

网络出版时间:2019-06-12 09:41 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2019.12.015
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20190612.0939.030.html

大白菜菌核病抗性鉴定方法研究

孙叶烁,郝玲玉,张杰,张鲁刚

(西北农林科技大学园艺学院,陕西杨凌 712100)

【摘要】【目的】探讨鉴定大白菜菌核病抗病性的简易方法,为大白菜抗菌核病育种提供借鉴。【方法】以大白菜菌核病病原菌为接种体,选用抗病品种 15S261 和 15S94、耐病品种 14S474 和 14S265 及感病品种 14S406、15S64 和 17S20 为试验材料,对大白菜离体叶片和活体幼苗进行抗病性鉴定,并对离体叶片的接种时期、发病温度、接种部位及活体幼苗的接种时期、接种量进行比较,最后利用离体叶片接种法对 89 份大白菜种质资源进行菌核病抗病性鉴定。【结果】大白菜离体叶片抗病性鉴定的最适接种苗龄为 4 叶期,最适宜接种部位为叶片正面,最佳发病温度为 25 ℃;活体幼苗抗病性鉴定的最适接种量为直径 5 mm 的菌丝琼脂块,最适接种苗龄为 3 叶期。在 89 份被鉴定的大白菜种质材料中,23 份材料表现抗病,38 份材料表现耐病,21 份材料表现感病,7 份材料表现高感。【结论】离体和活体菌丝琼脂块接种方法均能准确鉴定出大白菜的抗病性,其中离体菌丝琼脂块法更经济适用;大白菜种质资源中存在着抗病和耐病材料,可用于抗(耐)菌核病品种的选育。

【关键词】 大白菜;菌核病;抗病性鉴定;白菜抗病育种

【中图分类号】 S634.103.4

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2019)12-0123-07

Identification method of resistance to *Sclerotinia* in Chinese cabbage

SUN Yeshuo, HAO Lingyu, ZHANG Jie, ZHANG Lugang

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This study proposed a new method to detect resistance of Chinese cabbage to *Sclerotinia* to provide basis for disease resistance breeding of Chinese cabbage. 【Method】 Resistant varieties 15S261 and 15S94, moderately resistant varieties 14S474 and 14S265, and susceptible varieties 14S406, 15S64 and 17S20 were used as inoculums to establish an artificial inoculation method for identification of resistance at seedling stage. The inoculation age, inoculation site and inoculation culture temperature, inoculation seedling and inoculation size of hyphae agar block for identification of seedling disease resistance of *S. sclerotiorum* were also compared. Then, the resistance of 89 Chinese cabbage lines were identified by this method. 【Result】 For identification of *in vitro* leaf disease resistance of *S. sclerotiorum* in Chinese cabbage, the optimal inoculation age was four-leaf-stage, the optimal inoculation site was front of leaf blade, and the optimal culture temperature was 25 ℃. For identification of seedling disease resistance, the optimal inoculation size of hyphae agar block was 5 mm in diameter and the optimal inoculation seedling was three-leaf-stage. A total of 23 resistance lines, 38 tolerance lines, 21 susceptible lines and 7 high susceptible lines were identified from 89 Chinese cabbage lines. 【Conclusion】 Both methods of disease resistance identification *in vitro* leaf and at seedling stage were effective in discrimination of resistance of Chinese cabbage

〔收稿日期〕 2018-11-02

〔基金项目〕 国家重点研发计划项目(2016YFD0101701)

〔作者简介〕 孙叶烁(1993—),女,河北唐山人,硕士,主要从事蔬菜育种与生物技术研究。E-mail:642279544@qq.com

〔通信作者〕 张鲁刚(1963—),男,陕西岐山人,教授,博士,博士生导师,主要从事蔬菜遗传育种与生物技术研究。

E-mail:lugangzh@163.com

germplasm. There are resistant and tolerant lines in Chinese cabbage, which can be used for breeding of resistant (tolerant) varieties.

Key words: Chinese cabbage; *Sclerotinia*; resistance identification; disease resistance breeding of Chinese cabbage

大白菜(*Brassica campestris* syn. *rapa* L. ssp. *pekinensis*)属于十字花科蔬菜,原产中国,栽培历史非常悠久,品种资源丰富,具有很高的营养价值,是目前我国栽培面积最大的蔬菜作物^[1]。菌核病是由核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)引起的真菌性病害^[2]。菌核病菌的寄主范围非常广泛,除了危害十字花科蔬菜以外,还侵害茄科、豆科、葫芦科等作物^[3],据统计,核盘菌现在已危害的植物有 75 科 408 种^[4]。该病原菌可以分泌草酸毒素,这在其致病过程中发挥着非常重要的作用^[5-6]。近些年来,大白菜菌核病的发生比较频繁,使大白菜产量遭受巨大损失。受菌核病侵害的大白菜一般减产 10% 以上,严重的达 30%~50%,甚至绝产,严重影响大白菜的产量和品质^[7]。目前,在十字花科植物中尚未发现对菌核病免疫的材料,但明确了不同芸薹属作物对菌核病的抗性存在明显差异^[8-9],故当前生产上主要采用化学药剂来防治菌核病。从经济 and 环境保护角度出发,选育优良抗病品种是防治大白菜菌核病既经济有效又安全的措施,而准确、简单的菌核病抗性鉴定方法是抗病品种筛选的重要环节^[10-12]。苗期菌丝琼脂块法是一种常用的菌核病人工抗病鉴定接种方法,近年来,国内有关利用苗期菌丝琼脂块法对大田作物和蔬菜进行菌核病抗病鉴定的报道很多^[13-19],但是对大白菜菌核病抗病鉴定方法的报道很少。本试验将核盘菌菌丝琼脂块接种大白菜进行抗病性鉴定,研究了苗龄、接种温度、接种部位等多个因素对接种菌核病病原菌后大白菜发病的影响,以期建立大白菜菌核病的快速鉴定方法,并为筛选抗病种质和培育抗菌核病的大白菜新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与菌株

供试大白菜抗病材料 15S94 和 15S261、耐病材料 14S474 和 14S265 以及感病材料 14S406(只用于离体鉴定)、15S64 和 17S20(只用于活体鉴定),均由西北农林科技大学大白菜研究室提供。将 7 个材料的种子先在体积分数 75% 酒精中处理 1 min,再用灭菌蒸馏水冲洗 2~3 次后,于 25 °C 培养箱内催芽

3 d,选取发芽一致的种芽播种于穴盘中。所用基质提前进行灭菌处理,置日光温室于自然条件下正常生长。

供试菌株为大白菜核盘菌 XN001^[20],是将采自陕西省杨凌田间自然发病大白菜上的菌核,经表面消毒后接种于 PDA 平板培养基上,于 25 °C 培养并经分离纯化后获得的菌丝,置于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.2 大白菜幼苗离体叶片菌核病抗性鉴定条件的筛选

1.2.1 接种管理和调查方法 (1)接种材料的准备。待试验材料长到一定时期后,取每个材料大小和叶位相同的健康叶片,用蒸馏水冲洗干净,准备 6 个托盘,每个托盘底部铺 1 张滤纸,倒入适量蒸馏水将滤纸浸透,再将每个材料的接种叶片平铺在托盘中并注明材料编号。

(2)菌丝琼脂块的准备及接种。将 4 °C 保存的菌丝培养基在 25 °C 黑暗条件下活化培养,待菌丝铺满 2/3 培养基时进行接种。用直径 5 mm 的打孔器沿菌落边缘打孔取接种菌块,将菌块有菌丝的一面接种到叶片或叶柄中央,以无菌丝的琼脂块作为对照,接种叶片时尽量避开叶脉,最后喷洒定量无菌水,用保鲜膜覆盖保湿。将接种好的叶片水平放置于恒温培养箱内,32 h 后测量病斑最大长度。统计发病级别,计算病情指数,进行抗病性等级划分。

(3)叶片和叶柄的病情分级标准。叶片病情分级标准为:0 级,无病症;1 级,病斑长度 0~0.8 cm;3 级,病斑长度 0.9~1.6 cm;5 级,病斑长度 1.7~2.4 cm;7 级,病斑长度 2.5~3.2 cm;9 级,病斑长度大于 3.3 cm。叶柄病情分级标准为:0 级,无病症;1 级,病斑长度 1.0~1.5 cm;3 级,病斑长度 1.6~2.0 cm;5 级,病斑长度 2.1~2.5 cm;7 级,病斑长度 2.6~3.0 cm;9 级,病斑长度大于 3 cm。

(4)病情指数的计算和抗病性分类。病情指数 = $[\sum(\text{病级数} \times \text{该病级发病株数}) / (\text{最高发病级数} \times \text{总调查株数})] \times 100$ 。抗病性归类标准参考《中国主要蔬菜抗病育种进展》^[21]白菜叶部病害抗病性归类标准,即:免疫(I),无病;高抗(HR),病情指数 0.01~11.11;抗病(R),病情指数 11.12~33.33;

耐病(MR),病情指数 33.34~55.55;感病(S),病情指数 55.56~77.77;高感(HS),病情指数 77.78~100。

1.2.2 最适接种时期的确定 用菌丝琼脂块分别接种 2 叶期、4 叶期、6 叶期的离体叶片,每个处理 8 株幼苗,3 次重复,接种后置于 25 °C 光照培养箱内。接种后管理和调查方法同 1.2.1 节。

1.2.3 最适发病温度的确定 采用 1.2.2 节确定的最适接种时期,用菌丝琼脂块对离体叶片进行接种,接种后分别置于 20,25,30 °C 光照培养箱内培养,每个处理 8 株幼苗,3 次重复。接种后管理和调查方法同 1.2.1 节。

1.2.4 最适接种部位的确定 根据 1.2.2 节和 1.2.3 节确定的接种时期、接种温度,用菌丝琼脂块对离体叶片的正面、背面和叶帮分别进行接种。每个处理 8 株幼苗,3 次重复。接种后管理和调查方法同 1.2.1 节。

1.3 大白菜幼苗活体菌核病抗性鉴定条件的筛选

1.3.1 接种管理和调查方法 (1)幼苗的准备。待供试材料长到一定时期,用蒸馏水喷湿叶片后接种。

(2)菌丝琼脂块的准备及接种。方法同 1.2.1 节,将接种后的幼苗用保鲜膜覆盖保湿,置于 25 °C 恒温箱培养,48 h 后测量病斑最大长度。参照 1.2.1 节中的标准统计发病级别,计算病情指数,进行抗病性等级划分。

1.3.2 最适接种时期的确定 待供试材料分别长至 3 叶期、5 叶期和 7 叶期,用长好的菌丝琼脂块进行活体接种,每个处理 8 株幼苗,3 次重复,接种后置于 25 °C 光照培养箱内培养,管理和调查方法同

1.3.1 节。

1.3.3 最适接种量的确定 采用 1.3.2 节确定的最适接种时期,用菌丝琼脂块对幼苗进行接种,接种量分别为直径 4,5 和 6 mm 的菌丝琼脂块。每个处理 8 株幼苗,3 次重复,接种后置 25 °C 光照培养箱内培养,管理和调查方法同 1.3.1 节。

1.4 89 份大白菜种质资源的抗病性鉴定

采用确定的离体菌丝琼脂块鉴定方法,对 89 份大白菜种质资源进行抗病性鉴定,89 份材料均为自交系材料,由西北农林科技大学园艺学院大白菜课题组提供。

1.5 数据处理

试验数据用 Microsoft Excel 录入整理,并采用 IBM SPSS Statistics 20 进行数据分析。每组试验重复 3 次,试验结果用 3 次试验的平均值表示。

2 结果与分析

2.1 大白菜幼苗离体叶片菌核病抗性鉴定条件的确定

2.1.1 最适接种时期的确定 由表 1 可见,不同苗龄大白菜离体叶片接种菌核病菌丝后,均能明显区分感病材料,但抗病材料与耐病材料不容易区别。2 叶期接种时抗病材料和耐病材料的病情指数差异不显著,且抗病材料 15S94 表现为耐病;6 叶期接种时抗病材料和耐病材料的病情指数均较高,差异不显著,抗病材料都表现为耐病;4 叶期接种时,抗病、耐病、感病材料的病情指数依次上升,且抗病性分级明确,可以准确判断不同材料间菌核病的抗性差异,是适宜的接种苗龄。

表 1 不同苗龄离体叶片接种菌核病菌丝后对供试大白菜病情指数的影响

Table 1 Effects of seedling age of *in vitro* leaves on disease index of Chinese cabbage after inoculation of *Sclerotinia*

材料 Material	处理时期 Inoculation stages					
	2 叶期 2 true leaf stage		4 叶期 4 true leaf stage		6 叶期 6 true leaf stage	
	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance
15S261	32.41±5.78 c	R	33.33±2.78 c	R	38.89±7.35 b	MR
15S94	48.15±5.78 b	MR	32.41±4.24 c	R	45.37±3.21 b	MR
14S265	40.74±5.78 bc	MR	38.62±3.67 c	MR	35.19±11.23 b	MR
14S474	37.04±8.93 bc	MR	49.07±3.21 b	MR	47.22±5.56 b	MR
14S406	71.30±5.78 a	S	64.02±1.83 a	S	64.81±1.60 a	S
15S64	62.96±3.21 a	S	61.11±5.56 a	S	60.19±4.24 a	S

注:表中数值为“平均值±标准误”;同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$,邓肯检测法)。下表同。

Note: Data are “mean±standard error”; Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$, Duncan test). The same below.

2.1.2 最适培养温度的确定 表 2 结果表明,培养温度为 20 °C 时,抗病、耐病、感病材料的病情指数普遍较小,材料间抗病性差异不大,耐病材料 14S265

表现为抗病,感病材料 14S406 表现为耐病;培养温度为 30 °C 时,各材料均未出现发病现象(表 2 中略去),这可能是由于温度太高抑制了菌丝生长^[17];培

养温度为 25 ℃时,抗、耐、感病材料病情指数依次上升,抗性分级明显,抗病、耐病、感病材料的病情指数

差异显著,并且抗病性分级明确,是适宜的接种温度。

表 2 培养温度对不同抗性大白菜离体叶片接种菌核病菌丝后病情指数的影响

Table 2 Effects of temperature of *in vitro* leaves on disease index of Chinese cabbage after inoculation of *Sclerotinia*

材料 Material	培养温度/℃ Temperature				材料 Material	培养温度/℃ Temperature			
	20		25			20		25	
	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance		病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance
15S261	33.33±2.78 c	R	33.33±2.78 c	R	14S474	46.30±3.06 b	MR	49.07±3.21 b	MR
15S94	32.41±4.24 c	R	32.41±4.24 c	R	14S406	50.00±4.81 b	MR	64.02±1.83 a	S
14S265	33.33±2.78 c	R	38.62±3.67 c	MR	15S64	56.48±1.60 a	S	61.11±5.56 a	S

2.1.3 叶片接种部位的感病性比较 表 3 结果表明,叶片背面接种时,抗病材料和耐病材料的病情指数均较高,抗病材料表现为耐病,耐病材料 14S474 表现为感病,材料间的病情指数差异不显著;叶帮接

种时,抗病材料均表现为耐病,抗病材料与耐病材料的病情指数差异不显著;只有在 4 叶期叶片正面接种时,抗病、耐病、感病材料的病情指数依次上升,且彼此差异显著,抗病性分级明确,是适宜的接种部位。

表 3 接种部位对不同抗性大白菜离体叶片接种菌核病菌丝后病情指数的影响

Table 3 Effects of inoculation site of *in vitro* leaves on disease index of Chinese cabbage after inoculation of *Sclerotinia*

材料 Material	接种部位 Inoculation site					
	叶片正面 The upper surface of leaf		叶片背面 The down surface of leaf		叶帮 Midvein of leaf	
	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance
15S261	33.33±2.78 c	R	49.07±3.21 b	MR	37.04±1.60 b	MR
15S94	32.41±4.24 c	R	49.07±5.78 b	MR	37.04±4.24 b	MR
14S265	38.62±3.67 c	MR	54.63±1.60 b	MR	41.67±4.81 b	MR
14S474	49.07±3.21 b	MR	55.56±4.81 b	S	40.74±8.49 b	MR
14S406	64.02±1.83 a	S	60.19±9.76 ab	S	86.11±8.33 a	HS
15S64	61.11±5.56 a	S	70.37±5.78 a	S	76.85±6.99 a	S

2.2 大白菜幼苗活体菌核病抗性鉴定条件的确定

2.2.1 最适接种量的确定 表 4 结果表明,接种菌块直径为 4 mm 时,抗病材料的病情指数均较低,耐病材料 14S474 及感病材料 15S64 表现为抗病;接种菌块直径为 6 mm 时,各材料病情指数均较高,抗病

材料 15S261、15S94 和感病材料 15S64 均表现为耐病;接种菌块直径为 5 mm 时,抗病、感病、耐病材料的病情指数依次上升,抗病性分级较明确且差异显著,可以判断不同材料间菌核病的抗性差异,是较适宜的接种量。

表 4 接种量对不同抗性大白菜活体幼苗接种菌核病菌丝后病情指数的影响

Table 4 Effects of inoculation diameter of seedlings on disease index of Chinese cabbage after inoculation of *Sclerotinia*

材料 Material	菌块直径/mm Diameter of hyphae agar block					
	4		5		6	
	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance
15S261	33.33±0.00 b	R	33.33±0.00 c	R	42.59±8.49 bc	MR
15S94	33.33±0.00 b	R	33.33±0.00 c	R	36.67±2.94 c	MR
14S265	43.70±6.79 a	MR	49.63±5.13 b	MR	50.00±0.00 b	MR
14S474	33.33±0.00 b	R	45.56±6.19 b	MR	46.30±6.41 bc	MR
17S20	45.19±2.57 a	MR	61.48±9.25 a	S	66.67±0.00 a	S
15S64	33.33±0.00 b	R	51.11±0.00 b	MR	37.50±9.81 c	MR

2.2.2 最适接种苗龄的确定 表 5 结果表明,接种时期为 7 叶期时抗病材料 15S261 表现为耐病,耐病材料 14S265 表现为感病,而感病材料均表现为耐病;5 叶期进行接种时除感病材料 15S64 表现为耐

病外,其余材料的抗病性分级均较明确且差异显著;接种时期为 3 叶期时,抗病、感病、耐病材料的病情指数依次上升,抗病性分级明确且差异显著,可以准确判断不同材料间菌核病的抗性差异,因此 3 叶期

是最适宜的接种时期。

比较分析供试大白菜材料离体叶片接种与幼苗活体接种的抗病性分级结果,4 叶期离体叶片接种鉴

定结果(表 1)与 3 叶期活体鉴定结果(表 5)的抗感性完全一致,病情指数的相关系数为 0.91,说明离体叶片接种可以真实反映幼苗活体接种的抗病性结果。

表 5 接种苗龄对不同抗性大白菜活体幼苗接种菌核病菌丝后病情指数的影响

Table 5 Effects of seeding age on disease index of Chinese cabbage after inoculation of *Sclerotinia*

材料 Material	处理时期 Inoculation stages					
	3 叶期 3 true leaf stage		5 叶期 5 true leaf stage		7 叶期 7 true leaf stage	
	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index	抗病性 Disease resistance
15S261	33.33±0.00 d	R	33.33±0.00 c	R	37.03±6.41 b	MR
15S94	33.33±0.00 d	R	33.33±0.00 c	R	33.33±0.00 b	R
14S265	52.59±2.57 c	MR	49.63±5.13 b	MR	55.56±0.00 a	S
14S474	48.15±2.56 c	MR	45.56±6.19 b	MR	51.11±7.70 a	MR
17S20	66.67±3.15 a	S	61.48±9.25 a	S	51.11±4.44 a	MR
15S64	58.52±5.13 b	S	51.11±0.00 b	MR	51.11±4.44 a	MR

2.3 89 份大白菜种质资源的抗病性鉴定

根据叶片的抱合方式,将 89 份大白菜种质资源分为合抱类型、叠抱类型、拧抱类型和舒心类型,各

类型大白菜的抗病性鉴定结果如表 6 所示,其中表现抗病的大白菜材料有 23 份,耐病材料有 38 份,感病材料有 21 份,高感材料有 7 份。

表 6 不同类型大白菜对菌核病的抗病性表现

Table 6 Resistance to *Sclerotinia* in different types of Chinese cabbage

资源类型 Resource type	抗病 R		耐病 MR		感病 S		高感 HS		合计 Total	
	份数 Number	比例/% Ratio								
合抱类型 Curleds-inwards-type	8	34.79	8	21.05	3	14.29	2	28.57	21	23.60
叠抱类型 Overlap-type	9	39.13	20	52.63	13	61.90	5	71.43	47	52.81
拧抱类型 Twist-type	3	13.04	2	5.27	1	1.76	0	0	6	6.74
舒心类型 Curleds-outwards-type	3	13.04	8	21.05	4	19.05	0	0	15	16.85
合计 Total	23	100.00	38	100.00	21	100.00	7	100.00	89	100.00

3 讨论与结论

3.1 大白菜菌核病菌丝琼脂块法人工接种条件的确定

有关利用菌丝琼脂块法对作物菌核病进行鉴定的报道很多,主要涉及油菜^[14,16-17]、向日葵^[19]、花椰菜^[12]等作物,大白菜菌核病的研究报道较少。马田田等^[14]在接种温度为 23℃ 的环境下,对 5 叶期的油菜进行叶片正面接种鉴定;张志元等^[16]用同样的方法接种于 3~4 叶期的油菜叶片正面,在 20~25℃ 下进行保湿鉴定;胡宝成等^[17]在油菜第 3 片真叶正面接种,于 20℃ 培养箱里培养并进行抗病性鉴定;在对向日葵菌核病鉴定的报道中,接种苗龄为 3~4 叶期,接种温度为 22℃^[19];有报道用菌丝琼脂块法对 6~7 叶期的花椰菜进行叶片正面接种鉴定,于 23℃ 的环境下培养^[12]。以上这些报道不仅说明菌丝琼脂块鉴定方法是可行的,而且其接种温度都在 20~25℃,苗龄为 3~4 叶期,接种位置都是叶片

正面接种,这反映了菌核病发病条件的相似性,但有些报道未见叶片正反面比较及叶帮的接种情况。本试验在前人研究的基础上,对影响大白菜菌核病苗期菌丝琼脂块鉴定方法的主要因素,如接种苗龄、发病温度、接种部位、接种量进行了筛选,明确了最适接种苗龄为 3~4 叶期,最适接种量为直径 5 mm 的菌丝琼脂块,最佳发病温度为 25℃,最适宜接种部位为离体叶片正面。本研究所建立的接种方法可应用于大白菜菌核病的筛选和鉴定。

3.2 大白菜菌核病人工接种抗性鉴定方法的选择

目前,常用的菌核病抗性鉴定方法有田间自然诱发鉴定法和人工接种鉴定法 2 种^[22]。田间自然诱发鉴定法是自然接种应用最多的鉴定方法,该方法的缺点是容易受自然环境影响,无法避免其他病害的影响,并且试验周期长^[23]。人工接种鉴定方法操作简单、成本低,鉴定周期也比较短,环境条件可以控制,并且可以对材料进行大批量的鉴定^[12-13]。菌丝琼脂块抗病性鉴定法作为一种人工接种鉴定方

法,属于局部接种,不影响植株正常生长发育,可以防止发病重导致植株死亡的危险,具有保护珍贵育种材料的作用,而且该方法条件稳定,周期短,见效快,简单易行,易于控制,目前应用较为广泛^[15]。其他人工接种鉴定方法还有菌丝体悬浮液接种法和孢子悬浮液接种法。菌丝体悬浮液接种法的优点在于菌株容易培养,获取方便,缺点是定量困难,菌量误差较大;孢子悬浮液接种可精确定量,试验误差较小,但孢子收集较为困难,接种数量不好控制,且收集的孢子难以保存^[24]。本试验以菌丝琼脂块为接种媒介研究了离体和活体 2 种接种方法对大白菜抗病性鉴定的影响,结果表明 2 种接种方法均能准确鉴定出材料的抗病性,且病情指数的相关性为 0.91。综上所述,利用菌丝琼脂块法对大白菜进行抗病性接种鉴定是比较经济适用的方法。

3.3 大白菜菌核病抗性种质资源的分布

对本课题组保存的 89 份大白菜种质资源的抗病性进行鉴定后,结果并未发现免疫和高抗大白菜材料,表现抗病的大白菜数量占 25.84%,耐病材料占 42.70%,感病和高感材料占 31.46%,说明大白菜种质资源中感病材料比较多,要培育高抗品种还需要挖掘、创制免疫和高抗大白菜种质资源,这将是抗病品种突破的关键^[25]。

根据对大白菜不同类型抗病性的分析发现,在鉴定的大白菜种质资源中,不同叶片抱合类型材料中均有抗病、耐病、感病材料。在合抱类型大白菜材料中,抗病和耐病材料所占比例较大,均为 38.10%,而感病和高感材料共占 23.80%;在叠抱类型材料中,耐病材料所占比例最大,为 42.55%,抗病材料所占比例为 19.15%;拧抱和舒心类型材料数量较少,但均表现出较好的抗病性,抗(耐)病材料分别占 83.33%和 73.33%,且无高感材料。由此推断,对于大白菜而言,材料抗病性可能与叶片抱合类型有关,叠抱、舒心类型大白菜较合抱、拧抱类型更容易受菌核病的影响。

[参考文献]

- [1] 张少丽. 温敏型大白菜雄性不育系育性转化机理的研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2008.
Zhang S L. The mechanisms of fertility change over in the RMO-Sensitive TsCMS7311 line Chinese cabbage [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2008.
- [2] Bolton M D, Thomma B P, Nelson B D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen [J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 7(1): 1-16.
- [3] Purdy L H. *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact [J]. Phytopathology, 1979, 69(8): 875-880.
- [4] Boland G J, Hall R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1994, 16(2): 93-108.
- [5] 吴纯仁, 刘后利. 草酸毒素在油菜抗病育种中的应用 [J]. 中国农业科学, 1991, 24(4): 41-46.
Wu C R, Liu H L. The role of oxalic acid toxin in disease resistant breeding of oilseed rape (*Brassica napus*) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1991, 24(4): 41-46.
- [6] 刘澄清, 杜德志, 黄有菊, 等. 甘蓝型油菜的抗耐病性及其遗传效应研究 [J]. 中国农业科学, 1991, 24(3): 43-49.
Liu C Q, Du D Z, Huang Y J, et al. Study on tolerance to *Sclerotinia sclerotiorum* and the hereditary properties in *B. napus* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1991, 24(3): 43-49.
- [7] 满昌伟. 大白菜制种田菌核病的发生特点与综合防治技术 [J]. 山东农业科学, 1995(6): 41.
Man C W. Occurrence characteristics and integrated control techniques of bacterial scleriosis in Chinese cabbage [J]. Shandong Agricultural Sciences, 1995(6): 41.
- [8] Li C X, Liu S Y, Sivasithamparan K, et al. New sources of resistance to *Sclerotinia* stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, in Chinese and Australian *Brassica napus*, and *B. juncea*, germplasm screened under Western Australian conditions [J]. Australasian Plant Pathology, 2009, 38(2): 149-152.
- [9] 梅家琴. 甘蓝及其野生种种质资源评价 [D]. 重庆: 西南大学, 2008.
Mei J Q. Evaluation of germplasm in *Brassica oleracea* and the wild species [D]. Chongqing: Southwest University, 2008.
- [10] 孙晓敏, 张晓娟, 李英, 等. 陕西汉中地区抗菌核病油菜材料检测 [J]. 江苏农业科学, 2016(7): 180-182.
Sun X M, Zhang X J, Li Y, et al. Detection of antibacterial nuclear disease rapeseed materials in Hanzhong, Shaanxi [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016(7): 180-182.
- [11] 汪雷, 刘瑶, 丁一娟, 等. 油菜菌核病研究进展 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(10): 85-93.
Wang L, Liu Y, Ding Y J, et al. Advance in *Sclerotinia* stem rot of rapeseed [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2015, 43(10): 85-93.
- [12] 孙溶溶, 彭真, 程琳, 等. 花椰菜菌核病抗性鉴定方法比较及抗病种质资源筛选 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2011, 37(6): 596-602.
Sun R R, Peng Z, Cheng L, et al. Comparison of identification methods for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and screening of resistant materials in cauliflower [J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Science), 2011, 37(6): 596-602.
- [13] 任莉, 陈坤荣, 曾令益, 等. 油菜薹期和花期菌核病接种方法比较 [J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(2): 248-254.
Ren L, Chen K R, Zeng L Y, et al. Comparison of methods for resistance screening against *Sclerotinia sclerotiorum* in *Bras-*

- sica napus* [J]. Acta Agricultural Universitatis Jiangxiensis, 2016,38(2):248-254.
- [14] 马田田,陈 锋,张 维,等. 油菜菌核病鉴定方法的比较研究 [J]. 上海农业学报,2014,30(6):39-43.
Ma T T, Chen F, Zhang W, et al. Comparison of *Sclerotinia identification* methods in rapeseed (*Brassica napus* L) [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2014, 30(6):39-43.
- [15] 冉 毅,文成敬,牛应泽. 油菜菌核病抗性鉴定方法的比较及抗源的筛选 [J]. 植物保护学报,2007,34(6):601-606.
Ran Y, Wen C J, Niu Y Z. Comparison of methods for identification of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and screening of resistant materials in rapeseed [J]. Journal of Plant Protection, 2007, 34(6):601-606.
- [16] 张志元,官春云. 油菜对菌核病抗(耐)病性鉴定与抗病育种研究进展 [J]. 湖北农业科学,2003(3):38-43.
Zhang Z Y, Guan C Y. Rape resistance (tolerance) to *Sclerotinia* blight appraising and research progress of resistance to disease breeding [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2003(3):38-43.
- [17] 胡宝成, Rimmer S R. 油菜菌核病离体叶片接种法研究初报 [J]. 安徽农业科学,1989(3):56-58.
Hu B C, Rimmer S R. Preliminary study of artificial inoculation for resistance (tolerance) to *Sclerotinia sclerotiorum* in rapeseed using detached leaves [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 1989(3):56-58.
- [18] 张耀伟,苗国辉. 大白菜对褐腐病抗性的快速鉴定方法研究 [J]. 植物保护,2014,40(3):117-121.
Zhang Y W, Miao G H. Methods for rapid identification of Chinese cabbage resistance to brown rot [J]. Plant Protection, 2014, 40(3):117-121.
- [19] 王玉杰,高凤竹,曹 雄,等. 向日葵品种资源对菌核病抗性室内鉴定 [J]. 中国油料作物学报,2010,32(4):540-545.
Wang Y J, Gao F Z, Cao X, et al. Resistance evaluation of different sunflower cultivars to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(4):540-545.
- [20] 孙敬贤,张鲁刚. 大白菜菌核病原菌鉴定及其主要生物学特性 [J]. 华北农学报,2015,30(S1):321-328.
Sun J X, Zhang L G. Identification and main biological characteristics of *Sclerotinia* rot pathogen in Chinese cabbage [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2015, 30(S1):321-328.
- [21] 李树德. 中国主要蔬菜抗病育种进展 [M]. 北京:科学出版社,1995.
Li S D. Advances in main vegetable crops breeding for diseases resistance in China [M]. Beijing: Science Press, 1995.
- [22] 孙明明,韩英鹏,赵 雪,等. 大豆菌核病鉴定方法研究进展 [J]. 大豆科学,2017,36(3):470-474.
Sun M M, Han Y P, Zhao X, et al. Research development of identification methods in soybean white mold [J]. Soybean Science, 2017, 36(3):470-474.
- [23] 解永梅,张 薇,赵永强,等. 山东省白菜黑腐病苗期抗病性鉴定方法 [J]. 植物保护学报,2007(6):661-662.
Xie Y M, Zhang W, Zhao Y Q, et al. Screening method for resistance to black rot of Chinese cabbage in seedling stage in Shandong Province [J]. Journal of Plant Protection, 2007(6):661-662.
- [24] 刘 佳,张匀华,孟庆林,等. 向日葵菌核病接种方法及品种抗病性鉴定 [J]. 植物保护,2016,42(2):136-141.
Liu J, Zhang Y H, Meng Q L, et al. Inoculation methods of *Sclerotinia sclerotiorum* on sunflower heads and identification of variety resistance [J]. Plant Protection, 2016, 42(2):136-141.
- [25] 张晓娟,张 羽,胡胜武. 油菜菌核病抗性机理及抗病遗传育种研究进展 [J]. 分子植物育种,2016,14(3):704-711.
Zhang X G, Zhang Y, Hu S W. Progress on resistance mechanism of *Sclerotinia sclerotiorum* and genetic breeding program on disease resistant rapeseed [J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14(3):704-711.

(上接第 122 页)

- [25] 豆 青. 外生菌根真菌对杨树 Pb 耐受性的影响及相关机制 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2016.
Dou Q. Influence of ectomycorrhizal fungi on the lead tolerance of poplar and related mechanism [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2016.
- [26] 冷 阳. 黄孢原毛平革菌对重金属 Cd 的富集及其交互作用机理研究 [D]. 长沙:湖南大学,2014.
Leng Y. Research on Cd(II) enrichment and its mechanism of interaction with *Phanerochaete chrysosporium* [D]. Changsha: Hunan University, 2014.
- [27] 王 亮. 白腐真菌胞外聚合物的产量、组分及其对菌体吸附铅的机理研究 [D]. 长沙:湖南大学,2010.
Wang L. Yield and composition of extracellular polymeric substances (EPS) by white-rot fungi and mechanism of its bio-sorption of Pb²⁺ [D]. Changsha: Hunan University, 2010.
- [28] 黄 超. 白腐真菌强化处理铅污染农业废物及其对铅的抗性机理研究 [D]. 长沙:湖南大学,2017.
Huang C. Enhanced treatment of lead contaminated agricultural wastes by white rot fungus and its resistance analysis [D]. Changsha: Hunan University, 2017.