

徐彦刚,羊杏平,李良俊. 瓜类作物抗蔓枯病研究进展[J]. 江苏农业科学,2020,48(3):49-55.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.03.009

# 瓜类作物抗蔓枯病研究进展

徐彦刚<sup>1,2</sup>, 羊杏平<sup>1</sup>, 李良俊<sup>2</sup>

(1. 江苏省农业科学院蔬菜研究所, 江苏南京 210014; 2. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

**摘要:**蔓枯病是瓜类作物生产中最主要的病害之一,其发病率呈现逐年上升的蔓延趋势,对我国乃至世界瓜类产业的发展造成严重危害。该病害致病菌可附着与土壤、病残体或其他宿主进行越冬,待翌年适宜的条件刺激后进行初侵染与再侵染,从而致使该病害防控难度增加及连年发生。目前该病的主要防治手段有化学防治、生物防治及抗性育种,抗性育种最为有效和安全,而不同瓜类作物之间对蔓枯病的抗性表现多为主效基因或多基因控制的数量性状,且在蔓枯病菌侵染瓜类作物时寄主表现出相似或不同的抵御方式,其中主要包括自身固有的物理屏障和外界触发的 PTI、EPI 免疫。因此,本文通过对不同瓜类作物间抗性遗传表现及防御机制进行阐述,以期对瓜类作物抗性育种及病害防控提供指导。

**关键词:**瓜类作物;蔓枯病;致病机理;抗病育种

**中图分类号:** S436.42 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)03-0049-07

蔓枯病(gummy stem blight)是一种典型的世界性土传病害,可危害西瓜(*Citrullus lanatus*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)、甜瓜(*Cucumis melon*)、苦瓜

(*Momordica charantia*)、冬瓜(*Benincasae hispida*)、节瓜(*Benincasa hispida*)等至少 12 个属 23 种葫芦科作物<sup>[1]</sup>。自 1981 年在法国首次发现该病以来,其后一直呈现扩大蔓延的暴发趋势,而今已广泛分布于中美洲、南美洲、加勒比海、亚洲、非洲、欧洲及大洋洲等地区<sup>[2]</sup>,且病情指数在瓜类作物中呈现逐年上升的态势,造成我国乃至世界瓜类作物产业的严重损失。特别是近几年来,随着我国塑料大棚、日光温室等设施瓜类作物栽培的迅猛发展,人们长期所进行的多茬次栽培与利用,不仅造成农业生态条

收稿日期:2018-12-04

基金项目:国家西甜瓜产业技术体系(编号:CARS-26-NO.8);江苏省农业三新工程项目[编号: SXGC(2017)259]。

作者简介:徐彦刚(1992—),男,甘肃平凉人,硕士研究生,从事植物抗病育种与综合治理研究。E-mail:1340111782@qq.com。

通信作者:羊杏平,博士,研究员,从事西瓜、甜瓜育种与生物技术研究。E-mail:1394654153@qq.com。

*Leptosphaeria maculans*[J]. Fungal Biology Biotechnology, 2014, 1(1):10.

[47] Esher S K, Granek J A, Alspaugh J A. Rapid mapping of insertional mutations to probe cell wall regulation in *Cryptococcus neoformans* [J]. Fungal Genetics and Biology, 2015, 82: 9-21.

[48] Gyawali R, Zhao Y, Lin J, et al. Pheromone independent unisexual development in *Cryptococcus neoformans*[J]. PLoS Genetics, 2017, 13(5): e1006772.

[49] Daley M, Knauf V C, Summerfelt K R, et al. Co-transformation with one *Agrobacterium tumefaciens* strain containing two binary plasmids as a method for producing marker-free transgenic plants [J]. Plant Cell Reports, 1998, 17(6/7): 489-496.

[50] Padilla-Guerrero I E, Bidochka M J. *Agrobacterium*-mediated co-transformation of multiple genes in *Metarhizium robertsii*[J]. Mycobiology, 2017, 45(2): 84-89.

[51] Wang Y, DiGuistini S, Wang T C T, et al. *Agrobacterium*-mediated gene disruption using split-marker in *Grossmannia clavigera*, a mountain pine beetle associated pathogen[J]. Current

Genetics, 2010, 56(3): 297-307.

[52] de Boer P, Bronkhof J, Dukik K, et al. Efficient gene targeting in *Penicillium chrysogenum* using novel *Agrobacterium*-mediated transformation approaches[J]. Fungal Genetics and Biology, 2013, 61: 9-14.

[53] Krenek P, Samajova O, Luptovciak I, et al. Transient plant transformation mediated by *Agrobacterium tumefaciens*: principles, methods and applications [J]. Biotechnology Advances, 2015, 33(6): 1024-1042.

[54] Nødvig C S, Nielsen J B, Kogle M E, et al. A CRISPR-Cas9 system for genetic engineering of filamentous fungi[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0133085.

[55] Pohl C, Kiel J, Driessen A J M, et al. CRISPR/Cas9 based genome editing of *Penicillium chrysogenum* [J]. ACS Synthetic Biology, 2016, 5(7): 754-764.

[56] Schuster M, Schweizer G, Reissmann S, et al. Genome editing in *Ustilago maydis* using the CRISPR-Cas system [J]. Fungal Genetics and Biology, 2016, 89: 3-9.

件的恶化和植物自毒作用引发的植株生长代谢障碍与抗逆性减弱<sup>[3]</sup>,同时土壤中蔓枯病菌基数的急剧增加导致瓜类作物暴发大面积蔓枯病,造成我国设施瓜类蔬菜的蔓枯病发病率达到 80% 以上<sup>[4]</sup>。又因该病害在瓜类作物的各个生育期皆可发生,且能够对瓜类植株的不同部位进行侵染损害,以及该病原菌的寄主分布广泛及结构复杂多样<sup>[5-6]</sup>,从而严重制约了该病害的防治效应。本文就目前该领域的研究成果进行了概括与总结,并对今后瓜类作物的抗蔓枯病研究进行了展望。

## 1 瓜类蔓枯病菌的研究

### 1.1 病原菌生物特性

瓜类蔓枯病菌在形态结构和产孢方面存在较大差异,具有无性世代和有性世代 2 个部分,通常无性阶段为 *Phoma cucurbitacearum*,有性阶段为 *Didymella bryoniae*。目前,关于病原菌采用形态学命名的结果还具有一定的争议,因为该鉴别方法存在分类界限不清晰及其病原菌种间和种内差异较难辨别等问题,从而国内部分学者认为,造成瓜类作物蔓枯病的病原菌为瓜类球腔菌(*Mycosphaerella citrullina*)<sup>[7-8]</sup> [无性型蔓枯病菌(*Ascochyta citrullina*)],但 Stewart 等通过对该病原菌进行多位点序列分析(MLSA)发现,造成瓜类蔓枯病的病原菌为 *Stagonosporopsis caricae* 及其演化生成的姐妹种 *S. citrulli* 和 *S. cucurbitacearum*<sup>[9]</sup>,其中 *Stagonosporopsis citrulli* 为优势种<sup>[10-11]</sup>。在病原菌遗传特异性方面,Ronald 等通过对不同地区的蔓枯病菌进行扩增片段长度的多态性(AFLP)分析发现,该病原菌存在较低的遗传多样性<sup>[12]</sup>,并且同宗配合的有性繁殖也致使菌株的变异较小<sup>[13]</sup>;胡风云等对不同菌株间的核糖体 DNA(rDNA)内转录间隔区(rDNA-ITS)进行比较发现,不同菌株之间序列差别较小,菌株间的分化和变异不明显<sup>[14]</sup>,但不同菌株间致病力却存在显著性差异<sup>[15]</sup>。

### 1.2 发病环境及侵染规律

瓜类作物蔓枯病菌在寄主植物休眠期,通常以分生孢子器或子囊壳附着于土壤、杂草及病残体上进行越冬,或以种传方式将分生孢子与菌丝寄藏于种子的表皮、子叶和胚中,造成病害寄主-寄生之间保持着延续性<sup>[16-17]</sup>,其中种子的带菌率一般为 5%~30%,而附着于种子表面的分生孢子可存活 18 个月,以种脐寄藏于种子内部的菌丝体可存活 2

年以上<sup>[18]</sup>,因而造成该病害连年发生及防控难度增加。在寄主植物进入生长期时,附着的分生孢子器及子囊壳在外界条件的刺激下,释放分生孢子及子囊孢子对寄主植物实施初次侵染,该侵染过程中萌发的孢子从寄主气孔、水孔或伤口侵入植株体内<sup>[19]</sup>,夺取寄主植物营养及水分进行自身生长与繁殖,造成植株表现发病症状及生成的大量分生孢子或子囊孢子被释放,如此重复侵染最终导致该病害在田间迅速扩大蔓延。在蔓枯病菌引发的植株发病进程中,只有当病原菌的菌丝体成熟时才能造成植株表现出病症,子囊孢子的形成则会致使寄主植株完全败坏<sup>[20-21]</sup>。因此,从病原菌入侵寄主到其表现出发病症状为该病害的潜隐期,影响该时期的因素有环境条件、植株生长势、土壤理化性质等。如高温高湿环境最适宜蔓枯病菌的侵染与繁殖<sup>[22]</sup>,在瓜类连作<sup>[23]</sup>、生长势弱及缺磷肥、钾肥而重施氮肥的田块病情发展较迅速<sup>[19]</sup>。

### 1.3 致病相关因子

蔓枯病菌具有严格的同宗配合,无论是通过有性生殖还是无性生殖都可在宿主以单个菌株生成子实体<sup>[1,24]</sup>,其寄藏的初侵染菌源数量与存活情况在病害循环中具有重要作用<sup>[18]</sup>。当初侵染菌源与寄主植物接触时,表面分子互作和信号传递可激发初侵染菌的生理生化反应,诱导代谢生成可作用于植物体而引起致病作用的次级代谢产物,其中包括具有黏附寄主的亲和因子角质酶<sup>[25]</sup>,能够协助病原菌顺利侵入瓜类植物组织,使其寄生于植株体内汲取营养与水分进行增殖与扩展,并对寄主植物组织产生机械压力及阻碍其正常生长代谢。又因瓜类蔓枯病菌是一类兼性腐生性真菌,通常可分泌纤维素酶(Cx)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)、果胶甲酯酶(PME)、果胶酸裂解酶(PL)和 $\beta$ -半乳糖苷酶( $\beta$ -Gal)使植物细胞壁软化和解<sup>[26-27]</sup>,以达到降解消除植物抗侵染机械屏障进行营养摄取,其中多聚半乳糖醛酸酶(PG)又能够使多聚 $\alpha$ -(1,4)-聚半乳糖醛酸裂解,造成果胶降解,使植物组织细胞间失去黏合,从而更有利于病原菌在寄主坏死组织中侵染与扩展<sup>[28]</sup>。此外,Grube 等发现蔓枯病菌的菌丝体可以协助某些细菌进行快速移位,在发病机制中形成互惠效应,致使危害性剧增<sup>[29]</sup>。

## 2 瓜类蔓枯病的抗性研究

### 2.1 种质资源抗性鉴定

寄主植物在与蔓枯病菌长期的互作过程中,逐

渐形成了抵抗蔓枯病菌入侵和繁殖的能力,这种与病原菌长期协同进化所形成的遗传特性广泛存在于农作物及其近缘属种间,而作为承接该特性的抗源材料是作物品种改良与拓宽抗谱的基础。其中,瓜作物类抗蔓枯病的种质较少且多存在于瓜类作物的野生种或近缘种中,很难直接用于瓜类作物的

品种改良而被应用于农业生产中,因此对现有瓜类作物品种资源进行抗性鉴定与筛选是直接有效的利用途径。根据目前国内外发掘的抗源材料(表 1),可以进一步探索瓜类蔓枯病的遗传表现,又可通过聚合育种筛选具有优质、高抗的育种中间材料,为以后获得新的高抗性瓜类品种(系)奠定基础。

表 1 瓜类抗蔓枯病资源

瓜类种属	抗病品系	参考文献
黄瓜( <i>Cucumis sativus</i> L.)	Leningradsky、Wjarnikovsky、Rheinische Vorgebirge、PI200818、PI339241	[30]
	PI164433、PI390264、Slice、M12	[31]
	Transamerica、Homegreen #2、Poinsett76、AR79 - 75、PI390243、PI200815、LJ90430、PI432855、PI279469	[32]
	酸黄瓜、朝优 3 号、HH1 - 8 - 57、HH1 - 8 - 2	[33]
甜瓜( <i>C. melo</i> L.)	PI140471、PI266935、PI296345、PI436533	[34]
	PI157084、PI482399、PI157082、PI157080、PI482393、PI482398、PI482402、PI157076、PI482408、PI482403、PI255478、PI511890	[35]
	PI157082、PI482398、PI511890、PI482399、PI140471	[36]
	PI157076、PI420145、PI323498、PI255478、PI420147、PI618834、PI200819、PI482409、PI482402、PI164797、PI436534、PI200819、PI321004、PI470253、PI185111、PI511890、PI435345、Ames26707	[37]
	Charentais Fom 1、AC - 29、C160、PI420145、PI482398、PI532830	[38]
西瓜( <i>Citrullus lanatus</i> )	All - golden producer、All - sweet scarlet、A56、H25	[39]
	PI279461、PI482379、PI254744、PI526233、PI482276、PI271771、PI164248、PI244019、PI296322、PI490383	[40]
	Au - producer、All - sweet scarlet、Au - Jubilant	[41]
	M2K、L8K、M3SA、L3K	[37]
哈密瓜( <i>C. melo</i> var. <i>saccharinus</i> )	新蜜杂 1 号、新蜜杂 19 号	[42]

2.2 瓜类抗病性防御机制

2.2.1 机械屏障 瓜类作物通常在复杂多样的生存环境中完成其生命周期,且长期被真菌、细菌和病毒所侵袭。为此植物已进化形成了一系列完整的防御体系进行自我保护,其中包括植物自身固有的物理屏障和外界触发免疫防御,而触发性免疫主要分为病原相关分子模式触发的免疫(PTI)和效应因子触发的免疫(EPI)免疫<sup>[43-45]</sup>。当病原菌对瓜类植物实施侵染时,其表面的蜡质、角质、栓质及特殊气孔结构等可形成第 1 道物理阻挡,以减少或延缓蔓枯病害的发生<sup>[46-47]</sup>。同时,木质化组织或其他组织产生的一些亲脂化合物(如木质素等),可在植株组织外围形成 1 层保护膜阻止病原菌的侵染,也可通过钝化病原菌的生长点抑制其生长及阻碍其产生的毒素进入植物组织。戎福喜等通过对黄瓜卷叶突变体与正常野生种进行结构抗病分析发现,黄瓜植株的蜡质含量与植株的抗病性呈显著正相关,且抗病植株叶片的蜡质含量显著高于感病植株<sup>[48]</sup>。同时,不同抗性的瓜类品种间叶片气孔密度和大小、栅栏组织与海绵组织的厚度及排列也存在

较大差异,而抗病品种栅栏组织与海绵组织排列紧密整齐,栅栏组织厚度显著高于抗病品种<sup>[49]</sup>。

此外,葫芦科植物表面通常含有丰富的毛状体结构,其不仅可以使植株体减少热量的散失,增加植株对冷害的耐受性,防止紫外线对植株造成灼伤,而且还具有驱除昆虫的作用<sup>[50]</sup>。Beckman 等发现,这些球状腺毛中储藏有大量酚类化合物,然而这些小分子化合物在植物的抗性表现中具有重要的作用<sup>[51]</sup>。Rennberger 等的研究表明,瓜类蔓枯病造成的植株坏死叶面积与毛状体密度呈负相关,表现的病斑直径与毛状体长度也呈负相关,其防御过程中释放出的酚类物质所形成的荧光面积与植株叶片坏死面积和病斑直径呈显著正相关<sup>[52]</sup>。因此,植物经过长期的自然选择所形成的这种结构性防御体系,不仅可以阻碍蔓枯病原菌的侵入、定殖与扩展,同时还可协助植物抵抗大部分病原物的侵染。

2.2.2 PAMP/DAMP - 激活免疫(PAMP/DAMP - triggered immunity,简称 PTI) 瓜类植株与病原菌长期的协同进化,不仅形成了上述被动的机械防御屏障,同时也形成了一系列主动适应的防卫机制。

无论是抗病还是感病的植株都具有一定的非特异性防卫反应(即基础防卫反应),当病原菌绕过植株的机械屏障进入组织内部,穿透以纤维素为基础的细胞壁到达寄主质膜时,病原菌所特有的保守分子物质(PAMPs)或植物损伤所产生的相关物质(DAMPs),如蔓枯病菌细胞壁成分几丁质(chitin)、麦角固醇(ergosterol)、Fe 载体(siderophores)、PG 降解产物寡聚半乳糖醛酸(OGs)以及植物抗病反应合成的外源肽等,通常病原菌的这种独特的保守分子物质又称为病原相关分子模式<sup>[53-54]</sup>(pathogen-associated molecular patterns,简称 PAMPs)。当 PAMPs 被质膜表面含多种配体结合域的受体激酶-模式识别受体(pattern recognition receptors,简称 PRRs)所识别后,能够在短时间内使植株产生一系列防御应答反应,其中包括胼胝质沉积、胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平升高、活性氧(ROS)产生、水杨酸(SA)与茉莉酸(JA)等信号传导途径的启动<sup>[55]</sup>,而丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号传递作为该应答响应中最重要的组成部分,所产生的识别信号经保守三级激酶模式 MEKK-MKK-MPK 级联反应传递给转录因子,后通过转录再编程进一步调控相关基因的表达,从而进一步引发下游的防御反应。

2.2.3 效应子激活免疫(effector-triggered immunity,简称 EPI) 蔓枯病菌在触发 PTI 的同时又可产生一种效应因子(effector)来抑制寄主对 PRR 的识别,从而阻止寄主产生 PTI 使植株表现患病。然而部分瓜类品种已进化形成了一种特异性抗病蛋白(*R* 蛋白),即由寄主抗性基因(resistance gene,简称 *R*)编码形成的受体蛋白,能够特异性识别病原菌无毒基因(avirulence gene,简称 *Avr*)编码的效应子,从而引发寄主植株在侵染位点启动更为剧烈的防御反应<sup>[56-57]</sup>,其主要表现为侵染位点细胞的编程性死亡即超敏反应(hypersensitive reaction,简称 HR)。这种局部侵染位点细胞的迅速死亡不仅使病原菌不易获得营养,而且经 HR 产生的信号分子可诱发整株防卫基因的表达,致使寄主植物产生系统获得抗性(system acquired resistance,简称 SAR),其特点是植株并不会出现局部抗性那样的枯斑,但却能够引发植株形态和生理生化上的许多变化,该过程通常伴随水杨酸水平的显著升高以及病程相关基因(pathogenesis-related genes)所编码的具有一定抗菌活性的 PR-蛋白的表达<sup>[58-59]</sup>。同时,以茉莉酸和乙烯(ethylene,简称 ET)为介导的植

株诱导性系统抗性(induced systemic resistance,简称 ISR)也可引发植物全面广谱的抵抗能力<sup>[60]</sup>。Buzi 等通过使用茉莉酸甲酯(methyl jasmonate,简称 MeJA)与苯并噻二唑(acibenzolar-S-methyl,简称 BTH)浸泡甜瓜种子,发现该处理可显著诱导植株对蔓枯病的抗性,且具有消除活性氧伤害的保护酶活性也显著升高<sup>[25]</sup>。如果该免疫过程 *Avr* 基因表达产物能被 *R* 基因编码的蛋白所识别与结合,则可激发产生 HR、SAR 和 ISR 反应使植株表现抗性,如果 *R* 基因编码蛋白不能识别与发现 *Avr* 基因表达产物则植株表现感病。

### 2.3 抗性基因及遗传规律

众多研究结果表明,瓜类植物对蔓枯病产生的抗性基因(*R*-基因)遗传特性极为复杂,不仅不同瓜类或同一瓜类不同品种(系)之间存在不同的遗传特性,同时该特性又受到寄主、病原及环境条件等因素的协同影响<sup>[61]</sup>。1967 年 Prasad 最早发现甜瓜抗蔓枯病资源 PI140471 的抗性是由单个显性基因(*Mc mc*)控制以来,后续逐渐发掘及育成的甜瓜抗病材料抗性也大多来源于该抗源<sup>[62-63]</sup>。目前国际上常选用 PI140471、PI157082、PI511890、PI482398、PI482399、PI420145 作为甜瓜的抗蔓枯病材料,其抗性分别由 6 个相互独立的单基因 *Gbs-1*、*Gbs-2*、*Gbs-3*、*Gbs-4*、*Gbs-5*、*Gbs-6* 控制,其中只有 *Gbs-5* 为隐形遗传而其他全部表现为显性遗传<sup>[64-65]</sup>,但哈密瓜蔓枯病抗性遗传表现为多基因控制的性状<sup>[66]</sup>。Norton 通过将抗性品种 PI189225 与感病品种 Charleston Gray 进行杂交,根据  $F_2$  及回交后代的抗性表现首次确定,西瓜抗蔓枯病的基因是由 1 对隐性基因(*db db*)所控制<sup>[67]</sup>。但同时蔓枯病的抗性在瓜类中存在显著的变异性<sup>[32,40,68]</sup>,Gusmini 等通过对不同抗性水平下的西瓜品种进行杂交,根据  $F_1$ 、 $F_2$  和  $BC_1$  的抗性特性,发现西瓜对蔓枯病的抗性受遗传和非遗传因素的共同影响,且存在较大的环境影响和基因修饰<sup>[68]</sup>。

若瓜类作物采用常规抗病育种通常须等到成株期才能依据表现型进行选择,从而间接地对基因型作出甄别筛选,但因瓜类作物的部分性状与外部条件紧密关联,致使育种中存在盲目性与长期性。因此,基于基因组多态性开发的分子标记不仅能够定位分析与抗性相关的基因特性,而且还可以利用与抗性位点紧密连锁的分子标记进行抗病品种的辅助选育。目前,在甜瓜抗蔓枯病基因相互连锁的

分子标记方面,已获得与基因 *Gsb-1*、*Gsb-4* 相连锁的 SSR 标记 CMCT505 和 CMTA170<sub>a</sub>,与基因 *Gsb-2*、*Gsb-3* 相连锁的 ISSR 标记 ISSR-57<sub>560</sub> 和 ISSR-100<sub>900</sub>,以及通过 SCAR 标记获得与 *Gsb-6* 相连锁的 SGBS<sub>1800</sub><sup>[69-72]</sup>,同时以甜瓜 PI420145 为抗源材料,采用 BSA 法和 AFLP 分子标记,发现了与抗源基因紧密连锁的 4 个 AFLP 标记 E-TC/M-CAG60、E-TG/MCTA70、E-AT/M-CTG90 和 E-TG/M-CTC200,且与抗性基因的遗传距离分别为 5.4、6.0、6.0、2.0 cM<sup>[73]</sup>。在哈密瓜抗性连锁分子标记的位点筛选中,已稳定检测到与蔓枯病抗性有关的 QTL 位点 *gsb1.1* 与 *gsb6.1*,且 QTLs 位点附近均存在较近遗传距离的连锁标记<sup>[66]</sup>。

陈劲枫等首次将栽培黄瓜 (*Cucumis sativus* L. 2n=14) 与野生种 (*C. hystrix* Chakr. 2n=24) 进行种间杂交,并利用多代回交技术选育了一系列来源于野生种的渐渗系,从而把野生外源的优异基因快速转入到黄瓜的栽培品种中<sup>[74]</sup>。Lou 等通过对高抗渐渗系 HH1-8-5、HH1-8-1-16、HH1-8-1-2 群体中蔓枯病抗性渐渗片段在基因组上重叠区进行分析,确定了 4 个蔓枯病抗性的 QTLs 位点,分别为第 1 号染色体上的 GSB1a 与 GSB1b、第 4 号染色体上的 GSB4a、第 6 号染色体上的 GSB6a<sup>[75]</sup>。并对 GSB4a 覆盖的 3.569 Mbp 基因组区段、GSB6a 覆盖的 1.299 Mbp 基因组区段进行了抗性相关基因的分析,发现该区段调控植物产生抗性的基因主要包括细胞程序死亡、胁迫反应、防御反应、创伤或者胁迫蛋白、系统获得抗性、生物刺激反应、茉莉酸代谢途径。同时黄瓜蔓枯病的抗性为多对加性上位性主基因控制的数量性状<sup>[76-77]</sup>,目前已发现 7 个候选抗病基因与黄瓜蔓枯病的抗性相关<sup>[78]</sup>,其中 Csa5M467390、Csa5M467900、Csa5M485190 为富亮氨酸结构 (leucine-rich repeat, 简称 LRR), Csa5M471090、Csa5M477610 为锌指结构域 (zinc finger), Csa5M484625 为抗病蛋白 (disease resistance protein), Csa5M494390 为 Toll 蛋白结构域 (Toll-interleukin receptor)。

### 3 展望

植物的抗病反应是一个复杂多样的联动机制,从病原菌识别寄主到寄主作出了一系列防卫免疫反应,该过程涉及病原菌与寄主二者间的相互识别机理、相关分子信号的产生与传导机制、多种信号

传导途径的相互关系以及寄主所产生的宏观抗性表现,且各水平之间紧密相连,互联互通,仅仅针对某一水平或某一状态进行抗性研究还远远不能充分揭示其抗性机理,同时寄主植物与病原菌之间还存在相互竞争、协同进化的互作关系。因此,在蔓枯病的抗病机制研究中不仅要发掘相关抗病基因,并对相关分子信号路径进行深刻解析,而且还应结合蔓枯病菌的致病机理及变异机制进行综合研究。

在以往的农业生产中,人们过度追求作物的单产与品质,致使品种选育中大量优良抗病基因被丢失,最终导致作物的抗病菌侵染能力变得非常脆弱,在长期的栽培中表现大幅减产而被淘汰。因此作物的抗病性在未来决定作物产量中愈发重要,而 PTI 类似于传统的水平抗性,能够协助植物抵抗大部分病原物的侵染与扩散,可以通过多基因聚合或多基因转化将具有特异性识别病原菌效应子的 *R*-基因导入 PTI 抗性较好的品种中,以便增强作物的 ETI 抗性达到拓宽抗谱的效果。同时效应子和 *R* 蛋白 (*R* 基因编码) 构成了病原菌与寄主之间复杂的相互作用机制,致使寄主植物具有特异的抗病性,因此深入了解二者之间的相互关系可为瓜类蔓枯病抗性研究提供最有效的理论基础。

### 参考文献:

- [1] Keinath A P. From native plants in central Europe to cultivated crops worldwide: the emergence of *Didymella bryoniae* as a cucurbit pathogen[J]. HortScience, 2011, 46(4): 532-535.
- [2] Basim E, Basim H, Abdula M, et al. Identification and characterization of *Didymella bryoniae* causing gummy stem blight disease of watermelon (*Citrullus lanatus*) in Turkey [J]. Crop Protection, 2016, 90: 150-156.
- [3] Hao W Y, Ren L X, Ran W, et al. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* [J]. Plant and Soil, 2010, 336(1/2): 485-497.
- [4] 鲁秀梅, 张宁, 夏美玲, 等. 不同抗性甜瓜接种蔓枯病菌后内源激素含量变化及其相关基因的表达分析[J]. 南京农业大学学报, 2018, 41(2): 248-255.
- [5] Keinath A P. Survival of *Didymella bryoniae* in infested muskmelon crowns in South Carolina [J]. Plant Disease, 2008, 92(8): 1223-1228.
- [6] Keinath A P. Differential susceptibility of nine cucurbit species to the foliar blight and crown canker phases of gummy stem blight [J]. Plant Disease, 2014, 98(2): 247-254.
- [7] 李伟, 张爱香, 江蛟, 等. 甜瓜蔓枯病原鉴定及其生物学特性[J]. 江苏农业学报, 2008, 24(2): 148-152.
- [8] 任海英, 李岗, 方丽, 等. 不同甜瓜品种蔓枯病抗性与其抗坏血酸过氧化物酶基因表达的关系[J]. 植物病理学报, 2012(3): 306-310.

- [9] Stewart J E, Turner A N, Brewer M T. Evolutionary history and variation in host range of three *Stagonosporopsis* species causing gummy stem blight of cucurbits[J]. Fungal Biology, 2015, 119(5): 370–382.
- [10] Li H X, Gottilla T M, Brewer M T. Organization and evolution of mating – type genes in three *Stagonosporopsis* species causing gummy stem blight of cucurbits and leaf spot and dry rot of papaya [J]. Fungal Biology, 2017, 121(10): 849–857.
- [11] Li H X, Brewer M T. Spatial genetic structure and population dynamics of gummy stem blight fungi within and among watermelon fields in the southeastern United States[J]. Phytopathology, 2016, 106(8): 900–908.
- [12] Ronald T, Kother A, Anthony P, et al. AFLP analysis of a worldwide collection of *Didymella bryoniae* [J]. Mycological Research, 2003, 107(3): 297–304.
- [13] Babu B, Kefalew Y W, Li P F, et al. Genetic characterization of *Didymella bryoniae* isolates infecting watermelon and other cucurbits in Florida and Georgia[J]. Plant Disease, 2015, 99(11): 1488–1499.
- [14] 胡凤云, 莫贱友, 韦继光, 等. 西瓜甜瓜蔓枯病菌差异性初步研究[J]. 中国瓜菜, 2012, 25(6): 9–12.
- [15] Li P F, Ren R S, Yao X F, et al. Identification and characterization of the causal agent of gummy stem blight from muskmelon and watermelon in East China[J]. Journal of Phytopathology, 2015, 163(4): 314–319.
- [16] Burdon J J, Thrall P H. Coevolution of plants and their pathogens in natural habitats[J]. Science, 2009, 324: 755–756.
- [17] Yao X F, Li P F, Xu J H, et al. Rapid and sensitive detection of *Didymella bryoniae* by visual loop – mediated isothermal amplification assay[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 8: 1372.
- [18] 徐秀兰, 宋顺华, 张志勇, 等. 西瓜重要种传病害研究进展[J]. 植物保护, 2016, 42(1): 12–18, 39.
- [19] 胡凤云, 莫贱友, 韦继光, 等. 西瓜甜瓜蔓枯病防治研究进展[J]. 中国瓜菜, 2011, 24(6): 40–44.
- [20] Café – Filho A C, Santos G R, Laranjeira F F. Temporal and spatial dynamics of watermelon gummy stem blight epidemics [J]. European Journal of Plant Pathology, 2010, 128(4): 473–482.
- [21] Sudisha J, Niranjana S R, Umesha S, et al. Transmission of seed – borne infection of muskmelon by *Didymella bryoniae* and effect of seed treatments on disease incidence and fruit yield[J]. Biological Control, 2006, 37(2): 196–205.
- [22] 姚协平, 徐锦华, 李苹芳, 等. 菜瓜蔓枯病苗期抗性鉴定方法比较[J]. 中国瓜菜, 2017, 30(2): 11–14.
- [23] Gasparotto F, de Oliveira R R, Penharbel M P, et al. Effect of grafting on the control of gummy stem blight in muskmelons[J]. Semina Ciencias Agrarias, 2016, 37(5): 2859–2866.
- [24] Brewer M T, Rath M, Li H X. Genetic diversity and population structure of cucurbit gummy stem blight fungi based on microsatellite markers[J]. Phytopathology, 2015, 105(6): 815–824.
- [25] Buzi A, Chilosi G, Magro P. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar – S – methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid[J]. Journal of Phytopathology, 2004, 152(1): 34–42.
- [26] Zhang J, Bruton B D, Biles C L. Cell wall – degrading enzymes of *Didymella bryoniae* in relation to fungal growth and virulence in cantaloupe fruit [J]. European Journal of Plant Pathology, 2014, 139(4): 749–761.
- [27] Curren T. Pectic and cellulolytic enzymes produced by *Mycosphaerella citrullina* [J]. Canadian Journal of Botany, 2011, 47(5): 791–794.
- [28] Zhang J X, Bruton B D, Miller M E, et al. Relationship of developmental stage of cantaloupe fruit to black rot susceptibility and enzyme production by *Didymella bryoniae* [J]. Plant Disease, 1999, 83(11): 1025–1032.
- [29] Grube M, Fuernkranz M, Zitzenbacher S, et al. Emerging multi – pathogen disease caused by *Didymella bryoniae* and pathogenic bacteria on Styrian oil pumpkin [J]. European Journal of Plant Pathology, 2011, 131(3): 539–548.
- [30] van der Meer Q P, van Bennekom J L, van der Giessen V. Gummy stem blight resistance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Euphytica, 1978, 27: 861–864.
- [31] Wehner T C, Amand P C S. Field tests for cucumber resistance to gummy stem blight in North Carolina [J]. HortScience, 1993, 28(4): 327–329.
- [32] Wehner T C, Shetty N V. Screening the cucumber germplasm collection for resistance to gummy stem blight in North Carolina field tests[J]. HortScience, 2000, 35(6): 1132–1140.
- [33] 李 英. 瓜类蔓枯病菌的生物学特性和黄瓜抗病资源的筛选 [D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [34] Sowell G. Additional sources of resistance to gummy stem blight of muskmelon [J]. Plant Disease, 1981, 65: 253–254.
- [35] Zhang Y P, Kyle M, Anagnostou K, et al. Screening melon (*Cucumis melo* L.) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field [J]. HortScience, 1997, 32(1): 117–121.
- [36] Frantz J D, Jahn M M. Five Independent loci each control monogenic resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108(6): 1033–1038.
- [37] Wolukau J N, Zhou X H, Li Y, et al. Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145, and 323498 [J]. HortScience, 2007, 42(2): 215–221.
- [38] Santos L D, Candido W D, Rabelo H D, et al. Reaction of melon genotypes to *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm [J]. Chilean Journal of Agricultural Research, 2017, 77(1): 71–77.
- [39] 顾卫红, 杨红娟, 马 坤, 等. 西瓜种质资源的抗蔓枯病性鉴定及其利用[J]. 上海农业学报, 2004, 20(1): 65–67.
- [40] Gusmini G, Song R H, Wehner T C. New sources of resistance to gummy stem blight in watermelon [J]. Crop Science, 2005, 45(2): 582–588.
- [41] 宋荣浩, 戴富明, 杨红娟, 等. 西瓜品种资源对枯萎病和蔓枯病的抗性鉴定[J]. 植物保护, 2009, 35(1): 117–120.

- [42] 王晓东, 李国英. 哈密瓜蔓枯病菌分生孢子器诱发及室内品种抗病性测定[J]. 新疆农业科学, 2004, 41(5): 341–344.
- [43] Ausubel F M. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? [J]. Nature Immunology, 2005, 6(10): 973–979.
- [44] Chisholm S T, Coaker G, Day B, et al. Host–microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response [J]. Cell, 2006, 124(4): 803–814.
- [45] Boller T, He S Y. Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens [J]. Science, 2009, 324(5928): 742–744.
- [46] Yamazaki A, Hayashi M. Building the interaction interfaces: host responses upon infection with microorganisms [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2015, 23(1): 132–139.
- [47] Kunst L, Samuels A L. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax [J]. Progress in Lipid Research, 2003, 42(1): 51–80.
- [48] 戎福喜, 秦亚光, 陈非帆, 等. 抗白粉病黄瓜叶微卷突变体的叶片结构分析[J]. 中国瓜菜, 2017, 30(3): 11–14.
- [49] 田丽波, 商 桑, 杨 衍, 等. 苦瓜叶片结构与白粉病抗性的关系[J]. 西北植物学报, 2013, 33(10): 2010–2015.
- [50] Adebooye O C, Hunsche M, Noga G A. Morphology and density of trichomes and stomata of *Trichosanthes cucumerina* (Cucurbitaceae) as affected by leaf age and salinity [J]. Turkish Journal of Botany, 2012, 36(4): 328–335.
- [51] Beckman C H, Mueller W C, McHardy W E. The localization of stored phenols in plant hairs [J]. Physiological Plant Pathology, 1972, 2(1): 69–74.
- [52] Rennberger G, Keinathl A P, Hess M. Correlation of trichome density and length and polyphenol fluorescence with susceptibility of five cucurbits to *Didymella bryoniae* [J]. Journal of Plant Diseases & Protection, 2017, 124(4): 313–318.
- [53] Davidsson P, Broberg M, Kariola T, et al. Short oligogalacturonides induce pathogen resistance–associated gene expression in *Arabidopsis thaliana* [J]. BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 1–17.
- [54] Jones J D G, Dangl J L. The plant immune system [J]. Nature, 2006, 444: 323–329.
- [55] Reimerichalski E M, Conrath U. Innate immune memory in plants [J]. Seminars in Immunology, 2016, 28(4): 319–327.
- [56] Khan M, Subramaniam R, Desveaux D. Of guards, decoys, baits and traps: pathogen perception in plants by type III effector sensors [J]. Current Opinion in Microbiology, 2016, 29: 49–55.
- [57] Gururani M A, Venkatesh J, Upadhyaya C P, et al. Plant disease resistance genes: current status and future directions [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2012, 78(51): 51–65.
- [58] Durrant W E, Dong X. Systemic acquired resistance [J]. Annual Review of Phytopathology, 2004, 42(4): 185–209.
- [59] van Loon L C, Bakker P A H M. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria [J]. Biocontrol & Biofertilization, 2006: 39–66.
- [60] Choudhary D K, Prakash A, Johri B N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action [J]. Indian Journal of Microbiology, 2007, 47(4): 289–297.
- [61] Keinath A P. Reproduction of *Didymella bryoniae* on nine species of cucurbits under field conditions [J]. Plant Disease, 2014, 98(10): 1379–1386.
- [62] Norton J D. Chilton, a high quality fruit for the commercial market [J]. Ala Agric Exp Stn Leaf, 1972, 10: 184.
- [63] Norton J D, Cosper R D. AC–70–154, a gummy stem blight–resistant muskmelon breeding line [J]. HortScience, 1989, 24(4): 709–711.
- [64] Wolukau J N, Zhou X H, Chen J F. Identification of amplified fragment length polymorphism markers linked to gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) resistance in melon (*Cucumis melo* L.) PI420145 [J]. HortScience, 2009, 44(1): 32–34.
- [65] Zhang N, Xu B H, Bi Y F, et al. Development of a muskmelon cultivar with improved resistance to gummy stem blight and desired agronomic traits using gene pyramiding [J]. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 2017, 53(1): 23–29.
- [66] 刘龙洲, 翟文强, 陈亚丽, 等. 甜瓜蔓枯病抗性 QTL 定位的研究 [J]. 果树学报, 2013, 30(5): 748–752.
- [67] Norton J. Inheritance of resistance to gummy stem blight in watermelon [J]. HortScience, 1979, 14(5): 630–632.
- [68] Gusmini G, Rivera–Burgos L A, Wehner T C. Inheritance of resistance to gummy stem blight in watermelon [J]. HortScience, 2017, 52(11): 1477–1482.
- [69] 刘文睿, 张永兵, 周晓慧, 等. 甜瓜抗蔓枯病基因 *Gsb-1* 的分子标记及其与抗源 PI420145 中抗病基因的关系 [J]. 中国瓜菜, 2009, 22(5): 1–4.
- [70] 张永兵, 陈劲枫, 伊鸿平, 等. 甜瓜抗蔓枯病基因 *Gsb-2* 的 ISSR 分子标记 [J]. 果树学报, 2011, 28(2): 296–300.
- [71] 张学军, 张永兵, 张 龔, 等. 甜瓜抗蔓枯病基因 *Gsb-3* 的 ISSR 分子标记 [J]. 西北植物学报, 2013, 33(2): 261–265.
- [72] 王红英, 钱春桃, 娄丽娜, 等. 甜瓜抗蔓枯病基因 *Gsb-4* 的分子标记 [J]. 园艺学报, 2012, 39(3): 574–580.
- [73] Wolukau J N. Molecular studies of melon (*Cucumis melo* L.) resistance to gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2007.
- [74] Chen J F, Staub J E, Tashiro Y, et al. Successful interspecific hybridization between *Cucumis sativus* L. and *C. hystris* Chakr [J]. Euphytica, 1997, 96(3): 413–419.
- [75] Lou L A, Wang H Y, Qian C T, et al. Genetic mapping of gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) resistance genes in *Cucumis sativus*–*hystris* introgression lines [J]. Euphytica, 2013, 192(3): 359–369.
- [76] Zhang S P, Liu S L, Miao H, et al. Inheritance and QTL mapping of resistance to gummy stem blight in cucumber stem [J]. Molecular Breeding, 2017, 37(4): 49.
- [77] 娄丽娜. 黄爪–酸黄瓜渐渗系抗蔓枯病的资源鉴定、遗传分析及主效 QTLs 定位 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [78] Liu S L, Shi Y X, Miao H, et al. Genetic analysis and QTL mapping of resistance to gummy stem blight in *Cucumis sativus* seedling stage [J]. Plant Disease, 2017, 101(7): 1145–1152.