



花椰菜苗期黑腐病抗病性鉴定

姚星伟,牛国保,单晓政,刘莉莉,文正华,江汉民,张小丽

(天津科润农业科技股份有限公司蔬菜研究所/蔬菜种质创新国家重点实验室/天津市蔬菜遗传育种企业重点实验室,天津 300381)

摘要:为筛选花椰菜抗黑腐病材料,进而培育抗黑腐病的花椰菜品种,选取 45 份花椰菜纯合自交系,在幼苗 4~5 片真叶时进行活体接种试验,于 5 d 后调查病情指数。结果表明:材料 EC-458 对黑腐病表现高抗;另外 12 份材料对黑腐病表现抗性;其余材料黑腐病抗性一般。通过苗期黑腐病抗病性鉴定,筛选得到 1 份高抗黑腐病花椰菜育种材料。

关键词:花椰菜;黑腐病;苗期;抗病性鉴定

花椰菜(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*)是十字花科甘蓝种的一个变种,由于味道鲜美,营养丰富,是十大主要防癌抗癌保健食品,深受消费者喜爱。黑腐病是由油菜黄单胞杆菌属细菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)导致的细菌性病害,是花椰菜生产的三大主要病害之一,严重影响花椰菜生产。黑腐病最典型的症状是在叶片边缘呈现 V 字型病斑,之后病斑逐渐扩大,直至植株萎蔫死亡^[1]。选育花椰菜抗黑腐病资源,进而培育抗黑腐病的花椰菜品种是解决花椰菜生产中黑腐病害最直接、最有效、最安全的途径。本研究以 45 份花椰菜纯合自交系为材料,进行苗期接种鉴定,为选育优质多抗适应性强的花椰菜新品种奠定了物质基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 45 份花椰菜纯合自交系,由天津科润蔬菜研究所花椰菜课题组提供。

供试病原菌为油菜黄单胞杆菌油菜致病种(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*),由天津市植物保护研究所自花椰菜病株分离,保存。

1.2 方法

1.2.1 幼苗准备 花椰菜种子在 50℃ 热水中处理 10 min,播种于穴盘内,营养土、蛭石及珍珠岩等混合后灭菌基质栽培,幼苗在防虫网室里培养。

设 4 次重复,每重复 15 株苗,并加强栽培管理,使幼苗生长健壮、整齐一致。

1.2.2 接种体的准备 供试菌株转接于 LB 液体培养基上,置于 28℃ 摇床恒温培养 24 h,加适量无菌水稀释,并用细菌浊度仪调整菌液浓度至 1×10^8 个菌体 $\cdot \text{mL}^{-1}$,供接种使用。

1.2.3 接种方法 当花椰菜幼苗 4~5 片真叶时于傍晚 8 时转移到人工气候室内保湿 12 h,使其叶缘出现露珠,第二天 8:00 准备接种菌液并用小型喷雾器进行喷雾接种,菌液喷雾均匀至叶片上不滴落为宜,在人工气候室内 24 h 相对保湿 95%,24 h 后相对保湿 80%,28℃,14 h 光照,5 d 后调查记录发病情况。

1.2.4 单株病情分级标准及群体抗性分类标准 单株病情分级标准如下,

0 级:无病症;

1 级:水孔处有黑色枯死点,无扩展;

3 级:病斑从水孔向外扩展,占叶面积 5% 以下;

5 级:病斑从水孔向外扩展,占叶面积 5%~25%;

7 级:病斑从水孔向外扩展,占叶面积 25%~50%;

9 级:病斑从水孔向外扩展,占叶面积 50% 以上。

病情指数 = $\sum (\text{发病叶数} \times \text{相应病级数}) \times 100 / (\text{调查总叶数} \times 9)$

群体抗性分类鉴定标准如下,

免疫(I):病情指数为 0.00;

高抗(HR): $0 < \text{病情指数} \leq 11.11$;

抗病(R): $11.11 < \text{病情指数} \leq 33.33$;

收稿日期:2018-05-11

基金项目:天津市蔬菜现代农业产业技术体系花椰菜育种岗位专家资助项目(ITTVRS2017004);天津市科技创新体系及平台建设技术资助项目(16PTSJYC00260);国家重点研发计划资助项目(2017YFD0101805)。

第一作者简介:姚星伟(1977-),女,硕士,副研究员,从事花椰菜育种研究。E-mail:yaoxingwei99@126.com。

耐病(T):33.33<病情指数≤55.55;
感病(S):55.55<病情指数≤67.77;
高感(HS):67.77<病情指数≤100。

调查单株的病情指数后,按群体抗病性标准确定抗病类型。

1.2.5 数据分析 采用 SAS 9.4 分析软件进行数据统计和分析。

2 结果与分析

2.1 参试花椰菜组合的病情指数结果

从试验结果可以看出,0<病情指数≤11.11的材料只有 1 份,即 EC-458; 11.11<病情指数≤33.33 之间的花椰菜材料共有 12 份,分别为 Y48-2、EC-464、EC-257、EC-244、EC-296、EC-32、EC-468、EC-259、EC-247、EC-251、EC-455 和 EC-56; 33.33<病情指数≤55.55 的花椰菜材料有 27 份,分别为 Y22-2、EC-1、EC-62、EC-245、Y40-2、EC-322、Y57-2、EC-254、EC-31、Y11-2、TK-2、Y90-2、EC-170、EC-255、EC-246、Y31-2、Y69-2、TK-1、

EC-465、TK-3、Y67-2、EC-319、EC-99、EC-164、EC-281、Y56-2 和 Y74-2。55.55<病情指数≤67.77 花椰菜材料共有 3 份,分别为 Y15-2、Y1-2 和 EC-264。67.77<病情指数≤100 花椰菜材料有 2 份,分别为 EC-248 和 EC-285。

2.2 参试花椰菜组合的抗性鉴定结果

通过病情指数将 45 份花椰菜材料进行了抗病分类,只有一份材料即 EC-458 对黑腐病表现高抗; Y48-2、EC-464、EC-257、EC-244、EC-296、EC-32、EC-468、EC-259、EC-247、EC-251、EC-455、EC-56 共计 12 份花椰菜材料,对黑腐病表现为抗病。Y22-2、EC-1、EC-62、EC-245、Y40-2、EC-322、Y57-2、EC-254、EC-31、Y11-2、TK-2、Y90-2、EC-170、EC-255、EC-246、Y31-2、Y69-2、TK-1、EC-465、TK-3、Y67-2、EC-319、EC-99、EC-164、EC-281、Y56-2、Y74-2 共计 27 份花椰菜材料对黑腐病表现为耐病; Y1-2、EC-264 和 Y15-2 对黑腐病表现为感病; EC-285、EC-248 为高感黑腐病材料。

表 1 花椰菜纯合自交系黑腐病的抗性鉴定结果

Table 1 Test of resistance to black rot in cauliflower pure lines

编号 Number	材料 Materia	病情指数 Disease index					抗性 Resistance
		I	II	III	IV	平均 Average	
1	Y48-2	31.11	33.33	38.10	28.63	32.79	R
2	Y22-2	48.15	44.44	47.74	61.29	50.40	T
3	EC-1	38.46	40.28	34.26	44.06	39.26	T
4	EC-464	34.57	32.14	33.33	31.94	33.00	R
5	EC-257	26.39	23.67	27.56	-	25.87	R
6	Y1-2	63.44	72.02	60.19	59.52	63.79	HS
7	EC-62	36.21	42.42	35.35	39.29	38.32	T
8	EC-244	28.35	32.37	31.88	-	30.87	R
9	EC-245	47.71	61.90	50.24	-	53.29	T
10	Y40-2	50.00	45.78	44.07	43.94	45.95	T
11	EC-322	48.15	51.67	43.96	42.59	46.59	T
12	EC-296	22.22	23.42	30.22	25.81	25.42	R
13	Y57-2	43.70	51.59	46.46	33.63	43.85	T
14	EC-254	47.09	46.15	44.05	39.51	44.20	T
15	EC-285	71.24	64.75	67.82	74.55	69.59	HS
16	EC-264	67.52	64.81	74.71	62.86	67.48	S
17	EC-31	41.67	52.53	56.86	55.56	51.65	T
18	Y15-2	53.33	57.09	56.23	58.33	56.25	S
19	Y11-2	37.91	42.76	30.27	32.37	35.83	T
20	EC-32	38.38	34.10	26.88	-	33.12	R
21	TK-2	38.15	40.28	45.06	37.50	40.25	T
22	Y90-2	49.21	38.74	32.59	32.72	38.31	T

续表 1

编号 Number	材料 Materia	病情指数 Disease index					抗性 Resistance
		I	II	III	IV	平均 Average	
23	EC-170	42.93	48.44	49.21	39.74	45.08	T
24	EC-468	25.64	29.41	27.61	24.84	26.87	R
25	EC-255	40.95	37.50	45.56	41.11	41.28	T
26	EC-259	29.82	32.22	30.77	28.06	30.22	R
27	EC-458	9.80	13.49	8.23	6.11	9.41	HR
28	EC-246	38.35	45.41	-	-	41.88	T
29	Y31-2	42.54	40.43	38.89	39.34	40.30	T
30	Y69-2	39.26	37.13	33.33	34.41	36.03	T
31	EC-247	14.48	26.74	9.20	14.35	16.19	R
32	EC-251	31.28	27.78	-	-	29.53	R
33	EC-455	28.15	38.27	26.07	-	30.83	R
34	TK-1	47.22	45.83	53.76	48.56	48.84	T
35	EC-465	40.95	44.74	41.76	49.26	44.18	T
36	TK-3	46.86	56.63	45.68	44.76	48.48	T
37	Y67-2	57.33	51.61	44.84	43.70	49.37	T
38	EC-319	30.82	29.33	44.00	36.56	35.18	T
39	EC-56	14.67	20.11	15.56	--	16.78	R
40	EC-99	32.59	38.16	39.56	-	36.77	T
41	EC-164	48.48	36.00	35.56	40.28	40.08	T
42	EC-281	33.33	34.68	36.34	37.04	35.35	T
43	Y56-2	45.59	40.91	38.56	42.91	41.99	T
44	Y74-2	46.67	60.39	48.26	49.49	51.20	T
45	EC-248	74.67	68.89	60.42	69.18	68.29	HS

3 结论与讨论

通过对 45 份花椰菜材料苗期黑腐病接种鉴定,筛选出 1 份高抗黑腐病花椰菜材料,12 份抗黑腐病花椰菜材料,其余材料抗黑腐病能力一般。通过比较苗期抗病性鉴定结果和历年的田间抗病性调查结果发现,苗期和田间黑腐病抗病性吻合度高达 94%,说明苗期进行花椰菜抗黑腐病鉴定是可行的。利用此方法可以大量减少田间鉴定工作,缩短资源鉴定的时间,提高育种效率。

有研究表明黑腐病是单基因或多基因显性遗传^[2],也有研究人员认为黑腐病受主效基因和修饰基因共同调控^[3],更加明确的遗传规律还有待研究确定。花椰菜由于长期人工选育,抗黑腐病资源并不多,研究人员通过远缘杂交^[4]、转基因技术^[5]以及回交转育等方法试图创制花椰菜抗黑腐病育种材料,并且已经取得了一定的进展。花椰菜育种中,如何将品质育种和抗病育种相结合,一直是花椰菜育种工作者努力解决的问题。利用本

研究获得的高抗花椰菜资源 EC-458 与感病材料进行杂交构建遗传群体,可以进行花椰菜黑腐病遗传规律研究。同时通过利用回交转育、转基因等技术对花椰菜材料进行黑腐病抗病性改良,进而育成优质、多抗、适应性强的花椰菜新品种。由此看见,在花椰菜抗黑腐病育种中,还有大量的工作需要完成。

参考文献:

[1] Mdeyer D,Lauber E,Roby D,et al. Optimization of pathogenicity assays to study the *Arohidopsis thaliana*-*Xanthomonas campestris* pv. *canpestris* pathosystem[J]. Molecular Plant Pathology,2005,6(3):327-333.

[2] Bain D C. Resistance of *brassica* seedling to black rot[J]. Phytopathology,1952,42:497-500.

[3] Williams P H. Inheritance of resistance in cabbage to black rot[J]. Phytopathology,1972,62:247-252.

[4] 刘凡等. 花椰菜-黑芥体细胞杂种的性状演变和对黑腐病抗性的转育[J]. 园艺学报,2016,43(2):271-280.

[5] 江汉民. 花椰菜黑腐病抗病性相关基因的分离及功能分析[D]. 天津:南开大学,2011.



大庆地区蔬菜根结线虫发生危害及防治对策

李泽宇

(黑龙江省农业科学院 大庆分院,黑龙江 大庆 163316)

摘要:蔬菜根结线虫是黑龙江省大庆市设施蔬菜的主要病害,对黄瓜和番茄等造成严重的产量损失。本文对大庆地区蔬菜根结线虫发生特点进行了分析,并提出了蔬菜根结线虫病的防治方法。蔬菜根结线虫病的防治应以选用抗病品种为核心,应用农业防治、物理防治、生物防治为主,辅以少量低毒、低残留的农药进行系统综合防治。

关键词:大庆地区;根结线虫;综合防治

根结线虫病是一种重要的植物寄生线虫病,1855年 Berkely 首次在英国温室发现根结线虫危害黄瓜。根结线虫主要侵染根部,以侧根和须根最易受害,形成大小不等的瘤状根结^[1]。根结线虫寄主种类繁多、分布广、危害重,是蔬菜生产中的限制性因子。根结线虫引起的农作物损失中主要是由南方根结线虫、花生根结线虫、爪哇根结线虫和北方根结线虫这4种引起的,是我国常见的根结线虫种类^[2]。根结线虫几乎能侵染所有寄主,其中,尤以葫芦科、十字花科等植物发病较普遍。

1 蔬菜根结线虫发生特点

根结线虫主要以土壤或土壤病残体中的卵或2龄幼虫在土壤中越冬。田间主要是通过病土、病苗、灌溉水和农事操作传播,远距离传播主要是

借助风、雨水、病苗调运、病土搬迁、农机具和有机肥等。根结线虫整个生活史包括卵、幼虫、成虫3个虫态。根结线虫主要以卵或2龄幼虫随根瘤、根结遗留在土壤中,或直接在土壤中过冬,一般可以存活1~2年。

2 大庆地区蔬菜根结线虫发生及鉴定

1985年在大庆温室中首次发现了根结线虫的危害后^[3],根结线虫逐渐蔓延在大庆普遍发生,主要发生在老棚室区,分布在让胡路、肇州、大同、肇源、林甸、红岗等地区,严重的棚室出现绝收。保护地蔬菜连作面积扩大是蔬菜根结线虫病发生的主要原因。于秋菊等^[4]对黑龙江省大庆市温室内的番茄根结线虫进行形态鉴定和苗期抗病性鉴定技术研究,结果表明:该线虫为南方根结线虫。李春杰等^[5]用PCR技术对线虫的种类和鉴别寄主进行进一步研究,结果表明:大庆市棚室内番茄和黄瓜上根结线虫仅为南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*),并且是1号小种,未发现其它种的根结线虫。梁刻赫等^[6]将收集到的

收稿日期:2018-05-29

基金项目:大庆市科技攻关资助项目(szdfy-2015-70)。

作者简介:李泽宇(1965-),男,硕士,研究员,从事植物新品种选育及线虫学研究。E-mail:dqnkylzy@126.com。

Resistance Test of Black Rot in Cauliflower at Seedling Stage

YAO Xing-wei, NIU Guo-bao, DAN Xiao-zheng, LIU Li-li, WEN Zheng-hua, JIANG Han-min, ZHANG Xiao-li,

(Tianjin Kernel Vegetable Research Institute/ The State Key Laboratory for of Vegetable Germplasm Resources Innovation/Tianjin Key Laboratory of Vegetable Genetics and Breeding, Tianjin 300381)

Abstract: Black rot is considered to be one of the most destructive diseases of cauliflower, which has a serious effect on cauliflower production. In order to screen out the resistant materials to black rot and breed resistant cauliflower varieties, we chose 45 cauliflower pure lines, identified the resistance of black rot *in vivo* inoculated on cauliflower leaves, and tested the disease index of black rot after 5 days. The result showed that EC-458 showed a high resistance, other 12 cauliflower materials showed resistance, and the rest of them were sensitive to the black rot. The disease resistant cauliflower material will be very useful for breeding new cauliflower variety of good quality and wide adaptation.

Keywords: cauliflower; black rot; seeding stage; resistance test

(该文作者还有孙德岭、兰璞、孙海波,单位为天津市农业科学院;霍建飞,单位为天津市植物保护研究所)