

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.00422

水稻抗白叶枯病基因 *Xa14* 的遗传定位

鲍思元^{1,2} 谭明谱³ 林兴华^{1,*}

¹ 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 湖北武汉 430070; ² 咸宁学院基础医学院, 湖北咸宁 437100; ³ 南京农业大学生命科学学院, 江苏南京 210095

摘要: *Xa14* 是一个高抗菲律宾白叶枯病生理小种 5 的显性基因, 位于水稻第 4 染色体长臂末端。本研究利用中国国家基因中心的水稻第 4 染色体测序结果, 用 SSR 标记对 *Xa14* 进行遗传定位, 为进一步用图位克隆法克隆该基因奠定基础。利用 775 株 IRBB14/IR24 F₂ 中的 145 株高感群体, 将基因 *Xa14* 限定在 SSR 标记 HZR970-8 和 HZR988-1 之间, 与两个分子标记的距离各为 0.34 cM, 并找到了在该群体中与基因共分离的 HZR645-4、HZR669-2、HZR669-5 和 HZR669-7 四个 SSR 标记。利用 763 株 IRBB14/珍珠矮 F₂ 中 158 株高感群体, 将基因 *Xa14* 限定在分子标记 HZR648-5 与 RM280 之间的区段, 找到与基因紧密连锁的 SSR 标记 HZR648-5, 与基因的距离为 1.90 cM。将两个 F₂ 群体的定位结果进行整合, 表明 *Xa14* 位于分子标记 HZR970-8 和 HZR988-1 之间的 3 个 BAC 克隆上, 并与这两个标记紧密连锁。

关键词: 水稻; 白叶枯病; 抗性基因; *Xa14*; SSR; 遗传定位

Genetic Mapping of a Bacterial Blight Resistance Gene *Xa14* in Rice

BAO Si-Yuan^{1,2}, TAN Ming-Pu³, and LIN Xing-Hua^{1,*}

¹ National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; ² College of Basic Medical, Xianning University, Xianning 437100, China; ³ College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: Bacterial blight of rice, which is a vascular bundle disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), is one of the most serious diseases of rice worldwide, and leads to the yield of rice reduced greatly. The dominant gene *Xa14* is highly resistant to Philippine race 5 of bacterial blight. The gene was located at the distal end on the long arm of chromosome 4 by Taura et al. Near-isogenic line in the background of IR24, namely IRBB14 carrying the gene *Xa14* has been developed at International Rice Research Institute (IRRI). In order to construct the high-resolution linkage maps for the *Xa14* region on chromosome 4 for finally clone by positional cloning, two F₂ populations were used to estimate linkage based on marker genotype and reaction to disease inoculation with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Using 145 highly susceptible individuals from a total of 775 plants of F₂ population of the cross between IRBB14 and IR24, the gene *Xa14* was located in a 0.68 cM region on the nearby end of chromosome 4, which was flanked by the molecular markers HZR970-8 and HZR988-1, with the distance of 0.34 cM between the flanked markers and *Xa14*, respectively, and completely cosegregated with the SSR markers HZR645-4, HZR669-2, HZR669-5, and HZR669-7 in this population. Using 158 highly susceptible individuals from a total of 763 plants of F₂ population of the cross between IRBB14 and ZZA, the gene *Xa14* locus was mapped to the interval between HZR648-5 and RM280, and was 1.90 cM away from HZR648-5 which was the closest marker flanking the *Xa14* locus. Combining recombination frequencies for the two populations together, the gene *Xa14* was mapped to 3 BAC clones spanned approximately 300 kb in length between SSR markers HZR970-8 and HZR988-1.

Keywords: Rice; Bacterial blight; Resistance gene; *Xa14*; SSR; Genetic mapping

水稻是重要的粮食作物, 水稻白叶枯病(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, Xoo)是世界水稻生产中最严重的细菌性病害, 其危害造成不同程度的减产, 甚至绝收^[1]。由于化学防治难以奏效, 种植抗病品种

是经济有效的防治方法, 因此利用白叶枯病抗性基因一直是国内外这一领域的研究热点。水稻白叶枯病抗性基因的遗传作图不仅为分子标记辅助选择育种提供紧密连锁的分子标记, 而且为克隆基因提供

本研究由国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2001AA222161)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 林兴华, E-mail: xinghualin@mail.hzau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: baosyuan@163.com

Received(收稿日期): 2009-09-23; Accepted(接受日期): 2009-10-02.

必要的基础。迄今, 已发掘和鉴定水稻抗白叶枯病基因近 30 个^[2-5]。其中, 17 个抗性基因已被定位^[6]。已被克隆的抗性基因有 *Xa1*^[7]、*xa5*^[8]、*Xa21*^[9]、*Xa26*^[10] 和 *Xa27*^[11] 5 个。

抗白叶枯病基因 *Xa14* 是 Taura 等^[12]从水稻品种 TN1 中鉴定出来的一个显性基因, 它对菲律宾白叶枯病菌生理小种 5 (PXO112) 具有专化抗性。Taura 等^[13-14]将其定位在水稻第 4 染色体的长臂末端。谭震波等^[15]将其定位在 RFLP 标记 RG620 与 G282 之间, 连锁距离分别为 20.1 cM 和 19.1 cM。国际水稻研究所(IRRI)将 *Xa14* 导入对绝大多数白叶枯病菌都不具有抗性功能的籼稻品种 IR24 中, 并以 IR24 为轮回亲本, 育成了一对携带 *Xa14* 基因的近等基因系 IRBB14^[16]。本研究利用 IRBB14/IR24 和 IRBB14/珍珠矮两个组合的 F₂ 群体对 *Xa14* 进行遗传定位, 为进一步用图位克隆法分离该基因提供必要条件。

1 材料与方法

1.1 植物材料

从 IRBB14 与 IR24 杂交的 775 株 F₂ 群体中选出 145 株高感单株(高感百分率为 18.71%); 从 IRBB14 与感病籼稻品种珍珠矮杂交的 763 株 F₂ 群体中选出 158 株高感单株(高感百分率为 20.71%)。

1.2 水稻白叶枯病接种和抗性鉴定

采用与基因 *Xa14* 相对应的菲律宾白叶枯病菌生理小种 5 的代表菌株 PXO112。在 2003 年夏, 将 F₂ 群体及亲本材料种植于华中农业大学农场实验田, 以每个株系为一小区、每行 12 株、株行距为 12 cm×24 cm。在水稻孕穗期(栽插后约 40 d), 将菌株从保存的冰箱取出, 转移至 Wakimoto 斜面培养基^[17]上, 在 28℃ 中复壮, 扩大培养 72 h。用接种环将菌落刮入蒸馏水, 配制成每毫升 6×10^8 细胞的菌液。用剪叶法^[18]分别接种各鉴定材料。剪去完全展开的健康叶片的叶尖 1~2 cm, 沾一次菌液, 剪 1~3 片叶, 每株接种上层的叶片共 5~7 张。接种 20 d 后选 3 个无损害(虫害、除白叶枯病外的其他病害及机械损伤)的最长病斑叶片, 测量病斑长度。选取病斑长度 8 cm 的植株组成高感群体。

1.3 SSR 分析

选用康奈尔大学公布的水稻 SSR 标记^[19-20]以及根据中国国家基因中心分担的国际水稻基因组计划第 4 染色体测序的结果(<http://rgp.dna.affrc.go.jp/cgi-bin/statusdb/irgsp-status.cgi>), 扫描获得 SSR 标记。采

取小样法抽提 DNA。参照 Temnykh 等^[20]的方法进行 PCR 扩增, 体系 20 μL, 含 10×PCR buffer 2.0 μL, 2 mmol L⁻¹ dNTP 1.8 μL, 25 mmol L⁻¹ MgCl₂ 1.3 μL, Taq DNA 聚合酶 1 U, R 和 F 引物各 0.2 μmol L⁻¹, 30 ng 模板 DNA; 扩增程序为 94℃ 3 min; 94℃ 1 min, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min, 35 循环; 72℃ 延伸 5 min。扩增时根据不同引物的 *T_m* 值调节退火温度。扩增产物加 1/2 体积的变性剂后, 以 6%聚丙烯酰胺(PAGE)变性凝胶分离(恒定功率 60 W 预电泳 30 min 后上样, 电泳至带型分开)。

1.4 分子标记和 *Xa14* 之间的连锁分析

选择目的基因区段 SSR 分子标记对 IRBB14/IR24 和 IRBB14/珍珠矮两个 F₂ 群体分离出的钝感单株进行分析, 采用“最大似然法(maximum likelihood estimator)”计算目的基因与标记间的交换值^[21]。交换值 $c = (N_1 + N_2)/N$, *N* 指钝感群体中全部感病单株数, *N*₁ 为所有钝感单株中表现纯合抗性亲本带型的单株数, *N*₂ 为所有钝感单株中表现双亲杂合带型的单株数。方差 $V_c = c(1-c)/2N$ 。根据定位函数 $X = (1/4) \ln(1+2r)/(1-2r)$ (*r* 为重组值)将交换重组值换算为遗传图距^[22], 并根据目的基因与 SSR 标记之间的遗传图距及重组分析, 确定其在染色体上的位置。用 MapDraw V 2.1 软件^[23]绘制连锁图。

2 结果与分析

2.1 *Xa14* 在 IRBB14/IR24 F₂ 群体中的遗传定位

从 IRBB14/IR24 组合的 775 株 F₂ 群体中, 选取病斑长度 8 cm 的 145 株高感单株(占 18.71%)用于基因 *Xa14* 的遗传定位。根据前人定位结果, 该基因位于第 4 染色体长臂末端^[13-14]。在康奈尔大学公布的水稻 SSR 标记遗传连锁图^[19-20]上第 4 染色体长臂末段有 15 个 SSR 标记, 将这 15 个 SSR 标记进行亲本间多态性筛选, 只获得 1 个有多态性的 SSR 标记(RM349)。为了获得更多的 SSR 标记, 根据国家基因中心已公布的第 4 染色体测序结果, 用 RM303、RM280 的序列进行染色体登陆, 发现 RM303 位于 BAC 克隆 OSJNBa0088I22 (登录号为 AL607001)上, RM280 位于 BAC 克隆 OSJNBa0039K24 (登录号为 AL606637)上。在已公布的第 4 染色体物理图谱(<http://www.ncgr.ac.cn/>)上, OSJNBa0088I22 与 OSJNBa0039K24 之间有 50 个 BAC 克隆, 从中按一定物理距离选取 6 个克隆进行 SSR 扫描, 根据所获得的 SSR 两侧的序列设计 PCR 引物并进行亲本间多态性

筛选, 结果只有 HZR987-7、HZR455-5 和 HZR455-7 三个 SSR 标记有多态性, 其中 HZR455-5 与 RM349 都为显性标记。用这 4 个标记对群体进行分析, 结果用 HZR987-7 检测到 21 个重组单株, HZR455-5、RM349 和 HZR455-7 各检测到 6 个重组单株, 而且这 6 个重组单株的编号相同。这是因为 HZR455-5、RM349 和 HZR455-7 在同一个克隆上, 其标记带型一致。用这 4 个 SSR 标记将 *Xa14* 定位在 9.36 cM 范围内, 各距离遗传标记 HZR987-7 和 HZR455-5 分别为 7.29 cM 和 2.07 cM, 在物理图谱上位于 24 个克隆之间。

为了进一步进行基因定位, 我们对 SSR 标记 HZR987-7 和 HZR455-5 之间的 24 个克隆, 进行了 SSR

扫描, 共获得 114 个有价值的 SSR。最后, 在每个克隆上随机、均匀地选取适当数量的 SSR 标记进行亲本间多态性筛选, 结果显示有 13 个 SSR 标记在亲本间有多态性。为了提高效率, 我们在每个克隆上选取一个有多态性的标记, 共 7 个 SSR 标记对目标基因作了进一步定位(表 1)。在分析 HZR987-7 和 HZR455-5 之间的 27 个重组单株中, HZR645-4、HZR669-2 与基因共分离, HZR988-1 与基因有 1 个重组, HZR657-2 有 3 个重组, HZR970-8 与基因有 1 个重组, HZR648-5 与基因有 3 个重组, HZR950-1 与基因有 4 个重组。这样, 便将 *Xa14* 定位在 0.68 cM 范围内, 与遗传标记 HZR970-8 和 HZR988-1 的距离分别为 0.34 cM (图 1)。

表 1 本研究新发展的部分 SSR 标记
Table 1 New developed polymorphic SSR in this study

标记 Marker	所在 BAC 克隆 BAC clones	登录号 Accession No. of BAC	引物序列 Primer sequence
HZR970-8	OSJNBa0058K23	AL662970	F: 5'-TGGAATCACAACCACGACTAGG-3' R: 5'-CTACCTCAAGCTCCACGACTTCC-3'
HZR645-4	OSJNBa0053K19	AL606645	F: 5'-GCGGATCTATTTCGGCCCTAACC-3' R: 5'-CCACGCTGACAACAGACAGATTCC-3'
HZR669-2	OSJNBb0060E08	AL606669	F: 5'-CGTCGAGTTCAATTCCGAATCC-3' R: 5'-CGATGACGACGGTGATGACG-3'
HZR988-1	OSJNBa0089N06	AL662988	F: 5'-TTTGGGATAAATGGGAGAGG-3' R: 5'-TCAGCTGGTTATTATGGAGAGG-3'

分子标记编号取其所在 BAC 克隆的登录号后面的 3 位数字。

Marker number was expressed by the last three numbers of accession No. of BAC.

2.2 *Xa14* 在 IRBB14/珍珠矮 F₂ 群体中的遗传定位

从 IRBB14/珍珠矮组合的 763 株 F₂ 群体中, 挑选其中 158 株高感单株(占 20.71%)组成用于遗传定位的群体。仍在目标区段首先选取康奈尔大学公布的水稻 SSR 标记遗传连锁图^[19-20]第 4 染色体长臂末段上的 15 个 SSR 标记以及物理图谱(<http://www.ncgr.ac.cn/>)上的 6 个 BAC 克隆的 SSR 标记进行亲本间多态性筛选(图 2)。结果只有 RM252、RM241、RM303、HZR688-5、HZR987-6、HZR987-7 和 RM280 七个 SSR 标记有多态性。用 RM303、HZR688-5、HZR987-6、HZR987-7 和 RM280 五个 SSR 标记进行基因定位。首先在基因的一侧, 用 SSR 标记 RM303 检测到 17 个重组单株, 其中有 16 个杂合带型, 1 个抗性亲本带型。进一步用可能更靠近基因的标记 HZR688-5、HZR987-6 和 HZR987-7 检测群体, 发现 HZR688-5 与 RM303 共分离, 距离基因 5.72 cM; HZR987-6 与 HZR987-7 共分离, 检测到 16 个重组单株, 其中杂合带型为 15 个, 抗性亲本带型为 1 个, 距离目标基因 5.40 cM。在另一侧用标记 RM280 检测

到 43 个重组单株, 距离基因 15.00 cM。这样, 将目标基因限定在分子标记 HZR987-7 与 RM280 之间, 在物理图谱上位于 45 个克隆之间。

同上, 根据 SSR 扫描结果, 在 HZR987-7 和 RM280 之间, 在有多态性的标记中选取 5 个 SSR 标记对基因进行进一步定位, 发现用标记 HZR981-8 检测到 16 个重组单株, 与基因的距离为 5.08 cM。进一步用可能更靠近基因的标记 HZR952-2、HZR610-7、HZR950-1 和 HZR648-5 分别检测到 15、7、7、6 个重组单株, 距离基因分别为 4.76、2.22、2.22 和 1.90 cM (图 1)。从而找到了一个与基因紧密连锁的 SSR 标记 HZR648-5, 与 *Xa14* 的距离为 1.90 cM。

为了证实上述标记排序的准确性, 我们将 HZR648-5 和 HZR988-1 附近有多态性的标记都进行了单株 SSR 和重组发生分析, 结果证实所作出的遗传图谱是高度可信的。

2.3 两个群体定位的整合

由于不同亲本间多态性标记不同, 因此有必要对不同群体的定位结果进行整合。

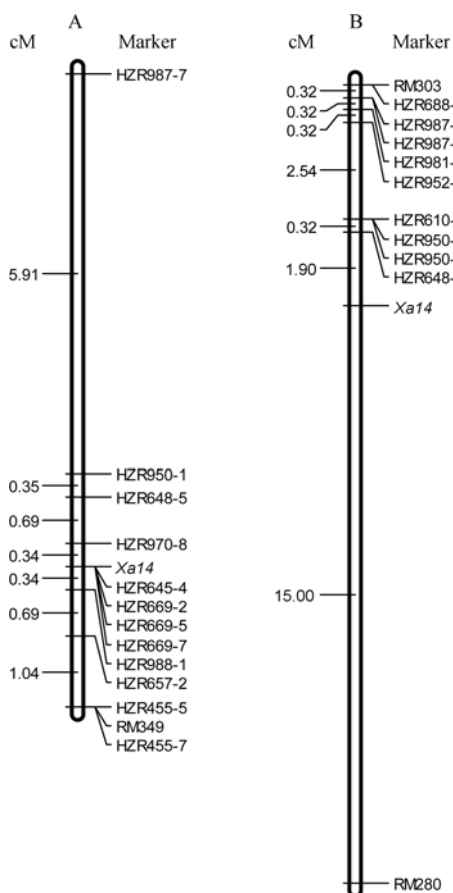


图 1 抗白叶枯病基因 *Xa14* 在第 4 染色体上的遗传定位
Fig. 1 Location of bacterial blight resistance gene *Xa14* on molecular linkage map of chromosome 4

图 A 来源于 775 株的 IRBB14/IR24 F_2 群体, 图 B 来源于 763 株的 IRBB14/珍珠矮 F_2 群体。

Map A was derived from 775 F_2 plants of the cross between IRBB14 and IR24. Map B was derived from 763 F_2 plants of the cross between IRBB14 and ZZA.

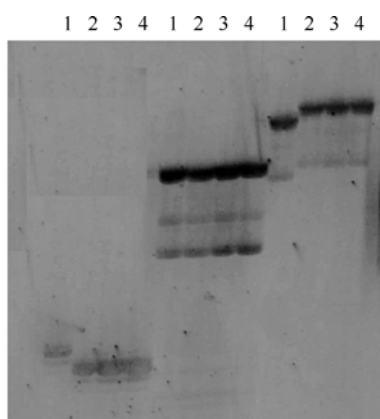


图 2 分子标记 HZR688-5、HZR987-2、HZR987-6 在亲本(ZZA、IR24、IRBB2、IRBB14)间的多态性筛选

Fig. 2 Screening polymorphism between parents (ZZA, IR24, IRBB2, IRBB14) using molecular marker (HZR688-5, HZR987-2, HZR987-6)

1: ZZA; 2: IR24; 3: IRBB2; 4: IRBB14.

Xa14 在 IRBB14/珍珠矮和 IRBB14/IR24 两个组合的 F_2 群体中的定位结果高度一致, 可相互佐证。在两个群体所构建的遗传图谱中, 共有的分子标记有 HZR987-7、HZR950-1 和 HZR648-5, 它们的顺序、图距也一致。但是, 在 HZR648-5 和 RM280 之间长达 16.9 cM 区间内, 在 IRBB14 和珍珠矮之间没有筛选到有多态性的分子标记, 表明在 IRBB14/珍珠矮 F_2 群体中在 RM280 端不可能找到与 *Xa14* 紧密连锁的分子标记。但是用 IRBB14/IR24 F_2 群体弥补了这一不足, 在 RM349 端发现了一个紧密连锁标记 HZR988-1 及 4 个与基因共分离的标记 HZR669-7、HZR669-5、HZR669-2 和 HZR645-4。最后我们对两个群体定位的结果进行了整合, 得出的结论是 *Xa14* 位于分子标记 HZR970-8 和 HZR988-1 之间的染色体区段, 并与这两个标记紧密连锁。在国家基因中心构建的第 4 染色体物理图谱(<http://www.ncgr.ac.cn/>)上, HZR970-8 和 HZR988-1 之间有 3 个 BAC 克隆, 其长度约为 300 kb, 显然, 基因 *Xa14* 位于这 300 kb 的染色体片段内。

3 讨论

在对 *Xa14* 的定位过程中, 我们采用了两个分离群体, 近等基因系 IRBB14 与它的轮回亲本 IR24 构建的 F_2 群体和 IRBB14 与珍珠矮构建的 F_2 群体。IRBB14 是 TN1 与 IR24 经过杂交和多次回交育成的, 它仅携带 *Xa14* 抗白叶枯病基因, 是对 *Xa14* 进行遗传定位的理想材料。但 IRBB14 和 IR24 的遗传背景相同, 多态性分子标记较少, 不利于高密度饱和和遗传图谱的构建, 因此, 同时采用第 2 个群体对第 1 个群体进行补充和证实。实验结果证实用两个群体定位的结果是一致的, 3 个共有的分子标记 HZR987-7、HZR950-1 和 HZR648-5 在两张图谱上的顺序、图距相同。RM303、RM280 和 RM349 在我们图谱上的顺序与康奈尔大学公布的水稻 SSR 标记遗传图谱^[19-20]一致。在对 IRBB14、珍珠矮进行亲本间多态性筛选时, 在分子标记 HZR648-5 和 RM280 之间没有找到有多态性分子标记, 但在 IRBB14 和 IR24 之间找到了 10 个有多态性的分子标记, 从而保证了顺利进行定位。由此可见, 发展源于不同杂交组合的作图群体是填补图谱中的缺口, 构建覆盖目标区段基因组高密度遗传图谱的有效手段。Sanchez 等^[24]在精细定位 *xa13* 时就采用了这个策略。两个定位群体 NIL (IRBB13/IR24)、NPT(IRBB13/IR65598-112-2)的定位

结果显示, RFLP 标记 R2027 在 NIL 群体中与 *xa13* 的图距为 1.1 cM, 在 NPT 群体中与 *xa13* 图距为 1.3 cM; 在基因的另一端, RG136 在两个群体中与基因的间距分别为 2.3 cM 和 5.3 cM; 在 NPT 群体中, 发现了一个来源于 RFLP 标记 RG136 的 STS 标记 RG136(STS)比其 RFLP 标记更靠近基因, 与 *xa13* 的距离为 4.9 cM, 与 RFLP 标记 RG136 有 1.9% 的重组率。这样便得出 RG136 和 R2027 是 *xa13* 两端最靠近基因的标记的结论。Blair 等^[25]在用 SSR 和 STS 分子标记鉴别 *xa5* 时, 同样采用这个策略。他们所用的两个群体为 IRBB5/IR24 和 Chinsurah Boro II/IR64。IRBB5/IR24 群体用于确定微卫星标记和 *xa5* 之间的连锁关系。Chinsurah Boro II/IR64 群体用于证实包含 *xa5* 的连锁图。最后将所有的资料进行整合, 构建出一张高密度的遗传连锁图, 将 *xa5* 定位在 RG556 (或 STS556)与 RZ390(或 STS390)之间。

全基因组测序的完成, 为基因定位提供了充足的分子标记, 以 PCR 为基础的分子标记得到了前所未有的利用, 使得大群体的使用成为可能, 极大缩减了工作量、提高了效率。目标区段的序列可得, 寻找分子标记的难度大为减少。我们在对 *Xa14* 定位时, 充分利用了国家基因中心第 4 染色体的测序结果, 首先, 我们根据前人的定位结果将 *Xa14* 限定在分子标记 RM303 和 RM280 之间, 利用两端标记去掉了对基因定位没有贡献的单株, 然后根据 RM303 和 RM280 的序列在第 4 染色体上进行染色体登陆, 找到了基因在物理图谱上的区段。对目标区段的序列进行 SSR 扫描, 发现在该区域 SSR 非常丰富, 在标记 HZR987-7 与 HZR455-5 之间找到了 114 个有价值的 SSR, 平均 29 kb 就有 1 个 SSR。为了提高效率, 我们采用两步法逐渐逼近基因, 找到了与基因紧密连锁的分子标记和共分离标记。在对 *Xa14* 定位时, 我们越过了以往那些涉及 RFLP、RAPD、AFLP 等费力、费时、程序繁琐、效率低的标记, 而是充分利用基因组序列, 仅利用 SSR 标记就完成了对 *Xa14* 的精细定位, 充分受益于基因组计划。

图位克隆是基于遗传作图和物理作图的一种克隆基因的有效方法, 水稻是禾本科模式植物, 适于用图位克隆法分离基因。这种方法的关键步骤是建立高密度的饱和分子遗传图谱, 获得与基因紧密连锁或共分离的分子标记。谭震波等^[15]利用 RFLP 标记将 *Xa14* 定位在 RG620 与 G282 之间, 与这两个标记的连锁距离分别为 19.1 cM 和 20.1 cM。在由日本

晴构建的物理图谱上(<http://www.ncgr.ac.cn/>), RG620 与 G282 所在的 BAC 克隆分别为 OSJNBa0032F06 (AL606641, 128.5 cM)和 OSJNBa0011L07 (AL606587, 83.0 cM), 两个克隆相距 45.5 cM, 两者之间有 60 个 BAC 克隆。本研究利用 SSR 标记将 *Xa14* 定位在分子标记 HZR970-8 (OSJNBa0058K23, 107.4 cM)和 HZR988-1 (OSJNBa0089N06, 109.9 cM)之间, 遗传距离为 2.5 cM, 两者之间有 3 个 BAC 克隆。说明我们与谭震波的定位结果一致, 我们的定位更为精确, 此结果为 *Xa14* 基因的图位克隆建立了重要基础。

4 结论

利用 IRBB14/IR24 和 IRBB14/珍珠矮两个 F_2 群体, 将水稻抗白叶枯病基因 *Xa14* 限定在 SSR 标记 HZR970-8 和 HZR988-1 之间的 3 个 BAC 克隆上, 与两个分子标记的距离分别为 0.34 cM, 并且找到了在群体中与基因共分离的 4 个 SSR 标记 HZR645-4、HZR669-2、HZR669-5 和 HZR669-7。

References

- [1] Mew T W. Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice. *Annu Rev Phytopathol*, 1987, 25: 359–382
- [2] Ogawa T. Methods and strategy for monitoring race distribution and identification of resistance genes to bacterial leaf blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) in rice. *Jpn Agric Res Q*, 1993, 27: 71–80
- [3] Lee K S, Rasabandith S, Angeles E R, Khush G S. Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. *Phytopathology*, 2003, 93: 147–152
- [4] Chen Y(陈艳), Hu J(胡军), Qian W(钱韦), Tian Y-C(田颖川), Zhao W-M(赵文明), He C-Z(何朝族). Characterization and molecular marker screening of a rice bacteria-resistant gene *Xa-min(t)*. *Prog Nat Sci* (自然科学进展), 2003, 13(9): 1001–1004 (in Chinese with English abstract)
- [5] Tan G-X(谭光轩), Ren X(任翔), Weng Q-M(翁清妹), Shi Z-Y(时振英), Zhu L-L(祝莉莉), He G-C(何光存). Mapping of a new resistance gene to bacterial blight in rice line introgressed from *Oryza officinalis*. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2004, 31(7): 724–729 (in Chinese with English abstract)
- [6] Zhang Q(章琦). Highlights in identification and application of resistance genes to bacterial blight. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2005, 19(5): 453–459 (in Chinese with English abstract)
- [7] Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, Toki S, Wang Z X, 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. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 1663–1668
- [8] Lyer A S, McCouch S R. The rice bacterial blight resistance gene *xa5* encodes a novel form of disease resistance. *Mol Plant-*

- Microbe Interact*, 2004, 17: 1348–1354
- [9] Song W Y, Wang G L, Chen L L, Kim H S, Pi L Y, Gardner J, Wang B, Holsten T, Zhai W X, Zhu L H, Fauquwt C, Ronald P. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene *Xa21*. *Science*, 1995, 270: 1804–1806
- [10] Sun X, Cao Y, Yang Z, Xu C, Li X, Wang S, Zhang Q. *Xa26*, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J*, 2004, 37: 517–527
- [11] Gu K, Yang B, Tian D, Wu L, Wang D, Sreekala C, Yang F, Chu Z, Wang G L, White F F, Yin Z R. Gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature*, 2005, 435: 1122–1125
- [12] Taura S, Ogawa T, Tabien R E, Khush G S, Yoshimura A, Omura T. The specific reaction of Taichung Native 1 to Philippine races of bacterial blight and inheritance of resistance to race 5. *Rice Genet Newsl*, 1987, 4: 101–102
- [13] Taura S, Ogawa T, Tabien R E, Khush G S, Yoshimura A, Omura T. Resistance gene of rice cultivar, Taichung native to Philippines races of bacterial blight pathogens. *Jpn J Breed*, 1992, 42: 195–201
- [14] Kinoshita T. Report of the committee on gene symbolization and linkage map. *Rice Genet Newsl*, 1993, 10: 1–5
- [15] Tan Z-B(谭震波), Zhang Q(章琦), Zhu L-H(朱立煌), Wang C-L(王春莲). RFLP mapping of a rice bacterial blight resistance gene *Xa14*. *Hereditas (遗传)*, 1998, 20(6): 30–33 (in Chinese with English abstract)
- [16] Ogawa T, Yamamoto T, Khush G S, Mew T W. Breeding of near-isogenic lines of rice with single genes for resistance to bacterial blight pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). *Jpn J Breed*, 1991, 41: 523–529
- [17] Wakimoto S. The determination of the presence of *Xanthomonas oryzae* by the phage technique. Scientific Bulletin of Faculty of Agriculture, Kyushu University, 1954, 14: 485–493 (in Japanese with English abstract)
- [18] Kauffman H E, Reddy A P K, Hsieh S P Y, Merca S D. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. *Plant Dis Rep*, 1973, 57: 537–541
- [19] Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Res*, 2001, 11: 1441–1452
- [20] Temnykh S, Park W D, Ayres N, Cartinhour S, Harek N, Lipovich L, Cho Y G, Ishii T, McCouch S R. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 697–712
- [21] Allard R W. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia*, 1956, 24: 235–278
- [22] Kosambi D D. The estimation of map distance from recombination values. *Ann Eugen*, 1994, 12: 172–175
- [23] Liu R-H(刘仁虎), Meng J-L(孟金陵). MapDraw: a microsoft excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data. *Hereditas (遗传)*, 2003, 25(3): 317–321 (in Chinese with English abstract)
- [24] Sanchez A C, Ilag L L, Yang D, Brar D S, Ausubel F, Khush G S, Yano M, Sasaki T, Li Z, Huang N. Genetic and physical mapping of *xa13*, a recessive bacterial blight resistance gene in rice. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 1022–1028
- [25] Blair M W, McCouch S R. Microsatellite and sequence-tagged site markers diagnostic for the rice bacterial leaf blight resistance gene *xa-5*. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 174–184