

甘蔗白条病及其致病菌 *Xanthomonas albilineans* 研究进展

孟建玉 张慧丽 林岭虹 黄宏阳 高三基*

(福建农林大学国家甘蔗工程技术研究中心, 福州 350002)

摘要: 由白条黄单胞杆菌 *Xanthomonas albilineans* 引起的甘蔗白条病是一种寄生在植物维管组织的系统性细菌病害, 在全球多数种植甘蔗的国家或地区普遍发生, 对甘蔗产业的发展构成潜在威胁。本研究综述了甘蔗白条病的发生和分布、传播与流行规律以及病原菌生物学与基因组特性、鉴定与检测、遗传多样性和致病机理等方面内容; 提出加强抗病种质挖掘与新品种选育推广、加快抗病分子育种进程、切断病害传播途径、加强隔离检验检疫等病害防控策略; 此外, 评估了该病害在我国蔗区流行暴发的风险, 展望今后甘蔗抗病分子育种、病原菌致病机制及其与寄主互作机理等方面的分子基础研究重点与应用前景。

关键词: 甘蔗白条病; 白条黄单胞杆菌; 细菌性病害; 病害防控

Research advances in sugarcane leaf scald disease and its causal agent *Xanthomonas albilineans*

Meng Jianyu Zhang Huili Lin Linghong Huang Hongyang Gao Sanji*

(National Engineering Research Center for Sugarcane, Fujian University of Agriculture and Forestry, Fuzhou 350002, Fujian Province, China)

Abstract: Sugarcane leaf scald, caused by proteobacteria *Xanthomonas albilineans*, is a systemic disease that occurs in the most sugarcane-producing countries/regions in the world and poses a potential threat to the development of the sugarcane industry. The occurrence, distribution, transmission and epidemiology of sugarcane leaf scald disease, the biological and genomic characteristics, identification and detection, and the genetic diversity and pathogenic mechanism of *X. albilineans* were reviewed in this paper. At the same time, current strategies for disease management were proposed to strengthen the development and utilization of disease-resistant germplasm resources, release new elite varieties by conventional breeding programs and molecular breeding, cut off the path of disease transmission, and strengthen disease inspection and quarantine. Besides, the risks of outbreak and spread of this epidemic disease in Chinese sugarcane-producing areas and the future prospects for research and application of molecular breeding for disease resistance, pathogenicity, and host-pathogen interaction mechanism were also discussed.

Key words: sugarcane leaf scald; *Xanthomonas albilineans*; bacterial disease; disease control

甘蔗是一年生或多年生宿根禾本科作物, 分布在热带和亚热带地区, 是世界上最主要的糖料作物,

甘蔗糖占世界食糖总量的 80% (Barnabas et al., 2015), 甘蔗也是我国最重要的糖料作物, 主要分布

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(糖料)建设专项资金(CARS-170302)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: gsanji@163.com

收稿日期: 2018-05-06

在广西、云南、广东等省(区),甘蔗糖约占我国食糖总产的90%(Li et al., 2018)。甘蔗是无性繁殖作物,经过连续种植多年后,多种病原物反复侵染并在植株内积累,容易造成甘蔗种性退化,甘蔗生长受到抑制,病害发生严重,导致产量减少、糖分降低,给我国蔗糖业的发展造成巨大的影响。据报道,全球甘蔗病害至少有130种,我国经证实的侵染性病害有50余种(鲁国东等, 1997)。

甘蔗白条病是由白条黄单胞杆菌 *Xanthomonas albilineans* 引起的一种重要甘蔗细菌病害,在全球多数种植甘蔗的国家或地区普遍发生(Ricaud & Ryan, 1989; Rott & Davis, 2000),白条黄单胞杆菌被列入2007年《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》。20世纪80年代初,甘蔗白条病在我国东南沿海蔗区均有报道,但是该病害的研究仅限于病害症状的诊断和病原细菌生物学特性等方面(轻工业部甘蔗糖业科学研究所, 1985)。最近, Zhang et al. (2017) 和 Lin et al. (2018) 通过病原菌分离和分子生物学鉴定,证实该病害在我国最主要的甘蔗产区——广西蔗区也有发生。加强甘蔗白条病的检验检疫、病害流行监测以及综合防控十分必要。本研究概述了甘蔗白条病及其病原菌的生物学及基因组特性、株系种类、病原菌鉴定与检测、致病分子机理等方面的最新研究进展,并提出病害综合防控策略,展望了今后研究的科学和实际问题,以期为我国甘蔗白条病的绿色防控及抗病分子育种提供参考。

1 甘蔗白条病病害基本情况

1.1 甘蔗白条病病害的分布与危害

20世纪20年代,甘蔗白条病在印度尼西亚爪哇、澳大利亚和斐济就已发生,随后在菲律宾、毛里求斯、美国夏威夷也相继报道,目前至少在66个甘蔗种植国家均有发生,如巴西、印度、中国、泰国等甘蔗主产国以及一些北美州和非洲国家(Ricaud & Ryan, 1989; Rott & Davis, 2000)。20世纪80年代,甘蔗白条病在我国福建、广东、江西、台湾等蔗区就有发生(轻工业部甘蔗糖业科学研究所, 1985; 鲁国东等, 1997),最近,在广西、云南和海南等蔗区也有报道(Zhang et al., 2017; Lin et al., 2018; Zhang et al., 2019)。该病害是由黄单胞菌属白条黄单胞杆菌引起的一种寄生在植物维管组织的系统性病害。黄单胞菌至少可以侵染11科70属的124种单子叶植物和57科170多属的268种双子叶植物(Leyns et al., 1984; 冯洁, 2017)。白条黄单胞杆菌寄主范围相对

狭窄,主要侵染禾本科单子叶植物,包括甘蔗属原始种及其甘蔗杂交种、斑茅和玉米,还有毛花雀稗 *Paspalum dilatatum*、两耳草 *Paspalum conjugatum*、白茅 *Imperata cylindrica*、大黍 *Panicum maximum* 等杂草(轻工业部甘蔗糖业科学研究所, 1985; Ricaud & Ryan, 1989)。甘蔗白条病会引起病菌黏液淤塞蔗茎维管束,影响水分和养分运输,导致甘蔗生长缓慢,有效茎数减少,宿根年限缩短,造成甘蔗蔗茎产量严重损失以及蔗汁锤度、转光度和纯度等甘蔗糖分性状变劣(Ricaud & Ryan, 1989; Hoy & Grisham, 1994)。

1.2 甘蔗白条病病害的典型症状

甘蔗白条病有慢性和急性2种发病症状(Ricaud & Ryan, 1989)。慢性发病症状:发病初期叶片表面出现与主脉平行、长1~2 mm的白色至黄色褪绿铅笔线条纹,边缘很整齐,条纹颜色随时间的增长常常变成微红,边缘变宽,条纹中带有许多红色小点;发病后期,褪绿条纹周围的叶组织坏死、枯萎,并且从叶尖及边缘开始向下和向内发展,叶片褪绿后枯萎,向内卷曲;成熟甘蔗常见症状是蔗茎中下部芽容易长出侧枝,茎基部出现纤弱的分蘖,侧枝和分蘖的叶片出现与主茎叶片相似的症状——出现白色条纹和褪绿(图1);发病植株蔗茎的下部成熟节纵切面可观察到维管束变红,发病严重的蔗株蔗茎内会出现坏死的红色溶生腔,感病严重时有的品种会出现整株死亡的现象。急性发病症状:外表无任何症状,成熟茎秆突然枯萎和死亡,整个植株或大面积的田地可能都会受到影响;有时在蔗茎基部会有小芽,表现出典型的铅笔状条纹;急性症状最容易在甘蔗最适生长期遇到持续干旱后突然下暴雨时发生,但这种症状似乎仅限于在高感品种上发生。另外,潜伏侵染也是该病害的另一个重要特点,表现为植株可以耐受病原菌数周、数月甚至几年都不出现任何症状,或者症状因不显眼而被忽视,当遇到外部环境胁迫时,特别是天气干旱或营养不良,潜伏期就会结束,表现出外部症状(Ricaud & Ryan, 1989; Rott & Davis, 2000)。

1.3 甘蔗白条病的传播途径与流行规律

甘蔗白条病主要通过感染病菌的种茎进行长距离传播,还可以通过砍刀等收获工具进行机械传播(图2)。越来越多的研究表明,该病菌可以通过植株叶与叶、根与根的接触以及土壤传播(Klett & Rott, 1994),还可以通过气流传播(Daugrois et al., 2012)。在缺乏严格的隔离检疫条件和灵敏的分子检测技术

的情况下,携带病菌的甘蔗种质容易通过调种和引种的方式在不同国家或地区之间传播。在病害侵染循环中,带菌甘蔗残茬和中间寄主杂草是其主要的初侵染源。病害发生和流行程度与甘蔗品种抗性、病原菌致病性、蔗田环境条件和栽培管理措施等因

素有关。当带菌植株遇到天气干旱或营养不良等环境胁迫时容易发病,飓风期的强降雨或者低温均能加重病害发生和流行。在温暖海洋性气候区白条病发病较轻,而在大陆性气候区和温湿度变化明显的气候区则发病较重(Ricaud & Ryan, 1989)。



图1 甘蔗白条病典型症状与病原菌细胞形态(Li et al., 2018)

Fig. 1 The typical symptoms of sugarcane leaf scald and cell morphology of its causal agent *Xanthomonas albilineans* (Li et al., 2018)

A: 叶片白色至黄色褪绿铅笔线条纹和褪绿; B: 蔗茎中下部长出许多侧枝, 叶片出现与主茎叶片相似的症状; C: 甘蔗白条黄单胞杆菌细胞形态。A: The leaves show white to yellow chlorosis pencil line streaks or leaf bleaching; B: side shoots occur along the sugarcane stalk and leaves show similar symptoms as the stalk; C: cell morphology of *X. albilineans*.

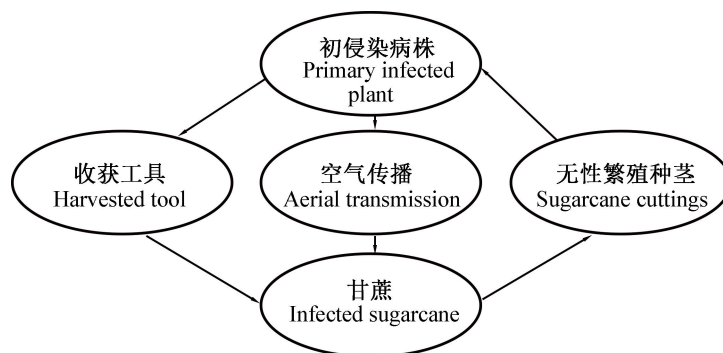


图2 甘蔗白条病病害循环(Daugrois et al., 2013)

Fig. 2 The infection cycle of sugarcane leaf scald disease (Daugrois et al., 2013)

2 甘蔗白条病病原菌生物学与基因组特性

2.1 甘蔗白条病病原菌分类地位

自从Dowson建立黄单胞菌属至今,其分类发生了巨大变化。最初根据寄主范围的不同或在寄主上表现的症状不同,黄单胞菌属细菌种被定义为一个新的致病变种。近几年,DNA-DNA杂交、扩增片段长度多态性、蛋白质电泳、脂肪酸分析、16S rDNA序列分析、多位点序列分析(multilocus sequence analysis, MLSA)等技术被广泛地用于该属细菌遗传亲缘关系鉴定(Hauben et al., 1997; Young et al., 2008; 龙海等, 2010)。在《伯杰氏细菌古生菌和细菌分类学手册》中,黄单胞菌属包含20个种,70个亚种和70个未定义的种(Saddler & Bradbury, 2015)。

Ashby最早将甘蔗白条病病原菌称为白条杆菌

Bacterium albilineans, 随后杆菌属 *Bacterium* 名称更换为植物单胞菌属 *Phytomonas* (Martin & Robinson, 1961)。Dowson将所有具有单个极生鞭毛、黄色菌落的植物病原菌重新归类到黄单胞菌属,甘蔗白条病病原名称——白条黄单胞杆菌 *X. albilineans* 沿用至今。在其它文献也出现同种异名,如白条农杆菌 *Agrobacterium albilineans* (Ashby) Savulescu、白条假单胞菌 *Pseudomonas albilineans* (Ashby) Krasil'nikov、白条黄单胞杆菌 *paspali* 变种 *X. albilineans* var. *paspali* Orian (Ricaud & Ryan, 1989)。

2.2 甘蔗白条病病原菌生物学特性

《伯杰氏细菌古生菌和细菌分类学手册》所描述的黄单胞菌属下细菌的主要特征:革兰氏阴性菌,菌落为黄色,菌体直杆状,大小为 $0.4\sim0.6\ \mu\text{m}\times0.8\sim$

2.0 μm , 多数为单生或对生, 偶尔短链, 细丝状少见, 由一个极生单鞭毛运动, 很少细胞有两极极生鞭毛(图1); 严格好气性, 代谢为呼吸型, 无反硝化作用或硝酸还原作用, 过氧化氢酶反应为阳性, 氧化酶为阴性或微弱反应。白条黄单胞杆菌作为黄单胞菌属下的一个种, 其形态学特征: 细长杆状, 大小为 $0.25\sim 0.3\ \mu\text{m}\times 0.6\sim 1.0\ \mu\text{m}$, 单生或成链, 极生单根鞭毛; 菌落颜色为蜜黄色或浅黄色, 形态为平滑、圆整、光亮、黏稠状(Saddler & Bradbury, 2015)。白条黄单胞杆菌为寄生菌, 专性好氧, 最适分离培养温度 $25\sim 28^\circ\text{C}$, 生长最高温度 37°C , 在人工培养基中生长缓慢, 一般至少培养4~6 d(Ricaud & Ryan, 1989), 其生物化学特性: 具有七叶灵水解特性, 牛奶分解呈阴性, 不利用铵盐, 以硝酸盐或天冬酰胺为生长氮源, 硝酸盐不还原成亚硝酸盐, 产生转化酶, 但不产生尿素酶, 生长需要蛋氨酸, 有抗生素抗性(Birch, 2001; Saddler & Bradbury, 2015)。

2.3 甘蔗白条病病原菌基因组特性

从GenBank数据库查询可知, 来自全球各地的15株甘蔗白条黄单胞杆菌株均具有细菌基因组信息, 这15株甘蔗白条黄单胞杆菌株分别是来自法国属地瓜德鲁普岛的GPEPC73、GPEPC17、GPEPC86株系, 留尼汪岛的REU174、REU209株系和马提尼克岛MTQ032株系; 来自美国佛罗里达州的XaF-LO7-1、USA048和Xa23R1株系; 还有来自斐济的FIJ080株系、加蓬的GAB226株系、布基纳法索的HVO005和HVO082株系、巴布亚新几内亚的PNG130株系和斯里兰卡的LKA070株系。GPEPC73株系基因组具有完整图, 其余14株株系基因组仅有框架图或精细图。这15株菌株基因组胞嘧啶(guanine and cytosine, GC)含量变化为62.8%~63.3%。GPEPC73株系基因组是由一条大小为3.7687 Mb的环状染色体和3条大小为24 837、27 212、31 555 bp的质粒组成, 鸟嘌呤和平均GC含量为62.9%, 含3 262个基因, 已注释蛋白3 067个。GPEPC73株系的染色体具有原核生物基因组典型特征的GC偏移模式, 在靠近前导链起始点和复制终点的地方有2个重要的转变点(Pieretti et al., 2009)。GPEPC73株系染色体GC含量呈现不均一性, 可能是突变和选择共同作用的结果。

3 甘蔗白条病病原菌鉴定与检测

病原菌的快速、准确鉴定和检测是植物病害诊断中非常重要的环节。此外, 测定病原菌生长曲线

和生理生化指标、观察菌落形态和色素沉着情况以及病原菌个体的细胞形态学特征等方面也是鉴别病原菌差异特征的有效途径。甘蔗白条黄单胞杆菌常用改良型Wilbrink's培养基进行分离和培养(Ricaud & Ryan, 1989), Davis et al. (1994)研究开发了半选择培养基, 即在改良型Wilbrink's培养基上添加溴化钾、放线菌酮、苯菌灵、头孢氨苄、新生霉、春雷霉素等试剂, 添加的这些物质不仅不影响白条黄单胞杆菌生长, 而且能有效地抑制杂菌。最近, 国内学者通过对甘蔗白条病病叶样品的病原菌分离培养、细菌形态学观察、分子检测以及柯赫氏法则验证等技术手段证实了我国广东、广西、福建、海南和云南蔗区甘蔗白条病致病菌为白条黄单胞杆菌(Zhang et al., 2017; Lin et al., 2018; Zhang et al., 2019)。

血清学反应是用于植物病害诊断的常用方法, 该方法需要病原菌的特异性抗体。自20世纪70年开始, 毛里求斯、巴西、法国、澳大利亚和美国等学者已经获得甘蔗白条黄单胞杆菌特异性单克隆或多克隆抗体, 并利用间接免疫荧光技术、酶联免疫吸附剂测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、斑点免疫结合测定法(dot immunobinding assay, DIA)和组织印迹杂交(tissue blot immunosorbent assay, TBIA)等方法对甘蔗白条病进行鉴定和检测, 病原菌的检测限为 $10^5\sim 10^6$ CFU/mL(Ricaud & Ryan, 1989; Comstock & Irey, 1992; Wang et al., 1999)。细菌的16S rDNA以及16S rDNA~23S rDNA之间的间隔区域(internal transcribed spacer, ITS)常用于细菌种属和株系的分子鉴定(Honeycutt et al., 1995; Hauben et al., 1997; Gonçalves & Rosato, 2002), 如Pan et al. (1997; 1999)基于白条黄单胞杆菌的16S rDNA~23S rDNA之间的ITS区域设计了Ala4/L1和PGBL1/PGBL2两组特异性PCR检测引物; Wang et al. (1999)设计了一对特异性引物XAF1/XAR1, 该引物靶标为白条黄单胞杆菌的三磷酸腺苷结合盒(adenosine triphosphate-binding cassette, ABC)转运蛋白基因XALc_1791, 利用常规PCR检测、选择性培养基分离培养与PCR检测相结合(biological amplification followed by PCR, BIO-PCR)方法开展病原菌检测, 其检测灵敏度分别为 10^4 、 10^2 CFU/mL, 比DIA、ELISA等血清学检测方法有更高的灵敏度; Lin et al. (2018)采用XAF1/XAR1引物对我国蔗区的357份甘蔗叶片样品进行PCR检测, 有症状的叶片样品阳性检出率为73%, 而无病害症状的叶片样品阳性检

出率为 17%。

最近,具有更高灵敏度和更强特异性的实时荧光定量 PCR 技术(quantitative real-time PCR, qPCR)、环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)和巢式 PCR 方法也被用于甘蔗白条黄单胞杆菌的检测(Dias et al., 2018)。Garces et al. (2014)研发了靶向白条黄单胞毒素生物合成基因簇的 Taqman 探针和引物,建立 qPCR 检测方法,最低检测限达 100 CFU/mL; Dias et al. (2018)建立 LAMP 和巢式 PCR 方法,最低检测限达 10 CFU/mL。

4 甘蔗白条病病原菌遗传多样性

甘蔗白条黄单胞杆菌存在多种株系,且它们的致病力也有差异。Persley (1973)利用澳大利亚不同蔗区的白条黄单胞杆菌分离物接种 7 个甘蔗品种,发现这些株系间存在不同的致病力。Champoiseau et al. (2006)和 Huerta-Lara et al. (2009)也分别报道法国瓜德罗普和墨西哥蔗区的白条黄单胞杆菌分离物的致病性存在多样性。Rott et al. (1986)以留尼汪岛、布基纳法索和瓜德罗普 3 个地理来源的白条黄单胞杆菌分离物制备抗体,并采用裂解噬菌体和间接免疫荧光技术研究病原菌的分型,结果发现 11 个国家的 28 个分离物可被划分成 6 种不同裂解噬菌斑类型和 3 种不同血清学类型。Rott et al. (1994)将来自 28 个不同国家或地区的 215 个白条黄单胞杆菌的分离物也划分成 3 种不同血清学类型,即来自澳大利亚、美国、法国瓜德罗普岛、印度、毛里塔尼亚和南非的菌株种群为血清学反应类型 I,这个类型分布最广;来自非洲的菌株种群为血清学反应类型 II;来自亚洲斐济、斯里兰卡和加勒比群岛的菌株种群为血清学反应类型 III。另外,Alvarez et al. (1996)根据单克隆抗体血清学反应和 DNA 指纹模式将全球 38 个白条黄单胞杆菌菌株划分为 3 个主要组群和 8 个亚组群。Davis et al. (1997)采用基因组 DNA 限制性内切酶多态性和脉冲场凝胶电泳(pulsed field gel electrophoresis, PFGE)图谱分析方法鉴定出 54 种甘蔗白条黄单胞杆菌单倍型和 8 个 PFGE 组群(A~H); Pieretti et al. (2012)报道全球有 10 个 PFGE 组群(A~J)。在我国甘蔗白条病致病菌的遗传变异程度较小,属于同一个株系或组群 PFGE-B,与法国 GPEPC73、GPEPC17、GPEPC86、MTQ032 菌株和美国 XaFLO7-1 菌株同源性较高,达 99.5%~100.0% (Lin et al., 2018; Ntambo et al., 2019)。

利用分子生物学技术探析甘蔗白条黄单胞杆菌

遗传多样性和基因型分型也是一个重要手段。如利用重复序列 PCR 指纹分析技术不仅可以对白条黄单胞杆菌分离物的遗传多样性进行研究,同时也可以将白条黄单胞杆菌与其它甘蔗病原菌和内生菌区分开(Lopes et al., 2001);另外,随机扩增多态性 DNA 和扩增片段长度多态性分子标记(Permaul et al., 1996; Shaik et al., 2009)、基于病原菌看家基因的多位点序列分析(Champoiseau et al., 2006; Pieretti et al., 2009; Ntambo et al., 2019)等技术在病原菌遗传多样性上的研究也有应用。随着微生物基因组测序技术的发展和大量微生物基因组数据的公布,利用全基因组水平的基因扫描和等位基因信息对菌种进行序列分型,即核心基因组多位点序列分型,进一步提高了菌种分型的精确度和准确性。

5 甘蔗白条病病原菌致病性机理

黄单胞菌属一般都有胞外多糖,能产生黄胶原。胞外多糖主要有荚膜多糖和脂多糖等,它不仅对细菌外壁结构起保护作用,还作为一种毒力因子参与寄主植物与病原菌的互作,与黄单胞菌属细菌的致病性有关。另外,大多数黄单胞菌具有 III 型分泌系统(type III secretion systems, T3SS),是由过敏反应和致病性基因簇(hypersensitive response and pathogenicity, Hrp)所编码的,能够将效应蛋白或毒力因子运输到宿主细胞中。但是,白条黄单胞杆菌没有 Hrp 编码的 III 型分泌系统,而且不产生黄原胶(Rott et al., 2011)。白条黄单胞杆菌有与动物病原菌相似的 III 型分泌系统,它由毒力岛 1(pathogenicity islands 1, SPI-1)编码,但其作用机制尚不清楚(Marguerettaz et al., 2011)。

白条黄单胞杆菌不仅可以侵入植物原生木质部和后生木质部,还可以侵入韧皮部、薄壁组织以及叶片薄壁细胞(Mensi et al., 2014),其侵入甘蔗木质部后,通过产生白条黄单胞毒素,阻断叶绿体分化,导致甘蔗出现白色条纹(Birch & Patil, 1983)。白条黄单胞毒素基因的缺失会减弱其致病性,这也是该病菌表现出潜伏期或系统侵染的关键因素(Birch & Patil, 1987)。通过插入 Tn5 转座子突变方法发现白条黄单胞毒素的合成与病原菌基因组中的 2 个基因簇(69 kb 左右)有关(Rott et al., 1996; Wall & Birch, 1997)。在甘蔗白条黄单胞杆菌菌株 XaFL07-1 的 *XALc_0557(OmpA1)* 基因中插入若干个 EZ-Tn5 转座子后,病原菌的致病性及其在叶片的定殖会受到影响(Fleites et al., 2013)。白条黄单胞杆菌基因组

比黄单胞菌属中的其它菌株(5 Mb左右)小,其致病机制与木质部难养菌 *Xylella fastidiosa* 类似,该菌基因组具有2个中间短回文的重复序列系统,其间隔序列与噬菌体相关的DNA序列相似,有助于白条黄单胞杆菌在甘蔗木质部导管环境中与产生噬菌体的细菌共生时获得竞争优势(Pieretti et al., 2012)。

虽然白条黄单胞杆菌的寄主或组织特异性的决定因素仍不清楚,但其基因组中存在着具有特定特征的细胞壁降解酶,可能与其在木质部的传播能力和致病性有关。白条黄单胞杆菌的所有细胞壁降解酶均含有一个纤维素结合域和一个长的链接区域,以帮助病原菌利用细胞壁降解产物提高其在甘蔗木质部导管中的传播能力(Pieretti et al., 2012)。这些酶也可能被用于破坏甘蔗的纹孔膜,从而促进细菌在植物体中的移动和扩散。因此,这些细胞壁降解酶也被认为是毒力因子(Roper et al., 2007; Chatterjee et al., 2008; Pérez-Donoso et al., 2010)。白条黄单胞杆菌可能通过一种细胞质膜蛋白 TonB 系统为 TonB 依赖型转运体提供能量,运输由细胞壁降解酶产生的降解产物,从而促进病原菌在甘蔗木质部营养不良的条件下传播(Rott et al., 2011)。Pieretti et al. (2012)通过细菌基因组学和抑制性差减杂交相结合方法发现,ABC转运蛋白基因、氧化还原酶基因、接受甲基趋化蛋白基因等20个基因可能是白条黄单胞杆菌的致病基因。

6 甘蔗白条病病害主要防控措施

6.1 抗病种质挖掘与新品种选育

轻工业部甘蔗糖业科学研究所(1985)和 Lin et al. (2018)报道多数甘蔗属中国种 *Saccharum sinense* 抗白条病,而多数热带种 *S. officinarum* 和大茎野生种 *S. robustum* 感白条病。因此,可以探索从甘蔗野生种质资源材料中筛选出优良的抗病种质,通过远缘杂交,导入抗性遗传物质,创新抗病甘蔗新种质、新材料。另外,应重视在甘蔗杂交育种实践中的抗病亲本选择和组合配置。从美国引进的 LCP85-384、Ho95-988 和 HoCP96-540 和从我国台湾省引进的新台糖 22 号等品种可以作为抗病亲本。此外,针对由于品种单一化、遗传同质性而导致的品种抗病性丧失问题,利用抗病品种的合理布局是防治甘蔗病害最经济有效的措施之一。本课题组利用白条黄单胞菌人工接种抗性鉴定方法,初步筛选出一些抗病的甘蔗新品种(系),如桂糖 40 号、桂糖 44 号、桂糖 08-120、桂糖 08-1589、柳城 07-150、粤甘 46 号、粤甘

50 号、云蔗 11-3898、云蔗 08-1609 等,这些品种(系)可为生产应用和品种布局提供参考。

甘蔗白条病田间接种鉴定方法主要有剪叶法和截头法,前者是用蘸有菌体悬浮液的剪刀将甘蔗幼苗叶尖剪去,具有快速、方便的优点,适合于侵染性病害病原菌的柯赫氏法则验证试验(Lin et al., 2018);后者是剪去甘蔗植株生长点以上蔗梢,用菌体悬浮液滴到伤口处,该方法适合于病原菌的致病性测定和甘蔗品种的抗病性评价,具有较强的实践应用价值(Patro & Rao, 2006; Rott et al., 2011)。截头法适宜的接种时期是甘蔗伸长期的初期阶段。Gutierrez et al. (2016)利用以 *TaqMan* 为探针的 qPCR 检测方法分析甘蔗植株叶片白条黄单胞杆菌病原菌含量与植株病害严重度之间的相关性,用植株体内病原菌的含量高低来评价甘蔗品种的抗病性。

6.2 加快抗病分子育种步伐

现代甘蔗栽培种为高度杂合的异源多倍体和非整倍体植物,遗传背景复杂,传统的有性杂交育种方法存在育种周期长、效率低等问题,抗病分子标记辅助选择技术和基因工程技术的出现解决了传统杂交育种所面临的问题,如澳大利亚学者从甘蔗白条病叶分离出生防菌分散泛菌 *Pantoea dispersa*, 并从该生防菌中克隆到白条黄单胞毒素的解毒基因 *albD*, 将其导入到甘蔗品种 Q63 中,转 *albD* 基因的甘蔗植株在接种白条黄单胞杆菌后,叶片未出现铅笔状的褪绿症状(Zhang & Birch, 1997; Zhang et al., 1999; Birch, 2001); Gutierrez et al. (2018)以抗病品种 LCP85-384 和感病品种 L99-226 杂交获得的 89 个无性系后代为遗传群体,采用 1 948 个简单重复序列、基因编码区的简单重复序列和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)单剂量标记的连锁情况构建分子图谱,筛选出了 8 个数量性状基因定位位点,解释了 5.23%~16.93% 的表型方差,另外 3 个 SNP 标记解释了 16.00% 的表型方差。但是将抗病分子标记和转基因分子育种手段培育的抗病品种在实践上应用尚需时日。

6.3 切断病害传播途径

甘蔗白条病主要通过感病的无性繁殖种苗、种茎进行长距离传播。采用脱毒健康种苗作为繁育材料可以有效切断白条病的传播途径,生产、繁殖和推广脱毒健康种苗是防治甘蔗白条病的一种有效措施。健康种苗脱毒的主要途径有茎尖组培脱毒和蔗种温水处理脱毒,如 Ricaud & Ryan (1989)研究结果表明,蔗种常温水浸泡 24 h 后,再用 50℃ 温汤浸种

2~3 h 可以有效去除甘蔗白条黄单胞杆菌。甘蔗白条病还可以通过砍刀等收获工具进行机械传播,因此,不同田块之间的砍收工具可以用 5%~10% 福尔马林或来苏尔等药液进行表面消毒,防止交叉感染。

6.4 加强隔离检验检疫

20 世纪 80—90 年代,甘蔗白条病在我国广东、福建和台湾等主要蔗区已普遍发生。随着我国甘蔗优势产区逐渐西移至广西和云南省(区),目前该病害在这 2 个省(区)蔗区零星发生(Lin et al., 2018; Zhang et al., 2019)。为解决甘蔗育种存在的亲本遗传基础狭窄这一问题,从 20 世纪 50 年代初开始,我国大陆各甘蔗育种单位频繁地从台湾省及美国、澳大利亚等国家或地区引进甘蔗新种质材料,极大丰富了我国甘蔗亲本的遗传基础,但是由于当时检疫程序不健全和病原菌检测方法不灵敏,引种的同时也增加了甘蔗白条病这一检疫性病害的传播风险,因此,建立灵敏、准确、快速的检测和监测技术体系对防止甘蔗白条黄单胞杆菌跨区域传播非常必要。

6.5 主要栽培防控措施

甘蔗残茬中的病原菌是白条病害重要的初侵染源之一。甘蔗收获后,需要及时对蔗田内的病株残茬进行处理。该病害在低温、水浸、干旱等环境下易暴发,在栽培管理过程中需要重视蔗田排灌系统的布置,降低田间湿度。另外,测土配方施肥,多使用有机肥增加土壤肥力,与其它作物进行间套种或轮作等措施可以有效控制甘蔗白条病发生(李文凤等, 2017)。化学药剂也可以有效地防控甘蔗白条病,尤其在发病初期及时选用 1 000~1 200 倍液的 77% 可杀得 2000 可湿性粉剂、3 500 倍液的 72% 农用硫酸链霉素、500 倍液的 50% 代深铵水剂、4 000 倍液的新植霉素、350 倍液的 14% 络氨铜水剂等药剂进行喷施,可有效防止甘蔗白条病的发生与流行(李瑞美, 2016)。

7 展望

白条病是甘蔗三大主要细菌性病害之一,目前我国两大甘蔗主产区——广西壮族自治区和云南省的几个县市蔗区有零星发生,这将对我国蔗糖产业的健康发展构成潜在威胁(Zhang et al., 2017; Lin et al., 2018; Zhang et al., 2019)。目前虽然我国蔗区甘蔗白条黄单胞杆菌的菌株遗传变异较小,可能只存在一种株系,属于 PFGE-B 组群,该组群的株系是 20 世纪 80 年代末 90 年代初在美国佛罗里达、墨西哥、多米尼加共和国以及加勒比海东部的瓜德鲁普

岛曾经暴发流行的株系(Lin et al., 2018);该 PFGE-B 组群株系也于 20 世纪 90 年代后期在古巴蔗区暴发(Diaz et al., 2001)。根据甘蔗白条病的传播和发病流行特性,我国蔗区存在该病害暴发流行的风险,其可能成为我国主要的甘蔗病害,应当引起高度重视,加强病害发生流行规律及监测防控技术的研究。

选育抗病品种是防控作物病害最经济有效的措施。现代甘蔗栽培种的遗传背景复杂且与环境条件互作效应大,极大增加了甘蔗抗病品种选育的难度(梁姗姗等, 2017)。甘蔗白条病潜伏期的长短和病害严重度的表现因甘蔗品种、生长环境和病原株系不同会有所差异,这也阻滞了常规甘蔗抗病育种的进程(Ricaud & Ryan, 1989; Gutierrez et al., 2018)。目前虽然抗病分子标记和转基因分子育种手段在培育甘蔗抗白条病品种方面取得了一定进展,但是在甘蔗生产实践上的推广应用还有一定差距,提升甘蔗抗病分子育种水平迫在眉睫。另外,随着高通量测序技术的不断发展和完善,利用多组学联合研究白条黄单胞杆菌致病机理及其与寄主甘蔗互作的分子机制对探索病害防控新策略具有重要指导意义。

参 考 文 献 (References)

- Alvarez AM, Schenck S, Benedict AA. 1996. Differentiation of *Xanthomonas albilineans* strains with monoclonal antibody reaction patterns and DNA fingerprints. *Plant Pathology*, 45(2): 358–366
- Barnabas L, Ramadass A, Amalraj RS, Palaniyandi M, Rasappa V. 2015. Sugarcane proteomics: an update on current status, challenges, and future prospects. *Proteomics*, 15(10): 1658–1670
- Birch RG. 2001. *Xanthomonas albilineans* and the antipathogenesis approach to disease control. *Molecular Plant Pathology*, 2(1): 1–11
- Birch RG, Patil SS. 1983. The relation of blocked chloroplast differentiation to sugarcane leaf scald disease. *Phytopathology*, 73: 1368–1374
- Birch RG, Patil SS. 1987. Correlation between albicidin production and chlorosis induction by *Xanthomonas albilineans*, the sugarcane leaf scald pathogen. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 30(2): 199–206
- Champoiseau P, Daugrois JH, Pieretti I, Cociancich S, Royer M, Rott P. 2006. High variation in pathogenicity of genetically closely related strains of *Xanthomonas albilineans*, the sugarcane leaf scald pathogen, in Guadeloupe. *Phytopathology*, 96(10): 1081–1091
- Chatterjee S, Almeida RP, Lindow S. 2008. Living in two worlds: the plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. *Annual Review of Phytopathology*, 46: 243–271
- Comstock JC, Irey MS. 1992. Detection of the leaf scald pathogen, *Xanthomonas albilineans*, using tissue blot immunoassay, ELISA, and isolation techniques. *Plant Disease*, 76(10): 1033–1035
- Daugrois JH, Boissie-Noc R, Champoiseau P, Rott P. 2012. The revisit-

- ed infection cycle of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of leaf scald of sugarcane. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 6(2): 91–97
- Davis MJ, Rott P, Baudin P, Dean JL. 1994. Evaluation of selective media and immunoassays for detection of *Xanthomonas albilineans*, causal agent of sugarcane leaf scald disease. *Plant Disease*, 78(1): 78–82
- Davis MJ, Rott P, Warmuth CJ, Chatenet M, Baudin P. 1997. Intraspecific genomic variation within *Xanthomonas albilineans*, the sugarcane leaf scald pathogen. *Phytopathology*, 87(3): 316–324
- Diaz M, Peralta EL, Iglesias A, Carvajal O, Perez MP, Gigliotti EA, Gagliardi PR, Wendland A, Camargo LEA. 2001. *Xanthomonas albilineans* haplotype B responsible for a recent sugarcane leaf scald disease outbreak in Cuba. *Plant Disease*, 85(3): 334
- Dias VD, Fernandez E, Cunha MG, Pieretti I, Hincapié M, Roumagnac P, Comstock JC, Rott P. 2018. Comparison of loop-mediated isothermal amplification, polymerase chain reaction, and selective isolation assays for detection of *Xanthomonas albilineans* from sugarcane. *Tropical Plant Pathology*, 43(4): 351–359
- Feng J. 2017. Recent advances in taxonomy of plant pathogenic bacteria. *Scientia Agricultura Sinica*, 50(12): 2305–2314 (in Chinese) [冯洁. 2017. 植物病原细菌分类最新进展. 中国农业科学, 50(12): 2305–2314]
- Fleites LA, Mensi I, Gargani D, Zhang S, Rott P, Gabriel DW. 2013. *Xanthomonas albilineans* OmpA1 appears to be functionally modular and both the OMC and C-like domains are necessary for leaf scald disease of sugarcane. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26(10): 1200–1210
- Garces FF, Gutierrez A, Hoy JW. 2014. Detection and quantification of *Xanthomonas albilineans* by qPCR and potential characterization of sugarcane resistance to leaf scald. *Plant Disease*, 98(1): 121–126
- Gonçalves ER, Rosato YB. 2002. Phylogenetic analysis of *Xanthomonas* species based upon 16S-23S rDNA intergenic spacer sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2): 355–361
- Gutierrez A, Garces FF, Hoy JW. 2016. Evaluation of resistance to leaf scald by quantitative PCR of *Xanthomonas albilineans* in sugarcane. *Plant Disease*, 100(7): 1331–1338
- Gutierrez AF, Hoy JW, Kimbeng CA, Baisakh N. 2018. Identification of genomic regions controlling leaf scald resistance in sugarcane using a bi-parental mapping population and selective genotyping by sequencing. *Frontiers in Plant Science*, 9: 877
- Hauben L, Vauterin L, Swings J, Moore ER. 1997. Comparison of 16S ribosomal DNA sequences of all *Xanthomonas* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47(2): 328–335
- Honeycutt RJ, Sobral BW, McClelland M. 1995. tRNA intergenic spacers reveal polymorphisms diagnostic for *Xanthomonas albilineans*. *Microbiology*, 141(Pt12): 3229–3239
- Hoy JW, Grisham MP. 1994. Sugarcane leaf scald distribution, symptomatology, and effect on yield in Louisiana. *Plant Disease*, 78(11): 1083–1087
- Huerta-Lara M, Rojas-Martínez RI, Bautista-Calles J, Reyes-Lopez D, Becerril-Herrera M, Romero-Arenas O, Franco-Mora O, Jimenez-Garcia D, Aragon-Garcia A, Simon-Baez A. 2009. Genetic and pathogenic diversity of *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, in Mexico. *Research Journal of Biological Sciences*, 4(3): 312–319
- Institute of Sugarcane Science, Ministry of Light Industry. 1985. Sugarcane cultivation in China. Beijing: China Agriculture Press, pp. 431–432 (in Chinese) [轻工业部甘蔗糖业科学研究所. 1985. 中国甘蔗栽培学. 北京: 中国农业出版社, pp. 431–432]
- Klett P, Rott P. 1994. Inoculum sources for the spread of leaf scald disease of sugarcane caused by *Xanthomonas albilineans* in Guadeloupe. *Journal of Phytopathology*, 142(3): 283–291
- Leyns F, de Cleene M, Swings JG, de Ley J. 1984. The host range of the genus *Xanthomonas*. *Botanical Review*, 50(3): 308–356
- Li RM. 2016. Occurrence regularity and control of *Xanthomonas albilineans* in chewing cane. *Fujian Agricultural Science and Technology*, (6): 18–19 (in Chinese) [李瑞美. 2016. 甘蔗白条病的发生规律与防治措施. 福建农业科技, (6): 18–19]
- Li WF, Shan HL, Huang YK, Zhang RY, Cang XY, Yin J, Wang XY, Luo ZM. 2017. Epidemic dynamics and control strategies of important sugarcane diseases in rainy and high wet seasons. *Sugar Crops of China*, 39(2): 75–77 (in Chinese) [李文凤, 单红丽, 黄应昆, 张荣跃, 仓晓燕, 尹炯, 王晓燕, 罗志明. 2017. 多雨高湿季甘蔗重要病害发生流行动态与防控策略. 中国糖料, 39(2): 75–77]
- Li XY, Sun HD, Rott P C, Wang JD, Huang MT, Zhang QQ, Gao SJ. 2018. Molecular identification and prevalence of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* causing red stripe of sugarcane in China. *Plant Pathology*, 67(4): 929–937
- Liang SS, Luo Q, Chen RK, Gao SJ. 2017. Advances in researches on molecular biology of viruses causing sugarcane mosaic. *Journal of Plant Protection*, 44(3): 363–370 (in Chinese) [梁姗姗, 罗群, 陈如凯, 高三基. 2017. 引起甘蔗花叶病的病原分子生物学进展. 植物保护学报, 44(3): 363–370]
- Lin LH, Ntumbo MS, Rott PC, Wang QN, Lin YH, Fu HY, Gao SJ. 2018. Molecular detection and prevalence of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of sugarcane leaf scald, in China. *Crop Protection*, 109: 17–23
- Long H, Li YN, Li FR, Xu L. 2010. Advances in the taxonomy of phytopathogenic *Xanthomonas*. *Plant Protection*, 36(5): 11–15 (in Chinese) [龙海, 李一农, 李芳荣, 徐浪. 2010. 植物病原菌黄单胞菌的分类研究进展. 植物保护, 36(5): 11–15]
- Lopes SA, Damann KE, Hoy JW, Grisham MP. 2001. Infectivity titration for assessing resistance to leaf scald among sugarcane cultivars. *Plant Disease*, 85(6): 592–596
- Lu GD, Li CC, Pan CZ, Zhang XB. 1997. Sugarcane diseases in China, 4(4): 19–23 (in Chinese) [鲁国东, 黎常窗, 潘崇忠, 张学博. 1997. 中国甘蔗病害名录. 甘蔗, 4(4): 19–23]
- Marguerettaz M, Pieretti I, Gayral P, Puig J, Brin C, Cociancich S, Poussier S, Rott P, Royer M. 2011. Genomic and evolutionary features of the SPI-1 type III secretion system that is present in *Xanthomonas albilineans* but is not essential for xylem colonization and symptom development of sugarcane leaf scald. *Molecu-*

- lar Plant-Microbe Interactions, 24(2): 246–259
- Martin JP, Robinson PE. 1961. Leaf scald.//Martin JP, Abbott EV, Hughes CO. Sugarcane diseases of the world. Volume I. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, pp.79–107
- Mensi I, Vernerey MS, Gargani D, Nicole M, Rott P. 2014. Breaking dogmas: the plant vascular pathogen *Xanthomonas albilineans* is able to invade non-vascular tissues despite its reduced genome. *Open Biology*, 4(2): 130116
- Ntambo MS, Meng JY, Rott PC, Royer M, Hong Lin LH, Zhang HL, Gao SJ. 2019. Identification and characterization of *Xanthomonas albilineans* causing sugarcane leaf scald in China using multi-locus sequence analysis. *Plant Pathology*, 68: 269–277
- Pan YB, Grisham MP, Burner DM. 1997. A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of sugarcane leaf scald disease. *Plant Disease*, 81(2): 189–194
- Pan YB, Grisham MP, Burner DM, Legendre BL, Wei Q. 1999. Development of polymerase chain reaction primers highly specific for *Xanthomonas albilineans*, the causal bacterium of sugarcane leaf scald disease. *Plant Disease*, 83(3): 218–222
- Patro TSSK, Rao GVN. 2006. Reaction of sugarcane clones to leaf scald disease incited by *Xanthomonas albilineans*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 36(2): 241–243
- Pérez-Donoso AG, Sun Q, Roper MC, Greve LC, Kirkpatrick B, Labavitch JM. 2010. Cell wall-degrading enzymes enlarge the pore size of intervessel pit membranes in healthy and *Xylella fastidiosa*-infected grapevines. *Plant Physiology*, 152(3): 1748–1759
- Permaul K, Pillay D, Pillay B. 1996. Random-amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis shows intraspecies differences among *Xanthomonas albilineans* strains. *Letters in Applied Microbiology*, 23(5): 307–311
- Persley GJ. 1973. Pathogenic variation in *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, the causal agent of leaf-scald disease of sugarcane. *Australian Journal Biological Sciences*, 26(4): 781–786
- Pieretti I, Royer M, Barbe V, Carrere S, Koebnik R, Cociancich S, Couloux A, Darrasse A, Gouzy J, Jacques MA, et al. 2009. The complete genome sequence of *Xanthomonas albilineans* provides new insights into the reductive genome evolution of the xylem-limited Xanthomonadaceae. *BMC Genomics*, 10: 616
- Pieretti I, Royer M, Barbe V, Carrere S, Koebnik R, Couloux A, Darrasse A, Gouzy J, Jacques MA, Lauber E, et al. 2012. Genomic insights into strategies used by *Xanthomonas albilineans* with its reduced artillery to spread within sugarcane xylem vessels. *BMC Genomics*, 13: 658
- Ricaud C, Ryan CC. 1989. Leaf scald.//Ricaud C, Egan BT, Gillaspie AG, Hughes CG. Disease of sugarcane major disease. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, pp. 39–58
- Roper MC, Greve LC, Warren JG, Labavitch JM, Kirkpatrick BC. 2007. *Xylella fastidiosa* requires polygalacturonase for colonization and pathogenicity in *Vitis vinifera* grapevines. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(4): 411–419
- Rott P, Arnaud M, Baudin P. 1986. Serological and lysotypical variability of *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, causal agent of sugarcane leaf scald disease. *Journal of Phytopathology*, 116(3): 201–211
- Rott P, Davis MJ. 2000. Leaf scald.//Rott P, Bailey RA, Comstock JC, Croft BJ, Saumtally AS. A guide to sugarcane diseases. Montpellier: CIRAD Publication Services, pp. 38–44
- Rott P, Davis MJ, Baudin P. 1994. Serological variability in *Xanthomonas albilineans*, causal agent of leaf scald disease of sugarcane. *Plant Pathology*, 43(2): 344–349
- Rott P, Fleites L, Marlow G, Royer M, Gabriel DW. 2011. Identification of new candidate pathogenicity factors in the xylem-invading pathogen *Xanthomonas albilineans* by transposon mutagenesis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(5): 594–605
- Rott PC, Costet L, Davis MJ, Frutos R, Gabriel DW. 1996. At least two separate gene clusters are involved in albicidin production by *Xanthomonas albilineans*. *Journal of Bacteriology*, 178(15): 4590–4596
- Saddler GS, Bradbury JF. 2015. *Xanthomonas*. Bergey's manual of systematic of archaea and bacteria. John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust. pp. 1–53
- Shaik R, Pillay D, Pillay B. 2009. Amplified fragment length polymorphisms reveal genetic differentiation among strains of *Xanthomonas albilineans*. *Journal of Microbiological Methods*, 76(1): 43–51
- Wall MK, Birch RG. 1997. Genes for albicidin biosynthesis and resistance span at least 69 kb in the genome of *Xanthomonas albilineans*. *Letters in Applied Microbiology*, 24(4): 256–260
- Wang ZK, Comstock JC, Hatziloukas E, Schaad NW. 1999. Comparison of PCR, BIO-PCR, DIA, ELISA and isolation on semiselective medium for detection of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of leaf scald of sugarcane. *Plant Pathology*, 48(2): 245–252
- Young JM, Park CD, Shearman HM, Fargier E. 2008. A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas*. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(5): 366–377
- Zhang L, Birch RG. 1997. The gene for albicidin detoxification from *Pantoea dispersa* encodes an esterase and attenuates pathogenicity of *Xanthomonas albilineans* to sugarcane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(18): 9984–9989
- Zhang L, Xu J, Birch RG. 1999. Engineered detoxification confers resistance against a pathogenic bacterium. *Nature Biotechnology*, 17(10): 1021–1024
- Zhang RY, Shan HL, Li WF, Cang XY, Wang XY, Yin J, Luo ZM, Huang YK. 2017. First report of sugarcane leaf scald caused by *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson in the province of Guangxi, China. *Plant Disease*, 101(8): 1541
- Zhang RY, Wang XY, Shan HL, Li J, Li WF, Cang XY, Luo ZM, Yin J, Huang YK. 2019. Identification and phylogenetic analysis of *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson based on multiple gene sequences in Yunnan Province, China. *Sugar Tech*, <https://doi.org/10.1007/s12355-019-00713-0>

(责任编辑:张俊芳)