

国外向日葵菌核病的研究进展

侯亚光,王钰杰,赵 君

(内蒙古农业大学 农学院,内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:对国外向日葵菌核病的抗病育种、向日葵的抗性机制、核盘菌的致病机理以及向日葵菌核病防治方面的研究进行了综述,以期我国的向日葵菌核病的研究和防治提供参考。

关键词:向日葵;菌核病;研究进展

中图分类号:S565.5

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)09-0092-03

向日葵又名朝阳花,属菊科的高秆作物。目前在中国的栽培面积仅次于大豆和油菜。近年来由于各向日葵产区作物结构单一,轮作倒茬困难,使得向日葵病害如菌核病、霜霉病、黄萎病、锈病、褐斑病、黑斑病、黑茎病等大面积发生。因此为了更好地控制我国向日葵主产区菌核病的发生,就国际上向日葵菌核病的研究概况进行综述,以期我国的向日葵菌核病的研究和防治提供参考。

1 向日葵抗菌核病育种

1.1 向日葵菌核病的抗病育种

向日葵菌核病是由核盘菌侵染而引起的一种向日葵的主要病害。按照侵染部位及症状可以分为根茎腐、茎腐和盘腐3种。其中根茎腐是由菌核萌发形成菌丝后侵染根茎部引起,茎腐和盘腐是由菌核萌发形成子囊盘后释放出的子囊孢子侵染而引起的。向日葵菌核病抗性的遗传机制比较复杂,据国内外报道,该性状是数量性状,受多基因控制,具水平抗性特点,其抗性可遗传给子代。目前国际上向日葵抗菌核病育种主要集中在抗性材料的鉴定和利用近等基因系(Recombinant inbred lines (RILs))定位并克隆抗性 QTL 这两个方面。据1988年第十一届国际向日葵会议记载各国育成的向日葵品种中只有 R-924, Sunbred277, Sunbred₂₈₁, VIDOC, BLUMIX 等5个品种是耐菌核病的,同年前苏联学者利用具有抗菌核病基因的野生向日葵作为亲本,选育出对各种菌核病类型都有抗性的两个品种 BNP₁₆₀ 和 BHP₆₄₁。2005年美国的 USDA-ARS 资助多个地区进行了商用杂交向日葵品种对菌核病抗性鉴

定。85个杂交种及4个待检品种分别种植在5个不同的地区并进行人工接种(茎腐)。85个供试杂交种茎腐发病率介于8%~71%,表现出连续的由抗到极度感病的症状类型,其中杂种 HA 412 x RHA 409 最为抗病。2008年美国 Rashid 研究小组利用400份向日葵育种材料对盘腐病的抗性进行了鉴定,其中20份对菌核病呈现抗性。Khalid 等人鉴定出起源于 *H. maximiliani* 的7个家系和起源于 *H. nuttallii* 的6个家系对菌核病呈现出免疫的症状^[1]。Jan C C 等人利用耐病品种 HA 410 和向日葵的野生种 *H. californicus* 及 *H. schweinitzii* 配制组合,通过人工接种鉴定其后代对根茎腐的抗性水平,结果表明 F₁ 后代对茎腐的抗性优于亲本 HA410。同时他们还在种间配制组合 *Californicus* 2376 × HA 410, *Schweinitzii* 2404 × HA 410, *Schweinitzii* 2405 × HA 410 和 *Schweinitzii* 2415 × HA 410, 并鉴定出这些组合的 F₁ 后代对根茎腐和盘腐的抗性均优于亲本 HA 410。因此通过和野生向日葵种进行杂交可以将一些抗性基因整合到耐病品种 HA 410 中,从而达到提高向日葵对菌核病的抗性水平的目的^[2]。抗性 QTL 的定位是抗性基因克隆的前提和基础,目前向日葵菌核病的抗性 QTLs 的定位工作已经有很多报道。Yue 等人将向日葵盘腐病的抗性 QTLs 通过美国的2个亲本 HA 441 和 RHA 439 配置的群体进行了定位,其中7个抗性 QTLs 对盘腐严重度的贡献率介于8.4%~34.5%,其中5个 QTLs 出现在不同的定位结果中,每个 QTL 对抗性的贡献率为12.9%^[3]。随后, Bert 等人利用亲本 FU 和 PAZ2 配制的150个 F₂₋₃ 家系将菌核病的7个抗性 QTLs 和黑胫病的4个抗性 QTLs 分别定位在向日葵遗传图谱上^[4]。向日葵菌核病的茎腐型的2个抗性 QTLs 也通过 NDBLOSxCM625 配制的 F₃ 家系定位在第8和16条染色体上,它们对抗性的贡献率分别达到34.2%和26.5%^[5]。向日葵抗性 QTLs 的定位将为抗性 QTL 的克隆和通过

收稿日期:2010-07-02

基金项目:国家向日葵现代产业技术体系建设资助项目(nycytx-21)

第一作者简介:侯亚光(1986-),男,内蒙古自治区锡林浩特市人,硕士,从事植物病理学研究。

通讯作者:赵君(1969-),内蒙古自治区包头市人,博士,教授,从事分子植物病理学研究。E-mail:zhaojun02@hotmail.com。

转基因手段将抗性 QTLs 聚合到目的向日葵品系中,增加向日葵对菌核病的抗性水平提供了可能。此外,Radwan O S 等人从 284 241 个向日葵品种 *Helianthus annuus* 的 EST 序列中找到了 630 个富含 NBS-LRR 域的候选基因。这些候选 NBS-LRR 基因被定位到向日葵遗传图谱的 167 个 NBS-LRR 基因簇区域,这些位点推测对向日葵菌核、锈病等具有广谱的抗性^[6]。

1.2 向日葵抗性机制的研究

向日葵抗性机制的研究将为向日葵抗病育种提供理论基础。对于向日葵菌核病,由于自然界抗性资源的缺乏限制了抗性机制的研究,但是向日葵耐菌核病的研究仍然在进行中。草酸是核盘菌侵入向日葵过程中的一个主要的致病因子。草酸(OA)的分泌量和核盘菌的致病力有非常密切的关系,而草酸氧化酶(OXO)可以将 OA 转化为过氧化氢和二氧化碳,从而降低核盘菌的致病力。因此在向日葵中过量表达 OXO 基因可以增强向日葵对菌核病的抗性^[7]。此外,核盘菌还影响向日葵叶片细胞中代谢产物的积累。通过对向日葵和核盘菌的互作研究,发现核盘菌侵染向日葵的子叶时,其叶片细胞中的糖和蛋白的含量降低 85%,而甘露醇的量却大大增加^[8]。在耐病和感病的向日葵品种上,在利用电镜观察核盘菌的子囊孢子对花盘的侵入时发现耐病品种 HA302 可以通过细胞程序性死亡、细胞壁成分的改变和酚类物质的积累限制子囊孢子的侵入,而在感病品种中这些反应不是很明显,从而使得病原菌得以扩展和蔓延^[9]。此外,向日葵锈菌侵染向日葵后,抗病品种细胞内的病程相关蛋白、 β -1,3 葡聚糖酶、几丁质酶、苯丙氨酸解氨酶、水杨酸的活性均有显著的提高^[10]。

2 核盘菌的致病机制的研究

核盘菌的致病机制的研究目前主要集中在草酸(Oxalic acid, OA)与细胞壁降解酶(Cell-wall-degrading enzymes, CWDEs)两个方面。Max-Well 等人从核盘菌侵染的大豆组织中检测到草酸盐的存在^[11-12];确定了草酸是核盘菌主要的致病因子^[13]。核盘菌分泌草酸的致病机制包括草酸直接在侵入部位形成酸性环境,从而有利于细胞壁降解酶如 PG 酶(酸性酶)的活性,进而降解寄主植物的细胞壁;其次,草酸还作为核盘菌分泌的一种毒素直接对寄主细胞造成毒害;最后,草酸可以整合寄主细胞壁中的钙离子,从而抑制钙离子介入的植物防卫反应的建立。最近 Stephen 等人的研究结果表明,草酸可以通过抑制寄主植物的活性氧的爆发而抑制寄主植物防卫反应体系的建立,从而有利于病原菌在侵入部位的扩展^[14]。核盘菌的另一个主要的治病因子是多聚半乳糖糖

酸酶。多聚半乳糖糖酸酶(PG: Polygalacturonase)是核盘菌分泌的重要的果胶酶,它们能降解存在于高等植物的胞间层与初级细胞壁中的逆酯化的果胶酸盐聚合物。Lumsden 等人在用核盘菌接种菜豆 12 h 后,检测到 PG 的活性,24 h 后 PG 酶的活性达到高峰^[14],证明 PG 酶的活性和核盘菌的侵染有一定的相关性。Chen W D 等人正在通过农杆菌介导的 T-DAN 插入研究核盘菌的致病因子时发现了 4 个候选致病基因^[16]。此外,还有研究表明,核盘菌中的 *acp1* 基因,编码一种酸性蛋白酶,在病斑扩展的过程中能够大量表达^[17]以及调控核盘菌 pH 水平的 *Pac1* 基因也是核盘菌致病过程中不可缺少的致病因子^[18]。

3 向日葵菌核病的防治

目前国际上对向日葵病害特别是菌核病的防治的研究主要集中在两个方面:

3.1 生物防治

由于生物防治对环境不造成污染,因此是国外菌核病防治的首选措施。目前的研究表明,一种非致病菌尖孢镰刀菌产生的环孢素 a 可以抑制核盘菌菌丝的生长和菌核的形成,因此可以利用环孢素 a 作为生防制剂控制菌核的形成^[19];此外,具有拮抗作用的假单胞菌 [*Pseudomonas* spp. (DF-41 and PA-23)] 的 2 个不同的菌株被证明对核盘菌的子囊孢子初期的萌发具有很好的抑制作用^[20]。一种生防制剂 La_2O_3 , 在浓度为 30~450 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可以在田间和室内液培的条件下有效抑制核盘菌的生长^[21]。荧光假单胞菌 PA23 分泌的抗生素吩嗪-1-羧酸在 PA23 对菌核病的致病过程中没有发挥其功能,但在生防菌形成生物膜过程中具有重要的功能^[22]。

3.2 药剂防治

对于菌核病,Rashid K Y 的研究小组在 2003 年通过田间药效试验发现在开花早期喷施 1 次 BASF 510、乙烯菌核利(Ronilan)、苯菌灵(Benlate)、氟啶胺(Fluazinam)和托布津可以使向日葵盘腐发病率减少 63%~85%,产量增加 34%;而喷施 2 次托布津尽管对盘腐的发病率降低较少,但却使得产量增加 25%^[23]。还有研究表明速克灵可以有效防治菌核病并且其药效持续的时间可达 21 d^[24]。

总之,向日葵菌核病是目前国内外影响向日葵生产主要病害,其高大的植株给药剂防治带来了很大的困难。通过传统的遗传育种方法结合基因工程手段培育出抗菌核病的向日葵新品种将是未来防治向日葵菌核病的一种主要手段。因此,抗病育种结合一定的农业栽培措施如调整播期、大小垄种植等和生物防治将成为未来控制向日葵菌核病的综合防控措施中的主要手段。

参考文献:

- [1] Rashid K Y, Seiler G J. Updates on epidemiology and resistance to Sclerotinia head rot in wild sunflower species[C]// Proceedings of the National Sclerotinia Initiative of the USA, USA. :Minneapolis, MN, 2006.
- [2] Feng J, Seiler G J, Gulya T J, et al. Advancement of pyramiding new Sclerotinia stem rot resistant genes from *H. californicus* and *H. schweinitzii* into cultivated sunflower[C]//National Sclerotinia Initiative Annual Meeting, USA. :Minneapolis, MN, 2007.
- [3] Yue B, Radi S A, Vick B A, et al. Identifying quantitative trait Loci for Resistance to Sclerotinia head rot in two USDA sunflower germplasms[J]. Phytopathology, 2008, 98 (8): 926-931.
- [4] Bert P F, Dechamp-Guillaume C, Serre F, et al. Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) 3. Characterisation of QTL involved in resistance to Sclerotinia sclerotiorum and Phoma macdonaldi[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109 (4): 865-874.
- [5] Micic Z, Hahn V, Bauer E, et al. Identification and validation of QTL for Sclerotinia midstalk rot resistance in sunflower by selective genotyping [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111(2): 233-242.
- [6] Radwan O, Gandhi S, Heesacker A, et al. Genetic diversity and genomic distribution of homologs encoding NBS-LRR disease resistance proteins in sunflower[J]. Mol Genet Genomics, 2008, 280(2): 111-125.
- [7] Vacher S, Cotton P, Fevre M. Characterization of a SNF1 homologue from the phytopathogenic fungus Sclerotinia sclerotiorum[J]. Gene, 2003, 310: 113-121.
- [8] Jobic C, Boisson A M, Gout E, et al. Metabolic processes and carbon nutrient exchanges between host and pathogen sustain the disease development during sunflower infection by Sclerotinia sclerotiorum[J]. Planta, 2007, 226(1): 251-265.
- [9] Rodriguez M A, Venedikian N, Bazzalo M E, et al. Histopathology of Sclerotinia sclerotiorum attack on flower parts of *Helianthus annuus* heads in tolerant and susceptible varieties[J]. Mycopathologia, 2004, 157(3): 291-302.
- [10] Mohase L, Vander Westhuizen A J, Pretorius Z A. Induced defence responses and rust development in sunflower[J]. South African Journal of Science, 2006, 102 (3-4): 144-150.
- [11] Maxwell D P, Lumsden R D. Oxalic acid production by Sclerotinia sclerotiorum in infected bean and in culture[J]. Phytopathology, 1970, 60: 1395-1398.
- [12] Lumsden R D, Dow R L. Histopathology of Sclerotinia sclerotiorum infection of bean [J]. Phytopathology, 1973, 63: 708-715.
- [13] De Bary A. Ueber einige Sclerotinia and Sclerotinia krankheiten [J]. Botany 1986, 44: 377-474.
- [14] Cessna S G, Sears V E, Dickman, M B, et al. Oxalic acid, a pathogenicity factor for Sclerotinia sclerotiorum, suppresses the oxidative burst of the host plant[J]. Plant Cell, 2000, 12(11): 2191-2200.
- [15] Lumsden R D. Pectolytic enzymes of Sclerotinia sclerotiorum and their location in infected bean [J]. Can J Bot, 1976, 54: 2630-2641.
- [16] Chen W D, McPhee K, Vandemark G, et al. Searching for genetic determinants of pathogenicity in Sclerotinia sclerotiorum [C]//NDSU/USDA-ARS, Sclerotinia Initiative Annual Meeting, USA. :Bloomington, MN, 2009
- [17] Poussereau N, Creton S, Billon-Grand G, et al. Regulation of acp1, encoding a non-aspartyl acid protease expressed during pathogenesis of Sclerotinia sclerotiorum[J]. Microbiology, 2001, 147(3): 717-726.
- [18] Rollins J A. The Sclerotinia sclerotiorum pac1 gene is required for sclerotial development and virulence[J]. Mol. Plant-Microbe Interact, 2003, 16: 785-795.
- [19] Rodriguez M A, Cabrera G, Godeas A, et al. Cyclosporine A from a nonpathogenic Fusarium oxysporum suppressing Sclerotinia sclerotiorum[J]. J Appl Microbiol, 2006, 100 (3): 575-586.
- [20] Savchuk S, Fernando W G. Effect of timing of application and population dynamics on the degree of biological control of Sclerotinia sclerotiorum by bacterial antagonists[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2004, 49(3): 379-388.
- [21] Zhang J, Cheng H, Gao Q, et al. Effect of lanthanum on growth and biochemical property of Sclerotinia sclerotiorum[J]. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao, 2000, 11(3): 382-384.
- [22] Selin C, Habibian R, Poritsanos N, et al. Phenazines are not essential for Pseudomonas chlororaphis PA 23 biocontrol of Sclerotinia sclerotiorum, but do play a role in biofilm formation[J]. FEMS Microbiol Ecol. 2010, 71 (1): 73-83.
- [23] Rashid KY. Fungicides to control Sclerotinia head rot in sunflower [C]//Proceedings of the National Sunflower Association of the USA, USA: Fargo, ND, 2006.
- [24] Ronicke S, Hahn V, Vogler A, et al. Quantitative Trait Loci Analysis of Resistance to Sclerotinia sclerotiorum in Sunflower[J]. Phytopathology, 2005, 95(7): 834-839.

Current Progress on the Study of Sunflower Sclerotinia wilt in the World

HOU Ya-guang, WANG Yu-jie, ZHAO Jun

(Agronomy College of Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010018)

Abstract: In this paper, the aboard progress on the study of sunflower sclerotinia wilt was reviewed on the sunflower resistance breeding, the resistant mechanism, the pathogenicity mechanism of *Sclerotinia Sclerotiorum*, and the integrate control of Sunflower Sclerotinia wilt. Hopefully, it would provide useful reference for Sunflower Sclerotinia wilt researchers.

Key words: sunflower sclerotinia wilt; research progress