

甘蓝 3 种病害抗源筛选及抗病品种选育研究

张恩慧, 程永安, 许忠民, 王妍妮, 马青山

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 选用不同区域带有 TuMV、黑腐病、CMV 3 种病害的发病甘蓝植株, 通过分离提纯获得病原物。利用 3 种病原菌苗期室内人工接种鉴定和田间自然诱发鉴定相结合的方法, 筛选出甘蓝 3 种病害抗源材料 H8501 和 B8502。以抗源为亲本与其他 8 份优良抗病自交系杂交, 进行配合力测配和抗病性鉴定筛选育成经济性状优良, 并抗 TuMV、黑腐病和 CMV 3 种病害的甘蓝品种秦甘 70 和秦甘 80。

[关键词] 甘蓝; 蔬菜病害; 抗源; 抗病品种

[中图分类号] S635.034

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)06-030-04

芜青花叶病毒 (Turnip mosaic Virus, 简称 TuMV)、黑腐病 (Black rot) 和黄瓜花叶病毒 (Cucumber mosaic virus, 简称 CMV) 是目前危害甘蓝的主要 3 大病害, 因而选育抗这 3 种病害的品种成为国内甘蓝抗病育种攻关的主要目标。国内外的研究和实践证明, 筛选抗源材料和选育抗病品种是防治病害的基本途径^[1,2]。因而世界各国的甘蓝育种者都着手利用苗期单抗、双抗或三抗接种鉴定甘蓝材料选育抗病品种^[3], 英国进行抗病毒病育种, 通过广泛鉴定筛选出抗芜菁花叶病毒 (TuMV) 和花椰菜花叶病毒 (CaMV) 的抗源材料配育品种; 美国进行 TuMV 和黑腐病双抗育种; 日本国针对根肿病、TuMV 病害, 已育成抗病的一代杂种。我国对 3 种病害在同一品种上抗性鉴定的研究起步较早^[3,4], 在对 3 种病害病理学研究的基础上, 开展了 3 种病害抗源材料的鉴定筛选工作, 同时对大量甘蓝种质材料选用国内有代表性的 4 个区域 (黑龙江、北京、陕西和四川) 3 种病害毒原和菌系进行了苗期室内人工接种鉴定和成株田间自然吻合鉴定, 筛选出对 3 种病害高抗的优良抗源材料, 并用于甘蓝组合选配。再经抗病性鉴定, 育成了抗 3 种病害的甘蓝品种。

1 材料与方 法

1.1 病原的分离提纯

在甘蓝病毒病采集和种群鉴定基础上选定的 TuMV、CMV 毒株, 在防虫温室甘蓝苗上增殖。并在此过程中, 分离 CMV 后用 TuMV 和 CMV 的抗血清进行监测, 确认不污染的用于试验。取新鲜病叶

100 g 分 2 份用硼酸盐抽提——二次糖柱纯化法分离纯化。黑腐病在甘蓝上采集具 V 形病斑的叶片, 用手持玻璃组织匀浆器匀浆取汁, 以针刺法分别接种于甘蓝幼苗, 取发病呈现 V 形病斑的病苗用作病原分离。

1.2 苗期抗性鉴定方法和程序

1.2.1 室内人工苗期接种鉴定材料及接种物的准备 供试甘蓝种子在 50℃ 热水中处理 10 min, 催芽或直播在装有灭菌土的塑料营养钵内。每盆 1 株, 每份材料重复 3 次, 每重复 10 株苗, 置无虫环境中培养。接种物 TuMV 在大白菜上繁殖, CMV 在三生烟上繁殖。接种前采病叶按 1:3~1:5 (g/mL) 浓度加 pH 7.0, 0.01 mol/L 磷酸缓冲液匀浆, 双层纱布过滤, 其滤液用于接种。黑腐病供试菌种在肉汁胨斜面上划线, 27℃ 温箱内培养 2~3 d, 加无菌水稀释, 调整菌液浓度到 $10^7 \sim 10^8 \text{ mL}^{-1}$ 供接种用。

1.2.2 室内人工苗期接种和调查方法 甘蓝同株上当幼苗生长 1~2 片真叶时接种 TuMV, 生长 4~5 片真叶时接种黑腐菌。CMV 在同一材料另一植株上幼苗生长 1~2 片真叶时单独接种。TuMV、CMV 采用摩擦接种, 接种后用自来水冲洗接种叶片。黑腐病接种前对鉴定材料先行保湿 1 夜, 使叶缘吐露, 第 2 天上午用喷雾器向叶面均匀喷洒接种液, 接种后保湿 24 h, 重复 3 次。在 22~30℃ 环境中培养, 常规管理。病毒病在接种后 20~25 d, 黑腐病在接种后 12~16 d 调查发病情况。病毒病和黑腐病的病情划分为 0~9 级, 群体抗病性划分为 5 类 (表 1)。达到抗病级以上的材料入选, 再进行田间自然鉴定。

[收稿日期] 2001-01-03

[基金项目] 国家“八五”攻关项目 (85-04-01-05); 陕西省“九五”重点科技攻关项目 (99K01-G6)

[作者简介] 张恩慧 (1960-), 男, 陕西扶风人, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事甘蓝类抗病优质育种研究。

表 1 甘蓝苗期 3 种病害病情分级和群体抗病性划分标准

Table 1 Grading index of 3 diseases resistance standard and its group classifying in the seedling of cabbage

分级 Grade	病情分级标准 Standard of grading index		分类 Classifying	群体抗病性划分标准 Group classifying standard	
	病毒病(TuMV, CMV) Turnip and cucumber mosaic V irus	黑腐病 Black rot		病毒病(TuMV, CMV) 和黑腐病病指 The index of turnip and cucumber mosaic V irus, B lock rot	
0 级 Class 0	无任何症状 Symptom less	无任何症状 Symptom less			
1 级 Class 1	心叶明脉或轻花叶 Clarity vein in fresh leaves or mild mosaic	接种叶片出现褪绿斑, 扩展深度 1~ 3 mm Chlorotic spot in inoculated leaves, spot 1-3 mm deep	高抗(HR) High resistance	0< 病指 2	2
3 级 Class 3	心叶及中部叶片花叶明显 Ap-parent mosaic in fresh leaves and cental leaves	病斑扩展深度 4~ 6 mm Spot 4~ 6 mm deep	抗病(R) Resistance	2< 病指 15	2< Index 15
5 级 Class 5	重花叶, 少数叶片畸形或皱缩 Severe mosaic, malformation in a few leaves or shrinkage	病斑扩展深度 7~ 10 mm Spot 7~ 10 mm deep	中抗(MR) Moderately resistant	15< 病指 30	15< Index 30
7 级 Class 7	重花叶, 多数叶片畸形或皱缩, 植株矮化 Severe mosaic, malformation in many leaves or shrinkage, dwarf of seedlings	病斑扩展深度 11~ 15 mm Spot 11~ 15 mm deep	感病(S) Susceptility	30< 病指 50	30< Index 50
9 级 Class 9	严重花叶, 畸形, 叶脉或全株坏死 Severity mosaic, malformation in leaves, vein or seedlings necrosis	病斑扩展深度 16 mm 以上 Spot 16 mm deep	高感(HS) High susceptibility	50< 病指 50< Index	50< Index 50< Index

1.3 3 种病害田间自然鉴定调查

选用 5 年以上连茬田块种植甘蓝, 在田间自然发病状态下, 选择 3 种病害不同发病高峰期即病毒病在包球前期, 黑腐病在包球后期, 调查田间发病情况。

2 结果与分析

2.1 抗病性鉴定筛选和抗源选育

利用 3 种病害苗期室内人工接种抗性多次鉴定和田间自然诱发鉴定相结合的方法, 筛选 533 份甘蓝育种材料的抗病性, 同时对抗病性强的材料进行育种目标选育。经过 3~ 4 年筛选出经济性状优良抗

3 种病害的自交系。对于自交系再次选用陕西、北京、四川、黑龙江等国内 4 个不同区域带分离提供的不同致病力的菌系^[3,7], 分别进行室内人工苗期接种鉴定, 最终育成了 H8501、B8502 两个抗源。两个抗源对 4 个区域病原菌的抗性测定结果表明, 病情指数 TuMV 平均为 2.0 和 1.2, 表现为高抗病, 黑腐病平均为 5.4 和 5.9, 表现为抗病, CMV 选用陕西毒原时病指为 0 和 0.7, 表现为高抗病(表 2)。抗源提交全国甘蓝抗病育种攻关组统一苗期室内人工接种抗病性鉴定, 其结果显示对 3 种病害的抗性均表现为抗病和高抗(表 3)。

表 2 抗源和组合人工接种鉴定对不同毒源和菌系致病力的抗性表现

Table 2 Effect on the resistance of self-bred lines and combinations in the seedling identified by strains of TuMV and pathogens of B black rot

名称 Self-bred lines and combinations	TuMV Turnip mosaic virus					抗病类型 Type of resistance diseases	黑腐病 B black rot					抗病类型 Type of resistance disease	CMV Cucumber mosaic virus	
	病情指数 Index of disease						病情指数 Index of disease						病情指数 Index of disease	抗病类型 Type of resistance diseases
	SHX _T	BJ _T	SCH _T	HLJ _T	平均		SHX _B	BJ _B	SCH _B	HLJ _B	平均			
H8501(抗源)	1.5	1.3	2.2	3.1	2.0	HR	6.7	4.7	5.6	4.7	5.4	R	0.7	HR
B8502(抗源)	1.1	0.7	0.7	2.2	1.2	HR	6.3	5.7	5.6	6.0	5.9	R	0	HR
H8501 × FT632815	3.8	2.8	2.1	4.4	3.3	R	8.5	6.7	8.2	5.7	7.3	R	2.2	R
B8502 × FT635833	1.1	2.7	3.8	2.2	2.5	R	8.8	6.5	7.5	4.7	6.9	R	1.1	HR

注: SHX_T, SHX_B, BJ_T, BJ_B, SCH_T, SCH_B, HLJ_T, HLJ_B: 来自陕西省、北京市、四川省、黑龙江省 TuMV 株系和黑腐病菌系; HR: 高抗病, R: 抗病。

Note: SHX_T, SHX_B, BJ_T, BJ_B, SCH_T, SCH_B, HLJ_T, HLJ_B strains of TuMV and pathogens of B black rot come from Shaanxi Province, Beijing city, Sichuan province, Heilongjiang province; HR: High-resistance disease, R: Resistance disease

2.2 抗源利用和组合测配

利用 H8501, B8502 2 个抗源为亲本, 再选用其他经济性状优良、配合力高和抗病的甘蓝自交系与抗源相互杂交, 进行配合力测配和抗病性室内和田间筛选鉴定。结果育成配合力高的 H8501 × FT632815 和 B8502 × FT635833 2 个优良组合。经同一病害不同地区来源的病原分离物苗期接种鉴定, 对 3 种病害表现高抗和抗病(表 2); 同时选用国

内 4 个不同区域致病力最强的 TuMV 毒原(C₃₋₂)和黑腐菌 [*Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson] 菌系(YL)^[3], 经全国甘蓝抗病育种攻关组统一室内人工苗期接种抗病性鉴定, H8501 × FT632815 和 B8502 × FT635833 两组合均表现高抗 TuMV、CMV 和抗黑腐病, 病情指数分别为病毒病 1.1~3.3, 黑腐病为 8.0 和 12.0(表 3)。

表 3 全国甘蓝品种及材料 3 种病害抗性人工接种鉴定和省区试田间自然鉴定结果

Table 3 Effect of identification to three diseases of artificial inoculation and field natural occurrence on the varieties and material of cabbage throughout the country

名称 Self-bred lines and varieties	TuMV Turnip mosaic virus				黑腐病(XC) Black rot				CMV Cucumber mosaic virus			
	人工接种 Artificial inoculation		田间鉴定 Field iden- tification		人工接种 Artificial inoculation		田间鉴定 Field iden- tification		人工接种 Artificial inoculation		田间鉴定 Field iden- tification	
	病情 指数	抗病类型 Type of resistance										
	Index of diseases	Index of resistance disease										
H8501(抗源)	2.2	R	0	HR	6.9	R	2.96	R	1.1	R	0	HR
B8502(抗源)	1.3	HR	1.33	HR	4.7	R	1.85	HR	2.2	R	1.33	HR
秦甘 70(H8501 × FT632815)	3.3	R	1.52	HR	8.0	R	12.5	R	2.2	R	1.52	HR
秦甘 80(B8502 × FT635833)	1.1	HR	1.33	HR	12.0	R	12.1	R	2.9	R	1.33	HR

2.3 区域试验

2 个抗病优良组合经过 3 年省级区域试验和生产示范, 均表现出高抗病毒病兼抗黑腐病(表 3), 并于 2000 年通过陕西省农作物品种审定委员会审定。H8501 × FT632815 组合被定名为秦甘 70, 植株叶色灰绿色, 蜡粉多, 叶球扁圆形, 成球速度快而包球紧实, 生育期 70 d。B8502 × FT635833 组合被定名为秦甘 80, 植株叶色绿色, 蜡粉少, 叶球扁平, 叶球

成熟翠绿, 生育期 80 d。1998~1999 年区域试验, 平均产量秦甘 70 为 64 320.0 kg/hm², 比对照中甘 8 号增产 15.7%; 秦甘 80 为 75 981.0 kg/hm², 比对照京丰 1 号增产 18.8%。1997~1999 年生产示范, 平均产量秦甘 70 为 67 177.5 kg/hm², 比对照中甘 8 号增产 18.0%; 秦甘 80 为 75 817.5 kg/hm², 比对照京丰 1 号增产 18.3%(表 4)。

表 4 抗病品种区域试验和生产示范结果

Table 4 Effect of regional trial and demonstration to resistance varieties of cabbage

项目 Item	年份 Year	产量/(kg · hm ⁻²) Yield				秦甘 70 比 CK ₁ 的 增产率/% Qingan 70 increase rate (CK ₁)	秦甘 80 比 CK ₂ 的 增产率/% Qingan 80 increase rate (CK ₂)
		秦甘 70 Qingan 70	秦甘 80 Qingan 80	中甘 8 号 (CK ₁) Zhong gan No. 8(CK ₁)	京丰 1 号 (CK ₂) Jing feng No. 1(CK ₂)		
区域试验 Regional trial	1998	65 179.5	75 901.5	56 604.0	65 056.5	15.2	16.6
	1999	63 460.5	76 059.0	54 679.5	62 880.0	16.1	21.0
生产示范 Demonstration	1997	68 850.0	77 791.5	57 637.5	65 361.0	19.5	19.0
	1998	66 874.5	73 014.0	56 626.5	61 608.0	18.1	18.5
	1999	65 806.5	76 647.0	51 485.5	65 343.0	16.5	17.3

3 讨论

甘蓝室内人工苗期接种 3 种病害的抗性鉴定是选育甘蓝抗病品种的一种有效方法; 室内和田间鉴

定发现, 甘蓝的苗期抗病性与成株期抗病性相吻合^[3], 具有可靠的代表性; 对于病毒病种群中不同种类毒原的苗期鉴定应分株接种, 同一幼苗接种 2 种病毒时(TuMV, CMV) 症状表现不易区别。

甘蓝不论单抗,还是双抗和三抗病害的品种选育,筛选抗源是获得育种目标的重要途径。甘蓝对 TuMV, CMV 和黑腐病的抗性是由遗传基因决定的^[5,6],甘蓝对 TuMV 的抗性遗传,有人认为是由多基因控制的不完全显性遗传(Pound 和Walkey),也有人认为是完全显性遗传^[3];对黑腐病抗性有人认为是隐性遗传,受主效基因和一个隐性及一个显性变更基因支配(Williams);也有人认为受一对或多对显性基因控制(Bain)。在选育抗病甘蓝品种利用抗源的同时,若另一亲本也具有抗病性强的特点,杂

种一代的抗病效果会更显著。

甘蓝病毒病、黑腐病的毒原及菌系的采集和接种应有不同区域的代表性,在对甘蓝育种材料应用当地病原菌接种鉴定的同时,选择不同地区最强毒原和菌系接种鉴定所育成的品种,其广普抗病性强和栽培适应性广。因同一病害的病原菌内存在多样的变异,具有不同质的致病性^[4,5],秦甘70、秦甘80两品种接种了不同致病力的病原菌,对 TuMV, CMV 和黑腐病的4个不同区域病原菌同时表现抗病,具有较广泛的抗病性。

[参考文献]

- [1] 李经略,赵稚雅,赵玉霞,等. 芜菁花叶病毒提纯和抗血清制备及应用的研究[J]. 陕西农业科学, 1987, (6): 17- 18
- [2] 李经略,于正荣,张恩慧,等. 甘蓝对 TuMV 和黑腐病苗期兼抗性平行鉴定研究[J]. 陕西农业科学, 1994, (1): 15- 16
- [3] 方智远,李经略. 甘蓝抗病育种研究进展[A]. 李树德主编. 中国主要蔬菜抗病育种进展[C]. 北京: 科学出版社, 1995. 583- 584
- [4] 李经略,蔡岳松,李永镐,等. 甘蓝黑腐病病原细菌及各地菌株鉴定研究[A]. 李树德主编. 中国主要蔬菜抗病育种进展[C]. 北京: 科学出版社, 1995. 598- 602
- [5] 山川邦夫. 蔬菜抗病品种及其利用[M]. 高振华译. 北京: 农业出版社, 1982
- [6] 李明远. 结球甘蓝病害[M]. 北京: 科技出版社, 1987.
- [7] 李经略,赵晓明,李惠兰. 甘蓝黑腐病菌致病性分化现状初步分析[J]. 陕西农业科学, 1993, (2): 16- 18

Screening of resistant sources to three diseases and studies on breeding resistant variety in the cabbage

ZHANG En-hui, CHENG Yong-an, XU Zhong-min, WANG Yan-ni, MA Qing-san

(College of Horticulture, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Three diseases of cabbage TuMV, Black rot, CMV from different regions were collected, pathogens were obtained and purified by separation. Breeding materials of cabbage were identified and screened for their resistance to the three pathogens by artificial inoculation at seedling and field natural occurrence. Two materials H8501, H8502 resistant to TuMV, Black rot and CMV were selected. Two combinations of cabbage resistant to TuMV, Black rot and CMV were obtained by crossing these two. Resistant sources with other eight inbred lines, and were approved by variety regional trial.

Key words: cabbage; vegetable diseases; resistant; resistant variety