

核盘菌弱毒现象及其生防潜能的研究进展

聂峰杰¹, 黄丽丽², 康振生²

(1. 宁夏农业生物技术重点实验室, 宁夏 银川, 750002;

2. 西北农林科技大学植物保护学院, 陕西省农业分子生物学重点实验室, 陕西 杨凌, 712100)

摘要:核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)因其缺乏抗性资源、寄主广泛、抗药性等原因,在防治上存在极大困难。核盘菌种内存在明显的致病性分化现象,自然界中存在弱致病力菌株。本文对引起核盘菌致病力衰退的 RNA 病毒(SsDRV)、单链环状 DNA 病毒(SsHADV-1)和部分没有定性的双链 dsRNA 因子等真菌病毒进行了归纳;阐述了真菌病毒在病原菌群体中的传播方式;讨论了如何打破菌丝不亲和带来的界限,使得真菌病毒在菌丝间有效地传播,为探索用于核盘菌的生物防治提供新思路。

关键词:核盘菌;真菌病毒;弱毒现象;生物防治

中图分类号:S432.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-9084(2013)03-0334-07

Research progress on phenomenon and biological control potential of hypovirulence in *Sclerotinia sclerotiorum*

NIE Feng-jie¹, HUANG Li-li², KANG Zhen-sheng²

(1. Key Lab of Agricultural Biotechnology of Ningxia, Yinchuan 750002, China;

2. College of Plant Protection and Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology
for Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary is a worldwide pathogenic fungus. It is difficult to control due to the lack of resistant plant lines, wide range of hosts and chemical fungicides resistance. *S. sclerotiorum* isolates have various pathogenicity. Some hypovirulent strains have been identified. This paper summarized the mycoviruses infecting *S. sclerotiorum* including RNA virus (SsDRV), single-stranded circular DNA virus (SsHADV-1) and some undetermined double-stranded RNA (dsRNA) factors. The transmission path of the mycovirus was explained. The way to break the mycelium incompatibility boundary was reviewed for effective spread of mycovirus between mycelium. New ideas and clues for future prevention and biological control of *S. sclerotiorum* were discussed.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*; Mycovirus; Hypovirulence; Biological control

核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)是一种世界范围内的病原真菌,寄主范围非常广泛,常见的寄主包括油菜、向日葵、大豆等油料作物,以及部分十字花科作物、多种蔬菜、中药材等。由核盘菌引起的菌核病造成了作物的大量减产和巨大的经济损失,如油菜菌核病在我国长江中下游油菜产区平均发病率为 10%~30%,严重时可达 80%,向日葵菌核病在东北华北的向日葵产区的平均发病率为

30%~60%,严重地块达到 90% 以上甚至绝产。然而菌核病因缺乏野生抗性资源、自然寄主广泛、病原菌自身抗药性等原因,在防治上一直存在极大困难。近年来,很多学者^[1~10]对不同寄主或不同地域来源的核盘菌菌株的生物学特性进行了研究,虽然不同来源的核盘菌的致病力没有发现规律性的分化,但是核盘菌确实存在强弱致病型的分化,这表明核盘菌中存在致病力衰退的现象,这种现象已在多种植

物病原真菌中报道过^[11]。研究表明,植物病原真菌致病力的衰退与真菌病毒、dsRNA 因子、真菌质粒或线粒体 DNA 突变等有关系,真菌的弱毒特性可以通过菌丝融合或无性繁殖的方式在病原菌群体中传播,这一机制使其可用于植物病害的生物防治。因此,深入研究核盘菌的致病及弱毒现象机理可为核盘菌的防治提供新思路。

1 核盘菌的弱毒现象

1.1 核盘菌的致病性分化

大多数学者研究发现核盘菌种内存在致病性分化的现象。江西省农业科学研究所^[1]于 1979 年报道了不同地区的油菜菌核病菌的分离株之间有致病的强弱差别。1990 年刘万仁^[2]将采自我国北方和南方农作物、蔬菜和中草药等作物上的 60 多个核盘菌菌株进行致病性的研究发现,采自北方和南方的分离株生态型与专化型有差异,它们都包含有致病力强弱不同的菌株,但似乎采自北方的菌株的致病性更强。李国庆等^[3]对不同寄主来源和不同地域的核盘菌进行研究认为,不同核盘菌菌株在油菜上的致病性表现为绝大多数菌株的致病性很强,差异不明显,没有质的分化。

对于地理来源和寄主来源与致病性的关系,Price^[4]和 Steadman^[5]发现采自同一寄主的和采自同一地区的核盘菌菌株间的致病性表现出很大的差异,但是这种差异与菌株的寄主和地理来源的关系不明显。刘勇^[6,7]测定了 15 个构建于 4 个不同地区油菜核盘菌的子囊孢子单孢菌系的致病力,发现单孢菌系的致病力间存在差异。李永红^[8]研究发现新疆阿勒泰地区核盘菌对向日葵的侵染很强,但对油菜和大豆的侵染较弱,而在陕西大荔的油菜与大豆、油菜与向日葵的轮作田中发现,核盘菌对油菜和向日葵的侵染很强,却不侵染大豆;李沛利^[9]和聂峰杰^[10]分别对四川省和陕西省核盘菌的研究证明核盘菌种群内有明显的致病性分化,各地均存在致病力不同的菌株,来自不同寄主的菌株也存在致病力的差异,但是这种差异同地理来源和寄主来源的关系不明显。

1.2 核盘菌存在弱毒性

1.2.1 自然条件下存在弱毒菌株 核盘菌在自然条件下存在弱毒菌株(表 1)。Boland^[12]1992 年首次报道了在加拿大一份土壤样品中分离到一株弱致病力菌株 91,该菌株在 PDA 上生长缓慢,菌落小且

不规则扩展,萌发产生的菌丝的致病力很弱。李国庆^[13]1996 年报道了自黑龙江省佳木斯市的一株茄子病残体上的菌核中分离获得弱毒菌株 Ep-1PN,其致病力弱且具有可传染性,是自然衰退的弱毒力菌株。与正常菌株相比,Ep-1PN 在 PDA 上培养生长速度慢,菌落不规则扩展,气生菌丝发达,菌核产量较低。Zhang^[14]2006 年在湖北省孝感市一块油菜田中分离到一株弱致病力菌株 XG36-1,该菌株菌落呈扇形扩展,气生菌丝较丰富,产菌核较少且菌核不规则排列于菌落。聂峰杰^[5]2008 年在陕西省油菜病残体上分离到两株无致病力的核盘菌菌株 SMX6-1-4 和 SCG1-1-1 及部分弱致病力的菌株。Yu^[15]2009 年在湖南的一株油菜病残体中分离到一株弱致病力分离株 DT-8,该菌株在 PDA 上生长缓慢,菌丝稀疏,色素分布不均,菌核小且形成时间较长。刘立江^[16]等 2011 年自油菜病残体的菌核中分离获得弱致病力菌株 HN-138,该菌株的生长速度、菌落形态与正常菌株相比没有显著差异,呈均匀放射性扩展,但是菌丝茂盛、气生菌丝发达,不产生菌核。谢甲涛^[17]2011 年采自发病大戟茎秆内的菌核分离的菌株 WF2-1,菌落边缘呈扇形扩展,菌丝分枝密且部分菌丝尖端有原生质渗出,对油菜大豆等寄主植物致病力弱。

1.2.2 人工诱变弱毒菌株 在实验室采用诱变手段或通过核盘菌继代培养可能得到致病力弱的突变菌株。Godoy^[18]于 1990 年采用紫外线诱变核盘菌子囊孢子获得了丧失致病能力的核盘菌后代。李国庆等^[19]1993 年将来自向日葵上的核盘菌菌株 Sun-1P 经过多次转代培养,及冰箱保存后菌株的致病力变弱,产菌核的能力降低,生理特性可能发生了变异。Huang^[20]1981 年自加拿大向日葵病残体上采集到一株产生褐色菌核的强致病力菌株,经过实验室内转代保存,Li^[21]2000 年得到该菌株的单子囊孢子有性子代 S10,该菌株产生不规则的菌丝分枝,菌落呈褐色,菌核产量减少,在 PDB 培养液中的草酸积累量显著减少,对油菜的致病力明显减弱。

1.3 核盘菌的弱毒因子

研究表明核盘菌中存在多种与弱毒相关的真菌病毒(表 1),包括 RNA 病毒、单链环状 DNA 病毒等,除此之外,还存在部分没有定性的双链(double-stranded)RNA(dsRNA)因子^[22,23]。

表 1 不同核盘菌弱毒菌株的特征及相关真菌病毒种类及特性
Table 1 Characteristics of different hypovirulent strains of *Sclerotinia sclerotiorum* and related fungi virus

弱毒菌株 Hypovirulent strains			真菌病毒 Fungi virus			参考文献 Reference
编号 Code	来源 Origin	生物学特性 Biological characteristics	类型 Type	命名 Name	特性 Characteristics	
91	华盛顿土壤 Soil, Washington D C	生长缓慢,菌落小且不规则扩展 Grow slowly, expanse irregularly with small colonies	dsRNA	-	双层膜,70nm Lipid bilayer, 70nm	[12],[24]
Ep-1PN	黑龙江佳木斯 茄子 Eggplant, Jiamusi Heilongjiang	生长缓慢,菌落不规则扩展, 气生菌丝发达,菌核产量较低 Grow slowly, expanse irregularly with vigorous aerial mycelium, but less sclerotia	dsRNA	SsDRV SsRV-L	SsDRV 6 400bp,与弱毒紧密相关; SsRV-L 7 400bp,弱毒作用较 SsDRV 轻微 6 400bp-long SsDRV, closely related to thehypovirulent; 7 400bp-long SsRV-L, slightly related to the hypovirulent	[13],[25] [26],[27]
XG36-1	湖北省孝感市 油菜 Rape, Xiaogan, Hubei	菌落扇形扩展,气生菌丝发达, 产菌核较少且不规则排列于菌落 Fan-shaped colony, with vigorous aerial mycelium, but less sclerotia which distributed irregularly	未知 Unknown	-	约 40nm,数量稀少,具有传染性 About 40nm, less amount capable of infectious	[14],[29]
DT-8	湖南 油菜 Rape, Hunan	生长缓慢,菌丝稀疏, 色素分布不均, 菌核小且形成时间较长 Grow slowly, less aerial mycelium, pigment uneven distributed, small sclerotia developed slowly	DNA 病毒 DNA virus	SsHADV-1	单链环状,全长 2 166nt, 等轴球形颗粒 Single ring, 2 116nt-long, axial spherical particles	[15]
HN-138	油菜 Rape	菌落形态正常,气生 菌丝发达,不产生菌核 Normal shape of colony with vigorous aerial mycelium but no sclerotia	DNA 病毒 和 dsRNA DNA virus and dsRNA	SsHADV-1 SsPV-like-1	SsHADV-1 同 DT-8; SsPV-like-1 由 6 213bp 和 5 878bp 的两个 dsRNA 片段组成 SsHADV-1 equals to DT-8 Ss PV-like-1 composed of 6 213bp- and 5 878bp-long fragments of dsRNA	[16]
WF2-1	大戟 Euphorbia	菌落呈扇形扩展,菌丝分枝密且 部分菌丝尖端有原生质渗出 Colony fan-shaped extension, dense mycelia branches with parts exuding plasma transuded at the top	dsRNA	SsPV-1/ WF2-1	由 2 287bp 和 2 274bp 两个 dsRNA 片段组成 Composed of 2 287bp- and 2 274bp-long dsRNA segments	[17]

1.3.1 RNA 病毒 目前,在核盘菌中已发现几种与核盘菌致病力衰退相关的 RNA 病毒。Boland^[12,24]首次在弱毒菌株 91 中发现存在双层膜、70nm 大小的真菌病毒,并认为其所携带的 dsRNA 因子与菌株弱毒特性相关。李国庆等^[25]从 Ep-1PN 中分离到 3 种不同的 dsRNA 片段,大小分别为 1.0kb,6.4kb 和 7.4kb,其中 6.4kb 大小的片段与 Ep-1PN 弱毒性状紧密伴随出现,研究证实其为与核盘菌致病力衰退相关的真菌病毒基因组 RNA,命名为 SsDRV (*S. sclerotiorum* debilitation-associated RNA virus)^[26]。SsDRV 与植物上的 *Flexiviridea* 科 *allexivirus* 属病毒以及一种未分类的侵染植物病原菌灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)的真菌病毒 *Botrytis virus F* (BVF) 有较高的同源性,但是 SsDRV 因其缺乏外壳蛋白和运动蛋白而有别于 *Allexivirus* 属植物病毒和 BVF。用透射电镜从 Ep-1PN 的菌丝和菌核细胞中没有观察到类似病毒粒子的存在,SsDRV 也许以裸露的形式存在于胞质内。

Ep-1PN 中分离出的 7.4kb 的 dsRNA 片段属

于一种类似于人类戊型肝炎病毒(*Hepatitis E Virus*)的真菌病毒,特命名该病毒为核盘菌 RNA 病毒 L (*S. sclerotiorum* RNA virus L, SsRV-L)^[27]。在 Ep-1PN 的培养物中仅得到 3 株含有 SsRV-L 的分离株,发现 3 个分离株的菌落生长速度和致病力都弱于无病毒菌株,但明显强于 Ep-1PN,表明 SsRV-L 对宿主核盘菌的致病力有影响,但作用较 SsDRV 要轻微许多。

Ep-1PN 中分离出的 1.0kb 大小的片段不能稳定出现,序列比对发现其属于 SsDRV 的缺陷型 dsRNA^[28]。

1.3.2 DNA 病毒 以往的研究表明真菌中已发现的所有真菌病毒均为 RNA 病毒,甚至有学者认为真菌中可能存在一种可抑制 DNA 病毒复制和增殖的特殊机制。

Yu^[15]等 2009 年在湖南的一株油菜病残体中分离到一株形态学特征与 Ep-1PN 相似致病力更弱的分离株 DT-8,并从中分离出与弱毒相关的单链环状 DNA 病毒(SsHADV-1),首次证实真菌中存

在 DNA 病毒。SsHADV - 1 全长 2 166nt,呈单链环状,序列分析发现该病毒结构与双生病毒科(*Geminiviridae*)中玉米线条病毒属(*Mastrevirus*)的基因结构相似,复制相关蛋白与双生病毒具有较高同源性,病毒粒子为等轴球形颗粒,与双生病毒粒子两个不完整的二十面体的双联体结构显著不同。

对 HN138 的研究发现该菌株感染了 2 种病毒,一种是与 SsHADV - 1 病毒相同 DNA 病毒,另外一种未知的 dsRNA 病毒^[16]。

1.3.3 其它因子 从 HN138^[16]中分离出的 dsRNA 包括两个组分,分别为 dsRNA - 1 和 dsRNA - 2,全长为 6 213bp 和 5 878bp。分析表明 dsRNA - 1 与玉蜀黍黑粉病病毒 H1 (*Ustilago maydis* virus - H1, UmV - H1)具有较高的同源性;dsRNA - 2 可能是病毒的外壳蛋白(coat protein, CP)。比较基因组学分析表明 HN138 中的 dsRNA 基因组结构与真菌病毒双分病毒科(*Partitiviridae*)类似,但是其基因组显著大于双分病毒的基因组,暂时命名为核盘菌双分病毒类似病毒(*S. sclerotiorum* partitivirus like virus1, SsPV - like - 1)。序列分析发现 SsPV - like - 1 仅与隶属于整体病毒科(*Totiviridae*)的真菌病毒 UmV - H1 有较近的亲缘关系。这是首次在核盘菌中发现有别于双分病毒的双节段病毒。

对弱毒株 XG36 - 1^[14]研究发现,其中存在与弱毒相关的真菌病毒,这种真菌病毒很有可能是一种新的病毒,它使 XG36 - 1 致病力严重衰退,且具有传染性。在电镜下发现这种病毒粒体的直径约 40nm,数量稀少,但是未提到其核酸片段。

从核盘菌强致病力菌株 XG19 - 2^[29]中提取到 dsRNA 片段,命名为 SsXG19 - 2RV。通过该 dsRNA 的克隆,得到了部分 cDNA 序列,发现该真菌病毒与 *Diaporthe ambigua* RNA virus 1(洋梨干枯病病原菌病毒, DaRV1)有高度的同源性, DaRV1 可以使寄主产生弱毒性,而 SsXG19 - 2RV 对菌株 XG19 - 2 并没有影响。

WF2 - 1^[17]中含有两条大小分别为 2 287bp、2 274 bp 的 dsRNA(分别命名为 dsRNA1 和 dsRNA2)。研究表明 WF2 - 1 中所含有的病毒属于双分病毒科的一个新种,命名为 SsPV - 1/WF2 - 1(*Sclerotinia sclerotiorum* partitivirus1 WF2 - 1)。

2 核盘菌弱毒现象的生防潜能

2.1 核盘菌弱毒因子的传播

真菌病毒的侵染性是目前研究的一个重要方面,对了解真菌病毒与核盘菌的互作关系、真菌病毒

的复制过程和作为生物防治工具等有重要的意义。真菌病毒传播模式一般分为垂直传播和水平传播两种。

垂直传播主要是真菌繁殖时产生的孢子携带病毒进行传播。研究表明真菌无性生殖产生的无性孢子直接来源于菌丝体,病毒携带率很高,可通过胞质传播^[30],核盘菌的菌核中能检测到真菌病毒的存在^[12];真菌的有性孢子传毒比较少,侵染率较低,大多数子囊菌亚门的真菌有性子代未发现真菌病毒或 dsRNA^[31]。研究表明:Ep - 1PN 的弱毒特性不能够稳定地传递给其有性子代,随机测定了 30 多个有正常培养性状的有性子代的致病力表明它们不但恢复了生长也恢复了致病作用^[32]。对核盘菌弱毒菌株 XG36 - 1^[29]的菌核进行诱导,只有少数菌核可以萌发产生子囊盘,对获得的 104 个子囊孢子单孢分离物进行测定发现全部恢复了核盘菌的正常培养特性,与 XG36 - 1 存在显著差异($P < 0.05$),从中随机挑取的 30 个菌株致病力都恢复了正常。

水平传播目前还没有发现自然的体外传播途径,仅依赖寄主个体间菌丝融合扩散^[33],但菌丝融合只有在营养体亲和型相同的菌株的细胞间才能进行。研究表明:菌株 Ep - 1PN 中的弱毒因子可以在叶面上和土壤中侵染营养体亲和型相同的正常菌株,使正常菌株毒力衰退^[34]。

2.2 核盘菌营养不亲和对弱毒因子传播的影响

营养不亲和是指两个病原菌不能相互融合,菌丝间会组建一个非自身识别系统,通过在不同个体间形成异核体以阻止真菌病毒、质粒等有害遗传因子的水平转移,从而保护真菌个体^[35]。核盘菌在长期进化过程中形成了复杂的营养不亲和型,对核盘菌菌株进行亲和性的测定后^[36,37]发现核盘菌的非亲和群大多是由菌株自身亲和得到的,而不同菌株间组成亲和群的比例很小。因此,如何克服核盘菌复杂的营养不亲和限制,扩大弱毒因子对核盘菌种群的影响,成为其用于生物防治的一大难题。

2.3 核盘菌弱毒因子生防途径的探索

为了打破营养不亲和性的限制,实现真菌病毒粒子在不同寄主之间的转移和繁殖,进而达到防治病害的作用,国内外学者从不同角度,利用不同方法开展了大量的研究。

2.3.1 原生质体融合技术 姜道宏^[34]采用原生质体融合技术把 Ep - 1PN 中的 dsRNA 转移到营养体非亲和型的菌株中,使后者转变为弱毒株,打破了真菌病毒无法在营养非亲和的菌株间传播的限制,为 Ep - 1PN 作为田间生物防治因子提供了可能。但

是原生质融合技术也存在一些问题,如融合子的营养亲和型发生变化有可能成为与两个亲本都不一样的营养亲和型;原生质体再生后代中有较高频率的恢复毒力的菌株。

2.3.2 基因工程技术 Yu^[15] 等将 DT-1 与携带潮霉素磷酸转移酶基因的营养不亲和核盘菌菌株 Ep-1PNA367 对峙培养,10d 后挑取接触区菌丝于含潮霉素的培养基上筛选,结果表明,约 30% 能在选择性培养基上生长的菌落表现弱毒特性,提取 DNA 测定发现,表现出弱毒特性的 Ep-1PNA367 分离物均含有 SsHADV-1 的基因组 DNA,从而证明了 SsHADV-1 可在营养不亲和性菌株间水平传播。

采用 PEG 介导转化核盘菌原生质体的方法^[38],将从弱毒菌株 DT-8 菌丝体中直接提取的病毒 DNA(含双链和单链)、纯化的 SsHADV-1 病毒粒体和从病毒粒体裂解得到的 ssDNA 分别转染强毒菌株 Ep-1PNA367,试验证明病毒转染成功,且不同转染子在是否携带病毒亚基因及其亚基因组的大小上存在差异。

盾壳霉(*Coniothyrium minitans*)作为核盘菌的重要的寄生菌,能寄生三叶草核盘菌(*S. trifoliorum*)、小核盘菌(*S. minor*)和洋葱小核菌(*S. cepivorum*)等近缘真菌^[39],因此将 SsDRV 的全长 cDNA 通过农杆菌介导导入盾壳霉核染色体上也极有可能获得具传染活性的 SsDRV。携带具有传染活性的 SsDRV 的盾壳霉工程菌株将在很大程度上扩大对核盘菌及其近缘真菌的生物防治范围^[40,41]。

2.3.3 其他技术 核盘菌种内营养不亲和和能阻止真菌病毒的传播,但是有证据表明,有些真菌病毒可以在非营养亲和型的菌株间甚至不同的属间进行低概率的传播,从一种寄主扩散至另外一种亲缘关系较远的寄主。来自核盘菌弱毒株 Ss27 的 dsRNA 在室内可以通过对峙培养转染给小核盘菌(*S. minor*)^[42],核盘菌的 SsDRV 同样可以通过对峙培养传递给同一属的雪腐核盘菌(*S. nivalis*)^[43]。

利用生物工程将真菌病毒的 cDNA 导入核盘菌中是解决其传播困难的重要途径,在弱毒菌株经典案例板栗疫病的研究中,Nuss 等^[44]将病毒的 cDNA 整合在寄主核染色体上故可以稳定遗传给有性子代。Chen 等^[45]通过电击法将病毒全长 cDNA 导入真菌的原生质体的方法也能使病毒克服营养亲和性的限制,扩大了真菌病毒的寄主范围。Sasaki 等^[46]利用生物释放轰炸法将栗疫病弱毒株 CHV1-EP713 的侵染性弱毒因子的 cDNA 克隆成功地转化

了三种不同属的植物病原真菌。这对核盘菌的弱毒病毒的利用给予了启示,对提高弱毒株的生防潜能有重要的意义。

3 结语

核盘菌因缺乏野生抗性资源、自然寄主广泛、病原菌自身抗药性等原因,在防治上存在极大困难,弱毒因子作为重要的生物防治因子的提出,为核盘菌的防治提供了新的途径。近年来国内外学者大量的研究工作使人们对该领域有了新的认识,为核盘菌的生物防治奠定了一定的基础。但是,仍然有许多问题亟待解决,如核盘菌在自然界中广泛存在弱毒菌株,而引起弱毒的因子不尽相同,引起弱毒的机理也有差异,大量的筛选工作有待于进一步开展;核盘菌在实验室内诱导或继代培养得到的致病力减弱的培养物中并未检测到真菌病毒的存在^[21],引起致病力衰退的原因是否由病原菌本身分化变异或 mtDNA 发生变异造成还有待于进一步研究;核盘菌种内复杂的营养不亲和型限制真菌病毒的传播,但是真菌病毒极有可能跨种传播,这种低概率的跨种传播机理有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 中国农业科学院油料作物研究所. 油菜菌核病[M]. 北京:农业科技出版社,1979.
- [2] 刘万仁,王崇仁,吴友三. 核盘菌生态型和致病性分化的研究[J]. 沈阳农业大学学报,1990,21(2):141-145.
- [3] 李国庆,王道本,姜道宏,等. 不同核盘菌株及其近缘种的 RAPD 分析[J]. 植物病理学报,2000,30(2):166-170.
- [4] Price K, Calhoun J. Pathogenicity of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary to several hosts[J]. Phytopathol,1975,83:232-238.
- [5] Steadman J R, Jung G, Adams M S, et al. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) distinguishes three species of *Sclerotinia* but not pathogenic variability in *S. sclerotiorum* isolates from diverse host and geographic origin[J]. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, 2000,43:158-159.
- [6] 刘勇. 核盘菌单孢菌系间致病性的研究[J]. 西南农业大学学报,1996,18(6):537-538.
- [7] 刘勇,刘红雨,曾正宜. 油菜菌核病菌系致病性研究[J]. 中国油料作物学报,2001,23(3):54-56.
- [8] 李永红,王灏,李建厂,等. 核盘菌对油菜、向日葵和大豆的侵染及其致病性分化研究[J]. 植物病理学报,2005,35(6):486-492.

- [9] 李沛利,叶华智.核盘菌致病性分化研究[J].植物保护,2006,5(32):29-31.
- [10] 聂峰杰,左叶信,黄丽丽,等.陕西省核盘菌不同分离株对油菜的致病性研究[J].植物保护学报,2010,6(37):499-504.
- [11] Heiniger U, Rigling D. Biological control of chestnut blight in Europe[J]. Ann Rev Phytopathol, 1994, 32: 581-589.
- [12] Boland G J. Hypovirulence and double-stranded RNA in *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Can J Plant pathol, 1992, 14:10-17.
- [13] 李国庆,王道本,黄鸿章,等.来源于佳木斯茄子上的核盘菌菌株多样性的研究[J].植物病理学报,1996,26(3):237-240.
- [14] Zhang L Y, Fu Y P, Xie J T, et al. A novel virus that infecting hypovirulent strain XG36-1 of plant fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Virology Journal, 2009, 6:96.
- [15] Yu X, Li B, Fu Y P, et al. A geminivirus-related DNA mycovirus that confers hypovirulence to a plant pathogenic fungus [J]. PNAS, 2010, 107(18):8387-8392.
- [16] 刘立江,谢甲涛,姜道宏,等.核盘菌中发现一种类似双分病毒的真菌病毒[A].中国植物病理学会2011年学术年会论文集[C].北京:中国农业科学技术出版社,2011.350.
- [17] 谢甲涛,肖雪琼,付艳苹,等.核盘菌毒力衰退与其所含双分病毒 SsPV-1/WF2-1 相关性分析[A].中国植物病理学会2011年学术年会论文集[C].北京:中国农业科学技术出版社,2011.348.
- [18] Godoy G, Steadman J R, Dickman M B, et al. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris* [J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1990, 37:179-191.
- [19] 李国庆,王道本,华红霞.核盘菌转代培养后生理特性变异初探[J].华中农业大学学报,1993,12(1):23-26.
- [20] Huang H C. Tan sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1981, 3:136-138.
- [21] Li Guoqing, Huang H C, Laroche A, et al. Occurrence and characterization of hypovirulence in the tan sclerotial isolate S10 of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Mycol Res, 2003, 107:1350-1360.
- [22] 黄娟,李国庆.核盘菌中 dsRNA 种类及其与致病力的关系[J].植物病理学报,2009,39(1):30-35.
- [23] Li G Q, Jiang D H, Wang D B, et al. Double-stranded RNAs associated with the hypovirulence of *Sclerotinia sclerotiorum* strain Ep-1PN [J]. Progress in Natural Science, 1999, 9:836-841.
- [24] Boland G J, Mould M J R, Robb J. Ultrastructure of a hypovirulent isolate of *Sclerotinia sclerotiorum* containing double-stranded RNA [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1993(43):21-32.
- [25] 李国庆,姜道宏,王道本,等.同核盘菌菌株 Ep-1PN 弱毒性相关的 RNA 及其属性[J].自然科学进展,1999,9:1245-1249.
- [26] Xie J, Wei D M, Jiang D H, et al. Characterization of debilitation-associated mycovirus infecting the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Journal of General Virology, 2006, 87:241-249.
- [27] Liu H Q, Fu Y P, Jiang D H, et al. A novel mycovirus that is related to the human pathogen hepatitis E virus and rubi-like viruses [J]. Journal of Virology, 2009, 83(4):1981-1991.
- [28] 刘慧泉.真核生物非逆转录病毒内生与进化基因组学研究[D].武汉:华中农业大学,2011.
- [29] 张丽艳.单一田块核盘菌多样性分析及携带真菌病毒的菌株遗传特性研究[D].武汉:华中农业大学,2010.
- [30] Varga J, Toth B, Vagvolgyi C. Recent advances in mycovirus research [J]. Acta Microbiol Immunol, 2003, 50:77-94.
- [31] Buck K. Molecular variability of viruses of fungi [J]. Molecular Variability of Fungal Pathogens, 1998, 53-72.
- [32] 姜道宏,李国庆,王道本,等.核盘菌弱毒株 Ep-1PN 培养性状的有性遗传特性[J].菌物系统,2000,19(2):236-240.
- [33] Nuss D L. Hypovirulence: Mycoviruses at the fungal-plant interface [J]. Nature Reviews Microbiology, 2005, 3:632-642.
- [34] 姜道宏.核盘菌 Ep-1PN 菌株毒力衰退及生防潜能的研究[D].武汉:华中农业大学,1999.
- [35] Anagnostakis S L, Chen B, Nuss D L. Hypovirus transmission to ascospore progeny by field-released transgenic hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* [J]. Phytopathology, 1998, 88:598-604.
- [36] Kull L S, Pedersen W L. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Plant Disease, 2004(4):325-333.
- [37] 刘晓红,周航,姬红丽,等.四川蔬菜核盘菌种群结构初步研究[J].西南农业学报,2004,17(5):618-623.
- [38] 于晓,李博,付艳苹,等.核盘菌弱毒相关单链 DNA 病毒(SsHADV-1)的侵染性研究[A].中国植物病理学会2010年学术年会论文集[C].北京:中国农业科学技术出版社,2010.431-432.

[39]

Whipps J M, Gerlgah M. Biology of *Coniothyrium mini-*
tans and its potential for use in disease biocontrol[J].
Mycology Resure,1992,96(11):897-907.

[40]

谢 俊. 核盘菌致病力衰退相关真菌病毒(SsDRVA)
全长 DNA 克隆及侵染性 cDNA 转化载体的构建
[D]. 武汉:华中农业大学,2006.

[41]

羊国根. 核盘菌病毒 SsDRVA 的 5'-末端克隆及侵
染性全长 cDNA 克隆的构建[D]. 武汉:华中农业大
学,2009.

[42]

Melzer M S, Ikeda S S, Boland G J. Interspecific trans-
mission of double-stranded RNA and hypovirulence
from *Sclerotinia sclerotiorum* to *S. minor*[J]. *Phytopa-*
thology,2002,92:780-784.

[43]

滕 飞. 核盘菌弱毒相关 RNA 病毒(SsDRv)感染雪
腐核盘菌的初步研究[D]. 武汉:华中农业大学,
2008.

[44]

Choi G H, Nuss D L. Hypovirulence of chestnut blight
fungus conferred by an infectious viral cDNA[J]. *Sci-*
ence,1992,257:800-803.

[45]

Chen B, Choi G H, Nuss D L. Attenuation of fungal
virulence by synthetic infectious hypovirus transcripts
[J]. *Science*,1994,264:1 762-1 764.

[46]

Sasaki A, Kanematsu S, Suzaki K, et al. Extending
chestnut blight hypovirus host range within Diaporthales
by biolistic delivery of viral cDNA[J]. *Mol Plant-Mi-*
crobe Interact,2002,15:780-789.

(责任编辑:肖唐华)

(上接第 333 页)

参考文献:

[1]

尹维平. 油菜菌核病的发生规律与防治对策[J]. 农技
服务,2010,27(6):725.

[2]

李丽丽. 世界油菜病害研究概述[J]. 中国油料,1994,
16(1):79-81.

[3]

刘胜毅,马齐祥,周必文,等. 油菜病虫害防治彩色
图说[M]. 北京:中国农业出版社,1998.

[4]

傅寿仲,戚存扣,浦惠明,等. 中国油菜栽培科学技术
的发展[J]. 中国油料作物学报,2006,28(1):86-91.

[5]

程黔莉. 贵州轻简化油菜栽培技术的应用现状与前景
分析[J]. 贵州农业科学,2008,36(2):47-49.

[6]

周必文. 油菜菌核病评价方法[J]. 中国油料,1994(增
刊):88-94.

[7]

Liu S, Wang H, Zhang J, et al. *In vitro* mutation and se-
lection of doubled-haploid *Brassica napus* lines with im-
proved resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Plant*
Cell Reports,2005,24:133-144.

[8]

高 雪,唐凯健,王利华,等. 我国油菜菌核病综合治
理研究进展[J]. 中国植保导刊,2009,29(6):15-18.

[9]

黄小琴,刘 勇,张 蕾,等. 四川盆地主栽油菜品种
菌核病抗性评价及稳定性分析[J]. 中国油料作物学
报,2012,34(5):515-517.

[10]

刘胜毅,刘越英,Barbetti M,等. 油菜菌核病抗性鉴定
方法—装备喷雾系统的田间病圃法[A]. 十字花科油
料作物可持续发展. 第 12 届国际油菜大会论文摘要
集[C]. 蒙茅斯章克申:美国科学出版公司,2007.
289.

[11]

刘后利. 油菜遗传育种学[M]. 北京:中国农业大学
出版社,2000.

(责任编辑:郭学兰)