

文章编号: 1007-9084(2001)03-0066-03

植物细菌性青枯病抗性的分子标记研究与育种潜力

廖伯寿, 许泽永, 姜慧芳

(中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉 430062)

摘要: 细菌性青枯病危害多种作物, 抗病育种是病害防治最为可行的途径, DNA 分子标记研究是深化作物青枯病抗性遗传改良的重要方面。本文从茄科作物青枯病抗性分子标记、模式植物拟南芥青枯病抗性遗传研究和花生青枯病抗性生物技术改良的应用潜力等方面, 评述植物青枯病抗性的分子标记研究进展及其应用潜力。

关键词: 细菌性青枯病; 茄科植物; 花生; 拟南芥; 分子标记

中图分类号: S435.652 **文献标识码:** A

在世界范围内, 植物青枯菌 *Ralstonia solanacearum* 可侵染 40 多个科 200 多种植物, 其寄主范围之广仅次于农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*)。 *R. solanacearum* 引起的青枯病是番茄、马铃薯、花生、烟草、辣椒、茄子、生姜、香蕉等许多农作物重要的生产限制因素, 世界各地均有分布。植物青枯病是一种典型的土传细菌性病害, 虽然不同植物在不同环境条件下的症状和危害程度表现若干差异, 但共同特点是细菌从植株根部侵入, 通过增殖和一系列生化活动破坏寄主维管束输导组织, 导致植株失水枯萎, 一些作物还存在青枯菌的潜伏侵染和危害现象。多数农作物一旦受青枯菌侵染而表现枯萎症状, 即基本失去产量或经济价值, 经济损失很大。作为土传性病害, 植物青枯病难于以化学方法进行有效防治, 较长周期的轮作对病害防治有一定作用, 但受到耕地面积的限制, 因此培育和应用抗病品种是迄今防治各种作物青枯病最有效的途径。

传统的抗青枯病育种方法是以适宜侵染压力(包括自然病圃侵染和人工接种)下的群体存活率作为青枯病抗性评价的关键指标。受病原菌系分化和环境条件等因素的影响, 青枯病抗性表现的稳定性普遍较差, 抗性选择需要大规模的试验和多年多点鉴定。随着 DNA 分子标记技术的建立和发展, 各种作物青枯病抗性的鉴定和遗传改良研究正在向分子水平扩展。

1 茄科作物青枯病抗性的分子标记

1.1 茄科蔬菜的青枯病抗性

茄科植物受青枯病危害最重, 涉及的作物种类最多, 从世界范围内的寄主植物看, 有关青枯病研究工作开展最多的也是茄科植物, 尤其以番茄和马铃薯青枯病的研究最为普遍, 其次为烟草。但是茄科蔬菜类及马铃薯作物等目前发现的青枯病抗性种质较少而且抗性水平不高, 抗性表现受环境影响较大, 抗病品种选育受到限制, 是国内外面对的一大难题^[1, 2]。在番茄中至今没有发现显性寡基因控制的青枯病抗性^[3], 已有抗性种质的抗性多表现为数量遗传特性, 抗性位点多造成了抗性遗传的复杂性。

1.2 番茄的青枯病抗性分子标记

目前关于植物青枯病抗性分子标记的报道主要是对番茄的研究。尽管番茄栽培品种之间的 DNA 多态性不高, 但番茄具备良好的遗传系统, 易于操作^[4, 5]。在番茄的青枯病抗性研究中, 既发现了广谱性位点, 也发现了对某些菌系具有专化性的抗性位点。Danesh 等研究认为在番茄第 6、7、10 染色体上

收稿日期: 2001-06-29

基金项目: 国家自然科学基金课题(30070521)

作者简介: 廖伯寿(1963-), 男, 四川邻水人, 研究员, 国际花生青枯病工作网首席专家, 从事花生遗传育种和生物技术研究。

存在与青枯病抗性相关的数量性状位点^[9]。亚洲蔬菜研究与发展中心(AVRDC)Wang等研究证实了Hawaii 7996(番茄中广泛应用的抗源)在第6条染色体上的抗性标记,并发现在第3和第8条染色体上存在抗性位点,还发现了一个未定位的RAPD标记K4a^[7]。Yui等研究获得了Hawaii 7996青枯病抗性的4个RAPD标记,在99个F₂植株中鉴定出32株具有全部4个RAPD标记,其中2个标记(RA12-12450和RA12-291600)被认为与抗性主效基因连锁^[8]。Mangin等研究认为在番茄第6条染色体上至少有2个独立的位点与青枯病抗性有关^[9]。

2 模式植物拟南芥的青枯病抗性遗传基础研究

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)是一种模式植物,广泛应用于研究植物与病原微生物的互作关系。国际上已从拟南芥的不同生态型(ecotype)中鉴定和克隆出多个抗性基因^[10]。Deslandes等对拟南芥(Columbia-5)3周龄植株以青枯菌株GM11000进行根部接种,10d左右出现典型的枯萎症状,而以GM11000的无致病力突变菌株接种,未出现青枯病症状^[11]。在15个拟南芥材料中,Nd-1表现出对多数青枯菌株具有抗性。Yang等用不同的青枯菌株接种27个拟南芥生态型,也发现这些拟南芥材料均能受侵染,其中有的菌株可引起类似番茄青枯病的症状,组织分离表明青枯菌的定殖程度与枯萎症状有关^[12]。Deslandes等研究发现拟南芥位于第5条染色体上的隐性单基因RRS1控制青枯病抗性,并获得2个微卫星标记(nga76和nga129)。Ho等通过杂交分析认为,拟南芥抗青枯病材料N913对青枯菌株Ps95的抗性为单一显性位点^[13]。尽管上述研究结论尚不一致,但是关于拟南芥青枯病抗性的确认非常有意义,利用这一模式植物系统可有效地进行植物青枯病抗性基因及抗性机制的深入研究。

3 花生青枯病抗性生物技术改良的应用潜力

3.1 花生青枯病抗性种质研究

花生在青枯菌寄主植物的抗性遗传多样性中有特殊地位。到2000年,世界范围内鉴定出高抗青枯病的花生地方品种超过120个,二倍体野生花生中也发现了20多份抗青枯病材料,这是其它茄科植物不可比拟的,就数量而言,花生属植物抗性种质的遗传丰富性居青枯菌寄主植物首位。自20世纪初印度尼西亚首次发现抗青枯病花生种质以来,历经近100年,这些最早发现的抗病材料仍然具有很高的抗性(群体存活率)。与茄科作物相比,花生的青枯病抗性水平不仅更高,而且稳定性更强^[14]。

3.2 花生青枯病抗性遗传及DNA标记研究

据现有研究结果,花生青枯病抗性在遗传上受寡基因控制,如珍珠豆型花生的抗性受2对主效基因控制。育种实践表明,花生青枯病抗性容易在品种间转移,也易于从二倍体野生种转移到四倍体栽培种中,如河南省农科院和中国农科院油料所均从二倍体野生花生转移获得了抗青枯病品系。廖伯寿等研究证明花生对青枯菌潜伏侵染反应特性存在遗传分化^[14,15]。从2000年起,中国与国际半干旱研究所合作开展了花生青枯病抗性的分子标记及辅助选择技术研究,发现了不同花生抗病基因型间的AFLP和SSR多态性,建立了青枯病抗性的重组近交系(RI)群体,将用于绘制遗传连锁图谱和基因定位。花生青枯病抗性遗传基础较为简单,为分子标记的建立乃至基因的克隆提供了可行性。

3.3 花生青枯病抗性的利用潜力

由于花生在对青枯病的抗性水平、稳定性和抗性遗传基础上的特殊性,研究和分离抗性基因对于其它作物青枯病抗性改良具有重要的潜在作用,1997年在法国召开的第二届国际植物青枯病大会(IBWS)对此提出了倡议。通过研究建立花生青枯病抗性的分子标记,可以明确抗性基因位点,估计抗性基因作用、遗传特性及环境影响,最终克隆和分离抗性基因,对于深化花生乃至其它作物的青枯病抗性育种具有重要的理论和实用意义。国际花生青枯病工作网(GBWWG)正利用多边合作关系开展工作,以期在花生和其它植物青枯病抗性改良上取得突破。

4 展望

国际植物病理学界普遍认为,青枯菌系与相应寄主植物经历了长期共同进化的过程,青枯菌的寄主

专化性、致病性(力)和植物抗病性等存在广泛的遗传多样性,充分利用这些遗传多样性是深化病害防治的关键。相对于其它许多植物病害而言,植物青枯病抗性的 DNA 分子标记研究较少,除番茄之外,其它作物处于起步阶段。由于众多茄科作物中发现的高抗种质很少,发掘新的基因和实现不同抗性位点的聚合是提高抗性水平的重要方面。拟南芥抗青枯病基因的研究对于认识青枯病抗性的遗传基础和抗性机制有重要作用,可以相信在这一方面的研究将迅速取得进展。我国花生抗青枯病资源丰富,抗性的遗传行为较为简单,抗性 DNA 分子标记的建立必将推动花生及其它作物抗性育种的进步。

参考文献:

- [1] Aarons S R, Danesh D, Young N D. DNA genetic marker mapping of genes for bacterial wilt resistance in tomato[J]. Bacterial Wilt; ACIAR proceedings 1993, 45: 170—175.
- [2] Bertolla F, Pepin R, Passelegue—Robe E, et al. Plant genome complexity may be a factor limiting in situ the transfer of transgenic plant genes to the phytopathogen *Ralstonia solanacearum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(9): 4161—4167.
- [3] Danesh D, Aarons S, McGill G E, et al. Genetic dissection of oligogenic resistance to bacterial wilt in tomato[J]. Mol Plant—Microbe Interact, 1994, 7: 464—471.
- [4] McGarvey J A, Denny T P, Schell M A. Spatial—temporal and quantitative analysis of growth and EPS I production by *Ralstonia solanacearum* in resistant and susceptible tomato cultivars[J]. Phytopathology, 1999, 89(12): 1233—1239.
- [5] Young N D, Danesh D. Understanding bacterial wilt resistance in tomato through the use of DNA genetic markers [A]. Hayward and Hartman. Bacterial Wilt; the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum* [C]. CAB International, 1994. 145—155.
- [6] Danesh D, Young N D. Partial resistance loci for tomato bacterial wilt show differential race specificity[J]. Tomato Genetics Cooperative Report, 44: 12—13.
- [7] Wang J F, Thoquet J, Olivier J, et al. Genetic analysis of quantitative resistance loci(QRL) of tomato variety Hawaii 7996 in Taiwan[A]. Bacterial Wilt Disease; Molecular and Ecological Aspects 1998. 246—249.
- [8] Yui M, Hirai M, Nishimura S, et al. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for the selection of tomatoes resistant to bacterial wilt [J]. Bulletin of the National Research Institute of Vegetables Ornamental Plants and Tea, 1999, 14: 189—198.
- [9] Mangin B, Thoquet P, Oliver J, et al. Temporal and multiple quantitative trait loci analyses of resistance to bacterial wilt in tomato permit the resolution of linked loci[J]. Genetics, 1999, 151(3): 1165—1172.
- [10] Martin G B, Williams J G K, Tanksley S D. Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato using random primers and near— isogenic lines[J]. Proceeding of the National Academy of Sciences United States of America, 1991, 88: 2336—2340.
- [11] Deslandes L. Genetic characterization of RRS1, a recessive locus in *Arabidopsis thaliana* that confers resistance to the bacterial soilborne pathogen *Ralstonia solanacearum*[J]. Mol Plant—Microbe Interact, 1998, 11: 659—667.
- [12] Yang C, Ho G. Resistance and susceptibility of *Arabidopsis thaliana* to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*[J]. Phytopathology, 1998, 88(4): 330—334.
- [13] Ho G, Yang C. A single locus leads to resistance of *Arabidopsis thaliana* to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* through a hypersensitive— like response[J]. Phytopathology, 1999, 89(8): 673—678.
- [14] Liao Boshou. Host— plant resistance to groundnut bacterial wilt; genetic diversity and enhancement[A]. ICRISAT. Groundnut Bacterial Wilt in Asia[C]. India; ICRISAT, 1994. 91—96.
- [15] Liao Boshou. Germplasm screening and breeding for resistance to bacterial wilt in China[A]. ICRISAT. Groundnut Bacterial Wilt in Asia[C]. India; ICRISAT, 1998. 75—81.