

云南野生稻抗白叶枯病类 *Xa21* 基因的鉴定

李维蛟, 陈玲, 殷富有, 张敦宇, 程在全

(云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所/云南省农业生物技术重点实验室/
农业部西南作物基因资源与种质创制重点实验室, 昆明 650223)

摘要: 水稻白叶枯病是水稻生产上的主要细菌病害之一。从野生稻中发掘优异的水稻白叶枯病抗性材料, 可以拓宽栽培稻抗白叶枯病遗传基础。经过温室接菌鉴定和 PCR 标记分析, 对云南野生稻进行 *Xa21* 基因的检测鉴定。温室接菌鉴定表明, 云南野生稻对广谱致病小种 PX099 及云南强致病菌 Y8 具有较好的抗性能力, 特别是疣粒野生稻对致病菌株达到免疫程度; PCR 标记分析表明, 云南野生稻不含有 *Xa21* 基因, 但含有与 *Xa21* 基因某些区域同源的片段。本研究结果为寻找新的抗源材料及快速发掘利用云南野生稻中的抗白叶枯病基因提供理论依据。

关键词: 水稻白叶枯病; 野生稻; *Xa21* 基因

Identification of Resistance Gene *Xa21* in Yunnan Wild Rice

LI Wei-jiao, CHENG Ling, YIN Fu-you, ZHANG Dun-yu, CHENG Zai-quan

(Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences/Yunnan Provincial Key Lab of Agricultural Biotechnology/Key Lab of Southwestern Crop Gene Resources and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture, Kunming 650223)

Abstract: Rice bacterial blight is one of the major bacterial diseases of rice production. Rice bacterial blight resistance materials developed from wild rice may increase rice resistance resource. *Xa21* gene in Yunnan wild rice was detected by inoculation identification and PCR marker analysis. The results of inoculation identification showed that Yunnan wild rice were excellently resistant to PX099 and Y8, especially, *O. meyeriana* was immunity. The results of PCR marker analysis showed that Yunnan wild rice didn't contain *Xa21* gene, nevertheless, they carried with *Xa21* homologous fragment gene. It would lay the foundation for finding out new bacterial blight resistance resource and exploring new resistance gene.

Key words: bacterial blight; wild rice; *Xa21* gene

水稻是世界上最重要的粮食作物之一, 由稻黄单胞杆菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) 引起的水稻白叶枯病 (Bacterial blight) 是威胁世界水稻生产的三大病害之一。自 1884 年该病首先在日本福岗地区发现以来, 其发病范围不断扩大。目前, 水稻白叶枯病的发生范围已遍及世界各水稻产区, 尤其南亚和东南亚受害严重^[1]。目前, 我国除了新疆、西藏和东北北部以外, 其余各稻区均有发生, 尤其在南方稻区危害更

为严重^[2]。现代栽培稻品种由于使用的骨干亲本很相近且遗传基础较窄, 丧失了很多优良基因, 使其易发生病虫害, 难以进一步取得增产方面的突破。防治水稻病害最经济有效的方法是培育抗病品种, 而抗性基因的发掘和克隆是培育新品种的基础。

云南省是世界水稻起源、演化中心之一, 有中国 3 种野生稻即普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.)、药用野生稻 (*Oryza officinalis* Wall.) 和疣粒野生稻 (*Ory-*

收稿日期: 2014-03-28 修回日期: 2014-05-24 网络出版日期: 2014-12-11

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20141211.2219.016.html>

基金项目: 国家自然科学基金 (U1302265, 3160067, 31460478); 云南省高层次人才引进项目 (2012H002); 农业部行业专项 (201003021)

第一作者研究方向为植物病理学及野生稻抗性研究。E-mail: liweijiao163@163.com

陈玲为共同第一作者, 研究方向为水稻分子育种。E-mail: chenlingmega@163.com

通信作者: 程在全, 研究方向为分子生物学。E-mail: czquan-99@163.com

za meyeriana Nees.)^[3]。云南3种野生稻在长期的进化过程中经受了各种逆境胁迫的选择,保存了许多栽培稻不具有或者已消失的优良基因,如抗稻飞虱、抗白叶枯病等优良品质^[4]。这些优良性状是栽培稻遗传改良的重要物质基础,非常值得发掘和利用。

抗白叶枯病基因的发掘利用与基因资源的鉴定有密切的关系,有关抗病基因的鉴定和发掘是一项需要持续进行的工作。野生稻种资源的发掘是抗源材料筛选的重要途径之一。野生稻中含有丰富的白叶枯病抗性基因,目前已报道从野生稻中共鉴定出9个抗性基因,即显性基因 *Xa21* (长雄野生稻 *Oryza Longistaminata* Achen.)^[5]、*Xa23* (普通野生稻)^[6]、*Xa27* (小粒野生稻 *Oryza minuta* Presl.)^[7]、*Xa29* (药用野生稻)^[8]、*Xa30* (普通野生稻)^[9]、*Xa32* (澳洲野生稻 *Oryza australiensis* Domin.)^[10]、*Xa35* (小粒野生稻)^[11]、*Xa3* (澳洲野生稻)^[12] 和隐性基因 *xa32* (疣粒野生稻)^[13]。

其中来源于长雄野生稻的抗性基因 *Xa21* 是第1个被分离克隆出来的水稻白叶枯病抗性基因,也是单子叶植物中第1个被分离克隆的抗病基因,因其广谱的抗性而受到广泛关注,尤其 *Xa21* 基因对强毒性广谱致病国际鉴别菌株 PXO99 具有抗性^[14-16]。所以本研究利用菌株 PXO99 和云南本地强致病菌株 Y8,通过温室接菌鉴定分析云南野生稻抗病类型,初步了解云南野生稻是否含 *Xa21* 基因。并利用 *Xa21* 基因的紧密连锁标记和功能标记,对云南野生稻进行 *Xa21* 检测研究。最终明确供试材料中是否包含 *Xa21* 抗病基因,为寻找新的抗源材料及加速抗性基因的鉴定提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料和白叶枯病菌系

供试材料(表1):云南野生稻(药用野生稻14份、普通野生稻14份、疣粒野生稻7份),栽培稻金刚30(籼稻)和02428(粳稻)作为阴性对照,由于抗性基因 *Xa21* 来源于长雄野生稻,所以选择其为阳性对照,所有材料均收集于本实验室的温室中。

白叶枯病菌系:专化的强毒性广谱致病国际鉴别小种 PXO99,引自上海交通大学;云南强致病菌株 Y8,引自云南农业大学;保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 供试水稻白叶枯病菌株和接种鉴定

冻干菌株 PXO99 和 Y8 在 NA 培养基上复壮2代后于 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h,用灭菌蒸馏水洗脱,配制成 1×10^8 cfu/mL 的细菌悬浮液^[17],按 H. E. Kauffman 等^[18]的剪叶法接种,2个小种在每品种上至少接种

表1 供试材料及编号

Table 1 The number of the tested materials

编号 Code	稻种名称 Rice variety	编号 Code	稻种名称 Rice variety	编号 Code	稻种名称 Rice variety
1	勐遮药用野生稻	15	元江普通野生稻	30	思茅疣粒野生稻
2	勐遮药用野生稻	16	元江普通野生稻	31	思茅疣粒野生稻
3	勐遮药用野生稻	17	元江普通野生稻	32	孟定疣粒野生稻
4	勐遮药用野生稻	18	元江普通野生稻	33	孟定疣粒野生稻
5	勐海药用野生稻	19	元江普通野生稻	34	景洪疣粒野生稻
6	勐海药用野生稻	20	元江普通野生稻	35	景洪疣粒野生稻
7	勐往药用野生稻	21	元江普通野生稻	36	景洪疣粒野生稻
8	勐往药用野生稻	22	景洪普通野生稻	37	金刚 30
9	澜沧药用野生稻	23	景洪普通野生稻	38	02428
10	澜沧药用野生稻	25	海南普通野生稻	39	长雄野生稻
11	景洪药用野生稻	26	海南普通野生稻	24	长雄野生稻
12	景洪药用野生稻	27	海南普通野生稻		
13	景讷药用野生稻	28	东乡普通野生稻		
14	景讷药用野生稻	29	东乡普通野生稻		

5株,每株接种在第4~5张剑叶或最上部叶片。接种21d左右当对照材料病斑明显具有表型时进行调查和抗性分级,调查方法参考表2。

表2 剑叶接种水稻白叶枯病发病程度分级标准^[19]

Table 2 Classification of leaf infection after inoculating^[19] rice bacterial leaf blight

级别 Score	抗性反应 Reaction of resistance	标准 Standard
0	高抗 HR	剪口无病斑
1	抗病 R	剪口有很小的病斑,很少下伸
2	中抗 MR	病斑向下扩展 3 cm 以上占剩余叶面积的 1/4 左右
3	中感 MS	病斑占剩余叶面积的 1/2 左右
4	感病 S	病斑占剩余叶面积的 3/4 左右
5	高感 HS	全叶发病,有时叶鞘也枯黄

1.3 野生稻中是否含有 *Xa21* 初步鉴定

将所有材料接种 PXO99 和 Y8 菌株后的结果进行分析,初步鉴定野生稻材料中是否含有抗白叶枯病基因 *Xa21*。*Xa21* 基因对 PXO99 表现抗,但

对于 Y8 表现未见相关文献报道,所以,若材料携带 *Xa21* 基因,则对 PX099 表现为抗,对 Y8 表现为抗或感;若材料携带非 *Xa21* 的抗白叶枯病基因,则对 PX099 和 Y8 表现为抗或感(表 3)。

表 3 野生稻中抗性基因 *Xa21* 初步鉴定

Table 3 Primary identification of resistance gene in wild rice

类型 Type	Y8 抗性表型 Reaction to Y8	PX099 抗性表型 Reaction to PX099	是否含有 <i>Xa21</i> 基因 Whether it contains <i>Xa21</i> gene
1	S	R	可能有
2	S	S	无
3	R	R	可能有
4	R	S	无

表 4 *Xa21* 基因的 PCR 标记

Table 4 Linked marker of *Xa21* gene

引物 Primer	引物序列 Primer sequence	区段大小(bp) Segment sizes	图距(cM) Distance	溶解温度(°C) Melting temperature	参考文献 Reference
RM21	F:ACAGTATTCCGTAGGCACGG R:GCTCCATGAGGCTGGTAGAG	157	<1	57	[21]
Z ₂ Z ₃	F:ATTGAATAATTCCTACTGGGTATTGG R:GTCTTGCCTTGCCTTCTGCACGA	1400	共分离	58	[22]
I ₁ U ₁	F:CGATCGGTATAACAGCAAAAAC R:ATAGCAACTGATGTCTTGG	1400	共分离	57	[22]

2 结果与分析

2.1 野生稻对水稻白叶枯病抗性表型

温室接种鉴定得出,不同地理来源的普通野生稻对致病菌株 Y8 和 PX099 都有抗病、中抗、中感和感病的表型;不同地理来源的药用野生稻对致病菌株 Y8 都表现为抗病,对致病菌株 PX099 的抗性则表现为抗病或中抗;不同地理科学的疣粒野生稻对致病菌株 PX099 及 Y8 都表现为高抗;对照材料金刚 30 和 02428 对致病菌株 PX099 及 Y8 的抗性表型为感病(表 5)。

野生稻稻种资源接种 60 d 后的病斑扩展情况调查结果显示,接种后的野生稻病斑扩展度小于试验对照栽培稻。普通野生稻的病斑长度比 21 d 时平均增加了 2 cm,药用野生稻的病斑长度比 21 d 时平均增加了 1 cm,尤其是疣粒野生稻接种 60 d 后,剪口处的症状与 21 d 的症状没有区别,而对照材料则平均增加了 18 cm。

1.4 白叶枯病抗性基因 *Xa21* 基因分子检测

采用 CTAB 法^[20]提取供试材料 DNA,所用引物是与 *Xa21* 基因紧密连锁的 1 个分子标记 RM21 和 2 对针对 *Xa21* 基因 5' 编码区(Z₂Z₃)、3' 非编码区(U₁)和内含子中部(I₁)设计的功能标记(表 4)。PCR 扩增反应体系由 10 × PCR 反应缓冲液(含 Mg²⁺)2 μL,4 × dNTP 溶液(2.5 mmol/L)1.6 μL,引物(10 pmol/μL)0.8 μL,Taq DNA 聚合酶(5 U/μL)0.2 μL,模板 DNA(25 ng/μL)2 μL,ddH₂O 补足反应体系,总体积为 20 μL 组成。94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,57 ~ 58 °C 复性 30 s,72 °C 延伸 20 ~ 90 s,72 °C 延伸 10 min,共 35 个循环,1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。

所有供试材料表型鉴定结果表明,除少部分材料外,大多数供试材料对 2 个强致病菌株 PX099 和 Y8 都表现抗性,推测云南野生稻可能含有 *Xa21* 基因或者其同源基因。

2.2 功能分子标记检测

应用 1 个与 *Xa21* 基因紧密连锁的分子标记和 2 个功能标记检测所有供试材料,检测结果可以得出,RM21、I₁U₁ 和 Z₂Z₃ 在阳性对照长雄野生稻中扩增的 DNA 片段大小分别为 157 bp、1400 bp 和 1400 bp,与预期片段大小一致,除此之外,其余材料扩增出的 DNA 片段大小与预期片段或大或小,功能标记 I₁U₁ 在普通野生稻和栽培稻中检测出 1000 bp 左右的主片段和其他小片段,功能标记 Z₂Z₃ 在部分疣粒野生稻中检测出 1300 bp 左右的主片段和其他小片段(图 1),表明云南 3 种野生稻都不含有 *Xa21* 基因,但疣粒野生稻、普通野生稻和栽培稻与 *Xa21* 基因的部分片段同源。

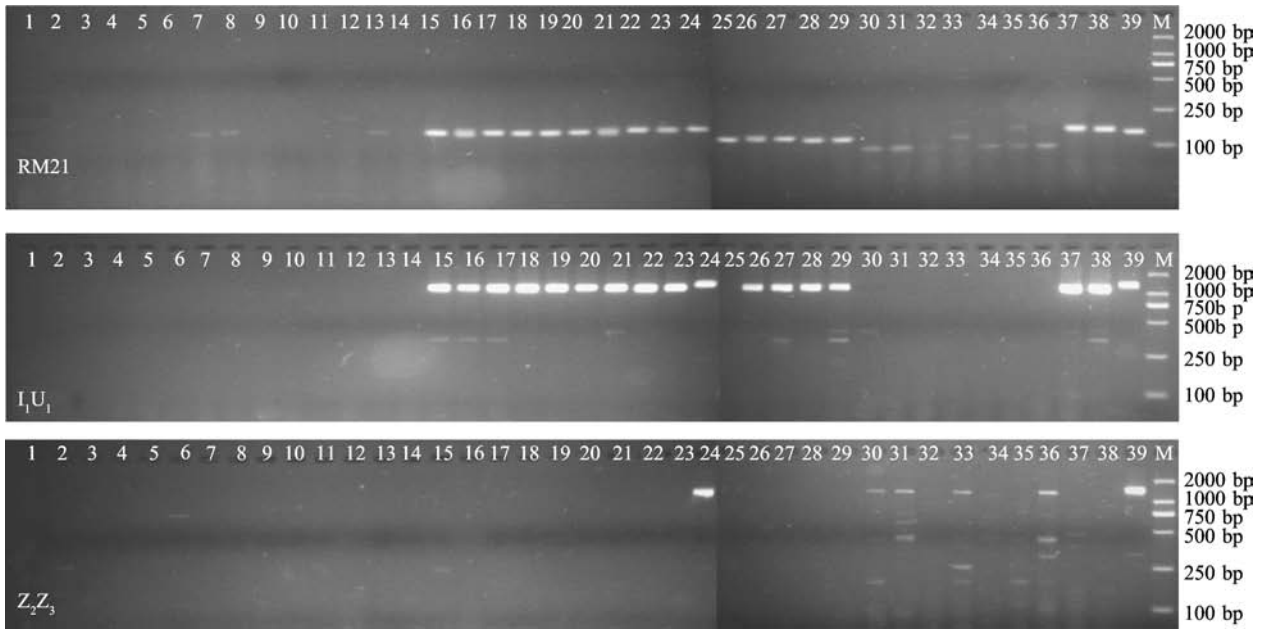
表 5 野生稻接种水稻白叶枯病抗性表型

Table 5 Resistance phenotype of wild rice after inoculating bacterial leaf blight

编号 Code	A	B	C	编号 Code	A	B	C	编号 Code	A	B	C
1	R	MR	P	14	R	MR	P	27	R	MR	P
2	R	MR	P	15	R	MR	P	28	S	S	No
3	R	R	P	16	MR	MR	P	29	MS	S	No
4	R	MR	P	17	MR	MR	P	30	HR	HR	P
5	R	R	P	18	R	MR	P	31	HR	HR	P
6	R	MR	P	19	MR	S	No	32	HR	HR	P
7	R	MR	P	20	MS	MS	No	33	HR	HR	P
8	R	MR	P	21	MR	MR	P	34	HR	HR	P
9	R	MR	P	22	R	MS	No	35	HR	HR	P
10	R	R	P	23	MR	MR	P	36	HR	HR	P
11	R	R	P	24	R	R	P	37	HS	HS	No
12	R	R	P	25	R	R	P	38	HS	HS	No
13	R	R	P	26	MR	R	P	39	R	R	P

A: 植株对 Y8 的抗性反应; B: 植株对 PXO99 的抗性反应; C: 初步鉴定是否含有 *Xa21*; P: 可能含有 *Xa21*; No: 不含有 *Xa21*

A: Resistance reaction of plants to Y8, B: Resistance reaction of plants to PXO99, C: Preliminary identification of the presence of *Xa21* gene, P: It may contain *Xa21* gene, No: It does not contain *Xa21* gene



1 ~ 14: 药用野生稻; 15 ~ 23 和 25 ~ 29: 普通野生稻; 30 ~ 36: 疣粒野生稻; 37: 金刚 30; 38: 02428; 24 和 39: 长雄野生稻; M: 2000 DNA marker
 1-14: *Oryza officinalis*, 15-23 and 25-29: *Oryza rufipogon*, 30-36: *Oryza meyeriana*,
 37: jingang30, 38: 02428, 24 and 39: *Oryza longistaminata*, M: 2000 DNA marker

图 1 供试材料分子检测电泳图

Fig. 1 Detecting by functional marker RM21, I₁U₁, Z₂Z₃

3 讨论

3.1 云南野生稻对水稻白叶枯病菌的抗性反应

本研究表明云南野生稻对致病小种 PXO99 和 Y8 具有良好的抗性, 尤其是疣粒野生稻达到了免疫程度, 药用野生稻的整体抗性也较好, 普通野生稻的抗性相比疣粒野生稻和药用野生稻较弱。从野生稻

中发掘新的抗白叶枯病基因一直是国内外研究的重点。彭绍裘等^[23]对云南省 3 种野生稻接种湖南白叶枯病菌, 发现疣粒野生稻高度抗病甚至免疫, 药用野生稻抗病, 而普通野生稻则表现为感病。章琦等^[24]接种菲律宾小种, 发现野生稻中有许多抗病材料, 其中所鉴定的 12 份疣粒野生稻材料对致病菌株是高抗或者免疫的。综上可以认为疣粒野生稻具有

广谱高抗或者免疫的白叶枯病基因,药用野生稻可能也具有广谱抗白叶枯病基因,而部分普通野生稻对接种菌种抗性较弱或感病,说明这些普通野生稻所包含的抗性基因可能不是广谱抗性的。

此前有研究报道证实,一些野生稻稻种资源对白叶枯病的抗扩展性远远强于栽培稻,药用野生稻在接种菲律宾小种 I、日本小种 II 和中国致病型 II 的 3 个代表菌株 60 d 后,其病斑长度小于 1 cm,叶片为绿色^[2]。而本试验中药用野生稻在接种 60 d 后的病斑扩展长度比 21 d 时平均增加了 1 cm。原因可能是所使用的致病菌株的致病力不一样所致,也可能是在温室中药用野生稻抗性经过长期的温室栽培造成了抗性下降或者自身免疫力降低,具体原因需进一步更为系统的抗性鉴定试验验证。而疣粒野生稻接种 60 d 后,病斑与 21 d 时相比没有差异,这一结果反映了水稻品种的抗扩展性越强,则它们的抵抗性就越强,但水稻品种的抗扩展性是遗传还是非遗传控制,具体机理需进一步研究。

3.2 PCR 标记检测的可靠性

分子标记辅助选择是依据与目标基因紧密连锁的分子标记进行筛选。然而,大多数情况下,连锁标记并不是目标基因本身,仅单独的应用连锁标记进行辅助选择可信度会比较低^[2]。所以本研究不仅选用与 *Xa21* 基因紧密连锁的分子标记 RM21,还根据 *Xa21* 基因的上下游设计功能标记,大大提高了试验结果的可靠性。

本研究利用这 3 个 PCR 标记对云南野生稻进行 *Xa21* 基因的检测时,均发现云南野生稻不含有 *Xa21* 基因,但云南野生稻与 *Xa21* 的部分片段同源,其中疣粒野生稻含有与 *Xa21* 基因的上游同源的序列,普通野生稻和栽培稻含有与 *Xa21* 基因的下游同源的序列,钱君等^[25]也发现,云南普通野生稻含有与 *Xa21* 基因的下游同源的序列。以上研究结果说明,若只应用单独的功能标记可能会导致检测结果出现很大的误差,而应用多个功能标记检测 *Xa21* 基因比较具体全面。

3.3 云南野生稻高抗白叶枯病基因的鉴定和发掘

本研究发现云南野生稻对 PXO99 和 Y8 表现出抗性,有些材料甚至表现为免疫,而分子鉴定认为云南野生稻不含有 *Xa21* 基因,除 *Xa21* 外,目前,从野生稻中还发掘了其他 8 个白叶枯病抗性基因,即 *Xa3*、*Xa23*、*Xa27*、*Xa29*、*Xa30*、*Xa32*、*Xa35* 和 *xa32*,云南野生稻可能含有其中的某些基因或新的白叶枯病抗性基因,尤其是来自普通野生稻的 *Xa23* 和

Xa30、来自药用野生稻的 *Xa29* 和来自疣粒野生稻 *xa32*,其中 *Xa23*、*Xa30* 和 *xa32* 对 PXO99 都具有抗性^[6,8,13],所以云南野生稻含有这 3 个基因的可能性较大,鉴定云南野生稻中是否含有 *Xa23*、*Xa30* 和 *xa32*,对于发掘鉴定云南野生稻高抗白叶枯病新基因具有重要的意义。当然,除以上 9 个水稻白叶枯病抗性基因以外,已鉴定的水稻白叶枯病基因还有 30 个^[26],云南野生稻也有可能含有这 30 个基因中的某些基因,但大多数基因除具有相关连锁标记外,还未被分离克隆,即无法设计功能标记进行鉴定。如何快速有效鉴定云南野生稻中的同源基因或新基因,需系统性地建立抗菌谱和基因等位性测试,甚至通过基因的定位分离克隆进行确认。

4 结论

本研究表明疣粒野生稻对 2 个致病小种高抗或免疫,说明疣粒野生稻携带的可能是广谱抗性基因。疣粒野生稻适应能力很强,没有由于在温室中长期的培养造成抗性的退化。云南 3 种野生稻都不含有 *Xa21* 基因,但疣粒野生稻、普通野生稻和栽培稻与 *Xa21* 基因的部分片段同源,说明了云南野生稻可能含有新的广谱抗性基因或多个新的抗性基因,但这种新的基因挖掘有待进一步研究。

参考文献

- [1] Mew T W. Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1987, 25: 359-382
- [2] 章琦. 水稻白叶枯病抗性的遗传与改良[M]. 北京: 科学出版社, 2007
- [3] 程在全, 黄兴奇, 钱君, 等. 珍稀濒危植物—云南药用野生稻自然生态群的新发现及其特性[J]. *云南植物研究*, 2004, 26(3): 267-274
- [4] Cheng Z Q, Huang X Q, Zhang Y Z, et al. Diversity in the content of some nutritional components in husked seeds of three wild rice species and rice varieties in Yunnan province of China [J]. *J Integr Plant Biol*, 2005, 47(10): 1260-1270
- [5] Song W Y, Wang G L, Chen L L, et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21* [J]. *Science*, 1995, 270(5243): 1804-1806
- [6] Zhang Q, Wang C L, Zhao K J, et al. Development of near isogenic line CBB23 with a new resistance gene to bacterial blight in rice and its application [J]. *Chinese J Rice Sci*, 2002, 16(3): 206-210
- [7] Amantebordeos A, Sitch L A, Nelson R, et al. Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa* [J]. *Theor Appl Genet*, 1992, 107: 62-73
- [8] 谭光轩, 任翔, 翁清妹, 等. 药用野生稻转育后代一个抗白叶枯病新基因的定位[J]. *遗传学报*, 2004, 31(7): 724-729
- [9] 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 *Xa30* (*t*) 的初步定位[J]. *中国农业科学*, 2007, 40(6): 1094-1100

- [10] 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
- [11] 郭嗣斌,张瑞品,林兴华.小粒野生稻抗白叶枯病新基因的鉴定与初步定位[J].中国农业科学,2010,43(13):2611-2618
- [12] 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
- [13] 阮辉辉,严成其,安德荣,等.疣粒野生稻抗白叶枯病新基因 *xa32(t)* 的鉴定及其分子标记定位[J].西北农业学报,2008,17(6):170-174
- [14] 白辉,李莉云,刘国振.水稻抗白叶枯病基因 *Xa21* 的研究进展[J].遗传,2006,28(6):745-753
- [15] 郑康乐,庄杰云,王汉荣.基因聚合提高了水稻对白叶枯病的抗性[J].遗传,1998,20(4):4-6
- [16] 占小登,程式华. IRBB 近等基因系对白叶枯病混合菌系的抗性表现及在恢复系选育中的应用[J].杂交水稻,2001,16(4):10-11
- [17] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998
- [18] Kauffman H E, Reddy A P K, Khsieh P P, et al. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*[J], Plant Dis, 1973, 57:537-541
- [19] 闵绍楷,申宗坦,熊振民,等.水稻育种学[M].北京:中国农业出版社,1996
- [20] Kim M. Arapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications[J]. Bio Techniques, 1993, 14(5):748-749
- [21] Causse M A, Fulton T M, Cho Y G, et al. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population[J]. Genetics, 1994, 138:1251-1274
- [22] 马伯军,翟文学.一种简便高效的PCR辅助选择技术在杂交水稻 *Xa21* 基因育种中的应用[J].杂交水稻,2002,17(1):48-50
- [23] 彭绍裘,魏子生,毛昌祥,等.云南疣粒野生稻、药用野生稻和普通野生稻多抗性鉴定[J].植物病理学报,1982,17(4):58-60
- [24] 章琦,赵炳宇,赵开军,等.普通野生稻的抗水稻白叶枯病(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)新基因 *Xa23* 的鉴定和分子标记定位[J].作物学报,2003,29(5):12-18
- [25] 钱君,程在全,杨明攀,等.云南野生稻中 *Xa21* 基因外显子 II 的分离及序列分析[J].遗传,2005,27(3):382-386
- [26] 王法军.抗白叶枯病水稻种质筛选及一个抗病新基因的初步定位[D].北京:中国农业科学院,2013