

29个草莓品种对灰霉病的抗性评价及叶片生理指标差异

付羽佳, 白晶晶, 孙丹丹, 贾薇, 孙雅如, 郭芳睿, 王倩, 马可, 齐永志*, 甄文超

(河北农业大学植物保护学院, 河北保定 071001)

摘要:本研究通过室内盆栽、室内叶盘和田间小区试验测定了河北省29个优势草莓品种对灰霉病的抗性差异, 采用分光光度法测定了不同抗性草莓品种叶片生理指标并分析其与抗性关系。结果表明, 在29个草莓品种中, 对灰霉病表现高抗、中抗、中感和高感的依次为5、14、6、4个品种, 各占总数的13.8%、51.7%、20.7%和13.8%, 代表品种依次是硕丰、明宝、红颜和美香莎。高抗品种硕丰、甜查理、明宝第一穗果收获期灰霉病病情指数分别仅为7.32、7.75和11.38, 比对照感病品种红颜低61%以上。甜查理和硕丰草莓产量分别高达36 187 kg/hm²和35 340 kg/hm²。接种灰葡萄孢后, 抗性品种叶片总酚、类黄酮和可溶性蛋白含量均显著高于感病品种, 而叶绿素含量和叶片含水量与抗病性无显著相关性。

关键词:草莓; 灰霉病; 抗性; 品种筛选; 生理指标

中图分类号: S668.4

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)02-0082-06

Resistance Evaluation of 29 Strawberry Varieties to Gray Mold and Differences of Leaf Physiological Indexes

FU Yujia, BAI Jingjing, SUN Dandan, JIA Wei, SUN Yaru, GUO Fangrui, WANG Qian, MA Ke, QI Yongzhi*, ZHEN Wenchao

(College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China)

Abstract: The yield and quality of strawberry are seriously affected by gray mold. In this study, the resistance of 29 dominant strawberry varieties in Hebei Province to gray mold was determined by indoor potted plants, indoor leaf discs and field plots experiments. The leaf physiological indexes of different resistant strawberry varieties were determined by spectrophotometry method, and the relationship between the resistance and physiological indexes were analyzed. The results showed that among the 29 strawberry varieties, 5, 14, 6 and 4 varieties were highly resistant, moderately resistant, moderately sensitive and highly sensitive to gray mold, respectively, accounting for 13.8%, 51.7%, 20.7% and 13.8% of the total. The represented varieties were Shuofeng, Mingbao, Hongyan and Meixiangsha. And whose disease index of gray mold at the first spike fruit harvest stage was only 7.32, 7.75 and 11.38, respectively, which was more than 61% lower than that of Hongyan, a susceptible variety. The yields of Sweet Charlie and Shuofeng were as high as 36,187 kg/ha and 35,340 kg/ha, respectively. After inoculation with *Botrytis cinerea*, the contents of total phenolics, flavonoids and soluble protein in the leaves of the resistant varieties were significantly higher than those in susceptible varieties, but there was no significant correlation between the content of chlorophyll and disease resistance, as well as the water content in leaves.

Key words: Strawberry; Gray mold; Resistance; Variety screening; Physiological indicators

收稿日期: 2019-11-05

基金项目: 河北农业大学大学生创新创业训练计划项目(2019261); 保定市满城区草莓优势特色产业项目(20200830); 国家特色蔬菜产业技术体系(CARS-24-G-03)

作者简介: 付羽佳(1998-), 女, 在读本科, 主要从事植物病理生态学 Research。

通讯作者: 齐永志, 男, 博士, 副教授, E-mail: qiyongzhi1981@163.com

草莓(*Fragaria ananassa* Duch)属于蔷薇科草莓属, 为多年生草本植物, 是我国重要的经济作物之一^[1-2]。近些年, 中国草莓种植面积和产量均居于世界首位, 其中河北省是草莓主产区之一^[3]。随着草莓种植面积的扩大、年限的增加及抗病品种的缺失, 导致由灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*) 侵染引起的灰霉病(Gray Mould)发生程度逐年加重,

已给草莓生产造成巨大经济损失^[4]。据报道,一般地块该病发病率为10%~50%,严重地块发病率在60%以上,甚至绝收^[5]。

目前,草莓灰霉病主要防治措施为化学防治^[6-7]。但是,长期使用化学农药极易导致防效降低、病原菌抗药性增强、农药残留过量等问题^[8-10],繁育和种植抗性品种能有效缓解上述问题。然而,我国关于抗灰霉病草莓品种(系)筛选和抗性机制的研究相对较少。

本研究以河北省29个优势草莓品种为试材,

利用室内盆栽、室内离体叶盘和田间小区试验鉴定了其对抗灰霉病的抗性,并测定了不同抗性品种叶片生理指标与其抗性的关系,旨在为草莓灰霉病抗性品种的推广应用提供部分参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试草莓品种

29个优势草莓品种由河北农业大学植物保护学院植物病理生态学研究室提供,基本信息见表1。

表1 29个河北省优势草莓品种亲本或来源信息

品种	亲本或来源	品种	亲本或来源	品种	亲本或来源
巨星1号	山东	三路居	农家品种	栎乙女	久留米×栎峰
津美	引自美国	布兰登堡	引自德国	红颜	久能早生×女峰
吐德拉	派克×长乐	红花	福羽×幸玉	四季草莓	北京农学院选育
明旭	明晶×爱美	连童	童子1号	波兰76-1-2	中国农业科学院选育
红珍珠	爱美×丰香	童子-192	童子1号	新红花	石家庄果树研究所选育
丰香	绯美子×春香	达赛莱克特-1	达赛莱克特	童子1号	漯河天翼生物公司选育
明宝	春香×宝交早生	丹东小草莓	西岗果牧场	石莓2号	春香×海关早红
达赛莱克特	派克×爱尔桑塔	美香莎	格拉斯×CAL85.218-605	甜查理	F180-456×Pajaro
戈雷拉	Juspa×Us3736	全明星	MDUS4419×MDUS3185	达娜	MDUS×MDU4493
章姬	call45.52×cal222	硕丰	MDUS4485×MDUS4493		

1.1.2 供试病原菌

灰葡萄孢CM-14:于2017年2月采自河北省保定市满城区于庄村温室内草莓灰霉病病果,并在河北农业大学植物保护学院植物病理生态实验室分离、纯化及鉴定^[11];该菌株为河北省优势小种,且致病力较强。

1.1.3 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基^[12](PDA):琼脂15 g,葡萄糖20 g,马铃薯200 g,蒸馏水1 000 mL,高温灭菌,倒平板备用。下同。草莓继代培养基^[13]:IBA 0.2 mg,MS + BA 0.5 mg,琼脂4 g,蔗糖30 g,蒸馏水1 000 mL;草莓生根培养基^[13]无BA,其余同上。

1.2 方 法

1.2.1 29个草莓品种对灰霉病的室内抗性鉴定

29个草莓品种移栽驯化:试验在2018年3月~11月于河北农业大学植物保护学院创新试验园温室进行。分别选取长势均一、具有4叶1心和3条初生根的草莓组培苗移栽至含有蛭石与珍珠岩混合物体积比3:1的花盆中,每盆1株,每个品种30盆;然后置于光照培养箱中培养,培养条件:(25±1)℃、光照14 h、黑暗10 h、湿度80%、光强8 000 lx。每隔1 d浇灌稀释1倍的Hoagland营养液^[14]。20 d

后移栽至装满营养土的花盆(长×宽×高:12 cm×12 cm×10 cm)中,培养条件:(25±1)℃、光照14 h、黑暗10 h、湿度80%、光强8 000 lx。

灰葡萄孢菌悬液的制备:将灰葡萄孢菌接种于PDA培养基中,在生化培养箱中培养9 d(25℃,黑暗),直至产孢。显微镜下用血球计数板计数,将孢子悬浮液浓度调整至1.0×10⁶个孢子/mL。

草莓灰霉病抗性测定:盆栽法抗性鉴定参考王丽等^[15]方法,选取具有4叶1心的草莓,将浓度为1.0×10⁶个孢子/mL菌悬浮液均匀喷雾接种于3 mL/盆的不同草莓品种叶片上,喷雾时间和压强分别为60 s、0.1 MPa。每个草莓品种喷3个重复,每重复5盆,以等体积无菌水(3 mL/盆)作对照处理。在培养箱内保湿半小时后,转移到温室内培养,培养条件同品种驯化一致。各草莓品种分别于接种3、7、10、13 d后参考张亮^[16]的方法调查发病情况,并计算病情指数和综合病情指数。叶盘法抗性鉴定^[17]:选取从植株心向下数剪取第3和4片叶,用直径15 mm的打孔器打孔后,在培养皿内铺3层湿润滤纸,每皿放置9片叶盘,背面朝上;将孢子悬浮液均匀喷雾接种于不同草莓品种叶盘背面,接菌量0.1 mL/皿,喷雾压强同上。各品种重复3次,每重复3皿,以无菌水作为对照。密封

好后,置于光照培养箱内培养。培养条件不变。草莓叶片和叶盘灰霉病病情分级标准参考张晶方法^[18]。

病情指数=[病级级数×发病叶片(盘)数]/[最高病级指数×总叶(盘)数]×100

相对病指=品种(系)病指/品种(系)最高病指

综合病指=(叶盘病指+盆栽病指)/2

相对抗病指数=1-品种病指/品种最高病指

根据相对抗病指数将抗病程度划分为高感(0.20以下)、中感(0.20~0.39)、中抗(0.40~0.79)、高抗(0.80~0.99)和免疫(1.00)五种类型^[19]。

1.2.2 不同草莓品种对灰霉病的田间抗性鉴定

试验于2017年8月~2018年3月在河北省保定市满城区于庄村草莓大棚内进行。草莓棚长×宽=45.0 m×12.0 m,棚内温湿度均按常规方法管理(白天温度控制在25~28℃,晚上以7℃为宜),该棚历年灰霉病发病较重。土壤于8月10日用20 kg/亩氯化苦熏地5 d,晾晒7 d后起垄,垄高30 cm,垄宽50 cm。定植方式为一垄双行,每行300棵^[20-21]。试验种植4个品种,分别为高抗品种甜查理、明宝、硕丰和中感品种红颜;每品种设置3次重复,每重复5垄。分别在定植、现蕾、始花、盛花、膨大和收获期调查灰霉病发生情况。每重复

均采用五点取样法取样,每个调查点取5株^[22]。采用常规方法测定植株单株叶数、根数、根系鲜重、根系干重、地上部鲜重、地上部干重、花蕾数、单株果实数、平均单果重和最大果重;同时,根据草莓种植密度,按第一穗花采收果实占果实总收获量的20%估测理论产量。

1.2.3 不同草莓品种叶片生理生化指标测定

以上述试验初筛获得的高抗品种(甜查理、硕丰)、中抗品种(章姬、达娜)和高感品种(美香莎、红珍珠)为试材,在接种0、3、7、10、13 d取各草莓品种不同部位叶片,分别参考关锦毅等^[23]、冯立娟等^[24]、周建华等^[25]、朱丽梅等^[26]和张亮等^[16]方法测定叶片叶绿素、总酚、黄酮、可溶性蛋白和水分含量。

2 结果与分析

2.1 29个草莓品种对灰霉病的抗性差异

接菌3 d时,盆栽和叶盘试验中各草莓品种叶片均未发病;接菌7 d后,美香莎、红珍珠等品种叶片首先出现黄褐色“V”字形病斑。随着接菌时间的延长,美香莎、布兰登堡等品种灰霉病斑扩展速度急剧上升,而硕丰、甜查理、明宝等品种叶片病斑面积较小且扩展速度较慢(见图1)。

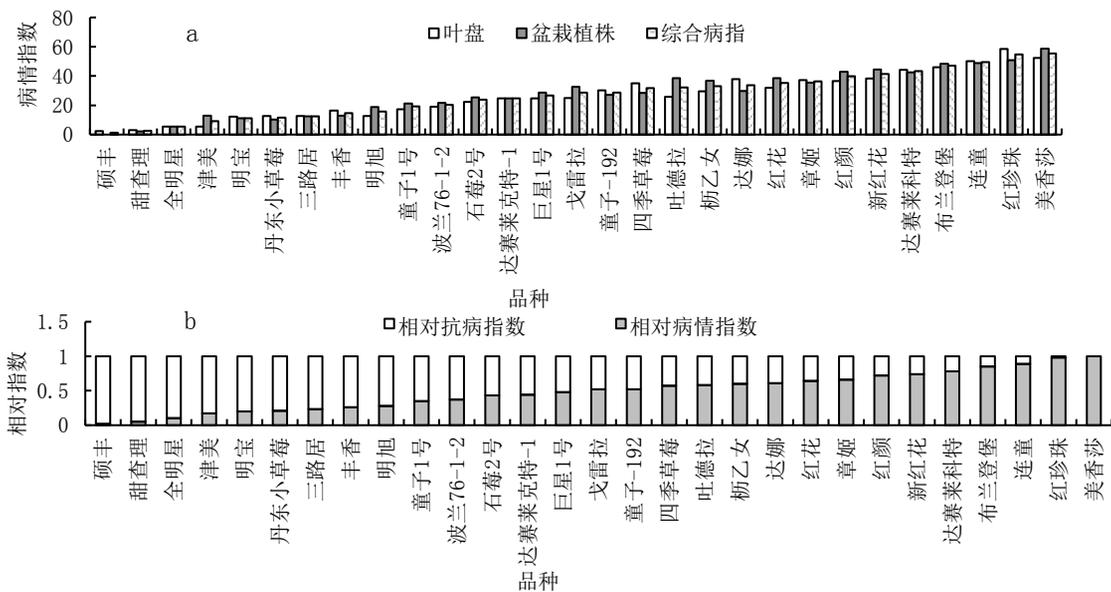


图1 接菌13 d后不同草莓品种灰霉病病情指数(a)、相对抗病指数和相对病情指数(b)

综合叶盘和盆栽试验结果发现,29个草莓品种中,高抗、中抗、中感和高感草莓灰霉病品种分别有4、15、6、4个,各占总数的13.8%、51.7%、20.7%和13.8%,各类型代表品种依次为硕丰、明宝、红颜和美香莎。硕丰抗病能力最强,其综合病指最低,仅为1.18;其次是甜查理,综合病指为2.62;全明星综合病指为5.56;红珍珠和美香莎综

合病指均达到54以上。

2.2 不同抗灰霉病草莓品种田间生长状况

由图2可知,定植期至现蕾期,各草莓品种生长状况间均无明显差异;始花期到收获期,29个草莓品种生长指标间差异逐渐达到显著水平($P < 0.05$)。收获期,明宝长势最优,其根系鲜重、根系干重、地上部鲜重和地上部干重分别为14.73、

5.22、73.82、18.75 g,均显著高于其他3个品种;感病品种红颜各生长状况最差,单株根数、单株叶

数、根系鲜重和根系干重分别仅为43.50条、12.15个、13.24 g和4.33 g。

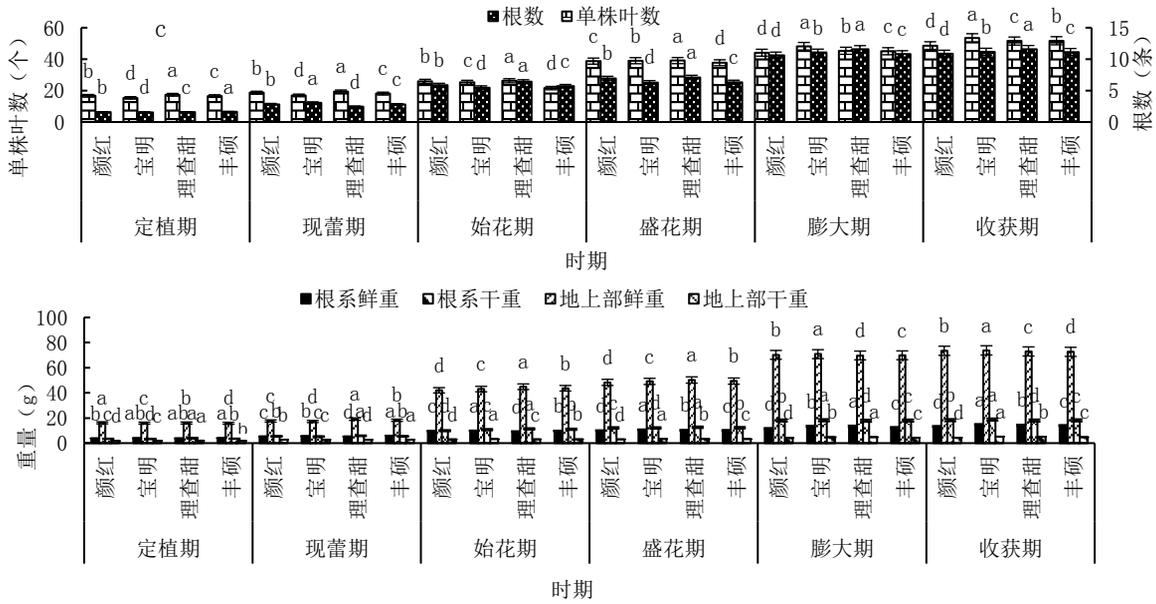


图2 定植期至收获期不同抗灰霉病草莓品种生长发育状况

2.3 不同抗灰霉病草莓品种产量差异

由表2可知,中感品种红颜草莓单株花蕾数、最大果重均分别显著低于高抗品种明宝和甜查理。甜查理单株果实数与高抗品种硕丰差异不明显,但均显著高于红颜和明宝。明宝平均单果重

显著低于甜查理,但与其他品种无显著差异。4个草莓品种中,甜查理草莓估测产量高达36 187 kg/hm²,显著高于红颜和明宝;明宝的估测产量最低,为33 097 kg/hm²。

表2 不同抗灰霉病草莓品种产量

品种	抗性水平	单株花蕾数(个)	单株果实数(个)	最大果重(g)	平均单果重(g)	估测产量(kg/hm ²)
硕丰	高抗	17.4ab	13.7a	33.5a	16.8ab	35 340ab
明宝	高抗	18.1a	12.3b	34.1a	15.8b	33 097c
甜查理	高抗	18.5a	13.5a	36.3a	17.2a	36 187a
红颜	中感	16.6b	12.8b	28.6b	16.3ab	34 215b

2.4 不同抗灰霉病草莓品种田间发病情况

由图3可知,定植期各品种均未发病;现蕾期4个品种均初步显症,但硕丰、明宝、甜查理灰霉

病病指均显著低于红颜;收获期红颜病指高达29.73,显著高于硕丰、甜查理和明宝的病指(依次为7.32、7.75和11.38)。

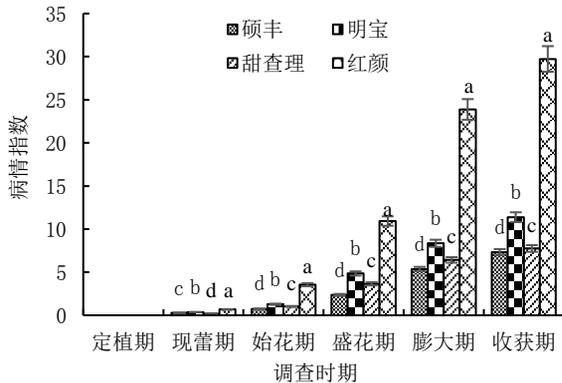


图3 不同草莓品种灰霉病的田间发病情况

2.5 不同抗灰霉病草莓品种叶片生理生化指标差异

2.5.1 不同抗灰霉病草莓品种叶片叶绿素含量差异

由图4可知,6个不同抗灰霉病草莓品种接菌3 d后,除硕丰和章姬外,其他草莓品种叶绿素含量均显著降低。接菌10 d后,所有草莓品种叶片叶绿素含量均显著下降,高感品种美香莎和红珍珠降幅分别高达21.7%和22.9%;但高抗品种甜查理、硕丰降幅较小,分别为7.1%和11.5%。接菌13 d后,抗病品种硕丰、甜查理叶片叶绿素含量反而呈上升趋势,也均显著高于其他品种。

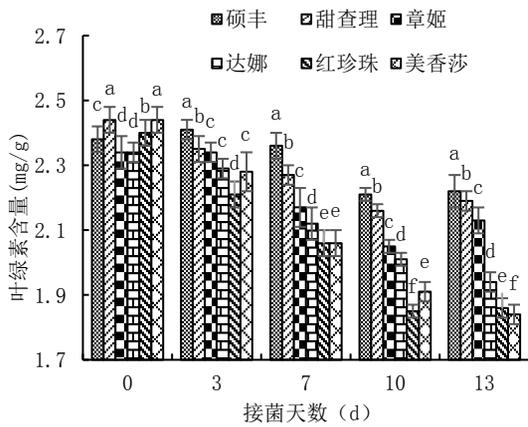


图4 接菌后不同抗灰霉病草莓品种叶片叶绿素含量变化

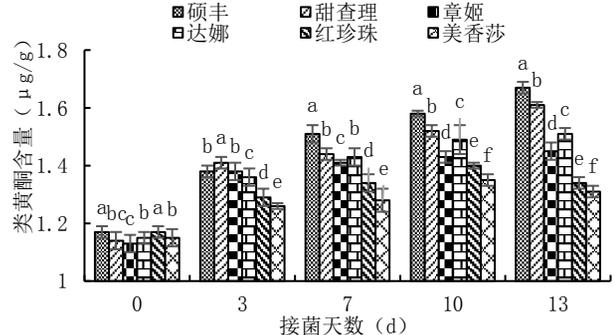
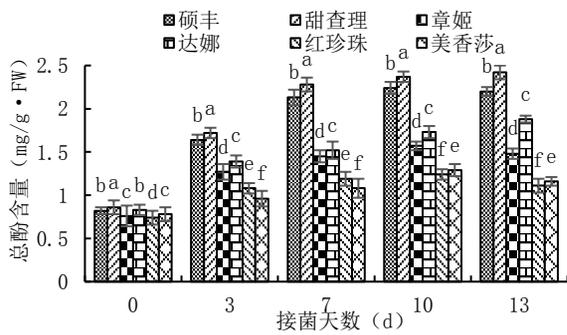
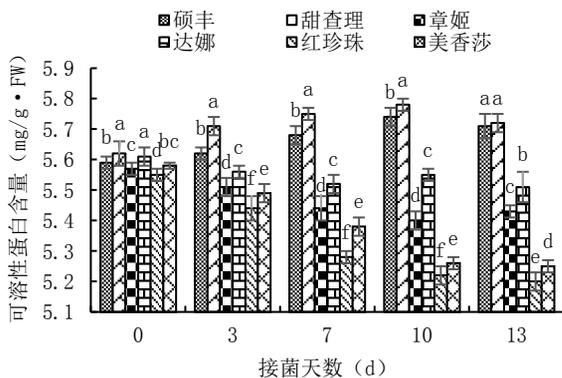


图5 接菌后不同抗性草莓品种叶片总酚和类黄酮含量变化

高抗品种硕丰、甜查理和中感品种达娜类黄酮含量增幅均明显高于高感品种美香莎、红珍珠及中抗品种章姬。接菌7 d后,抗病品种硕丰类黄酮含量最高,为1.67 mg/g·FW;而感病品种美香莎类黄酮含量仅为1.31 mg/g·FW。接菌10 d后,甜查理、硕丰、章姬、达娜、美香莎和红珍珠类黄酮含量分别比各自对照提高33.3%、42.7%、26.5%、31.3%、17.4%和19.7%。接菌13 d后,甜查理、硕丰、达娜、章姬类黄酮含量均呈上升趋势,而美香莎和红珍珠类黄酮含量呈下降趋势。

2.5.3 不同抗灰霉病草莓品种叶片可溶性蛋白和含水量差异

接菌前,供试草莓品种间可溶性蛋白含量均



无明显差异(图6)。接菌10 d后,高抗品种硕丰、甜查理可溶性蛋白含量变化趋势为先升后降,而高感品种红珍珠和美香莎、中感品种达娜及中抗品种章姬可溶性蛋白含量随时间延长呈下降趋势。接菌13 d后,达娜和章姬可溶性蛋白含量降幅均较小;美香莎和红珍珠可溶性蛋白含量均降至5.3 mg/g·FW以下。

接菌前后,供试不同草莓抗性品种叶片含水量差异明显(图6),且含量变化呈现无规律状态。接菌13 d后,硕丰叶片含水量最高,为71.03%;红珍珠含水量最低,为69.52%。

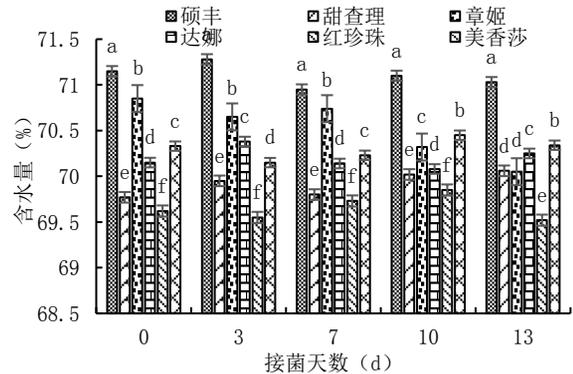


图6 接菌后不同抗性草莓品种可溶性蛋白含量和含水量变化

3 讨 论

目前防治草莓灰霉病最有效的措施之一是筛选和培育抗病品种。韩永超等^[27]利用田间试验测定晶玉、甜查理、丰香、晶瑶对炭疽病和灰霉病抗性发现,晶玉对灰霉病的抗性显著强于其他三个品种。赵密珍等^[28]调查的160个草莓品种中,硕蜜、明宝、83-11、83-21、益芳等对灰霉病的抗性最强,其中,硕蜜发病率仅为4.8%。本研究发现,甜查理对灰霉病的抗性较强,该结论与韩永超等^[27]的结果相同。本研究从29个品种中筛选出4个高抗品种,占所筛选品种总数比例为13.8%,而赵密珍等^[28]筛选出的高抗品种所占比例仅为4.38%,主要可能是因为供试草莓品种特性不同所致。另外,本研究发现,明宝是中抗品种,但赵密珍等^[28]认为明宝是高抗品种,究其原因可能是接菌量或菌株致病力差异的影响。

多酚和类黄酮是植物特有的一类次生代谢产物,具有很好的抗氧化活性。可溶性蛋白的增加和提高能保护细胞生命物质和生物膜,进而能提高作物的抗性。草莓在接菌后总酚、类黄酮、可溶性蛋白含量持续升高,提高了对灰霉病的抗性。据报道,类黄酮和总酚均可提高猕猴桃果实抗逆性和抗灰霉病的能力^[29];可通过活化酚类物质来提高苹果灰霉病抗性^[30],均与本试验研究结果一致。由于总酚和类黄酮的含量在植物感病后持续上升,可能与酚类物质的本身活性和植物自身的抗性有关。由此可见,叶片上一些酚类物质的增加势必能够提高植物的部分抗性。

草莓的叶片含水量对抗灰霉病无关,但对白菜软腐病抗性却密切相关^[31]。组织中含水量越多,软腐病发生越严重。究其原因可能是植物组织结构的差异所导致的。

参考文献:

[1] 张丙秀,李柱刚,赵树亮,等.森嘎拉草莓叶片不定芽诱导及转化体系的建立[J].吉林农业科学,2013,38(5):71-74.

[2] 冯福东.大棚草莓高效栽培技术研究[J].中国农业文摘-农业工程,2019,31(1):79-80.

[3] 杨洁,张杨.河北省特色农业产业发展现状—以保定市满城县为例[J].中国集体经济,2014(34):15-16.

[4] Zhang H, Wang L, Dong Y, et al. Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*[J]. *Biological Control*, 2007, 40(2): 287-292.

[5] 王春燕,花冬梅.保护地草莓灰霉病的发生与防治[J].北京农业,2003(1):16.

[6] 谢昀焱,王连平,方丽,等.4种杀菌剂对浙江省不同地区的草莓灰霉病敏感性比较[J].农药,2017,56(2):135-137.

[7] 张頌函,陈秀,赵莉,等.6种杀菌剂防治草莓灰霉病的田间药效评价[J].世界农药,2015,37(5):47-49.

[8] Giraud T, Fortini D, Levis C, et al. RFLP markers show genetic recombination in *Botryotinia fuckeliana*(*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species[J]. *Molecular biology and evolution*, 1997, 14(11): 1177-1185.

[9] 白耀博,陈学进,凤舞剑,等.徐州地区草莓灰霉病菌对腐霉利的抗药性研究[J].东北农业科学,2017,42(1):33-35.

[10] 潘以楼,朱桂梅,郭建.江苏草莓灰霉病菌对5种杀菌剂的抗药性[J].江苏农业学报,2013,29(2):299-304.

[11] 叶振风,吴湘琴,吕冠华,等.梨树腐烂病的病原菌鉴定和化学药剂筛选[J].华中农业大学学报,2015,34(2):49-55.

[12] 宋培玲,燕孟娇,张键,等.不同杀菌剂对油菜黑胫病菌分生孢子萌发及菌丝生长的抑制作用[J].北方农业学报,2018,46(3):70-75.

[13] 刘雪静.草莓抗枯萎病突变体的筛选及抗性生理研究[D].保定:河北农业大学,2009.

[14] 齐永志,甄文超.对羟基苯甲酸胁迫对不同草莓品种光合作用及叶绿素荧光特性的影响[J].园艺学报,2016,43(6):1157-1166.

[15] 王丽,王文桥,孟润杰,等.几种新杀菌剂对马铃薯晚疫病控制作用[J].农药,2010,49(4):300-302,305.

[16] 张亮.甜瓜果斑病抗性鉴定及抗性相关形态和生理研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2016.

[17] 张志宏,刘艳,高秀岩,等.草莓抗白粉病的离体鉴定及农药的筛选[J].园艺学报,2004,31(4):505-507.

[18] 张晶.设施草莓灰霉病药剂防治试验[J].辽宁农业职业技术学院学报,2017,19(2):5-6.

[19] 张亮,王惠林,万秀琴,等.不同甜瓜材料苗期细菌性果斑病抗性鉴定[J].北方园艺,2016(9):117-120.

[20] 关玲,赵密珍,王庆莲,等.草莓品种(系)白粉病田间抗性鉴定[J].吉林农业大学学报,2018,40(3):276-284.

[21] 靳宝川,张雷,邢冬梅,等.11个草莓品种对炭疽病的田间抗性表现[J].植物保护,2014,40(2):123-126,131.

[22] 苏媛.草莓抗连作障碍突变体田间抗性评价及快繁体系研究[D].保定:河北农业大学,2016.

[23] 关锦毅,郝再彬,张达,等.叶绿素提取与检测及生物学功效的研究进展[J].东北农业大学学报,2009,40(12):130-134.

[24] 冯立娟,尹燕雷,杨雪梅,等.不同石榴品种果皮褐变及其相关酶活性分析[J].果树学报,2017,34(3):354-362.

[25] 周建华,刘松艳,巩发永.两种分光光度法测定苦荞中黄酮含量的比较[J].江苏农业科学,2008,36(5):247-251.

[26] 朱丽梅,罗凤霞.百合叶片中可溶性蛋白、叶绿素、可溶性糖含量与灰霉病抗性的关系[J].江苏农业科学,2011,39(5):134-136.

[27] 韩永超,曾祥国,向发云,等.草莓新品种晶玉对炭疽病和灰霉病的抗性鉴定[J].湖北农业科学,2015,54(13):3153-3156.

[28] 赵密珍,余桂红,钱亚明,等.草莓品种灰霉病抗性田间鉴定[J].植物遗传资源科学,2002,3(4):36-38.

[29] 张艳宜,任亚梅,宋小青,等.CPPU和1-MCP处理对采后猕猴桃抗灰霉病的影响[J].中国食品学报,2017,17(4):140-146.

[30] 周晓婉,唐永萍,石亚莉,等.1-MCP对低温贮藏苹果灰霉病抗性的诱导作用[J].食品科学,2016,37(12):254-260.

[31] 狄原渤,阿瑟·凯尔曼.钙和水分在大白菜抗软腐病中的作用[J].植物病理学报,1990,20(3):77-82.

(责任编辑:王丝语)