

中国科协第四届青年学术年会卫星会议
中国植物病理学会第五届青年学术研讨会

论文选编

植物病理学研究进展

马占鸿 周雪平 主编

中国农业科技出版社

中国科协第四届青年学术年会卫星会议 论文选编
中国植物病理学会第五届青年学术研讨会

植物病理学研究进展

马占鸿 周雪平 主编

植物病理学研究进展

中国植病学会青委会赠

华南农业大学图书馆惠存

中国农业科技出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物病理学研究进展: 中国植物病理学会第五届青年学术研讨会论文选编/马占鸿, 周雪平主编. —北京: 中国农业科技出版社, 2001.6

ISBN 7-80119-911-1

I. 植... II. ①马... ②周... III. 植物学: 病理学—研究—学术会议—文集 IV. S432.1-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 036611 号

责任编辑	冯 凌 云
出版发行	中国农业科技出版社 (北京海淀区中关村南大街 12 号)
经 销	新华书店北京发行所
印 刷	北京科地亚印刷厂
开 本	787 × 1092 毫米 1/16 印张: 21.375
印 数	1~1000 册 字数: 460 千字
版 次	2001 年 6 月第一版 2001 年 6 月第一次印刷
定 价	50.00 元

《植物病理学研究进展》编辑委员会

主 编：马占鸿 周雪平

副主编：赵廷昌 郑建秋 国立耘

编 委：（按姓氏笔画为序）

马占鸿 王凤乐 王宗华 王艳青 王雪薇 任金平 刘大群
刘西莉 孙国昌 朱友林 朱有勇 吴元华 吴献忠 张克勤
张建平 李国庆 李洪连 杨家荣 邱 艳 陈万权 周国梁
周明国 周雪平 国立耘 苗洪芹 范坤成 郑建秋 南志标
赵廷昌 高学彪 梅丽艳 黄 富 谢建军 简桂良 廖咏梅

《植物病理学研究进展》审稿委员会

（排名不分先后）

王慧敏 肖悦岩 李延军 范在丰 马占鸿 李健强 刘西莉
王 琦 张力群 张国珍 赵美琦 周益林 国立耘 王锡锋
彭德良

中国植物病理学会第五届青年学术研讨会 指导委员会

主 任：曾士迈 李德葆

副主任：周广和 郑 重 王慧敏 冯 锋 李健强

委 员：（排名不分先后）

曾士迈 周广和 徐 同 李德葆 成卓敏 王慧敏

李健强 冯 锋 姜瑞中 顾宝根 郑 重 陈剑平

中国植物病理学会第五届青年学术研讨会 学术委员会

主 任：李振岐 成卓敏

副主任：唐文华 李德葆 彭友良 彭于发

委 员：（排名不分先后）

李振岐 李德葆 唐文华 成卓敏 王金生 黄大昉 李明远 肖悦岩

彭友良 王慧敏 彭于发 李健强 孙国昌 赵美琦 李怀方 于嘉林

周明国 周雪平

中国植物病理学会第五届青年学术研讨会 组织委员会

主 任：周雪平 马占鸿

副主任：孙国昌 简桂良 郑传临 刘西莉 胡东维

委 员：（排名不分先后）

周雪平 马占鸿 孙国昌 简桂良 郑传临 胡东维 陈卫良 郑建秋

宋风鸣 蔡新忠 郭泽建 郑经武 林福呈 国立耘 刘西莉 赵廷昌

陈万权 韩成贵 王 琦 董 萍 张美蓉 杨晓昱 赵爱红

前 言

中国植物病理学会第五届青年学术研讨会论文选编《植物病理学研究进展》共收集了 81 篇论文、简报、摘要和综述，内容涉及到植物病原真菌及真菌病害、细菌及细菌病害、病毒及病毒病害、线虫等其他病原及病害、病害流行及预测、植物检疫、抗病性及抗病育种、生物技术及其应用、综合防治等植物病理学各个方面。反映了近两年来我国青年植物病理工作者在植物病理学的基础理论、应用基础和病害综合防治的研究进展。

大会的召开和论文集的出版得到了国家自然科学基金委员会、植物病虫害生物学国家重点实验室、浙江省人事厅和浙江省科学技术协会的资助。我国植病界多位专家、教授在百忙之中帮助审稿，编委会的同志们付出了辛勤劳动，中国农业科技出版社给予了大力支持和帮助，在此，我们表示衷心的感谢！

由于时间仓促，错误和不足之处难免，敬请作者、读者批评指正。

编 者

2001 年 6 月

目 录

研究论文

转双抗真菌蛋白基因水稻对稻瘟病的抗性研究	杨祁云等 (1)
水稻黑条矮缩病毒全基因组分子特性	张恒木等 (8)
簇毛麦子代材料在小麦抗病育种中的利用前景	曹世勤等 (14)
甘肃省小麦白粉菌群体毒性研究	李继平等 (21)
1991~2000 年甘肃省小麦条锈菌生理专化研究	贾秋珍等 (27)
小麦叶枯性病害药剂防治技术研究	李宏宇等 (34)
侵染时期对玉米种子携带玉米矮花叶病毒的影响	邸垫平等 (38)
黄萎病胁迫下棉花不同抗病品种水势的变化	简桂良等 (42)
襄汾县大豆胞囊线虫病的发生规律及防治研究	王全亮等 (46)
苹果斑点落叶病季节流行动态初探	胡同乐等 (51)
苹果采后炭疽病的侵染过程及钙盐等化合物对病害发展的影响	檀根甲等 (57)
苹果柱盘孢霉菌致病性与生物学特性	徐秉良等 (63)
芒果炭疽病菌对多菌灵抗药性的研究	徐大高等 (68)
不同品种和环境因子对盘菜病毒病抗性的影响	杨程鹏等 (72)
油菜菌核病灾变特点及其综防技术	李 宾等 (76)
黄瓜菌核病菌生物学特性研究	朱建兰 (82)
番茄叶霉病菌对四种杀菌剂的敏感性研究	刘慧平等 (88)
河西灌区甜菜黑腐病病原的分离鉴定	李敏权等 (92)
枯草芽孢杆菌 BS2 在大白菜根上的定殖及在植株体内的传导能力研究 ...	陈庆河等 (96)
向日葵菌核病菌对速克灵的敏感性及其抗性诱导研究	高俊明等 (100)
凯地菌素对植物病原真菌的拮抗性及其产生菌 SY20-4 的鉴定	刘 秋等 (105)
天柱菌素, 一种新型高抗烟草花叶病毒的农用抗生素	吴元华等 (110)

Allexivirus 属的一个新成员——大蒜病毒 E 的基因组全序列测定和系统树分析

.....	陈 炯等 (116)
烟草赤星病菌拮抗微生物的筛选及其对病原的抑制作用	方敦煌等 (121)
三种烟草栽培品种对烟草野火病的抗性研究	陈兴全 (126)
啤酒花霜霉病的研究	任宝仓等 (129)
中国链格孢属一新记录种	马汇泉等 (135)
天柱菌素产生菌 <i>Streptomyces tz</i> 的鉴定	杜春梅等 (138)

研究简报

水稻纹枯病防治研究	齐军山等 (142)
我国魔芋上五种新病害的识别与防治	费甫华等 (144)
水稻品种与稻瘟病菌群体互作研究进展	孙国昌等 (146)
云南水稻黄矮病发生与预防对策	李家荣等 (147)
云南稻瘟病发生与预防对策	李家荣等 (148)
云南水稻条纹叶枯病发生与预防对策	李家荣等 (149)
河南省小麦推广品种多抗病性鉴定	何文兰等 (150)
小麦纹枯病生防菌株筛选和发酵条件的初步研究	王远宏等 (151)
豫北地区小麦纹枯病流行特点和防治技术研究	石明旺 (156)
玉米青枯病诱导抗病性初步研究	梅丽艳等 (160)
药剂浸种对玉米矮花叶病的防治效果	郭满库等 (161)
寡糖对棉花茎维管组织内生细菌的调控	王 琦等 (164)
密切值法在蚕豆赤斑病流行趋势中期预报中的应用研究	王 昆等 (166)
大豆疫霉根腐病菌检测鉴定方法及病害传播途径研究	文景芝 (172)
蚕豆萎蔫病毒 2 中国分离物 VP37 蛋白核酸结合研究	黄晓琛等 (173)
激发子诱导马铃薯抗真菌病害初步探讨	马立如等 (175)
黄瓜花叶病毒两株系在蚕豆上症状差异的决定因子研究	陶小荣等 (177)

中国鸭梨出口澳大利亚的关键性检疫技术	张文彬等 (178)
出口澳大利亚等国的山东鸭梨病虫害管理技术规范	张文彬等 (180)
番茄花叶病毒单克隆抗体的制备和检测	于 翠等 (183)
苎麻疫霉的 RAPD 分析	郑小波等 (184)
郁金香碎色病毒在西安市的发生情况与防治	房丽君 (185)
番茄亲本 B-1 的遗传转化体系建立及转基因番茄的获得	温 瑞等 (186)
云南烟草粉虱传双生病毒基因组结构及其变异	谢 艳等 (188)
烟草花叶病毒和番茄花叶病毒移动蛋白基因的置换研究	吴俊杰等 (190)
<i>Penicillium digitatum</i> 对抑霉唑抗性初步研究	谢清云等 (191)
新月弯孢 (<i>Curvularia lunata</i>) 的 PCR 诊断方法	孙广宇等 (193)
老茶园改造中的病害问题	周晓燕 (194)

摘 要

国际上已知小麦抗叶锈病基因在中国的可利用性研究	陈万权等 (197)
香蕉束顶病毒基因组 5 的克隆及在宿主植物中的表达	林德球 (199)
石榴干腐病发生规律及防治研究初报	马 青等 (200)
小麦高温抗锈性组织学和细胞学研究	马 青等 (201)
小麦品种与条锈菌小种互作规律的初步研究	淦爱华等 (202)
磷钾肥施用量对小麦病害的影响	宋玉立等 (203)
噻枯唑诱导水稻抗白叶枯病的初步研究	沈光斌等 (204)

综 述

浅析吉林省水稻品种抗瘟性丧失原因及对策	王继春等 (205)
稻曲病研究进展及防治建议	李家荣等 (209)
植物病原真菌与寄主互作的超微结构和细胞化学研究进展	吴仕梅等 (214)

中国烟草土传病害的现状及其防治	顾 钢等 (221)
植物抗细菌和真菌病害基因工程策略	冯 洁 (229)
分子遗传学方法在杀菌剂作用机制研究中的应用	黄青春等 (238)
植物病原物无毒基因研究进展	蔡新忠等 (243)
中国植原体病害研究问题探讨	田国忠 (251)
小麦蓝矮病的病原研究进展及存在问题	张 荣等 (260)
我国玉米矮花叶病的发生流行与对策	王海光等 (264)
番茄细菌性斑点病 (Bacterial speck of tomato) 研究进展	赵廷昌等 (271)
云南省国外引种牧草、草坪草病害研究——豆科牧草、草坪草真菌病害	张 陶等 (276)
龙眼鬼帚病及其研究进展	陈菁琰等 (282)
Mechanisms of mild strain cross protection against plant viruses: a review	Zhou Changyong <i>et al.</i> (287)
丛枝菌根真菌诱导植物产生防御反应的途径	李海燕等 (308)
胞囊类线虫的分类学问题与进展	郑经武 (317)
天然抗植物病毒物质的研究进展	杜春梅等 (319)
植物抗胞囊线虫基因研究进展	彭德良等 (328)

转双抗真菌蛋白基因水稻对稻瘟病的抗性研究*

杨祁云¹ 许新萍² 朱小源¹ 冯道荣² 李宝健²

(1 广东省农业科学院植物保护研究所, 广州 510640)

(2 中山大学生物工程研究中心, 广州 510275)

摘要 采用苗期初筛、复筛、抗谱测定和田间自然诱发试验等不同鉴定方法, 对经分子检测证明已整合有碱性几丁质酶基因和 β -1, 3-葡聚糖酶基因的 22 个转化系的转基因水稻植株进行稻瘟病抗性鉴定研究, 筛选出对稻瘟病的抗性比原种对照七丝软占有明显提高的一系列转基因水稻品系, 其中表现高抗的有来自 F4-9 转化株系的 7 个品系。本研究成功地获得了抗病优质的转基因水稻品系, 较好地解决了普遍存在于南方稻区的抗病与优质间的矛盾。研究结果证明了利用基因工程手段培育抗病水稻新品种是一个非常希望的育种途径。

关键词 转基因水稻; 碱性几丁质酶基因; β -1, 3-葡聚糖酶基因; 稻瘟病抗性

由真菌 *Magnaporthe grisea* 引起的稻瘟病是一种具有毁灭性的严重影响水稻稳产、高产的首要病害。其病原菌的小种易变性和复杂性常常造成抗病品种一般在推广 3~5 年内即丧失抗性。目前, 随着经济和物质文化生活水平的提高, 人们对优质米的需求量日益增加。但当前在我国南方稻区, 优质稻特别是软性米优质稻多数不抗稻瘟病, 这严重限制了优质稻的推广范围和速度。如何提高和延长品种的抗性寿命, 解决抗病与优质的矛盾, 是生产上急待解决的难题。

近年来植物基因工程的发展和一些抗真菌蛋白基因的克隆为抗真菌病育种开辟了一条新途径。本研究应用基因枪转化法, 将外源抗性基因即水稻碱性几丁质酶基因和苜蓿 β -1, 3-葡聚糖酶基因导入感稻瘟病的优质稻七丝软占中。本文报道这些转基因水稻植株的抗瘟性研究结果。

1 材料与方法

1.1 转基因植株对稻瘟病的抗性初筛及复筛

将经 Southern blot 分析证明已整合有碱性几丁质酶基因和 β -1, 3-葡聚糖酶基因的转基因水稻植株^[1,2]的种子分别进行穴播, 每穴播 10 粒种子, 非转化的原种对照“七丝软占”、本地抗病对照“三黄占 2 号”和感病对照“广陆矮”同时播种。待水稻苗长至 3.5~4 片叶时, 分别选取广东省稻瘟病菌 12 个和 5 个代表性菌株进行高压喷雾接种, 接种液的孢子浓度为 50~60 个孢子/视野 (10×10 倍显微镜下), 接种苗于 26℃暗室中保湿 24h

* 国家“863”高新技术发展计划资助项目 (10101-02-02) 和广东省自然科学基金项目 (970674)
作者简介: 杨祁云 (1966-), 女, 副研究员, 主要从事稻瘟病菌研究和抗源筛选工作。

后,放荫棚下继续保湿,7~10 天后单株调查发病结果。病级划分标准按全国统一的 0~9 级标准进行,其中 0~3 级为抗病,4~9 级为感病。将抗性较好的单株留下繁种。

1.2 抗病转基因后代对稻瘟病菌的抗谱测定

抗病单株繁种后,分别收种、编号,将经 Southern blot 分析证明已整合两导入基因及经 Northern blot 分析证明两基因已稳定遗传到后代中并得到表达的转基因植株^[1,2],与中国稻瘟病菌 7 个鉴别寄主、三黄占 2 号、广陆矮以及非转基因原种对照依次播于瓷盆中,每盆播 28 个品种(系),每品种播一穴(5~10 粒种子/穴)。待秧苗长至 3.5~4 片叶时,选取 20~30 个(依种子量多少来定菌株数)广东省稻瘟病菌代表菌株分别接种,这些代表菌株的选择方法参照文献[3],接种方法与“1.1”的相同,7~10 天后调查病级,将病级为 0~3 级的定为抗病,5~9 级的定为感病,病级为 4 级的,若一丛中有 60%以上单株病级达到 4 级的,则定为感病,否则定为抗病。

1.3 转基因水稻对稻瘟病的田间自然诱发试验

将经初筛及抗谱测定确定具有不同抗性水平的转基因植株,与三黄占 2 号、广陆矮以及非转基因原种对照等同时种植于广东省两个典型的稻瘟病代表性病圃,其中一个为位于广东中南部的常规稻稻区海丰,另一个为位于粤北山区的杂交稻稻区从化吕田。这两个病圃均为稻瘟病常发区,而且经监测发现两个稻区的稻瘟病菌小种分布类型不同,对品种的致病性也存在差异^[3]。每品种(系)种 3 行,每行 5 丛,周边插植 2 行高感稻瘟病品种 CO39。分期调查发病结果,特别是穗瘟病发病情况。穗瘟病调查病级分 0~9 级,其中 0 级:无病,1~2 级:发病率<5%,3~4 级:发病率 5.1%~10%,5 级:发病率 10.1%~25.0%,6~7 级:发病率 25.1%~50.0%,8~9 级:发病率 50.1%~100%。将病级为 0~2 级的定为高抗,3~4 级的为抗病,5 级的为中抗至中感,6~7 级为感病,8~9 级为高度感病。

2 结果与分析

2.1 转基因水稻植株对稻瘟病的抗性初筛结果

2.1.1 转基因水稻 R1 植株对稻瘟病的抗性初筛结果 12 个不同致病型代表菌株对转基因 R1 代的 463 个单株进行抗稻瘟病初筛,其中有 4 个菌株不侵染原种对照七丝软占,其调查数据不列入分析,8 个能侵染七丝软占的菌株试验结果,246 个转基因水稻单株,病级 0~3 级的有 68 株,占 27.6%;其中有 4 个菌株,非转基因原种七丝软占的病级达到 6~7 级,而转基因植株的病级 0~3 级的只有 16 株,占 14.0%,病级 4~5 级的有 60 个单株,占 52.6%。这说明了转基因水稻低代材料中,抗性比非转基因原种明显提高的植株少,但比原种对照的抗性有所提高的植株则很多。将病级为 0~3 级的单株和接种结果表现比原种对照抗病性提高的单株同时留下繁种。

初步结果还发现,转基因植株对不同致病型小种的菌株,抗性反应有差异。如菌株 GD7137 和 GD7107(已知这两个菌株的致病力一般)接种结果,病级为 0~3 级的分别有 36 和 21 个单株,而致病力较强且致病谱较广的菌株 GD3286 和 GD7357 接种结果,

病级为 0~3 级的单株分别只有 7 株和 6 株。

2.1.2 转基因水稻 R2 和 R3 代对稻瘟病的抗性复筛结果 选取 5 个代表性菌株对 R1 代留种后代 (R2 代) 进行抗性复筛, 其中两个为致病力较强且致病谱较广的菌株 GD5028 和 GD6048; 两个为中等致病力菌株, 即 GD6043 和 GD7037; 一个为致病力较弱的菌株 GD7148。5 个菌株对 22 个不同转化系的 229 个 R1 单株的留种后代的鉴定结果表明, 不同转化系、以及同一转化系的不同单株对接种植株的抗性反应结果不同, 如 GD5028 菌株接种结果, 抗性表现较好的有 4 个株系即 F14-7 (5 个单株均为 1~2 级)、F1-1 (7 个单株中 4 株为 1~3 级, 3 株为 5~6 级)、F1-16 (10 个单株中 6 株为 1 级, 4 株为 6~8 级) 和 F4-9 (5 个单株中 3 株为 2~3 级, 2 株为 4~5 级); GD6048 菌株接种结果, 抗性表现较好的有 4 个株系即 F4-9 (5 个单株中 3 株为 1 级, 2 株为 5~6 级)、F3-15 (6 个单株中 5 株为 1 级, 1 株为 6 级)、F14-1 (5 个单株中 3 株为 1 级, 2 株为 5~6 级)、F3-16 (7 个单株中 5 株为 0~1 级, 2 株为 5~6 级); 中等致病力菌株 GD6043 和 GD7037 接种结果, 抗性表现较好的株系 (该株系的所有接种植株有 50% 以上的单株为 0~3 级抗病级) 分别有 35 个和 59 个; 致病力较弱的菌株 GD7148 接种结果, 229 个株系中有 124 个株系对该菌株表现抗病。对接种的 5 个菌株同时表现抗病的株系只有 1 个, 即 F4-9。试验结果进一步表明不同转化系以及同一转化系里不同单株的转基因水稻后代对稻瘟病菌的抗性存在差异。

将 R2 代抗病单株留种后, 获得 138 个 R3 代转基因水稻株系。选取 5 个代表菌株, 其中 2 个为 ZA 群强致病力菌株, 3 个为广东省优势小种 ZB1、ZB5 和 ZB13 中的代表菌株分别接种。调查结果, 筛选出各单株对同一菌株抗性反应较一致的, 抗性比原种对照七丝软占有所提高的 18 个株系, 对其作进一步的抗性研究。

2.2 抗病转基因后代对稻瘟病菌的抗谱测定结果

选取 20 个菌株对 18 个株系进行抗谱测定, 结果表明 (表 1), 18 个转基因株系对参测菌株的抗性频率均比原种对照“七丝软占”有所提高, 但达到高抗稻瘟病水平的只有 1 份, 即 F4-9-13, 抗病的有两份, 即 F4-9-27c 和 F4-9-34c。这 3 个株系均为 F4-9 株系的后代。

选取 30 个致病力相对较强且稳定、又属于不同致病型和多个遗传宗谱^[1]的代表菌株对 14 个农艺性状表现较好的来自 F4-9 株系 R2 代不同单株留种的转基因品系 (R5 代) 进行抗谱测定, 其中籼型小种有 ZA 群中 ZA1 强致病力小种的 3 个菌株, ZB 群有 18 个菌株, 分别属于 ZB1、ZB5、ZB7、ZB13 和 ZB15 小种, ZC 群有 4 个菌株, 分别属于 ZC5、ZC9 和 ZC13 小种; 粳型小种有 ZD—ZG 群的 5 个菌株, 分别属于 ZD5、ZF1 和 ZG1 小种。14 份材料对稻瘟病的抗性均比原种对照七丝软占的抗性有明显的提高, 其中表现高抗的有 1Q、3Q、30Q、31Q、33Q、40Q、47Q、50Q 等 8 份, 抗性频率均达到 90% 以上; 表现抗病的有 25Q 品系, 抗性频率达到 86.2%。

表 1 R3 代转基因株系的抗谱测定结果及田间穗颈瘟病级

Table 1 The blast resistance of transgenic rice lines of R2 generation based on the tests of resistant spectrum to blast fungus in greenhouse and the neck blast in nursery field

品系 Transgenic rice lines	接种 菌株数* Inoculated isolates	总抗性频率 (%) Total of resistant frequency(%)	田间穗瘟 病级** Neck blast scale in the field	品系 Transgenic rice lines	接种 菌株数* Inoculated isolates	总抗性频率 (%) Total of resistant frequency(%)	田间穗瘟 病级** Neck blast scale in the field
F1-5-1b	18	50.0	7	F18-2-1c	20	50.0	9
F1-5-1d	19	47.4	7	F18-2-1d	18	61.1	5
F1-19-3b	17	52.9	7	F18-2-6c	18	50.0	9
F1-22-1c	19	47.4	7	F19-1-10c	20	45.0	9
F1-22-2c	18	55.6	7	F22-5-2a	20	65.0	7
F1-22-3c	17	47.0	7	F22-5-1a	20	55.0	7
F4-9-13a	19	100	1	七丝软占	20	40.0	9
F4-9-27c	19	78.9	3	Qisiruanzhan			
F4-9-34c	20	85.0	3	三黄占 2 号	20	95.0	2
F12-37-57c	19	47.4	9	Sanhuangzhan 2			
F13-1-1d	20	50.0	9	广陆矮	20	25.0	9
F16-1-4c	19	47.4	9	Guangluai			

注：“*”个别株系因种子量少，测的菌株数不足 20 个。“**”从化吕田的结果。

Note: “*”The number of blast isolates used for evaluation of some transgenic rice lines is less than 20 because of the less seed. “**” The data from the field of Lutian Conghua.

2.3 转基因水稻对稻瘟病的田间自然诱发试验结果

18 个经筛选抗病性表现较一致的 R3 代株系，在从化吕田病圃进行田间稻瘟病自然诱发试验，结果只有 F4-9-13a 品系对稻瘟病表现高抗，穗颈瘟病级 1 级；F4-9-27c 和 F4-9-34c 表现抗病，穗颈瘟病级 3 级；其它在田间均表现感病至高感（表 1）。试验结果表明，转基因水稻植株的田间穗颈瘟鉴定结果与室内苗期抗性鉴定反映的结果基本一致。因此，可以初步确认 F4-9 的留种后代对稻瘟病具有较好的抗性。

将 14 个农艺性状表现较好的来自 F4—9 株系的 R2 代不同单株留种后代（R5 代），种植于广东省两个代表性病圃从化和海丰同步进行田间自然诱发试验，结果（表 2）表明，14 份转基因品系在两个病圃对稻瘟病的抗性，均表现比原种对照七丝软占有明显的提高，其中在两个病圃同时表现高抗稻瘟病的有 1Q、3Q、30Q、31Q、33Q、47Q 和 50Q 等 7 个品系，表现抗病的有 25Q 和 40Q 等 2 个品系，表现中抗至中感的有 20Q、36Q 和 49Q 等 3 个品系，还有 2 个品系在 2 个病圃抗性表现有差异的，即 21Q 和 48Q 品系在从化吕田表现抗病，而在海丰则表现中抗偏中感。田间自然诱发试验结果与苗期抗谱测定的结果也基本一致。

表 2 F4-9 株系的后代 (R5 代) 对稻瘟病的抗谱测定及田间穗颈瘟病级

Table 2 The blast resistance of transgenic rice lines of R4 generation from F4-9 based on the tests of resistant spectrum to blast fungus in greenhouse and the neck resistance in nursery field

品系 Transgenic rice lines	对稻瘟病各种群的抗性频率(%) Resistant frequency to different race group of blast (%)				总抗性 频率(%) Total of resistant frequency(%)	接种 菌株数 Inoculated isolates	田间穗颈瘟病级 Neck scale in the field	
	ZA	ZB	ZC	ZD—ZG			从化 Conghua	海丰 Haifeng
1Q	66.7	100	100	100	96.6	29	1	1
3Q	100	100	100	100	100	28	1	1
20Q	33.3	31.2	100	50.0	42.3	26	4	5
21Q	0	33.3	100	60.0	43.3	30	3	5
25Q	100	88.2	75.0	80.0	86.2	29	3	3
30Q	100	100	100	100	100	30	1	1
31Q	100	100	100	100	100	30	1	1
33Q	100	100	100	100	100	28	2	1
36Q	0	41.2	66.7	75.0	46.2	26	5	5
40Q	50.0	100	100	75.0	91.7	24	2	3
47Q	100	100	100	100	100	27	2	1
48Q	0	37.5	50.0	60.0	39.3	28	3	5
49Q	0	27.8	75.0	60.0	36.7	30	5	5
50Q	33.3	93.3	100	100	96.3	27	1	2
七丝软占	0	5.6	0	20.0	6.7	30	9	6
Qisiruanzhan								
三黄占 2 号	66.7	94.4	100	100	93.3	30	3	1
Sanhuangzhan 2								
广陆矮	0	5.6	50.0	40.0	16.7	30	9	6
Guangluai								

3 讨 论

目前在广东乃至南方稻区推广的水稻品种,普遍存在优质则不抗病,抗病则不优质的矛盾,软性米优质稻基本不抗稻瘟病。七丝软占的米质好、口味好,但不抗稻瘟病,不能大面积推广。几丁质酶基因和 β -1, 3-葡聚糖酶可分解大多数真菌细胞壁的主要成分几丁质和 β -1, 3-葡聚糖。1991 年 Broglie 等^[4]报道转菜豆几丁质酶基因的烟草植株能提高对烟草尾孢菌的抗性;随后 Lin 等^[5]初步证明整合有单个几丁质酶基因的 R1 代转基因水稻植株增强了对水稻纹枯病的抗性;1994 年 Zhu 等^[6]首次证明转水稻几丁质酶和苜蓿 β -1, 3-葡聚糖酶双基因的烟草植株比转其中任何一种单基因的烟草植株对真菌有更强的抑制作用。因此,本研究利用基因枪转化法,将碱性几丁质酶基因和 β -1, 3-葡聚糖酶基因导入七丝软占中,通过苗期初筛、复筛、抗谱测定和田间自然诱发试验等不同

鉴定方法,筛选出对稻瘟病的抗性比原种对照七丝软占有明显提高的一系列转基因水稻株系、品系,其中表现高抗稻瘟病且米质保持优质(另文报道)的有来自 F4-9 转化株系的 7 个品系,较好地解决了优质与抗病之间的矛盾。这一研究结果在生产上具有重要的意义,使人们认识到利用基因工程手段培育优质抗病水稻新品种是一个非常有希望的育种途径。

通过本研究,我们认识到对转基因水稻的抗瘟性鉴定研究,必须注意几个问题:①对转基因水稻的低代材料接种后,在初筛调查时,一定要进行单株调查和留种。②接种的代表菌株要根据导入的原种对照的抗性和种性(如籼粳稻)来筛选,以便快速筛选到抗性提高较好的转基因植株。③转基因水稻植株的抗性在低代繁种后代材料中同样存在分离现象,因此,必须注意逐代跟踪鉴定。④鉴定方法上必须将室内苗期试验结果与田间自然诱发结果相结合,一方面要注意每代材料接种所用的菌株代表性要强,另一方面设立的田间病圃的代表性也要强,以保证筛选到的转基因抗病材料抗性好、适应性广。

到目前为止,能成功获得对稻瘟病抗性提高的转基因水稻植株的报道极少,Stark 等^[7]利用 PEG 直接导入法成功地将 1,2-二苯乙烯合成酶基因整合进水稻基因组中并在后代中稳定遗传,但经室内接种试验证明转基因植株对稻瘟病的抗性只比原种对照有所提高。本研究获得的经室内和田间病圃试验均表现高抗稻瘟病的转基因品系,国内外尚未见有同行的报道。

有关转基因水稻的抗性在高代材料的遗传稳定性、转基因水稻种植后与周围病原菌的互作关系等问题,还有待我们进一步的深入研究。

参 考 文 献

- 1 冯道荣,许新萍,卫剑文,等. 使用双抗真菌蛋白基因提高水稻抗病性的研究. 植物学报, 1999, 41 (11): 1187~1191
- 2 冯道荣,卫剑文,许新萍,等. 转多个抗真菌蛋白基因水稻植株的获得及其抗稻瘟病菌的初步研究. 中山大学学报(自然科学版), 1999, 38 (4): 62~66
- 3 杨祁云,张少红,伍尚忠,等. 广东稻瘟病菌的遗传宗谱与致病性的关系. 植物保护学报, 2000, 27 (4): 289~294
- 4 Broglie K, Chet I, Holliday M, Cressman R, Biddle P, Knowlton C, Mauvais C J, Broglie R. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. Science, 1991, 254:1194~1197
- 5 Lin W, Aunratha C S, Datta K, Dotrykns I, Muthukrishnan S, Datta S R. Genetic engineering of rice for resistance to sheath blight, 1995. Bio/Technology, 1995, 13:686~691
- 6 Zhu Q, Maher E A, Masoud S, Dixon R A, Lamb C J. Enhanced protection against fungal attack by constitutive co-expression of chitinase and glucanase genes in transgenic tobacco. Bio/Technology, 1994, 12:807~812
- 7 Stark-Lorenzen P, et al. Transfer of a grapevine stilbene synthase gene to rice (*Oryza sativa* L.) Plant cell Reports., 1997, 16:668~673

Study of the Blast Resistance of Transgenic Rice Plants with two Antifungal Protein Genes

Yang Qiyun¹ Xu Xinping² Zhu Xiaoyuan¹ Feng Daorong² Li Baojian²

(1 Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640)

(2 Biotechnology Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

Abstract: The blast resistance of 22 transgenic rice lines with basic chitinase gene and β -1,3-glucanase gene had been screened with seedling screening and tests of resistant spectrum to blast fungus in greenhouse and field resistance in the blast zone nursery. A series of transgenic rice plants with higher resistance than that of original variety "Qisiruanzhan" had been obtained, and among them there were seven transgenic plants with higher resistance were from transgenic rice line F4-9. The resistant and good quality transgenic rice plants were obtained successfully which may be a very useful approach for making the principal contradiction between blast resistance and good quality in southern rice area making. The data showed that it was a very powerful breeding method to breed the blast resistant rice variety with gene engineering.

Key words: transgenic rice plants; basic chitinase gene; β -1,3-glucanase gene; resistance to rice blast