

内蒙古自治区向日葵小核盘菌的菌丝亲和组类型及其菌株的生物学特性、致病力和交配型

贾瑞芳¹ 李敏¹ 张键¹ 云晓鹏² 孟庆林³ 赵君^{1*}

(1. 内蒙古农业大学园艺与植物保护学院, 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古农牧业科学院植物保护研究所, 呼和浩特 010031; 3. 黑龙江省农业科学院植物保护研究所, 哈尔滨 150086)

摘要: 为明确内蒙古自治区阴山北麓地区向日葵小核盘菌 *Sclerotinia minor* 的遗传变异, 对自内蒙古自治区乌兰察布市、包头市和呼和浩特市向日葵上分离纯化的 110 株向日葵小核盘菌菌株进行菌丝亲和组(mycelium compatibility group, MCG)划分, 并对 5 个主要 MCG 组间和组内各菌株的生物学特性、致病力和交配型进行测定。结果表明, 供试的 110 株菌株被划分为 14 个亲合组, 其中 MCG1 为主要类型, 包含 32 株菌株, 占总菌株的 29.1%; MCG2 包含来自 7 个地点的 25 株菌株; 5 个 MCG 仅包含 1 株菌株; 在这 14 个 MCG 中, MCG1~MCG5 包含 92 株菌株, 占总菌株数的 83.6%。MCG1~MCG5 组间各菌株在菌落直径和草酸分泌量上存在差异, 但在菌核形成量、多聚半乳糖醛酸酶活性和致病力上无显著差异; 而 MCG1~MCG5 组内各菌株在菌落直径、草酸分泌量、菌核形成量、多聚半乳糖醛酸酶活性和致病力上均有一定差异。在 MCG1~MCG5 各菌株的交配型中, 除 MCG2 中菌株的负反转型与正反转型比例接近 1:1 外, 其它 4 个 MCG 中菌株的负反转型与正反转型比例均偏离 1:1, 表明内蒙古自治区向日葵小核盘菌具有较高的遗传变异程度。

关键词: 向日葵; 小核盘菌; 菌丝亲和组; 致病力; 交配型

Mycelium compatibility group of sunflower *Sclerotinia minor* and its biological characteristics, pathogenicity and mating type in Inner Mongolia Autonomous Region

Jia Ruifang¹ Li Min¹ Zhang Jian¹ Yun Xiaopeng² Meng Qinglin³ Zhao Jun^{1*}

(1. College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, Inner Mongolia Autonomous Region, China; 2. Institute of Plant Protection, Inner Mongolia Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Huhhot 010031, Inner Mongolia Autonomous Region, China; 3. Institute of Plant Protection, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China)

Abstract: In order to determine genetic variation of sunflower *Sclerotinia minor* in the north foot of Yinshan Mountain, Inner Mongolia Autonomous Region, 110 *S. minor* strains were collected, isolated and purified, from Wulanchabu, Baotou and Hohhot cities, and were tested for mycelium compatibility group (MCG). The biological characteristics, pathogenicity and mating type of the five major MCGs were determined. The results showed that 110 strains were divided into 14 MCGs, of which MCG1 was the main type, including 32 strains, 29.1% of the total number of strains; MCG2 contained 25 strains which collected from seven locations; five MCGs contain only one strain. Among 14 MCGs, MCG1~MCG5 contained 92 strains, accounting for 83.6% of the total number of tested strains. There were dif-

基金项目: 国家现代农业(特色油料)产业技术体系(CARS-14)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: zhaojun02@hotmail.com

收稿日期: 2018-08-31

ferences in colony diameter and oxalic acid secretion between the MCG1–MCG5, but there was no significant difference in the number of sclerotia formation, virulence and polygalacturonase enzyme activity. However, each strain in MCG1–MCG5 showed significant variation on above parameters. The results of the mating type assay in MCG1–MCG5 indicated that the results of mating type ratio of negative inversion and positive inversion in other four MCGs showed the deviation from 1: 1, except in MCG2, which the ratio was close to 1: 1, indicating that *S. minor* had a high degree of genetic variation.

Key words: sunflower; *Sclerotinia minor*; mycelium compatibility group; pathogenicity; mating type

菌核病是向日葵种植过程中的重要病害,在世界各向日葵种植区均有不同程度的发生(Liu et al., 2018),该病的主要病原菌为核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 和小核盘菌 *S. minor*。小核盘菌属于子囊菌门盘菌纲核盘菌属,寄主范围广,可侵染21科66属94种寄主植物(Melzer et al., 1997)。2011年,Karov et al.(2011)首次报道了马其顿共和国向日葵被小核盘菌侵染,随后Koike(2013)报道了墨西哥向日葵被小核盘菌侵染,李敏(2015)报道了我国内蒙古自治区乌兰察布市向日葵被小核盘菌侵染。向日葵被小核盘菌侵染后,茎基部腐烂,最终导致整株枯萎。内蒙古自治区是我国向日葵主产区,也是目前我国唯一在向日葵上发现小核盘菌的地区,严重影响该区向日葵产业的发展,因此明确该区向日葵小核盘菌菌丝亲合组类型和交配型对于了解丝状真菌的分类以及进化具有重要意义,以期为该区向日葵小核盘菌的防控提供理论依据。

菌丝亲和组(mycelium compatibility group, MCG)能够反映不同寄主来源核盘菌或小核盘菌群体的遗传变化,常被用于病原菌致病类群和遗传多样性的研究。Kohn et al.(1991)利用MP培养基(modified Patterson's medium)对采自油菜上的35株核盘菌菌株进行了MCG划分,并利用分子标记证实了每个MCG在遗传上的一致性。Wu & Subbarao(2006)将采自生菜上的89株核盘菌分成了37个MCG,91.4%的小核盘菌菌株被划分到4个MCG中。Yang et al.(2016)对来自不同寄主的小核盘菌菌株进行了MCG测定,95株菌株被划分成8个MCG,其中最大的1个MCG包含29株菌株,仅有1个MCG包含1株菌株,不同MCG菌株的组间致病力差异不显著。目前关于向日葵小核盘菌遗传多样性和群体结构的研究较少,关于向日葵小核盘菌种群内有无致病力分化的研究报道也较少。

真菌交配型的变化能够间接反映菌株的遗传变异情况,小核盘菌是同宗配合型丝状真菌,其有性生殖主要由交配型基因(mating type gene, MAT)调控,

MATI-1 和 *MATI-2* 这2个基因位于核盘菌染色体的同一位点,且紧密连锁(王雪亮等,2015)。Chitrampalam et al.(2013)首次报道核盘菌减数分裂过程中调控交配的基因簇MAT位点出现了1个3.6 kb片段翻转,从而使得 *MATI-1-I* 等位基因丢失,进而使得核盘菌 *MATI-1-I* 基因负反转和正反转的频率为1:1; Chitrampalam & Pryor(2015)在生菜上发现了小核盘菌中交配型基因翻转的现象,并且利用特异性引物将38株小核盘菌菌株划分为3种MAT基因型,即正反转、负反转和杂合型(同时包含正反转和负反转)。Yang et al.(2016)对自莴苣和杂草上采集的小核盘菌菌株的交配型进行了测定,结果显示小核盘菌菌株间的变异频率较低。目前,国内外未见有关向日葵小核盘菌遗传变异及交配型的报道。

本研究以自内蒙古自治区阴山北麓不同地区向日葵上采集的110株小核盘菌菌株为研究对象,对其进行MCG划分,比较5个主要MCG组间和组内各菌株的菌落直径、菌核形成量、草酸分泌量和多聚半乳糖醛酸酶活性等生物学特性;采用离体叶片接种法对5个主要MCG中各菌株的致病力进行测定,并利用不同交配基因的特异性引物对5个主要MCG组内各菌株的交配型进行测定,明确该区向日葵小核盘菌的遗传变异,以期为向日葵抗菌核病育种奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株和植物:于2015年自内蒙古自治区包头市达茂旗乌克镇、乌克新村和红格尔塔拉种羊试验地向日葵上分别采集6、9和10株菌株,编号分别为WKZ1~WKZ6、WB1~WB9和DMQ1~DMQ10;自呼和浩特市武川县上邑村1号地和2号地向日葵上分别采集15株和10株菌株,编号分别为SA1~SA15和SB1~SB10;自乌兰察布市察右中旗巴音乡西圪旦村1号地、2号地和土城子村向日葵上分别采集30、15和5株菌株,编号分别为XA1~XA30、

XB1~XB15 和 SCD1~SCD5; 自察右后旗高家地村向日葵上采集 10 株菌株, 编号为 GJD1~GJD10, 9 个采集点共分离纯化出 110 株菌株, 纯化后菌株保存在本实验室 4℃ 菌株库中。供试向日葵品种为 LD5009, 种子由北京凯福瑞种业公司提供。

培养基: 马铃薯葡萄糖琼脂 (potato dextrose agar, PDA) 培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g, 加蒸馏水定容至 1 L; 马铃薯葡萄糖 (potato dextrose, PD) 液体培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g, 加蒸馏水定容至 1 L; 基本 (minimal-medium, MM) 培养基: NaOH 1 g、Maleic acid 3 g、NH₄NO₃ 2 g、MgSO₄·7H₂O 0.1 g、琼脂 39 g、蒸馏水 1 L, 调 pH 为 4.8。

试剂和仪器: 10×Taq Buffer、Taq DNA 酶和 dNTP, 天根生化科技(北京)有限公司; Maleic acid, 美国 Sigma 公司; 其它试剂均为国产分析纯。TU-1901 双光束紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; PTC-200 DNA Engine PCR 仪, 美国 Bio-Rad 公司; 5804 台式高速多功能离心机, 德国 Eppendorf 公司; DYY-12 多用电泳仪, 北京六一仪器厂; UVP Biospectrum 310 Manual platform 凝胶成像系统, 美国 UVP 公司; GSY 电热恒温水浴锅, 北京医疗设备厂有限责任公司; MJ-250-I 霉菌培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; GXZ-430B 全封闭光照培养箱, 上海智诚公司。

1.2 方法

1.2.1 向日葵小核盘菌 MCG 的划分方法

将纯化好的 110 株小核盘菌菌株置于 PDA 平板上于 23~25℃ 活化, 待菌丝长至培养皿 3/4 时, 在菌落边缘打取直径为 9 mm 的菌饼。将 3 个不同菌株的菌饼呈三角状放置于 PDA 平板上, 于 23~25℃ 恒温培养 7 d, 观察各培养皿菌落交汇处反应线的情况, 记录各菌株之间菌丝亲和类型。当 2 个菌落交汇处形成 1 条隆起的白色菌丝带且有菌核形成时, 2 株菌株被鉴定为亲和型, 2 株菌株被划为相同 MCG; 当 2 个菌落交汇区产生 1 条明显的坏死带或空白带时, 2 株菌株被鉴定为不亲和型, 2 株菌株被划为不同 MCG。采用随机组合的方法先进行 1 次初筛, 再选择 1 个菌株与其余菌株进行亲和型鉴定, 从未被鉴定为同一组的菌株中再获得 1 个菌株与剩余的菌株进行亲和型鉴定, 以此类推, 每个样本设置 3 个重复。对菌丝带不清晰的菌株进行重复验证。选取包含至少 10 株菌株的小核盘菌 MCG 进行后续试验。

1.2.2 5 个向日葵小核盘菌 MCG 菌株生物学特性测定 菌落直径和菌核形成量的测定: 将活化的菌株

置于 PDA 培养基上于 23~25℃ 培养, 待菌丝长至培养皿 3/4 时, 在菌落边缘打取直径为 9 mm 的菌饼, 置于 PDA 平板中央, 每皿培养基定量 20 mL, 于 23~25℃ 下培养 3 d 后, 利用十字交叉法测量小核盘菌菌落直径并记录。培养 10 d 后, 挑取培养皿中的所有菌核, 晾干后称重。每株供试菌株设置 3 个重复。

草酸分泌量的测定: 将活化的菌株置于 PDA 培养基上于 23~25℃ 培养, 待菌丝长至培养皿 3/4 时, 在菌落边缘打取直径为 9 mm 的菌饼 2 个, 置于装有 40 mL PD 液体培养基的 100 mL 锥形瓶中, 于 23℃ 静置培养 5 d 后过滤, 取上清液用于草酸分泌量的测定, 以未接菌的 PD 液体培养基作为空白对照。草酸分泌量测定参照 Durman et al. (2005) 方法。将反应液在 60℃ 水浴内加热 10 min 后加入 0.75 g/mol 氢氧化钠溶液 0.5 mL, 反应液包含滤液样品 0.2 mL、蒸馏水 4.8 mL、0.1 mg/L 溴酚蓝 0.11 mL、1 mol/L 硫酸 0.20 mL、100 mg/L 重铬酸钾 0.18 mL。采用紫外分光光度法测定反应液在波长 600 nm 处的吸光度值 OD_{600 nm}。通过与草酸分泌量标准曲线进行比较后计算草酸分泌量浓度。每株菌株设置 3 个重复。

多聚半乳糖醛酸酶活性的测定: 将活化的菌株置于 PDA 培养基于 23~25℃ 培养, 待菌丝长至培养皿 3/4 时, 在菌落边缘打取直径为 9 mm 的菌饼 2 个, 置于装有 80 mL PD 液体培养基的 250 mL 锥形瓶中, 于 23℃、130~150 r/min 振荡培养 10 d 后过滤, 将过滤得到的菌丝体晾干后称重; 滤液在 5 000 r/min 离心 15 min, 取上清液用于多聚半乳糖醛酸酶活性的测定 (Moyo et al., 2003)。取 2 支 20 mL 试管均加入 1 mL 果胶底物后, 48℃ 水浴 5 min, 再加入 pH 4.8 的乙酸-乙酸钠缓冲液 4 mL 和稀释的酶液 1 mL, 立即摇匀后 1 个试管在 48℃ 水浴中准确反应 30 min, 另 1 个试管煮沸灭活 15 min (空白对照); 反应完成后分别向 2 个试管中加入 DNS 试剂 2.5 mL, 煮沸 5 min 后取出, 立即用流水冷却。以空白对照为基准调零, 用紫外分光光度仪测定波长 540 nm 处的吸光度值 OD_{540 nm}。以 D-半乳糖醛酸为标准样品做标准曲线, 根据标准曲线查找相应的 D-半乳糖醛酸的量, 计算多聚半乳糖醛酸酶活性。每株菌株设置 3 个重复。

1.2.3 5 个向日葵小核盘菌 MCG 菌株致病力的测定

将 LD5009 种子播种于装有高温灭菌土的营养钵中, 每个营养钵播种 6 粒种子, 待向日葵长至 6 叶期时, 采用离体叶片接种法测定向日葵小核盘菌菌株的致病力。将活化的 92 株菌株接于 MM 培养基上, 于 23℃ 恒温培养 2 d。在方形磁盘的底部铺 2 层

灭菌滤纸,倒入无菌水湿润滤纸。用蒸馏水清洗向日葵品种LD5009的叶片,然后放入磁盘中湿润的滤纸上,叶片背面向上,用吸水纸将叶片表面多余水分吸干。在MM培养基上打取直径为9 mm的菌饼,菌丝面朝下放置于叶片主脉的两侧,用保鲜膜封住磁盘进行保湿,以未接菌的空白MM培养基作为接种对照,在25℃下放置2 d后开始观察叶片的发病情况,用病斑直径来反应菌株的致病力。采用十字交叉法测量叶片上的病斑直径。每株菌株接种5片叶片。对不同MCG小核盘菌菌株的菌落直径、草酸分泌量、多聚半乳糖醛酸酶活性和致病力4个因素进行相关分析。

1.2.4 5个向日葵小核盘菌MCG菌株交配型的鉴定

采用十六烷基三甲基溴化铵(cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)法提取小核盘菌菌株DNA。将在PDA培养基上25℃培养5 d的纯化菌株的菌丝体刮下,在液氮中迅速研磨成粉末,于65℃水浴30 min,每隔10 min上下轻微晃动2~3次,从水浴锅中取出后冷却2 min,按照25:24:1体积比依次加入氯仿、酚和异戊醇,剧烈摇晃后静置10 min,在12 000 r/min低温离心10 min,吸取上清液,加入等体积的异丙醇,混匀后于-20℃冰箱中放置30 min,取出后于12 000 r/min下4℃离心10 min,留沉淀加入75%乙醇清洗2次,待沉淀干燥后将其溶解于30~50 μL ddH₂O中,待完全溶解后加入1~2 μL RNA酶,于-20℃保存备用。

利用小核盘菌交配型特异性引物MAT1-1-F(5'-ATACAGCCACTTACCTACCACAGC-3')、MAT1-1-R(5'-TCTGAGTGGAAGCAATGTGTTG-3')、Type II F(5'-CCGTTAACGGAAATCCAGA-3')、Type II R(5'-CGTGCATCCAAGAACGCG-3')(Chitrampalam & Pryor, 2015)对MCG1~MCG5的92株供试菌株进行PCR鉴定。引物均委托北京厚生博泰科技有限责任公司合成。25 μL PCR反应体系: DNA 2 μL、10×Taq Buffer 2 μL、2.5 mmol/L dNTP 2 μL、MAT1-1-F/Type II F各1 μL、MAT1-1-R/Type II R各1 μL、5 U/μL Taq DNA酶0.2 μL、ddH₂O 16.8 μL。PCR扩增条件:95℃变性10 min;95℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸90 s,35个循环;72℃延伸10 min。PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测,当利用MAT1-1和Type II特异性引物只扩增出673 bp片段时,被鉴定为负反转型,当利用MAT1-1和Type II特异性引物只扩增出1 250 bp片段时,被鉴定为正反转型,当利用MAT1-1和Type II

特异性引物同时扩增出673 bp和1 250 bp片段时,被鉴定为杂合型。

1.3 数据分析

采用SPSS 17.0软件进行数据统计分析,应用Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 向日葵小核盘菌MCG的划分

内蒙古自治区9个采集点的110株小核盘菌菌株被划分为14个MCG类型,MCG1~MCG5五个MCG共包含了92株菌株,占总菌株数的83.6%,其中MCG1最大,包含5个采集点的32株菌株,占总菌株数的29.1%,其次为MCG2,包含8个采集点的25株菌株,占总菌株的22.7%,MCG3、MCG4和MCG5分别包含13、12和10株菌株,而MCG7、MCG10、MCG12、MCG13、MCG14每个类型只包含1株菌株(表1)。

每个采样点的菌株至少被划分到3个不同的MCG中。自包头市3个采集点采集的25株菌株被划分到6个MCG中,各采集点的菌株均被划分到3个不同的MCG中;自呼和浩特市2个采集点采集的25株菌株被划分到7个MCG中,1号地的15株菌株被划分到5个MCG中,2号地的10株菌株被划分到4个MCG中;自乌兰察布市4个采集点采集的60株菌株被划分到11个MCG中,其中察右中旗西圪旦1号地采样点的30株菌株被划分到7个MCG中,表明不同采集点小核盘菌菌株之间存在较高的变异水平(表1)。

2.2 5个向日葵小核盘菌MCG菌株的生物学特性

2.2.1 菌落直径和菌核形成量

5个MCG菌株的菌落直径介于5.11~6.16 cm之间,其中MCG1菌株的菌落直径最大,为6.16 cm,显著大于其它4个MCG菌株的菌落直径($P<0.05$,表2)。在MCG1中,XA11和WKXC6菌株的菌落直径最大,为7.70 cm,SA15菌株的菌落直径最小,仅为4.30 cm(表3);MCG1和MCG2组内各菌株菌落直径之间存在显著差异($P<0.05$),而MCG3和MCG5组内各菌株菌落直径之间也存在差异,但显著性不及MCG1和MCG2;MCG4组内除了SB5和SB6菌株与其它10个菌株的菌落直径之间存在显著差异外,其它菌株的菌落直径之间均无显著差异。5个MCG菌株的菌核形成量介于0.148~0.158 g之间,5个MCG之间均差异不显著(表2)。而组内各菌株的菌核形成量之间存在一定的差异,在MCG2中,

XA24菌株的菌核形成量最多,为0.220 g,DMQ6菌株的最小,仅为0.090 g(表3)。

表1 内蒙古自治区110株供试菌株的菌丝亲和组划分结果

Table 1 Classification of mycelium compatibility group for 110 tested isolates from Inner Mongolia Autonomous Region

	采集点 Collection site	菌株编号 Strain code	菌丝亲和组 Mycelium compatibility group
包头市 Baotou City	达茂旗乌克镇 Wuke Town, Damao Banner	WKZ1, WKZ6	MCG3
		WKZ2	MCG1
		WKZ3, WKZ5	MCG4
		WKZ4	MCG6
		WB1, WB4, WB5	MCG2
	达茂旗乌克新村 Wukexin Village, Damao Banner	WB2, WB3, WB6, WB7	MCG1
		WB8	MCG6
		WB9	MCG13
		DMQ1, DMQ2, DMQ3, DMQ6	MCG2
		DMQ4, DMQ5, DMQ7, DMQ10	MCG1
呼和浩特市 Huhhot City	达茂旗红格尔塔拉种羊试验地 Honggeertala Sheep Test Ground, Damao Banner	DMQ8	MCG4
		DMQ9	MCG12
		SA1, SA6, SA7, SA8, SA13	MCG2
		SA2, SA3, SA5, SA9, SA11, SA15	MCG1
		SA4, SA12	MCG5
		SA10	MCG7
		SA14	MCG8
		SB1	MCG14
		SB2, SB10	MCG5
		SB3, SB9	MCG3
	武川县上邑村2号地 Shangyi Village field 2, Wuchuan County	SB4	MCG6
		SB5, SB6	MCG4
		SB7	MCG11
		SB8	MCG2
乌兰察布市 Wulanchabu City	察右中旗巴音乡西圪旦村1号地 Xigedan Village field 1, Bayin Town, Chayouzhong Banner	XA1, XA2, XA3, XA13, XA20, XA21, XA24, XA27, XA29	MCG2
		XA4, XA5, XA6, XA7, XA8, XA10, XA11, XA15, XA16, XA18, XA19, XA22, XA25, XA28, XA30	MCG1
		XA9	MCG6
		XA12	MCG7
		XA14, XA23	MCG9
		XA17	MCG5
		XA26	MCG4
		XB1, XB4, XB5, XB12, XB10	MCG4
		XB2, XB15, XB3, XB14	MCG5
		XB7, XB13, XB6, XB11, XB9, XB8	MCG3
	察右中旗土城子村 Tuchengzi Village, Chayouzhong Banner	SCD1	MCG1
		SCD2	MCG8
		SCD3	MCG10
		SCD4, SCD5	MCG3
		GJD1	MCG5
		GJD2	MCG3
		GJD3, GJD10	MCG11
		GJD4, GJD6, GJD9	MCG1
		GJD5	MCG4
		GJD7	MCG2
		GJD8	MCG6

表2 5个向日葵小核盘菌菌丝亲和组92株菌株的组间生物学特性和致病力

Table 2 Inter-group biological characteristics and pathogenicity of 92 sunflower *Sclerotinia minor* isolates from five mycelium compatibility groups

菌丝亲和组 Mycelium compatibility group	菌株数 No. of strains	菌落直径 (cm) Colony diameter	菌核形成量 (g) Sclerotia weight	草酸分泌量 (μg/mg) Oxalic acid production	多聚半乳糖醛酸酶 活性 (U/mg) Polygalacturonase activity	病斑直径 (cm) Lesion diameter
MCG1	32	6.16±1.86 a	0.148±0.060 a	25.99±3.28 ab	24.18±3.44 a	24.00±7.28 a
MCG2	25	5.59±1.26 b	0.148±0.072 a	26.24±3.01 a	24.37±3.30 a	24.34±4.59 a
MCG3	13	5.21±0.83 b	0.158±0.023 a	24.79±1.30 c	24.29±3.11 a	25.11±4.30 a
MCG4	12	5.11±1.11 b	0.157±0.025 a	25.00±2.07 bc	24.09±2.68 a	24.93±3.89 a
MCG5	10	5.28±1.22 b	0.157±0.029 a	25.56±2.70 abc	24.17±2.25 a	23.91±4.34 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

表3 5个向日葵小核盘菌菌丝亲和组92株菌株的组内生物学特性和致病力

Table 3 Intra-group biological characteristics and pathogenicity of 92 sunflower *Sclerotinia minor* strains from five mycelium compatibility groups

菌丝亲合组 Mycelium compatibility group	菌株编号 Strains number	菌落直径 (cm) Colony diameter	菌核形成量 (g) Sclerotia weight	草酸分泌量 (μg/mg) Oxalic acid production	多聚半乳糖醛酸酶 活性 (U/mg) Polygalacturonase activity	病斑直径 (cm) Lesion diameter
MCG1	XA4	6.10±0.18 hi	0.145±0.006 efgijkl	25.57±0.54 cdefghijk	22.72±0.75 ijk	19.43±1.76 kl
	XA5	6.60±0.18 cde	0.125±0.006 l	27.42±2.11 bcdefg	23.45±1.14 fghij	19.24±1.52 l
	XA6	6.20±0.22 fgh	0.130±0.008 k	24.59±2.16 ghijk	23.74±1.25 efgij	22.60±2.80 ghij
	XA7	6.93±0.17 b	0.135±0.013 ijkl	27.62±2.55 bcdef	25.03±1.00 cdefgh	21.42±0.63 ijk
	XA8	6.50±0.08 efg	0.153±0.005 defghij	23.02±0.46 jk	21.39±0.55 kl	21.98±1.34 hijk
	XA10	6.10±0.22 hi	0.133±0.005 jkl	27.78±0.26 bcde	25.77±0.87 abcde	19.25±2.71 l
	XA11	7.70±0.18 a	0.170±0.008 bcd	27.72±0.22 bcdef	25.30±0.97 cdefg	27.11±0.47 abc
	XA15	6.40±0.08 efgh	0.133±0.005 jkl	28.01±1.31 bcd	25.12±0.21 cdefg	21.47±0.89 ijk
	XA16	5.85±0.13 ij	0.130±0.008 kl	24.43±0.30 hijk	21.81±0.41 jkl	25.33±1.37 bcdef
	XA18	5.75±0.13 j	0.153±0.005 defghij	24.80±0.88 fghijk	21.96±0.95 jkl	24.98±1.29 cdefg
	XA19	5.75±0.13 j	0.138±0.010 hijkl	23.20±1.62 ijk	24.31±0.65 cdefghi	16.73±0.13 m
	XA22	6.25±0.13 fgh	0.105±0.013 m	28.29±0.78 bc	22.91±1.11 hijkl	29.03±2.52 a
	XA25	6.53±0.17 def	0.163±0.017 cdef	25.09±1.24 defghijk	24.08±2.50 cdefghi	20.48±2.86 jkl
	XA28	6.83±0.13 bed	0.145±0.021 efgijkl	29.28±2.19 a	27.63±1.27 a	25.69±1.64 bcde
	XA30	6.10±0.22 hi	0.133±0.019 jkl	24.51±1.91 ghijk	25.56±1.14 bcdef	26.21±4.22 bcd
GJD4	6.40±0.29 efgh	0.165±0.009 cde	26.93±1.48 bcdefgh	24.95±0.31 cdefgh	21.86±0.35 hijkl	
GJD6	5.23±0.33 l	0.155±0.027 cdefgi	24.85±1.41 efgijk	25.89±1.33 abcd	23.97±0.40 defghi	
GJD9	7.10±0.18 b	0.145±0.006 efgijkl	24.01±1.55 hijk	21.86±1.26 jkl	29.40±0.78 a	
WB2	6.90±0.18 bc	0.173±0.010 bc	25.92±1.32 bcdefghij	24.04±1.75 cdefghi	26.99±2.14 abc	
WB3	7.15±0.21 b	0.185±0.006 b	25.68±1.98 cdefghijk	24.39±2.26 cdefghi	22.01±5.13 hijk	
WB6	7.70±0.17 a	0.208±0.013 a	22.89±0.38 k	23.86±2.67 defghij	27.03±2.21 abc	
WB7	7.03±0.17 b	0.168±0.022 bcd	26.64±1.68 bcdefgh	24.99±1.58 cdefgh	26.15±0.78 bcd	
DMQ4	6.13±0.17 hi	0.143±0.005 fghijkl	25.99±1.45 bcdefghi	25.97±0.85 abcd	21.77±0.70 hijkl	
DMQ5	5.38±0.17 kl	0.138±0.010 hijkl	27.65±1.54 bcdef	27.41±0.65 ab	27.42±1.25 abc	
DMQ7	6.43±0.17 efgh	0.108±0.010 m	26.75±3.75 bcdefgh	23.39±1.12 ghijk	29.03±0.78 a	
DMQ10	6.18±0.17 ghi	0.150±0.008 defghij	24.40±1.64 hijk	23.68±1.63 efgij	27.75±0.82 ab	
SA2	4.68±0.17 mn	0.158±0.005 cdefg	25.18±1.15 defghijk	24.26±0.50 cdefghi	25.97±1.57 bcde	

续表 3 Continued

菌丝亲合组 Mycelium compatibility group	菌株编号 Strains number	菌落直径 (cm) Colony diameter	菌核形成量 (g) Sclerotia weight	草酸分泌量 (μg/mg) Oxalic acid production	多聚半乳糖醛酸酶 活性 (U/mg) Polygalacturonase activity	病斑直径 (cm) Lesion diameter
MCG2	SA3	5.63±0.17 jk	0.160±0.022 cdefg	25.91±3.65 bcdefghij	23.62±0.57 fghij	22.96±0.36 fghij
	SA5	6.43±0.34 efgh	0.150±0.008 defghij	25.97±1.03 bcdefghi	24.33±0.93 cdefghi	26.03±0.64 bcde
	SA9	4.80±0.29 m	0.140±0.008 ghijkl	28.69±0.46 b	26.01±1.64 abc	23.37±1.75 efghi
	SA11	4.40±0.29 no	0.140±0.018 ghijkl	26.85±1.89 bcdefgh	23.21±1.02 ghijk	24.22±1.19 defgh
	SA15	4.30±0.42 o	0.153±0.005 defghij	26.32±3.00 bcdefgh	21.17±0.69 l	21.35±0.53 ijk
	XA1	6.20±0.08 b	0.150±0.008 cdef	27.38±0.86 bcd	25.76±0.72 cde	26.65±1.33 abc
	XA2	6.05±0.17 bc	0.155±0.006 cd	27.02±0.81 bcdef	24.89±1.11 def	22.97±1.83 ef
	XA3	6.08±0.17 bc	0.143±0.013 cdef	25.38±0.78 efg	21.95±1.02 jk	22.47±0.57 ef
	XA13	5.75±0.13 bedef	0.115±0.006 g	27.21±0.47 bcde	23.64±0.55 gh	20.94±1.88 fg
	XA20	6.13±0.17 bc	0.153±0.005 cde	23.42±0.29 i	21.06±0.63 k	27.38±1.53 abc
	XA21	6.05±0.10 bc	0.155±0.013 cd	24.19±1.81 hi	24.21±0.53 fgh	22.66±1.12 ef
	XA24	6.18±0.40 bc	0.220±0.018 a	24.08±1.04 hi	24.22±0.59 fgh	22.08±1.87 ef
	XA27	5.85±0.21 bcde	0.158±0.010 c	27.38±1.74 bcd	27.54±0.92 a	28.21±1.84 ab
	XA29	5.93±0.39 bcde	0.190±0.008 b	29.02±1.04 a	25.94±0.48 cd	28.50±0.76 a
MCG3	SA1	4.33±0.34 i	0.138±0.005 def	26.77±0.75 bcdef	24.39±0.14 fgh	22.74±1.92 ef
	SA6	5.70±0.37 cdef	0.150±0.008 cdef	26.23±1.79 cdefg	23.35±0.21 hi	22.60±0.89 ef
	SA7	5.50±0.22 ef	0.135±0.017 ef	26.73±1.18 bcdef	22.46±0.25 ij	21.38±1.97 efg
	SA8	4.33±0.36 i	0.138±0.015 def	25.77±1.07 defgh	21.87±0.72 jk	19.75±2.25 g
	SA13	4.73±0.26 hi	0.140±0.008 cdef	28.54±1.46 b	27.23±0.21 ab	23.68±2.16 de
	SB8	4.40±0.18 i	0.133±0.013 f	28.93±1.02 a	26.28±0.70 bc	22.37±1.19 ef
	DMQ1	5.78±0.30 bcdef	0.153±0.010 cde	27.85±1.15 bc	26.10±0.45 c	21.76±0.68 efg
	DMQ2	5.03±0.53 gh	0.150±0.014 cdef	25.23±0.58 fgh	24.08±0.74 fgh	26.01±1.12 bc
	DMQ3	5.78±0.31 bcdef	0.148±0.013 cdef	24.66±0.54 ghi	23.95±1.10 fgh	26.90±1.10 abc
	DMQ6	6.85±0.34 a	0.090±0.008 h	27.62±1.78 bcd	24.91±0.53 def	27.02±2.27 abc
	WB1	5.35±0.13 fg	0.150±0.008 cdef	24.19±1.38 hi	25.87±1.07 cd	25.63±2.37 cd
	WB4	4.75±0.39 hi	0.138±0.017 def	26.29±0.88 cdefg	24.73±0.47 efg	28.24±2.32 ab
	WB5	5.55±0.24 def	0.150±0.008 cdef	27.32±0.63 bcd	24.68±0.53 fg	27.74±1.07 abc
	SCD1	6.03±0.22 bc	0.150±0.016 cdef	25.44±0.50 efg	24.61±0.88 fg	22.36±1.24 ef
	WKZ2	5.53±0.22 ef	0.158±0.017 c	26.15±1.22 cdefg	23.73±1.05 gh	27.06±0.99 abc
	GJD7	6.00±0.32 bcd	0.150±0.008 cdef	23.23±0.43 i	21.80±0.51 jk	21.46±1.39 efg
MCG4	SCD4	5.35±0.26 bc	0.158±0.013 cde	24.63±0.75 bcd	21.82±0.84 e	23.27±0.52 e
	SCD5	5.70±0.34 ab	0.163±0.010 bcde	25.18±0.60 bc	23.86±0.39 cd	24.22±1.54 cde
	SB3	5.40±0.24 abc	0.150±0.008 ef	23.96±1.10 cd	24.68±0.51 c	24.29±1.96 cde
	SB9	4.38±0.17 e	0.150±0.008 ef	24.22±0.52 bcd	23.37±0.45 d	22.55±0.90 ef
	WKZ1	5.48±0.17 abc	0.175±0.006 ab	25.82±0.60 a	26.44±0.75 b	26.95±2.00 b
	WKZ6	4.43±0.21 e	0.135±0.013 g	23.49±0.52 d	21.41±0.49 e	20.94±1.62 f
	GJD2	5.58±0.35 abc	0.168±0.013 bcd	25.81±0.68 a	24.65±0.97 c	26.87±1.11 b
	XB7	5.05±0.37 cd	0.160±0.008 cde	24.58±0.74 bcd	23.38±0.20 d	25.62±1.03 bcd
	XB13	5.83±0.38 ab	0.183±0.005 a	25.25±0.62 bc	27.41±0.60 a	29.42±0.95 a
	XB6	5.95±0.44 a	0.170±0.008 abc	25.50±0.74 b	26.40±0.72 b	28.33±1.48 a
	XB11	4.70±0.42 de	0.155±0.006 de	23.98±0.49 cd	23.85±0.64 cd	23.30±1.27 de
	XB9	4.78±0.34 de	0.140±0.008 fg	24.99±1.28 bc	24.05±0.28 cd	26.21±1.34 bc
	XB8	5.13±0.54 cd	0.153±0.005 ef	24.90±0.99 bc	24.47±0.83 c	24.50±0.56 cde
MCG4	SB5	4.15±0.17 e	0.145±0.006 bcd	25.03±0.66 b	24.57±0.95 b	23.50±0.95 cd

续表 3 Contiuined

菌丝亲合组 Mycelium compatibility group	菌株编号 Strains number	菌落直径 (cm) Colony diameter	菌核形成量 (g) Sclerotia weight	草酸分泌量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$) Oxalic acid production	多聚半乳糖醛酸酶 活性 (U/mg) Polygalacturonase activity	病斑直径 (cm) Lesion diameter
	SB6	4.00±0.27 e	0.138±0.005 d	22.93±0.62 c	24.44±0.97 b	21.04±2.84 d
	XA26	5.35±0.40 abcd	0.145±0.006 bcd	24.51±0.83 b	24.09±1.27 b	25.84±0.98 abc
	DMQ8	5.48±0.22 abc	0.150±0.008 bcd	24.84±0.22 b	24.19±0.16 b	25.25±1.01 abc
	WKZ3	5.65±0.45 ab	0.183±0.013 a	25.01±0.45 b	21.43±0.81 c	24.97±0.95 bc
	WKZ5	5.03±0.31 bcd	0.155±0.010 b	22.93±0.61 c	22.23±0.91 c	21.65±3.07 d
	GJD5	5.85±0.41 a	0.180±0.008 a	26.93±0.48 a	24.01±0.36 b	27.82±0.25 a
	XB1	4.98±0.30 cd	0.153±0.010 bc	26.82±0.71 a	26.19±0.91 a	25.52±0.80 abc
	XB4	5.48±0.39 abc	0.183±0.005 a	24.94±1.00 b	21.72±1.15 c	24.70±0.77 bc
	XB5	5.45±0.57 abc	0.173±0.013 a	24.35±0.72 b	26.78±0.39 a	26.30±1.29 ab
	XB12	4.80±0.53 d	0.140±0.008 cd	26.64±0.47 a	24.81±0.29 b	26.69±3.68 ab
	XB10	5.13±0.40 bcd	0.145±0.006 bcd	25.07±0.45 b	24.65±0.33 b	25.95±1.60 abc
MCG5	SB10	4.45±0.19 d	0.155±0.010 cd	23.44±0.72 c	25.11±0.92 b	23.72±1.28 bc
	GJD1	5.70±0.39 b	0.163±0.010 bcd	25.48±0.61 b	23.98±0.21 c	24.66±1.31 b
	XA17	4.15±0.21 d	0.138±0.013 ef	25.20±0.90 b	21.91±1.24 d	21.36±1.60 de
	SA4	5.80±0.47 b	0.163±0.013 bcd	26.15±0.76 b	23.92±0.39 c	25.18±0.52 ab
	SA12	5.90±0.36 b	0.180±0.008 a	28.28±0.70 a	26.10±0.72 ab	27.29±0.82 a
	SB2	6.48±0.25 a	0.148±0.005de	27.97±0.64 a	26.23±0.76 a	27.24±3.12 a
	XB2	5.00±0.41 c	0.168±0.010 abc	25.44±0.40 b	25.15±0.54 b	24.10±0.94 bc
	XB15	5.73±0.35 b	0.173±0.013 ab	25.75±0.19 b	23.57±0.20 c	24.16±0.91 bc
	XB3	5.60±0.18 b	0.155±0.013 cd	23.83±0.29 c	21.94±0.73 d	19.57±2.87 e
	XB14	4.03±0.15 d	0.128±0.005 f	24.16±0.46 c	23.80±0.46 e	21.89±1.41 cd

表中数据为平均数±标准差。同列 MCG 不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column of MCG indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2.2 草酸分泌量

5个MCG菌株之间的草酸分泌量有明显的差异,MCG1菌株的草酸分泌量为25.99 $\mu\text{g}/\text{mg}$,与MCG3菌株的草酸分泌量之间存在显著差异($P<0.05$),但与其它3个MCG菌株之间无显著差异;MCG2菌株的草酸分泌量最高,为26.24 $\mu\text{g}/\text{mg}$,显著高于MCG3和MCG4菌株的草酸分泌量($P<0.05$),但MCG3、MCG4和MCG5菌株之间的草酸分泌量无显著差异(表2)。同MCG组内各菌株之间草酸分泌量也存在一定的差异,在MCG1中,XA28菌株的草酸分泌量最高,为29.28 $\mu\text{g}/\text{mg}$,显著高于其它菌株的草酸分泌量($P<0.05$),WB6菌株的最低,为22.89 $\mu\text{g}/\text{mg}$,显著低于该组大部分菌株的草酸分泌量;在MCG2中,XA29和SB8菌株的草酸分泌量分别为29.02 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 和28.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$,显著高于其它16株菌株的草酸分泌量($P<0.05$);在MCG3、MCG4和MCG5组内各菌株的草酸分泌量之间也存在差异(表3)。

2.2.3 多聚半乳糖醛酸酶活性

5个MCG菌株之间的多聚半乳糖醛酸酶活性无显著性差异(表2)。但不同MCG组内各菌株之间的多聚半乳糖醛酸酶活性存在一定的差异,在MCG1中,32株菌株的多聚半乳糖醛酸酶活性介于21.17~27.63 U/mg之间,其中XA28菌株的多聚半乳糖醛酸酶活性最高,为27.63 U/mg;在MCG2中,XA27菌株的多聚半乳糖醛酸酶活性最高,其值为27.54 U/mg,与SA13菌株差异不明显外,均显著高于组内其它菌株的多聚半乳糖醛酸酶活性($P<0.05$),XA3、SA8、GJD7和XA20四个菌株之间的多聚半乳糖醛酸酶活性无显著差异,但均显著低于组内其它菌株的多聚半乳糖醛酸酶活性($P<0.05$);在MCG3、MCG4和MCG5中,组内各菌株的多聚半乳糖醛酸酶活性也存在同样的现象(表3)。

2.3 5个向日葵小核盘菌MCG菌株的致病力

接种MCG1~MCG5菌株2 d后,向日葵叶片病斑直径介于23.91~25.11 mm之间,5个MCG之间差

异不显著(表2)。接种不同MCG组内的菌株后,在向日葵叶片上形成的病斑直径存在一定的差异,在MCG1中,接种GJD9菌株后形成的病斑直径最大,为29.40 mm,接种XA19菌株后形成的病斑直径最小,为16.73 mm,接种其余供试菌株后形成的病斑直径介于19.24~29.03 mm之间,且接种各菌株后的病斑直径之间存在显著差异($P<0.05$);在MCG2中,除了接种SA8菌株后形成的病斑直径为19.75 mm,接种其余菌株后形成的病斑直径都在20.94 mm以上,而

接种XA29菌株后形成的病斑直径最大,为28.50 mm;MCG3、MCG4、MCG5组内菌株的致病力均存在不同程度的差异(表3)。

相关性分析结果显示,菌落直径、草酸分泌量、多聚半乳糖醛酸酶活性与菌株致病力有一定的相关性,其中多聚半乳糖醛酸酶活性与菌株致病力的相关性最高($r=0.298$),达到极显著水平;多聚半乳糖醛酸酶活性与草酸分泌量之间也呈极显著相关($r=0.504$,表4)。

表4 5个向日葵小核盘菌菌丝亲和组92株菌株的生物学特性指标与其致病力的相关性

Table 4 Correlation analysis between biological characteristics and pathogenicity of 92 sunflower *Sclerotinia minor* strains from five mycelium compatibility groups

因素 Factor	病斑直径 Lesion diameter	多聚半乳糖醛酸酶活性 Polygalacturonase activity	草酸分泌量 Oxalic acid production	菌落直径 Colony diameter
病斑直径 Lesion diameter	1.000			
多聚半乳糖醛酸酶活性 Polygalacturonase activity	0.298**	1.000		
草酸分泌量 Oxalic acid production	0.177	0.504**	1.000	
菌落直径 Colony diameter	0.207*	0.082	0.170	1.000

*、**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平显著相关。*, ** indicate significant correlation at $P<0.05$ or $P<0.01$ levels, respectively.

2.4 5个向日葵小核盘菌MCG菌株的交配型

MCG1~MCG5的92株小核盘菌菌株中,17株菌株未检测到交配型,负反转型、正反转型、杂合型菌株分别为37、30和8株,所占比例分别为40%、33%和9%。在MCG1的32株菌株中,负反转型、正反转型、杂合型菌株分别为19、9和4株;在MCG2的25株菌株中,负反转型和正反转型菌株分别为12株

和13株,比例接近1:1;在MCG3的13株菌株中,负反转型、正反转型、杂合型菌株分别为1、3和2株,7株未鉴定出交配型;在MCG4的12株菌株中,负反转型、正反转型、杂合型以及未鉴定出交配型的菌株分别为2、1、2和7株,比例为2:1:2:7;在MCG5的10株菌株中,负反转型、正反转型菌株分别为3株和4株,3株未鉴定出交配型,未检测到杂合型菌株(表5)。

表5 5个向日葵小核盘菌菌丝亲和组92株菌株的交配型

Table 5 Mating type of 92 sunflower *Sclerotinia minor* strains from five mycelium compatibility groups

菌丝亲和组 Mycelium compatibility group	菌株数 No. of strains	负反转型 Inversion minus type	正反转型 Inversion plus type	杂合型 Heterokaryon	未检测到 Not detected
MCG1	32	19	9	4	0
MCG2	25	12	13	0	0
MCG3	13	1	3	2	7
MCG4	12	2	1	2	7
MCG5	10	3	4	0	3
合计 Total	92	37	30	8	17

3 讨论

向日葵菌核病的发生和危害成为制约着向日葵产业的发展。本研究将自内蒙古阴山北麓地区9个采集点采集的110株小核盘菌菌株划分为14个

MCG,同一采集点采集的菌株最少被划分到3个不同的MCG中,最多被划分到7个不同的MCG中,初步表明向日葵小核盘菌存在着较高的变异水平,与李敏(2015)将来自内蒙古自治区同一采集点的51株小核盘菌菌株划分为11个MCG的结果类似。Wu &

Subbarao(2006)对生菜上的核盘菌和小核盘菌进行MCG划分,91.4%的小核盘菌菌株被集中划分到4个MCG中,而89株核盘菌菌株被划分到37个MCG中,与本研究结果略有不同,表明生菜上小核盘菌群体内遗传变异程度较核盘菌低。刘春来等(2016)对黑龙江省和内蒙古自治区不同寄主的核盘菌种群进行了MCG分析,44株菌株被划分到25个MCG中,同一地点采集的菌株也被划分到不同的MCG中。张丽艳(2010)将自油菜茎秆上分离的30株核盘菌菌株划分到17个MCG中,且来自同一茎秆上的核盘菌菌株也存在不亲和现象。大部分研究结果表明寄主来源、地域与菌丝亲合组之间无明显相关性(Garrido et al., 2011; 李易初, 2014),本研究结果也显示不同采集点的菌株被划分到同一MCG中,而同一采集点的菌株被划分到不同MCG中。

草酸分泌量、多聚半乳糖醛酸酶2个因子与核盘菌致病力密切相关(Li et al., 2008; 卜浩宇等, 2014; Li et al., 2016),Godoy et al.(1990)研究结果表明草酸分泌量是核盘菌致病力的决定因子;王玉杰(2011)研究结果显示向日葵核盘菌的草酸分泌量、多聚半乳糖醛酸酶活性与核盘菌的致病力显著相关。本研究结果也显示向日葵小核盘菌菌株的草酸分泌量与致病力显著相关。母玉翠(2013)将核盘菌菌株接种到油菜叶片上,3 d后侵染油菜叶片中的多聚半乳糖醛酸酶活性达到最大值,并通过试验证明致病力不同的菌株,其多聚半乳糖醛酸酶活性也具有明显差异,与本研究结果一致。Liang et al. (2015)将核盘菌的草酰乙酸水解酶基因敲除后,敲除突变体不能产生草酸,但在侵染初期仍然能够形成病斑,然而病斑不能进一步扩展,表明在核盘菌侵染过程中,草酸能为病原菌的侵染提供有利环境,但非致病因子。Xu et al.(2015)也认为草酸并不是核盘菌必须的致病因子,只是为核盘菌的侵染提供酸性环境。本研究所得出的草酸分泌量与致病力相关性较低的原因可能是小核盘菌与核盘菌自身差异所致。陈蓉(2013)研究结果表明,自油菜上分离得到的核盘菌菌株的菌落直径、菌核数量、单个菌核质量等指标与形态学指标之间无明显相关性,与本研究结果相似。为了比较不同MCG组间和组内各小核盘菌菌株生物学特性和致病力的差异,本研究主要对包含菌株超过10株的MCG进行了研究,但对5株单独成组的菌株未进行研究,这5株菌株之间是否存在遗传上的变异与致病力分化还有待进一步研究。

在病原菌与寄主的长期互作中,病原菌的致病性表现出不断的分化现象(聂峰杰等,2010)。本研究中不同的MCG小核盘菌菌株致病力之间无明显差异,但是同一MCG中的小核盘菌菌株致病力存在分化现象。Yang et al.(2016)将不同寄主来源的95株小核盘菌菌株划分到8个MCG中,不同MCG菌株的致病力之间无显著差异,与本研究结果一致。通过离体叶片接种只能初步确定小核盘菌对向日葵的致病力,利用随机扩增多态性DNA标记(random amplified polymorphic DNA, RAPD)等技术从分子水平上揭示小核盘菌的致病性将能更有效地分析和预测小核盘菌致病力的分化情况。本研究通过对不同MCG中菌株的交配型进行鉴定,发现除了在MCG2组中负反转型和正反转型菌株比例接近1:1外,其它MCG组中负反转型和正反转型菌株比例均偏离了1:1,且部分MCG中还检测到一定比例的交配基因为杂合型以及未检测到交配基因的菌株,造成这种现象的原因可能是,在小核盘菌菌株中减数分裂的频率增加,进而导致染色体发生不精确和反向的机会变大,从而导致在遗传上出现变异的个体比例增加。

参 考 文 献 (References)

- Bu HY, Liu XJ, Dong BZ, Zhou HY, Jing L, Zhao J. 2014. Effects of winter broad irrigation on the vigor and pathogenicity of sunflower sclerotinia in soils. Journal of Plant Protection, 41(3): 305–310 (in Chinese) [卜浩宇, 李晓娟, 东宝柱, 周洪友, 景岚, 赵君. 2014. 冬季灌水对土壤中向日葵菌核的活力及其致病力的影响. 植物保护学报, 41(3): 305–310]
- Chen R. 2013. The study on impacting on pathogenicity variation and genetic differentiation of *Sclerotinia sclerotiorum* from different regions in Sichuan Province. Master Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University (in Chinese) [陈蓉. 2013. 四川不同地区的油菜菌核病的致病力及遗传分化影响研究. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学]
- Chitrampalam P, Inderbitzin P, Maruthachalam K, Wu BM, Subbarao KV. 2013. The *Sclerotinia sclerotiorum* mating type locus (MAT) contains a 3.6-kb region that is inverted in every meiotic generation. PLoS ONE, 8(2): e56895
- Chitrampalam P, Pryor BM. 2015. Characterization of mating type (MAT) alleles differentiated by a natural inversion in *Sclerotinia minor*. Plant Pathology, 64(4): 911–920
- Durman SB, Menendez AB, Godeas AM. 2005. Variation in oxalic acid production and mycelial compatibility within field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. Soil Biology and Biochemistry, 37 (12): 2180–2184
- Garrido PA, Dobhal S, Flores FJ, Rodriguez CG, Blough K, Melouk

- HA, Garzon CD. 2011. Population structure and genetic diversity of *Sclerotinia minor* from peanut research plots in Oklahoma. *Phytopathology*, 101: S59
- Godoy G, Steadman JR, Dickman MB, Dam R. 1990. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 37(3): 179–191
- Karov I, Mitrev S, Maširević S, Kovacevik B. 2011. First appearance of white mould on sunflower caused by *Sclerotinia minor* in the Republic of Macedonia. *Helia*, 34(54): 19–26
- Kohn LM, Stasovski E, Carbone I, Royer J, Anderson JB. 1991. Mycelial incompatibility and molecular markers identify genetic variability in field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 81(4): 480–485
- Koike ST. 2013. First report of white mold caused by *Sclerotinia minor* on Mexican sunflower in California. *Plant Disease*, 97(9): 1250
- Li M. 2015. Identification of *Sclerotinia minor* and genetic diversity of *Sclerotinia minor* and *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower. Master Thesis. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University (in Chinese) [李敏. 2015. 向日葵小核盘菌的鉴定以及小核盘菌和小核盘菌遗传多样性的研究. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学]
- Li M, Jia R, Na R, Hou Y, Bu H, Zhou HY, Zhao J. 2016. Genetic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* within a single sunflower field in Wenquan, Xinjiang Province, China. *Journal of Plant Pathology*, 98(1): 43–53
- Li YC. 2014. Study on the biological characteristic, mycelial compatibility group and genetic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* in Heilongjiang Province. Master Thesis. Harbin: Northeast Agricultural University (in Chinese) [李易初. 2014. 黑龙江大豆菌核病菌生物学特性、融合群及遗传多样性研究. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学]
- Li ZQ, Zhang M, Wang YC, Li R, Dilantha Fernando WG. 2008. Mycelial compatibility group and pathogenicity variation of *Sclerotinia sclerotiorum* populations in sunflower from China, Canada and England. *Plant Pathology Journal*, 7(2): 131–139
- Liang XF, Liberti D, Li M, Kim YT, Hutchens A, Wilson R, Rollins JA. 2015. Oxaloacetate acetylhydrolase gene mutants of *Sclerotinia sclerotiorum* do not accumulate oxalic acid, but do produce limited lesions on host plants. *Molecular Plant Pathology*, 16(6): 559–571
- Liu CL, Wang S, Xia JX, Yang F, Li XM, Meng QL, Liu Y, Su BH, Zhang YH. 2016. Mycelial compatibility group and pathogenicity variation of *Sclerotinia sclerotiorum* populations from Inner Mongolia and Heilongjiang. *Plant Protection*, 42(3): 145–150 (in Chinese) [刘春来, 王爽, 夏吉星, 杨帆, 李新民, 孟庆林, 刘宇, 苏宝华, 张匀华. 2016. 内蒙古和黑龙江的核盘菌菌丝融合群分化及致病性研究. 植物保护, 42(3): 145–150]
- Liu J, Meng QL, Zhang YH, Xiang HT, Li YC, Shi FM, Ma LG, Liu CL, Liu Y, Su BH, et al. 2018. Mycelial compatibility group and genetic variation of sunflower *Sclerotinia sclerotiorum* in Northeast China. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102: 185–192
- Melzer MS, Smith EA, Boland GJ. 1997. Index of plant hosts of *Sclerotinia minor*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19(3): 272–280
- Moyo S, Gashea BA, Collisona EK, Mpuchane S. 2003. Optimising growth conditions for the pectinolytic activity of *Kluyveromyces wickerhamii* by using response surface methodology. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1/2): 87–100
- Mu YC. 2013. Study on the biochemical mechanism of pathogenic differentiation of *Sclerotinia sclerotiorum*. Master Thesis. Hefei: Anhui Agricultural University (in Chinese) [母玉翠. 2013. 核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 致病性分化的生化机制研究. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学]
- Nie FJ, Zuo YX, Huang LL, Qin HQ, Gao XN, Han QM. 2010. Pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* isolated from rapeseed in Shaanxi Province. *Journal of Plant Protection*, 37(6): 499–504 (in Chinese) [聂峰杰, 左叶信, 黄丽丽, 秦虎强, 高小宁, 韩青梅. 2010. 陕西省核盘菌不同分离株对油菜的致病性. 植物保护学报, 37(6): 499–504]
- Wang XL, Shi Y, Zhang YH, Sun FJ, Pan HY. 2015. Phylogenetics of the mating type gene *MATI-1* in ascomycetes. *Mycosistema*, 34(6): 1219–1226 (in Chinese) [王雪亮, 史洋, 张艳华, 孙凤杰, 潘洪玉. 2015. 子囊菌交配型基因 *MATI-1* 的系统发育. 菌物学报, 34(6): 1219–1226]
- Wang YJ. 2011. Genetic diversity and pathogenicity variation of *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower. Master Thesis. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University (in Chinese) [王玉杰. 2011. 向日葵菌核病病原菌遗传多样性及致病力分化的研究. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学]
- Wu BM, Subbarao KV. 2006. Analyses of lettuce drop incidence and population structure of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. *Phytopathology*, 96(12): 1322–1329
- Xu LS, Xiang MC, White D, Chen WD. 2015. pH dependency of sclerotial development and pathogenicity revealed by using genetically defined oxalate-minus mutants of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Environmental Microbiology*, 17(8): 2896–2909
- Yang D, Zhang J, Wu MD, Chen WD, Li GQ, Yang L. 2016. Characterization of the mycelial compatibility groups and mating type alleles in populations of *Sclerotinia minor* in central China. *Plant Disease*, 100(11): 2313–2318
- Zhang LY. 2010. Diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* in one field and genetic characteristics of selected strain with mycovirus. Ph. D Thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [张丽艳. 2010. 单一田块核盘菌多样性分析及携带真菌病毒的菌株的遗传特性研究. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学]

(责任编辑:张俊芳)