

专论与综述

Reviews

植物抗线虫基因与抗性机理研究进展

叶德友^{1*}, 陈劲枫²

(1. 甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 兰州 730070; 2. 南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘要 植物寄生线虫是严重危害农业生产的一类重要病原生物,对全球作物产量造成重大损失。抗线虫基因在植物抗线虫反应中发挥重要作用,发掘抗线虫基因并培育抗线虫品种是防治线虫病害的一条有效途径。抗线虫基因的定位与克隆对解析植物抗线虫性的分子机理做出了巨大贡献,明确线虫与寄主植物之间的互作关系及抗线虫机制,可以为制定和采取更加有效的防控策略提供借鉴。

关键词 植物; 线虫; 抗性基因; 抗性机理

中图分类号: S 432.45 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2012.02.002

Advances in genes and mechanisms resistance to nematodes in plants

Ye Deyou¹, Chen Jinfeng²

(1. Institute of Vegetables, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China;

2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract Plant parasitic nematodes are important pathogens causing significant economic losses to crops all over the world. Nematode-resistant genes in plants play an important role against nematodes. The effective measure to control the pests is to investigate genes and screen varieties resistant to nematodes. Mapping and cloning of nematode-resistant genes have made a great contribution to clarifying molecular mechanisms involved in plant resistance to nematodes. Underlying interaction between nematodes and plants and its resistance mechanisms are of great interest, which can be helpful for making a more effective strategy for nematode management.

Key words plant; nematode; resistance gene; resistance mechanism

植物寄生线虫严重危害全球农业生产,全世界每年因线虫造成的作物产量损失高达1 000亿美元^[1]。植物寄生线虫的取食策略各不相同,外寄生线虫主要寄生在植物的根皮细胞,如毛刺线虫属(*Trichodorus* spp.),而内寄生线虫,如根结线虫属(*Meloidogyne* spp.)和孢囊线虫属(*Heterodera* spp.和*Globodera* spp.),在植物根部建立永久性的取食位点后,线虫便从中吸取营养,进行生长发育和繁殖^[2]。内寄生线虫可通过轮作、土壤消毒和选用抗病品种进行防治,然而,根结线虫具有广泛的寄主范围,孢囊线虫在无寄主的条件下仍可在土壤中存活长达10年以上,这使得通过轮作来防治线虫也无济于事。防治植物内寄生线虫的化学措施,包括利用一些非特异性的和极其有毒的杀线虫剂,由于化

学药剂对环境造成污染和受政府的严格控制,这一方法在实际生产中受到严重制约。因此,抗线虫品种的选育显得愈来愈重要,最重要的是研究抗性基因及其内在的抗性机理。

有关内寄生线虫与寄主之间的互作关系前人已进行了大量的研究,内寄生线虫抗性基因的定位与克隆,对解析线虫抗性的遗传及分子机理作出了巨大贡献。本文对近年来在植物抗线虫基因与抗性机理方面取得的研究成果做一综述。

1 抗线虫基因

1.1 甜菜抗线虫基因

第一个抗线虫基因 *Hs1^{pro1}* 是从甜菜(*Beta vulgaris*)中获得的,该基因是一单显性基因,对甜菜孢

收稿日期: 2011-10-19 修订日期: 2011-11-28

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30830079);国家“863”项目(2010AA10Z108)

* 通信作者 E-mail: ydy_287.my265@yahoo.com.cn

囊线虫 (beet cyst nematode, BCN, *Heterodera schachtii*) 具有抗性^[3]。该基因编码产物包含一个富亮氨酸重复序列 (LRRs) 和一个预测跨膜结构域 (TM), 其蛋白质结构与番茄抗叶霉病基因 *Cf-9* 编码蛋白结构相似。携带 *Hs1^{pro-1}* 基因的甜菜叶片上通常会形成囊肿, 有时会产生所谓的“多顶”表型。不具有这些不利性状的抗性植株后代其外源导入片段减小, 研究发现抗性植株后代中其外源导入片段减小到原始片段的 35% 和 17%, 分子检测后发现在抗性植株中均不含有 *Hs1^{pro-1}* 基因, 这表明在导入片段上可能存在其他的抗线虫基因^[1]。

栽培甜菜中缺乏 BCN 抗源, 其品种抗性均是通过种间杂交将野生甜菜 *B. patellaris*, *B. procumbens* 和 *B. webbiana* 中的 BCN 抗性导入栽培甜菜中^[4]。通过种间杂交形成 3 种抗线虫甜菜植株: (1) 染色体附加系 ($2n=19$); (2) 染色体片段附加系 ($2n=18+f$) 和 (3) 染色体代换系 ($2n=18$)^[1]。这 3 种野生甜菜中至少含有 3 个抗线虫基因, 它们分别位于 3 条不同的同源染色体上, 其中 *Hs1* 位于 *B. patellaris*, *B. procumbens* 和 *B. webbiana* 的 I 染色体上, 分别为 *Hs1^{pat-1}*, *Hs1^{pro-1}* 和 *Hs1^{web-1}*, *Hs2* 位于 *B. procumbens* 和 *B. webbiana* 的 VII 染色体上, 分别为 *Hs2^{pro-7}* 和 *Hs2^{web-7}*, *Hs3* (*Hs3^{web-8}*) 位于 *B. webbiana* 的 VIII 染色体上^[4]。野生甜菜 *B. procumbens* I 染色体上的 *Hs1^{pro-1}* 基因, *B. webbiana* I 染色体上的 *Hs1^{web-1}* 和 VII 染色体上的 *Hs2^{web-7}* 基因均已导入栽培甜菜中, 且这 3 个抗性基因均被定位于栽培甜菜的 IV 染色体上^[5]。

1.2 马铃薯抗线虫基因

马铃薯孢囊线虫 (potato cyst nematode, PCN) 是马铃薯生产上的一种重要病原线虫。目前, 已在马铃薯中定位了许多抗线虫基因。*Gpa2* 是第一个从马铃薯中分离到的抗线虫基因, 它是一个单显性抗性基因, 抗马铃薯白线虫 (*Globodera pallida*), 是采用图位克隆从马铃薯野生亚种 *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* VII 染色体的一个复合位点中分离得到的^[6]。*Gpa2* 与抗马铃薯 X 病毒基因 *Rx1* 高度同源, 两者具有 93% 的核苷酸相似性和 88% 的氨基酸同源性。该复合位点上除了 *Gpa2* 与 *Rx1* 基因外, 还鉴定到了另外两个抗病基因同源序列 (resistance gene homologues, RGHs), 其中 *RGH1* 是一个功能未知的预测抗性基因, 而 *RGH3* 可能是一个假

基因^[7]。Bakker 等^[8]从马铃薯二倍体种 *S. tuberosum* ssp. *tuberosum* 的 3 个单体中鉴定到了 9 个 *Gpa2/Rx1* 基因同源序列, 与 *Gpa2* 和 *Rx1* 基因具有 93%~95% 的序列相似性, 位于马铃薯 VII 染色体上的 *Gpa2/Rx1* 基因簇内。

此外, 在马铃薯中还定位了一些数量性状与单显性抗性基因位点。*Grol. 4* 被定位于 *S. spegazzinii* III 染色体上, 抗马铃薯金线虫 (*Globodera rostochiensis*), 马铃薯二倍体种 IV 染色体上的 QTL 位点 *Gpa4* 对马铃薯白色肥囊线虫具有抗性, *Grol. 1*, *Grol. 2* 和 *Grol. 3* 均源自 *S. spegazzinii*, 分别位于马铃薯 VII、X 和 XI 染色体上, 对马铃薯金线虫具有抗性^[9], *Rmcl* 是一个位于 *S. bulbocastanum* XI 染色体上的单显性基因, 抗根结线虫、孢囊线虫、马铃薯长管蚜 (*Macrosiphum euphorbiae*) 与甘薯粉虱 (*Bemisia tabaci*)^[10]。在马铃薯 V 染色体上定位了 5 个抗性基因, 分别为 *Gpa*, *Gpa5*, *Grp1*, *GroVI* 和 *H1*, *Gpa* 是一个 QTL, 源自 *S. spegazzinii*, 对马铃薯白线虫具有抗性^[11], *Gpa5* 位于 IX 染色体上, 与 *Gpa6* 共同作用抗马铃薯白线虫^[12], *Gpa5*, *Gpa6* 和 *Grp1* 均被定位于 *S. tuberosum* 与马铃薯野生种 *S. vernei*, *S. vernei* ssp. *ballsii*, *S. oplocense* 和 *S. tuberosum* ssp. *andigena* 的种间杂种上, 目前尚不清楚它们的确切来源。*Grp1* 是一个单显性基因, 对马铃薯白线虫和马铃薯金线虫均具有抗性^[13]。*GroVI* 和 *H1* 也是单显性基因, 两者均抗马铃薯金线虫, *GroVI* 源自 *S. vernei*, 而 *H1* 源自 *S. tuberosum* ssp. *andigena*^[14]。

1.3 番茄抗线虫基因

栽培番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 是对根结线虫 (root-knot nematode, RKN, *Meloidogyne* spp.) 较为敏感的蔬菜作物之一, 目前已在番茄中发现了多个抗 RKN 基因。第 1 个抗 RKN 基因是从秘鲁番茄 (*L. peruvianum*) 第 6 染色体短臂上的 *Mi1* 位点克隆获得的, 该基因属 NBS-LRR 类 R 基因家族, 与番茄细菌性叶斑病抗性基因 *Prf* 高度同源, 其蛋白质结构中包含一个卷环 (CC) 基序, N 端有一个超长结构域^[15-16]。该基因具有广谱抗性, 能有效抵抗除北方根结线虫 (*Meloidogyne hapla*) 以外的其他 3 种主要根结线虫, 如南方根结线虫 (*M. incognita*), 爪哇根结线虫 (*M. javanica*) 和花生根结线虫 (*M. arenaria*), 但 *Mi-1* 基因介导的抗性在温度高于 28 °C 时失去活性^[17]。*Mi-1* 基因除抗根结线

虫外,同时对马铃薯蚜虫和白粉虱 Q、B 小种具有抗性^[18-19]。*Hero* 是从番茄中克隆的第 2 个抗 RKN 基因,该基因源自醋栗番茄(*L. pimpinellifolium*),位于番茄第 4 染色体的导入片段上,*Hero* 基因不仅对 RKN 具有抗性,而且抗马铃薯金线虫,对马铃薯白线虫也具有部分抗性^[20]。

已定位的番茄 RKN 抗性基因还包括 *Mi3*^[21]、*Mi5*^[22] 和 *Mi-9*^[17],*Mi-9* 与 *Mi1* 基因一样均来自秘鲁番茄,位于番茄第 6 染色体上,*Mi1* 基因源自秘鲁番茄品系‘PI128657’,*Mi-9* 来自于‘LA2157’品系。*Mi1* 与 *Mi-9* 基因的主要区别在于热稳定性不同,当土壤温度高于 32 °C 时,*Mi1* 基因抗性消失,而 *Mi-9* 基因对根结线虫仍具有抗性^[17]。*Mi3* 位于秘鲁番茄品系‘PI126443-1MH’的第 12 染色体上,该基因在高温下同样失去抗性^[21]。*Mi5* 与 *Mi3* 基因一样也来自于秘鲁番茄品系‘PI126443-1MH’,与 *Mi3* 基因紧密连锁,但是这两个基因的热稳定性不同,在土壤温度高于 32 °C 时 *Mi3* 基因抗性消失。此外,在秘鲁番茄中还发现了其他 5 个抗 RKN 基因 *Mi2*、*Mi4*、*Mi6*、*Mi7* 和 *Mi8*,它们分别来自于秘鲁番茄品系‘PI270435-2R2’、‘LA1708’、‘PI270435-3MH’、‘PI270435-3MH’和‘PI270435-2R2’,其中,*Mi2* 与 *Mi8* 连锁,*Mi6* 与 *Mi7* 连锁,*Mi2*、*Mi4*、*Mi6* 耐高温,在土壤温度为 32 °C 下仍对南方根结线虫具有抗性,而 *Mi7* 和 *Mi8* 在温度高于 25 °C 时对南方根结线虫的抗性丧失^[17]。

1.4 辣椒抗线虫基因

辣椒(*Capsicum annuum*)野生资源及其近缘野生种中广泛存在抗线虫基因,1957 年 Hare 首次在 *C. frutescens* L. ‘Santanka XS’上发现了单显性抗根结线虫基因 *N*,该基因抗南方根结线虫、爪哇根结线虫和花生根结线虫,在 28 °C 以上会丧失部分抗性,该基因抗性已被导入一些商业品种中,如‘Mississippi Nemaheart’^[23]。此后,遗传学家又从 3 份亲缘关系较远的辣椒种质资源‘PI322719’,‘PI201234’和‘CM334’(Criollo de Morelos 334)中发现了 8 个抗线虫基因,分别为 *Me1*、*Me2*、*Me3*、*Me4*、*Me5*、*Me7*、*Mech1* 和 *Mech2*,其中,*Me1*、*Me3* 和 *Me7* 基因分别来自于辣椒品系‘PM-217’(‘PI201234’)、‘PM-687’(‘PI322719’)和‘PM702’(‘CM334’),这 3 个基因具有广谱抗性,能抗花生根结线虫、爪哇根结线虫和南方根结线虫;其他抗根结

线虫基因分别控制对一种根结线虫的抗性,其中,*Me2*、*Me5* 基因分别来自辣椒品系‘PM-217’(‘PI201234’)和‘Yolo Wonder’,抗爪哇根结线虫;*Me4* 基因来自于辣椒品系‘PM-687’(‘PI322719’),抗花生根结线虫;*Mech1* 和 *Mech2* 基因分别来自于辣椒品系‘PM702’(‘CM334’)和‘PM-217’(‘PI201234’),对奇氏根结线虫(*M. chitwoodi*)具有抗性。现已将 *Me1*、*Me3*、*Me4*、*Me7*、*Mech1* 和 *Mech2* 定位于辣椒 P9 染色体上一个 28 cM 的区段内,该基因区段与番茄、马铃薯抗线虫基因位点具有较高的共线性^[24]。辣椒 P9 染色体上的根结线虫抗性基因 *Me3*,马铃薯 X 染色体上的孢囊线虫抗性基因 *Gpa2*,与番茄第 12 染色体上的根结线虫抗性基因 *Mi3* 大致位于同源染色体上的同一个区段,目前仍不清楚这 3 个基因是否为同源基因^[6,25]。

1.5 大豆抗线虫基因

大豆孢囊线虫(soybean cyst nematode, SCN, *Heterodera glycines*)是大豆生产上一种危害严重的世界性害虫,SCN 生理小种分化较多,除 11、13 号小种外,目前已在大豆中发现了 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、15、16 号共 14 个生理小种^[26],并鉴定到了一些抗 SCN 的种质资源,如‘PI88788’、‘PI437654’、‘Peking’、‘PI 90763’、‘PI 438489B’和‘PI 209332’等^[27]。现已在大豆上命名了 5 个 SCN 抗性基因,分别为 *rhg1*、*rhg2*、*rhg3*、*Rhg4* 和 *rhg5*^[28]。此外,Brucker 等^[29]在 SCN 抗源‘PI88788’中发现了 *rhg1* 基因的一个等位基因 *rhg1-b*。目前已发表了 16 张 SCN 抗性 QTL 遗传图谱,有 60 个 SCN 抗性基因或 QTL 被定位于大豆 20 条连锁群中的 17 条连锁群上,包括连锁群 A1、A2、B1、B2、C1、C2、D1a、D2、E、F、G、H、I、J、L、M 和 N。其中,连锁群 G 上的 SCN 抗性 QTL 最多,共有 4 个,连锁群 B1、C2 和 D2 上分别有 3 个 QTL,连锁群 A1、B2、D1a、E 和 M 上分别有 2 个 QTL,而其余连锁群上则分别只有 1 个 QTL。在现有 SCN 抗源中,‘Peking’中含有的 SCN 抗性 QTL 最多,已定位了 9 个 QTL,其次为 SCN 抗源‘PI438489B’,已定位了 8 个 QTL,‘PI437654’中定位了 6 个 QTL,而其余抗源中只含有 5 个或 5 个以下 QTL。在 SCN 抗性 QTL 遗传图谱构建中,‘Peking’是利用最多的抗源材料,其中有 5 张遗传图谱是独立采用该抗源构建的,另有 4 张图谱分别是采用该抗源与‘PI437654’,‘PI88788’

和‘PI90763’组合构建的,目前报道的 QTL 能够解释 SCN 抗性 1%~91% 的表型变异^[30]。尽管已定位的 QTL 较多,但在大多数 SCN 抗源中,SCN 抗性位点 *rhg1* 仍是一个主效 QTL,在已定位的 QTL 中具有最大抗性。*rhg1* 基因被定位于大豆 G 连锁群上,位于 SSR 标记 SIUC-Sca13 与 BARCSatt309 之间,距离 Satt309 约 1.5 cm,其介导的 SCN 抗性与该基因内的 19 bp 的插入缺失片段 SIUCTMD1 共分离^[31]。Meksem 等^[32]从 SCN 抗源‘Peking’中克隆出 SCN 抗性候选基因 *rhg1*,该基因编码一个富亮氨酸重复(LRRs)受体类激酶,与水稻白叶枯病抗性基因 *Xa21* 和拟南芥受体类激酶基因家族高度同源,其蛋白质包含 3 个功能结构域:12 个胞外长末端重复序列(LRRs),1 个跨膜结构域(TM)和 1 个激酶结构域(STK)。

1.6 禾谷类抗线虫基因

禾谷孢囊线虫(cereal cyst nematode, CCN, *Heterodera avenae*)是危害禾谷类作物的世界性病原线虫。小麦(*Triticum aestivum*)品种‘Aus10894’和‘Loros’携带 CCN 抗性基因 *Cre1*,位于小麦 2B 染色体上,对澳大利亚致病型 *Hal3* 有较强抗性,对欧洲致病型 *Hal2*、*Hal3* 也有抗性^[33]。小麦近缘种偏凸山羊草(*Aegilops ventricosa*, 2n=28, D'D'M'M')携带 CCN 抗性基因 *Cre2*、*Cre5* (*CreX*)、*Cre6*, *Cre2* 与 *Cre5* (*CreX*) 为一对等位基因,位于偏凸山羊草 6M' 染色体上, *Cre2* 对欧洲致病型有较强抗性,而 *Cre5* 对法国致病型有一定水平抗性,对澳大利亚致病型 *Hal3* 也有较强的抗性^[34], *Cre6* 为单显性基因,位于偏凸山羊草 5M' 染色体的远端,表现高抗 *Hal3*^[35]。节节麦(*Triticum tauschii*)携带 CCN 抗性基因 *Cre3* (*CcnD1*) 和 *Cre4* (*CcnD2*),它们是一对等位基因,分别表现高抗和中抗 CCN, *Cre3* 基因位于节节麦的 2D 染色体长臂的远端部,对澳大利亚致病型 *Hal3* 具有高水平抗性,但对欧洲致病型 *Hal2*、*Hal3* 敏感, *Cre4* 基因位于节节麦的 2D 染色体长臂的近端^[36]。*CreF* 基因源于小麦品种‘Festiguay’,位于小麦 7HL 染色体上,对 CCN 表现高度抗性^[37]。黑麦(*Secale cereale*)基因组中含有高抗 CCN 的单显性基因 *CreR*,位于山羊草 6R 染色体上^[38]。三芒山羊草(*Aegilops triuncialis*, 2n=28, CCUU)携带 CCN 抗性基因 *CreAet* 基因^[39]。易变山羊草(*Aegilops variabilis*, 2n=28, U'U'SS)是

CCN、禾谷 RKN 的双抗材料,抗性由一对显性基因 *Rkn-mnl* 控制,位于易变山羊草第三同源群染色体 3S' 上^[40]。大麦(*Hordeum vulgare*)中也存在丰富的 CCN 抗性资源,目前在大麦中已经发现 4 个抗线虫基因 *Hal1*、*Ha2*、*Ha3*、*Ha4*。其中, *Hal1*、*Ha2* 和 *Ha3* 均为单显性基因,被定位于大麦 2H 染色体上, *Ha4* 也是一个单显性基因,被定位于大麦第 5H 染色体上,该基因对澳大利亚致病型 *Hal3* 的抗性与 *Cre6* 基因类似^[41]。

2 抗线虫机理

2.1 植物与线虫亲和性互作

要阐明抗线虫基因介导的抗性反应,首先必须了解植物与线虫的亲和性互作。根结线虫和孢囊线虫从卵中孵化后,其 2 龄幼虫进入土壤并在土壤中移动寻找适宜的寄主作物,当 2 龄幼虫进入根皮层后,根结线虫在细胞间移动,而孢囊线虫在细胞内移动,在找到利于取食位点形成的适宜细胞时线虫停止移动^[42]。根结线虫与孢囊线虫取食位点诱导形成的机制基本相似,线虫侵入后在根系中形成一个多核取食细胞并从中汲取养分,2 龄幼虫取食后经过 3 次蜕皮发育成为成虫。孢囊线虫的繁殖方式为有性生殖,雌虫与雄虫交配产卵后孵化出幼虫,1 龄幼虫在卵内蜕皮后并在寄主植物上孵化出侵染性的 2 龄幼虫。尽管温带地区的一些根结线虫种类也有过有性生殖的研究报道,但一些重要的根结线虫种,如南方根结线虫,爪哇根结线虫和花生根结线虫的繁殖方式均为有丝分裂孤雌生殖^[2]。

2.2 植物与线虫非亲和性互作

植物抗线虫反应可分为两类,第一类抗性反应表现为线虫侵染后 5 d 内取食位点的细胞发生过敏反应(hypersensitive response, HR),细胞出现坏死。过敏反应是许多病原菌包括内寄生线虫受到逆境胁迫后的普遍防卫机制,如 *Mi-1*、*Me3* 基因,坏死细胞发生在线虫移动时接触过的细胞和初始取食细胞中^[43-44],而 *H1* 基因中,诱导形成的取食细胞较小且被一层坏死细胞包裹,从而限制了取食位点的进一步扩大^[45]。孢囊线虫的性别分化发生在取食位点形成的第一周内,营养供应较好时,线虫发育为雌虫,反之则发育为雄虫^[46-47]。许多研究发现,即便是依赖孤雌生殖的根结线虫种类,在营养供应较差时,产生的雄虫也较一般情况下要多^[19],这一现象对含

有抗线虫基因的植物中雄虫数目较多的原因做出了合理的解释。

第二类抗性反应表现为线虫侵染后期取食位点的细胞降解,但是并未发生过敏反应。许多植物抗线虫基因介导的抗性反应符合这一抗性机制,如 *Mel*^[44]、*Ha2* 和 *Ha3*^[48] 以及 *Gpa2*^[49]。在线虫侵染初期,亲和与非亲和性互作无明显差异,线虫能够建立功能性的取食位点,使得雄虫和雌虫都能够正常发育,但是在侵染后期,取食细胞的形态发生了变化,抗病植物中取食细胞的扩大受到阻碍,细胞质减少,液泡增多,取食细胞与维管束之间的界限变得模糊,这些特征表明,抗性反应降低了取食细胞的代谢活性,随着取食细胞的降解,取食位点周围的细胞发生坏死。由于线虫发育后期的营养供应受到限制,导致雌虫的生长发育和繁殖受到抑制,这一抗性机制与防卫反应缓慢的植物中产生较多雌虫的研究结果相一致。

2.3 抗线虫基因激活抗性反应

对孢囊线虫或根结线虫具有抗性的单显性 *R* 基因均可引发抗性反应,如线虫侵染后 *H1* 与 *Mi-1* 基因引发了快速的过敏反应^[43],而 *Mel* 与 *Gpa2* 基因则引发了缓慢的抗性反应^[44,49]。已克隆的抗线虫基因与其他一些植物病原如细菌、真菌、卵菌和病毒的抗性基因具有相同的结构基序,这表明抗线虫基因是植物防御体系中的重要成员。*Mi-1* 基因对两种完全不相关的生物种类即根结线虫和蚜虫均具有抗性^[16,50],这表明根结线虫和蚜虫的抗性机制具有相似的信号传导途径。此外,*Gpa2* 与 *Rx1* 两个密切相关的基因对两种完全不同的病原具有抗性,它们分别抗马铃薯孢囊线虫 (*G. pallida*) 和马铃薯 X 病毒^[6,51]。但是,*Gpa2* 基因激活引发缓慢的抗性反应,而 *Rx1* 基因则引起快速的抗性反应,期间并未发生明显的过敏反应。如此高度同源的 *R* 基因如何诱导产生两种截然不同的防御机制,这可能是由于两者的蛋白质结构存在差异,如 *Gpa2* 基因的蛋白质结构中不含有酸性末端。*Gpa2* 与 *Rx1* 基因的 LZ-NBS 结构域高度保守,表明植物的抗线虫性和病毒抗性可能与一般的信号传导途径有关,目前有关学者正在通过互换两基因的结构域进行研究,从而验证这一假说是否成立^[6]。

Mi-1 基因产物主要发挥调控蛋白的作用,其蛋白质 N 端与 LRR 结构域之间存在的分子内互作调

控细胞坏死。对含有 *Mi-1/Mi-1* 基因的番茄突变体进行研究,从中鉴定到了一个对蚜虫和根结线虫均具有抗性的 *rmel* 基因,该基因特异性地识别 *Mi-1* 基因信号^[43]。大豆抗病候选基因 *rhg1* 和 *Rhg4* 与拟南芥受体类激酶基因家族高度同源,*rhg1* 和 *Rhg4* 基因中的一个活性异源二聚体参与或介导了 SCN 抗性,大豆单显性基因 *rhg1* 和 *Rhg4* 介导的双基因抗性反应很可能是由 RHG1 和 RHG4 蛋白的互作所引起^[32]。

2.4 抗线虫基因的特异性

尽管根结线虫与孢囊线虫具有相似的营寄生机制,但是目前尚未发现兼抗两类线虫的抗源植物。*Mi-1* 基因对许多根结线虫种类具有抗性,而 *Gpa2* 基因只对个别根结线虫种类中的特定种群具有抗性。许多研究推测,抗病基因蛋白质结构中的 LRR 结构域决定抗性反应的特异性,LRR 结构域直接或间接地参与了病原识别。抗线虫基因 *Gpa2* 与 *Rx1* 高度同源,但两者蛋白质结构中的 LRR 结构域变异较大,这一发现符合上述推测。*Mi-1* 基因编码产物中含有 LRR 结构域,该结构域能够识别根结线虫与马铃薯蚜虫分泌的无毒基因产物^[16,50]。尽管蚜虫与根结线虫具有相似的取食行为,但两者分泌的无毒基因产物不完全相同,这是首例对两种毫不相关的生物种类均具有抗性的 *R* 基因双重特异性。

此外,有研究认为 *R* 基因产物是大蛋白复合物的一部分^[52]。*Mi-1* 基因编码的蛋白质 N 端结构域与一个包含 200 个 α 螺旋氨基酸残基的 PCI 结构域高度同源,大部分氨基酸残基位于蛋白质的 C 端和多蛋白复合物的亚基内^[53],这表明 *Mi-1* 基因编码蛋白可能是一个多蛋白调控复合物的一部分,作为一个结构支架蛋白与其他蛋白质发生相互作用^[16]。因此,蚜虫与线虫的无毒基因产物并不直接与 *R* 基因蛋白发生相互作用,而是与特定的受体相互作用,并通过 *Mi-1* 基因蛋白引发信号传导级联反应^[50]。

2.5 线虫无毒基因产物的识别

通过植物监控体系可以对蛋白质在线虫寄生过程中所起的作用加以检测,但是目前尚未鉴定到线虫的无毒基因产物。如果线虫通道的邻近细胞发生过敏反应,在线虫侵染的早期就有可能识别到侵染性线虫。抗病植物中的取食细胞发育受到抑制,对线虫的识别发生在线虫侵染后期。线虫侵入植物时,线虫体表首先接触植物细胞,而蚜虫释放分泌

物,其口腔分泌的唾液蛋白将细胞壁降解^[18]。Semblat 等^[54]利用 AFLP 从南方根结线虫的毒性系中检测到了一个无毒系缺失的多态性片段 *map-1*,其编码一个由蚜虫产生的分泌蛋白。对 *Gpa2* 与 *Mi-1* 基因编码的蛋白质结构进行分析发现,*Gpa2* 与 *Mi-1* 蛋白均位于植物细胞的细胞质中^[43,49]。如果无毒基因产物与 *R* 基因产物共定位,线虫分泌进入取食细胞的分泌物就能与这些 *R* 基因产物发生相互作用。*rhg1*,*Rhg4* 和 *Hs1^{pro1}* 基因编码蛋白的 LRR 结构域可能位于细胞外,因此推测,无毒基因产物将很有可能来自于线虫体表或蚜虫的侧腹食管腺。

2.6 诱导系统抗性

除了经典的“基因对基因”抗性类型外,许多研究致力于更普遍的抗性类型,即所谓的诱导系统抗性(induced systemic resistance, ISR)。一些研究表明,根际细菌影响许多线虫种类的侵染,如禾谷孢囊线虫和花生根结线虫^[55]、南方根结线虫^[56]、马铃薯白线虫^[57]以及甜菜孢囊线虫^[58]。细菌表面成分如脂多糖(LPS)和 O-抗原在 ISR 中发挥重要作用,但是,一种 LPS 并非对不同的植物起作用,表明寄主特异性地与其他 LPS 组分而非 O-抗原结合在一起参与信号识别,如核心区域和类脂 A^[59]。在植物对马铃薯白线虫的诱导系统抗性中,核心区域是主要的激发子,而类脂 A 则在抗病机制中发挥更为重要的作用^[60]。

3 展望

在过去的几十年中,有关抗线虫基因的定位与克隆取得了重大进展,对抗线虫基因及其同源序列进行大量的结构与功能分析,将会有助于我们深入阐明植物的抗线虫机制。研究线虫诱导的抗性反应阻碍多核取食细胞的发育机制将会变得十分有意义,从不同植物中筛选鉴定抗线虫基因同源序列,将有助于研究 *R* 基因的分子进化。此外,通过对不同植物的 *R* 基因簇进行比较分析,可以建立从近缘野生物种中分离抗病基因的 PCR 克隆策略。从线虫基因组中筛选鉴定相应的无毒基因产物将是今后面临的一大主要难题,这不仅对于研究信号转导途径特别重要,同时也有利于揭示线虫与植物的共进化学过程。

参考文献

[1] Sandal N N, Salentijn E M J, Kleine M, et al. Backcrossing of

nematode-resistant sugar beet: A second nematode resistance gene at the locus containing *Hs1^{pro-1}*? [J]. *Mol Breed*, 1997 (3):471-480.

- [2] Govere A, Engler J D, Verhees J, et al. Cell cycle activation by plant parasitic nematodes[J]. *Plant Mol Biol*, 2000,43:747-761.
- [3] Cai D, Kleine M, Kifle S, et al. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet[J]. *Science*, 1997, 275: 832-834.
- [4] Kleine M, Voss H, Cai D, et al. Evaluation of nematode-resistant sugar beet (*Beta vulgaris* L.) lines by molecular analysis[J]. *Theor Appl Genet*, 1998,97:896-904.
- [5] Heller R, Schondelmaier J, Steinrucken G, et al. Genetic localization of four genes for nematode (*Heterodera schachtii* Schm) resistance in sugar beet (*Beta vulgaris* L.)[J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 92:991-997.
- [6] Van der Vossen E, Rouppe van derVoort J, Kanyuka K, et al. Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: A virus and a nematode[J]. *Plant J*, 2000,23:567-576.
- [7] Ellis J, Dodds P, Pryor T. Structure, function and evolution of plant disease resistance genes[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2000,3:278-284.
- [8] Bakker E, Butterbach P, Rouppe van der Voort J, et al. Genetic and physical mapping of homologues of the virus resistance gene *Rx1* and the cyst nematode resistance gene *Gpa2* in potato[J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106:1524-1531.
- [9] Kreike C M, Kok-Westeneng A A, Vinke J H, et al. Mapping of QTLs involved in nematode resistance, tuber yield and root development in *Solanum* spp. [J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 92:463-470.
- [10] Martinez de Ilarduya O, Nombela G, Hwang C F, et al. *Rme1* is necessary for *Mi-1*-mediated resistance and acts early in the resistance pathway[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2004, 17: 55-61.
- [11] Bradshaw J E, Meyer R C, Milbourne D, et al. Identification of AFLP and SSR markers associated with quantitative resistance to *Globodera pallida* (Stone) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) with a view to marker-assisted selection[J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 97:202-210.
- [12] Rouppe van der Voort J, Van der Vossen E, Bakker E, et al. Two additive QTLs conferring broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters[J]. *Theor Appl Genet*, 2000,101:1122-1130.
- [13] Rouppe van der Voort J R, Lindeman W, Folkertsma R, et al. A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* spp.) maps to a resistance gene cluster in potato [J]. *Theor Appl Genet*, 1998,96:654-661.
- [14] Jacobs J M E, van Eck H J, Horsman K, et al. Mapping of resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*

- from the wild potato species *Solanum vernei* [J]. Mol Breed, 1996, 2: 51 - 60.
- [15] Milligan S B, Bodeau J, Yaghoobi J, et al. The root-knot nematode resistance gene *Mi* from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes[J]. Plant Cell, 1998, 10: 1307 - 1319.
- [16] Vos P, Simons G, Jesse T, et al. The tomato *Mi-1* gene confers resistance to both root-knot nematodes and potato aphids [J]. Nat Biotech, 1998, 16: 1365 - 1369.
- [17] Veremis J C, Van Heusden A W, Roberts P A. Mapping a novel heat-stable resistance to *Meloidogyne* in *Lycopersicon peruvianum* [J]. Theor Appl Genet, 1999, 98: 274 - 280.
- [18] Kaloshian I, Yaghoobi J, Liharska T, et al. Genetic and physical localization of the root-knot nematode resistance locus *Mi* in tomato [J]. Mol Gen Genet, 1998, 257: 376 - 385.
- [19] Nombela G, Williamson V M, Muniz M. The root-knot nematode resistance gene *Mi-1.2* of tomato is responsible for resistance against the whitefly *Bemisia tabaci* [J]. Mol Plant-Microbe Interact, 2003, 16: 645 - 649.
- [20] Ernst K, Kumar A, Kriseleit D, et al. The broad-spectrum potato cyst nematode resistance gene (*Hero*) from tomato is the only member of a large gene family of NBS-LRR genes with an unusual amino acid repeat in the LRR region [J]. Plant J, 2002, 31: 127 - 136.
- [21] Yaghoobi J, Kaloshian I, Wen Y, et al. Mapping a new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum* [J]. Theor Appl Genet, 1995, 91: 457 - 464.
- [22] Veremis J C, Roberts P A. Identification of resistance to *Meloidogyne javanica* in the *Lycopersicon peruvianum* complex [J]. Theor Appl Genet, 1996, 93: 894 - 901.
- [23] Fery R L, Dukes P D Sr, Thies J A. 'Carolina Wonder' and 'Charleston Belle': Southern root-knot nematode-resistant bell peppers [J]. HortScience, 1998, 33(5): 900 - 902.
- [24] Djian-Caporalino C, Fazari A, Arguel M J, et al. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) *Me* resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome [J]. Theor Appl Genet, 2007, 114(3): 473 - 486.
- [25] Djian-Caporalino C, Pijarowski L, Fazari A, et al. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci *Me-3* and *Me-4* conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) [J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 592 - 600.
- [26] Kim D G, Riggs R D, Robbins R T, et al. Distribution of races of *Heterodera glycines* in the central united states [J]. J Nematol, 1997, 29(2): 173 - 179.
- [27] Meksem K, Pantazopoulos P, Njiti V N, et al. 'Forrest' resistance to the soybean cyst nematode is bigenic: Saturation mapping of the *Rhg1* and *Rhg4* loci [J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 710 - 717.
- [28] Myungsik K, David L H, Bent A F, et al. Fine mapping of the SCN resistance locus *rhg1-b* from PI88788 [J]. The Plant Genome, 2010, 3(2): 81 - 89.
- [29] Brucker E, Carlson S, Wright E, et al. *Rhg1* alleles from soybean PI437654 and PI88788 respond differentially to isolates of *Heterodera glycines* in the greenhouse [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 44 - 49.
- [30] Concibido V C, Diers B W, Arelli P R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean [J]. Crop Sci, 2004, 44: 1121 - 1131.
- [31] Ruben E, Jamaï A, Afzal J, et al. Genomic analysis of the *rhg1* locus: Candidate genes that underlie soybean resistance to the cyst nematode [J]. Mol Genet Genomics, 2006, 276: 503 - 516.
- [32] Meksem K, Jamaï A, Ruben E, et al. Resistance to soybean cyst nematode: An *Xa21*-like gene family that requires possible demerisation for signal transduction [J]. Nematol, 2002, 4: 147.
- [33] Atkinson H J, Lillry C. Engineering resistance to plant-parasitic nematodes [M] // The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes, 1998: 381 - 413.
- [34] Jahier J, Abelard P, Tanguy A M, et al. The *Aegilops ventricosa* segment on chromosome 2AS of the wheat cultivar 'VPM1' carries the cereal cyst nematode resistance gene *Cre5* [J]. Plant Breed, 2001, 120: 125 - 128.
- [35] Ogbonnaya F C, Seah S, Delibes A, et al. Molecular-genetic characterisation of a new nematode resistance gene in wheat [J]. Theor Appl Genet, 2001, 102: 623 - 629.
- [36] Eastwood R F, Lagudah E S, Appels R. A directed search for DNA-sequences tightly linked to cereal cyst-nematode resistance genes in *Triticum tauschii* [J]. Genome, 1994, 37: 311 - 319.
- [37] Paull J G, Chalmers K J, Karakousis A, et al. Genetic diversity in Australian wheat varieties and breeding material based on RFLP data [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 435 - 446.
- [38] Asiedu R, Fisher J M, Driscoll C J. Resistance to *Heterodera avenae* in the rye genome of triticale [J]. Theor Appl Genet, 1990, 79: 331 - 336.
- [39] Romero M D. A cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll) resistance gene transferred from *Aegilops triuncialis* to hexaploid wheat [J]. Theor Appl Genet, 1998, 96(8): 1135 - 1140.
- [40] Yu M Q, Jahier J, Personeddryver F. Chromosome location of a gene (*Rkn-mnl*) for resistance to the root-knot nematode transferred into wheat from *Aegilops variabilis* [J]. Plant Breed, 1995, 114(4): 358 - 360.
- [41] Barr A R, Chalmers K J, Karakousis A, et al. RFLP mapping of a new cereal cyst nematode resistance locus in barley [J]. Plant Breed, 1998, 117: 185 - 187.
- [42] Davis E L, Hussey R S, Baum T J, et al. Nematode parasitism genes [J]. Ann Rev Phytopathol, 2000, 38: 365 - 396.
- [43] Williamson V M. Functional analysis of the *Mi-1* gene [J]. Nematol, 2002, 4: 147.
- [44] Blevé-Zacheo T, Bongiovanni M, Melillo M T, et al. The pepper resistance genes *Mel* and *Mε3* induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultrastructural

- changes upon nematode infection[J]. *Plant Sci*, 1998, 133:79-90.
- [45] Pineda O, Bonierbale M W, Plaisted R L. Identification of RFLP markers linked to the *H1* gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*[J]. *Genome*, 1993, 36:152-156.
- [46] Bleve-Zacheo T, Melillo M T, Andres M, et al. Ultrastructure of initial response of graminaceous roots to infection by *Heterodera avenae*[J]. *Nematologica*, 1995, 41:80-97.
- [47] Mahalingam R, Skorupska H T. Cytological expression of early response to infection by *Heterodera glycines* Ichinohe in resistant PI437654 soybean[J]. *Genome*, 1996, 39:986-998.
- [48] Seah S, Miller C, Sivasithamparan K, et al. Root responses to cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) in hosts with different resistance genes[J]. *New Phytol*, 2000, 146:527-533.
- [49] Govere A, Bakker E, Smant G, et al. R-gene homologs in potato confer resistance against distinct pathogens: Nematodes and viruses[J]. *Phytopathology*, 2001, 91:S147.
- [50] Rossi M, Goggin F L, Milligan S B, et al. The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95(17):9750-9754.
- [51] Bendahmane A, Kanyuka K, Baulcombe D C. The *Rx1* gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses[J]. *Plant Cell*, 1999, 11:781-791.
- [52] Dangl J L, Jones J D G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection[J]. *Nature*, 2001, 411:826-833.
- [53] Hofmann K, Bucher P. The PCI domain: A common theme in three multiprotein complexes[J]. *Trends Biochem Sci*, 1998, 23(6):204-205.
- [54] Semblat J P, Rosso M N, Hussey R S, et al. Molecular cloning of a cDNA encoding an amphid-secreted putative avirulence protein from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2001, 14:72-79.
- [55] Sikora R A. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological-control of plant parasitic nematodes[J]. *Ann Rev Phytopathol*, 1992, 30:245-270.
- [56] Hallmann J, Rodriguez K R, Klopper J W. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control[J]. *Soil Biol Biochem*, 1999, 31:551-560.
- [57] Hasky G K, Hoffmann H S, Sikora R A. Resistance against the potato cyst nematode *Globodera pallida* systemically induced by the rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus sphaericus* (B43)[J]. *Fund Appl Nematol*, 1998, 21:511-517.
- [58] Neipp P W, Becker J O. Evaluation of biocontrol activity of rhizobacteria from *Beta vulgaris* against *Heterodera schachtii* [J]. *J Nematol*, 1999, 31:54-61.
- [59] Van Wees S C M, Pieterse C M J, Trijssenaar A, et al. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 1997, 10:716-724.
- [60] Reitz M, Oger P, Meyer A, et al. Importance of the O-antigen, core-region and lipid A of rhizobial lipopolysaccharides for the induction of systemic resistance in potato to *Globodera pallida* [J]. *Nematol*, 2002, 4:73-79.

(上接 3 页)

也适合农药剂型、制剂与施药器械。农药剂型应该配药简易、施药方便,省力、省工;应该以水基液剂取代油基液剂,固体制剂取代液体制剂,固体粒状直接使用(粒剂)或液用(如水分散性粒剂)制剂取代固体粉状直接使用(粉剂)或液用(如可湿性粉剂)制剂,贮运中避免易燃易爆、吸潮结块、包装破损或易渗易漏等。药械应多样化发展,适应不同农作物及不同施药目的之需要;施药要与适当剂型配合,提高施药量的精准性、对靶标的覆盖率及沉积比率;杜绝漏施、重施及药械施药时药液的跑、冒、滴、漏等,均可分别纳入农药“高效”与“低风险”的范畴。

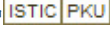
4 结束语

农药发展的历史就是不断提高药效、减少不良副作用的过程。在人类追求粮食生产和食品安全,实现绿色生态农业的同时,高效、低风险农药的发展是实现这一目标的必经之路。同时,也要清醒地看到,发展高效、低风险农药,任重而道远。

参考文献

- [1] 韩嘉莱. 农药概论[M]. 北京:中国农业大学出版社,1995.
- [2] 梁文平,郑斐能,王仪,等. 21 世纪农药发展的趋势—绿色农药与绿色农药制剂[J]. *农药*, 1999, 38(9):1-2.
- [3] 谢建军,官珊,胡美英,等. 基于绿色食品生产的农药研究新进展[J]. *广州大学学报(自然科学版)*, 2004, 3(5):410-414.
- [4] 徐汉虹. 植物化学保护学[M]. 北京:中国农业出版社,2007.
- [5] Bernadou A, Demares F, Couret-Fauvel T, et al. Effect of fipronil on side-specific antennal tactile learning in the honeybee [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2009, 55(12): 1099-1106.
- [6] Hassani A K E, Dacher M, Gauthier M, et al. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*) [J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2005, 82(1):30-39.
- [7] 氟虫腈从 7 月 1 日正式停用[J]. *植物医生*, 2009, 22(4):24.
- [8] 刘扬涛,吕选忠,于宙. 无公害绿色农药的发展方向[J]. *农业环境与发展*, 2002(6):11-13.
- [9] 袁会珠,徐映明,芮昌辉. 农药应用指南[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2011.

植物抗线虫基因与抗性机理研究进展

作者: [叶德友](#), [陈劲枫](#), [Ye Deyou](#), [Chen Jinfeng](#)
作者单位: [叶德友, Ye Deyou\(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 兰州, 730070\)](#), [陈劲枫, Chen Jinfeng\(南京农业大学园艺学院, 南京, 210095\)](#)
刊名: [植物保护](#) 
英文刊名: [Plant Protection](#)
年, 卷(期): 2012, 38(2)

本文读者也读过(3条)

1. [陈书龙](#). [CHEN Shu-long](#) [农作物线虫病害防治措施、问题及发展方向](#) [期刊论文]-[河北农业科学](#)2005, 9(4)
2. [高秀](#). [崔磊](#). [李洪连](#). [王晓鸣](#). [唐文华](#). [Robert L. CONNER](#). [林小虎](#). [李洪杰](#). [GAO Xiu](#). [CUI Lei](#). [LI Hong-Lian](#). [WANG Xiao-Ming](#). [TANG Wen-Hua](#). [Robert L. CONNER](#). [LIN Xiao-Hu](#). [LI Hong-Jie](#) [硬粒小麦品种Waskana和Waskowa对禾谷孢囊线虫\(Heterodera filipjevi和H. avenae\)的抗性](#) [期刊论文]-[作物学报](#)2012, 38(4)
3. [吴杨](#). [周会](#). [黄诚华](#). [WU Yang](#). [ZHOU Hui](#). [HUANG Cheng-hua](#) [植物抗线虫分子机制研究进展](#) [期刊论文]-[南方农业学报](#)2011, 42(9)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwbh201202002.aspx