

• 农业生物技术 •

水稻白叶枯病抗性遗传解析

刘玉婷^{1,2}, 袁筱萍², 杨惠敏¹, 黄佳慧¹, 朱哲楠¹, 卢钿钿¹, 沈思怡¹,
杨密龙^{2*}, 饶玉春^{1*}

1 浙江师范大学生命科学学院, 浙江 金华 321004

2 中国水稻研究所 水稻生物育种全国重点实验室, 浙江 杭州 311400

刘玉婷, 袁筱萍, 杨惠敏, 黄佳慧, 朱哲楠, 卢钿钿, 沈思怡, 杨密龙, 饶玉春. 水稻白叶枯病抗性遗传解析[J]. 生物工程学报, 2024, 40(4): 1040-1049.

LIU Yuting, YUAN Xiaoping, YANG Huimin, HUANG Jiahui, ZHU Zhenan, LU Diandian, SHEN Siyi, YANG Yaolong, RAO Yuchun. Genetic dissection of rice resistance to bacterial blight[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(4): 1040-1049.

摘要: 水稻白叶枯病是水稻主要的病害之一, 对水稻生产具有重要的意义。本研究以国外引进粳稻品种 Maybelle 与地方籼稻品种白叶秋为亲本构建而成的加倍单倍体(doubled haploid, DH)群体为材料, 调查了 4 个白叶枯病致病小种的致病性。结果表明, 各小种的致病性在 DH 群体间呈现连续分布, 并伴有一定的超亲变异。而且, 各个致病小种的致病性具有一定的相关性, 相关系数处在 0.3 与 0.6 之间。数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)分析共检测到 12 个 QTL, 分别位于水稻第 1、2、3、5、6、7、9 和 12 号染色体, 贡献率介于 4.95%–16.05%之间, 其中位于 5 号染色体上的 RM6024–RM163 区间在 3 个致病小种中均检测到, 并且是效应最大的主效 QTL。另外, QTL 座位的聚合进一步表明, 通过不同的 QTL 座位的聚合能够显著提高水稻白叶枯病的抗性。该研究对拓宽我国白叶枯病抗性基因资源具有重要的意义。

关键词: 白叶枯病; 数量性状位点(QTL); 水稻; 基因聚合

Genetic dissection of rice resistance to bacterial blight

LIU Yuting^{1,2}, YUAN Xiaoping², YANG Huimin¹, HUANG Jiahui¹, ZHU Zhenan¹,
LU Diandian¹, SHEN Siyi¹, YANG Yaolong^{2*}, RAO Yuchun^{1*}

1 College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang, China

2 State Key Laboratory of Rice Biology and Breeding, China National Rice Research Institute, Hangzhou 311400, Zhejiang, China

Abstract: Bacterial blight, a major disease in rice, poses a serious impact on rice production. In

资助项目: 浙江省重点研发计划(2021C02056); 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(2023R404040)

This work was supported by the Key Research and Development Program of Zhejiang Province (2021C02056) and the Zhejiang Province College Student Science and Technology Innovation Activity Plan and New Talent Plan (2023R404040).

*Corresponding authors. E-mail: RAO Yuchun, ryc@zjnu.cn; YANG Yaolong, yangyaolong@caas.cn

Received: 2023-11-16; Accepted: 2024-02-04; Published online: 2024-02-06

this study, a doubled haploid (DH) population derived from a cross between the introduced *japonica* cultivar ‘Maybelle’ and the *indica* landrace ‘Baiyeqiu’ was used to investigate the pathogenicity of four pathogen races causing bacterial blight. The results showed that the pathogenicity of all the pathogen races exhibited continuous, transgressive distribution in the DH population. Moreover, strong correlations existed between every two pathogen races, with the correlation coefficients ranging from 0.3 to 0.6. A total of 12 quantitative trait loci (QTLs) distributed on chromosomes 1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, and 12 were detected for rice bacterial blight, explaining 4.95% to 16.05% of the phenotype. Among these QTLs, a major QTL located in the interval RM6024–RM163 on chromosome 5 was detected in three pathogen races. In addition, the pyramiding of the positive alleles can apparently improve the rice resistance to bacterial blight. This study is of great significance for broadening the genetic resources with resistance to bacterial blight in China.

Keywords: bacterial blight; quantitative trait locus (QTL); rice (*Oryza sativa* L.); gene pyramiding

水稻是全球重要的粮食作物之一,水稻白叶枯病是水稻三大病害之一^[1]。水稻白叶枯病是由革兰氏阴性菌黄单胞杆菌致病变种(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)引起的,其主要利用植物体自身的伤口和水孔作为通道侵占水稻细胞,是一种典型的细菌性维管束病害。水稻整个生育期均可受害,以苗期、分蘖期最为严重,而且各个组织均可染病,是一种系统性侵染病害,主要感染叶片及叶鞘。白叶枯病对水稻产量和品质都会造成极大影响,它一般可使水稻减产10%–30%,更严重的情况下会造成50%以上的损失^[2]。因此水稻白叶枯病的研究对保障粮食安全有着重要的作用。目前抗病品种的选育、抗性基因的挖掘和利用是水稻白叶枯病最经济、环保和高效的防治办法^[3]。

一直以来,学者们致力于挖掘控制水稻白叶枯病抗性遗传位点。自 Ronald 等^[4]和 Song 等^[5]发现并克隆抗水稻白叶枯病基因 *Xa21* 以来,全世界在水稻抗白叶枯病转基因研究方面进行了大量卓有成效的工作,并取得了显著的成果。目前,已报道和确认的水稻白叶枯相关抗性基因有49个,已排至 *Xa47(t)*^[6],其中已经有17个基因完成了克隆^[7]。除了9号与10号染色体,这些

位点在其他染色体上均有分布。*Xa1* 是第一个被发现的白叶枯病抗性基因,于1998年被克隆,其编码 NBS-LRR 类抗性蛋白^[8],只在抗病品种中诱导表达并且具有小种专一性,可能是病原菌某个无毒蛋白质诱导其表达从而增强水稻抗病性。*Xa21* 是第一个被克隆的白叶枯病抗性基因,来源于长药野生稻(*Oryza longistaminata*),编码含有1025个氨基酸的类受体蛋白激酶,含有2个保守结构域,分别为富含亮氨酸重复序列结构域以及丝氨酸/苏氨酸激酶结构域,与 *avrXa2* 发生互作后,其核定位激酶区域与 *warky64* 发生互作,激活防御基因的转录,进而增强水稻抗病性^[9]。由 Sun 等^[10]发现的水稻白叶枯病抗性基因 *Xa3/Xa26*,与 *Xa21* 具有较高的相似度,同样编码一个受体蛋白激酶。还有一类白叶枯病抗性基因如 *xa13* 和 *xa25*,这2个基因均为隐性抗性基因^[11–13],通过编码 Mtn3/Saliva 家族蛋白,让病原菌无法操纵宿主免疫反应使水稻抗病。另外一个隐性抗性基因为 *xa5*,编码一个转录因子 IIA 的 γ 亚基,推测可能通过减缓病原菌在维管束中扩散转移速率的隐性机制抑制病原菌,从而表现出抗性^[14]。还有一类抗性基因类型为 *Executor* 类,包括3个已克隆的基因:

Xa10、*Xa23* 和 *Xa27*，主要通过效应子介导而产生水稻白叶枯病抗性，只有接种了含对应效应子的病原菌才能诱导对应基因表达而产生白叶枯病抗性^[15-17]，例如，*avrXa10-Xa10*^[16]、*avrXa23-Xa23*^[18]、*avrXa27-Xa27*^[19]。*Xa4* 是最近克隆和功能研究的一个新基因，*Xa4* 基因编码细胞壁相关激酶(wall-associated kinases, WAK)，该激酶能够通过促进纤维素合成和抑制细胞壁疏松来增强细胞壁，从而增强了水稻植株对细菌感染的抵抗力^[20]。

水稻白叶枯病抗性是一个比较复杂的数量性状，数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)分析是一种有效的解析复杂数量性状的方法，大部分白叶枯病抗性位点的发现都是通过 QTL 分析而来，并结合图位克隆进行基因挖掘。近年来，水稻白叶枯病研究进展放缓，但随着病原菌的快速变异和新型致病小种的不断出现，现在已育成的具有相近或者相同遗传背景的大部分水稻品种的抗病性逐渐减弱，发掘和研究新的抗病基因资源成为防治水稻白叶枯病的必然途径。本研究是利用国外引进的一个粳稻品种与一个籼稻地方品种构建而成的加倍单倍体(doubled haploid, DH)群体进行白叶枯病的 QTL 分析研究，其中新的主效 QTL 的鉴定与克隆对拓宽我国白叶枯病抗性基因资源具有重要的意义，同时也为白叶枯病的致病机理研究提供了新的材料，并为育种家提供新的抗病资源。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

利用国外引进品种粳稻品种 Maybelle 与籼稻品种白叶秋为材料，作为亲本进行杂交产生 F₁ 植株，并对 F₁ 植株进行花药离体培养，并加倍后，共产生一套稳定的加倍单倍体(DH)群体，共计 260 株系。这一套 DH 群体及两个亲本种植

在中国水稻研究所(杭州)试验农场，每个株系种植 8 行，每行 6 株，种植间距为 20 cm×20 cm。

1.2 白叶枯病接种与鉴定

接种所用的白叶枯病菌包括，菲律宾致病小种 PXO61 (Race 1)、PXO99 (Race 6)、PXO112 (Race 5)及 PXO347 (Race 9c)，保存于-80 °C 冰箱。接种前划线、挑单菌落，并在马铃薯蔗糖琼脂培养基(potato sucrose agar medium, PSA, 马铃薯 200 g，琼脂 20 g，蔗糖 20 g，蒸馏水定容至 1 000 mL)上 28 °C 培养 2 d 左右，接种时配制成 10⁸ CFU/mL 的菌液用于接种。

在水稻孕穗前期，采用人工剪叶法对上部平展倒二叶接种，每个单株接种 5-6 片叶子，每个株系接种 6 株，接种后 21 d，待供试株系充分发病且病情发展稳定后，调查各株系白叶枯病抗性情况。每株调查 3 张叶片，每个株系调查 6 株，测量病斑长度，取平均值。

1.3 亲本抗病基因鉴定

利用功能标记对亲本材料进行相关抗白叶枯基因检测。PCR 反应体系：F/R (1.92 μmol/μL, 2.07 μmol/μL)引物各 0.5 μL，DNA 1.0 μL，2×Taq Master Mix 5 μL，ddH₂O 补足 10 μL。扩增程序：94 °C 5 min；94 °C 30 s，55-60 °C 30 s，72 °C 30 s，共 30 个循环；72 °C 8 min。扩增好的 PCR 产物经 1.0%的琼脂糖凝胶电泳分离检测。抗病基因鉴定所用的引物见表 1。

1.4 遗传图谱构建与 QTL 分析

选取 140 个在 Maybelle 与白叶秋之间具有多态性的标记，这些标记均匀地分布在 12 条染色体上，遗传距离运用 ICiMapping 软件计算得出，共覆盖约 1 533 cM，平均每个标记之间遗传距离为 10.95 cM，符合 QTL 区间作图的要求^[21]。同样利用 ICiMapping 软件进行 QTL 分析，采用复合区间作图方法，以 10 cM 范围为窗口，1 cM 的步长在全基因组范围内进行 QTL 扫描^[22]。同时也对每

表 1 各抗性基因引物序列

Table 1 Primers sequence of each resistance gene

Primer name	Primer sequence (5'→3')	Size (bp)
<i>Xa1</i> -F	CACATCACGGCCTCAAGTATCT	22
<i>Xa1</i> -R	TCTCCATAACCACTGATTGCG	21
<i>Xa3</i> -F	CACTTTACAATACTTGGAAGGAA	23
<i>Xa3</i> -R	AAAGCTCCGAAGCCCAACATGCT	24
<i>xa5</i> -F	AGCTCGCCATTCAAGTTCTTAAG	23
<i>xa5</i> -R	TCCAAGGCTTCCGTCATAGACT	22
<i>Xa7</i> -F	AGCCCTGACTGCTAAAACCA	20
<i>Xa7</i> -R	GCTCTTCAAGTGTGCGATGC	20
<i>Xa7null</i> -F	AACCGAGGGGAGGTGATTGTC	21
<i>Xa7null</i> -R	GTACATCATTGTCCCCACGG	20
<i>Xa10</i> -F	CGCAATCACTTCAATTACTT	20
<i>Xa10</i> -R	GAAGAATGAAAGAGGAGGG	19
<i>xa13</i> -F	AGCTCCAGCTCTCCAAATG	19
<i>xa13</i> -R	GGCCATGGCTCAGTGTTTAT	20
<i>Xa21</i> -F	TCCCTGCTATACCAGGGGGGCCAG	24
<i>Xa21</i> -R	GTCTAGCGATGTCAACTTGGTGCA	24
<i>Xa23</i> -F	AAGTCCCTCCGAAACATCTT	21
<i>Xa23</i> -R	CCTGAAGGCTTAAACAGGGAGA	22

个 QTL 的表型方差加性效应与遗传贡献率进行了计算。我们通过设置对数几率比(logarithm of odds, LOD)阈值为 2.5 用来判断 QTL 的有无,若标记区间的 LOD 值大于 2.5,则这个区间的 LOD 值最高处即为一个 QTL。QTL 的命名规则参照 McCouch 等^[23]的标准。

1.5 统计分析

在亲本之间进行 T 检验、任意两个性状之间的相关分析以及多重比较均由 SAS8.0 统计软件计算得出。

2 结果与分析

2.1 DH 群体及亲本的白叶枯抗性

DH 群体及亲本对所用的 4 株白叶枯病菌的表现如表 2 所示。总体而言, PXO347 的致病性较其他 3 个致病小种稍弱,其在 DH 群体中的病斑长度平均不到 15 cm,而其他 3 个致病小种的病斑平均长度都超过 20 cm,其中 PXO99 对该

DH 群体的致病性最强,平均的病斑长度达到 28 cm。另外对亲本之间的致病性进行差异显著性检测,结果表明,除了 PXO61 之外,其余各白叶枯病致病小种在双亲之间的致病性都存在极显著的差异,并且亲本 Maybelle 具有更高的白叶枯病抗性。在 DH 群体中,各株系对每个致病小种的抗性变异范围广,频数分布基本符合正态分布,并且一些株系的白叶枯抗性存在超亲现象,符合 QTL 作图的要求(图 1)。

2.2 不同致病小种的致病性相关分析

对不同致病小种致病性进行相关分析,结果显示(表 3),每两个致病小种之间的致病性有着显著相关性。其中 PXO61 分别与 PXO112 和 PXO347 这两个致病小种的致病性相关性最大,相关系数分别为 0.615 9 和 0.563 1。但总体而言,每两个致病小种之间的致病相关性并不是很高,相关系数位于 0.355 1–0.615 9 之间。这说明每个白叶枯病致病小种的遗传基础可能不同。

2.3 QTL 分析

首先我们对亲本 Maybelle 与白叶秋进行了已知白叶枯病抗性基因 *Xa1*、*Xa3*、*xa5*、*Xa7*、*Xa10*、*xa13*、*Xa21* 和 *Xa23* 的鉴定,结果显示亲本 Maybelle 与白叶秋在已知抗性基因的携带方面并没有太大的差异,其中两个亲本均含有 *Xa3* 且不含有 *xa5*、*Xa7*、*Xa10*、*xa13*、*Xa21* 以及 *Xa23*,而仅仅在 *Xa1* 上存在差异,Maybelle 含有而白叶秋没有该基因。虽然两亲本携带的抗性基因类似,但在 DH 群体内的白叶枯病的抗性存在很大差异,推测很有可能还存在一些其他的白叶枯病抗性的调控位点,因此,我们结合遗传图谱和表型数据进行白叶枯病的 QTL 分析。

QTL 分析结果发现,共检测到 12 个 QTL 位点,含有 9 个标记区间。这些 QTL 分布在 1、2、3、5、6、7、9 和 12 号染色体上,LOD 值范围为 2.6–8.1,表型贡献率为 5.0%–16.1%(图 2,表 4)。

表 2 水稻各致病小种在亲本及 DH 群体间的致病性情况

Table 2 Presentation of pathogenicity of pathogenic races in parents and DH population

Traits	Significance test for all traits between their parents (<i>t</i> -test)			Variation for all traits tested in the DH population			
	Maybelle	Baiyeqiu	<i>P</i> value	Means±standard deviation	Range	Skewness	Kurtosis
PXO61	22.3±5.5	24.7±3.8	4.05E-01	23.5±6.0	8.6-42.9	0.2	-0.1
PXO99	25.2±3.6	36.5±4.0	4.43E-04	28.6±7.5	11.6-59.0	0.3	0.8
PXO112	18.1±2.3	30.3±1.6	8.62E-07	21.9±5.9	5.7-38.4	0.3	-0.1
PXO347	9.8±2.9	16.9±2.4	9.08E-04	14.4±4.4	4.3-30.3	0.6	1.0

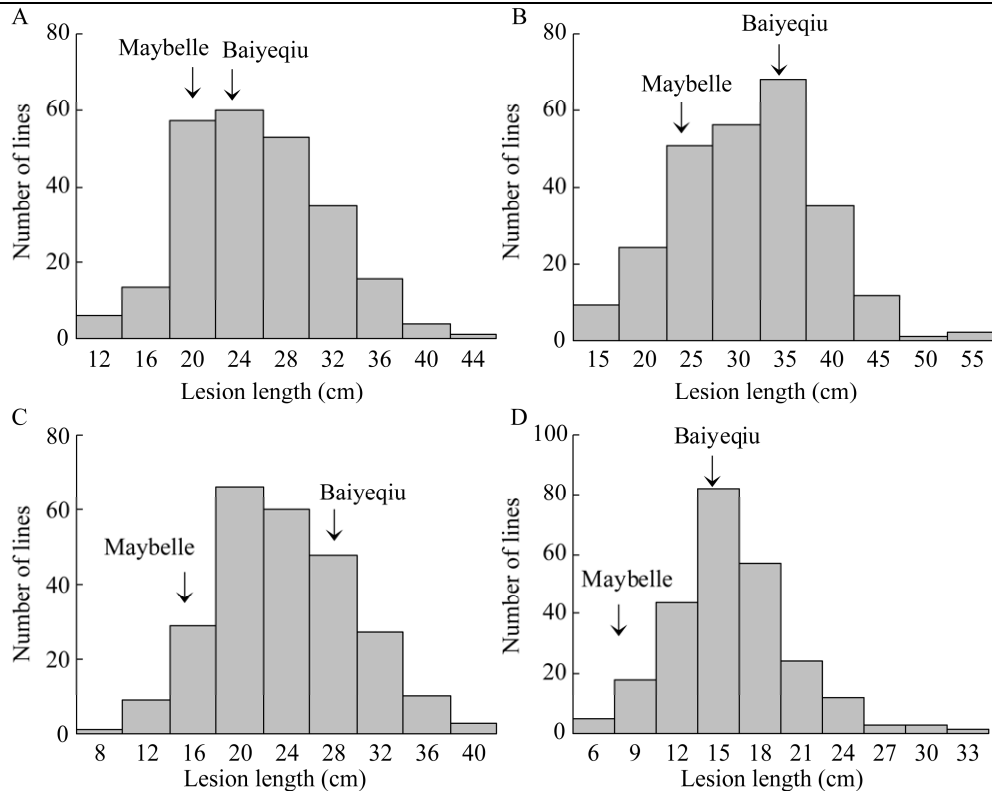


图 1 各致病小种病斑长度在 DH 群体中的分布 A: PXO61. B: PXO99. C: PXO112. D: PXO347

Figure 1 Distribution of lesion length generated by each race in the DH population. A: PXO61. B: PXO99. C: PXO112. D: PXO347.

表 3 各致病小种致病性的相关分析

Table 3 Correlation analysis of pathogenicity of each pathogenic race

	PXO61	PXO99	PXO112
PXO99	0.375 6*		
PXO112	0.615 9**	0.476 3**	
PXO347	0.563 1**	0.355 1*	0.497 8**

* and ** show 5% and 1% significant level, respectively.

对 PXO61 的致病性进行 QTL 分析, 共检测到 3 个 QTL 位点, 分别位于 3、5 和 7 号染色体上, 分别命名为 *qPXO61-3*、*qPXO61-5* 和

qPXO61-7。除了 *qPXO61-7*, 另外两个 QTL 的加性效应值均为负值, 说明来自亲本 Maybelle 的等位基因提供了更多的抗 PXO61 的位点。其中效应最大的位点为 *qPXO61-5*, 位于 5 号染色体 RM6024-RM163 区间, LOD 值为 5.2, 可以解释 11.4% 的表型变异, 其中来自白叶秋 的等位基因可以增加病斑长度约为 2.26 cm。

此外也检测到了 4 个影响 PXO99 致病性的 QTL 位点, 名为 *qPXO99-2*、*qPXO99-5*、*qPXO99-9* 和 *qPXO99-12*。这些位点分别位于 2、5、9 和

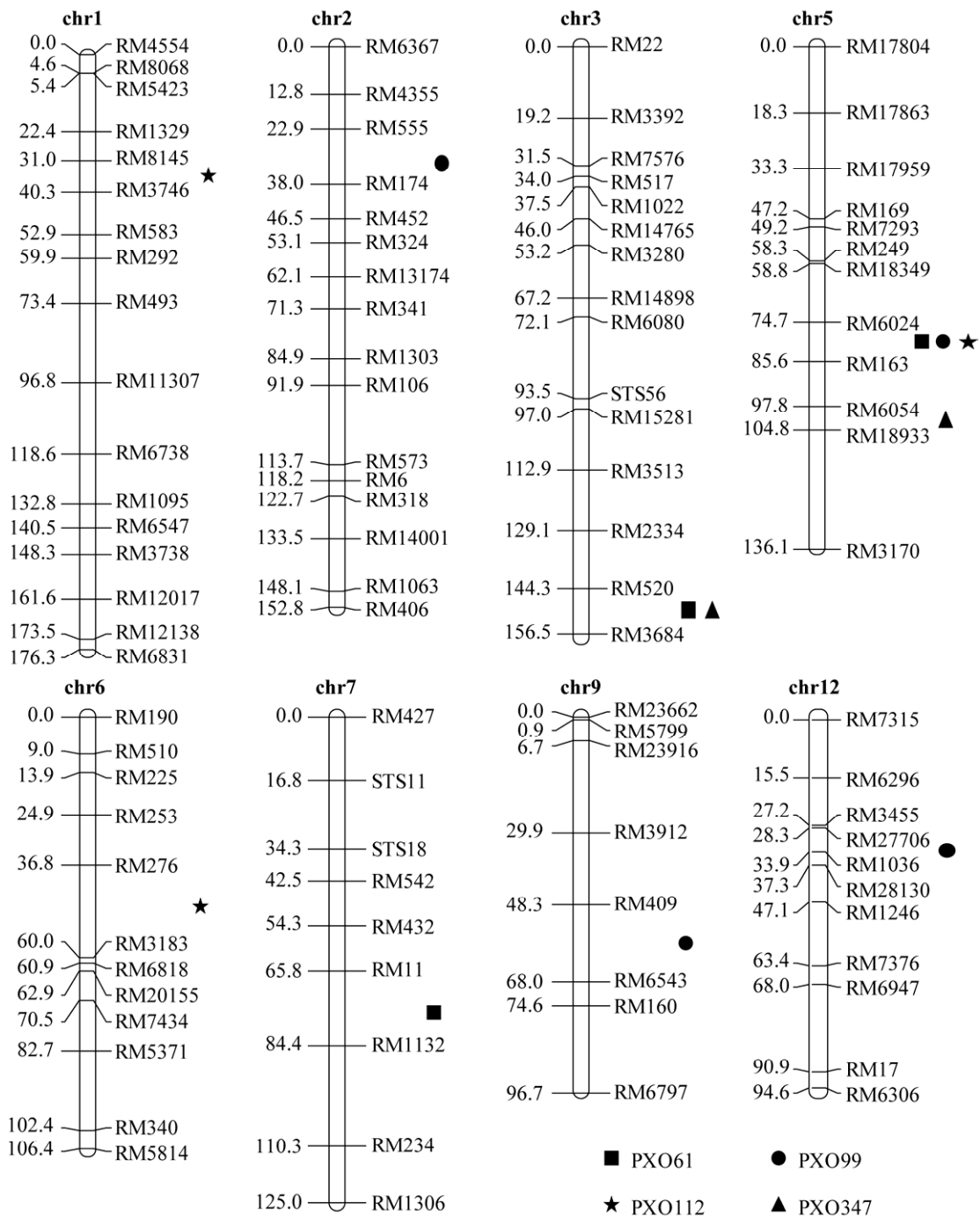


图2 DH群体4个白叶枯病致病小种的QTL定位

Figure 2 QTL analysis of four rice bacterial blight races in DH population.

12号染色体上, LOD值介于2.8–8.1, 表型贡献率位于5.0%–15.1%之间, 并且其中3个QTL的加性效应为负值, 包括其中效应最大的 $qPXO99-5$ 。该QTL的LOD值达到8.1, 可解释15.1%的表型变异, 来自Maybelle的等位基因可

以减少白叶枯病病斑长度3.24 cm。另外我们发现, 该主效QTL的位置与 $qPXO61-5$ 重合, 都是位于5号染色体RM6024–RM163区间。

然而, 我们在对PXO112的致病性进行QTL分析时, 也在5号染色体RM6024–RM163区间

内检测到一个 QTL, 名为 *qPXO112-5*。有趣的是, *qPXO112-5* 也是其中的主效 QTL, LOD 值为 7.4, 表型贡献率为 16.1%, 其抗性等位基因来自于 Maybelle, 可以减少白叶枯病病斑长度为 2.70 cm。结果表明, 5 号染色体 RM6024–RM163 区间内存在一个对多个致病小种具有白叶枯病抗性遗传位点。另外, 还检测到两个效应较小的 QTL 位点, 分别为 *qPXO112-1* 和 *qPXO112-6*, LOD 值分别为 2.6 和 3.4, 表型贡献率在 6.3% 左右。

在对 PXO347 的致病性 QTL 检测过程中, 共发现 2 个 QTL。其中效应较大的 QTL 位于 5 号染色体上 RM6054–RM18933 区间内, 名为 *qPXO347-5*,

LOD 值为 6.7, 可以解释 14.3% 的表型变异。而另外一个 QTL, *qPXO347-3*, 与 *qPXO61-3* 位点重合, 都位于 3 号染色体 RM520–RM3684 区间, LOD 值为 4.7, 表型贡献率为 9%。*qPXO347-3* 和 *qPXO347-5* 的抗性等位基因均来自于 Maybelle, 分别能减少白叶枯病病斑长度 1.36 cm 和 2.01 cm。

2.4 QTL 的聚合

水稻白叶枯病抗性是水稻一个非常重要的性状, 根据 QTL 分析的结果, 对各个白叶枯病致病小种的致病性的 QTL 进行增效等位基因的聚合分析(表 5)。我们根据图谱信息筛选出了一系列的不同数量 QTL 的聚合株系, 对其进

表 4 水稻白叶枯病 QTL 分析

Table 4 QTL analysis of rice bacterial blight

Race	QTL	Chromosome	Marker interval	LOD value	Phenotypic explanation (%)	Additive effect
PXO61	<i>qPXO61-3</i>	3	RM520–RM3684	3.6	6.8	-1.6
	<i>qPXO61-5</i>	5	RM6024–RM163	5.26	11.4	-2.3
	<i>qPXO61-7</i>	7	RM11–RM1132	3.5	8.7	1.8
PXO99	<i>qPXO99-2</i>	2	RM555–RM174	2.8	5.0	-1.7
	<i>qPXO99-5</i>	5	RM6024–RM163	8.1	15.1	-3.2
	<i>qPXO99-9</i>	9	RM409–RM6543	4.6	7.5	-2.4
	<i>qPXO99-12</i>	12	RM27706–RM1036	6.2	10.2	2.5
PXO112	<i>qPXO112-1</i>	1	RM8145–RM3746	2.6	5.2	-1.3
	<i>qPXO112-5</i>	5	RM6024–RM163	7.4	16.1	-2.7
	<i>qPXO112-6</i>	6	RM276–RM3183	3.4	6.3	1.5
PXO347	<i>qPXO347-3</i>	3	RM520–RM3684	4.7	9.0	-1.4
	<i>qPXO347-5</i>	5	RM6054–RM18933	6.7	14.3	-2.0

表 5 增效等位基因聚合对各致病小种致病性的影响

Table 5 Effect of synergistic allele aggregation on pathogenicity of various pathogenic races

Positive alleles	Number of lines	Lesion length	Anova analysis
No QTL	3	32.69±4.35	a
<i>qPXO61-3</i>	2	30.26±3.22	a
<i>qPXO61-3, qPXO61-5</i>	13	20.67±5.41	b
<i>qPXO61-3, qPXO61-5, qPXO61-7</i>	15	18.43±3.35	b
No QTL	2	35.08±3.12	a
<i>qPXO99-2</i>	3	34.25±2.59	a
<i>qPXO99-2, qPXO99-5</i>	14	26.35±2.56	b
<i>qPXO99-2, qPXO99-5, qPXO99-9</i>	5	24.86±1.84	bc
<i>qPXO99-2, qPXO99-5, qPXO99-9, qPXO99-12</i>	3	23.31±1.57	c
<i>qPXO112-1</i>	4	26.79±3.18	a
<i>qPXO112-1, qPXO112-5</i>	2	21.78±2.26	b
<i>qPXO112-1, qPXO112-5, qPXO112-6</i>	4	16.30±3.20	c
No QTL	21	19.11±4.8	a
<i>qPXO347-3</i>	9	18.58±2.27	a
<i>qPXO347-3, qPXO347-5</i>	58	11.99±4.23	b

Different lowercase letters represent 5% significant level.

行各个致病小种的致病性分析。结果发现,所有的致病小种的致病性随着增效等位基因的增加而减弱,病斑长度逐渐变短。多重比较分析表明,多 QTL 聚合显著地降低了白叶枯病致病小种的致病性。该结果为多 QTL 聚合育种提高白叶枯病抗性提供了理论基础。

3 讨论

白叶枯病抗性是水稻的一个复杂的数量性状,水稻白叶枯病的研究对水稻生产有着重要的作用。在本研究中,亲本之间的白叶枯病致病小种的致病性具有显著的差异,并且在 DH 群体中,各致病小种致病性呈现连续分布现象,同时也检测到许多相关的 QTL。这些结果表明, DH 群体各株系对白叶枯病的抗性变异情况说明这些性状是由多个基因共同控制的结果。另外, PXO61 的致病性在双亲之间并不显著,但在 DH 群体中变异范围很广,这说明不同的基因聚合可以导致不同的白叶枯病抗性。这有利于在水稻育种中进行基因聚合。

白叶枯病致病小种很多,许多白叶枯病抗性基因可能就只对某一种或几种白叶枯病致病小种有抗性,因此,不同致病小种对水稻的致病性和遗传机制可能并不一样。本研究对 PXO61、PXO99、PXO112 和 PXO347 这 4 个菲律宾致病小种进行研究,相关分析表明,这几个致病小种之间的致病性存在着显著的相关性,但其相关系数并不高(位于 0.355 1-0.615 9 之间)。同时,在 QTL 分析过程中,我们检测到了 12 个 QTL,但只包括 9 个区间,其中只有 RM520-RM3684 和 RM6024-RM163 这两个区间在不同的致病小种中重复检测到,其他检测到的 QTL 在不同致病小种中均不一样。这些结果都说明了 PXO61、PXO99、PXO112 和 PXO347 这 4 个致病小种的致病性可能有其共同的调控途径,而且同时也具

有其各自的遗传基础。

本研究共检测到 12 个水稻白叶枯病相关的 QTL,共有 9 个区间,大部分的 QTL 的表型贡献率并不高。同一个致病小种致病性检测到的 QTL 累加贡献率都只有 30%左右,说明这些致病小种的致病性可能主要由大量微效 QTL 控制。Yoshimura 等^[8]通过构建 IR24 和 IR-BB1 以及 IR24 和 Kogyoku 杂交 F₃ 群体接种日本致病小种 X-17,利用图位克隆的方法分离了抗性基因 *Xa1*。亲本抗性基因检测结果发现 Maybelle 亲本中含有 *Xa1* 抗性基因且白叶秋中并没有,但在后代群体 QTL 分析中未能检测到相关位点,推测是由于 *Xa1* 具有小种专一性,与本研究中所使用致病小种不同导致的。Chen 等^[2]和 Luo 等^[24]通过对镇恢 084 和成恢 448 杂交 F₂ 群体接种菲律宾致病小种 PXO61 和 PXO86,逐步对 *Xa7* 进行分离鉴定,克隆了 *Xa7* 抗性基因。本研究对 Maybelle 与白叶秋 DH 群体也接种了致病小种 PXO61,但未检测出与 *Xa7* 相同的 QTL。Wang 等^[25]用 PXO99 作为鉴别菌株,在普通野生稻中发掘出一个广谱性的抗病基因 *Xa23*,本研究同样也接种了 PXO996 致病小种,但未检测出与 *Xa23* 相同的基因座位的 QTL,这些可能都是由于双亲中未含有 *Xa7* 和 *Xa23* 基因。在这些检测到的 QTL 中,也有一些与前人报道的 QTL 区间相重合。如 *xa8*^[26],它是最先从 PI231129 中发现的,对菲律宾小种 PXO61 具有一定的抗性。其位置与本研究中的 *qPXO61-7* 的区间重合,位于 7 号染色体 RM11-RM1132 区间内。另外也有研究表明,过表达 *OsWRKY71* 与 *OsNRP1* 都可以显著提高水稻的白叶枯病抗性,而这 2 个基因也分别位于本研究的 *qPXO99-2* 和 *qPXO112-1* 区间内。除此之外,我们还检测到许多新的位点,这些位点与前人的研究并不一致,可能是由于不同的遗传背景检测到的一些特异的遗传位点。本

研究的两个亲本分别属于国外引进品种及地方品种, 明显区别于其他研究所用材料的亲本类型。因此, 这些新位点可能是一些新的白叶枯病抗性的遗传位点。这些新位点当中位于 5 号染色体中的 RM6024-RM163 在 3 个致病小种均被检测到, 并且其表型贡献率最高, 其应用价值最高, 可拓宽我国白叶枯病抗性的基因资源, 同时为最终克隆该基因奠定了基础。

培育抗白叶枯病的水稻品种是防治水稻白叶枯病最有效的方法, 而大部分白叶枯病具有一定的小种特异性, 因此, 通过基因聚合的方法可以提高白叶枯病的抗性及抗谱。在本研究中, 不同 QTL 座位的聚合可以有效提高水稻的白叶枯病抗性。在水稻育种中, 可以通过本研究的分子标记, 把不同点上的 QTL 的增效等位基因聚合在一起, 用于改良水稻白叶枯病抗性。

REFERENCES

- [1] 应俊杰, 余山红, 项加青, 朱贵平, 徐丹亭, 王会福. 不同杂交水稻品种在白叶枯病发生区种植表现比较[J]. 杂交水稻, 2023, 38(3): 150-153.
YING JJ, YU SH, XIANG JQ, ZHU GP, XU DT, WANG HF. Comparison of planting performance of different hybrid rice varieties in bacterial leaf blight areas[J]. Hybrid Rice, 2023, 38(3): 150-153 (in Chinese).
- [2] CHEN XF, LIU PC, MEI L, HE XL, CHEN L, LIU H, SHEN SR, JI ZD, ZHENG XX, ZHANG YC, GAO ZY, ZENG DL, QIAN Q, MA BJ. *Xa7*, a new executor *R* gene that confers durable and broad-spectrum resistance to bacterial blight disease in rice[J]. Plant Communications, 2021, 2(3): 100143.
- [3] JIANG N, YAN J, LIANG Y, SHI YL, HE ZZ, WU YT, ZENG Q, LIU XL, PENG JH. Resistance genes and their interactions with bacterial blight/leaf streak pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in rice (*Oryza sativa* L.)-an updated review[J]. Rice, 2020, 13(1): 3.
- [4] RONALD PC, ALBANO B, TABIEN R, ABENES L, WU KS, MCCOUCH S, TANKSLEY SD. Genetic and physical analysis of the rice bacterial blight disease resistance locus, *Xa21*[J]. Molecular and General Genetics MGG, 1992, 236(1): 113-120.
- [5] SONG WY, WANG GL, CHEN LL, KIM HS, PI LY, HOLSTEN T, GARDNER J, WANG B, ZHAI WX, ZHU LH, FAUQUET C, RONALD P. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*[J]. Science, 1995, 270(5243): 1804-1806.
- [6] XING JX, ZHANG DY, YIN FY, ZHONG QF, WANG B, XIAO SQ, KE X, WANG LX, ZHANG Y, ZHAO CM, LU YD, CHEN L, CHENG ZQ, CHEN LJ. Identification and fine-mapping of a new bacterial blight resistance gene, *Xa47(t)*, in G252, an introgression line of Yuanjiang common wild rice (*Oryza rufipogon*)[J]. Plant Disease, 2021, 105(12): 4106-4112.
- [7] 陈洛, 朱稳, 李雯慧, 赵均良, 周玲燕, 杨武. 水稻白叶枯病抗性基因的研究及应用进展[J]. 作物杂志, 2023: 1-8.
CHEN L, ZHU Y, LI WH, ZHAO JL, ZHOU LY, YANG W. Progress in research and application of resistance genes to white leaf blight in rice[J]. Crops, 2023: 1-8 (in Chinese).
- [8] YOSHIMURA S, YAMANOUCI U, KATAYOSE Y, TOKI S, WANG ZX, KONO I, KURATA N, YANO M, IWATA N, SASAKI T. Expression of *Xa1*, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(4): 1663-1668.
- [9] LUU DD, JOE A, CHEN Y, PARYS K, BAHAR O, PRUITT R, CHAN LJG, PETZOLD CJ, LONG K, ADAMCHAK C, STEWART V, BELKHADIR Y, RONALD PC. Biosynthesis and secretion of the microbial sulfated peptide Ra₃X and binding to the rice XA21 immune receptor[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(17): 8525-8534.
- [10] SUN XL, CAO YL, YANG ZF, XU CG, LI XH, WANG SP, ZHANG QF. *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2004, 37(4): 517-527.
- [11] CHU ZH, FU BY, YANG H, XU CG, LI ZK, SANCHEZ A, PARK YJ, BENNETZEN JL, ZHANG QF, WANG SP. Targeting *xa13*, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice[J]. TAG Theoretical and Applied Genetics Theoretische Und Angewandte Genetik, 2006, 112(3): 455-461.
- [12] ANTONY G, ZHOU JH, HUANG S, LI T, LIU B, WHITE F, YANG B. Rice *xa13* recessive resistance to bacterial blight is defeated by induction of the disease

- susceptibility gene *Os-IIN3*[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(11): 3864-3876.
- [13] LIU QS, YUAN M, ZHOU Y, LI XH, XIAO JH, WANG SP. A paralog of the MtN3/saliva family recessively confers race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2011, 34(11): 1958-1969.
- [14] 陈贤, 赵延存, 明亮, 杨勇, 刘凤权. 水稻白叶枯病抗性相关基因的研究进展[J]. *江苏农业学报*, 2022, 38(5): 1402-1410.
CHEN X, ZHAO YC, MING L, YANG Y, LIU FQ. Update of rice bacterial blight resistance genes[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 38(5): 1402-1410 (in Chinese).
- [15] GU K, TIAN D, YANG F, WU L, SREEKALA C, WANG D, WANG GL, YIN Z. High-resolution genetic mapping of *Xa27(t)*, a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L.[J]. *TAG Theoretical and Applied Genetics Theoretische Und Angewandte Genetik*, 2004, 108(5): 800-807.
- [16] TIAN DS, WANG JX, ZENG X, GU KY, QIU CX, YANG XB, ZHOU ZY, GOH M, LUO YC, MURATA-HORI M, WHITE FF, YIN ZC. The rice TAL effector-dependent resistance protein XA10 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26(1): 497-515.
- [17] WANG GL, RUAN DL, SONG WY, SIDERIS S, CHEN L, PI LY, ZHANG S, ZHANG Z, FAUQUET C, GAUT BS, WHALEN MC, RONALD PC. *Xa21D* encodes a receptor-like molecule with a leucine-rich repeat domain that determines race-specific recognition and is subject to adaptive evolution[J]. *The Plant Cell*, 1998, 10(5): 765-779.
- [18] WANG CL, ZHANG XP, FAN YL, GAO Y, ZHU QL, ZHENG CK, QIN TF, LI YQ, CHE JY, ZHANG MW, YANG B, LIU YG, ZHAO KJ. XA23 is an executor R protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice[J]. *Molecular Plant*, 2014: ssu132.
- [19] GU KY, TIAN DS, QIU CX, YIN ZC. Transcription activator-like type III effector AvrXa27 depends on OsTFIIA γ 5 for the activation of *Xa27* transcription in rice that triggers disease resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2009, 10(6): 829-835.
- [20] 彭小群, 王梦龙. 水稻白叶枯病抗性基因研究进展[J]. *植物生理学报*, 2022, 58(3): 472-482.
PENG XQ, WANG ML. Research advances on resistance genes to bacterial blight disease in rice[J]. *Plant Physiology Journal*, 2022, 58(3): 472-482 (in Chinese).
- [21] 杨窑龙, 饶玉春, 李赟, 黄李超, 冷语佳, 张光恒, 高振宇, 胡江, 朱丽, 郭龙彪, 钱前, 曾大力. 水稻茎秆相关性状遗传分析[J]. *分子植物育种*, 2011, 9(2): 160-168.
YANG YL, RAO YC, LI GM, HUANG LC, LENG YJ, ZHANG GH, GAO ZY, HU J, ZHU L, GUO LB, QIAN Q, ZENG DL. Genetic analysis of culms traits in rice[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2011, 9(2): 160-168 (in Chinese).
- [22] MENG L, LI HH, ZHANG LY, WANG JK. QTL IciMapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations[J]. *The Crop Journal*, 2015, 3(3): 269-283.
- [23] MCCOUCH S, CHO Y, YANO M, PAUL E, BLINSTRUB M, MORISHIMA H, MCCOUCH SR, CHO YG, KINOSITA T, YANO PE, BLINSTRUE M, MORISHIMA HM. Report on QTL nomenclature[J]. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11-13.
- [24] LUO DP, HUGUET-TAPIA JC, RABORN RT, WHITE FF, BRENDEL VP, YANG B. The *Xa7* resistance gene guards the rice susceptibility gene *SWEET14* against exploitation by the bacterial blight pathogen[J]. *Plant Communications*, 2021, 2(3): 100164.
- [25] XU ZY, XU XM, WANG YJ, LIU LL, LI Y, YANG YY, LIU L, ZOU LF, CHEN GY. A varied AvrXa23-like TALE enables the bacterial blight pathogen to avoid being trapped by *Xa23* resistance gene in rice[J]. *Journal of Advanced Research*, 2022, 42: 263-272.
- [26] SINGH K, VIKAL Y, SINGH S, LEUNG H, DHALIWAL HS, KHUSH GS. Mapping of bacterial blight resistance gene *xa8* using microsatellite markers[J]. *Rice Genetics Newsletter*, 2002: 19(0): 94-97.

(本文责编 陈宏宇)