

‘大叶草樱’对主要根结线虫的抗性评价

邵姗姗 朱立新* 贾克功 柴朋 曲艳华 罗磊 阿布都外力·木米尼 赵丽君
(中国农业大学 农学与生物技术学院,北京 100193)

摘要 为发掘抗线虫甜樱桃砧木,以实生砧苗为试材,采用人工接种的方法,研究‘大叶草樱’对北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫的抗性。结果表明:接种后 35 d,接种北方根结线虫(60 株)、花生根结线虫(59 株)、南方根结线虫(58 株)和爪哇根结线虫(60 株)的‘大叶草樱’实生苗中未形成根结的植株(0 级)数分别为 1、7、2 和 8,受害等级为 1 级的植株数分别为 59、52、56 和 52,病情指数分别为 19.7、17.6、19.3 和 17.3。根据抗性评价标准判定‘大叶草樱’高抗北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫。‘大叶草樱’对 4 种主要根结线虫的抗性均存在免疫和高抗 2 种基因型,对北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫免疫型植株分别占群体总量的 1.7%、11.9%、3.4% 和 13.3%。由此可见,‘大叶草樱’可判断为优良的抗根结线虫甜樱桃砧木和种质资源。

关键词 樱桃; 砧木; 北方根结线虫; 花生根结线虫; 南方根结线虫; 爪哇根结线虫; 抗性评价

中图分类号 S 432.4⁺ 5

文章编号 1007-4333(2014)02-0081-05

文献标志码 A

Resistance of ‘Dayecaoying’ to major root-knot nematodes

SHAO Shan-shan, ZHU Li-xin*, JIA Ke-gong, CHAI Peng, QU Yan-hua,
LUO Lei, Abuduwaili·mumini, ZHAO Li-jun

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

Abstract In order to find out an excellent root-stock of sweet cherry resisting to major root-knot nematodes, ‘Dayecaoying’ pot-grown seedlings were inoculated with four major root-knot nematodes including *Meloidogyne hapla*, *M. arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica*. The result showed that in 35 days after inoculation, the number of ‘Dayecaoying’ seedlings without root-knots which were inoculated with *M. hapla* (60), *M. arenaria* (59), *M. incognita* (58) and *M. javanica* (60) were 1, 7, 2 and 8 on level 0 and 59, 52, 59 and 52 on level 1. Their disease indexes were 19.7, 17.6, 19.3 and 17.3 respectively. ‘Dayecaoying’ was highly resistant to four kinds of root-knot nematodes according to the standard of resistance evaluation. Immune and highly resistant types were found in the seedling colony of ‘Dayecaoying’. The separated ratios of the seedlings immune to *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica* were 1.7%, 11.9%, 3.4% and 13.3% respectively. Therefore, ‘Dayecaoying’ was regarded as an excellent root-stock of sweet cherry and a germplasm resource to root-knot nematodes.

Key words sweet cherry; root-stock; *M. hapla*; *M. arenaria*; *M. incognita*; *M. javanica*; resistant evaluation

根结线虫病是一类重要的植物寄生线虫病害,常造成严重的经济损失。根结线虫主要危害植物的根部,寄主范围很广,超过 3 000 种植物,分属于 114 个科。从世界范围看,由根结线虫造成的年损失率约 10%,由常见根结线虫:南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)、爪哇根结线虫(*M. javanica*)、花生根结

线虫(*M. arenaria*)和北方根结线虫(*M. hapla*)造成的损失占到了 90%以上^[1]。

甜樱桃砧木类型较多。目前,我国应用的甜樱桃砧木主要有中国樱桃(*Prunus pseudocerasus*)、欧洲酸樱桃(*P. cerasus*)、山樱桃(*P. serrulata*)、考特(*P. avium* × *P. pseudocerasus*)、马哈利(*P.*

收稿日期: 2013-06-04

基金项目: 国家“948”项目资助(201035)

第一作者: 邵姗姗, 硕士研究生, E-mail: tigher2006@126.com

通讯作者: 朱立新, 副教授, 主要从事果树多抗性砧木品种选育及抗性机理研究, E-mail: yzzl@cau.edu.cn

Mahaleb)等;国外传统甜樱桃砧木是马哈利和马扎德(*P. Mazzard*),经过发展,也出现了GM系、MXM系和SL64等。不同砧木对线虫不同种的忍耐程度也不同。马扎德对短体线虫属(*Pratylenchus*)和剑线虫属(*Xiphinema*)的抗性不如马哈利;而马哈利对根结线虫 *M. inconita* 和类似种的抗性却不如马扎德^[2-4]。

‘大叶草樱’(*Cerasus pseudocerasus* (Lindl.) *G. Don*)是蔷薇科(Rosaceae)、李属(*Prunus*)落叶灌木,主要分布在我国山东地区,用其嫁接的甜樱桃生长发育良好,固地性、抗逆性强,寿命长,果品质量好^[4-5],是很优秀的甜樱桃砧用树种,但其对根结线虫病的抗性未见研究报道。植物线虫的防治途径主要有苗木检疫、土壤处理、生物防治和应用抗线虫砧木品种等^[6-7]。Johan等^[8]研究表明土施相应浓度的灭多虫和草酰胺对早期防治根结线虫病效果显著。但是土壤处理和生物防治成本高,生产上不易进行,因此选育抗线虫品种和砧木倍受人们关注,选育抗性砧木就成为防治大樱桃根结线虫病的最简便、最有效的方法。

本研究通过探明‘大叶草樱’对主要根结线虫的抗性,旨在为客观评价其砧用性能并为利用其进行甜樱桃抗线虫砧木品种选育工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

‘大叶草樱’实生钵苗:‘大叶草樱’种子购自山东省莱阳市,沙藏120 d后播种于10 cm×10 cm的软质塑料营养钵中,基质由园土、蛭石和草炭混合而成(体积比为1:1:1),经121℃高压灭菌20 min。

番茄钵苗:品种为‘白果强丰’,用以鉴定线虫致病性,育苗基质同‘大叶草樱’实生苗。路雪君^[9]研究表明,‘白果强丰’为根结线虫感病类型。预试验也表明,‘白果强丰’受线虫侵染严重。

北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫的二龄幼虫,4种线虫均取自中国农业大学上庄实验站线虫繁殖区。

1.2 方法

从番茄病根上挑取4种根结线虫的卵块置于不同培养皿内,在25℃条件下孵化7 d,用浅盘法过滤收集并分别配成100条/mL二龄线虫悬浮液备用^[6]。

将240株‘大叶草樱’实生钵苗平均分为4组,每组接种一种根结线虫,每株接种二龄幼虫1 000

条,以株为单位编号、挂牌和登记。接种后的钵苗在温室中培育,试验期间温室内温度20~30℃。每组设‘白果强丰’番茄对照3株。

接种后35 d,进行抗病性调查。调查时,将供试钵苗从营养钵中取出,轻轻抖落根系上的栽培基质;用清水将根系漂洗干净,并以株为单位调查记录根结数、卵块数和孵化出的活虫数(25℃孵化1周)^[10-11];根据调查结果和抗性评价标准,分别评价‘大叶草樱’对4种主要根结线虫的个体抗性、群体抗性及其抗性分离情况。

本试验的评价标准参照文献^[11]的研究。

1)个体抗性评价标准。根据根结数、卵块数和孵出活虫数将被测植株的抗性分为6个等级。免疫为无根结;高抗为有根结、无或有卵块,无孵化活虫;中抗为有根结、有卵块,孵化活虫数小于等于接种量的5倍;低抗为有根结、有卵块,孵化活虫数大于接种量的5倍小于等于接种量的15倍;感病为有根结、有卵块,孵化活虫数大于接种量的15倍,小于等于接种量的50倍;易感病为有根结、有卵块,孵化活虫数大于接种量的50倍。

2)群体抗性评价标准。根据调查结果和病级划分标准计算‘大叶草樱’的病情指数,依据病情指数高低,将‘大叶草樱’对所接种根结线虫的抗性分为6个等级。免疫为病情指数等于0;高抗为病情指数1~20;中抗为病情指数21~40;低抗为病情指数41~60;感病为病情指数61~80;易感病为病情指数81~100。

3)病级划分标准。根据根结数、卵块数和孵出活虫数将被测植株的受害情况分为6个等级。0级为无根结;1级为有根结、无或有卵块,无孵化活虫;2级为有根结、有卵块,孵化活虫数小于等于接种量的5倍;3级为有根结、有卵块,孵化活虫数大于接种量的5倍,小于等于接种量的15倍;4级为有根结、有卵块,孵化活虫数大于接种量的15倍,小于等于接种量的50倍;5级为有根结、有卵块,孵化活虫数大于接种量的50倍。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{病级} \times \text{同病级株数})}{\text{最高病级} \times \text{调查总株数}} \times 100$$

4)抗性分离情况分析。根据个体抗性评价结果,统计‘大叶草樱’群体内所包含的抗性类型,分别计算每种抗型植株数占群体总数的百分比,分析‘大叶草樱’群体对根结线虫的抗性分离情况。

2 结果与分析

接种后 35 d 的调查结果表明(表 1):接种根结线虫的‘白果强丰’番茄,尽管接种线虫的种类

或接种同种线虫的不同植株间的根结数量、卵块数量及孵化幼虫数量之间的差异均很大,但均带有大量根结,产生了大量卵块,并孵化出大量的二龄幼虫。

表 1 ‘白果强丰’番茄发病及根内线虫发育情况

Table 1 Disease situation of ‘Baiguoqiangfeng’ tomato and the development of root-knot nematodes

接种线虫 Species	接种数量 Quantity of vaccination	根结数量 Root knot amount	卵块数量 Eggs amount	孵化幼虫数量 Hatching larvae amount	孵化活虫总数量 Hatching live larvae amount	孵化活虫数量/接种线虫数量 Hatchinglive larvae amount/ quantity of vaccination
<i>M. hapla</i>	1 000	176	99	37 631	36 630	38.63
<i>M. arenaria</i>	1 000	800	595	224 869	216 579	216.58
<i>M. incognita</i>	1 000	129	85	33 239	32 754	32.75
<i>M. javanica</i>	1 000	222	56	34 728	33 679	33.68

2.1 对北方根结线虫的抗性

接种后 35 d,60 株‘大叶草樱’实生苗中的 59 株根系上长有根结。根结直径多在 1 mm 以内,无一株发现卵块。受害植株的根结数量很小,大部分集中在 1~20 之间(图 1),最多的一株为 31 个。结果显示(表 2),接种北方根结线虫的 60 株‘大叶草

樱’实生苗的受害情况为:0 级 1 株,1 级 59 株,病情指数为 19.7。根据群体抗性评价标准,判定‘大叶草樱’高抗北方根结线虫。个体抗性评价结果表明(表 3),60 株‘大叶草樱’实生苗中有免疫型 1 株,高抗型 59 株,分别占群体总数的 1.7%和 98.3%。

2.2 对花生根结线虫的抗性

接种后 35 d 内有 1 株死亡,其余 59 株‘大叶草樱’中的 52 株根系上长有根结。根结直径多在 1 mm 以内,无一株发现卵块。受害植株的根结数量很小,大部分集中在 0~10 之间,11~20 之间也有少量分布(图 1),30 个以上的只有 1 株(47 个)。结果显示(表 2),所调查接种花生根结线虫的 59 株‘大叶草樱’实生苗的受害情况为:0 级 7 株,1 级 52 株,病情指数为 17.6。根据群体抗性评价标准,判定‘大叶草樱’高抗花生根结线虫。个体抗性评价结果表明(表 3),59 株‘大叶草樱’中有免疫型 7 株,高抗型 52 株,分别占群体总数的 11.9%和 88.1%。

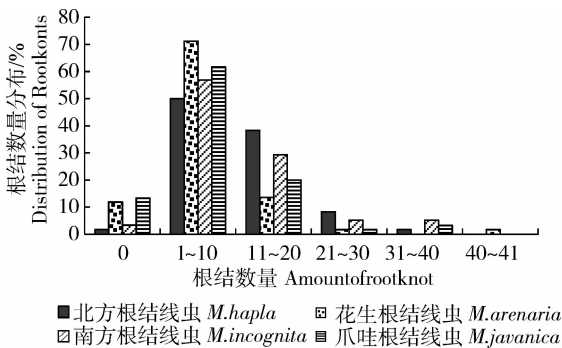


图 1 ‘大叶草樱’接种 4 种根结线虫的根结数比例
Fig. 1 Proportion of root knots of ‘Dayecaoying’ inoculated with four root-knot nematodes

表 2 ‘大叶草樱’对主要根结线虫的抗性

Table 2 Resistance of ‘Dayecaoying’ to 4 major root-knot nematodes

接种线虫 Species	调查植株数量 Investigating plant quantity	病级 Disease stage						病情指数 Disease index	抗病性 Resistance
		0	1	2	3	4	5		
<i>M. hapla</i>	60	1	59	0	0	0	0	19.7	高抗 High-resistant
<i>M. arenaria</i>	59	7	52	0	0	0	0	17.6	高抗 High-resistant
<i>M. incognita</i>	58	2	56	0	0	0	0	19.3	高抗 High-resistant
<i>M. javanica</i>	60	8	52	0	0	0	0	17.3	高抗 High-resistant

2.3 对南方根结线虫的抗性

接种后 35 d 内有 2 株死亡,其余 58 株‘大叶草樱’中的 56 株根系上长有根结。根结直径多在 1 mm 以内,无一株发现卵块。受害植株的根结数量很小,大部分集中在 1~20 之间,少数分布在 20~40 之间(图 1),最多为 40 个。结果显示(表 2),接种南方根结线虫的 58 株‘大叶草樱’实生苗的受害情况为:0 级 2 株,1 级 56 株,病情指数为 19.3。根据群体抗性评价标准,判定‘大叶草樱’高抗南方根结线虫。个体抗性评价结果表明(表 3),58 株‘大叶草樱’中有免疫型 2 株,高抗型 56 株,分别占群体总数的 3.4%和 96.6%。

2.4 对爪哇根结线虫的抗性

接种后 35 d,60 株‘大叶草樱’实生苗中的 52 株根系上长有根结。根结直径多在 1 mm 以内,无一株发现卵块。受害植株的根结数量很小,大部分集中在 0~20 个之间(图 1),最多的一株也只有 33 个。结果显示(表 2),接种爪哇根结线虫的 60 株‘大叶草樱’实生苗的受害情况为:0 级 8 株,1 级 52 株,病情指数为 17.3。根据群体抗性评价标准,判定‘大叶草樱’高抗爪哇根结线虫。个体抗性评价结果表明(表 3),60 株‘大叶草樱’实生苗中有免疫型 8 株,高抗型 52,分别占群体总数的 13.3%和 86.7%。

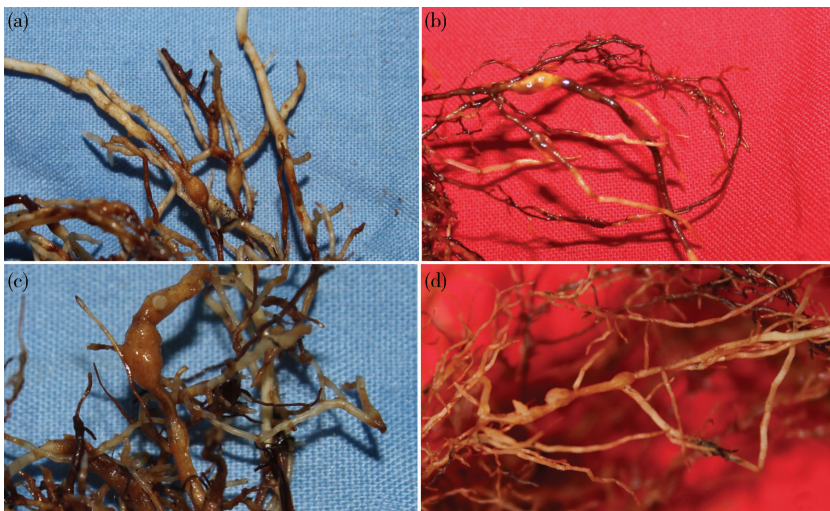
表 3 ‘大叶草樱’对主要根结线虫的抗性分离情况

Table 3 Resistant segregation of ‘Dayecaoying’ to 4 major root-knot nematodes

接种线虫 Species	调查植株数量 Investigating plant quantity	免疫		高抗		中抗		低抗		感病		易感病	
		Immune		High-resistant		Middle-resistant		Low-resistant		Susceptible		High-susceptible	
		株	比例/%	株	比例/%	株	比例/%	株	比例/%	株	比例/%	株	比例/%
<i>M. hapla</i>	60	1	1.7	59	98.3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. arenaria</i>	59	7	11.9	52	88.1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. incognita</i>	58	2	3.4	56	96.6	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. javanica</i>	60	8	13.3	52	86.7	0	0	0	0	0	0	0	0

图 2 显示的是部分‘大叶草樱’接种根结线虫后的发病情况,(a)、(b)、(c)和(d)分别为接种北方根

结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫后的发病情况。



(a)北方根结线虫 (b)花生根结线虫 (c)南方根结线虫 (d)爪哇根结线虫
(a)*M. hapla* (b)*M. arenaria* (c)*M. incognita* (d)*M. javanica*

图 2 ‘大叶草樱’的发病情况

Fig. 2 Disease situation of ‘Dayecaoying’

3 讨论

研究表明:对根结线虫易感病的‘白果强丰’番茄每株具有大量根结,形成大量卵块,孵化出大量活虫,而接种北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫的‘大叶草樱’实生苗中分别有1.7%、11.9%、3.4%和13.3%的植株根系上未发现根结,其余植株大部分只形成1~20、0~10、1~20和0~20个根结,最多也只有31、47、40和33个根结,且未发现一粒卵块。这表明‘大叶草樱’对北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫均具有极强的抗侵入与抗发育能力,是优秀的抗根结线虫甜樱桃砧木。

简单科学的评价指标与评价标准是客观评价植物抗根结线虫性能的前提和基础。以往的研究大都依据根结的有无和数量来划分病级,计算根结指数,再根据根结指数大小来评定植物抗性的强弱^[12-14]。但Meyer^[15]研究表明,某些田间表现高抗型的品种与感病型品种所形成的根结数量相近,说明根结指数指标难以客观反映植物对根结线虫的抗性。Nyczepir等^[16]的进一步研究发现,根结指数只能反映植物对根结线虫的抗侵入能力,而忽略了其抗发育能力。据此,Nyczepir^[17]提出应依据卵块数/株、卵粒数/株或卵粒数/克根计算病情指数,再根据病情指数判定植物抗性。事实上,植物对根结线虫的抗性主要表现为抗侵入与抗发育两方面,而抗发育又因其抗性强弱表现为侵入根系的二龄幼虫完全不能发育,只能发育至三龄幼虫、或四龄幼虫,或雌成虫但不能产卵,或产卵粒数下降,或所产卵粒孵化率低,或完全不能孵化。因此,只有采用接种植株根系卵块所孵出的二代活虫数量作为评价指标,才能客观评价植物对根结线虫的抗性。此外,接种植株根系卵块数量、卵粒数及所孵化出的活虫数量与接种量密切相关,因此,作为发病轻重的等级划分必须考虑接种量因素,按所孵化二代活虫数量与接种量的比值划分病级,计算病情指数,才能真正客观地评价植物的抗根结线虫性能。

4 结论

‘大叶草樱’高抗北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫;‘大叶草樱’对这4种线虫的抗性均存在免疫和高抗2种类型,其中免疫型植株分别占群体总量的1.7%、11.9%、3.5%

和13.3%;‘大叶草樱’对北方根结线虫、花生根结线虫、南方根结线虫和爪哇根结线虫具有极强的抗侵入与抗发育能力,是良好的抗根结线虫樱桃砧木和种质资源。

参 考 文 献

- [1] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000
- [2] 韩明三. 甜樱桃砧木利用现状与研究进展[J]. 北方果树,1998(6):3-4
- [3] 黄贞光,赵改荣,韩礼星,等. 国外甜樱桃砧木的发展趋势[J]. 果农之友,2004(1):43-44
- [4] 石顺吉,韩建志. 甜樱桃砧木的选择[J]. 果业经济,2010(11):26
- [5] 孙加顺. 优质大樱桃砧木大青叶通过鉴定[J]. 北京农业,2001(5):36
- [6] 左覃元,龚方成,朱更瑞,等. 不同桃砧木抗根结线虫鉴定初报[J]. 果树科学,1988,5(3):116-119
- [7] 祝明亮,李天飞,张克勤,等. 根结线虫生防资源概况及进展[J]. 微生物学通报,2004,31(1):100-104
- [8] Desaegeer J A, Rivera M, Leighty R, et al. Effect of methomyl and oxamyl soil applications on early control of nematodes and insects[J]. Pest Manag Sci, 2011(67):507-513
- [9] 路雪君. 湖南蔬菜根结线虫病的发生及抗南方根结线虫番茄品种的筛选[D]. 长沙:湖南农业大学,2011:30-31
- [10] 王仙林,贾克功,吴静利,等. 野生樱桃李对南方根结线虫的抗性评价[J]. 中国农业大学学报,2011,16(6):94-98
- [11] 李冬梅,王仙林,朱立新,等. 野生樱桃李对北方根结线虫和花生根结线虫的抗性评价[J]. 中国农业大学学报,2013,18(1):118-122
- [12] 左覃元,方成,朱更瑞,等. 不同桃砧木抗根结线虫鉴定初报[J]. 果树科学,1988,5(3):116-119
- [13] 朱更瑞. 中国桃属植物的抗性种质资源作物[J]. 品种资源,1992(3):18-20
- [14] Barker K R. Design of greenhouse and microplot experiments for evaluation of plant resistance to nematodes [C]// Zuckerman B M, Mai W F, Krusberg L R. Plant Nematology Laboratory Manual, 1985:103-113
- [15] Meyer A J. Why is “Nemaguard” peach rootstock resistant to rootknot nematodes (*Meloidogyne* spp) and “Kakamas” susceptible[J]. Deciduous Fruit Grower, 1978, 28(2):66-72
- [16] Nyczepir A P, Riley M B, Sharpe R R. Dynamics of concomitant populations of *Meloidogyne incognita* and *Criconebella xenoplax* on peach[J]. Journal of Nematology, 1993, 25(4):659-665
- [17] Nyczepir A P, Beckman T G, Reighard G L. Reproduction and development of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on Guardian peach rootstock [J]. Journal of Nematology, 1999, 31(3):334-340