

茄科植物抗青枯病特性研究及其应用展望

黄宁珍

(广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西桂林 541006)
中国科学院

摘要: 对8个属21种野生或栽培茄科植物的抗青枯病特性进行观测研究, 筛选出水茄、乳茄、曼陀罗等3种抗青枯病能力很强的物种。将番茄、烟草嫁接在水茄、乳茄上, 嫁接苗也获得较强的抗病能力。将此结果结合现代抗病分子生物学技术及其研究成果, 探讨这些抗性材料的抗病机理及其在抗病基因工程中的应用前景。

关键词: 茄科; 抗青枯病; 抗病机理; 抗病基因工程

中图分类号: S432.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)06-0572-05

Study on the characters of some anti-disease species of Solanaceae and its application prospect

HUANG Ning-zhen

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and The Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: The resistance of 21 species of solanaceae to the disease caused by *Pseudomonas solanaceaeum* Smith was observed. Among of 21 species, there are five species (*L. chinese* Mill, *S. verbascifolium* L. Sp. ed., *S. torvum* Swartz) whose resistance to the disease is very strong. After grafting tomato on the five plants, we found that the grafting seedlings obtained the strong resistance to the disease too. According to this results, combined with the advanced molecular technology of biology and anti-disease gene engineering, some anti-disease mechanisms of the five plants and their application prospect were put forward.

Key words: Solanaceae; resist *Pseudomonas solanaceaeum* Smith; anti-disease mechanism; anti-disease gene engineering

茄科(Solanaceae)是双子叶植物中的一大家族之一, 分布范围极广。根据有关的分类文献, 我国共有24属100多种。其中的番茄属(*Lycopersicon* Mill)和烟草属(*Nictiana* L.)为我国乃至世界两大经济作物, 有悠久的栽培历史和广泛的栽培面积。在多年的栽培过程中, 出现种类繁多的病害和虫害, 严重影响这两种作物的产量和与之相关的人们的生活。而与这些病虫害抗争的最有效、最经济的手段就是其抗病品种的选育。无论是传统的杂交育种方法, 还是现代生物工程技术中的转基因手段, 首先都

要有抗病的原始材料。而存在于自然界抗病物种中的抗病基因, 是植物经过上千年进化的结果, 这些抗病基因对植物抵抗多种病害的侵染是最有效的, 对人类也是最安全的。

青枯病是严重危害多种茄科植物的一种细菌性病害, 病原为青枯假单胞杆菌(*Pseudomonas solanaceaeum* Smith), 可通过土壤、水传播, 主要通过根系为害植物的维管束, 造成植物输导系统堵塞, 影响水分及营养的吸收, 导致植株因水分和营养匮乏而枯萎死亡。这种病害一旦发生, 传播的速度很快,

收稿日期: 2001-05-21

作者简介: 黄宁珍(1968-), 女, 广西大化县人, 助理研究员, 从事抗病生理和营养生理研究工作。

基金项目: 广西科学院资助基金项目(桂科院 9704)

造成大量植株死亡和大幅度减产。番茄和烟草在长期的栽培过程中,因青枯病的危害造成严重的经济损失。长期以来,由于土传细菌性病害传播快,药剂防治难以奏效等特点,加上近年来提倡环保和净化生存空间,因而,其抗病品种的选育是育种工作者研究的热点和目标,前后已经过几十年的努力,但由于茄科的抗青枯病遗传是隐性的和多基因的^[1],因此,难度大,进展十分缓慢。

自然界的茄科植物,各个种对青枯病的抵抗能力存在较大差异,比如:茄子、辣椒等抗青枯病能力比番茄、烟草强。野生的茄科物种,特别是在适合青枯病原生长繁殖的热带、亚热带地区,其中某些种类,它们在与青枯病原之间的感染与抗感染过程中,通过长期的自然选择,逐步形成较强的抗青枯病原的特性,并使这种抗性形成该物种可遗传的生物性状。因此通过大量采集野生的茄科植物,可望从中筛选出某些强抗青枯病的物种;并将这些抗病物种与番茄和烟草嫁接,通过嫁接成活率判断它们和番茄、烟草等经济作物的遗传同源性,从而推断番茄和烟草获得这些抗性的难易程度。为应用现代生物工程技术培育番茄和烟草抗病种苗提供抗性材料和理论基础。

1 方 法

通过野外调查,收集桂林地区附近县市常见的野生或栽培茄科植物。直接栽培,观测自然条件下青枯病发病率或人工接种病原后的发病率;与番茄、烟草嫁接后栽培,观测嫁接成活率和青枯病的发病率。

2 结果和讨论

2.1 结果

收集的茄科植物共 8 个属 21 种,其名录及抗青枯病率见表 1。结果表明,这些茄科植物对青枯病的抗性有很大的差异。根据它们的抗青枯病特性,可大致分为易感品种、中抗品种和高抗品种 3 种类型。抗青枯病率低于 60% 的为易感品种,属于这类植物的占大多数,在所采集的 21 种植物中有 14 种为易感品种,它们分别是:挂金灯、小酸浆、毛酸浆、少花龙葵、千年不烂心、红茄、树番茄、番茄属 5 个种、烟草属 2 个种,共占总数的 67%;抗青枯病率在

60%~90% 之间的为中抗品种,其中有假酸浆、枸杞、假烟叶树、野茄 4 个种,为总数的 19%;而抗青枯病率高于 90% 的为高抗品种,这类品种有水茄、乳茄、曼陀罗 3 个种,占总数的 14%。

中抗品种受环境条件的影响可能变成易感品种。如温湿度、肥料、病原密度等一些利于病原迅速生长繁殖的环境因素,会使中抗品种的染病率提高而抗病率降低。而高抗品种的抗病率比较稳定,不论在何种环境条件下都很高。即使在有大量病原的大田中仍可 100% 的完全抗感染而正常生长存活。

以采集的这些茄科物种作为砧木与番茄和烟草嫁接,抗病力弱的砧木其嫁接苗抗病率低,如抗青枯病率较低(50%)的红茄,其番茄嫁接苗的抗病率仅为 23%。而抗病率高的野生茄科物种与番茄和烟草嫁接后,其嫁接苗则获得较强的抗性。如:与番茄和烟草嫁接亲和力和都较高的乳茄,以其为砧木的番茄和烟草嫁接苗的抗青枯病率都高达 100%;水茄直生植株的抗青枯病率为 100%,其番茄和烟草嫁接苗的抗病率也高达 90.4% 和 100%。这些数据和前人的研究结果都表明,不论是茄科或其它种类植物,都可以通过寻求抗病砧木,以嫁接方式使接穗植株获得较强的抗病性。

2.2 讨 论

2.2.1 自然抗病资源在抗病育种研究中的意义 在植物的抗病育种中,自然界抗病的种质资源是必不可少的抗病原材料。在过去几十年中,由于育种工作者的不断努力,通过筛选抗病砧木培育抗病嫁接苗,或以杂交育种方式培育抗病新品种,在水稻、小麦及番茄、黄瓜等多种粮食和蔬菜作物上选育出很多优良新品种,对人类做出了巨大的贡献。然而,由于受到物种间亲缘关系的局限,远缘杂交如同科不同属、或无亲缘杂交如不同科、界的物种之间很难获得成功;因此,不能充分利用自然界众多的自然抗性资源。而现代基因工程技术的发展打破了这种局限,可以最大限度地绕过物种生殖隔离的障碍,实现生物界遗传物质的自由交流,能使某一作物有获取整个生物界有益遗传基因的可能。这一技术为很多自然抗性资源中优良基因的利用打开了方便之门。在探明植物自然抗性资源抗性机理的基础上,分离和提纯其抗病基因,从而可将抗病基因应用于作物的抗病工程育种中。

2.2.2 茄科自然抗青枯病材料在抗病育种中的应用及其前景 青枯病是为害茄科植物的主要病害之

一。培育抗病品种是经济、有效、又无公害的技术措施。科学技术的发展为选育抗病品种提供越来越多的方法。首先,自上个世纪 50、60 年代以来,人们通过筛选抗病砧木再行嫁接繁殖来改良接穗植株的品质和选育抗病种苗,这一方法沿用至今,并在改良水果、蔬菜品质的生产实践中产生巨大的作用。根据

番茄和烟草植株再生能力强等生物学特性,结合抗病原材料与番茄和烟草的亲合力,这种方法也是可行之途径。目前在欧洲等发达国家,番茄、黄瓜等蔬菜嫁接技术在农艺上的应用十分广泛,应运而生的有番茄嫁接机等农业机械。因而筛选抗病砧木,通过嫁接方法培育抗病种苗,不论过去、现在或将来,

表 1 二十一种茄科植物及其嫁接苗的抗青枯病率
Table 1 Resistant rates of some solanaceae species and its grafting seedlings to the disease caused by *Pseudomonas solanaceae* Smith

种名 Name of specie	抗青枯病株率 Resistant ratio to <i>Pseudomonas</i> <i>solanaceae</i> Smith (%)	接穗名称 Name of graft	嫁接成活率 Revival ratio of grafting (%)	嫁接苗的抗青 枯病株率(%) Resistant ratio to <i>Pseudomonas</i> <i>solanaceae</i> of grafting seedlings
假酸浆 <i>Nicandra physaloides</i> (L.)Gaertn	81	红宝石 Hongbaoshi	0	—
枸杞 <i>Lycium chinese</i> Mill	90	—	—	—
挂金灯 <i>Physalis alkekengi</i> L. var.	16	红宝石 Hongbaoshi	0	—
小酸浆 <i>P. minima</i> L.	34	红宝石 Hongbaoshi	0	—
毛酸浆 <i>P. pubescens</i> L.	43	红宝石 Hongbaoshi	0	—
假烟叶树 <i>Solanum verbascifolium</i> L, Sp. ed.	90	—	—	—
少花龙葵 <i>S. photeonocarpum</i> Nakamura et Odashima	20	红宝石 Hongbaoshi	73	15
千年不烂心 <i>S. cathayanum</i> C. Y. Wu et S. C. Huang	43	红宝石 Hongbaoshi	82	20
水茄 <i>S. torvum</i> Swartz	100	红宝石 Hongbaoshi	88	90.4
		心叶烟 Xinyeyan	34	100
红茄 <i>S. integrifolium</i> Poir.	50	红宝石 Hongbaoshi	93	23
野茄 <i>S. coagulas</i> . Forsk.	73	红宝石 Hongbaoshi	94	30
乳茄 <i>S. mammosum</i> L.	100	红宝石 Hongbaoshi	91	100
		心叶烟 Xinyeyan	74	100
野番茄 1号 Wild tomato No. 1	7	红宝石 Hongbaoshi	88	5
野番茄 2号 Wild tomato No. 2	4	红宝石 Hongbaoshi	94	4
野番茄 3号 Wild tomato No. 3	0	—	—	—
番茄 4号 Tomato No. 4	30	红宝石 Hongbaoshi	94	38
番茄 5号(红宝石) Tomato No. 5(Hongbaoshi)	0	—	—	—
树番茄 <i>Cyphomandra betacea</i> Sendt	0	红宝石 Hongbaoshi	90	0
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i> L.	100	—	—	—
心叶烟 Xinyeyan	32	—	—	—
当地土烟 Tuyan	40	心叶烟 Xinyeyan	90	36

都将是一种十分实用、快捷的育苗方式。

其次,在取得抗病原始材料的基础上,通过杂交育种或一代杂种育种途径培育抗病品种,是几十年来最常用的一种方式,并已取得举世瞩目的成绩。但在茄科的主要经济植物—番茄和烟草的抗青枯病育种研究中,进展十分缓慢。这是由于其抗青枯病遗传是多基因的和隐性的^[1],因此,通过杂交育种获得成功的机率十分微小。

上述两种常规育种方式,由于受物种生殖隔离障碍及物种之间亲和性和亲缘关系的影响,大大缩小自然抗性材料的应用范围。比如,水茄、乳茄和番

茄嫁接的成活率虽然很高,但由于远缘生殖隔离障碍造成嫁接植株少育或不育,因此,就出现了挂畸形果、少挂果或不挂果的现象。而近年来兴起的植物基因工程技术,可以极大地绕过物种间的生殖隔离障碍,实现生物界遗传物质的自由交流。因而,大大拓宽了自然抗性材料的应用范围,为上述茄科中少数抗青枯病材料在番茄和烟草甚至其它经济作物的抗病育种的应用开辟了广阔的前景。而分离提纯和充分利用这些物种抗性基因的前提,是首先要探明这些自然抗原的抗性机理。

2.2.3 茄科自然抗青枯病材料抗病机理的探导 在

茄科植物抗性机理的专项研究方面,目前国内外尚未见有系统的报道。但可以通过植物系统与病原菌间的互作关系,及植物在与病原长期互作并不断进化过程中建立防卫体系,包括先天存在的抗菌物质及诱导后发生作用的抗病基因和防卫基因等多方面来探导。

(1)先天性抗菌物。在植物的抗病物质中,其中一类为先天存在的抗菌化合物,为植物中的一些次生代谢产物如酚类、3,4-二羟苯甲酸、酚糖苷、不饱和内酯、皂苷、生氰糖苷及硫苷等^[2]。皂苷由于与病菌细胞膜上的甾醇作用形成孔洞^[3],从而使病菌受到伤害而阻止其侵染;而硫苷在体外具有良好的抑菌活性^[4]等。所有的这些化合物在植物体内作为防止病菌入侵的第一道化学屏障起到不可忽视的作用。在抗青枯病的茄科植物中,是否存在上述各类物质,有待进一步研究。而值得注意的是,在茄科的不同植株中,富含各种不同的生物碱,其中大多数为生理活性物质,对人、动物或微生物有一定生理活性。如水茄叶中富含某种物质,可抑制或杀灭引起人类毒疮的微生物^[5]。乳茄含龙葵碱^[5],也是一种有毒物质。这些生物碱与抗青枯病是否有关,还有待证实。另一类先天存在抗菌物质为多肽类。如植物防御素(plant defensins),是近几年从植物组织中分离得到的一类新型抗菌肽,在结构与功能上与来自昆虫和哺乳动物的防御素抗菌肽具有同源性^[6],可有效防治幼苗和植株免受土传病害或种传病害的危害;此外,含硫蛋白^[7](Thionins)和核糖体失活蛋白(ribosome inactivation proteins)等,与植物防御素类似,是存在于植物组织中的先天性抗菌多肽类物质。上述茄科植物的抗青枯病机理,也可从此入手深入研究。

(2)诱发产生的植物抗病因素。由于受病原物的侵染,诱导植物的抗病基因和防卫基因编码一系列抗菌、抑菌物质。在植物的抗病反应中,抗病基因编码的产物作为受体——无毒基因产物特异识别,从而激活防卫反应系统;防卫基因编码的产物是真正参与抵抗病原物侵染的因素。目前许多防卫基因已得到克隆并成功地导入植物,并使转基因植株表现明显的抗病性,这些工作首先始于与病程相关(pathogenesis related,简称PR)蛋白基因的研究,如能水解许多菌物细胞壁主要成分(几丁质和 β -1,3葡聚糖)的几丁质酶和 β -1,3葡聚糖酶。研究发现,PR蛋白的某些成员在植物体内的超量表达均能提

高植株对某些菌物的抗性^[8~15]。当两个或多个PR蛋白在同一植株中共同表达时,能提高抗性水平^[13~15]。另一类诱导产生的抗病产物是植物保卫素,这是植株在一系列生物和非生物因子刺激下合成积累的一类具有抗微生物活性的低分子量脂溶性化合物^[16],有物种特异性和病原特异性,其性质与侵染的病原和物种种类有关。病原诱导的抗病反应还包括活泼氧的产生和过敏性反应等等。水茄和乳茄等抗青枯病植物在青枯病侵染后,能否产生上述多种或其中某种抗菌因素,有必要进行进一步研究。对不同的植物防卫不同的病原菌,防卫机理在方式上可能类似,在内容上却可能存在很大的差异。抗青枯病的茄科植物在青枯病原入侵后如果诱导产生PR蛋白——即溶解菌物细胞壁的酶类,应该不是几丁质酶和 β -1,3葡聚糖酶,而应是肽聚糖酶和脂多糖酶。这是因为青枯病原为革兰氏阳性细菌,其细胞壁主要成分为肽聚糖和脂多糖。

总之,植物的抗病过程,是许多抗病因素相互协调和共同作用的结果。对某一病原,某种或某类植物可能会以其中某一因素起主导和支配作用。研究天然茄科抗性植物中的抗青枯病机理,可以结合茄科植物本身的特点和青枯病原的特征,从上述多方面加以探导研究。在探明这些植物抗性机理及分子水平上的调控机制之后,有望能在茄科作物的抗青枯病育种中有所突破。

参考文献:

- [1] R. R. Nelson(美). 植物抗病育种—概念和应用[M]. 北京: 农业出版社, 1979. 333.
- [2] Price K R, Johnson I T, Fenwick G R. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs [J]. *Crit. REV. Food Sci. Nutr.*, 1987, 26(1): 27—135.
- [3] Mari M, R Iori, O Leoni, *et al.* In vitro activity of glucosinolate-derived isothiocyanates against postharvest fruit pathogens[J]. *Annals of Applied Biology*, 1993, 123(1): 155—164.
- [4] Mackintosh Carol, Gary D Lyon, Robert W, *et al.* Protein phosphatase inhibitors activate anti-fungal defense responses of soybean cotyledons and cell cultures[J]. *Plant Journal*, 1994, 5(1): 137—147.
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第67卷,第1分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- [6] Broekaert Willen F, Franky R G Terras, Bruno P A

- Camnue, *et al.* Novel antimicrobial peptides as components of the host defense system[J]. *Plant Physiology*, 1995, **108**(4): 1 353—1 358.
- [7] Bohlmann Holger. The role of thionins in plant protection[J]. *Crit Rev Plant Sci.*, 1994, **13**(1): 1—16.
- [8] Broglie Karen, Ilan Chen, Mark Holliday, *et al.* 3-Epi-19-Norafroside and 12- β -hydroxycoroglaucigenin from *Asclepias curassavica* Science [J]. *Science* (WASHINGTON DC), 1991, **254**(5 035): 1 194—1 197.
- [9] Sela-Buuriage Marianne B, Anne S Ponstein Sandra A, Bres-Vloemans Leo S Melchers, *et al.* Only specific tobacco (*Nicotiana tabacum*) chitinase and β -1, 3-glucanases exhibit antifungal activity[J]. *Plant Physiology* (ROCKV), 1993, **101**(3): 857—863.
- [10] Alexander Danny, Robert M Goodman, Manuela Gut-rella, *et al.* Increased tolerance to two oomycete pathogens in transgenic tobacco expressing pathogenesis-related protein 1a[J]. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 1993, **90**(15): 7 327—7 331.
- [11] Liu Dong, Kashchandra G Raghorthama, Paul M Hasegawa, *et al.* Osmotin over expression in potato delays development of disease symptoms [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 1994, **91**(5): 1 888—1 892.
- [12] Ponstein Anne S, Scandra A Bres-vloemans, Marianne B Sela-Buurlage, *et al.* A novel pathogen and wound inducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity[J]. *Plant Physiol* (Rockville), 1994, **104**(1): 109—118.
- [13] Zhu Qun, Maher Eileen A, Masoud Sameer, *et al.* Enhanced protection against fungal attack by constitutive 10-expression of chitinase and glucanase genes in transgenic tobacco[J]. *Bio/Technology*, 1994, **12**(8): 807—812.
- [14] Jongedijk Erik, Henk Tigelaar, Jeroen S C Van Roekel, *et al.* Synergistic activity of chitinases and β -1, 3-glucanases enhance fungal resistance in transgenic tomato plants[J]. *Euphytica*, 1995, **85**(1~3): 173—180.
- [15] Jach Guido Birgit Gornhardt, Jhon Mundy, Juergen Logemann, *et al.* Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial expression of different barley antifungal proteins in transgenic tobacco[J]. *Plant Journal*, 1995, **8**(1): 97—109.
- [16] Smith C J. Accumulation of phytoalexins: Defense mechanism and stimulus response systems [J]. *New Phytologist*, 1996, **132**(1): 1—45.

欢迎订阅《广西植物》

《广西植物》创刊于1981年,是由广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所和广西植物学会联合主办的、国内外公开发行的植物学综合性学术刊物。是中国自然科学核心期刊、中国期刊方阵双效期刊、广西十佳科技期刊。

本刊主要刊载植物学及相关学科有创新性的具有较高水平的中英文研究论文,以及植物学领域的新方法、新技术、具有重大应用价值的新成果快报,酌登反映本学科重要领域的国内外最新研究进展的综述及重要著作的评论等。本刊所发表的植物新分类群已刊载于世界权威出版物《邱园索引》,得到了植物学界的承认。自1986年以来,除了通过中国国际书店向国外发行外,还与世界上15个国家的33个研究单位和国内(含港澳台地区)90多个研究单位进行长期交换。从1989年以来,先后成为中国科学引文数据库来源期刊及统计源;中国生物学文摘源期刊;等。

主要栏目:系统演化植物学、植物生态学与环境植物学、植物化学、结构植物学、发育生殖植物学、植物体细胞遗传学与植物细胞工程学、代谢与分子植物学等。

主要读者对象:从事植物学研究的科技人员、大中专院校师生,以及相关学科包括农、林、牧、医药、轻工、水产和环保等方面的工作者。

国内统一刊号:CN 45-1134/Q;国际标准刊号:ISSN 1000-3142。标准大16开本,双月刊,96页。

定价:每册10.00元,全年60.00元。

邮发代号:48-43,全国各地邮局(所)均可订阅。错过订期者可直接向本刊编辑部邮购(加收邮资:平寄2.00元/本,挂号寄4.00元/本),并注明订阅年份、期数、册数。

欢迎广大读者订阅,也欢迎国内外的同行、专家、教授、学者投稿,开展学术讨论,促进学术交流。

通讯地址:广西桂林市雁山 广西植物研究所《广西植物》编辑部

邮编:541006 电话:0773-3550074 E-mail:guihaia@elong.com 联系人:扈成香