

# 来源于疣粒野生稻的白叶枯病新抗源的鉴定

宁 茜<sup>1</sup>, 张维林<sup>1</sup>, 黄佳男<sup>2</sup>, 阎轶峰<sup>1</sup>, 严成其<sup>2</sup>, 杨 玲<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>浙江师范大学化学与生命科学学院, 金华 321004; <sup>2</sup>浙江省农业科学院, 杭州 310021)

**摘要:**疣粒野生稻对白叶枯病高抗甚至免疫。粳稻品种 8411 与疣粒野生稻体细胞杂交获得了 2 个高抗所有栽培稻白叶枯病抗性基因均不能抵御的国际广致病菌株 P6 的新种质 SH5 和 SH76, 遗传分析鉴定出新种质含有 1 个抗 P6 小种的显性基因。本研究以高感白叶枯病水稻品种 IR24 及携带不同抗性基因的 16 个材料为参照, 对分蘖期、孕穗期的 SH5 和 SH76 分别接种 11 个白叶枯病小种, 抗性分析表明 SH5 和 SH76 的抗谱广, 与 IRBB21 (*Xa21*) 抗谱一致, 与 IRBB5 (*xa5*)、IRBB7 (*Xa7*) 和 Asominori (*Xa17*) 的较相近。用 *Xa21* 的分子标记 pTA248 和 XA21 检测, 确定 SH5 和 SH76 不携带 *Xa21* 基因, 前期研究结果证实新种质中不含 *xa5* 和 *Xa7*; 与 Asominori 的杂交试验表明其抗性基因与 *Xa17* 基因不等位。这些结果表明 SH5 和 SH76 中存在 1 个抗 P6 小种的新基因。

**关键词:**疣粒野生稻; 白叶枯病; 抗病基因; 分子标记; 遗传分析

## Identification of New Rice Germplasms for Resistance to Bacterial Blight from *Oryza meyeriana* Baill

NING Xi<sup>1</sup>, ZHANG Wei-lin<sup>1</sup>, HUANG Jia-nan<sup>2</sup>, YAN Yi-feng<sup>1</sup>, YAN Cheng-qi<sup>2</sup>, YANG Ling<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004;

<sup>2</sup>Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

**Abstract:** The wild rice species *Oryza meyeriana* Baill exhibited high resistance or immunity to bacterial blight (BB). Two new germplasms named SH5 and SH76, were developed through somatic hybridization with *O. meyeriana* Baill as the donor parent, and showed high resistance to a broad-spectrum pathogenetic strain P6 which no cultivated rice variety had the resistance. The inheritance analysis indicated that the resistance to strain P6 in SH5 and SH76 was controlled by one dominant gene. Using 11 races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the resistance spectrum of SH5, SH76, and other 16 reference lines carrying different major BB resistance genes were compared at the tillering and booting stages. The results showed that SH5 and SH76 had a broad resistance spectrum, which was the same as IRBB21 (carrying *Xa21*), and similar to IRBB5 (carrying *xa5*), IRBB7 (carrying *Xa7*), and Asominori (carrying *Xa17*). The molecular markers of pTA248 and XA21 were used to detect whether *Xa21* existed in SH5 and SH76 or not. The allelic test of *Xa17* was conducted by crossing SH5 and SH76 with Asominori, respectively. The results combined with those of our previous analysis indicated that no *Xa5*, *Xa7*, *Xa17*, and *Xa21* but a new resistance gene to strain P6 might exist in SH5 and SH76.

**Key words:** *Oryza meyeriana* Baill; bacterial blight; resistance gene; molecular marker; genetic analysis

由水稻白叶枯病菌 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) 引起的水稻白叶枯病是影响水稻生产最为严重的细菌性病害之一, 造成严重减产甚至绝

收<sup>[1]</sup>。种植抗病品种是防治该病最经济、有效和环保的途径, 而优异的白叶枯病抗源或抗性基因是抗病育种的基础<sup>[2]</sup>。目前, 经国际注册确认和期刊报

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-09-23 网络出版日期: 2014-04-08

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140408.0849.018.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471074、31371594); 浙江省水稻种业科技创新团队项目 (2010R50024)

第一作者研究方向为植物抗病分子机制。E-mail: 393826350@qq.com; 张维林为共同第一作者

通信作者: 杨玲, 研究方向为水稻逆境分子生理。E-mail: yangl@zjnu.cn

道的水稻白叶枯病抗性基因共 38 个,已被定位的抗性基因有 27 个,其中 8 个被克隆,分别是 *Xa1*、*Xa3*/*Xa26*、*xa5*、*xa13*、*Xa21*、*Xa23*、*Xa27*<sup>[3]</sup> 和 *xa25*<sup>[4]</sup>。然而,由于许多白叶枯病抗性基因的抗谱狭窄或抗性隐性遗传,只有少数抗白叶枯病基因被育种利用<sup>[2,5]</sup>。同时,在水稻与白叶枯病原菌互作中,病菌致病性变异和新的毒性生理小种出现,会克服水稻抗病基因<sup>[2]</sup>。所以,挖掘、鉴定新的白叶枯病抗源,并通过分子标记辅助选择等育种手段将优异抗病基因导入栽培稻,以提高水稻品种的抗病性以及抗病持久性,对于防治水稻白叶枯病具有十分重要的意义<sup>[2,5-6]</sup>。

从野生稻中发掘利用抗白叶枯病新基因是近几年国内外研究的一个热点<sup>[7]</sup>。疣粒野生稻(*Oryza meyeriana* Baill)中存在丰富的优良白叶枯病抗源,在整个生育期都表现出高抗,甚至免疫<sup>[1,8]</sup>。疣粒野生稻在稻属中隶属于 GG 基因组,与 AA 基因组中的栽培稻亲缘关系较远<sup>[9]</sup>,二者之间有性杂交存在不亲和障碍。利用不对称体细胞杂交技术,将疣粒野生稻的抗性基因导入栽培稻 8411 中,回交后自交,获得了性状稳定的抗白叶枯病新种质 SH5 和 SH76<sup>[10]</sup>。前期对 SH5 和 SH76 的 5 叶期幼苗进行了抗谱分析<sup>[11]</sup>,本研究主要进行分蘖期和孕穗期的抗谱评价及其所含抗病基因的鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 水稻材料

8411 (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*) 是白叶枯病敏感型栽培稻,SH5 和 SH76 是通过不对称体细胞杂交技术,将疣粒野生稻(*O. meyeriana* Baill)中的抗性基因导入 8411<sup>[10]</sup>,并以 8411 为轮回亲本,回交后自交 8 代得到的抗白叶枯病新种质。含已知抗白叶枯病基因近等基因系材料包括有 IRBB1 (*Xa1*)、IRBB2 (*Xa2*)、IRBB3 (*Xa3*)、IRBB4 (*Xa4*)、IRBB5 (*xa5*)、IRBB7 (*Xa7*)、IRBB8 (*xa8*)、IRBB10 (*Xa10*)、IRBB11 (*Xa11*)、IRBB13 (*xa13*)、IRBB14 (*Xa14*)、IRBB21 (*Xa21*) 及鉴别品种 Tetep (*Xa16*)、Asominori (*Xa17*)、扎昌龙 (*Xa22* (*t*))、*Xa31* (*t*) 和明恢 63 (*Xa25*、*Xa26*),由中国水稻研究所郑康乐研究员惠赠。

### 1.2 水稻白叶枯病菌

用于抗性鉴定的白叶枯病菌鉴别小种包括国际通用鉴别小种 P1 (PX061)、P2 (PX086)、P3 (PX079)、P4 (PX071)、P5 (PX0112)、P6 (PX099)、

P7 (PX0145)、P8 (PX0280)、P9 (PX0339)、P10 (PX0124) 和我国 IV 型菌代表菌株 Zhe173,由南京农业大学王金生教授、中国科学院遗传与发育生物学研究所翟文学研究员提供。所有菌株干粉于 -80 ℃ 保存,接种前用营养琼脂培养基复壮,28 ℃ 培养 3 d,以无菌水配制接种菌悬液,浓度调至  $1 \times 10^9$  CFU/mL ( $OD_{600} = 1.0$ )。

### 1.3 人工接种与调查

供试水稻材料于 2007 年、2008 年种植于浙江师范大学(金华市)试验田中,常规水肥管理,培养至最高分蘖期和孕穗期,用人工剪叶接种法<sup>[11]</sup>对上部平展剑叶接种。接种后 15 ~ 20 d,待不含任何抗性基因的感病品种 IR24 病情稳定时测量病斑大小,以病斑面积占叶片面积的百分率为抗感反应参数, $\geq 20\%$  即为感病, $< 8\%$  为高抗<sup>[10]</sup>。每份材料调查 10 株,重复 2 次。

### 1.4 *Xa21* 分子标记检测

采用 CTAB 法提取水稻叶片基因组 DNA<sup>[11]</sup>。pTA248 是与 *Xa21* 紧密连锁的序列位点标记(STS, sequence tagged site),根据文献[12]提供的序列合成引物(F: 5'-AGACGCGGAAGGGTGGTTCCCGGA-3'; R: 5'-AGACGCGGTGTAATCGAAAGATGAAA-3')。PCR 扩增反应体系为 20  $\mu$ L,含 0.2 mmol/L dNTPs,2  $\mu$ L  $10 \times$  PCR buffer,1.5 mmol/L  $MgCl_2$ ,1U *Taq* 酶,1  $\mu$ mol/L 引物,50 ng 基因组 DNA。扩增程序为 94 ℃ 预变性 4 min;94 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,35 个循环;72 ℃ 延伸 7 min。

标记 XA21 是在 *Xa21* 的 3'UTR 和内含子区分别设计上下游引物<sup>[13]</sup>(F: 5'-ATAGCAACTGATTGCTTGG-3'; R: 5'-CGATCGGTATAACAGCAAAAAC-3'),PCR 反应体系同上。扩增程序为 94 ℃ 预变性 4 min;94 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 1 min,35 个循环;72 ℃ 延伸 7 min。PCR 产物用含有溴化乙锭的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离,用 Bio-Rad (UNIVERSAL HOOD IFS. N. 76S/01870) 凝胶成像系统拍照。

### 1.5 杂交组合配制及其后代遗传分析

2007 年夏在浙江金华,将 SH5、SH76 分别与栽培稻 8411 进行正反交,同时分别以 Asominori、IR24 为母本配制杂交组合。其  $F_1$  在海南繁殖加代,严格去除假杂种,单株收获。2008 年夏在浙江金华种植  $F_2$  分离群体。各杂交组合的  $F_1$  单株和  $F_2$  群体于分蘖期用强毒性白叶枯病小种 P6 (PX099) 剪叶接种鉴定,设置感病对照,进行常规遗传分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 SH5、SH76 与已知白叶枯病抗性基因的抗谱比较

水稻分蘖期和孕穗期是感染白叶枯病的敏感期<sup>[11]</sup>,此时用我国长江流域代表菌株 Zhe173 和 10 个国际鉴别小种对新种质 SH5、SH76 以及已知抗性基因材料进行接种,抗性鉴定结果见表 1。SH5、SH76 对 11 个白叶枯病菌小种均表现为抗病,尤其

是孕穗期的病斑面积均小于 8%,表现出高抗。携带不同抗性基因水稻对各自白叶枯病菌小种的抗感反应不同,与这些参照鉴别材料相比较,SH5 和 SH76 分蘖期的抗谱与 IRBB21 的完全一致,与 IRBB1、IRBB4、IRBB5、IRBB7、Asominori 的较相近;孕穗期抗谱与 IRBB21 的也一致,与 IRBB5、IRBB7 和 Asominori 的抗谱较相近。因此,纵观水稻整个生育期,须重点分析 SH5、SH76 中是否携带抗性基因 *Xa21*、*Xa17*、*Xa7* 和 *xa5*。

表 1 分蘖期和孕穗期 SH5、SH76 与已知抗白叶枯病基因的抗谱比较

Table 1 Comparison of resistance spectrum to bacterial blight among SH5, SH76, and all the known genes at the tillering and booting stages

材料 Material	抗性基因 Resistance gene	分蘖期/孕穗期抗性反应 Resistance reaction at the tillering/booting stage										
		PX061 (P1)	PX086 (P2)	PX079 (P3)	PX071 (P4)	PX0112 (P5)	PX099 (P6)	PX0145 (P7)	PX0280 (P8)	PX0339 (P9)	PX0124 (P10)	Zhe173
SH5		R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R
SH76		R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R
8411		R/R	R/R	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	R/R	S/S	R/R	S/S
IR24		S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S
IRBB1	<i>Xa1</i>	S/S	R/R	R/R	R/R	R/R	S/S	R/S	R/S	R/R	R/R	S/S
IRBB2	<i>Xa2</i>	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	R/R	S/S	S/S	S/S
IRBB3	<i>Xa3</i>	R/R	R/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S
IRBB4	<i>Xa4</i>	R/R	R/S	S/R	R/S	R/S	S/R	R/R	R/R	S/S	R/S	R/R
IRBB5	<i>xa5</i>	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	S/R	R/R	R/R	R/R	R/R	S/S
IRBB7	<i>Xa7</i>	R/R	R/R	R/R	S/S	R/R	S/S	R/R	R/R	S/S	R/R	R/R
IRBB8	<i>xa8</i>	S/S	R/S	S/S	S/S	R/S	S/R	R/S	R/R	S/S	S/S	S/S
IRBB10	<i>Xa10</i>	S/S	R/S	S/S	S/S	S/S	S/S	R/R	S/S	S/S	S/S	S/S
IRBB11	<i>Xa11</i>	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S
IRBB13	<i>xa13</i>	R/R	R/S	S/S	R/S	S/S	S/S	S/S	R/R	S/S	S/S	R/R
IRBB14	<i>Xa14</i>	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	R/R	S/S	S/S	S/S
IRBB21	<i>Xa21</i>	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R	R/R
Tetep	<i>Xa16</i>	S/S	S/S	S/S	S/S	S/S	R/S	R/S	R/R	S/S	S/S	S/S
Asominori	<i>Xa17</i>	R/R	R/R	R/S	R/R	R/R	R/R	R/R	S/S	R/R	S/S	R/R
明恢 63 Minghui63	<i>Xa25</i> , <i>Xa26</i>	R/R	R/S	R/S	R/S	S/R	S/S	R/R	R/S	R/S	S/S	S/S
扎昌龙 Zhachanglong	<i>Xa22(t)</i> , <i>Xa31(t)</i>	S/S	R/S	R/R	R/R	R/R	S/S	R/R	S/R	S/S	S/S	R/S

R:抗病;S:感病,下同

R:Resistant, S: Susceptible, the same as below

### 2.2 SH5 和 SH76 白叶枯病抗性的遗传分析

将 SH5、SH76 与不含任何抗性基因的 IR24 杂交,  $F_1$  单株对 P6 小种均表现为高抗(表 2), 表明 SH5、SH76 对 P6 小种的抗性由显性基因控制;  $F_2$  群体出现性状分离, 抗与感的比例分别为 241:85 ( $\chi^2_{0.05;1} = 0.147 < \chi^2_{0.05;1} = 3.84$ ) 和 233:87 ( $\chi^2_{0.05;1} = 0.704 < \chi^2_{0.05;1} = 3.84$ ), 符合 3:1 分离比(表 2), 表

明 SH5、SH76 对 P6 小种的抗性受 1 对显性基因控制。

SH5 和 SH76 是 8411 与疣粒野生稻体细胞杂交的后代, 而轮回亲本 8411 对 4 个小种即 P1、P2、P8 和 P10 具有抗性(表 1), 所以可以推断 SH5 和 SH76 至少含有 2 个抗白叶枯病基因。由于 8411 对 P6 小种不具有抗性(表 1), 为了验证 SH5 和 SH76 对

表 2 抗感杂交组合 F<sub>1</sub> 植株和 F<sub>2</sub> 群体对 P6 小种的抗性反应

Table 2 Resistance reactions of F<sub>1</sub> plants and F<sub>2</sub> populations to Xoo strain P6

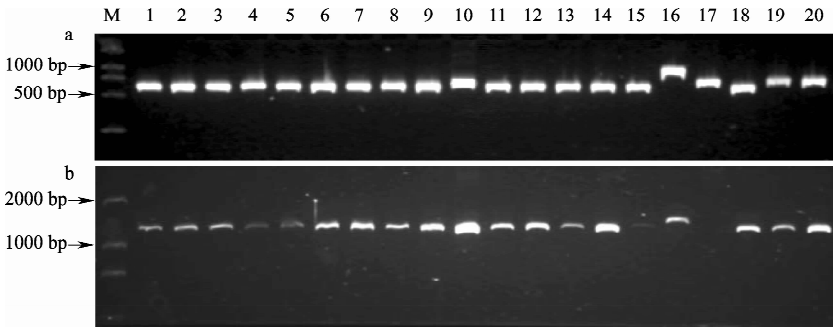
组合 Combination	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>			$\chi^2$ for 3:1 ratio	P 值 P value
		R	S	总株数 Total		
SH5 × 8411	R	150	55	205	0.274	0.50 ~ 0.75
8411 × SH5	R	243	89	332	0.486	0.25 ~ 0.50
SH76 × 8411	R	183	54	237	0.508	0.25 ~ 0.50
8411 × SH76	R	172	55	227	0.037	0.75 ~ 0.90
SH5 × IR24	R	241	85	326	0.147	0.50 ~ 0.75
SH76 × IR24	R	233	87	320	0.704	0.25 ~ 0.50
SH5 × Asominori	R	173	52	225		
SH76 × Asominori	R	163	50	163		

P6 小种的抗性是否稳定遗传,将 SH5 和 SH76 与 8411 正反交,F<sub>1</sub> 对 P6 小种均表现为抗性(表 2),表明 SH5 和 SH76 对 P6 小种的抗性是纯合显性;F<sub>2</sub> 群

体中出现明显性状分离,1 对等位基因遗传的适合性测验的  $\chi^2$  均小于  $\chi^2_{0.05;1} = 3.84$ ,此试验结果也表明控制 SH5 和 SH76 对 P6 小种的抗性是由 1 对显性基因控制,并且稳定遗传。

2.3 Xa21 紧密连锁的 STS 标记及其基因内部标记检测

标记 pTA248 与 Xa21 的图距小于 1 cM,在携带 Xa21 抗性基因的水稻材料中能够检测到 1000 bp 的特征性条带,而在不含 Xa21 的材料中扩增出的是 750 bp 或者 700 bp 大小的片段<sup>[12]</sup>。如图 1a 所示,受检的所有水稻材料中只有第 16 泳道的 IRBB21 在 1000 bp 处出现了预期的条带,其他泳道扩增条带大小为 750 bp 或者 700 bp。标记 XA21 是在 Xa21 的 3'UTR 和内含子区分别设计上下游引物,从而扩增出 1.4 kb 的 Xa21 特征性片段<sup>[13]</sup>。如图 1b 所示,只有第 16 泳道的 IRBB21 在 1.4 kb 处出现条带。2 个分子标记检测结果均表明,SH5、SH76 中不含有抗性基因 Xa21。



M: Marker DL2000; 1: SH5; 2: SH76; 3: 8411; 4: IR24; 5: IRBB1; 6: IRBB2; 7: IRBB3; 8: IRBB4; 9: IRBB5; 10: IRBB7; 11: IRBB8; 12: IRBB10; 13: IRBB11; 14: IRBB13; 15: IRBB14; 16: IRBB21; 17: Tetep; 18: Asominori; 19: 扎昌龙 Zhachanglong; 20: 明恢 63 Minghui 63

图 1 标记 pTA248 (a)、XA21 (b) 在 SH5、SH76、8411 和携带不同抗性基因材料中的多态性

Fig. 1 Polymorphism of pTA248 and XA21 in SH5, SH76, 8411, and varieties carrying the known bacterial blight resistance genes

2.4 SH5、SH76 与 Xa17 基因的等位性分析

由于目前还没有 Xa17 抗性基因的特异分子标记,因此本研究进行了 SH5、SH76 与 Asominori (Xa17) 抗性基因的等位性分析。将 SH5、SH76 分别与 Asominori (母本) 杂交,对其 F<sub>1</sub> 单株、F<sub>2</sub> 群体在分蘖期用 P6 进行接种鉴定,结果发现 F<sub>1</sub> 单株对 P6 小种表现为高抗,F<sub>2</sub> 群体对 P6 小种表现为抗感分离(表 2),表明 SH5、SH76 的抗性基因与 Xa17 不等位。

3 讨论

抗性新基因的鉴定是开展水稻抗白叶枯病育种的基础<sup>[2,5,14]</sup>。野生稻资源中蕴藏着丰富的抗性基因,目前已在野生稻中鉴定出 6 个抗白叶枯病基因,

即来自长药野生稻 (*O. longistaminata* Chev. et Roehr.) 的 Xa21 基因<sup>[13]</sup>、普通野生稻 (*O. rufipogon* Griff.) 的 Xa23 基因<sup>[15]</sup> 和 Xa30 (*t*) 基因<sup>[6]</sup>、小粒野生稻 (*O. minuta* J. S. Presl et C. B. Presl.) 的 Xa27 基因<sup>[16]</sup>、药用野生稻 (*O. officinalis* Wall ex Watt) 的 Xa29 (*t*) 基因<sup>[17]</sup> 和澳洲野生稻 (*O. australiensis* Domin.) 的 Xa32 (*t*) 基因<sup>[18]</sup>,其中已应用于育种实践的野生稻白叶枯抗性基因为 Xa21 和 Xa23<sup>[19]</sup>。本研究中 SH5、SH76 的新抗源是源于疣粒野生稻与栽培稻 8411 的体细胞杂交后代<sup>[10]</sup>。由于轮回亲本 8411 对 4 个小种具有抗性(表 1),通过抗谱叠加可以推导出 SH5、SH76 新抗源至少含有 2 个抗病基因。配制了 6 个抗感杂交组合,对 F<sub>2</sub> 群体的抗病性

进行遗传分析,结果显示其对 P6 小种的抗性是由 1 对显性基因控制。

由于水稻白叶枯病抗性基因与病原菌无毒基因之间的互作符合典型的基因对基因假说<sup>[1,14]</sup>,所以鉴定一个抗源是否携带新基因,一般首先要与已知抗性基因进行抗谱比较,尤其是采用一套国际上通用的与抗性基因相对应的鉴别小种最为理想;其次是与已知抗性基因进行等位性测试,以确定所鉴定基因与已知基因的异同;此外,采用已知抗性基因的特异分子标记检测有无特征性条带,是一种快速、准确的确定基因是否相同的方法<sup>[13]</sup>。

在与我国长江流域代表小种 Zhe173 和 10 个国际通用鉴别小种的抗性反应中,新种质 SH5 和 SH76 在 5 叶期的抗谱与含已知抗病基因材料的不同,但与 IRBB5、IRBB7 和 Asominori 较为相近<sup>[1]</sup>;SH5 和 SH76 在分蘖、孕穗 2 个敏感时期的抗谱广,除与 IRBB21 的抗谱相同外,与 IRBB5、IRBB7 和 Asominori 的也较为接近,所以重点分析 SH5、SH76 中是否携带抗性基因 *Xa21*、*Xa17*、*Xa7* 和 *xa5*。本研究前期用 *xa5* 内含子区的 CAPS 标记和与 *Xa7* 紧密连锁的 InDel 标记,在 SH5 和 SH76 中均未检测到特征性条带的出现<sup>[1]</sup>,而采用 *Xa21* 基因的 2 个分子标记,也得到同样的结果,故 SH5、SH76 中不含有 *Xa21*、*xa5*、*Xa7* 抗病基因。等位性测定显示,新种质中的抗性基因与 *Xa17* 不等位。

SH5、SH76 与不含任何抗性基因的 IR24 的遗传分析和与 8411 的正反杂交结果均表明,SH5、SH76 对 P6 小种的抗性由 1 对显性基因控制并且稳定遗传,结合非等位基因遗传关系,若 SH5、SH76 的抗性基因与 *Xa17* 为等位基因,则 SH5、SH76 与 Asominori (*Xa17*) 杂交后代对 P6 小种全表现为抗性。但根据抗感杂交组合 F<sub>1</sub> 植株和 F<sub>2</sub> 群体对 P6 小种的抗性反应分析结果(表 2),F<sub>1</sub> 植株全部表现为抗性,F<sub>2</sub> 群体并不全部表现为抗性,而是出现了抗感分离;可排除 SH5、SH76 的抗性基因与 *Xa17* 为等位基因的可能性。根据 2 对非等位基因遗传规律,F<sub>2</sub> 群体的抗感分离比是 15:1。SH5、SH76 与 Asominori 杂交 F<sub>2</sub> 抗感比例分别为 173:52 和 113:50(表 2),2 对等位基因遗传的适合性测验的  $\chi^2$  分别为 106.31 和 161.82,均大于  $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$ 。事实上 Asominori 不仅含有报道的抗性基因 *Xa17*,而且还有其它抗性基因<sup>[20]</sup>。

综合抗谱、分子标记、等位性及遗传分析的结果表明,控制新种质 SH5 和 SH76 对 P6 小种的抗性是

一个显性新基因,为下一步该基因的定位、克隆奠定了基础。P6 小种是栽培稻都不能抵御的广致病菌系,SH5 和 SH76 中的抗 P6 新基因,将在改良我国杂交水稻和常规水稻品种的抗病性上发挥重要作用。

#### 参考文献

- [1] 黄佳男,王长春,胡海涛,等.疣粒野生稻抗白叶枯病新基因的初步鉴定[J].中国水稻科学,2008,22(1):33-37
- [2] 曾列先,陈深,杨健源,等.国际水稻白叶枯病菌种质资源在华南的抗性评价和利用[J].植物遗传资源学报,2013,14(5):171-176
- [3] 王涛,王长春,胡海涛,等.6 个已克隆水稻白叶枯病抗性基因及其作用机理[J].浙江农业学报,2011(23):1282-1289
- [4] 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[J]. Plant Cell Environ, 2011, 34(11):1958-1969
- [5] 苗丽丽,王春连,郑崇珂,等.水稻抗白叶枯病新基因的初步定位[J].中国农业科学,2010,43(15):3051-3058
- [6] 金旭炜,王春连,杨清,等.水稻抗白叶枯病近等基因系 CBB30 的培育及 *Xa30(t)* 的初步定位[J].中国农业科学,2007,40(6):1094-1100
- [7] Cheema K K, Grewal N K, Vikal Y, et al. A novel bacterial blight resistance gene from *Oryza nivara* mapped to 38kb region on chromosome 4L and transferred to *Oryza sativa* L. [J]. Genet Res, 2008, 90(5):397-407
- [8] 章琦,李道远.野生稻抗稻白叶枯病性的评价[J].中国农业科学,1994,27(5):1-9
- [9] Aggarwal R, Brar D, Khush G. Two new genomes in the *Oryza* complex identified on the basis of molecular divergence analysis using total genomic DNA hybridization [J]. Mol Gen Genet, 1997, 254(1):1-12
- [10] Yan C Q, Qian K X, Xue G P, et al. Production of bacterial blight resistant lines from somatic hybridization between *Oryza sativa* L. and *Oryza meyeriana* L. [J]. J Zhejiang Univ Sci, 2004, 5(10):1199-1205
- [11] 方中达.植病研究方法[M], 3 版.北京:中国农业出版社,1998:194
- [12] Ronald P C, Albano B, Tabien R, et al. Genetic and physical analysis of the rice bacterial blight disease resistance locus, *Xa21* [J]. Mol Gen Genet, 1992, 236(1):113-120
- [13] Wang G L, Song W Y, Ruan D L, et al. The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants [J]. Mol Plant Microbe Interact, 1996, 9(9):850-855
- [14] 王春连,赵炳宇,章琦,等.水稻白叶枯病新抗源 Y238 的鉴定及其近等基因系培育[J].植物遗传资源学报,2004,5(1):26-30
- [15] Zhang Q, Lin S C, Zhao B Y, et al. Identification and tagging a new gene for resistance to bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) from *O. rufipogon* [J]. Rice Genet Newslett, 1998, 15:138-142
- [16] Gu K, Tian D, Yang F, et al. High resolution genetic mapping of *Xa27(t)*, a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108:800-807
- [17] Tan G X, Ren X, Weng Q M. Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *Oryza officinalis* [J]. Acta Genet Sin, 2004, 31:724-729
- [18] 郑崇珂,王春连,于元杰,等.水稻抗白叶枯病新基因 *Xa32(t)* 的鉴定和初步定位[J].作物学报,2009,35(7):1173-1180
- [19] 罗生香,张帆,陈现朝,等.26 个水稻新品种(系)对白叶枯病抗性的鉴定和评价[J].植物遗传资源学报,2013,14(3):390-394
- [20] Ise K, Li C Y. Inheritance of resistance to bacterial leaf blight in differential rice variety Asominori [J]. IRRN, 1998, 23(3):13