜香 10 号	80	高感
深优 9516	45	感	滇昆优 8 号	80	高感
Y 两优 85	50	感	云两优 144	80	高感
川谷优 399	50	感	宜香 673	80	高感
川优 6203	50	感	Ⅱ 优 6 号	80	高感
金农丝苗	50	感	D 优 202	80	高感
美香占 2 号	50	感	内 5 优 317	80	高感
天优 3618	50	感	特优 524	80	高感
华优 665	50	感	宜香 2239	80	高感
深两优 58 香油占	50	感	深优 9708	80	高感
黄华占	55	高感	天优华占	80	高感
旌 3 优 177	60	高感	云光 14 号	90	高感
D 优 448	60	高感			

表 2 抗细菌性条斑病国外稻种资源

Table 2 Imported rice germplasm accessions with the resistance to bacterial leaf streak

品种 Variety	来源 Cultivar origin	病斑占 叶面积 百分比(%) Leaf area diseased	抗性 Resistance	品种 Variety	来源 Cultivar origin	病斑占 叶面积 百分比(%) Leaf area diseased	抗性 Resistance
UPRH 184 ⁺	印度	0	高抗	MIMIDIM ⁻	孟加拉国	3	中抗
POPONG ⁻	马来西亚	0	高抗	SACIA 1(TACU) ⁻	玻利维亚	3	中抗
IR 63372-8 ⁻	菲律宾	0	高抗	TAREME ⁻	伊朗	3	中抗
FULKATI ⁺	孟加拉国	<1	抗	WAB 99-16 ⁻	科特迪瓦	3	中抗
IR 43 ⁻	菲律宾	<1	抗	KOALARETA ⁻	印度	3	中抗
SHADA SHAITA ⁺	孟加拉国	<1	抗	DIXIEBELLE ⁺	美国	3	中抗
SOLOI ⁺	孟加拉国	<1	抗	IR 2006-P12-12-2 ⁻	菲律宾	3	中抗
SREERAMPUR SHAITA ⁺	孟加拉国	<1	抗	IRAT 2 ⁻	塞内加尔	3	中抗
SULTANJATA ⁺	孟加拉国	<1	抗	CO 39-1 ⁻	印度	4	中抗
TI KU ⁻	中国	<1	抗	DA 28 ⁺	孟加拉国	4	中抗
WEDA HEENATI ⁻	斯里兰卡	<1	抗	DA 8 ⁺	孟加拉国	4	中抗
DA 29(SR 26 B) ⁻	孟加拉国	<1	抗	JC 111 ⁻	印度	4	中抗
BALAYAN ⁻	马来西亚	<1	抗	MERY ⁻	孟加拉国	4	中抗
GCHARIBE ⁻	伊朗	<1	抗	CHENGRI 2 ⁺	孟加拉国	4	中抗
CHANDARHAT ⁺	孟加拉国	<1	抗	DHARIA BOALIA ⁺	孟加拉国	4	中抗
JABOR SAIL ⁺	孟加拉国	<1	抗	ARGO ⁻	意大利	4	中抗
DHALA BHADOI ⁺	孟加拉国	<1	抗	C 8434 ⁻	巴布亚新几内亚	4	中抗
KULOB ⁻	马来西亚	1	中抗	YAKADA ⁻	斯里兰卡	4	中抗
BHADOIA 303 ⁻	孟加拉国	2	中抗	LEVANTE HOMEM ⁻	巴西	4	中抗
MIKOTCHU ⁻	孟加拉国	2	中抗	SACIA 4(JISUNU) ⁻	玻利维亚	4	中抗
MOSHUR ⁺	孟加拉国	2	中抗	TAINAN IKU 512 ⁺	中国台湾	4	中抗
PANKHIRAJ ⁺	孟加拉国	2	中抗	DA9 ⁻	孟加拉国	5	中抗
TUNG CHIU AI ⁻	中国	2	中抗	AUS 196 ⁺	孟加拉国	5	中抗
ARC 11559 ⁻	印度	2	中抗	NARIKEL JHUPI ⁺	孟加拉国	5	中抗
DULAR ⁺	印度	2	中抗	182 ⁻	巴基斯坦	5	中抗
IRAT 170 ⁻	科特迪瓦	2	中抗	BAILAM ⁺	孟加拉国	5	中抗
KPOGON ⁻	利比里亚	2	中抗	BAULAN ⁺	孟加拉国	5	中抗
MAT MERAH ⁻	印度尼西亚	2	中抗	CHIADI NAKI ⁻	印度	5	中抗
PECOS ⁻	美国	2	中抗	DHALASHAITA ⁺	孟加拉国	5	中抗
SAO ⁻	利比里亚	2	中抗	DHALI KHAMA	孟加拉国	5	中抗
IRAT 364 ⁻	尼加拉瓜	2	中抗	MADHABSAIL 741 ⁻	孟加拉国	5	中抗
AUS JOTA ⁺	孟加拉国	3	中抗	NCS 160 ⁻	印度	5	中抗
BAWOI ⁺	孟加拉国	3	中抗	ARC 10352 ⁻	印度	5	中抗
BENAMURI ⁺	孟加拉国	3	中抗	BOTPA BARA ⁻	不丹	5	中抗
BOILAN ⁺	孟加拉国	3	中抗	IAC 164 ⁻	巴西	5	中抗
AUS 41 ⁺	孟加拉国	3	中抗	INUWAY ⁻	菲律宾	5	中抗
SERETY ⁻	孟加拉国	3	中抗	KI 68 ⁻	印度	5	中抗
SHIRKATI ⁺	阿富汗	3	中抗	BENGIZA ⁻	马达加斯加岛	5	中抗
DAL KASHAI ⁻	孟加拉国	3	中抗	VARY MAINTY	马达加斯加岛	5	中抗
DULAR	印度	3	中抗	KUROKA ⁻	日本	5	中抗
JHUM SONALICHIKON ⁺	孟加拉国	3	中抗	BORABI ⁻	印度尼西亚	5	中抗

“+”指经检测含 *xa5* 基因的抗病资源;“-”指经检测不含 *xa5* 基因的抗病资源,未标注的资源未经检测

“+”represents the rice germplasm carrying the *xa5* gene which is resistant to bacterial leaf streak after detection,“-”represents the rice germplasm that doesn't have the *xa5* gene which is resistant to bacterial leaf streak after detection. The rice germplasm with no label means no detection

2.3 抗细菌性条斑病稻种资源对白叶枯病的抗性研究

以上 82 个抗细菌性条斑病稻种资源对两种细菌性病害的抗性鉴定数据相关性分析, P 值为 0.358 (>0.05)、 r 值为 0.103 (表 3), 表明没有统计学意义, 说明鉴定的水稻资源对这两种细菌性病害的抗性没有相关性。82 个抗细菌性条斑病稻种资源中表现为双抗的资源仅有 30 个 (表 4), 占 36.59%。稻种资源对这两种细菌病害的抗性差异表明, 生产中不能随意用抗白叶枯病的品种作为防治细菌性条斑病的抗源。

表 3 82 个稻种资源对两种细菌病害的抗性相关性分析结果
Table 3 Association analysis of resistance against two bacterial diseases in 82 rice accessions

		细菌性条斑病 Xoc	白叶枯病 Xoo
细菌性条斑病 Xoc	相关性系数 r 值	1	0.103
	显著性值 P 值 (双侧)		0.358
	样本数	82	82
白叶枯病 Xoo	相关性系数 r 值	0.103	1
	显著性值 P 值 (双侧)	0.358	
	样本数	82	82

表 4 双抗白叶枯病和细菌性条斑病的国外稻种资源

Table 4 Imported rice germplasm accessions with the resistances to bacterial blight and bacterial leaf streak

品种 Variety	来源 Origin	细菌性条斑病 Reaction to Xoc		白叶枯病 Reaction to Xoo			
		病斑占叶面积 百分比 (%)	抗性	病斑长度 (cm) The length of the disease spot	叶长 (cm) Length of leaf	病斑与叶长的 比率 (%)	抗性
		Leaf area diseased	Resistance			The ratio of plaque to leaf	Resistance
IR 43	菲律宾	<1	抗	2.00	46.00	4.35	中抗
DA 29(SR 26 B)	孟加拉国	<1	抗	0.50	39.00	1.28	抗
BALAYAN	马来西亚	<1	抗	0.50	47.67	1.05	抗
Gharibe	伊朗	<1	抗	0.50	26.00	1.92	抗
Jabor sail	孟加拉国	<1	抗	1.50	36.50	4.11	中抗
DHALA BHADOI	孟加拉国	<1	抗	0.83	35.00	2.38	抗
BHADOIA 303	孟加拉国	2	中抗	0.23	46.50	0.50	高抗
DULAR	印度	2	中抗	0.50	36.67	1.36	抗
MAT MERAH	印度尼西亚	2	中抗	1.33	35.00	3.81	中抗
PECOS	美国	2	中抗	1.17	22.33	5.22	中抗
AUS JOTA	孟加拉国	3	中抗	2.50	49.00	5.10	中抗
BENAMURI	孟加拉国	3	中抗	2.50	39.00	6.41	中抗
SERETY	孟加拉国	3	中抗	0.67	34.33	1.94	抗
DULAR	印度	3	中抗	0.50	26.33	1.90	抗
JHUM SONALICHIKON	孟加拉国	3	中抗	1.17	36.33	3.21	中抗
TAREME	伊朗	3	中抗	3.00	44.00	6.82	中抗
KOALARETA	印度	3	中抗	1.83	47.67	3.85	中抗
IRAT 2	塞内加尔	3	中抗	2.33	31.17	7.49	中抗
JC 111	印度	4	中抗	2.00	54.17	3.69	中抗
CHENGRI 2	孟加拉国	4	中抗	1.43	27.17	5.28	中抗
DHARIA BOALIA	孟加拉国	4	中抗	0.50	37.67	1.33	抗
C 8434	巴布亚新几内亚	4	中抗	0.50	28.00	1.79	抗

表 4(续)

品种 Variety	来源 Origin	细菌性条斑病 Reaction to <i>Xoc</i>		白叶枯病 Reaction to <i>Xoo</i>			
		病斑占叶面积 百分比(%)	抗性	病斑长度(cm)	叶长(cm)	病斑与叶长的 比率(%)	抗性
		Leaf area diseased	Resistance	The length of the disease spot	Length of leaf	The ratio of plaque to leaf	Resistance
YAKADA	斯里兰卡	4	中抗	1.83	46.00	3.99	中抗
TAINAN IKU 512	中国台湾	4	中抗	1.33	40.67	3.28	中抗
AUS 196	孟加拉国	5	中抗	0.67	39.83	1.67	抗
DHALI KHAMA	孟加拉国	5	中抗	4.00	54.67	7.32	中抗
ARC 10352	印度	5	中抗	2.00	50.67	3.95	中抗
BOTPA BARA	不丹	5	中抗	0.50	41.67	1.20	抗
KI 68	印度	5	中抗	1.50	36.17	4.15	中抗
BORABI	印度尼西亚	5	中抗	2.50	41.00	6.10	中抗

2.4 含有白叶枯病抗性基因近等基因系对细菌性条斑病的抗性评价

人工接种表明,13 个抗白叶枯病近等基因系中,抗华南白叶枯病强毒菌系 V 型菌的有 IRBB5、IRBB7、CBB23;而对细菌性条斑病华南强毒菌株 GD1608 测试中表现中抗的只有 IRBB5,其他均为感

病(表 5,图 3),相关性分析, P 值为 0.064 (>0.05)、 r 值为 0.527(表 6),表明没有统计学意义,说明鉴定的 13 个抗白叶枯病近等基因系对这两种细菌性病害的抗性没有相关性。由此可见,目前鉴定的白叶枯病抗病基因中,虽然有个别基因会双抗这两种细菌病害,但绝大部分还是只抗白叶枯病。

表 5 抗白叶枯病近等基因系对白叶枯病及细菌性条斑病的抗性

Table 5 Test for resistances against rice bacterial blight and bacterial leaf streak in the BB near isogenic lines

品种 Variety	白叶枯病 Reaction to <i>Xoo</i>				细菌性条斑病 Reaction to <i>Xoc</i>	
	病斑长度(cm)	叶长(cm)	病斑与 叶长比率(%)	抗性	病斑占叶面积 百分比(%)	抗性
	The length of the disease spot	Length of leaf	The ratio of plaque to leaf	Resistance	Leaf area diseased	Resistance
金刚 30	35.7	42.60	83.80	高感	80	高感
IR24	32.5	42.93	75.70	高感	40	感
IRBB1	31.3	45.00	69.56	感	25	中感
IRBB2	31.0	50.66	61.19	感	55	高感
IRBB3	26.3	46.93	56.04	感	50	感
IRBB4	27.0	46.13	58.53	感	55	高感
IRBB5	1.7	45.73	3.72	抗	5	中抗
IRBB7	1.8	46.06	3.91	抗	60	高感
IRBB8	25.8	44.80	57.59	感	50	感
IRBB10	30.8	43.70	70.48	感	30	感
IRBB11	30.1	45.30	66.45	感	30	感
IRBB13	25.0	43.00	58.14	感	25	中感
IRBB14	29.1	41.53	70.07	感	40	感
IRBB21	11.5	44.80	25.67	中感	55	高感
CBB23	1.8	43.12	4.17	抗	55	高感

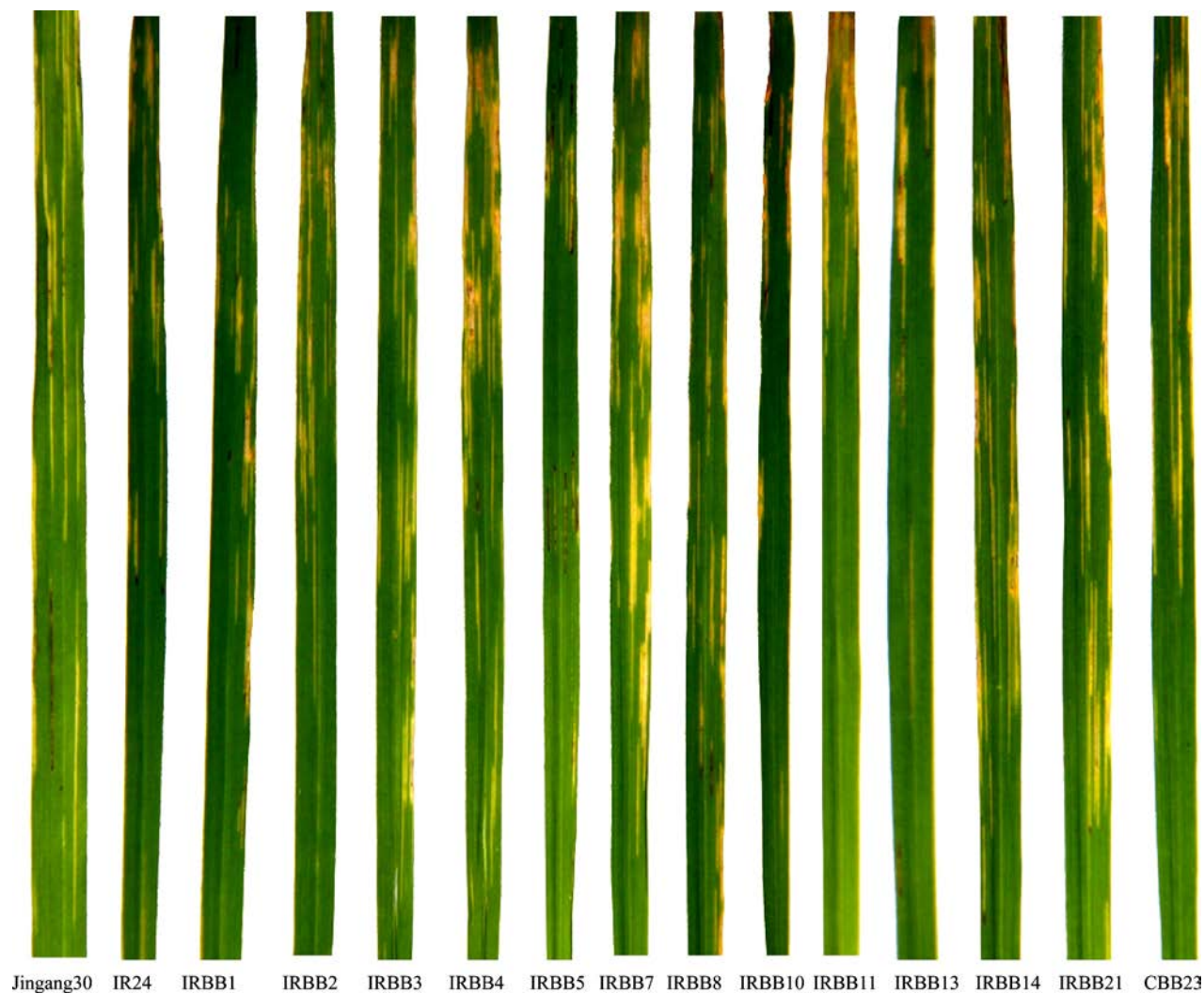


图3 抗白叶枯病近等基因系对细菌性条斑病的抗性反应
Fig.3 Phenotype of the BB near isogenic lines against BLS

表6 抗白叶枯病近等基因系品种对白叶枯病和细菌性条斑病抗性相关性
Table 6 Correlation of resistances to BB and BLS in the BB near isogenic lines

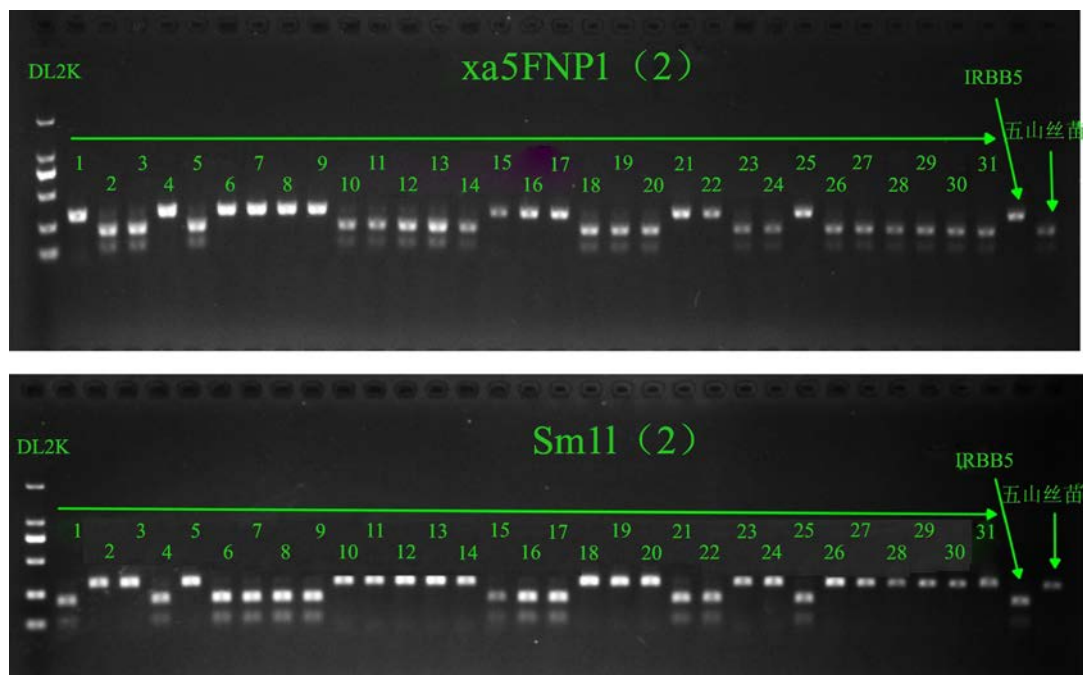
		白叶枯病 <i>Xoo</i>	细菌性条斑病 <i>Xoc</i>
白叶枯病 <i>Xoo</i>	相关性系数 <i>r</i> 值	1	0.527
	显著性值 <i>P</i> 值(双侧)		0.064
	样本数	13	13
细菌性条斑病 <i>Xoc</i>	相关性系数 <i>r</i> 值	0.527	1
	显著性值 <i>P</i> 值(双侧)	0.064	
	样本数	13	13

2.5 抗细菌性条斑病稻种资源 *xa5* 基因的检测

为了明确本研究筛选的抗细菌性条斑病资源是否含 *xa5*,对 79 个抗细菌性条斑病资源进行 *xa5* 基因分子检测。结果表明:有 30 个稻种资源含有 *xa5* 基因,占测试稻种的 37.97%,不含 *xa5* 基因的品种有 49 个。结合相关性分析结果可知,这 49 个不含 *xa5* 基因的抗细菌性条斑病稻种资源很可能含有不同于白叶枯病已知抗病基因的新抗病基因(表 2),部分品种检测电泳图见图 4。

3 讨论

目前对于细菌性条斑病的抗性鉴定方法主要通过人工接种。以苗期喷雾、分蘖盛期至孕穗期喷雾、针刺法为主。周明华等^[21]、肖友伦等^[22]、何月秋



1:UPRH 184;2:POPONG;3:IR 63372-8;4:FULKATI;5:IR 43;6:SHADA SHAITA;7:SOLOI;8:SREERAMPUR SHAITA;9:SULTANJATA;
10:TI KU;11:WEDA HEENATI;12:DA 29(SR 26 B);13:BALAYAN;14:GHARIBE;15:CHANDARHAT;16:JABOR SAIL;17:DHALA BHADOI;
18:KULOB;19:BHADOIA 303;20:MIKOTCHU;21:MOSHUR;22:PANKHIRAJ;23:TUNG CHIU AI;24:ARC 11559;25:DULAR;26:IRAT 170;
27:KPOGON;28:MAT MERAH;29:PECOS;30:SAO;31:IRAT 364

图 4 利用 *xa5* 功能性分子标记对抗细菌性条斑病资源的检测电泳图

Fig. 4 PCR amplification in BLS resistant germplasm accessions using *xa5* molecular markers

等^[23]、文艳华等^[24]分别对 72、54、50、4 个品种进行了喷雾与针刺法接种的比较分析,相关系数 r 值分别为 0.7949、0.8015、0.838、0.848,均为显著相关,说明喷雾与针刺法接种结果具有较好的相关性。张晓葵等^[25]、谢关林等^[26]、王汉荣等^[27]、李友荣等^[28]、农秀美等^[29]均证明苗期鉴定和成株期鉴定结果相关程度较高。因此,应用苗期喷雾接种法是可行、简便、快速的,苗期鉴定的高抗和抗的稻种资源可进一步用于抗病基因挖掘和抗病新组合的创制,对于苗期鉴定为中感、中抗的材料可结合田间成株期抗性鉴定,对这些材料进行进一步的抗性综合评价。

虽然细菌性条斑病发现至今已走过近百年历程,但是国内外对于细菌性条斑病的抗性鉴定评价方法还没有形成统一的标准。喷雾接种一般以病斑占叶面积分级、针刺接种以病斑长度分级,分级标准存在差异,这为抗病基因鉴定中遗传分析的表型抗感判断增加了难度。本研究苗期鉴定中,只要是表现抗病的品种,其病斑均表现为长度较短、菌脓少或没有、病斑边缘黑褐色,甚至没有病斑;而感病品种病斑呈现水渍状、黄色、扩展成

长条斑,菌脓较多;且将以上部分不含 *xa5* 基因的抗病稻种资源成株期进行了针刺接种验证仍然表现为抗病。这与岑贞陆等^[30]报道的 11 份抗源材料对供试 3 个致病型菌株均表现为病斑长度短、边缘黑褐色,而且病部菌脓极少或看不到,表现出强的抗侵入、抗扩展的能力是一致的。因此,在细菌性条斑病抗性遗传研究中可考虑结合病斑类型,特别是可否形成黑褐色坏死病斑来判断抗感,而不是光凭病斑的长度。

82 个抗细菌性条斑病国外稻种资源、13 个抗白叶枯病近等基因系品种对白叶枯病和细菌性条斑病的抗性相关性分析,结果均表现出不相关性。这与杨杰等^[31]、傅正擎等^[32]、姬广海等^[33]报道基本一致。杨杰等^[31]、傅正擎等^[32]分别通过成株期鉴定 80 份籼稻、31 份粳稻和 147 份籼稻、59 份粳稻对两种细菌性病害的抗性,籼稻抗两病的相关系数 r 分别为 0.5470、0.1094、粳稻抗两病的相关系数 r 分别为 0.0856、0.5783,均为不显著相关。姬广海等^[33]比较了 16 个白叶枯病近等基因系稻种对白叶枯病和细菌性条斑病不同菌株的抗性,除 IRBB5(*xa5*)、阿苏稔(*Xa17*)对大多数细条菌株表现抗病、IRBB1

(*Xa1*) 和 IRBB7 (*Xa7*) 对部分菌株抗病外,其他近等基因系稻种均对大部分细条菌株感病。本研究及前人研究结果表明,除个别已鉴定的抗水稻白叶枯病基因对细菌性条斑病表现出抗性外,大部分抗白叶枯病基因不抗细菌性条斑病。

本研究筛选出 49 个不含 *xa5* 基因的抗细菌性条斑病稻种资源很可能含有新抗病基因。因此,加大这些资源的深入研究,挖掘新的抗病基因并应用于抗性育种,对实现水稻细菌性条斑病的可持续控制有着重要的意义。

参考文献

- [1] Nino Liu D O, Ronald P C, Bogdanove A J. *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. *Molecular Plant Pathology*, 2006, 7(5): 303-324
- [2] 贺文爱, 黄大辉, 岑贞陆, 张月雄, 马增凤, 刘驰, 陈英之, 卢双楠, 刘开勇, 李容柏. 水稻细菌性条斑病和抗性育种研究进展. *植物遗传资源学报*, 2010, 11(1): 116-119
- [3] 方中达, 任欣正, 陈泰英, 朱有钰, 范怀忠, 伍尚忠. 水稻白叶枯及条斑病和李氏禾条斑病原细菌的比较研究. *植物病理学报*, 1957, 3(2): 99-124
- [4] 范怀忠, 伍尚忠. 广东省珠江三角洲水稻细菌性条斑(白叶枯)研究简报. *植保知识*, 1957, 1(1): 6-8
- [5] 张荣胜, 戴秀华, 王晓宇, 罗楚平, 刘永锋, 陈志谊. 江苏省水稻品种对水稻细菌性条斑病抗性鉴定及评价. *植物保护学报*, 2014, 41(4): 385-389
- [6] 黄大辉, 岑贞陆, 刘驰, 贺文爱, 陈英之, 马增凤, 杨朗, 韦绍丽, 刘亚利, 黄思良, 杨新庆, 李容柏. 野生稻细菌性条斑病抗性资源筛选及遗传分析. *植物遗传资源学报*, 2008, 9(1): 11-14
- [7] 陈功友, 邹丽芳, 王邢平, 向勇, 黄金生. 水稻白叶枯病菌致病性分子遗传学基础. *中国农业科学*, 2004, 37(9): 1301-1307
- [8] 许美容, 周永力, 黎志康. 水稻对白叶枯病和细菌性条斑病的抗性遗传研究进展. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(3): 370-375
- [9] Triplett L R, Cohen S P, Heffelfinger C, Schmidt C L, Huerta A I, Tekete C, Verdier V, Bogdanove A J, Leach J E. 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*. *The Plant Journal*, 2016, 87: 472-483
- [10] Xie X F, Chen Z W, Cao J L, Guan H Z, Lin D G, Li C L, Lan T, Duan Y L, Mao D M, Wu W R. Toward the positional cloning of *qBlr5a*, a QTL underlying resistance to bacterial leaf streak, using overlapping sub-CSSLs in rice. *Plos One*, 2014, 9(4): e95751
- [11] Zhao B Y, Ardales E, Brasslet E, Claflin L E, Leach J E, Hulbert S H. The *Rx1/Rba1* locus of maize controls resistance reactions to pathogenic and non-host bacteria. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 71-79
- [12] 黄少华, 曾列先, 伍尚忠. 抗白叶枯病 V 型菌基因在杂交稻上的遗传表达研究初报. *广东农业科学*, 2001(6): 33-34
- [13] 冯雯杰, 常清乐, 杨龙, 丁新华, 储昭辉. 水稻白叶枯病菌和细菌性条斑病菌的分子标记筛选及检测. *植物病理学报*, 2013, 43(6): 581-589
- [14] 李云飞, 陈雪娇, 杨雪, 张爱芳, 谷春艳, 高同春, 陈雨, 姚剑. 利用多重 PCR 诊断水稻白叶枯病和细菌性条斑病的复合发生. *植物检疫*, 2016, 30(1): 48-52
- [15] 俞咪娜, 于俊杰, 尹小乐, 聂亚锋, 陈志谊, 刘永锋. 2013 年江苏省水稻区试品种抗细菌性病害的鉴定和评价. *江苏农业科学*, 2014, 42(8): 109-110
- [16] International Rice Research Institute. Standard Evaluation System for Rice. 4th ed. Manila: IRRI, 1996, 20
- [17] 徐羨明, 曾列先, 林璧润, 伍尚忠, 黄少华, 杨祁云. 广东水稻白叶枯病菌致病型研究. *植物保护*, 1994, 20(4): 7-9
- [18] 曾列先, 汪聪颖, 冯爱卿, 陈深, 苏菁, 汪文娟, 伍圣远, 杨健源, 朱小源. 水稻白叶枯病抗性基因在不同载体品种上及杂种 F_1 的抗性研究. *植物病理学报*, 2016, 46(4): 514-520
- [19] 罗生香, 张帆, 陈现朝, 靳明山, 周永力, 黎志康. 26 个水稻新品种(系)对白叶枯病抗性的鉴定和评价. *植物遗传资源学报*, 2013, 14(3): 390-394
- [20] Iyer-Pascuzzi A S, McCouch S R. Functional markers for *xa5*-mediated resistance in rice (*Oryza sativa*, L.). *Mol Breeding*, 2007, 19: 291-296
- [21] 周明华, 许志刚, 沈秀萍. 水稻品种对水稻细菌性条斑病的抗性鉴定. *植物检疫*, 2001, 15(2): 65-67
- [22] 肖友伦, 肖放华, 刘勇, 李小娟, 张德咏, 梁建文, 胡立冬. 湖南水稻主栽品种对水稻细菌性条斑病的抗性鉴定. *植物保护*, 2011, 37(1): 45-49
- [23] 何月秋, 黄瑞荣, 文艳华, 曾小萍. 水稻品种抗细菌性条斑病机制研究. *江西农业学报*, 1993, 5(2): 133-139
- [24] 文艳华, 何月秋, 黄瑞荣, 曾小萍. 水稻细菌性条斑病抗性鉴定方法研究. *江西农业学报*, 1994, 6(2): 112-117
- [25] 张晓葵, 肖利人, 黄河清, 赵波林, 李东汉. 稻种资源抗水稻细菌性条斑病鉴定. *湖南农业科学*, 1992(2): 33-35
- [26] 谢关林, 王汉荣, 张祥华, 冯忠民, 梁梅新, 吕成舒, 陈云槐, 黄鹤亭. 水稻细菌性条斑病抗性测定中几个问题的探讨. *浙江农业科学*, 1990(6): 289-291
- [27] 王汉荣, 谢关林, 冯仲民, 谢以泽, 何红卫. 水稻品种系对水稻细菌性条斑病的抗性评价. *中国农学通报*, 1995, 11(3): 17-19
- [28] 李友荣, 侯小华, 魏子生. 水稻品种对细菌性条斑病的抗性研究. *湖南农业科学*, 1994(1): 39-40
- [29] 农秀美, 刘志明, 李为杏. 水稻不同生育期对细菌性条斑病的抗性研究. *广西农业科学*, 1992(4): 174-176
- [30] 岑贞陆, 黄思良, 李榕柏, 李卫民, 覃丽萍, 谢玲, 胡春锦, 李小勇, 付岗. 稻种材料抗细菌性条斑病性鉴定. *安徽农业科学*, 2007, 35(22): 6850-6851, 6853
- [31] 杨杰, 周毓珍, 付正擎, 许志刚. 水稻对白枯病和细菌性条斑病的抗性研究. *福建稻麦科技*, 1999, 17(2): 36-38
- [32] 傅正擎, 许志刚, 杨杰, 周毓珍. 水稻品种对两种细菌病害抗性关系的研究. *江苏农业学报*, 1997, 13(3): 157-161
- [33] 姬广海, 许志刚, 张世光. 水稻近等基因系对白叶枯病、条斑病抗性的比较研究. *云南农业大学学报*, 2000, 15(3): 187-191