

西南地区水稻细菌性条斑病菌致病力的分化

王绍雪^a, 马改转^b, 魏兰芳^b, 姬广海^{a*}

(云南农业大学 a.农业生物多样性应用技术国家工程中心; b.农科基础实验教学中心, 云南 昆明 650201)

摘要: 以水稻品种 IRBB4、IRBB5、IRBB14、IRBB18、IRBB21 和 IR24 为鉴别品种, 在孕穗期, 采用针刺接种的方法, 将水稻条斑病菌接种在水稻剑叶上, 根据病菌与品种互作反应和亲和性的类型差异, 将供试的 75 株条斑病菌菌株区分为 13 个小种群。大多数水稻条斑病菌株在鉴别品种上的互作反应表现为弱互作模式。云南、贵州、四川 3 省菌株小种组成的比较表明: 以小种 C9 为目前 3 省的共同优势种群; 云南省小种组成多样, 所有的小种均有分布, 贵州小种类型有 6、9、11、13, 四川小种类型有 3、4、6、7、9、11、12、13, 小种的分布受地理区域的影响。

关键词: 水稻条斑病; 水稻细菌性条斑病菌; 致病性; 小种

中图分类号: S435.121.4⁺9 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)02-0188-04

Virulence differentiation of strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in southwest of China

WANG Shao-xue^a, MA Gai-zhuan^b, WEI Lan-fang^b, JI Guang-hai^{a*}

(a.National Center for Agro-Biodiversity; b.Experimental Agriculture Center, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201,China)

Abstract: Based on strain-cultivar reaction the pathogenicity of 75 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xooc*) strains collected from different areas in southwest China was identified. The virulence against the differential varieties of IRBB4, IRBB5, IRBB14, IRBB18, IRBB21 and IR24 were inoculated into flag leaves of rice by using leaf needling for lesion length measurement. It showed that the virulence of these strains was differentiated distinctly; It also suggested that the 75 *Xooc* strains can be classified into 13 race groups: (1) RRRRRR, (2) RRRSRS, (3) RRSRSS, (4) RRSSSS, (5) RSRSSS, (6) RSRSSS, (7) RSSRSS, (8) RSSRSR, (9) RSSSSS, (10) SRSSSS, (11) SSRSSS, (12) SSSRSS, (13) SSSSSS, which was designated as C1-C13, respectively. Weak reaction patterns were proved mainly between pathogens and rice varieties and some strong interaction was discovered. The results further indicated that the predominant race C9 was distributed in all three provinces, and all 13 race groups were distributed in Yunnan, race 6,11,13 in Guizhou, race 3,4,6,7, 11,12,13 in Shichuan. The race distribution of *Xooc* in 3 different provinces is affected by geographic differentiation.

Key words: Bacterial leaf streak; *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzicola*; pathogenicity; race

由水稻细菌性条斑病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*)引起的水稻细菌性条斑病在亚洲和中国局部地区时有发生, 危害水稻生产并造成严重损失, 其危害性仅次于水稻白叶枯病。云南省粳稻种

植局部地区细菌性条斑病发生相当严重, 了解和掌握水稻细菌性条斑病菌致病力分化, 是抗病品种的选育和合理布局的前提。国内外研究^[1-7]都表明病菌存在毒力分化现象, 刘友勋等^[8]以金刚30、窄叶青、

收稿日期: 2009-09-25

基金项目: 农业部公益性(农业)行业科研专项(nyhyzx07-056); 国家自然科学基金项目(30760139); 云南省第十一批学术技术带头人后备人才项目(2008PY042)

作者简介: 王绍雪(1983—), 女, 云南巍山人, 硕士研究生; 通讯作者, jghai001@yahoo.com.cn

XM5、XM6、M41等5个水稻品种为鉴别品种，将来自湖南、湖北、福建和江西等中南4省的75个细菌性条斑病菌菌株的毒力划分为7个致病型，前5个类型毒力差异主要呈由弱到强的数量变化，V和VI型间呈交叉反应式的强互作关系。郭亚辉等^[9]采用针刺接种的方法，在水稻孕穗期的剑叶上接种测定了南方稻区水稻条斑病菌62个菌株的致病力，根据病菌与鉴别品种的互作反应和亲和性的差异，将供试条斑病菌菌株区分为6个小种。由于没有统一的鉴别品种和抗感评价标准，上述研究结果难以相互比较。笔者通过对75个菌株与以国际水稻研究所的近等基因系材料的互作关系研究，筛选了一套在云南省环境条件下，对病菌毒力强弱有很好区分作用的鉴别寄主，并在这套鉴别品种上对来自云南、四川、贵州3省的75个菌株致病性分化进行了比较。

1 材料与方 法

1.1 水稻条斑病样品采集和菌株来源

2007至2009年，采集并分离水稻细菌性条斑病菌株75株(云南省楚雄州禄丰县22株、元谋县10株、玉溪市元江县16株、文山州西畴、麻栗坡和富宁县等地5株、德宏州瑞丽、芒市2株；贵州省安顺市镇宁县8株；四川省西昌市3株、攀枝花市仁和区2株，盐边县4株、凉山州德昌县2株)，采用载玻片液滴法分离并保存菌株。

1.2 供试水稻品种

水稻为已知抗病基因的6个近等基因系材料：IRBB4、IRBB5、IRBB14、IRBB18、IRBB21、IR24。

1.3 方 法

(1) 参试菌株的准备。接种前2d取出参试菌株，在NA斜面上划线，28℃生长48h后接种。NA培养基配方：牛肉浸膏3g，酵母提取物1g，蛋白胨5g，蔗糖10g，琼脂17g，加水定容至1000mL，调pH至7.0。

(2) 接种方法^[10]。4月中旬育秧，5月中旬移栽，7月中旬孕穗期接种。接种前，将供试菌株从冻存管中移植在NA培养基上，在28℃培养箱内培养48~72h，一般移植两代后备用。供试菌株配制成药3×10⁸cfu/mL菌悬液。在水稻孕穗期采用针刺接种

平展的剑叶，针刺部位在叶片中部叶脉两侧，每一处理至少接种10张叶片，共20个接种点。

(3) 调查时间和调查标准。在接种21d后测量接种点的病斑长度，每处理测量10片叶上20个接种点，病斑长度取平均值，作为衡量菌株致病力强弱的尺度，病斑小于或等于1cm的划分为抗病反应(R)，病斑大于1cm的划分为感病反应(S)。

(4) 小种划分。用含不同抗病基因的水稻近等基因系品种作为鉴别品种，根据病原菌菌株与这些鉴别品种的互作反应，将水稻条斑病菌菌株划分为相应的小种。根据各菌株在6个鉴别品种上的致病性反应，分析75个水稻条斑病菌菌株对鉴别品种所持抗病基因的致病性。

(5) 聚类分析。表现抗病的记为“1”，感病的记为“0”，制成Excel文件用于聚类分析；使用Statistic计算机软件，采用Percent Disagreement计算，并用非加权组对平均数聚类法进行聚类分析，构建系统树状图谱。

2 结果与分析

2.1 水稻条斑病菌对各鉴别品种的侵染率及其生理小种分析

根据75个水稻条斑病菌菌株在6个鉴别品种上的致病性反应，发现IRBB5抗绝大多数测试菌株，说明所测菌株存在强致病性条斑病菌株，而绝大多数菌株都对IRBB18致病。其他抗病基因的反应则存在很大差异，对IR24(72%)的侵染率稍低，对IRBB14、IRBB21的侵染率则较高，说明这一套鉴别品种对云南、贵州和四川的水稻条斑病菌株小种的鉴别可靠(图1)。

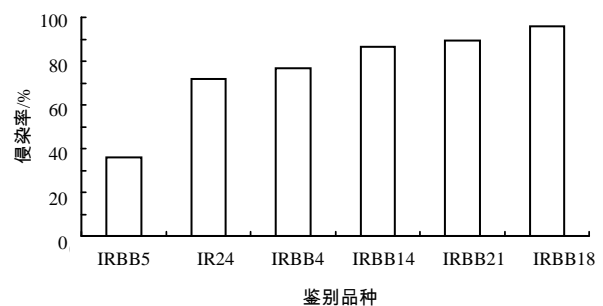


图1 水稻条斑病菌株对各鉴别品种的侵染率

Fig.1 Infecting rates of differential varieties to pathogenic strains of *X. oryzae* pv. *orycolae*

75 个菌株在鉴别品种上的致病反应，对应 13 个小种互作模式(表 1)。

表 1 水稻条斑病菌 13 个小种在 6 个鉴别品种上的反应模式

Table 1 The virulence groups of 13 races of *X. oryzae* pv. *oryzicola* based on the six differentials

小种	抗病性						所含菌株数/株	出现频率/%
	IRBB5	IR24	IRBB14	IRBB4	IRBB21	IRBB 18		
C1	R	R	R	R	R	R	3	4.00
C2	R	R	R	S	R	S	1	1.33
C3	R	R	S	R	S	S	4	5.33
C4	R	R	S	S	S	S	8	10.67
C5	R	S	R	R	S	S	1	1.33
C6	R	S	R	S	S	S	3	4.00
C7	R	S	S	R	S	S	5	6.67
C8	R	S	S	S	R	S	4	5.33
C9	R	S	S	S	S	S	19	25.33
C10	S	R	S	S	S	S	4	5.33
C11	S	S	R	S	S	S	3	4.00
C12	S	S	S	R	S	S	6	8.00
C13	S	S	S	S	S	S	13	17.33

在水稻条斑病菌菌株致病力分化鉴定的过程中，主要根据剑叶接种 21 d 后病斑的长度和菌脓的多少来进行分析。所有菌株被分成 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13 等 13 个生理小种，从不同致病类型的菌株占参试菌株的百分率看，其中 9、13、4、12 小种占的比例较高，尤其是 C9 占的比例最高，属于优势小种，而其他小种出现频率都较低。

从 6 个鉴别品种的角度来分析，IRBB5 对参试的大部分条斑病菌株表现为抗病，抗病力最强、抗菌谱最宽；IRBB18 的抗性最弱。

绝大多数菌株和水稻品种之间表现出了弱互作关系，只有极少数菌株表现出了强互作关系，如 C4、C5 和 C10、C11 对于 IR24、IRBB14 表现出强互作关系。

2.2 水稻条斑病菌优势小种及其分布

聚类分析结果(图 2)表明，在 1.0 的遗传距离上，13 个小种分为 9 个组群，在 1.5 的遗传距离上分为 3 个组群，其中第 2 组为主要组群，包括 8 个小种类型，优势小种 C9、C13、C4、C12 和强毒小种 C13 都归到第 2 组群中，而第 1 组群为弱毒性小

种组群。

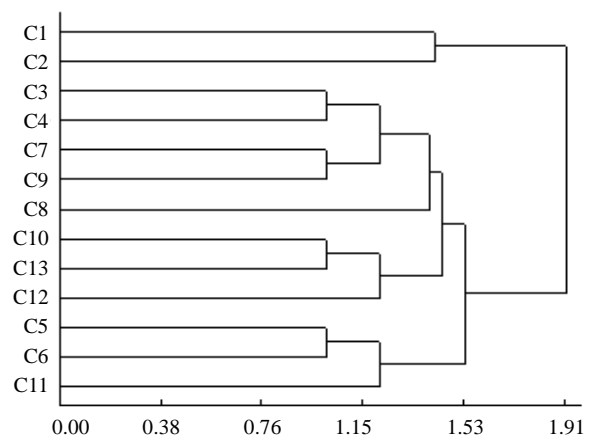


图 2 小种分化聚类

Fig.2 Dendrogram of the 13 races of *X. oryzae* pv. *oryzicola* tested

13 个生理小种在各个地区的分布详见表 2。小种在各地区的分布具有一定的地域相关性，如优势小种 9、13、4、12 都出现在云南地区，而在贵州和四川省较少出现，尤其 9 号小种几乎分布在云南省的每个采样地点。云南省的水稻条斑病菌包含 1~13 等 13 个小种，贵州省具有的小种类型有 6、9、11、13，四川省具有的小种类型有 3、4、6、7、9、11、12、13。

表 2 小种类型及其地域分布

Table 2 *X.oryzae* pv. *oryzicola* races type and distribution in different region

分布地区	采样点数	县(市)	小种类型
云南省	35	元谋县	6、7、8、9、13
		元江县	5、7、8、9、10、11、12、13
		禄丰县	1、2、3、4、9、10、12、13
		文山州	1、3、4、9、10
		玉溪市	1
		德宏	9
		瑞丽市	4
		楚雄市郊	13
贵州省	2	镇宁县大山乡	6、11、13
		镇宁城关镇	9、13
四川省	11	西昌市黄水乡	11
		西昌市裕隆乡	3、6
		攀枝花市盐边县	4、7、12
		攀枝花仁和区	9
		凉山州德昌县	3、13

3 讨论

针对病原细菌及种子带菌的快速检测都已有成功的报道^[11-12]。本研究中,以IRBB18、IRBB5、IR24、IRBB14、IRBB21、IRBB4为鉴别品种,将来自云南、四川、贵州3省的75个细菌性条斑病菌菌株划分为C1~C13等13个小种,9、13、4、12小种占的比例较高,尤其是C9小种占的比例最高,它们属于优势小种,出现频率分别为25.33%、17.33%、10.67%、8%。建议抗病育种或品种抗性评价时作为针对对象。从病菌小种的分布来看,各地区的小种分布,以云南小种数量最多,其次是四川,贵州较少。主要是贵州菌株数量少有关。多个生理小种如C8、C9、C10、C11、C11和C12之间呈交叉反应式的强互作关系。

华南农业大学利用同样的鉴别品种测定了来源于广东、广西、海南3省区的63个菌株对水稻品种的致病性,结果表明,华南地区的水稻细菌性条斑病菌可以分为10个小种,以小种1为目前3省的共同优势种群,属弱致病类群(39.7%),但江苏农科院利用此套鉴别品种将江苏省的条斑病菌株82株划分为8种类型,以强毒性小种为主,测试的6个鉴别品种都表现感病,占40.2%,与笔者测试

的C13优势小种一致。陈功友等利用avrBS3为探针针对水稻条斑病菌杂交,发现云南、四川等地菌株指纹图谱不同于其他省份,也验证了西南地区条斑病菌株具有丰富的多态性(内部资料)。鉴于所选用的菌株仅来自于云南、贵州和四川3省的不同地区,菌株的数量和来源有限,对全国水稻细菌性条斑病菌的毒性小种分化的分析,需要多个部门共同参与,统一鉴别品种和评价标准,划分的小种才具有可比性。

参考文献:

- [1] 种藏文,王长方,卢同.福建条斑病菌致病力分化[J].福建农业科技,1989(5):30-31.
- [2] 向建国,任新国,戴良英.水稻条斑病菌致病力分化研究[J].湖南农业科学,1991,12(1):27-32.
- [3] 夏怡厚,林维英,陈藕英.水稻细菌性条斑病菌的致病力变异和菌系鉴别[J].福建农学院学报,1992,21(3):278-282.
- [4] 农秀美.广西条斑病菌致病力分化研究[J].西南农业学报,1992,4(2):94-97.
- [5] 徐羨明,林璧润,曾列先.广东水稻细菌性条斑病菌致病力分化研究初报[J].广东农业科学,1992(6):31-32.
- [6] 任新国.水稻细菌性条斑病防治技术研究[J].湖南农学院学报,1993,19(6):591-599.
- [7] Adhikari T B, Mew T W. A quantitative method for assessing virulence of *X. c. pv. oryzicola*[J]. International Rice Research Newsletters(IRRN), 1985, 10(1):18-19.
- [8] 刘友勋,成国英,涂立超,等.中南4省水稻细菌性条斑病菌致病型的比较[J].华中农业大学学报,2004,23(5):504-506.
- [9] 郭亚辉,许志刚,胡白石,等.中国南方水稻条斑病菌小种分化研究[J].中国水稻科学,2004,18(1):83-85.
- [10] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998.
- [11] 廖晓兰,朱水芳,赵文军,等.水稻白叶枯病菌和水稻细菌性条斑病菌的实时荧光PCR快速检测鉴定[J].微生物学报,2003,43(5):626-634.
- [12] 张华,姜英华,胡白石,等.利用PCR技术专化性检测水稻细菌性条斑病菌[J].植物病理学报,2008,38(1):1-5.

责任编辑:罗慧敏

英文编辑:胡东平