

# 中国、日本和菲律宾水稻白叶枯病菌的母株与单细胞系的遗传与致病性差异的分析

郑伟<sup>1</sup> 刘晓辉<sup>1,2</sup> 成国英<sup>1</sup> 林兴华<sup>1\*</sup>

(1. 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室 植物科学技术学院 武汉 430070)

(2. 吉林师范大学 四平 136000)

**摘要:** 以 J3、IS1112、IS1113 和 ERIC 为引物对 17 组(56 株)来自中国、日本和菲律宾的水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)代表菌株和它们的单细胞系进行 IS-PCR 和 Rep-PCR 扩增以及田间致病性鉴定, 研究母株和单细胞系之间的遗传和致病性变异。结果表明: 1) 母株与单细胞系属于同一分子谱型的比率依次为: 52.9%(J3)、23.5%(IS1112)、29.4%(IS1113)和 35.3%(ERIC); 2) 综合 4 个引物的 PCR 扩增结果, 采用 UPGMA 聚类, 母株与其全部单细胞系相似率在 90% 以上的组群占 29.4%, 差异率达到 30%~41% 的组群占参试组群的 52.9%; 以带位相似率 80% 为簇界, 参试菌可以划分为 15 簇, 来自中国、日本和菲律宾的 9 个组的母株和单细胞系聚合在同一簇中, 占参试菌的 52.9%, 说明三国病菌在遗传上存在高度相关性; 三国病菌都存在簇群差异, 以菲律宾菌系变异最大, 如 Pxo79 和 Pxo112 母株和单细胞系各分在不同的 3 簇中, Pxo79、Pxo86、Pxo99 和 Pxo112 等菌系的母株和单细胞系之间的差异率达到了 41%; 结果证明: 母株是“由遗传上有不同程度差异的细胞”组成的混合体。3) 田间致病性测定表明, 母株与其单细胞系毒力不同的有 15 组, 占 88.2%, 说明母株是由毒力不同的单细胞系组成的混合体, 但病原菌的分子谱型以及遗传分簇与致病型之间没有相关性。

**关键词:** 水稻白叶枯病原菌, 单细胞系, 遗传变异, 毒力分化

## The Variation of Genetic and Virulent of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Strains and Mono-cell-clones from China, Japan and the Philippines

ZHENG Wei<sup>1</sup> LIU Xiao-Hui<sup>1,2</sup> CHENG Guo-Ying<sup>1</sup> LIN Xing-Hua<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

(2. Jilin Normal University, Siping 136000)

**Abstract:** The primers J3, IS1112, IS1113, and ERIC were used to analyze 17 tested groups (56 strains and their mono-cell-clones) of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from China, Japan and the Philippines. The result

showed: 1) The percentage were 52.9%(J3), 23.5%(IS1112), 29.4%(IS1113) and 35.3%(ERIC) which strains and their mono-cell-clones were in one patten of each primer, respectively. 2) Percentage were 29.4% which the similarity were over 90% between strains and their mono-cell-clones of 17 tested groups, while 52.9% of dissimilarity were 30%~41%; at level of 80% similarity, 9 tested groups which strains and their mono-cell clones were in one cluster(52.9% of 17 tested groups), these results suggested there were phylogenetic relationship between the strains. Also the differentiation were exits. Such as, Philippine strains, Pxo79 and Pxo112 were distributed into 3 clusters; the dissimilarity were 41% between strains and their mono-cell-clones of Pxo79, Pxo86, Pxo99 and Pxo112. These results indicated the strains were combined by different cells. 3) There was only 11.8% of tested strains which virulence of strains were equal to their mono-cell-clones in 17 tested groups. The result indicated that there were virulent difference between strains and their mono-cell-clones. No relationship were observed between UPGMA clusters and pathotypes.

**Keywords:** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, Mono-cell-clones, Genetic variation, Virulent differentiation

由水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)引发的稻白叶枯病是水稻生产上的重要病害。寄主抗性是水稻白叶枯病害管理的重要组成部分。殷尚智等<sup>[1]</sup>的研究结果表明水稻白叶枯菌自然群体是由强弱不同毒力的菌系组成的混合体。成国英等<sup>[2,3]</sup>利用倍比梯度稀释法分离单细胞系,进行致病性鉴定,结果证明采用“段叶沙培,切口取菌胶”法分离病菌,是包含不同毒力细胞的混合体,在鉴别品种上划分的致病型,是田间病菌在一定生态条件下“群体毒力”的表型反应。

Leach等<sup>[4]</sup>用重复序列检测水稻白叶枯病菌基因组,他们认为pJEL101序列(IS1112)不仅可以有效区分致病变种,也可用于分析病原物的菌株和群体。Adhikari等<sup>[5]</sup>利用水稻白叶枯病菌的插入序列IS1112、IS1113和重复序列ERIC为引物,研究尼泊尔的水稻白叶枯病菌的遗传多样性,发现利用分子标记划分的单元型(haplotype)与病菌致病型之间存在一定的相关性。Ochiai等<sup>[6]</sup>对完成测序的日本白叶枯病菌株MAFF311018全基因组进行分析,发现水稻白叶枯病菌的特征之一,就是基因组中包含大量插入序列,而且插入序列因子在基因组进化中具有重要作用。

本研究拟通过利用国内外广泛应用的 IS-PCR 和 Rep-PCR 技术,以及田间致病性鉴定,对来自中国、日本和菲律宾水稻白叶枯病原菌致病型代表菌株的母株及其单细胞系(合计 56 个菌系)进行遗传多样性与致病性变异的研究,为病菌致病性变异、抗源的合理布局和交换提供参考依据。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 水稻白叶枯病菌

本试验参试菌为 17 组 56 个菌系(详见表 1),分别为: 5 个中国致病型代表菌“ 型(Js158-2)、 型(Zh173)、 型(Gd1358)、 型(Os198)、 型(Os225)”和其单细胞系共计 18 个; 3 个日本的生理小种代表菌“ R3A(T7133)、R2(T7147)、R1A(T7174)”和其单细胞系共 9 个; 9 个菲律宾的生理小种代表菌“ P1(Pxo61)、P2(Pxo86)、P3(Pxo79)、P4(Pxo71)、P5(Pxo112)、P6(Pxo99)、P7(Pxo145)、P8(Pxo280)、P9(Pxo339)”和其单细胞系共 29 个。

单细胞系的获取: 将活化的母菌株利用倍比梯度稀释法,挑取由“单个细胞”形成的梭形菌落(0.5 mm×1 mm)培养而成(成国英等<sup>[3]</sup>)。每个母株和由它而来的单细胞系称之为一个组。

### 1.2 参试品种及所含抗性基因

IRBB3(*Xa3*)、IRBB4(*Xa4*)、IRBB5(*xa5*)、IRBB14(*Xa14*)、M41(*Xa15*)、Asominori(*Xa17*)、丰锦(*Xa18*)、XM5(*Xa19*)、XM6(*Xa20*)和 Java14(*Xa1+Xa3+Xa12*)等 10 个近等基因系或品种。

### 1.3 方法

**1.3.1 水稻种植和病菌接种鉴定:** 水稻在 5 月 10 播种, 6 月 12 日移栽; 每排 10 蔸, 株行距 15 cm×28 cm, 单本种植, 本田施复合肥 9 kg/100 m<sup>2</sup>, 追施尿素 1.5 kg/100 m<sup>2</sup>, 防虫不防病。

病原菌的接种鉴定参照方中达等<sup>[7]</sup>所述方法进行。

**1.3.2 DNA提取:** 参照郑伟等<sup>[8]</sup>所述方法。

表 1 中国、日本和菲律宾参试菌系编号  
Table 1 No. of Chinese, Japanese and The Philippines *Xoo* Strains

参试菌系编号 No. of strains	
中国菌系 Chinese strains	Js158-2 and their mono-cell-clones Js158-2-1, Js158-2-2, Js158-2-3
	Zh173 and their mono-cell-clones Zh173-1, Zh173-3, Zh173-5
	Gd1358 and their mono-cell-clones Gd1358-1
	Os198 and their mono-cell-clones Os198-1, Os198-2
	Os225 and their mono-cell-clones Os225-1, Os225-2, Os225-3, Os225-4
日本菌系 Japanese strains	T7133 and their mono-cell-clones T7133-1, T7133-2
	T7147 and their mono-cell-clones T7147-1, T7147-2
	T7174 and their mono-cell-clones T7174-1, T7174-2
菲律宾菌系 The Philippines strains	Pxo61 and their mono-cell-clones Pxo61-1, Pxo61-2
	Pxo71 and their mono-cell-clones Pxo71-1, Pxo71-2
	Pxo79 and their mono-cell-clones Pxo79-1, Pxo79-3, Pxo79-4, Pxo79-5
	Pxo86 and their mono-cell-clones Pxo86-1, Pxo86-2
	Pxo99 and their mono-cell-clones Pxo99-1, Pxo99-2
	Pxo112 and their mono-cell-clones Pxo112-1, Pxo112-2
	Pxo145 and their mono-cell-clones Pxo145-1, Pxo145-2
	Pxo280 and their mono-cell-clones Pxo280-1, Pxo280-2
	Pxo339 and their mono-cell-clones Pxo339-1, Pxo339-2

1.3.3 PCR反应条件: IS-PCR和Rep-PCR引物序列和反应条件参照郑伟等<sup>[8]</sup>所述方法。

1.4 数据分析

根据 4 种引物 PCR 扩增形成的分子谱型, 以及依据指纹带位的有无分别转换为 1 或 0 两个数码, 采用 UPGMA(unweighted pair-group method with arithmetic analysis)进行聚类, 研究白叶枯病菌母株与单细胞系之间的遗传及毒力分化关系。

2 结果与分析

2.1 IS-PCR 和 Rep-PCR 谱型分析

本研究采用 3 个 IS-PCR 和 1 个 Rep-PCR 引物对参试的 17 组(表 1)56 个菌株的基因组 DNA 进行 PCR 扩增(见图 1)。

引物 J3 扩增的片段大小范围为 0.2 kb~2 kb, 产生 2~7 条指纹主带, 表现 19 种谱型。其中母株与其单细胞系属于同一分子谱型的有 9 组(中国菌系的 Gd1358 和 Os198, 日本菌系的 T7133 和 T7174, 菲律宾菌系的 Pxo99、Pxo112、Pxo145、Pxo280 和 Pxo339), 占 52.9%; 其余的 8 组, 母株与其单细胞系或者完全不同(有 2 组, 占 11.8%), 或者与部分单细胞系相同, 与另一些单细胞系不同, 即单细胞系之间不同(有 6 组, 占 35.3%)。

引物 IS1112 扩增的片段大小范围为 0.12 kb~2 kb, 产生 2~9 条指纹主带, 分 19 种谱型。在 17 组中, 母株与其单细胞系属于同一分子谱型, 有 4 组(中国菌系的 Gd1358 和 Os198, 菲律宾菌系的 Pxo86 和 Pxo71), 占 23.5%; 其余的 13 组, 母株与其单细胞系或者完全不同(有 7 组, 占 41.2%), 或者与部分单细胞系相同, 与另一些单细胞系不同(有 6 组, 占 35.3%)。

引物 IS1113 扩增的片段大小范围为 0.2 kb~3 kb, 产生 2~18 条指纹主带, 分 23 种谱型。其中, 母株与其单细胞系属于同一分子谱型, 有 5 组(中国菌系的 Zh173、Gd1358 和 Os225, 菲律宾菌系的 Pxo280 和 Pxo339), 占 29.4%; 其余的 12 组, 母株与其单细胞系或者完全不同(有 7 组, 占 41.2%), 或者与部分单细胞系相同, 与另一些单细胞系不同(有 5 组, 占 29.4%)。

引物 ERIC 扩增的片段大小范围为 0.2 kb~4 kb, 产生 6~15 条指纹主带, 分 15 种谱型。在 17 组中, 母株与其单细胞系属于同一分子谱型, 有 6 组(中国菌系的 Js158-2、Gd1358、Os198 和 Os225, 菲律宾菌系的 Pxo280 和 Pxo339), 占 35.3%; 其余的 11 组, 母株与其单细胞系或者完全不同(有 3 组, 占 17.6%), 或者与部分单细胞系相同, 与另一些单细胞系不同

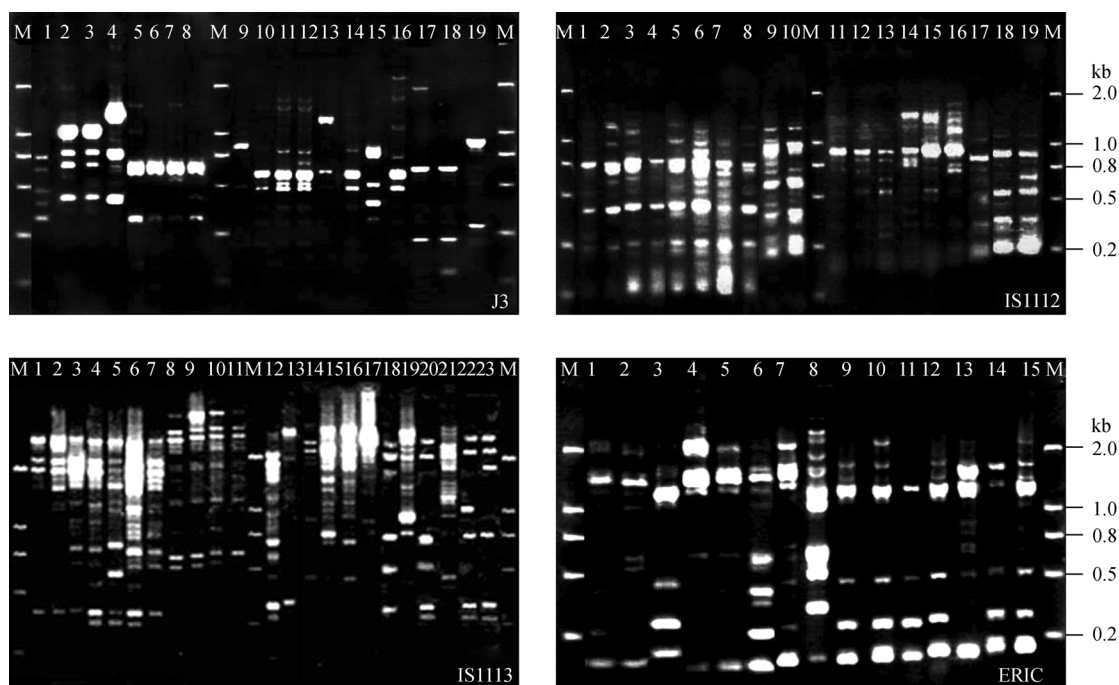


图1 水稻白叶枯病原菌基因组 DNA 的 IS-PCR 和 Rep-PCR 指纹带型

Fig. 1 IS-PCR and Rep-PCR fingerprinting patterns of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* genomic DNA

(有 8 组, 占 47.1%)。

从上述 4 种引物对 17 组参试菌 PCR 扩增形成的分子谱型结果可见, 除了引物 J3 扩增, 有 52.9% 的母株与单细胞系之间分子谱型相同外, 其余的 3 种引物扩增, 主要表现为母株与单细胞系之间或者单细胞系之间分子谱型不同(不同率依次是: IS1112 76.5%, IS1113 70.6%, ERIC 64.7%)。

## 2.2 IS-PCR 和 Rep-PCR 聚类分析

采用 UPGMA 软件对 4 种引物扩增的指纹带型进行聚类, 分析 17 组母株与单细胞系之间的关系可见(见图 2): 中国菌的母株与单细胞系相似率依次是: Gd1358 为 100%, Os225 为 93%, Js158-2 为 91%, Zh173 为 89%, Os198 为 78%。日本菌的母株与单细胞系相似率依次是: T7133 为 92%, T7147 为 82%, T7174 为 78%。菲律宾菌的母株与单细胞系相似率依次是: Pxo339 为 96%, Pxo280 为 89%, Pxo61 为 78%, Pxo71 为 73%, Pxo145 为 63%, Pxo86、Pxo79、Pxo112 和 Pxo99 都为 59%。

综合上述 17 组母株与其单细胞系相似率可见, 相似率为 100% 只有 1 组, 相似率在 90% 以上的只有 5 组, 占 29.4%; 相似率在 80%~89% 的有 3 组, 占 17.6%; 相似率在 70%~79% 的有 4 组, 占 23.5%; 相似率在 50%~69% 的有 5 组, 占 29.4%。可见, 三国

母株与单细胞系分子谱型之间存在差异的现象十分普遍, 其中差异率达到 30%~41% 的菌株有 9 组, 占参试菌的 52.9%。

以带位相似率 80% 为簇界, 参试菌可以划分为 15 簇(见图 2); 其中包括中国(Js158-2、Os225、Os198-1、Os198-2)、日本(T7133、T7147、T7174-1、T7174-2)和菲律宾(Pxo71、Pxo71-1)的 9 个组的母株和单细胞系聚合在同一簇中, 占 17 个参试组的 52.9%, 说明三国病菌在遗传上存在高度相关性; 同时, 三国菌株都存在母株和单细胞系分在不同簇的现象, 中国菌 Os198 分在第 1 簇和第 3 簇中, 日本菌 T7174 分在第 1 簇和第 2 簇中, 菲律宾菌 Pxo71、Pxo86、Pxo99 和 Pxo145 各分在不同的 2 簇中, Pxo79 和 Pxo112 各分在不同的 3 簇中; 说明三国病菌在遗传上都存在变异性, 其中以菲律宾菌变异幅度最大, 如 Pxo79、Pxo86、Pxo99 和 Pxo112 等菌系的母株和单细胞系之间的差异率达到了 41%。

以上结果充分证明: 母株是“由遗传上有不同程度差异的细胞”组成的混合体。成国英等<sup>[2,3]</sup>提出: 采用“段叶沙培, 切口取菌胶”法分离的病菌, 是包含不同毒力细胞的混合体, 在鉴别品种上划分的致病型, 是田间病菌在一定生态条件下“群体毒力”的表型反应。本试验从分子遗传学上进一步证明了

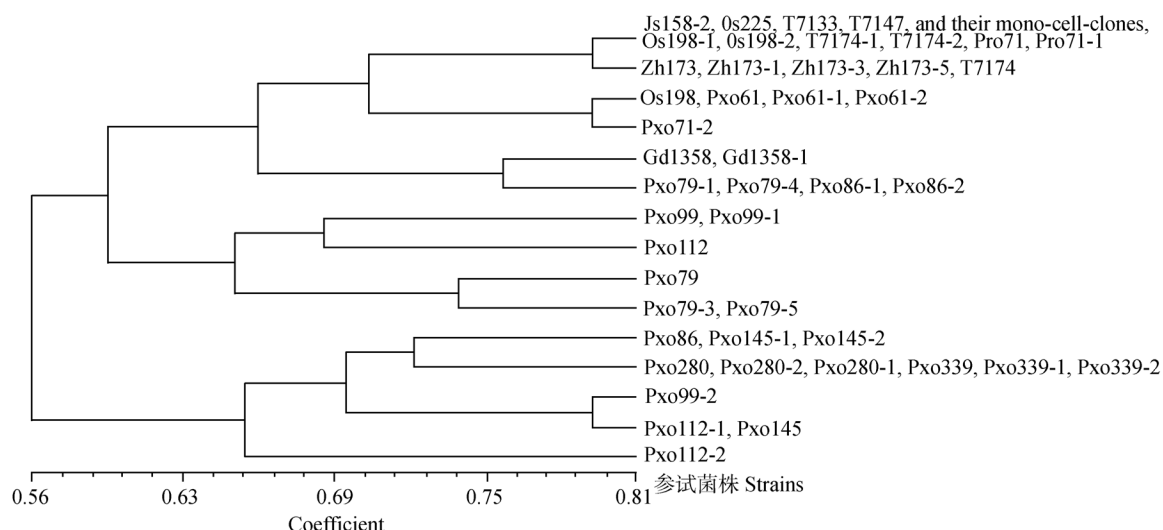


图2 采用UPGMA聚类分析法分析56个白叶枯病原菌的3种IS-PCR和1种Rep-PCR引物谱型的树型结构图  
Fig. 2 Dendrogram constructed with UPGMA on the basis of 3 IS-PCR primers and 1 Rep-PCR primers for 56 strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

这一结论。Ochiai等<sup>[6]</sup>提出的“白叶枯菌的基因组中包含大量插入序列,而插入序列因子在基因组进化中具有重要作用。”本试验也进一步验证了这一结论。

### 2.3 病菌致病性与分子检测结果的比较

致病型的划分是依据参试菌系在10个鉴别品种上的抗感表现,即R和S的数量。其中0-10型是按“S”(感病)表现,沿鉴别寄主序列从左到右的排列顺序依次递增而划分;11-18型是按“R”(抗性)表现,沿鉴别寄主序列从右到左的排列顺序逐步递增而划分;以型号加“-数字”区分型内不同反应群。

本研究参试的菌系分属于16个致病型28种反应群(见表2)。在17组中,母株与其单细胞系毒力相同的有2组,占11.8%;母株与部分单细胞系毒力相同的有3组,占17.6%;母株与其单细胞系毒力不同,但是单细胞系之间毒力相同的有5组,占29.4%;母株与其单细胞系毒力不同,单细胞系之间毒力也不相同的有7组,占41.2%。综上可见88.2%的母株与单细胞系之间存在毒力差异的现象。

分析病菌“致病型”与“分子谱型”之间关系可见,同一组的菌系可表现出不同的致病型,同一致病型的菌系可被扩增出不同分子谱型。如中国菌系Os198与它们的单细胞系的毒力完全相同,但是以引物IS1113扩增,可以获得3种分子谱型;而利用4个引物对中国菌系Gd1358的母株和单细胞系进行扩增均可获得相同分子谱型,但却是分属于两个不

同的致病型,这种现象十分普遍。说明分子谱型与致病型之间没有相应关系。

对病菌“致病型”与“分子谱带UPGMA聚类”结果进行对比可见,同一簇中的菌系可以分属于不同种类的致病型,如第12簇为菲律宾菌系Pxo280和Pxo339的母株和它的单细胞系的专一簇型,但是却分属于0、1、15-4和16-4等4个致病型4种反应群,其它簇菌系也呈类似情况。而属于同一种致病反应群的菌系可以划归为不同的簇中,如1致病型分布在第4、6、12、15等4簇中,这表明病菌“致病型”与“分子谱带UPGMA聚类”之间没有相关性。

综上所述可见,母株与单细胞系之间的毒力存在差异,但是分子谱型和UPGMA聚类结果与致病型分化之间没有对应关系。

## 3 结论与讨论

### 3.1 中国、日本和菲律宾水稻白叶枯病菌分子检测结果比较

本研究采用IS-PCR和Rep-PCR两种方法,用J3、IS1112、IS1113和ERIC等4个引物对17组(56个菌系)来自中国、日本和菲律宾水稻白叶枯病菌系的基因组DNA进行PCR分析。结果表明:从单一引物扩增结果来看,母株与其全部单细胞系属于同一分子谱型的依次占17组菌的52.9%(J3)、23.5%(IS1112)、29.4%(IS1113)和35.3%(ERIC);对

表 2 中国、菲律宾、日本的代表菌系在 10 个近等基因系或品种上的致病型

Table 2 Pathotypes of Chinese, Japanese and the Philippine strains to the reaction patterns tested on ten differential host varieties

品种 Differential Host Varieties 抗病基因 R gene	丰锦 Fengjin	XM5	IRBB14	IRBB3	XM6	IRBB4	M41	Java14	IRBB5	Asominori	致病型 Pathotypes
	<i>Xa18</i>	<i>Xa19</i>	<i>Xa14</i>	<i>Xa3</i>	<i>Xa20</i>	<i>Xa4</i>	<i>Xa15</i>	<i>Xa1+3+12</i>	<i>xa5</i>	<i>Xa17</i>	
Zh173-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	0 <sup>a</sup>
Pxo71-2	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1 <sup>b</sup>
T7174	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	2 <sup>c</sup>
Pxo71	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	3 <sup>d</sup>
Zh173	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	4 <sup>e</sup>
Pxo79	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	5 <sup>f</sup>
Pxo79-3	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	6
Pxo99	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	7
Pxo99-2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	10
Pxo99-1	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	12
Js158-2	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	13
Pxo71-1	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	14-1
Zh173-3	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	14-2
T7147-1	S	S	R	S	S	S	S	R	R	R	14-3 <sup>g</sup>
Os225	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	15-1 <sup>h</sup>
Zh173-5	S	S	S	S	R	R	R	S	R	R	15-2
T7133	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	15-3 <sup>i</sup>
Pxo339-1	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	15-4
Os225-2	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	15-5
Pxo145	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R	16-1 <sup>j</sup>
Pxo61	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R	16-2
T7147	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	16-3 <sup>k</sup>
Pxo339	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	16-4 <sup>l</sup>
Pxo61-1	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	17-2
Pxo112	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	17-3
Gd1358	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	17-4
Pxo86	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	18-1
T7133-2	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	18-2

注: a: 0 致病型包括: Zh173-1、Gd1358-1、Pxo280、Pxo280-1; b: 1 致病型包括: Pxo71-2、Pxo86-1、Pxo86-2、Pxo112-2、Pxo280-2; c: 2 致病型包括: T7133-1、T7174、T7174-1、T7174-2、Pxo112-1; d: 3 致病型包括: Pxo61-2、Pxo71; e: 4 致病型包括: Js158-2-1、Js158-2-2、Zh173、Os198、Os198-1、Os198-2、Os198-3、Os225-1、Os225-3、Os225-4; f: 5 致病型包括: Pxo79、Js158-2-3; g: 14-3 致病型包括: T7147-1、T7147-2; h: 15-1 致病型包括: Os225、Pxo145-1; i: 15-3 致病型包括: T7133、Pxo79-4、Pxo79-5; j: 16-1 致病型包括: Pxo145、Pxo145-2; k: 16-3 致病型包括: T7147、Pxo79-1; l: 16-4 致病型包括: Pxo339、Pxo339-2

Note: a: 0 pathotypes: Zh173-1, Gd1358-1, Pxo280, Pxo280-1; b: 1 pathotypes: Pxo71-2, Pxo86-1, Pxo86-2, Pxo112-2, Pxo280-2; c: 2 pathotypes: T7133-1, T7174, T7174-1, T7174-2, Pxo112-1; d: 3 pathotypes: Pxo61-2, Pxo71; e: 4 pathotypes: Js158-2-1, Js158-2-2, Zh173, Os198, Os198-1, Os198-2, Os198-3, Os225-1, Os225-3, Os225-4; f: 5 pathotypes: Pxo79, Js158-2-3; g: 14-3 pathotypes: T7147-1, T7147-2; h: 15-1 pathotypes: Os225, Pxo145-1; i: 15-3 pathotypes: T7133, Pxo79-4, Pxo79-5; j: 16-1 pathotypes: Pxo145, Pxo145-2; k: 16-3 pathotypes: T7147, Pxo79-1; l: 16-4 pathotypes: Pxo339, Pxo339-2

4 种引物扩增的分子谱型采用UPGMA综合聚类, 结果表明:母株与单细胞系完全相同的, 只有 1 组, 相似率在 90%以上的只有 5 组, 占 29.4%, 差异率达到 30%~41%的菌株有 9 组, 占参试菌的 52.9%; 以带位相似率 80%为簇界, 参试菌可以划分为 15 簇, 其中包括中国、日本和菲律宾的 9 个组的母株和单细胞系聚合在同一簇中, 占参试组的 52.9%, 说明三国病菌在遗传上存在高度相关性; 但三国病菌的母株与其单细胞系比较, 以及三国病菌之间比较, 均存在簇群差异, 其中以菲律宾菌系变异最大, 如 Pxo79 和 Pxo112 母株和单细胞系各分在不同的 3 簇中, Pxo79、Pxo86、Pxo99 和 Pxo112 等菌系的母株和单细胞系之间的差异率达到了 41%。以上结果充分证明:母株是“由遗传上有不同程度差异的细胞”组成的混合体。Ochiai等<sup>[6]</sup>提出的“白叶枯菌的基因组中包含大量插入序列”在本试验中得到了进一步的验证。

### 3.2 中国、日本和菲律宾水稻白叶枯病菌致病型检测结果与分子检测结果比较

以 10 个近等基因系为鉴别品种, 对参试的 17 组 56 个菌株进行了致病性测定。结果表明, 在这套鉴别寄主上, 只有 2 组的母株和单细胞系的毒力相同, 占 11.8%; 其余的 15 组(占 88.2%)母株与单细胞系的毒力存在差异(有强于母株的, 也有弱于母株的)。这充分说明:母株是由毒力不同的单细胞系组成的混合体。以 J3、IS1112、IS1113 和 ERIC 为引

物进行 PCR 扩增所得的分子谱型以及 UPGMA 聚类分簇, 与病菌致病型之间不具有相关性。

## 参 考 文 献

- [1] 殷尚智, 过崇俭, 张长平, 等. 水稻白叶枯菌自然群体的毒力结构与致病力的关系. 江苏农业学报, 1990, 6(1): 30-37.
- [2] 成国英, 于大胜, 李桂菊, 等. 水稻白叶枯病菌致病型的代表意义及菌株毒性变异的内在原因探讨. 华中农业大学学报, 1998, 17(1): 14-19.
- [3] 成国英, 于大胜. 水稻白叶枯病菌单细胞系毒力分化研究. 植物病理学报, 2002, 32(3): 227-235.
- [4] LEACH JE, White FF, Rhoads ML, et al. A repetitive DNA sequence differentiates *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* from other pathovars of *Xanthomonas campestris*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1990, 3(4): 238-246.
- [5] Adhikari TB, Mew TW, Leach JE. Genotypic and pathotypic diversity in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Nepal. *Phytopathology*, 1999, 89(7): 687-694.
- [6] Ochiai H, Inoue Y, Takeya M, et al. Genome sequence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* suggests contribution of large numbers of effector genes and insertion sequences to its race diversity. *Jarg*, 2005, 39(4): 275-287.
- [7] 方中达, 许志刚, 过崇俭, 等. 中国水稻白叶枯病菌致病型的研究. 植物病理学报, 1990, 20(2): 82-88.
- [8] 郑伟, 刘晓辉, 成国英, 等. 中国、日本和菲律宾水稻白叶枯病菌遗传多样性比较分析. 微生物学通报, 2008, 35(4): 519-523.

## 稿件书写规范

### 专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学各分支学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择在理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是:在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。