

野生车前草抗穗枯病种质资源鉴定

刘鹏凯¹, 涂怀妹², 崔朝宇¹, 蒋军喜^{1*}, 刘冰¹, 向妙莲¹, 李庚花¹

(1. 江西农业大学 农学院, 江西 南昌 330045; 2. 江西省安义县农业局, 江西 安义 330500)

摘要: 为发掘和利用野生车前草抗穗枯病种质资源, 本文采用车前草穗枯病菌(*Diaporthe angelicae*) 强致病力菌株进行挑战接种, 对从江西 7 县多点采集的 175 份野生车前草种质进行抗病性鉴定, 结果表明有 2、5、71 和 97 份种质分别表现为高抗、抗病、感病和高感, 可见野生车前草种质普遍对穗枯病不抗病。2 份高抗穗枯病野生车前草种质的成功筛选为车前草抗穗枯病品种的传统和分子育种奠定了良好的基础。

关键词: 野生车前草; 种质资源; 车前草穗枯病菌; 抗性鉴定

中图分类号: S435.67 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)06-1142-04

Resistance Evaluation of Wild Plantain Germplasm Resources to *Diaporthe angelicae*

LIU Peng-kai¹, TU Huai-mei², CUI Chao-yu¹, JIANG Jun-xi^{1*},
LIU Bing¹, XIANG Miao-lian¹, LI Geng-hua¹

(1. College of Agronomy, JAU, Nanchang 330045, China; 2. Anyi Bureau of Agriculture of Jiangxi Province, Anyi 330500, China)

Abstract: For the purpose of exploring and using head blight-resistant germplasm resources of wild plantain, this study evaluated the resistance of 175 accessions of wild plantain germplasm resources to the disease by inoculating the highest pathogenicity strain of *Diaporthe angelicae*. The results showed that 2, 5, 71 and 97 accessions of them were highly resistant, resistant, susceptible and highly susceptible, respectively, which revealed that most of wild plantain germplasm resources had no resistance to the pathogen. Successfully screening of the two highly resistant germplasms has laid a foundation for breeding plantain varieties resistant to head blight conventionally and molecularly.

Key words: wild plantain; germplasm resources; *Diaporthe angelicae*; resistance evaluation

车前草(*Plantago asiatica* L.), 俗称车前子, 为车前科(Plantaginaceae) 车前属(*Plantago*) 二年生草本中药材。车前草主要以籽粒(车前籽) 入药, 具有消炎、清热、利尿、明目、祛痰之功效^[1-2]。江西省吉安市栽培车前草历史悠久, 是全国车前籽的主产地, 对国内外中药材车前籽市场的供应发挥着重要作用。车前草栽培相对容易, 经济效益好, 农民生产积极性高, 但自从上世纪 90 年代初以后, 吉安车前草种植出现了新的困难, 主要原因是车前草开始感染一种新的病害即车前草穗枯病。穗枯病主要为害车前草的花穗和叶片, 极易造成花穗和叶片枯死, 发病严重时常常整田枯死, 颗粒无收^[3]。车前草穗枯病由子囊菌门当归间座壳菌 *Diaporthe angelicae* (无性态为半知菌类拟茎点菌 *Phomopsis subordinaria*) 引起^[4-6], 病害爆发性强, 栽培和药剂防治难度大, 需要从抗病品种利用上进行防控^[7-10]。然而, 目前生

收稿日期: 2012-09-15 修回日期: 2012-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30960213)

作者简介: 刘鹏凯(1986—) 男, 硕士生, 主要从事植物病害综合治理研究, E-mail: liupengkai@gmail.com; * 通讯作者: 蒋军喜, 教授, 博士, E-mail: jxjiang64115@yahoo.com.cn。

产中栽培的品种极其单一,并且高度感病,使抗病品种的利用受到了严重限制。车前草具有丰富的野生资源,收集这些野生资源,对其进行抗穗枯病性鉴定,期望从中筛选到高抗穗枯病的野生种质,为车前草抗病品种的选育和现有品种的遗传改良打好前期工作基础。为此,本文开展了相关研究工作,现将结果进行报道。

1 材料与方法

1.1 野生车前草种质的采集

2010 年 4 月,分赴江西省吉安、万安、新干、泰和、永修、彭泽、新建 7 县多点采集 4~7 叶尚未抽穗的野生车前草植株,要求株与株之间的距离至少在 500 m 以上,采样时用小铁铲将植株连带根土铲起,装入营养钵内,然后仔细摆放带回实验室。从以上 7 县各采集到 46、21、25、19、23、21 和 22 株(份),共 175 份野生车前草种质。采回的种质移入直径 18 cm 的花盆,草炭土种植,喷足水份后,置于温室生长,常规管理。

1.2 强致病力菌株筛选

对本实验室保存的车前草穗枯病菌 8 个分离株,用菌饼刺伤接种法^[11-12]进行致病性测定,以筛选出强致病力菌株用于随后的种质抗性鉴定。将各分离株菌种分别移至 PDA 平板上,于 25 °C 恒温培养 3 d 后,沿菌落边缘打取直径 7 mm 的菌饼。准备好 6~7 叶的健康车前草苗,用体积分数 70% 的酒精擦拭叶片表面,再用无菌水擦拭 3 遍。待叶面干爽之后,用自制的针束刺伤叶片正面,以不刺穿下表面为度。将菌饼轻轻贴在刺伤处,随之在菌饼上覆盖沾有无菌水的湿棉球,实验设接种空白培养基作对照,每处理 3 株重复。接种完成后,将整盆车前草用保鲜袋罩住,放入 25 °C、相对湿度 80% 的人工气候箱内培养 3 d 后移去菌饼,观察和记录叶面发病情况。根据病斑大小判断不同分离株致病性强弱。

1.3 接种物的准备

将甘油中保存的强致病力菌株 DA-8 用 PDA 平板活化,将活化后的病菌再转接新的 PDA 平板进行扩大培养 3 d 后在菌落边缘打取 7 mm 的菌饼备用。

1.4 种质抗性鉴定

用车前草穗枯病菌强致病力菌株 DA-8 的菌饼,于 5 月中旬对采集的 175 株野生车前草种质逐株进行接种,接种方法及随后管理同前,每株接种自顶向下的第 3 片叶,接种后 3 d 观察和记载发病结果。植株抗感类型的判定见表 1 和图 1。



A: 高抗; B: 抗病; C: 感病; D: 高感。

A: highly resistant; B: resistant; C: susceptible; D: highly susceptible.

图 1 车前草穗枯病抗性症状表现

Fig. 1 Resistance/susceptibility symptoms of plantain to head blight disease

表 1 车前草穗枯病抗感类型划分

Tab. 1 Differentiation of resistance/susceptibility of plantain against head blight

抗感类型 Resistance/susceptibility	症状表现 Symptoms
高抗 Highly resistant	伤口周围无明显发病症状
抗病 Resistant	伤口周围有发病症状,但各病斑之间相互独立
感病 Susceptible	伤口周围有发病症状,病斑之间出现愈合,但未形成整体
高感 Highly susceptible	伤口周围大面积发病,病斑相互愈合形成一个整体

2 结果与分析

2.1 强致病力菌株筛选

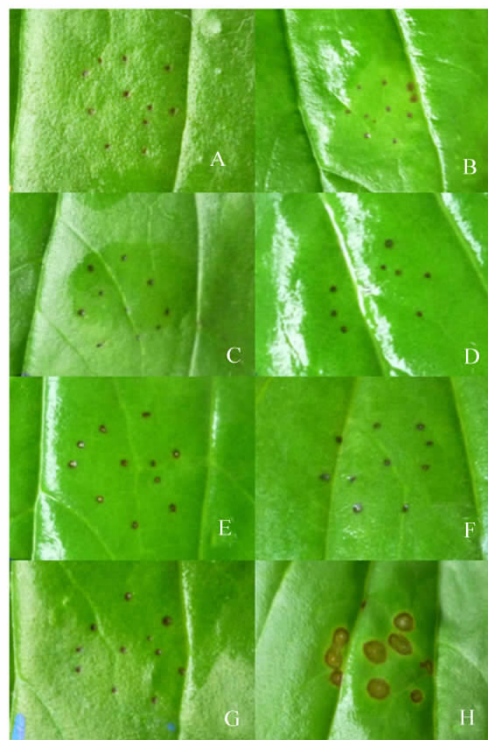
采用菌饼刺伤接种法,用实验室保存的 8 个分离株刺伤接种车前草叶片,结果均有不同程度的病害发生,其中分离株 DA-8 导致的病斑直径最大(图 2),据此认为该分离株的致病力最强。

2.2 野生车前草种质抗穗枯病筛选

采用强致病力菌株 DA-8 对从江西 7 县采集的 175 份野生车前草种质进行抗性鉴定,结果从中筛选到 2 份高抗种质,分别为永修野生车前草种质 4 号(PYX04)和彭泽野生车前草种质 14 号(PPZ14),而抗病、感病和高感的种质分别有 5 份、71 份和 97 份(表 2)。由表 2 还可知,只有永修和彭泽两县的种质中含有抗性和高抗类型,而其他 5 县的种质中未发现高抗或抗病类型,均为高感和感病类型。

2.3 高抗种质的形态特征

两份野生车前草高抗种质 PYX04 和 PPZ14 植株形态近乎相同(图 3),与其他抗性类型的植株形态相比具有以下明显特征:叶色深绿、基部叶片较平贴地面,叶片枚数多,株型紧凑,叶柄较短,叶片较阔较短,抽穗多,花穗较短较粗,单株籽粒产量高。



A: DA-1; B: DA-2; C: DA-3; D: DA-4; E: DA-5; F: DA-6; G: DA-7; H: DA-8.

图 2 不同分离株致病性比较

Fig. 2 Pathogenicity difference of eight isolates of *Diaporthe angelicae*

表 2 野生车前草种质对穗枯病的抗性鉴定

Tab. 2 Resistance evaluation of wild plantain germplasm to head blight

采集地 Location	种质数量 Numbers of germplasma	抗性类型 Types of resistance			
		高感 Highly susceptible	感病 Susceptible	抗病 Resistant	高抗 Highly resistant
吉安县 Ji'an county	44	27	17	0	0
万安县 Wan'an county	21	12	9	0	0
泰和县 Taihe county	19	13	6	0	0
新干县 Xingan county	25	15	10	0	0
新建县 Xinjian county	22	13	9	0	0
永修县 Yongxiu county	23	6	12	4	1
彭泽县 Pengze county	21	11	8	1	1
合计 Total	175	97	71	5	2

3 讨论

在野生植物种质资源中蕴含着大量宝贵的抗病基因,目前对野生稻、野生大豆、野生葡萄等许多种质资源进行了抗病基因发掘并取得了可喜进展^[13-16],其中利用野生大豆与栽培大豆进行杂交和回交,成功选育出优质、抗病和农艺性状优良的大豆新种质资源 3 份^[17-18]。本文针对生产中穗枯病发生严重



A: PYX04

B: PPZ14

图3 高抗穗枯病的野生车前草植株形态特征

Fig. 3 Morphological characters of wild plantain of highly resistant to head blight

而栽培品种又普遍感病的现状,开展了野生车前草种质资源抗穗枯病鉴定研究,结果筛选到2份高抗穗枯病种质。这2份种质除了对穗枯病表现高度抗病外,也有良好的长势长相和农艺性状,目前对其正在进行田间抗病性试验和大田试种,有望培育成一个新的抗病良种供车前草产区直接利用。与此同时,笔者也正在对其进行抗病基因的鉴定和功能分析,为克隆全长抗病基因,培育抗穗枯病转基因车前草奠定良好基础。

通过抗病性鉴定,发现我国车前草主产区江西吉安市的野生车前草种质均不抗病,鉴于生产中栽培的车前草直接由野生车前草驯化栽种而来^[19],因此,吉安市生产中栽培的车前草均对穗枯病感病就不难理解。来自赣北的永修和彭泽两县共发现了2份高抗和5份抗病种质,这两县及临近的武宁、修水县也栽培车前草,经初步调查发现当地的栽培车前草较少发生穗枯病,因此有必要对其栽培品种开展抗穗枯病鉴定,筛选的抗病良种可考虑为吉安产区利用。

致谢:刘定忠、龙珑、艾蕾等同志参加了部分工作,谨致谢意!

参考文献:

- [1]贾丹兵,孙佩江,孙俪滨.车前草的药理研究[J].中草药,1990,21(1):24-26.
- [2]李敏,程敏.中药车前草化学成份与药理研究的新进展[J].现代中医药,2005,25(3):60-61.
- [3]徐善忠.车前草穗枯病的发生与防治[J].江西植保,2001,24(4):133.
- [4]李庚花,张敬军,蒋军喜.车前草穗枯病研究:Ⅰ症状及病原菌鉴定[J].江西农业大学学报,2005,27(5):872-874.
- [5]de Nooij M, van der Aa HA. *Phomopsis subordinaria* and associated stalk disease in natural populations of *Plantago lanceolata* [J]. Canadian Journal of Botany, 1987, 65(11):2318-2325.
- [6]Laine A L. First report of *Phomopsis subordinaria* in a natural population of *Plantago lanceolata* in south-west Finland [J]. Plant Pathology, 2003, 52(3):422.
- [7]陈须文,盛传华,曾水根.车前草穗枯病发生规律与综合防治研究[J].江西植保,2008,31(4):168-170.
- [8]蒋军喜,张超群,阙海勇,等.车前草穗枯病研究:Ⅱ病原菌生物学特性[J].江西农业大学学报,2007,29(5):740-742.
- [9]阙海勇,蒋军喜,张超群,等.5种杀菌剂对车前草穗枯病菌的毒力测定和田间药效试验[J].江西植保,2007,30(3):112-114.
- [10]张超群,蒋军喜,李庚花,等.车前草穗枯病研究:Ⅲ杀菌剂室内毒力测定[J].江西植保,2007,30(4):154-155.
- [11]臧睿,黄丽丽,康振生,等.陕西苹果树腐烂病菌不同分离株的生物学特性与致病性测定[J].植物病理学报,2007,37(4):343-351.
- [12]王蕊,罗来鑫,李健强,等.不同来源番茄溃疡病菌致病力差异研究[J].植物保护,2010,36(1):73-77.
- [13]付坚,吕广磊,程在全.云南景洪疣粒野生稻抗白叶枯病相关基因表达分析[J].植物病理学报,2010,40(6):601-608.
- [14]靳立梅,徐鹏飞,吴俊江,等.野生大豆种质资源对大豆疫霉根腐病抗性评价[J].大豆科学,2007,26(3):300-304.
- [15]Abbasi F M, Masood R, Ahmad H, et al. Molecular screening of pakistani rice germplasm for *xa5* gene resistance to bacterial blight [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(15):2833-2837.
- [16]Jansky S H, Simon R, Spooner D M. A test of taxonomic predictivity: resistance to early blight in wild relatives of cultivated potato [J]. Phytopathology, 2008, 98(2):680-687.
- [17]齐宁,林红,魏淑红,等.利用野生大豆资源创新优质抗病大豆新种质[J].植物遗传资源学报,2005,6(2):200-203.
- [18]林红,来永才,齐宁,等.大豆种间杂交新品种龙小粒豆一号的选育[J].中国油料作物学报,2003,25(1):44-46.
- [19]马原松.车前草的生物学特性及栽培技术[J].河南农业科学,2009,38(9):109-110.