



草莓属植物种质资源对炭疽病抗性的离体评价

韩永超, 曾祥国, 向发云, 过聪, 张庆华, 陈丰滢, 关伟

(湖北省农业科学院经济作物研究所/蔬菜种质创新与遗传改良湖北省重点实验室, 武汉 430064)

摘要: 【目的】对草莓属植物 12 个草莓野生种 24 份材料、1 个栽培种 41 个品种、种间杂交种 6 个品种共 71 份种质资源的炭疽病抗性进行评价, 为草莓属植物种质资源的利用提供依据。【方法】以从草莓上分离得到的果生炭疽菌 (*Colletotrichum fructicola*) 为接种病原, 采用离体接种法将炭疽菌孢子悬浮液 (1×10^6 个分生孢子/mL) 均匀接种在草莓叶片的叶面、叶柄上。置于 28℃ 条件下保湿培养 4 d, 然后分别对每个叶片的发病情况进行调查, 统计叶面病斑数量、叶面最大病斑直径、叶柄最大病斑长度。运用 IBM SPSS 15.0 软件对不同供试材料的叶面病斑数量、叶面病斑直径、叶柄病斑长度进行相关性分析。根据叶柄病斑长度对每个叶片的病害严重程度进行分级, 计算每份材料的病情指数, 以接种炭疽菌后叶柄的病情指数为依据对供试材料的炭疽病抗性进行评价。以草莓种类为固定因素, 供试材料为随机因素, 采用 SAS 中的一般线性模型程序计算凤梨草莓 (41 份)、东北草莓 (3 份)、绿色草莓 (4 份)、黄毛草莓 (3 份)、种间杂交种 (6 份) 的病情指数差异 ($P < 0.05$)。【结果】供试材料中没有对炭疽病完全免疫的材料, 所有材料在接种果生炭疽菌 4 d 后均有不同程度的发病。对不同材料间的对比发现, 感染炭疽病后草莓叶柄病斑长度与叶面病斑数量、叶片病斑直径均呈极显著正相关。以接种炭疽菌后的叶柄病斑长度为依据可以对供试材料的炭疽病抗性进行区分, 供试材料中高抗 17 份、抗病 20 份、中抗 21 份、中感 3 份、感病 6 份、高感 4 份, 炭疽病抗性水平为中抗及以上的材料占全部供试材料的 81.7%。凤梨草莓中的‘3 公主’‘森加森加拉’‘达赛莱克特’‘全明星’‘香野’‘威斯塔尔’和‘京藏香’, 种间杂交种中的‘桃薰’对炭疽病的抗性水平为高抗。在草莓野生种中全部东北草莓、绿色草莓、东方草莓供试材料对炭疽病的抗性水平为高抗, 东北草莓和绿色草莓的病情指数显著低于凤梨草莓。【结论】对草莓属种质资源 71 份材料的炭疽病抗性进行了评价, 从栽培草莓中筛选出‘3 公主’‘森加森加拉’‘达赛莱克特’‘全明星’‘香野’‘威斯塔尔’‘京藏香’7 个高抗品种。东北草莓和绿色草莓中存在高抗炭疽病的资源, 其对炭疽病的整体抗性水平显著高于凤梨草莓, 在种间杂交育种过程中可以作为炭疽病抗原来源。

关键词: 草莓; 种质资源; 果生炭疽菌; 炭疽病; 抗性

In vitro Evaluation of Strawberry Germplasm Resources for Resistance to Anthracnose

HAN YongChao, ZENG XiangGuo, XIANG FaYun, GUO Cong, ZHANG QingHua,
CHEN FengYing, GUAN Wei

(Institute of Industrial Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences/Hubei Key Laboratory of Vegetable Germplasm Enhancement and Genetic Improvement, Wuhan 430064)

Abstract: 【Objective】The objective of this study is to evaluate the anthracnose resistance level of 71 strawberry accessions

收稿日期: 2019-05-13; 接受日期: 2019-05-29

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金 (31701882)、湖北省技术创新专项-重大项目 (2018ABA071)、湖北省农业科技创新中心资助项目 (2016-620-000-001-014)

联系方式: 韩永超 (通信作者), E-mail: hyc660@126.com

including 24 accessions from 12 *Fragaria* species, 41 cultivars from *Fragaria* × *ananassa* and 6 interspecific hybrids, and to provide a basis for the utilization of strawberry germplasm resources in resistance breeding. 【Method】 *Colletotrichum fructicola* isolate Gwha-1, which was isolated from strawberry petiole, was used as inoculation pathogen. The suspension of *C. fructicola* (1×10^6 conidia/mL) was evenly inoculated on the leaf surface and petiole of strawberry leaves by *in vitro* inoculation method. Inoculated leaves were moisturized at 28°C for 4 days, and then the incidence of each leaf was investigated. The lesion number on leaf surface, the largest lesion diameter on leaf surface, and the maximum lesion length on petiole were counted. Correlation analysis was performed on the lesion length on petiole, the lesion number and the lesion diameter on leaf surface of different materials using IBM SPSS 15.0 software. The disease severity of each leaf was ranked according to the lesion length on petiole. The disease index of each material was calculated, and the anthracnose resistance of the tested materials was evaluated based on the disease index of petiole after inoculation with *C. fructicola* isolate Gwha-1. The general linear model procedure (PROC GLM) in SAS was used to analyze the differential significance ($P < 0.05$) among five strawberry species, including *F.* × *ananassa* (41 accessions), *F. mandschurica* (3 accessions), *F. viridis* (4 accessions), *F. nilgerrensis* (3 accessions), and interspecific hybrids (6 accessions). Species were used as fixed factors and tested materials as random factors. 【Result】 There was no completely immune material to anthracnose caused by *C. fructicola* in the tested materials, and all materials had different degrees of disease incidence after 4 days of inoculation with *C. fructicola* isolate Gwha-1. The comparison of different materials showed that the lesion length on leaf petiole was positively correlated with the lesion number on leaf and the lesion diameter on leaf surface after inoculation. According to the lesion length on petiole after inoculation with *C. fructicola*, the anthracnose resistance of the tested materials could be distinguished. The numbers of materials with anthracnose resistance level of high resistance, resistance, medium resistance, medium susceptibility, susceptibility and high susceptibility were 17, 20, 21, 3, 6 and 4, respectively, 81.7% of the tested materials had medium resistance, resistance or higher resistance level to anthracnose caused by *C. fructicola*. ‘3 Gongzhu’ ‘Senga Sengana’ ‘Darselect’ ‘Allstars’ ‘Kaorino’ ‘Veestar’ and ‘Jingzangxiang’ in the *F.* × *ananassa*, and ‘Tokun’ in interspecific hybrids had high resistance to anthracnose. In the wild species of strawberry, the resistance level of all the *F. mandschurica*, *F. viridis* and *F. orientalis* tested materials was high resistance, and the disease index of *F. mandschurica* and *F. viridis* was significantly lower than that of *F.* × *ananassa*. 【Conclusion】 The anthracnose resistance of 71 strawberry resources was evaluated. Seven cultivars of high resistance to anthracnose were selected from the cultivated strawberries, including ‘3 Gongzhu’ ‘Senga Sengana’ ‘Darselect’ ‘Allstar’ ‘Kaorino’ ‘Veestar’ and ‘Jingzangxiang’. There are high anthracnose resistant resources in *F. mandschurica* and *F. viridis*. Their resistance level to anthracnose is significantly higher than that of *F.* × *ananassa*, which can be used as an antigen source of anthracnose in interspecific hybridization.

Key words: strawberry; germplasm resources; *Colletotrichum fructicola*; anthracnose; resistance

0 引言

【研究意义】草莓是蔷薇科 (Rosaceae) 草莓属 (*Fragaria*) 多年生常绿草本植物, 有“浆果皇后”之称, 在世界小浆果生产中居于首位。近年来世界各国草莓种植业发展迅速, 中国草莓种植面积和产量不断增加, 2017 年中国草莓种植面积达 13.37 万公顷, 总产量达 372.46 万吨^[1], 种植面积和产量均稳居世界第一位, 但各种草莓病害的发生却阻碍了其健康发展。炭疽病已成为全世界草莓产业发展的主要病害之一^[2-3], 该病害在我国草莓种植区发生普遍, 且近年来有危害愈发严重的趋势, 目前已成为我国夏季草莓育苗期的主要病害^[4-5]。施用杀菌剂是最为常见的防治方法, 但目前已发现对多种杀菌剂具有抗药性的菌株^[6], 药剂防治效果已不显著, 种植抗病品种是防治草莓炭疽病的有效措施。对草莓属植物种质资源的炭疽病抗

性进行评价, 对生产上选用、选育抗炭疽病品种均具有重要意义。【前人研究进展】全世界草莓属植物有 25 个种, 其中 14 个种原产我国, 染色体基数为 $x=7$, 由 $2x$ 、 $4x$ 、 $6x$ 、 $8x$ 等倍性构成。被广泛栽培利用的草莓属植物是八倍体凤梨草莓 (*Fragaria* × *ananassa*, $2n=8x=56$), 其余多为野生或半野生状态。现有草莓栽培品种对炭疽病的抗性存在显著差异^[7], 主栽品种中 ‘玛利亚’ 和 ‘吐德拉’ 抗性较强, ‘哈尼’ 和 ‘甜查理’ 表现为中抗, ‘丰香’ 表现为中感, 而 ‘红颜’ 属感病品种^[8-9], 尚未发现对炭疽病完全免疫的栽培草莓品种。野生草莓资源不仅对不良环境条件具有良好的适应性, 还蕴藏着丰富的抗性基因^[10-11], 在提高栽培品种抗逆性、抗病性等方面具有较大潜力。我国自然分布的野生草莓包括 8 个二倍体种: 森林草莓 (*F. vesca*)、西藏草莓 (*F. nubicola*)、黄毛草莓 (*F. nilgerrensis*)、绿色草莓 (*F. viridis*)、东北草莓 (*F.*

mandschurica)、五叶草莓 (*F. pentaphylla*)、裂萼草莓 (*F. daltoniana*)、中国草莓 (*F. chinensis*) ; 5 个四倍体种: 伞房草莓 (*F. corymbosa*)、西南草莓 (*F. moupinensis*)、东方草莓 (*F. orientalis*)、纤细草莓 (*F. gracilis*)、高原草莓 (*F. tibetica*)^[12-13]。野生草莓蕴藏着丰富的基因资源, 如黄毛草莓不仅具有耐旱、耐高温、抗叶部病害等特点, 且果实具有独特香气; 五叶草莓抗寒、抗旱、抗病; 东北草莓和东方草莓抗寒; 绿色草莓抗寒、抗病性强。五叶草莓、黄毛草莓、西南草莓、绿色草莓和东北草莓中均存在中抗炭疽病的资源^[14]。这些野生资源为栽培品种品质、抗性改良提供了丰富的资源库^[13,15]。炭疽病可危害草莓根颈、匍匐茎、叶柄、叶片和果实^[16-17], 严重时可导致 80% 的草莓苗在移栽前带菌或因根颈处感病死亡。一般认为, 可引起草莓炭疽病的病原有 3 种, 分别为胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、尖孢炭疽菌 (*C. acutatum*) 和草莓炭疽菌 (*C. fragariae*)^[18-19], 前人多以胶孢炭疽菌为病原对草莓品种的抗病性进行接种鉴定^[14]。但最近研究结果显示胶孢炭疽菌和尖孢炭疽菌均为复合种群^[20-21], 暹罗炭疽菌 (*C. siamense*)、果生炭疽菌 (*C. fructicola*)、隐秘炭疽菌 (*C. aenigma*)、胶孢炭疽菌、睡莲炭疽菌 (*C. nymphaeae*) 和昌平炭疽菌 (*C. changpingense*) 均可侵染草莓引起炭疽病^[22-24], 其中果生炭疽菌和暹罗炭疽菌对草莓的致病力强, 是引起我国草莓炭疽病的主要病原物^[23]。【本研究切入点】近年来国内草莓研究工作进展迅速, 大量新品种被选育出来, 同时还有大量优秀国外草莓品种被引入到国内种植。前人对部分草莓种质资源的炭疽病抗性进行了评价, 但评价的资源数量有限, 很多种质资源的抗性水平尚不明确。因此, 亟需对国内现有的主要草莓资源进行评价, 以准确评估这些资源在抗炭疽病品种选育方面的应用潜力。【拟解决的关键问题】对草莓属种质资源的炭疽病抗性水平进行鉴定与评价, 为利用草莓属中的抗炭疽病资源、选育高抗炭疽病品种提供依据。

1 材料与方法

抗性评价试验于 2018—2019 年在湖北省农业科学院完成。

1.1 供试草莓材料

供试材料为草莓野生种和栽培品种共 71 份。草莓野生种共 12 种 24 份材料, 其中东北草莓 3 份, 黄毛草莓 3 份, 绿色草莓 4 份, 森林草莓 2 份, 西藏草莓

1 份, 五叶草莓 2 份, 东方草莓 2 份, 伞房草莓 1 份, 西南草莓 2 份, 麝香草莓 (*F. moschata*) 1 份, 弗州草莓 (*F. virginiana*) 2 份, 智利草莓 (*F. chilioensis*) 1 份。栽培种凤梨草莓品种 41 个; 草莓栽培种与野生种、近缘属之间远缘杂交后代 6 个品种。所有供试草莓材料均种植在位于武汉市洪山区的草莓试验基地内, 常规栽培管理, 试验前两周开始停止施用杀菌剂。

1.2 菌株来源及种类鉴定

2014 年从湖北省武汉市东西湖区采集发病草莓样本, 参考韩永超等^[22]的方法进行病原菌的分离纯化, 从发病草莓叶柄上分离得到炭疽菌株 Gwha-1, 采用斜面培养基 (4℃) 保存于湖北省农业科学院经济作物研究所草莓课题组。采用基于形态学和部分肌动蛋白基因 (*ACT*)、钙调蛋白基因 (*CAL*)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因 (*GAPDH*)、 β -维管蛋白基因 (*TUB2*) 及几丁质合成酶基因 (*CHS-1*) 序列的多位点系统进化分析^[23], 对 Gwha-1 菌株进行种类鉴定。结果显示 Gwha-1 属于胶孢炭疽复合种内的果生炭疽菌, Gwha-1 对草莓的致病力强, 可将该菌株用于人工接种鉴定草莓对炭疽病的抗性水平。

1.3 炭疽菌分生孢子悬浮液制备

在超净工作台中用接种针挑取菌株 Gwha-1 的菌丝块, 接种至新的马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (potato dextrose agar, PDA) 平板上, 置于 28℃ 避光条件下活化 3—5 d。然后从平板中菌落边缘截取菌丝块接种于含有 0.05% 酵母提取液的 PDA 培养基平板上, 置于 28℃ 条件下避光培养 10—15 d, 直到平板上长出橘红色的分生孢子。用无菌水将分生孢子从平板上洗下来, 通过双层纱布过滤掉菌丝和培养杂质。用血球计数板测量分生孢子悬浮液的浓度, 用无菌水将浓度稀释到 1×10^6 个分生孢子/mL, 然后向其中加入 2—3 滴吐温 20。将分生孢子悬浮液短时间置于 4℃ 条件下备用。

1.4 草莓叶片离体接种

采用离体叶片接种法对供试材料的炭疽病抗性水平进行鉴定与评价。采集从内到外的第 3—5 片带叶柄叶片, 用自来水将叶片洗净, 用保鲜膜包住叶柄断口处, 以免伤口处接触炭疽菌的分生孢子。取出配好的炭疽病分生孢子悬浮液, 用手持喷壶将过量孢子悬浮液均匀喷在叶片上, 直到水滴从叶片上滴下。撕掉保鲜膜, 将接种后的叶片置于白色搪瓷盘中, 用吸水纸盖住叶柄断口, 向吸水纸上浇少量无菌水保湿以使叶片不失水。用保鲜膜将搪瓷盘封口, 置于 28℃ 条件下保湿培养 4 d。然后分别对每个叶片的发病情况进行调

查,统计叶面病斑数量、叶面最大病斑直径、叶柄最大病斑长度。每份材料接种 9 个叶片,每 3 个叶片为 1 个重复,重复 2 次。

1.5 发病情况调查及抗性水平分级标准

参考王丰等^[8]的方法并略作修改,根据叶柄病斑长度 (lesion length, LL) 对每个叶片的病害严重程度 (symptoms severity, SS) 进行分级,病害严重程度分级标准如下: 0 级,没有发病; 1 级, $LL \leq 2.0$ mm; 3 级, 病斑长度 $2.0 \text{ mm} < LL \leq 5.0$ mm; 5 级, $5.0 \text{ mm} < LL \leq 9.0$ mm; 7 级, 病斑长度 $9.0 \text{ mm} < LL \leq 15.0$ mm; 9 级, 病斑长度 > 15.0 mm。

将病害严重程度转换为病情指数 (DI), 病情指数计算公式^[25]: $DI = [(n_0 \times 0 + n_1 \times 1 + n_3 \times 3 + n_5 \times 5 + n_7 \times 7 + n_9 \times 9) / 9N] \times 100$, n 代表相应病害严重程度的叶片数量; 下标的 0、1、3、5、7 和 9 代表病害严重程度; N 表示叶片总数。品种群体抗病性划分标准: $DI=0$, 免疫; $0 < DI \leq 10$, 高抗; $10 < DI \leq 20$, 抗病; $20 < DI \leq 40$, 中抗; $40 < DI \leq 60$, 中感; $60 < DI \leq 80$, 感病; $80 < DI \leq 100$, 高感^[8]。

1.6 数据统计与分析

运用 IBM SPSS 15.0 软件对叶柄病斑长度、叶面病斑数量、叶面病斑直径进行相关性分析,相关性分析图表采用 Microsoft Excel 2007 软件制作。以草莓种类为固定因素,供试材料为随机因素,采用 SAS (Version 8.0; SAS Institute, Cary, NC) 中的一般线性模型程序 (PROC GLM) 计算草莓种间的病情指数差异 ($P < 0.05$)。由于供试材料中不同草莓种的材料数量不同,在分析不同草莓种类的病情指数差异时,对材料份数 ≥ 3 的风梨草莓 (41 份)、东北草莓 (3

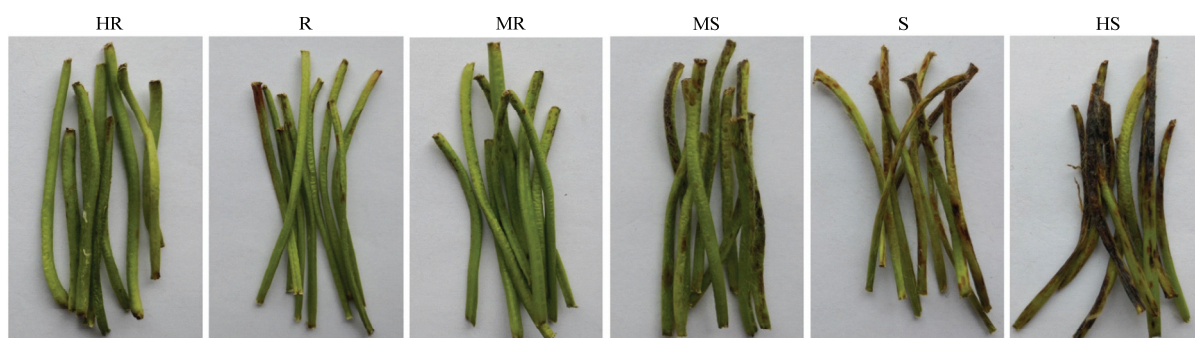
份)、绿色草莓 (4 份)、黄毛草莓 (3 份) 和种间杂交种 (6 份) 进行差异显著性分析,材料份数 < 3 的不进行差异分析。

2 结果

2.1 草莓属种质资源对炭疽病的抗性评价

接种 4 d 后,全部 71 份供试草莓种质资源均不同程度发病,没有对炭疽病完全免疫的材料。在接种初期叶面上的病斑呈浅黑色,后期颜色逐渐加深,病斑直径也逐渐扩大。叶柄上密布针眼大小的红褐色病斑,后逐渐扩展合并成大病斑 (图 1)。对不同供试材料的叶柄病斑长度、叶面病斑直径、叶面病斑数量进行相关性分析,结果显示感染炭疽病后草莓叶柄病斑长度和叶面病斑直径及叶面病斑数量均呈极显著正相关 ($P < 0.01$) (图 2)。

以叶柄病斑长度为病情指数的计算依据,对 71 份供试材料的炭疽病抗性进行评价,其中高抗、抗病、中抗、中感、感病、高感材料分别为 17、20、21、3、6、4 份。在野生草莓中,东北草莓 HBYCM023 接种果生炭疽菌后的病情指数最低,对炭疽病的抗性最强;房伞草莓 HBYCM017 的病情指数最高,炭疽病抗性最弱。草莓栽培种中‘3 公主’‘森加森加拉’‘达赛莱克特’‘全明星’‘香野’‘威斯塔尔’和‘京藏香’7 个品种高抗炭疽病,其中‘3 公主’对炭疽病的抗性最强。而‘晶瑶’‘甜宝’‘小白’均高感炭疽病,供试的 6 个种间杂交品种‘桃薰’ (高抗)、‘白草莓 1 号’ (抗病)、‘粉红佳人’ (抗病)、‘粉佳人’ (中抗)、‘粉公主’ (中抗)、‘俏佳人’ (中抗) 对炭疽病的抗性均较强 (表 1)。



HR: 高抗 High resistance; R: 抗病 Resistance; MR: 中抗 Medium resistance; MS: 中感 Medium susceptibility; S: 感病 Susceptibility; HS: 高感 High susceptibility

图 1 不同抗性水平草莓资源叶柄接种后的症状

Fig. 1 Symptoms after inoculation on strawberry petiole with different resistance levels

表 1 草莓种质资源对炭疽病的抗性水平鉴定

Table 1 Resistance level of strawberry germplasm resources to anthracnose

种类	品种或编号	病情指数	抗性水平	来源
Species	Cultivar or material	Disease index	Resistance level	Source
东北草莓 <i>F. mandschurica</i>	HBYCM023	1.85	高抗 HR	中国黑龙江 Heilongjiang, China
	HBYCM009	2.47	高抗 HR	中国吉林 Jilin, China
	HBYCM016	4.94	高抗 HR	中国黑龙江 Heilongjiang, China
黄毛草莓 <i>F. nilgerrensis</i>	HBYCM019	19.75	抗病 R	中国四川 Sichuan, China
	HBYCM015	28.40	中抗 MR	中国贵州 Guizhou, China
	HBYCM018	14.81	抗病 R	中国云南 Yunnan, China
绿色草莓 <i>F. viridis</i>	HBYCM005	2.47	高抗 HR	中国新疆 Xinjiang, China
	HBYCM004	4.94	高抗 HR	中国新疆 Xinjiang, China
	HBYCM022	9.88	高抗 HR	中国新疆 Xinjiang, China
	HBYCM010	8.64	高抗 HR	中国新疆 Xinjiang, China
森林草莓 <i>F. vesca</i>	HBYCM024	11.11	抗病 R	日本 Japan
	HBYCM013	13.58	抗病 R	中国吉林 Jilin, China
西藏草莓 <i>F. nubicola</i>	HBYCM026	30.86	中抗 MR	德国 German
五叶草莓 <i>F. pentaphylla</i>	HBYCM006	28.40	中抗 MR	中国甘肃 Gansu, China
	HBYCM003	34.57	中抗 MR	中国四川 Sichuan, China
东方草莓 <i>F. orientalis</i>	HBYCM005	9.88	高抗 HR	中国黑龙江 Heilongjiang, China
	HBYCM007	2.47	高抗 HR	中国黑龙江 Heilongjiang, China
伞房草莓 <i>F. corymbosa</i>	HBYCM017	100.00	高感 HS	中国山西 Shanxi, China
西南草莓 <i>F. moupinensis</i>	HBYCM021	11.11	抗病 R	中国西藏 Tibet, China
	HBYCM002	11.11	抗病 R	中国西藏 Tibet, China
麝香草莓 <i>F. moschata</i>	HBYCM014	11.11	抗病 R	加拿大 Canada
弗州草莓 <i>F. virginiana</i>	HBYCM008	12.35	抗病 R	美国 America
	HBYCM020	11.11	抗病 R	德国 German
智利草莓 <i>F. chilioensis</i>	HBYCM011	11.11	抗病 R	美国 America
种间杂交种	桃薰 Tokun	6.17	高抗 HR	日本 Japan
Interspecific hybrids	粉红佳人 Fenhongjiaren	12.35	抗病 R	中国 China
	白草莓 1 号 Baicaomei No.1	16.05	抗病 R	中国 China
	粉佳人 Pink Beauty	23.46	中抗 MR	中国 China
	粉公主 Pink Princess	28.40	中抗 MR	中国 China
	俏佳人 Pretty Beauty	28.40	中抗 MR	中国 China
凤梨草莓 <i>F. × ananassa</i>	3 公主 3 Gongzhu	4.94	高抗 HR	中国 China
	森加森加拉 Senga Sengana	6.17	高抗 HR	德国 German
	达赛莱克特 Darselect	8.64	高抗 HR	法国 France
	全明星 Allstar	8.64	高抗 HR	美国 America
	威斯塔尔 Veestar	8.64	高抗 HR	加拿大 Canada
	香野 Kaorino	8.64	高抗 HR	日本 Japan

续表 1 Continued Table 1

种类 Species	品种或编号 Cultivar or material	病情指数 Disease index	抗性水平 Resistance level	来源 Source
	京藏香 Jingzangxiang	9.88	高抗 HR	中国 China
	甘露 Ganlu	11.11	抗病 R	中国 China
	鬼努甘 Kinuama	11.11	抗病 R	日本 Japan
	白雪公主 Snow White	12.35	抗病 R	中国 China
	九天红韵 Jiutianhongyun	12.35	抗病 R	中国 China
	红玉 Hongyu	13.58	抗病 R	中国 China
	章姬 Akihime	13.58	抗病 R	日本 Japan
	京桃香 Jingtaoxiang	14.81	抗病 R	中国 China
	甜查理 Sweet Charlie	18.52	抗病 R	美国 America
	07-D-5	20.99	中抗 MR	中国 China
	秀丽 Xiuli	22.22	中抗 MR	中国 China
	丰香 Toyonoka	23.46	中抗 MR	日本 Japan
	京留香 Jingliuxiang	23.46	中抗 MR	中国 China
	京怡香 Jingyixiang	23.46	中抗 MR	中国 China
	京郊小白 Jingjiaoxiaobai	24.69	中抗 MR	中国 China
	晶悦 Jingyue	25.93	中抗 MR	中国 China
	里瓦 Riva	25.93	中抗 MR	荷兰 Netherlands
	艳丽 Yanli	25.93	中抗 MR	日本 Japan
	京泉香 Jinquanxiang	27.16	中抗 MR	中国 China
	特里拉 Tenira	28.40	中抗 MR	美国 America
	晶玉 Jingyu	30.86	中抗 MR	中国 China
	天香 Tianxiang	30.86	中抗 MR	中国 China
	晶硕 Jingshuo	38.93	中抗 MR	中国 China
	京凝香 Jingningxiang	53.09	中感 MS	中国 China
	黔莓 1 号 Qianmei No.1	55.56	中感 MS	中国 China
	幸香 Sachinoka	55.56	中感 MS	日本 Japan
	雪里香 Xuelixiang	60.49	感病 S	韩国 Korea
	越心 Yuexin	65.43	感病 S	中国 China
	红颜 Benihoppe	67.90	感病 S	日本 Japan
	宁丰 Ningfeng	67.90	感病 S	中国 China
	硕丽 Shuoli	67.90	感病 S	中国 China
	宁玉 Ningyu	75.31	感病 S	中国 China
	晶瑶 Jingyao	85.19	高感 HS	中国 China
	甜宝 Tianbao	85.19	高感 HS	中国 China
	小白 Xiaobai	85.19	高感 HS	中国 China

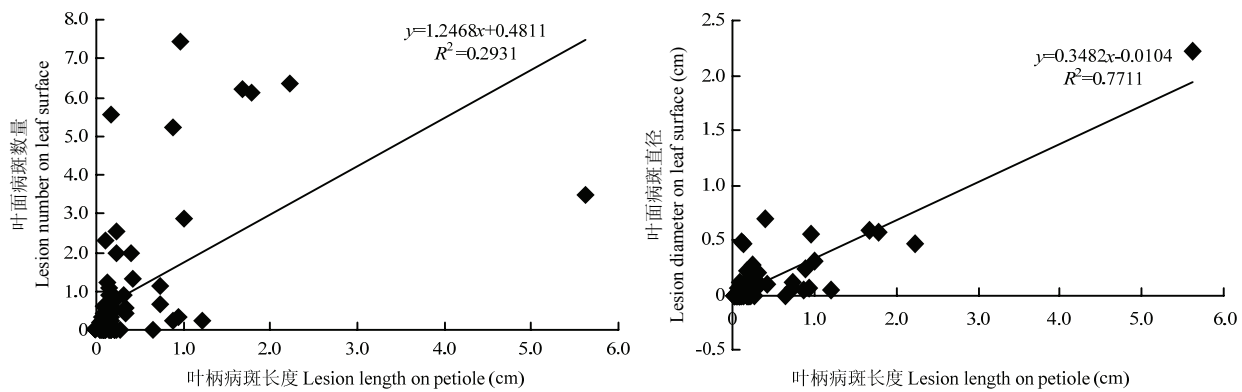


图 2 病害严重度指标的相关性分析

Fig. 2 Correlation analysis of disease severity index

2.2 不同种类草莓属植物对炭疽病的抗性比较

东北草莓、绿色草莓和东方草莓对炭疽病的整体抗性很强，所有这 3 个种的供试材料均高抗炭疽病，其中东北草莓的平均叶柄病情指数最低。森林草莓、麝香草莓、西南草莓、弗州草莓、智利草莓、种间杂交种对炭疽病具有一定的抗性，对炭疽病的平均抗性水平均为抗病；栽培草莓、黄毛草莓、西藏草莓、五叶草莓对炭疽病的抗性水平均为中抗；伞房草莓的病情指数最高，高感炭疽病（表 2）。在供试的 14 个草

莓种中，栽培草莓、东北草莓、绿色草莓、黄毛草莓、种间杂交种的供试材料≥3 份，采用一般线性模型程序进行的种间抗性差异分析结果显示，东北草莓和绿色草莓的病情指数显著低于凤梨草莓，对炭疽病的抗性显著高于凤梨草莓。由于供试的森林草莓、西藏草莓、五叶草莓、东方草莓、伞房草莓、西南草莓、麝香草莓、弗州草莓、智利草莓材料低于 3 份，不能用于差异显著性分析，这些种与其他种在炭疽病抗性水平上的差异尚不明确。

表 2 不同种类草莓资源接种果生炭疽菌后的病情指数

Table 2 Disease index of different strawberry resources after inoculated with <i>C. fructicola</i>						
种类 Species	倍性 Chromosome ploidy	份数 Number of accessions	叶面病斑数量 Lesion number on leaf surface	叶面病斑直径 Lesion diameter on leaf surface (cm)	叶柄病斑长度 Lesion length on petiole (cm)	叶柄病情指数 Disease index of petiole
东北草莓 <i>F. mandshurica</i>	2x	3	0	0	0.03 (0.02-0.04)	3.09a (1.85-4.94)
黄毛草莓 <i>F. nilgerrensis</i>	2x	3	0.93 (0-2.00)	0.24 (0-0.69)	0.27 (0.02-0.40)	20.99ab (14.81-28.40)
绿色草莓 <i>F. viridis</i>	2x	4	0.06 (0-0.25)	0.02 (0-0.07)	0.05 (0.02-0.09)	6.48a (2.47-9.88)
森林草莓 <i>F. vesca</i>	2x	2	0.51 (0.44-0.58)	0.29 (0.10-0.49)	0.11 (0.11-0.12)	12.35 (11.11-13.58)
西藏草莓 <i>F. nubicola</i>	2x	1	2.00	0.28	0.24	30.86
五叶草莓 <i>F. pentaphylla</i>	2x	2	0.94 (0.56-1.33)	0.09 (0.09-0.09)	0.38 (0.33-0.43)	31.48 (28.40-34.57)
东方草莓 <i>F. orientalis</i>	4x	2	0.08 (0-0.17)	0.01 (0-0.01)	0.04 (0.02-0.07)	6.17 (2.47-9.88)
伞房草莓 <i>F. corymbosa</i>	4x	1	3.50	2.22	5.62	100.00
西南草莓 <i>F. moupinensis</i>	4x	2	1.38 (0.44-2.31)	0.06 (0-0.11)	0.10 (0.09-0.10)	11.11 (11.11-11.11)
麝香草莓 <i>F. moschata</i>	6x	1	0.11	0.01	0.11	11.11
弗州草莓 <i>F. virginiana</i>	8x	2	0.11 (0-0.22)	0.01 (0-0.02)	0.13 (0.11-0.16)	11.73 (11.11-12.35)
智利草莓 <i>F. chilensis</i>	8x	1	1.08	0.47	0.14	11.11
凤梨草莓 <i>F. × ananassa</i>	8x	41	1.34 (0-7.44)	0.10 (0-0.59)	0.46 (0.04-2.22)	33.75b (4.94-85.19)
种间杂交种 Interspecific hybrids	8x, 10x	6	0.26 (0-0.89)	0.02 (0-0.05)	0.14 (0.07-0.20)	19.14ab (6.17-28.40)

3 讨论

炭疽病是国内外草莓生产中的重要病害^[26],炭疽菌对杀菌剂的抗药性严重且普遍^[6],单纯的化学防治方法很难达到良好的防治效果。以种植抗病品种为基础的综合防治技术是防治草莓炭疽病的重要研究方向,现有栽培草莓种质资源对炭疽病的田间抗性水平存在明显差异。供试的 41 份凤梨草莓品种中高抗品种 7 个,抗病品种 8 个,中抗品种 14 个,中感品种 3 个,感病品种 6 个,高感品种 3 个(表 1)。供试栽培草莓材料中对炭疽病的抗性水平为中抗及以上的材料共 29 份,占全部材料的 70.7%。由此可见炭疽病抗性作为草莓品种的一个重要性状,已引起国内外草莓育种家的普遍重视。靳宝川等^[9]对 11 个草莓品种的田间炭疽病自然发生情况进行了调查,认为‘森加森加拉’对炭疽病表现免疫。本研究所有供试材料在接种炭疽菌后均有不同程度发病,没有发现对炭疽病免疫的材料。‘森加森加拉’接种 4 d 后的病情指数为 6.17,炭疽病抗性水平评价为高抗。人工接种与田间表现存在差异的原因可能是人工接种时病原菌分生孢子浓度更高,条件更适合发病,以致发病较田间更为严重。供试草莓栽培品种中‘晶瑶’‘甜宝’‘小白’对炭疽病的抗性水平为高感,‘红颜’对炭疽病的抗性水平为感病,在生产中这些品种炭疽病发生也非常严重^[5,27]。‘艳丽’‘晶玉’‘丰香’的抗性水平为中抗,与前人研究结果以及这些品种在生产上的表现一致^[27-29]。‘甜查理’是 1986 年美国佛罗里达大学用‘FL80-456’×‘派扎罗’杂交育成,国家果树种质北京草莓圃于 2000 年将该品种引入我国^[30]。本研究中‘甜查理’对炭疽病的抗性水平为抗病,该品种在生产上也表现出很强的炭疽病抗性,已成为我国主栽草莓品种。

草莓野生种中蕴藏着丰富的风味、抗病和抗逆资源,它们是栽培种凤梨草莓改良的宝贵基因资源^[31-32]。通过野生草莓种质资源对炭疽病抗性的鉴定,可筛选出抗炭疽病的草莓种质,为栽培草莓品种改良提供抗性资源。本研究共对分属于 12 个野生种的 24 份材料的炭疽病抗性进行了评价,其中高抗炭疽病材料 9 份,分别属于东北草莓(3 份)、绿色草莓(4 份)、东方草莓(2 份)(表 1)。接种后病情指数的种间差异分析结果显示,东北草莓、绿色草莓对炭疽病的抗性显著高于凤梨草莓(表 2)。由于本研究中东北草莓和绿色草莓的材料均只有 3—4 份,尚不足以完全代表整

个种的炭疽病抗性水平,但这两个种中存在高抗炭疽病的材料,在开展种间杂交育种时可以把东北草莓和绿色草莓作为炭疽病抗原的重要来源。二倍体的东北草莓与四倍体的东方草莓的亲缘关系很近,在植株高度、绒毛数量及其着生方式、叶片形状、分布区域等方面接近,东北草莓可能为东方草莓的原始种^[33],在本研究中东方草莓对炭疽病的抗性水平与东北草莓相当。

草莓属植物均开白花,第一个红草莓品种‘粉红熊猫’是草莓栽培品种(*Fragaria* × *ananassa*)与近缘的欧洲红花委陵菜(*Potentilla palustis*)进行属间远缘杂交得到的新类型,其花为粉红色^[34]。本研究中供试红草莓品种‘粉公主’‘粉红佳人’‘粉佳人’‘俏佳人’对炭疽病的抗性分别为中抗、抗病、中抗和中抗(表 1)。这 4 个品种是由栽培草莓品种与‘粉红熊猫’杂交选育而成^[35],均带有红花委陵菜的遗传物质。本研究中用于接种的果生炭疽菌菌株分离自凤梨草莓,由于病原菌对寄主的侵染具有特异性,同一病原菌对不同属植物的致病力差异较大。这 4 个红草莓品种均带有红花委陵菜的遗传物质,可能是这些品种较为抗病的原因,但也可能是‘粉红熊猫’的栽培草莓亲本具有较强的炭疽病抗性。‘桃薰’是由栽培草莓品种‘丰香’和黄毛草莓种间杂交而来,其对炭疽病的抗性水平为高抗(表 1)。本研究中测试的 3 份黄毛草莓材料对炭疽病的整体抗性较强,其抗性水平分别为抗病、抗病和中抗,‘丰香’对炭疽病的抗性水平为中抗,由此可见具有一定炭疽病抗性的草莓栽培品种与野生种杂交能得到抗性增强的种间杂交后代。

4 结论

对草莓属种质资源 71 份材料的炭疽病抗性进行了评价,从栽培草莓中筛选出‘3 公主’‘森加森加拉’‘达赛莱克特’‘全明星’‘香野’‘威斯塔尔’‘京藏香’7 个高抗品种。东北草莓和绿色草莓中存在高抗炭疽病的资源,其对炭疽病的整体抗性水平显著高于凤梨草莓,在种间杂交育种过程中可以作为炭疽病抗原来源。

References

- [1] FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO. The state of food security and nutrition in the world 2017. Building resilience for peace and food security[R]. Rome, 2017.

- [2] HAMMERSCHLAG F, GARCES S, KOCH-DEAN M, RAY S, LEWERS K, MAAS J, SMITH B J. *In vitro* response of strawberry cultivars and regenerants to *Colletotrichum acutatum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2006, 84(3): 255-261.
- [3] DEAN R, VAN KAN J A, PRETORIUS Z A, HAMMOND-KOSACK K E, DI PIETRO A, SPANU P D, RUDD J J, DICKMAN M, KAHMANN R, ELLIS J, FOSTER G D. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(4): 414-430.
- [4] 任小杰, 梁艳, 陆金萍, 杨百荣, 徐敬友, 戴富明. 上海地区草莓炭疽病病原鉴定. *植物病理学报*, 2008, 38(3): 325-328.
REN X J, LIANG Y, LU J P, YANG B R, XU J Y, DAI F M. Identification of the pathogen of strawberry anthracnose in Shanghai. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2008, 38(3): 325-328. (in Chinese)
- [5] 向发云, 韩永超, 曾祥国, 张鹏, 吴润玲, 冯小明, 顾玉成. 湖北省草莓育苗期炭疽病病害调查. *湖北农业科学*, 2012, 51(24): 5650-5653.
XIANG F Y, HAN Y C, ZENG X G, ZHANG P, WU R L, FENG X M, GU Y C. A survey on the strawberry anthracnose disease in Hubei Province. *Hubei Agricultural Science*, 2012, 51(24): 5650-5653. (in Chinese)
- [6] HAN Y C, ZENG X G, XIANG F Y, ZHANG Q H, GUO C, CHEN F Y, GU Y C. Carbendazim sensitivity in populations of *Colletotrichum gloeosporioides* complex infecting strawberry and yams in Hubei Province of China. *Journal of Integrative Agriculture*, 2018, 17(6): 1391-1400.
- [7] MANGANDI J, PERES N A, WHITAKER V M. Identifying resistance to crown rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in strawberry. *Plant Disease*, 2015, 99(7): 954-961.
- [8] 王丰, 马跃, 高秀岩, 张志宏. 草莓品种对炭疽病抗性的鉴定技术研究. *果树学报*, 2008, 25(4): 542-547.
WANG F, MA Y, GAO X Y, ZHANG Z H. Study on the identification techniques for determining strawberry cultivar's resistance to anthracnose. *Journal of Fruit Science*, 2008, 25(4): 542-547. (in Chinese)
- [9] 靳宝川, 张雷, 邢冬梅, 张国珍. 11 个草莓品种对炭疽病的田间抗性表现. *植物保护*, 2014, 40(2): 123-126, 131.
JIN B C, ZHANG L, XING D M, ZHANG G Z. Disease occurrence and resistance of 11 strawberry cultivars to anthracnose in the field. *Plant Protection*, 2014, 40(2): 123-126, 131. (in Chinese)
- [10] STAUCT G. The species of *Fragaria*, their taxonomy and geographical distribution. *Acta Horticulturae*, 1989, 265: 23-34.
- [11] 高凤娟. 野生草莓种质资源在草莓育种中的应用. *北方果树*, 1999(3): 1-4.
GAO F J. The utilization of wild strawberry germplasm resources on strawberry breeding. *Northern Fruits*, 1999(3): 1-4. (in Chinese)
- [12] 雷家军, 代汉萍, 谭昌华, 邓明琴, 赵密珍, 钱亚明. 中国草莓属 (*Fragaria*) 植物的分类研究. *园艺学报*, 2006, 33(1): 1-5.
LEI J J, DAI H P, TAN C H, DENG M Q, ZHAO M Z, QIAN Y M. Studies on the taxonomy of the strawberry (*Fragaria*) species distributed in China. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(1): 1-5. (in Chinese)
- [13] 雷家军, 薛莉, 代汉萍. 草莓十二倍体种间杂种的获得及其回交研究. *中国农业科学*, 2012, 45(22): 4651-4659.
LEI J J, XUE L, DAI H P. Obtaining dodecaploid interspecific hybrid in strawberry and its backcross. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(22): 4651-4659. (in Chinese)
- [14] 黄金凤. 野生草莓种质资源对胶孢炭疽菌的抗性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
HUANG J F. Evaluation for some wild *Fragaria* germplasms resistance to *Colletotrichum gloeosporioides*. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012. (in Chinese)
- [15] HIRVI T, HONKANEN E. The volatiles of two new strawberry cultivars, 'Annelie' and 'Alaska Pioneer', obtained by backcrossing of cultivated strawberries with wild strawberries, *Fragaria vesca*, rügen and *Fragaria virginiana*. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1982, 175(2): 113-116.
- [16] RAHMAN M, OJAMBO P, LOUWS F. Initial inoculum and spatial dispersal of *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of strawberry anthracnose crown rot. *Plant Disease*, 2015, 99(1): 80-86.
- [17] ZHANG X, BATZER J C, LI X, PERES N A, GLEASON M L. Validation of a Florida strawberry anthracnose fruit rot (AFR) warning system in Iowa. *Plant Disease*, 2019, 103(1): 28-33.
- [18] FREEMAN S, RODRIGUEZ R J. Differentiation of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose of strawberry by arbitrarily primed PCR. *Mycological Research*, 1995, 99(4): 501-504.
- [19] XIAO C L, MACKENZIE S J, LEGARD D E. Genetic and pathogenic analyses of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from strawberry and noncultivated hosts. *Phytopathology*, 2004, 94(5): 446-453.
- [20] DAMM U, CANNON P F, WOUTENBERG J H, CROUS P W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 2012, 73(1): 37-113.
- [21] WEIR B S, JOHNSTON P R, DAMM U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, 2012, 73(1): 115-180.

- [22] 韩永超, 向发云, 曾祥国, 张鹏, 顾玉成. 草莓根颈腐烂病的病原鉴定. 中国农业科学, 2014, 47(1): 53-60.
- HAN Y C, XIANG F Y, ZENG X G, ZHANG P, GU Y C. Identification of pathogen causing crown and root rot on strawberry. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(1): 53-60. (in Chinese)
- [23] HAN Y C, ZENG X G, XIANG F Y, REN L, CHEN F Y, GU Y C. Distribution and characteristics of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose of strawberry in Hubei, China. *Plant Disease*, 2016, 100(5): 996-1006.
- [24] JAYAWARDENA R S, HUANG J K, JIN B C, YAN J Y, LI X H, HYDE K D, BAHKALI A H, YIN S L, ZHANG G Z. An account of *Colletotrichum* species associated with strawberry anthracnose in China based on morphology and molecular data. *Mycosphere*, 2016, 7(8): 1147-1163.
- [25] HORIUCHI S, HORI M. A simple greenhouse technique for obtaining high levels of clubroot incidence. *Bulletin of the Chugoku National Agricultural Experiment Station, E*, 1980, 17: 33-55.
- [26] 张国珍. 我国对草莓炭疽根腐病的重视程度亟待提高. 植物保护, 2015, 41(2): 234-236.
- ZHANG G Z. Urgent attention to anthracnose root rot of strawberry is highly needed in China. *Plant Protection*, 2015, 41(2): 234-236. (in Chinese)
- [27] 忻雅, 马华升, 阮松林, 童建新, 方献平, 肖文斐. 草莓炭疽病抗性室内快速鉴定方法研究及应用. 果树学报, 2013, 30(6): 1072-1076.
- XIN Y, MA H S, RUAN S L, TONG J X, FANG X P, XIAO W F. A rapid laboratory method for identifying strawberry resistance to anthracnose and its application. *Journal of Fruit Science*, 2013, 30(6): 1072-1076. (in Chinese)
- [28] 李贺, 代红艳, 刘月学, 马跃, 吴迪, 张志宏. 草莓新品种‘艳丽’. 园艺学报, 2015, 42(4): 799-800.
- LI H, DAI H Y, LIU Y X, MA Y, WU D, ZHANG Z H. A new strawberry cultivar ‘Yanli’. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(4): 799-800. (in Chinese)
- [29] 韩永超, 曾祥国, 向发云, 陈丰滢, 顾玉成. 草莓新品种晶玉对炭疽病和灰霉病的抗性鉴定. 湖北农业科学, 2015, 54(13): 3153-3156.
- HAN Y C, ZENG X G, XIANG F Y, CHEN F Y, GU Y C. Resistance identification of strawberry cultivar Jingyu to anthracnose and gray mold. *Hubei Agricultural Science*, 2015, 54(13): 3153-3156. (in Chinese)
- [30] 张运涛, 王桂霞, 董静, 王萍. 草莓优良品种甜查理及其栽培技术. 中国果树, 2006(1): 22-23, 61.
- ZHANG Y T, WANG G X, DONG J, WANG P. Sweet Charlie of strawberry variety and its cultivation techniques. *China Fruits*, 2006(1): 22-23, 61. (in Chinese)
- [31] 马鸿翔, 陈佩度. 黄毛草莓与凤梨草莓种间杂种的获得及其细胞遗传学分析. 中国农业科学, 2004, 37(12): 1966-1970.
- MA H X, CHEN P D. Production and cytogenetics of interspecific hybrids from the cross of *Fragaria nilgerrensis* Schlecht and *F. ananassa* Duch. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(12): 1966-1970. (in Chinese)
- [32] 马鸿翔, 陈佩度. 草莓属低倍性野生资源在育种中利用的研究进展. 果树学报, 2003, 20(4): 305-309.
- MA H X, CHEN P D. Advances in research of using wild strawberry species with lower ploidy in strawberry breeding. *Journal of Fruit Science*, 2003, 20(4): 305-309. (in Chinese)
- [33] 雷家军, 望月龙也, 邓明琴. 草莓属二倍体种东北草莓(*Fragaria mandschurica* Staudt)研究. 果树学报, 2001, 18(6): 337-340.
- LEI J J, MOCHIZUKI T, DENG M Q. Studies on the diploid strawberry species *Fragaria mandschurica* Staudt. *Journal of Fruit Science*, 2001, 18(6): 337-340. (in Chinese)
- [34] 代汉萍, 雷家军, 闫玉华, 李宏宇. 红花草莓优良品种粉红熊猫及其栽培技术. 中国果树, 2005(6): 43-44, 63.
- DAI H P, LEI J J, YAN Y H, LI H Y. The pink-flowered strawberry cv. Pink Panda and its cultivation techniques. *China Fruits*, 2005(6): 43-44, 63. (in Chinese)
- [35] 雷家军, 薛莉, 代汉萍, 邓明琴. 红花草莓新品种‘粉佳人’和‘俏佳人’. 园艺学报, 2015, 42(3): 599-600.
- LEI J J, XUE L, DAI H P, DENG M Q. Two new pink-flowered strawberry cultivars ‘Pink Beauty’ and ‘Pretty Beauty’. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(3): 599-600. (in Chinese)

(责任编辑 岳梅)