

向贵生,张真建,王其刚,等.月季白粉病及其抗性研究进展[J].江苏农业科学,2017,45(10):9-15.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.10.003

月季白粉病及其抗性研究进展

向贵生^{1,2,3},张真建^{1,2,3},王其刚^{1,3},蹇洪英^{1,3},晏慧君^{1,3},唐开学^{1,2,3},邱显钦^{1,3}

(1. 云南省农业科学院花卉研究所,云南昆明 650205; 2. 云南大学生命科学学院,云南昆明 650091;

3. 国家观赏园艺工程技术研究中心,云南昆明 650205)

摘要:由白粉病病菌引起的白粉病害是全球切花月季生产的第一大病害,同时也是庭院月季和盆栽月季的主要病害之一。目前,月季生产上主要通过反复施用化学药剂来预防和减少该病的发生,这样不仅增加了生产成本,还造成了环境的污染和破坏。对月季白粉病的症状、发病规律及发病条件、致病机制、防治措施、品种间抗病性差异以及抗病分子水平等方面的国内外研究情况进行概述,不仅可为花卉的白粉病相关研究提供理论依据,而且可为花卉的抗病分子育种提供科学参考。

关键词:月季;白粉病;致病机制;抗病基因;抗性品种

中图分类号: S436.8⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)10-0009-07

月季(*Rosa hybrida*)被誉为花中皇后,属于蔷薇科(*Rosaceae*)蔷薇属(*Rosa*)植物。月季既可作为观赏植物,也可作为药用植物,其花容秀美、姿色多样、花香浓郁、四时常开,深受人们的喜爱^[1-2]。作为我国传统十大名花之一,月季因株型繁多、形态丰富、适应力强、便于管理而成为园林绿化的重要植物^[3]。

白粉病作为全球切花月季生产中的第一大病害,是由白粉病菌(*Podosphaera pannosa*)专性寄生于月季上导致的,同时也是盆栽月季和庭院月季的主要病害之一,不仅使月季的观赏价值降低,还使植株的生长受到影响^[4-6]。目前用于防治月季白粉病的手段主要是使用化学药剂和培育抗性新品种,其中化学防治具有更普遍的应用,但抗性新品种的培育具有更长远的价值^[6-7]。

伴随着栽培条件的不断改变、抗病新品种的不断培育、长期的定向选择以及杀菌剂的广泛被使用等因素的变化,月季白粉病病菌不断产生新的生理小种,从而导致抗性逐渐丧失,再加上国内外月季生产规模的不断扩大以及育种工作的逐渐开展,因此,对月季白粉病的研究还需要持续开展下去^[1,8]。本文综述了月季白粉病的概况、致病机制、防治措施、品种抗病性及抗白粉病分子水平等方面的研究进展,旨在为月季抗白粉病的研究提供理论基础。

1 月季白粉病概况

月季白粉病极为普遍,在全球范围内,无论露地栽培还是温室生产的月季均容易感染白粉病菌^[9-10]。古希腊自然科学家泰奥弗拉斯托斯在 300 个回交(BC)群体中首次对月季白粉病进行了描述^[9]。我国月季白粉病发生普遍,发病严重的地方主要有太原、苏州、兰州、重庆和昆明等地^[11]。

1.1 发病症状及危害

白粉病危害月季的叶片、嫩梢、花蕾及花梗等部位,受害部位表面布满白色粉层,这是白粉病的典型特征^[11-13]。发病初期多在叶片表面上出现白色霉点,并逐渐扩展为霉斑,在适宜条件下,迅速扩大连成一片,使整个叶面布满白色粉状物,发病后期会在白色霉斑上出现许多黑色小颗粒^[12-15]。嫩叶染病后,叶片皱缩、卷曲呈畸形,有时变成紫红色;老叶染病后,叶面出现近圆形、水渍状褪绿的黄斑,与健康组织无明显界限,叶背病斑处有白色状物,严重受害时,叶片枯萎脱落;嫩梢及花梗受害部位略膨大,其顶部向地面弯曲;花蕾受侵染后开花不正常或不能开放,花朵小而少,花姿畸形,花瓣也随之变色,大大降低了切花产量和观赏价值,连续多年发生则会严重影响植株的生长^[13-16]。

1.2 白粉病病菌的分类

传统的白粉病病菌主要是根据有性世代闭囊壳内子囊数和子囊孢子数,特别是闭囊壳外附属物的特点来分类的,而新的分类采用无性阶段和有性阶段相结合的方法^[4,17-21]。月季白粉病的病原菌有性阶段为子囊菌亚门(*Ascomycotina*)核菌纲(*Pyrenomycetes*)白粉菌目(*Erysiphales*)白粉菌科(*Erysiphaceae*)叉丝单囊壳属(*Podosphaera*)白粉菌,无性阶段为粉孢属(*Oidium*)^[6,11,19,21-22]。

1.3 白粉病病菌的形态

月季白粉病病菌菌丝体在寄主表面发育,利用吸器伸入植物表皮细胞内吸取营养。显微镜下观察发现其分生孢子梗短,直立生长在菌丝上,顶端着生分生孢子,孢子无色,卵圆形或桶形,5~10 个串生(图 1-A),分生孢子大小为(23~

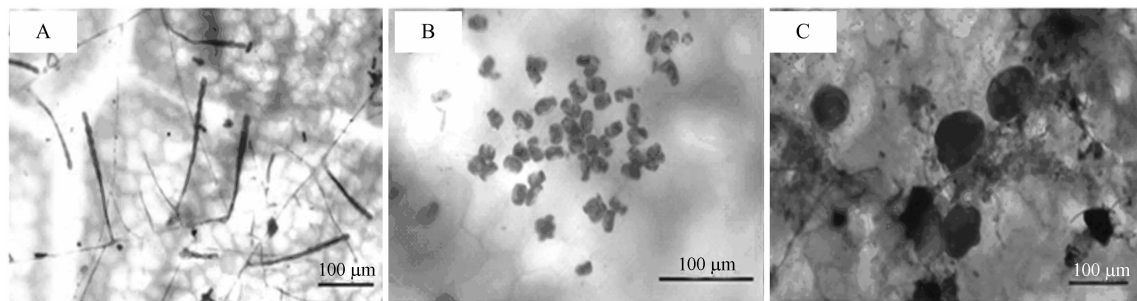
收稿日期:2016-11-01

基金项目:国家自然科学基金(编号:31560565、31160403);国家科技支撑计划(编号:2015BAD10B01);云南省应用基础研究计划(编号:2014FB158);云南省中青年学术技术带头人后备人才培养项目(编号:2015HB078)。

作者简介:向贵生(1992—),男,四川巴中人,硕士研究生,主要从事月季抗病遗传研究。E-mail:xianggs1981@163.com。

通信作者:唐开学,博士,研究员,主要从事月季遗传育种研究, E-mail:kxtang@hotmail.com;邱显钦,博士,研究员,主要从事月季抗病遗传育种研究, E-mail:xianqin711@hotmail.com。

29) $\mu\text{m} \times (14 \sim 16) \mu\text{m}$ (图 1-B); 闭囊壳球形或扁球形, 暗褐色, 大小为 $90 \sim 110 \mu\text{m}$, 附属丝生于闭囊壳中央或者顶端, 暗棕色, 有隔膜, 刚直, 少且短, 顶端叉状分枝 $2 \sim 6$ 个; 闭囊壳内生 1 个子囊, 子囊宽椭圆形至球形, 大小为 $(80 \sim 100) \mu\text{m} \times (60 \sim 75) \mu\text{m}$ (图 1-C); 子囊中有 8 个子囊孢子, 无色, 椭圆形, 大小为 $(20 \sim 27) \mu\text{m} \times (12 \sim 15) \mu\text{m}$ [11,22]。寄主的品种不



A—分生孢子梗和串生分子孢子; B—分生孢子; C—子囊

图1 光学显微镜下月季白粉病菌的形态

1.4 发病规律及发病条件

温度和湿度对月季白粉病的发生有重要的影响。Spencer 研究表明, 蔷薇白粉病病菌分生孢子萌发的最低、最适、最高温度分别为 $3 \sim 5$ 、 21 、 $33 \text{ }^{\circ}\text{C}$ [23], 而张喜萍等研究表明, 月季白粉病分生孢子萌发的最低、最适、最高温度分别为 4 、 15 、 $33 \text{ }^{\circ}\text{C}$ [26]。夜间温度较低 ($15 \sim 16 \text{ }^{\circ}\text{C}$)、湿度较高 ($90\% \sim 99\%$), 有利于孢子萌发及侵入; 白天气温高 ($23 \sim 27 \text{ }^{\circ}\text{C}$)、湿度较低 ($40\% \sim 70\%$), 则有利于孢子的形成及释放, 在这种条件下可预见白粉病在 $3 \sim 6 \text{ d}$ 后发生 [10-11]。一般温度在 $2 \sim 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度在 $23\% \sim 99\%$ 时, 白粉病病菌都可以发生危害; 并且环境温度在 $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、湿度为 $97\% \sim 99\%$ 的条件下, 病菌孢子 $2 \sim 4 \text{ h}$ 就能萌发, 3 d 左右就又能形成新的孢子, 但当温度在 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上时则受到抑制 [10-11,27-28]。Xu 研究发现, 当温度为 $10 \sim 28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 白粉病的潜伏期为 $4 \sim 10 \text{ d}$ [29]。露地栽培月季每年春季的 $5 \sim 6$ 月和秋季的 $9 \sim 10$ 月为发病严重期, 温室栽培可周年发生 [10-11,14,30]。分生孢子和菌丝体对极度高温和阳光直射十分敏感, 一些研究表明, 植物表面的水分可以使孢子的生存能力降低, 从而削弱病原菌的传染; 但也有研究表明, 在接种后的 6 h 内, 湿润的叶片表面孢子的萌发情况并没有受到抑制 [31-32]。

白粉病病菌一般在温暖、干燥或潮湿的环境中易发病, 降雨则不利于病害发生; 氮肥施加过多, 土壤缺少钙肥或钾肥时易发生该病; 植株种植过密, 通风透光不良, 发病严重; 温度变化剧烈, 花盆土壤过于干等, 使寄主细胞膨压降低, 都将减弱植物的抗病能力, 而有利于病害的发生; 灌水方式、时间均影响发病, 滴灌和白天浇水能抑制病害的发生 [10,16,27]。

2 月季白粉病致病机制

2.1 白粉病病菌的越冬

病害的侵染循环过程为病原物的越冬或越夏、病原物的侵入、传播及初侵染和再侵染 [32]。月季白粉病病菌越冬主要有闭囊壳和菌丝体 2 种形式 (图 2)。病原菌越冬主要受温度和湿度的影响, 温暖的外界环境和雨雪多的冬季有利于病原菌的越冬。月季白粉病病菌分生孢子耐寒能力强, $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件

同, 分生孢子的大小也稍有变化 [23-24]。徐强观察了刺梨 (*Rosa roxburghii*) 杂交 F_1 代群体上的白粉病病菌, 发现其分生孢子的大小为 $(21.5 \sim 29.4) \mu\text{m} \times (12.0 \sim 16.0) \mu\text{m}$, 子囊孢子的大小为 $(3.4 \sim 5.3) \mu\text{m} \times (2.4 \sim 5.3) \mu\text{m}$, 菌丝直径为 $(2.1 \pm 0.3) \mu\text{m}$ [25]。

下也不会丧失活力 [10]。李克喜研究发现, 病原菌以菌丝体在病叶、病芽、病枝或休眠芽内越冬, 在有些地区以闭囊壳越冬, 次年以子囊孢子或分生孢子初侵染 [10]。王治田等研究发现, 露地栽培月季上的病原菌主要以菌丝体在病芽内越冬, 同时也有极少数以闭囊壳在枝刺的周围越冬, 而温室栽培月季全部以菌丝体和分生孢子越冬, 次年春季, 病菌随病芽萌发产生分生孢子或闭囊壳中形成的子囊孢子成为初次侵染源 [34]。张喜萍等研究发现, 月季白粉病是以菌丝状态在芽鳞下越冬, 成为次年的初侵染来源 [30]。

2.2 白粉病病菌的初侵染、再侵染过程

在适宜的条件下, 这些初侵染源随芽的萌动而开始活动, 分生孢子被风传播到幼嫩组织上萌发, 并通过角质层和表皮细胞壁侵入表皮细胞, 随后在表皮细胞内形成初生吸器, 从寄主摄取营养 [30-32,34-35]。这种寄生关系一旦建立, 菌丝便在寄主体外蔓延生长, 分生孢子梗在菌丝中心形成, 产生大量分生孢子, 从顶端依次成熟脱落, 借助风力传播再侵染 [34-36]。侵染点多分布在凹处, 因为凹处湿度较大, 细胞表皮叶肉较嫩, 细胞壁也较薄, 同时由于凹处角质膜较弱、蜡线分布较少, 有利于细胞扩展 [13]。

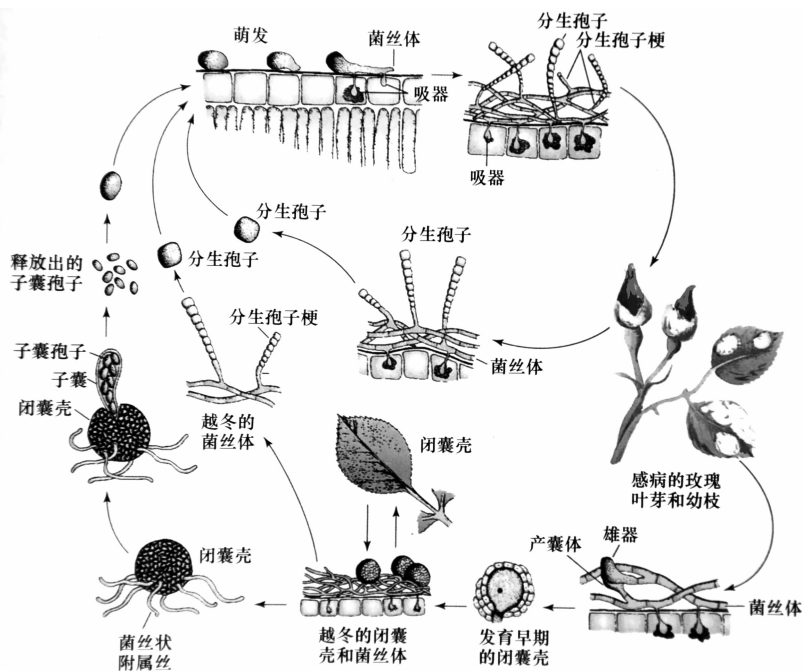
3 月季白粉病的防治措施

月季白粉病的防治措施对月季白粉病的发生有着至关重要的影响。目前, 在生产和育种工作中, 主要通过化学药剂和栽培技术来对月季白粉病的发生进行防治。

3.1 农药防治

月季白粉病的农药防治与其他作物白粉病的农药防治基本相同, 都是通过抑制病菌的生长发育如附着孢的形成或病菌的产孢, 很多化学药剂对多种白粉病具有广谱抑菌作用 [37]。20 世纪 30 年代, 用于白粉病防治的药剂种类开始增加, 到目前为止, 在生产上用于防治白粉病的药剂至少已有 7 种类型被应用, 但在各作物上所用的种类有所不同 [8,37-38]。

越冬期利用 $3 \sim 5$ 波美度石硫合剂或甲基托布津稀释液喷或涂于枝干, 地面喷硫磺粉; 发病前期选择使病菌不容易产生抗病性的药效高、低毒的生物农药喷洒, 如 BO10 乳剂、农

图2 月季白粉病病害的循环过程^[33]

抗 120、多抗霉素、克菌康等；生长季节使用粉锈宁、多菌灵、十三吗啉、丙硫菌唑、啉酰菌胺等化学农药；各种农药应交替使用，避免产生新的生理小种导致抗病性的产生^[39-42]。秋雨期和夏季湿热多雨期是发病高峰，此时施药间隔要缩短，晴天无风喷洒^[43]。李克喜研究表明，用 27% 高脂膜乳剂于发病前或发病期均匀喷于叶片的正反两面，可形成一层透光、透气的保护膜，既可防止病原菌孢子的侵入，又不影响叶片的光合作用和呼吸作用^[10]。采用硼酸 1 000 倍液喷洒病部及叶背面，既可防治病害，又可促使病后花蕾正常开放^[44]。在温室内使用 HY-电热硫磺熏蒸器将硫磺加热熏蒸，连续 2~3 d 可杀灭所有白粉病病菌，具有用药少、安全方便、费用低廉、不伤害植物、也不会使病菌产生抗药性等优点，是一种理想的施药方法^[45-46]。但长期使用化学药剂不仅会造成环境的污染和破坏，增加生产成本和鲜切花的农药残留，同时还会使植株极易产生抗药性，且抗性水平上升快^[47]。

3.2 农业防治

冬季、早春结合修剪及时剪除病枝、病芽、病叶和病梢，集中烧毁，防止病菌的传播与蔓延；初期病叶应及早摘除，同时加强栽培管理，适度进行修剪，合理密植，并与抗病性月季交替轮作，改善环境条件^[32,40-41,43-44]。温室栽培切花月季时，种植不宜过密，加强通风透光，棚内温度不宜过高，保持一定的湿度，氮肥适量，同时增施磷、钾肥^[41,43-44,48]。在病害常发期，可将大蒜捣碎制成的大蒜汁对全株进行均匀喷施，每 4~6 d 使用 1 次，可有效预防白粉病的发生。发病期间应少浇水量，若要浇水应避免大水漫灌及喷灌，最好采用滴灌并且在晴天的上午进行^[43,49-50]。雨后及时排水透风，防止湿气滞留棚内^[48-50]。若在室内进行月季盆栽，应将其放置在通风良好、光照充足的地方^[49]。冬季注意控制好室内温湿度，夜间注意通气情况^[49-50]。目前在生产上，低温时采用白炽灯补光增温和大棚保暖，高温时采用通风换气、降温等措施，并通过加温、通风和利用先进灌溉技术来控制湿度，从而防止白粉病的发

生与发展^[8,46,51]。无论是在温室生产还是露地栽培，将月季与夹竹桃 (*Nerium indicum*) 或蓖麻 (*Ricinus communis*) 进行间种，可有效降低月季白粉病的发生。

Suthaparan 等研究发现，在配备有汞灯的生长室内，每天人工光源 18~24 h，可以显著抑制白粉病的发生^[52]；同时在黑暗期间将月季暴露于 1.2 W/m² 的 UV-B 荧光灯下 2~5 min 基本上可以抑制白粉病的发生，且对月季没有损伤^[53]。Gadoury 研究表明，将月季暴露于 1.2 W/m² 的 UV-B 荧光灯下 5 min 或 0.1 W/m² 的 UV-B 荧光灯下 1 h，基本上可以减少白粉病的危害且没有显著药害^[54]。直接暴露于紫外线辐射下抑制月季白粉病分生孢子萌发呈剂量依赖性，紫外线辐射是通过抑制真菌生长和活化宿主防御系统来抑制白粉病的发生^[55]。Elsharkawy 等研究发现，特定浓度的纳米二氧化硅和硅藻土能使白粉病发病程度显著降低^[56]。

4 月季品种的抗病性

不同类型月季对白粉病抗性存在差异，一般无刺、藤本、多花品种较抗病，如无刺野蔷薇 (*R. multiflora*)、安吉拉 (*R. 'Angela'*)、冰山 (*R. 'Iceberg'*)。白粉病病菌的生理小种存在高度的多样性，并且不同地区的白粉病病菌生理小种具有显著的差异性^[57-58]。对某个或者某几个特定的月季白粉病病菌生理小种进行抗白粉病育种，培育出的月季新品种的优点在于对特定白粉病病菌生理小种具有垂直抗白粉病特性，抗性单一，但大量引种后，却很难长时间保持较高的抗性水平，其原因可能是病原菌不断产生新的生理小种从而克服相应月季品种的白粉病抗性^[23,59]。为了得到具有持久水平抗性的月季品种，最有效的方法是获得高抗以及免疫的月季白粉病种质资源或筛选具有普遍的抗白粉病的生理小种的月季新品种，并通过杂交育种和基因工程等技术手段将抗白粉病相关基因引入到现代月季狭小的基因库中去^[57]。但也有研究表明，月季对白粉病的抗性既有水平抗性，也有垂直抗

性。水平抗性由多个基因控制,垂直抗性由 1 个显性抗性基因控制^[60]。

4.1 诱导产生抗白粉病的组织病理学和生理生化机制

植物在长期的进化过程中,形成了极其复杂的抗病机制,这并不依赖于病原菌的侵染而存在于植物。当病原菌侵染植物后会引起植物一系列的修饰和变化,从而抵御病原菌的危害^[58,61-63]。

当白粉病病菌侵染叶片后,侵入部位叶片的紫锥菊多酚和硫基丙氨酸等内含物的积累是月季抗白粉病的主要原因^[12,64]。Hajlaoui 等发现,月季植株对白粉病的抗性是由于在病原菌的吸器颈部形成了一圈纤维素环和乳头状突起,从而阻碍了病原孢子的萌发^[65]。Ferrero 等研究表明,抗病植株比感病植株的角质层蒸腾速率慢^[66]。Dewitte 等在乳头状突起形成和诱导细胞反应过程中检测到 H_2O_2 的产生^[67]。包颖发现野蔷薇感、抗病材料的叶片组织结构存在差异,并且在接种的叶片组织中都观察到了胼胝质的积累,但仅在感病叶片中观察到菌丝和乳突状突起;同时也发现几丁质酶、苯丙烷代谢途径及其产生的衍生物在野蔷薇抗白粉病过程中起重要作用^[47]。徐强发现,当刺梨受白粉病病菌侵染时,菌丝周围的 H_2O_2 迅速积累,被侵染部位也观察到了胼胝质的积累,几丁质酶和葡聚糖酶的表达水平在接种前后也差异显著;同时还提出了一种新的抗白粉病途径——光呼吸,即在白粉病病菌与寄主的互作过程中,3 个与光呼吸相关的重要基因 *ChrRBCs*、*ChrRBCA*、*ChrSGT* 表达量明显上调^[25]。

闫亚杰等研究比较了不同月季品种在白粉病胁迫下叶片中抗氧化酶及丙二醛(MDA)含量的变化,结果表明抗病品种能对白粉病菌作出敏感反应,清除活性氧的能力也强^[68]。王蕴红通过研究白粉病抗性与超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、丙二醛和可溶性蛋白(SPR)含量变化的关系,发现 SOD、POD 活性及 MDA 含量的变化构成月季对白粉病病原菌的主动抗性机制,而 SPR 含量与月季对白粉病抗性之间并没有明显关系^[24]。刘端凤等对野蔷薇抗白粉病的相关信号途径研究表明:茉莉酸甲酯(MeJA)、水杨酸(SA)均能诱导野蔷薇白粉病抗性,进一步说明了水杨酸和茉莉酸(JA)信号途径与野蔷薇白粉病抗性之间的关系^[69]。

4.2 抗病鉴定与评价

目前,关于月季白粉病的抗性鉴定与评价研究已经取得了很大的进展。Mence 等从弗吉尼亚蔷薇(*R. virginiana*)上分离出的白粉病孢子对玫瑰(*R. rugosa*)有很强的侵染力但对其他大部分品种的侵染能力却很弱^[70]。黄善武等从 400 多个月季品种中调查发现只有少数品种是抗病的;同时通过有性杂交的方法对后代进行评价,结果表明白粉病的抗性是可以遗传的^[71-72]。侯丹等发现明星月季最抗白粉病^[73-74]。张喜萍等筛选出 5 个免疫品种^[75]。Radilova 将从月季上分离的 12 个单孢子接种到不同的寄主来观察其防御反应,共鉴定出 4 个月季抗白粉病生理小种^[76]。Yan 对四倍体月季分离群体进行人工接种白粉病,发现月季白粉病的抗性具有较大范围的变异^[77]。李荣等发现 2 个切花月季品种的抗白粉病能力较强^[78]。张斌利用高墙压枝技术种植法发现,20 个切花月季中只有 2 个高抗品种^[51]。Leus 等将接种在温室生长的月季苗栽种于室外自然条件下和原条件下感染白粉病,并

对其抗白粉病的能力进行分析,发现温室和室外之间的抗白粉病能力显著相关,为月季抗白粉病的早期防御和育种提供了依据^[79]。

李卉等采用摩擦法对 46 个现代月季进行接种试验,发现 7 个品种对白粉病的抗性最强,同时对品种病情指数进行方差分析发现月季品种间对白粉病抗性的差异显著^[80]。张颢等采用田间合离体接种白粉病孢子的方法对 14 个月季种质资源进行了抗性鉴定^[1]。罗乐对 48 个月季品种的抗白粉病能力进行评价,结果表明 3 个品种的抗白粉病能力最好,同时也发现古老月季的抗病稳定性比现代月季品种好^[81]。华晔等对 50 个野生种进行田间接种鉴定,结果表明 50 份野生资源中有 6 个免疫野生蔷薇种^[82]。纪程等对 22 个中国古老月季品种进行田间离体鉴定,发现在古老月季资源中存在部分抗白粉病品种^[83]。Qiu 等采用田间和室内接种方法,对来自蔷薇属 9 个组的不同种质资源进行了白粉病抗病性鉴定,分析结果表明,芹叶组(*Pimpinellifoliae*)、金樱子组(*Laevigatae*)和木香组(*Banksianae*)的大部分材料抗病性较强^[84]。这些筛选的抗病品种在生产上可直接用作育种材料或者直接应用于花卉生产^[24,58]。

5 月季抗白粉病分子水平研究

选择抗病基因和抗病相关基因是培育月季抗性品种的基础和关键,但目前月季白粉病相关方面的研究报道较少;伴随着分子生物学的不断发展,对月季白粉病抗病基因、抗病相关基因和抗病基因的功能研究会不断深入,并且会有更多的基因被分离和鉴定出来^[36,85]。

5.1 抗病基因的遗传连锁图谱构建

Debener 等利用随机扩增多态性 DNA(RAPD)和扩增片段长度多态性(AFLP)标记对二倍体月季进行标记,研究了二倍体月季的抗病基因和基因图谱构建,并建立了第一个包含 300 个标记的二倍体月季的遗传连锁图谱^[86-87]。Dugo 等利用 130 个 RAPD 标记、2 个简单重复序列(SSR)标记和 1 个形态标记对二倍体月季进行了遗传图谱构建和数量性状座位(QTL)分析,定位到 2 个抗白粉病位点,这为月季抗白粉病的后续研究提供了有用的资源^[88]。Yan 等利用 AFLP、SSR、蛋白激酶(PK)、抗病基因同源物或类似物(RGA)、限制性内切酶片段长度多态性(RFLP)、序列特异性扩增区(SCAR)和形态标记构建了全长大约 500 cM、包含 271 个标记的遗传连锁图谱,该图谱是目前标记密度最多的、基因组覆盖范围最广的月季遗传图谱,对月季 QTL 作图和标记辅助育种提供了有力的遗传工具^[89]。Hosseini 等对二倍体月季杂交后代构建包含 20 个 AFLPs、43 个 SSRs 和 2 个形态标记的遗传连锁图谱,在 4 条连锁群上共检测到 9 个 QTLs,这些位点对特异性致病性抗性的研究和发展是有益的,同时对病原菌生理小种的进一步研究提供了重要的依据^[90-91]。

5.2 抗病基因的定位与分析

Debener 等应用 SSR 等标记扩建了月季的遗传图谱,将抗月季白粉病基因 *Rspl* 定位于 3 号连锁群上^[92]。Chmelnitsky 等在月季上第一次克隆出了 *AGAMOUS* 基因的同源基因——抗白粉病基因 *RAC*^[93-94]。Linde 等对感染白粉病的回交月季品种研究发现,该品种产生 1:1 的分离比例,表

明月季白粉病是由单个显性基因控制的,并将该基因命名为 *Rpp1*,这是至今在月季上确定的第一个在遗传学意义上的抗白粉病基因;随后利用 SCAR 标记证实了 *Rpp1* 是抗白粉病 9 号生理小种的显性抗性基因,并定位到月季 A3 连锁群上 5 cM 的距离;随后对生长在 6 个不同环境中的品种进行分子标记,通过 QTL 分析证实了 3 个抗白粉病 9 号生理小种的主效应 QTLs;同时利用抗病基因类似物 (RGAs) 的 NBS - LRR 保守序列设计简并引物作为分子标记对白粉病抗性的 QTLs 进行了分析,证实了蔷薇白粉病抗性的 QTLs 和 RGAs 标记在相同的基因组区域^[6,95-96]。Kaufmann 等将从野蔷薇及其杂交后代中克隆得到的 *RhMLO1* 定位到 5 号连锁群、*RhMLO2* 定位到 3 号连锁群、*RhMLO3* 和 *RhMLO4* 同时定位到 1 号连锁群上;并对 *RhMLO1* ~ *RhMLO4* 基因的序列分析,结果发现这 4 个基因编码蛋白均有 2 个高度保守的结构域:CaMBD 结构域和 C 末端的 D/E - F - S/T - F 结构域,它们是 *MLO* 家族的新成员,同时还包含 7 个跨膜结构域 (TM)^[97]。这些基因的定位结果对利用分子标记辅助育种的开展具有至关重要的作用。

5.3 抗病基因的克隆和表达分析

Xu 等克隆了 96 个刺梨抗病基因类似物 (RGAs),发现蔷薇属的 RGA22 标记和抗白粉病的抗性基因 *Crpml* 连锁,并根据 *RGA* 基因的进化痕迹讨论了产生抗白粉病新位点的可能途径^[98];同时基于 SNPs 的 SNAP 标记开发的 23 对引物,发现标记 Glu7 和抗白粉病位点连锁^[99]。陈玲对悬钩子蔷薇 (*R. rubus*) 抗病基因同源类似物 (RGAs) 进行克隆和分析,共获得 28 个含有 NBS - LRR 完整结构域的抗病基因同源序列,且全部属于非 TIR - NBS - LRR 类型;从 GenBank 数据库下载蔷薇属植物 NBS 类 RGAs 序列,共获得 177 条 RGAs,43 条序列具有完整的 NBS 结构域,并筛选出 21 条抗白粉病候选基因序列;同时对悬钩子蔷薇的 4 条 RGAs 进行克隆,与已报道的 11 个 NBS 类抗病基因相应区段的氨基酸序列相似性为 5.4% ~ 79.2%,其中这 4 个 RGAs 片段与 *Mi*、*RPS2*、*Pib* 和 *RPM1* 基因聚为一类,为月季抗病候选基因的分子筛选和遗传图谱构建奠定了基础^[100-101]。

邱显钦等从野蔷薇及其杂交后代中分离出 *MLO* 的同源基因 *RmMLO*,发现其在感病叶片中表达量最高^[102]。Kaufmann 等将克隆得到的 4 个月季白粉病抗病候选基因命名为 *RhMLO1* ~ *RhMLO4*^[97]。Qiu 等对 4 个目的基因进行时空表达分析,结果表明 *RhMLO1* 和 *RhMLO2* 基因在不同组织部位及不同胁迫中的表达模式趋于一致,两者在不同胁迫下均表现为积极响应诱导上调,并且在受白粉病病菌侵染的不同阶段均表现为表达量明显上调趋势,说明 *RhMLO1* 和 *RhMLO2* 基因有可能在月季与白粉病病菌互作的过程中扮演着重要角色^[103]。随后对 *RhMLO1* 基因进行了功能验证,结果发现正义载体的导入使转基因植株白粉病抗性降低,反义载体的导入使转基因植株白粉病抗性增强,说明 *RhMLO1* 基因在月季与白粉病病菌互作的过程中发挥着重要作用^[104]。张雪以野蔷薇的 *GADPH* 为内参基因,对差异表达的 *NDRI*、*EDS1*、*SAG101*、*ERF10*、*AB3C*、*Kinase*、*PRI*、*PR5* 等 8 个基因进行荧光定量 PCR 分析表明,发现除 *NDRI* 基因外其余 7 个基因在感病和抗病材料中被诱导表达的程度均不一样,它们可能参与

了抗病应答机制^[105]。

这些抗病基因和抗病相关基因的研究不仅有助于明确该基因在月季中的功能,还可以为培育抗病月季新品种提供候选基因,同时还为发掘利用其他有利基因奠定基础^[85,100]。

参考文献:

- [1] 张 颢,杨秀梅,王继华,等. 云南蔷薇属部分种质资源对白粉病的抗性鉴定[J]. 植物保护,2009,35(4):131-133.
- [2] 李保忠. 引进不同月季品种的分类与评价研究[J]. 现代园艺,2012(20):10.
- [3] 刘应珍,吴洪娥,金 平,等. 12 个引进月季品种的观赏性状及园林应用[J]. 贵州农业科学,2014,42(5):188-190.
- [4] 邱显钦. 月季抗白粉病基因 *Mlo* 的克隆和功能分析[D]. 武汉:华中农业大学,2015.
- [5] Kiani M, Zamani Z, Nikkha M J, et al. Screening of damask rose genotypes for powdery mildew resistance[J]. Acta Hort, 2010, 870(2):171-174.
- [6] Linde M, Debener T. Isolation and identification of eight races of powdery mildew of roses (*Podosphaera pannosa*) (Wallr. : Fr.) de Bary and the genetic analysis of the resistance gene *Rpp1* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 107(2):256-262.
- [7] 李 卉. 月季抗白粉病育种初步研究[D]. 北京:北京林业大学,2010.
- [8] 张 斌,李安答. 月季白粉病的发生及防治研究进展[J]. 贵州农业科学,2009,37(11):95-97.
- [9] Noack R. Selection strategies for disease and pest resistance[M]//Roberts A, Debener T, Gudin S, et al. Encyclopedia of Rose Science. Oxford: Elsevier Academic, 2003:286-292.
- [10] 李克喜. 月季主要病虫害的防治(一)[J]. 农村实用工程技术·温室园艺,2004(9):44-47.
- [11] 冯朝朝. 月季白粉病的发病规律及综防措施[J]. 甘肃农业科学,2002(2):46-47.
- [12] 李怀方,刘凤权,郭小密. 园艺植物病理学[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [13] 薛圆满. 切花月季白粉病的发生机理与防治方法[J]. 中国花卉盆景,2002(8):32.
- [14] 员红中. 月季常见病虫害发生及防治技术[J]. 山西林业,2007(2):33-34.
- [15] 李成伟,姚晓惠,裴冬丽,等. 几种白粉病菌的显微镜形态学分析[J]. 河南农业科学,2008(5):68-75.
- [16] 张佐双,朱秀珍. 中国月季[M]. 北京:中国林业出版社,2006.
- [17] Braun U. A monograph of the *Erysiphales* (powdery mildews) [J]. Nova Hedwigia, 1987, 89:1-700.
- [18] Braun U. The powdery mildews (*Erysiphales*) of Europe [M]. Jena: Gustav Fischer Verlag, 1995:77-78.
- [19] 刘淑艳,高 松. 白粉菌属级分类系统的讨论[J]. 菌物学报,2006,25(1):152-159.
- [20] Braun U, Takamatsu S. Phylogeny of *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uncinula* (*Erysipheae*) and *Cystotheca*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* (*Cystothecaceae*) inferred from rDNA ITS sequences - some taxonomic consequences[J]. Schlechtendalia, 2000, 4:1-33.
- [21] 郑儒年,余永年. 中国真菌杂志白粉真菌目[M]. 北京:科学出版社,1987:335-337.
- [22] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京:中国农业出版社,2001:

- 130–150.
- [23] Spencer D M. The powdery mildews [M]. San Francisoco: Academic Press, 1978: 429.
 - [24] 王蕴红. 以宽刺蔷薇为亲本的月季抗白粉病杂交育种[D]. 北京: 北京林业大学, 2013.
 - [25] 徐 强. 刺梨抗白粉病的分子机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
 - [26] 张喜萍, 龚束芳, 曲娟娟. 环境条件对月季白粉病的影响[J]. 东北农业大学学报, 2003, 31(4): 76–77.
 - [27] 李洪权. 切花月季虫害病害的防治[J]. 中国花卉盆景, 1996(8): 21.
 - [28] 李漠军. 温室切花月季主要病害的防治[J]. 中国花卉盆景, 1998(7): 6.
 - [29] Xu X M. Effects of temperature on the latent period of the rose powdery mildew pathogen, *Sphaerotheca pannosa* [J]. Plant Pathology, 1999, 48(5): 662–667.
 - [30] 张喜萍, 郭玉莲, 许修宏. 月季白粉病发生规律级初侵染来源初探[J]. 东北农业大学学报, 2003, 34(2): 231–233.
 - [31] Linde M, Shishkoff N. Powdery mildews [M]//Roberts A, Debener T, Gudín S, et al. Encyclopedia of rose science. Oxford: Elsevier Academic, 2003, 33(4): 158–165.
 - [32] 冯丽艳, 王玉霞, 刘忠巍, 等. 月季白粉病的诊断与防治[J]. 吉林蔬菜, 2014(1): 48–49.
 - [33] Agrios G N. Plant pathology [M]. Singapore: Elsevier Press, 2009.
 - [34] 王治田, 周春琴. 月季白粉病及防治措施[J]. 安徽林业, 2004(2): 29.
 - [35] 张守国, 孙秀青. 小麦白粉菌病害的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2011, 22(7): 36–38.
 - [36] 杨美娟, 黄坤艳, 韩庆典. 小麦白粉病及其抗性研究进展[J]. 分子植物育种, 2016, 14(5): 1244–1254.
 - [37] 周益林, 段霞瑜, 盛宝钦. 植物白粉病的化学防治进展[J]. 农药学报, 2001, 3(2): 12–18.
 - [38] Godwin J R, Anthony V M, Clough J M, et al. ICIA5504: a novel, broad spectrum, systemic beta – methoxyacrylate fungicide [C]//Brighton Crop Protection Conference: Pests and Disease. Brighton UK, 1992, 1: 435–442.
 - [39] 何 峰. 月季白粉病的化学防治[J]. 江西农业大学学报, 2003(增刊 1): 85–88.
 - [40] 郑丽蓉. 月季白粉病防治[J]. 云南农业, 2014(5): 74.
 - [41] 周渭栋. 月季常见病虫害的发生与防治[J]. 吉林农业, 2016(1): 96.
 - [42] 孙 芹, 王 斌, 李志念. 几种杀菌剂对月季白粉病的防治效果[J]. 北方园艺, 2016(11): 117–119.
 - [43] 马冬梅, 王卫红, 解 荣, 等. 月季白粉病的发生及其防治技术[J]. 农业与技术, 2014(7): 101.
 - [44] 孟彦贞. 月季主要病虫害发生规律及防治措施[J]. 现代农业科技, 2012(3): 236.
 - [45] 袁会珠, 戈林泉, 谷 军, 等. 温室大棚硫磺电热熏蒸技术研究[J]. 植保技术与推广, 2002, 22(11): 3–6.
 - [46] 毕先钧, 江 华. HY – 电热硫磺熏蒸器防治月季白粉病的应用研究[J]. 云南师范大学学报, 2005, 25(4): 55–56.
 - [47] 包 颖. 月季“萨曼莎”遗传转化体系建立及野蔷薇抗白粉病相关基因的表达分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
 - [48] 王华荣, 马文婷. 氮磷钾配比施肥对切花月季生长及抗白粉病的影响[J]. 宁夏农林科技, 2012, 53(9): 49–51.
 - [49] 周铁良. 月季常见病害的特点及防治对策[J]. 农家科技旬刊, 2015(6): 216.
 - [50] 曾志红. 月季常见病虫害的防治对策[J]. 花卉, 2016(4): 79–80.
 - [51] 张 斌. 贵阳设施栽培月季白粉病发生调查及治理技术研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2008.
 - [52] Suthaparan A, Stensvand A, Torre S, et al. Continuous lighting reduces conidial production and germinability in the rose powdery mildew pathosystem [J]. Plant Disease, 2010, 94(3): 339–344.
 - [53] Suthaparan A, Torre S, Mortensen L M, et al. Interruption of the night period by UV – B suppresses powdery mildew of rose and cucumber [J]. Acta Horticulturae, 2012, 956: 617–620.
 - [54] Gadoury D M. Suppression of powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in greenhouse roses by brief exposure to supplemental UV – B radiation [J]. Plant Disease, 2012, 96(96): 1653–1660.
 - [55] Kobayashi M, Kanto T, Fujikawa T, et al. Supplemental UV radiation controls rose powdery mildew disease under the greenhouse conditions [J]. Environment Control in Biology, 2014, 51(4): 157–163.
 - [56] Elsharkawy M M, Elkot G A N, Hegazi M. Management of rose powdery mildew by nanosilica, diatomite and bentocide [J]. Egyptian Journal of Pest Control, 2015, 25(3): 545–553.
 - [57] Gudín S. Rose breeding technologies [J]. Acta Hort, 2001, 547: 23–33.
 - [58] 王蕴红, 王金耀, 于 超, 等. 月季抗白粉病生理生化指标研究 [C]//中国观赏园艺研究进展. 北京: 中国林业出版社, 2013: 487–491.
 - [59] 段双科, 许育彬, 吴兴元, 等. 小麦白粉菌致病毒性和抗病基因及其抗病育种研究进展[J]. 麦类作物学报, 2002, 22(2): 83–86.
 - [60] Debener T, Byrne D H. Disease resistance breeding in rose: current status and potential of biotechnological tools [J]. Plant Science, 2014, 228: 107–117.
 - [61] 李 淮, 王 莱, 武国凡, 等. 植物抗病性的分子机制和信号传导[J]. 西北师范大学学报, 2006, 42(2): 113–117.
 - [62] 李堆淑. 植物诱导抗病性机制的研究进展[J]. 商洛学院学报, 2008, 22(2): 46–50.
 - [63] 岳 玲, 迟东明, 宋 伟, 等. 月季抗性研究进展[J]. 北方园艺, 2010(9): 225–227.
 - [64] Conti G G, Bassi M, Maffi D, et al. Host – parasite relationship in a susceptible and a resistant rose cultivar inoculated with *Sphaerotheca pannosa*. I. Fungal growth, mechanical barriers and hypersensitive response [J]. Phytopathology, 1985, 113(1): 71–80.
 - [65] Hajlaoui M R, Benhamou N, Belanger R R. Cytochemical aspects of fungal penetration, haustorium formation and interfacial material in rose leaves infected by *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* [J]. Physiological & Molecular Plant Pathology, 1991, 38(5): 341–355.
 - [66] Ferrero F, Cadour P, Guilloteau E, et al. Evaluation of the resistance to powdery mildew, *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* of rose – tree species and hybrids [J]. Acta Horticulturae, 2000(547): 47.
 - [67] Dewitte A, Leus L, Huylenbroeck J V, et al. Characterization of reactions to powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in resistant and susceptible rose genotypes [J]. Journal of Phytopathology, 2007, 155(5): 264–272.
 - [68] 闫亚杰, 耿广琴, 李 涛. 月季感染白粉病后叶片抗氧化酶活性与 MDA 含量的变化[J]. 甘肃科学学报, 2010, 22(3): 68–71.

- [69] 刘端凤,孙晓香,王媛媛. 外源激素处理下野蔷薇白粉病抗性相关基因的表达分析[EB/OL]. (2016-05-26) [2016-10-11]. [http://www. paper. edu. cn/html/releasepaper/2016/05/1318/](http://www.paper.edu.cn/html/releasepaper/2016/05/1318/).
- [70] Mence M J, Hildebrandt A C. Resistance to powdery mildew in rose [J]. *Annals of Applied Biology*, 2010, 58(2): 309-320.
- [71] 黄善武,葛红. 月季抗病资源及抗病遗传[J]. *中国花卉盆景*, 1992(10): 14.
- [72] 黄善武. 园林植物遗传育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.
- [73] 侯丹,殷显光. 蔷薇科观赏植物对白粉病的抗性及其防治简报[J]. *西北农业大学学报*, 1991, 13(5): 542.
- [74] 侯丹. 蔷薇品种对白粉病抗性调查及药剂防治[J]. *云南农业大学学报*, 1995, 10(2): 148.
- [75] 张喜萍,许修宏,龚东芳. 月季抗白粉病资源的筛选[J]. *东北林业大学学报*, 2002, 30(6): 93-94.
- [76] Radilova L. Identification of races of rose powdery mildew pathogen *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* in Belgium Bulgaria[J]. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 2004, 10: 323-327.
- [77] Yan Z, Dolstra O, Prins T W, et al. Assessment of partial resistance to powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) in a tetraploid rose population using a spore-suspension inoculation method [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2006, 114(3): 301-308.
- [78] 李荣,韩卫民,秦荣. 不同切花月季品种的引种适应性研究[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(7): 2730-2731.
- [79] Leus L, Huylenbroeck J V, Bockstaele E V, et al. Early selection of garden rose seedlings for powdery mildew resistance [J]. *European Journal of Horticultural Science*, 2008, 73(1): 5-11.
- [80] 李卉,张启翔,潘会堂,等. 月季品种抗白粉病评价[C]//中国园艺学会. 中国园艺学会观赏园艺专业委员会 2009 年学术年会. 北京: 中国林业出版社, 2009.
- [81] 罗乐. 西北三省及北京野生蔷薇属种质资源调查引种及月季抗白粉病育种研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
- [82] 华晔,邱显钦,张颢,等. 蔷薇属植物野生资源白粉病抗性鉴定[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(1): 112-114.
- [83] 纪程,邱显钦,张颢,等. 中国古老月季资源的白粉病抗性鉴定[J]. *北方园艺*, 2013(9): 146-148.
- [84] Qiu X Q, Jian H Y, Wang Q G, et al. Powdery mildew resistance identification of wild rose germplasms[J]. *Acta Horticulturae*, 2015 (1064): 329-335.
- [85] 谢吉容,程再全,唐开学,等. 月季功能基因研究与应用进展[J]. *北方园艺*, 2007(8): 65-69.
- [86] Debener T, Bartels C, Mattiesch L. RAPD analysis of genetic variation between a group of rose cultivars and selected wild rose species [J]. *Molecular Breeding*, 1996, 2(4): 321-327.
- [87] Debener T, Mattiesch L. Construction of a genetic linkage map for roses using RAPD and AFLP markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 99(5): 891-899.
- [88] Dugo M L, Satovic Z, Millan T, et al. Genetic mapping of QTLs controlling horticultural traits in diploid roses [J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111(3): 511-520.
- [89] Yan Z, Denneboom C, Hattendorf A, et al. Construction of an integrated map of rose with AFLP, SSR, PK, RGA, RFLP, SCAR and morphological markers[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 110(4): 766-777.
- [90] Hosseini M H, Leus L, Muylle H, et al. Characterisation of powdery mildew resistance in a segregating diploid rose population [J]. *Communications in Agricultural & Applied Biological Sciences*, 2007, 72(2): 295-301.
- [91] Moghaddam H H, Leus L, de Riek J, et al. Construction of a genetic linkage map with SSR, AFLP and morphological markers to locate QTLs controlling pathotype-specific powdery mildew resistance in diploid roses [J]. *Euphytica*, 2012, 184(3): 413-427.
- [92] Debener T, Mattiesch L, Vosman B. A molecular marker map for roses [J]. *Acta Horticulturae*, 2001, 547: 283-287.
- [93] Chmelnitsky I, Zieslin N, Khayat E, et al. Complete cDNA sequence encoding *AGAMOUS*-gene (*RAG*) from *Rosa* \times *Hybrida* cv. *Ilseta* [M]. *NCBI Database*, 1999.
- [94] Chmelnitsky I, Khayat E, Zieslin N. Involvement of *RAG*, a rose homologue of *AGAMOUS*, in phylloclad development of *Rosa hybrida*, cv. *Motrea* [J]. *Plant Growth Regulation*, 2003, 39(1): 63-66.
- [95] Linde M, Mattiesch L, Debener T. *Rpp1*, a dominant gene providing race-specific resistance to rose powdery mildew (*Podosphaera pannosa*): molecular mapping, SCAR development and confirmation of disease resistance data [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(6): 1261-1266.
- [96] Linde M, Hattendorf A, Kaufmann H, et al. Powdery mildew resistance in roses: QTL mapping in different environments using selective genotyping [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 113(6): 1081-1092.
- [97] Kaufmann H, Qiu X Q, Wehmeyer J, et al. Isolation, molecular characterization, and mapping of four rose *MLO* orthologs [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2012, 3(4): 244.
- [98] Xu Q, Wen X P, Deng X X. Isolation of *TIR* and non-*TIR* *NBS-LRR* resistance gene analogues and identification of molecular markers linked to a powdery mildew resistance locus in chestnut rose (*Rosa roxburghii*, Tratt) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 111(5): 819-830.
- [99] Xu Q, Wen X P, Deng X X. Cloning of two classes of *PR* genes and the development of SNAP markers for powdery mildew resistance loci in chestnut rose (*Rosa roxburghii* Tratt) [J]. *Molecular Breeding*, 2007, 19(2): 179-191.
- [100] 陈玲. 蔷薇属植物抗白粉病相关基因的克隆与评价[D]. 昆明: 云南大学, 2011.
- [101] 陈玲,张颢,邱显钦,等. 云南悬钩子蔷薇 *NBS-LRR* 类抗病基因同源克隆与分析[J]. *植物分类与资源学报*, 2012, 34(1): 56-62.
- [102] 邱显钦,包满珠,张颢,等. 野蔷薇 (*Rosa multiflora*) 抗白粉病基因 *RmMlo* 的克隆与表达分析[J]. *园艺学报*, 2011, 38(10): 1999-2004.
- [103] Qiu X Q, Jian H Y, Wang Q G, et al. Expression pattern analysis of four *Mlo* genes from rose [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2015, 140(4): 333-338.
- [104] Qiu X Q, Wang Q G, Zang H, et al. Antisense *RhMLO1* gene transformation enhances resistance to the powdery mildew pathogen in *Rosa multiflora* [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2015, 33(6): 1659-1665.
- [105] 张雪. 野蔷薇抗白粉病基因表达谱分析[D]. 武汉: 华中农业大学.