

野生樱桃李对北方根结线虫和花生根结线虫的抗性

李冬梅 王仙林 朱立新 吴静利 邵姗姗 宗鹏鹏 贾克功*

(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

摘要 为探明野生樱桃李抗根结线虫种质资源的价值,以实生钵苗为试材,采用人工接种等方法,研究其对北方根结线虫和花生根结线虫的抗性。结果表明:接种后 30 d,野生樱桃李根系中北方根结线虫、花生根结线虫的雌成虫数量分别占 2 龄线虫接种量的 0.16% 和 0.03%,依据抗性评价标准判定其高抗北方根结线虫和花生根结线虫;接种北方根结线虫的群体中包含免疫、高抗和中抗 3 种类型,分别占群体总数的 46%、48% 和 6%;接种花生根结线虫的包含免疫和高抗 2 种类型,分别占群体总数的 56% 和 44%;接种北方根结线虫和花生根结线虫的植株未被侵染率分别为 46% 和 52%,所有供试植株根系表面均未发现线虫卵块。野生樱桃李高抗北方根结线虫和花生根结线虫,其对北方根结线虫、花生根结线虫的抗性均存在显著的株间分离现象;抗侵入、抗发育和抗繁殖是其对北方根结线虫和花生根结线虫的主要抗性机制;野生樱桃李是抗根结线虫核果类果树砧木种质资源树种。

关键词 野生樱桃李; 北方根结线虫; 花生根结线虫; 抗性评价

中图分类号 S 662.3

文章编号 1007-4333(2013)01-0108-05

文献标志码 A

Resistance of *Prunus divaricata* Ledeb to major root-knot nematodes of *Meloidogyne hapla* and *Meloidogyne arenaria*

LI Dong-mei, WANG Xian-lin, ZHU Li-xin, WU Jing-li,
SHAO Shan-shan, ZONG Peng-peng, JIA Ke-gong*

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In order to evaluate the resistant value of *Prunus divaricata* Ledeb germplasm resources, the pot seedlings of *Prunus divaricata* Ledeb were inoculated with root-knot nematodes of *Meloidogyne hapla* and *Meloidogyne arenaria*. The results showed that 0.16% and 0.03% of the second stage juvenile nematodes (J2) in all inoculation J2 of *M. hapla* and *M. arenaria* were developed into female adults in the following 30 days after artificial inoculation. *Prunus divaricata* Ledeb was highly resistant to the root-knot nematodes of *M. hapla* and *M. arenaria* according to the resistance evaluation standard. The immune, highly resistant and middle resistant genotypes to *M. hapla* were found in *Prunus divaricata* Ledeb, being 46%, 48% and 6% of the seedlings respectively. The immune, highly resistant genotypes to *M. arenaria* were found in *Prunus divaricata* Ledeb, being 56% and 44% of the seedlings respectively. It was found that 1.2% and 0.4% of inoculation nematode quantity were penetrated by *M. hapla* and *M. arenaria* respectively and 87% and 92.7% of the penetrated nematode population were not developed into female adults and no eggs were found on any root surfaces of the materials. The high resistance of *Prunus divaricata* Ledeb to *M. hapla* and *M. arenaria* was segregated in seedlings. *Prunus divaricata* Ledeb was one of resistant species and germplasm resources for root-knot nematodes of *M. hapla* and *M. arenaria* because it could resist penetration and delay the development of juvenile nematodes. The resistance of penetration, upgrowth and breeding is the major resistance mechanism.

Key words *Prunus divaricata* Ledeb; *Meloidogyne hapla*; *Meloidogyne arenaria*; resistance evaluation

收稿日期: 2012-03-07

基金项目: 引进国际先进农业科学技术项目(201035); 国家科技支撑计划项目资助(2007BAD57B05-4)

第一作者: 李冬梅, 硕士研究生, E-mail: sense_1314@126.com

通讯作者: 贾克功, 教授, 主要从事果树栽培、果树种质资源评价与果树砧木品种选育研究, E-mail: jk Gong@cau.edu.cn

根结线虫 (*Meloidogyne*) 是一类在经济上极为重要的植物专性寄生线虫, 寄主范围较广, 主要寄主有蔬菜、果树、林木、观赏植物、粮食作物、经济作物及杂草等^[1]。目前国际上报道的根结线虫有 90 多种, 其中北方根结线虫 (*M. hapla* Chitwood)、花生根结线虫 (*M. arenaria* Chitwood)、南方根结线虫 (*M. incognita* Chitwood) 和爪哇根结线虫 (*M. javanica* Chitwood) 是危害核果类果树的主要根结线虫^[2]。根结线虫病对我国核果类果树生产危害严重, 目前选育抗病砧木品种是防治根结线虫病最为经济有效的环境友好型方法。

野生樱桃李 (*Prunus divaricata* Ledeb.) 是蔷薇科 (*Rosaceae*) 李属 (*Prunus*) 植物, 分布在中亚、天山和高加索等地区^[3], 在我国属国家重点二级保护植物, 濒临灭绝, 仅生长于新疆大西沟和小西沟野果林区, 海拔 1 000~1 600 m, 是其分布的最东端^[4]。

野生樱桃李是一种宝贵的野生果树, 抗寒抗旱^[5], 常作为桃、杏和李等的砧木, 其种质资源价值、经济价值和开发利用价值较高^[6]。有研究发现^[7], 野生樱桃李对发根土壤杆菌存在很好的抗性分离现象, 其中免疫型植株高达 35.5%, 是优异的抗根癌病树种。王仙林等评价野生樱桃李高抗南方根结线虫^[8], 但其对北方根结线虫和花生根结线虫的抗性尚未见详细的研究报道。本试验研究野生樱桃李对北方根结线虫和花生根结线虫的抗性, 旨在为科学评价其综合抗性和砧用种植资源价值提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

野生樱桃李种子购自新疆维吾尔自治区伊犁州霍城县, 沙藏 90 d 后播种于 10 cm×10 cm 软质塑料钵中, 基质由体积比为 2:1:1 的土:蛭石:草炭混合而成, 经 120 °C、20 min 高压灭菌, 播种 1 个月后随机取出实生钵苗 120 株进行接种。

北方根结线虫和花生根结线虫二龄幼虫, 取自中国农业大学上庄试验站线虫繁殖区, 从番茄病根上挑取卵块置于培养皿内蒸馏水中, 25 °C 左右孵化 5 d 后用浅盘法过滤收集并分别配成 100 条/mL 二龄线虫悬浮液。

1.2 方法

1.2.1 抗性评价

将 120 株实生钵苗平均分为 2 组, 每组接种一

种根结线虫, 每株接种二龄线虫 500 条, 以株为单位编号、挂牌和登记。接种后的钵苗在中国农业大学果树发育系统调控与高效栽培试验室内养护, 室内温度 25~30 °C。

接种后 30 d, 每组依次取 50 株, 以株为单位调查根内线虫数量、发育情况和根表卵块数。先将供试钵苗从营养钵中取出, 抖落根系上的栽培基质, 用清水将根系漂洗干净, 然后调查记录根结和卵块数量, 最后对根内线虫进行次氯酸钠-酸性品红染色, 并将染色后的根系置于体视显微镜下, 计数根内二龄幼虫、三四龄幼虫和雌成虫数量, 计算供试群体根内雌成虫占接种线虫数的百分率, 根据计算结果和抗性评价标准, 分别评价野生樱桃李对北方根结线虫和花生根结线虫的抗性。根内线虫染色方法是在王衍纯^[9]等人方法的基础上经多次试验调整后确定的。

抗性评价标准参照文献^[9], 依据有无根结和根内雌成虫数量占接种线虫数量的百分比分为 6 个等级: 免疫 (Immune, I), 高抗 (High resistance, HR), 中抗 (Middle resistance, MR), 低抗 (Low resistance, LR), 感病 (Susceptibility, S) 和易感病 (High susceptibility, HS)。

1.2.2 抗性分离情况分析

根据调查结果和抗性评价标准分别评价供试植株的个体抗性, 统计供试群体内所包含的抗性类型, 计算每种抗型植株占群体总数的百分比, 分析其对北方根结线虫和花生根结线虫的抗性分离情况。

1.2.3 主要抗性机制分析

根据调查结果, 统计接种侵入率、根内线虫发育率及卵块数量, 分析野生樱桃李对北方根结线虫和花生根结线虫的主要抗性机制。

2 结果与分析

2.1 对北方根结线虫的抗性

2.1.1 抗性评价

调查结果 (表 1) 表明: 接种北方根结线虫的 50 株实生苗根系上形成 336 个根结, 根内发现 39 条雌成虫, 占接种线虫数 (25 000 条) 的 0.16%, 依据抗性评价标准判定野生樱桃李高抗北方根结线虫; 个体抗性评价结果显示, 50 株实生苗中有免疫型 23 株、高抗型 24 株和中抗型 3 株, 未发现低抗、感病和易感病型植株, 免疫、高抗、中抗型植株分别占群体总数的 46%、48% 和 6%。

表1 野生樱桃李对北方根结线虫的抗性

Table 1 Resistance of *Prunus divaricata* Ledeb. to *Meloidogyne hapla*

株号 Number	根结/个 Roots number	雌成虫/条 Female adults	雌成虫/J2 接种量/% Female adults/ All inoculation J2	抗性 Resistance	株号 Number	根结/个 Roots number	雌成虫/条 Female adults	雌成虫/J2 接种量/% Female adults/ All inoculation J2	抗性 Resistance
1	1	0	0.0	高抗 HR	27	0	0	0.0	免疫 I
2	0	0	0.0	免疫 I	28	0	0	0.0	免疫 I
3	0	0	0.0	免疫 I	29	24	5	1.0	中抗 MR
4	3	0	0.0	高抗 HR	30	0	0	0.0	免疫 I
5	0	0	0.0	免疫 I	31	0	0	0.0	免疫 I
6	0	0	0.0	免疫 I	32	0	0	0.0	免疫 I
7	0	0	0.0	免疫 I	33	12	1	0.2	高抗 HR
8	2	0	0.0	高抗 HR	34	19	2	0.4	高抗 HR
9	4	0	0.0	高抗 HR	35	6	1	0.2	高抗 HR
10	0	0	0.0	免疫 I	36	0	0	0.0	免疫 I
11	34	4	0.8	高抗 HR	37	9	0	0.0	高抗 HR
12	9	0	0.0	高抗 HR	38	0	0	0.0	免疫 I
13	0	0	0.0	免疫 I	39	16	2	0.4	高抗 HR
14	4	0	0.0	高抗 HR	40	34	4	0.8	高抗 HR
15	2	0	0.0	高抗 HR	41	0	0	0.0	免疫 I
16	0	0	0.0	免疫 I	42	8	0	0.0	高抗 HR
17	0	0	0.0	免疫 I	43	14	0	0.0	高抗 HR
18	2	0	0.0	高抗 HR	44	0	0	0.0	免疫 I
19	8	1	0.2	高抗 HR	45	6	0	0.0	高抗 HR
20	0	0	0.0	免疫 I	46	4	0	0.0	高抗 HR
21	3	0	0.0	高抗 HR	47	0	0	0.0	免疫 I
22	0	0	0.0	免疫 I	48	0	0	0.0	免疫 I
23	7	0	0.0	高抗 HR	49	2	0	0.0	高抗 HR
24	47	8	1.6	中抗 MR	50	0	0	0.0	免疫 I
25	14	1	0.2	高抗 HR	Σ	336	39	0.16	高抗 HR
26	42	10	2.0	中抗 MR					

注:J2表示二龄线虫;每株接种二龄幼虫500条。下表同。

Note:J2 represents the second stage juvenile nematodes;500 J2 inoculated per plant. The same below.

2.1.2 主要抗性机制

对调查结果统计分析表明:接种后30 d,50株钵苗中的23株根内未发现线虫,另27株根内共发现299条线虫,其中雌成虫39条,46%的植株未被侵染,98.8%接种线虫未能侵入根中,侵入根内的二龄幼虫的87%未发育成雌成虫,所有植株根系上均未发现卵块,这表明野生樱桃李对北方根结线虫具有极强的抗侵入与抗发育能力。

2.2 对花生根结线虫的抗性

2.2.1 抗性评价

调查结果(表2)表明:接种的50株实生苗根系上形成121个根结,根内发现8条雌成虫,占接种线虫数(25 000条)的0.03%,依据抗性评价标准判定野生樱桃李高抗花生根结线虫。个体抗性评价结果及统计分析表明:接种线虫的50株实生苗中有免疫型28株,高抗型22株,无中抗、低抗、感病和易感病

表 2 野生樱桃李对花生根结线虫的抗性

Table 2 Resistance of *Prunus divaricata* Ledeb. to *Meloidogyne arenaria*

株号 Number	根结/个 Roots number	雌成虫/条 Female adults	雌成虫/J2 接种量/% Female adults/ All inoculation J2	抗型 Resistance	株号 Number	根结/个 Roots number	雌成虫/条 Female adults	雌成虫/J2 接种量/% Female adults/ All inoculation J2	抗型 Resistance
1	0	0	0.0	免疫 I	27	0	0	0.0	免疫 I
2	3	0	0.0	高抗 HR	28	3	0	0.0	高抗 HR
3	1	0	0.0	高抗 HR	29	0	0	0.0	免疫 I
4	0	0	0.0	免疫 I	30	0	0	0.0	免疫 I
5	1	0	0.0	高抗 HR	31	0	0	0.0	免疫 I
6	0	0	0.0	免疫 I	32	0	0	0.0	免疫 I
7	0	0	0.0	免疫 I	33	4	0	0.0	高抗 HR
8	0	0	0.0	免疫 I	34	2	0	0.0	高抗 HR
9	0	0	0.0	免疫 I	35	0	0	0.0	免疫 I
10	1	0	0.0	高抗 HR	36	0	0	0.0	免疫 I
11	0	0	0.0	免疫 I	37	1	0	0.0	高抗 HR
12	0	0	0.0	免疫 I	38	2	0	0.0	高抗 HR
13	2	0	0.0	高抗 HR	39	0	0	0.0	免疫 I
14	0	0	0.0	免疫 I	40	0	0	0.0	免疫 I
15	0	0	0.0	免疫 I	41	0	0	0.0	免疫 I
16	2	0	0.0	高抗 HR	42	0	0	0.0	免疫 I
17	3	0	0.0	高抗 HR	43	23	2	0.4	高抗 HR
18	0	0	0.0	免疫 I	44	0	0	0.0	免疫 I
19	1	0	0.0	高抗 HR	45	5	0	0.0	高抗 HR
20	5	0	0.0	高抗 HR	46	15	1	0.2	高抗 HR
21	0	0	0.0	免疫 I	47	2	0	0.0	高抗 HR
22	0	0	0.0	免疫 I	48	0	0	0.0	免疫 I
23	18	2	0.4	高抗 HR	49	4	0	0.0	高抗 HR
24	0	0	0.0	免疫 I	50	22	3	0.6	高抗 HR
25	1	0	0.0	高抗 HR	Σ	121	8	0.03	高抗 HR
26	0	0	0.0	免疫 I					

型植株,免疫、高抗型植株分别占群体总数的 56% 和 44%; 野生樱桃李对花生根结线虫的抗性存在显著的株间分离现象。

2.2.2 主要抗性机制分析

试验结果表明:接种后 30 d,50 株苗中的 26 株根内未发现线虫,另 24 株中发现 109 条,其中 8 条发育为雌成虫,52% 植株未被侵染,99.6% 的接种线虫未能成功侵染,92.7% 的根内线虫未发育成雌成虫,所有植株根系上均未发现卵块,这表明野生樱桃李对花生根结线虫具有极强的抗侵入、抗发育及抗

繁殖能力。

3 讨论

3.1 野生樱桃李对根结线虫的抗性特征

有研究表明野生山樱李高抗南方根结线虫^[8], 本研究结果表明其同样高抗北方根结线虫和花生根结线虫,说明其对主要根结线虫具有宽频抗性;在此之前,一些研究显示桃树砧木品种筑波 4 号、筑波 5 号对主要根结线虫的抗性^[10-12],发现这 2 种树种同样对几种主要根结线虫具有宽频抗性。但是,核果

类果树对不同根结线虫的抗性是否真正存在相关性,还需要进一步的研究证实。野生樱桃李对3种主要根结线虫的抗性分离情况相似,均存在显著的株间分离现象。野生樱桃李高抗3种主要根结线虫,但其对3种根结线虫的抗性仍存在明显差异,对花生根结线虫抗性最强,其次是北方根结线虫,再次是南方根结线虫。

3.2 野生樱桃李对主要根结线虫的抗性机制

花生根结线虫、北方根结线虫和南方根结线虫对野生樱桃李的幼虫侵入率只有0.40%、1.20%和1.45%^[8],而王衍纯的研究结果显示,南方根结线虫、花生根结线虫和北方根结线虫对感病的“白果强丰”番茄的幼虫侵入率为19.84%、15.75%和25.38%^[13],分别为野生樱桃李的50、13和18倍。这表明,野生樱桃李对南方根结线虫、花生根结线虫和北方根结线虫均具有极强的抗侵入作用,抗侵入是其抗根结线虫的主要机制,而且其抗侵入作用强度与其抗性强度正相关。

野生樱桃李对3种主要根结线虫均具有极强的抗发育和抗繁殖作用,侵入根中的花生根结线虫、北方根结线虫、南方根结线虫分别只有13.0%、有7.3%、32.2%发育为雌成虫,但均未发现卵块^[8],而有研究结果显示^[13],侵入“白果强丰”番茄根内的上述根结线虫发育成雌成虫的比例分别高达91.9%和92.2%和82.7%,平均每株根系上发现14.4、12.6和15.8个卵块。这表明野生樱桃李不仅对3种主要根结线虫具有极强的抗侵入作用,而且具有极强的抗发育和抗繁殖作用,其对3种主要根结线虫的抗发育作用一方面显著降低了根内幼虫发育率,另一方面表现为雌虫全部失去了产卵繁殖能力;野生樱桃李对根内幼虫发育的抑制作用强度因线虫种而异,对北方根结线虫的作用最强,其次是花生根结线虫,再次为南方根结线虫。

3.3 野生樱桃李的种质资源价值

除高抗花生根结线虫、北方根结线虫和南方根结线虫外,野生樱桃李实生群体中28.0%和30.0%的植株对根癌土壤杆菌和发根土壤杆菌免疫,12.2%的植株具有极强抗盐性,53.3%的植株具有极强抗碱性,41.3%的植株具有极强抗酸性,1.0%的植株具强抗旱性,淹水试验最短存活时间为97 d,98%的植株存活155 d以上,耐涝性极强^[14]。这表明野生樱桃李是极优异的多抗型果树种质资源和基因资源树种,具有极高的开发利用价值。

3.4 试验中存在的问题

根据王灵燕等的研究结果^[11],接种量在每株500~100条J2时最适宜,本研究考虑到苗龄1个月的野生樱桃李的根系较小,因此选用每株接种500条J2。但是王灵燕并没有研究接种量对线虫产卵率的影响,关于此点还需要进一步的研究证实。

4 结 论

野生樱桃李高抗北方根结线虫和花生根结线虫,其对花生根结线虫和北方根结线虫的抗性均存在显著的株间分离现象,其中存在56%和46%的免疫型植株,是优异的抗根结线虫种质与基因资源树种;抗侵入、抗发育和抗繁殖是野生樱桃李对北方根结线虫和花生根结线虫的主要抗性机制。

参 考 文 献

- [1] 冯志新. 植物线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 74-84, 108-123, 168
- [2] 邓大林, 兰庆渝, 赵谦, 等. 四川省主要果树植物寄生线虫研究[J]. 西南农业学报, 1997(S1): 54-64
- [3] 俞德浚. 中国果树分类学[M]. 北京: 农业出版社, 1979: 58-60
- [4] 朱保忠, 雷新英. 野生樱桃李的适生性[J]. 新疆林业, 2001(3): 22
- [5] 周龙, 廖康, 许正, 等. 新疆野生樱桃李种质资源研究进展[J]. 经济林研究, 2010, 28(2): 142-145
- [6] 兰士波. 樱桃李的研究进展及开发利用前景[J]. 中国林副特产, 2008(5): 89-91
- [7] 刘常红. 几种核果类果树对根癌病的抗性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2009
- [8] 王仙林, 朱立新, 吴静利, 等. 野生樱桃李对南方根结线虫的抗性[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(6): 94-98
- [9] 王衍纯, 叶航, 李辉, 等. 毛樱桃对花生根结线虫的抗性研究[J]. 中国农业大学学报, 2010, 15(5): 71-76
- [10] 叶航, 贾克功, 朱立新, 等. 四种桃砧木对南方根结线虫抗性研究[J]. 中国果树, 2006(4): 39-42
- [11] 王灵燕, 朱立新, 贾克功. 几种李属植物对花生根结线虫的抗性[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(4): 24-28
- [12] 宫静静, 贾克功, 朱立新, 等. 桃树砧木品种筑波4号筑波5号对爪哇根结线虫的抗性[J]. 中国农业大学学报, 2009, 14(5): 72-75
- [13] 王衍纯. 毛樱桃对四种主要根结线虫抗性的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2010
- [14] 王仙林. 野生樱桃李对重要根系有害生物及非生物逆境的抗性评价[D]. 北京: 中国农业大学, 2011