

甘蓝黑腐病和枯萎病兼抗材料的鉴定筛选

孔枏枏 刘 星 邢苗苗 杨丽梅 庄 木 张扬勇 王 勇 方智远* 吕红豪*

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 北京 100081)

摘 要: 采用喷雾法与浸根法, 分别对 99 份国内外甘蓝种质资源 (83 份自交系、16 份杂交种) 进行黑腐病与枯萎病苗期人工接种抗性鉴定。共筛选出 26 份抗黑腐病的材料, 其中 2 份表现高抗, 即 99-192 和 20-2-5 (病情指数 < 10); 同时还筛选获得引 162、奥奇娜、96-100-919 等 54 份高抗枯萎病的材料 (病情指数 < 10)。其中, 秋德、99-192、HB34、JS119、ZL66 为高抗或抗黑腐病兼高抗枯萎病的材料, 且 JS119 和 ZL66 为早熟、圆球类型材料。进一步对抗性材料的地理来源及主要农艺性状进行分析, 发现 83 份自交系材料中高抗枯萎病的材料多来自日、韩等国家, 且多为早熟、圆球类型; 而高抗黑腐病材料多为晚熟、扁球类型, 早熟类型中对黑腐病有较强抗性的材料较少。分别对不同抗性材料配制的 16 份杂交种进行遗传分析, 结果表明甘蓝黑腐病、枯萎病的抗性分别符合隐性和显性遗传。

关键词: 甘蓝; 黑腐病; 枯萎病; 兼抗材料; 农艺性状

结球甘蓝 (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) 简称甘蓝, 在世界各地广泛种植, 是重要的十字花科芸薹属蔬菜作物 (方智远, 2008, 2017)。据联合国粮农组织 (FAO) 统计, 2014 年全世界蔬菜收获面积 2 011.9 万 hm^2 , 其中甘蓝类蔬菜收获面积达 247.0 万 hm^2 , 约占 12% (<http://www.fao.org>)。目前, 我国甘蓝年栽培面积约 90 万 hm^2 , 占世界甘蓝类蔬菜收获面积的 1/3 以上, 在蔬菜周年供应和出口创汇中发挥重要作用 (杨丽梅等, 2016)。

黑腐病和枯萎病是威胁甘蓝生产的两大主要病害。近年来, 随着栽培面积的逐渐增加及不合理栽培方式的影响 (如高密度、连作等), 其危害程度日趋严重, 两种病害同时为害的情况也时有发生

(李明远等, 2006; Jensen et al., 2010)。

甘蓝黑腐病由野油菜黄单胞菌野油菜致病变种 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, XCC) 引起, 该病自 20 世纪 50 年代在我国发现后迅速蔓延, 至 80 年代已在全国普遍流行 (李明远, 1997)。XCC 的传播方式主要为伤口传播、水孔传播以及种子长距离传播等 (Williams, 1980; 彭锐和雷建军, 1998)。病原菌侵入植株后快速进入维管束, 在质外体增殖, 产生的多糖等分泌物与病菌一起堵塞木质部导管, 限制水分运输, 导致植株叶缘部位呈现“V”型病斑, 发病严重时叶脉变黑, 甚至整株萎蔫、死亡, 对甘蓝生产造成严重危害 (Alvarez, 2000; 黄德芬等, 2011; Vicente & Holub, 2013)。甘蓝枯萎病由尖孢镰刀菌粘团专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*, FOC) 引起, 是一种典型的土传病害 (Smith, 1899; 耿丽华等, 2009), 自 21 世纪初我国在北京延庆地区首次发现甘蓝枯萎病, 近年来已蔓延至河北、甘肃、山西、陕西等北方甘蓝主产区, 成为危害甘蓝生产的毁灭性病害 (李明远等, 2003; 张扬等, 2007, 2011)。FOC 侵入植株后可使叶脉变黄, 通常植株下部叶片先发病, 叶脉呈现网状黄化, 随后叶片变黄萎蔫, 并逐渐蔓延至整个植株, 病株维管束组织阻塞、变黑褐色, 并最终导致整株萎缩死亡

孔枏枏, 女, 硕士研究生, 专业方向: 蔬菜遗传育种, E-mail: 13121238399@163.com

* 通讯作者 (Corresponding authors): 方智远, 男, 中国工程院院士, 研究员, 博士生导师, 主要从事蔬菜遗传育种研究, E-mail: fangzhiyuan@caas.cn; 吕红豪, 男, 助理研究员, 主要从事蔬菜遗传育种研究, E-mail: lvhonghao@caas.cn

收稿日期: 2017-12-21; 接受日期: 2018-02-06

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0100204, 2017YFD0101804), 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目 (Y2018YJ04, Y2016YJ09), 中国农业科学院科技创新工程项目 (CAAS-ASTIP-IVFCAAS), 大宗蔬菜产业技术体系项目 (nycytx-35-gw01)

(Sherf & Macnab, 1986; 吕红豪等, 2011)。

早在 1955 年, Bain 就利用甘蓝品种 Hugenot 研究发现甘蓝黑腐病抗性受 1 个或多个显性基因控制 (Bain, 1955)。而 Williams 等 (1972) 在研究甘蓝品种富士早生时发现黑腐病抗性受 1 对隐性主效基因 (ff) 控制, 杂合时受 1 对显性 (BB) 和 1 对隐性 (aa) 修饰基因影响。Dickson 和 Hunter (1987) 根据对甘蓝品种 PI436606 的研究认为黑腐病抗性受 1 个单隐性基因控制。Guo 等 (1991) 通过利用甘蓝型油菜、甘蓝等十字花科作物得出甘蓝黑腐病抗性遗传受 1 个或多个显性基因控制的结论。王晓武 (1992) 研究认为, 甘蓝黑腐病抗性由隐性基因控制, 并存在修饰基因。Vicente 等 (2002) 发现, 甘蓝品种 Badger Inbred-16 的黑腐病抗性受隐性基因控制, 支持 Williams 等 (1972) 的观点。由此可见, 甘蓝黑腐病的抗性遗传较为复杂, 遗传规律还有待于进一步研究。对于甘蓝枯萎病而言, 其抗性遗传规律较为清楚, 总体来说分为 A、B 抗型, 即 A 抗型为显性单基因控制, B 抗型为多基因控制; 目前, A 型抗性已在育种中应用并成功控制了枯萎病的蔓延 (Walker, 1930; 康俊根等, 2010; 吕红豪等, 2011; Lv et al., 2014a, 2014b)。

在对黑腐病和枯萎病的防治方面, 传统的化学 (如药剂等)、物理 (如轮作等) 等防治方法效果有限且对环境污染较大, 培育抗病品种是最为行之有效的应对方法 (方智远, 2008); 另一方面, 随着甘蓝栽培面积的增加和栽培方式的变化, 多种病害同时造成危害的情况越来越多, 因此对高抗、兼抗品种的需求也愈发强烈。由此可见, 为满足市场需求、培育优良多抗品种, 亟待筛选出一批综合性状优良且具备复合抗性的材料。我国曾在 20 世纪 80~90 年代开展黑腐病育种工作, 并筛选出 20-2-5 等一些晚熟、扁球类型的抗源材料 (李树德, 1995), 而早熟、圆球类型抗黑腐病材料或兼抗黑腐病与枯萎病材料的筛选国内鲜见报道, 对培育新一代具备复合抗性的甘蓝品种造成了障碍。本试验通过对 99 份国内外甘蓝种质资源黑腐病与枯萎病的抗病鉴定和筛选, 为优良、兼抗品种的选育提供种质资源; 同时, 获得的高抗和高感黑腐病材料也将为进一步分析黑腐病抗性遗传规律、挖掘抗

性基因提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黑腐病菌菌株由中国农业科学院蔬菜花卉研究所植物病理课题组提供, 菌株编号为 XCBS, 保存于营养琼脂培养基 (nutrient agar medium, NAM), 配方为: 蛋白胨 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 牛肉粉 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 氯化钠 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值 7.3。枯萎病菌菌株由本所甘蓝课题组提供, 菌株编号为 FGL03-6, 保存于完全培养基 (complete medium, CM), 配方为: 酵母提取物 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 酶水解酪蛋白 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 酸水解酪蛋白 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 蔗糖 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

参试 99 份甘蓝材料均由本所甘蓝课题组提供, 包括 83 份自交系和 16 份杂交种 (表 1、2)。以 01-16-5 为黑腐病与枯萎病共同感病对照 (CK_1), 以 20-2-5 为黑腐病的抗病对照 (CK_2), 以珍奇为枯萎病的抗病对照 (CK_3)。

1.2 试验方法

所有参试材料均于 2016 年 9 月进行第 1 次人工接种鉴定试验, 并于 2017 年 5 月进行重复试验, 试验地点均为本所南区试验基地。

1.2.1 黑腐病抗性鉴定 采用苗期喷雾法接种, 具体参考李永镐和徐丽波 (1990) 的方法, 稍作改动。

育苗: 将参试甘蓝材料种子分别放入 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 热水中, 恒温水浴处理 10 min, 晾干后播种到装有灭菌土的营养钵 ($10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$) 中, 每钵 1 粒。在温室内育苗, 幼苗生长至 4~6 片真叶时 (约 30 d 苗龄), 选择生长健壮、一致的幼苗进行接种鉴定。

接种: ① 接种菌液制备。将黑腐病菌菌株 XCBS 移至营养肉汤培养基 (nutrient broth medium, NBM) 中, 在 $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下摇培 24 h, 用适量无菌水调节浓度至 $1 \times 10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($\text{OD}_{600}=0.2$), 备用。② 接种方法。接种前将幼苗移入鉴定室内, 浇透水并盖塑料膜保湿 12~24 h ($15 \sim 20 \text{ }^\circ\text{C}$), 使叶缘吐露。第 2 天早上用医用喉头喷雾器将菌液均匀喷洒到植株叶片上, 以叶片无液滴滴落为度。接种后继续保湿 24 h, 除去薄膜后幼苗于 $20 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 室温下培养。

病情调查和分级: 每份甘蓝材料设 3 组重复,

每重复 10 株幼苗,接种后 12~15 d 调查发病情况。分级标准为:0 级,接种叶片无任何症状;1 级,接种叶片水孔处有黑色枯死,无扩展;3 级,接种叶片病斑从水孔向外扩展,占叶面积 5% 以下;5 级,接种叶片病斑从水孔向外扩展,占叶面积 5%~25%;7 级,接种叶片病斑从水孔向外扩展,占叶面积 25%~50%;9 级,接种叶片病斑从水孔向外扩展,占叶面积 50% 以上(图 1)。



图 1 甘蓝黑腐病叶片病情级别划分标准

彩色图版见《中国蔬菜》网站: www.cnveg.org, 下图同。

1.2.2 枯萎病抗性鉴定 采用浸根法接种,具体参考吕红豪等(2011)的方法。

育苗:种子消毒方法同 1.2.1,晾干后播种在育苗盘中,幼苗三叶一心期(约 30 d 苗龄)进行接种鉴定。

接种:①接种菌液制备。将枯萎病菌菌株 FGL03-6 在 CM 液体培养基中 28 ℃ 摇培 72 h (200 r·min⁻¹),过滤除去菌丝后调节孢子悬浮液浓度至 1×10⁶ cfu·mL⁻¹,备用。②接种方法。采用浸根法接种(杨宇红等,2011),将幼苗拔起后轻轻抖落根部泥土,在孢子悬浮液中浸根 15 min,然后将幼苗移栽到装有灭菌土的培养钵(10 cm×10 cm)中,置于温室内培养(白天 28 ℃,夜间 23 ℃)。

病情调查和分级:每份甘蓝材料设 3 组重复,每重复 8 株幼苗,接种后 8~10 d 调查发病情况。病情分级标准为:0 级,植株生长正常,无症状;1 级,1 片叶叶脉轻微变黄;2 级,1~2 片叶叶脉轻微至中度变黄;3 级,除心叶外,半数叶片中度变黄或萎焉;4 级,全部叶片重度变黄或萎焉;5 级,全部叶片完全萎焉,甚至植株死亡。

病情指数(DI)=Σ(发病等级×相应级别发病株数)/(调查总株数×最高病级)×100

抗性水平划分:高抗(HR),0≤DI≤10;抗病(R),10<DI≤30;中抗(MR),30<DI≤

病情指数(disease index, DI)=Σ(病级叶数×该病极值)/(调查总叶数×最高病级)×100

抗性水平划分:依据甘蓝材料的叶片病情级别,分别计算出 DI 平均值,进而确定其抗性水平,划分标准参考李锡香(2008)的方法,并稍作改动。高抗(HR),0≤DI≤10;抗病(R),10<DI≤30;中抗(MR),30<DI≤50;感病(S),50<DI≤70;高感(HS),DI>70。

50;感病(S),50<DI≤70;高感(HS),DI>70。

1.3 数据处理

利用 Excel 2007 软件进行试验数据的统计分析。对 2016~2017 年的 2 次鉴定结果进行整合,病情指数为 2 次试验(共 6 个重复)的平均值。

2 结果与分析

2.1 甘蓝自交系材料对黑腐病及枯萎病的抗性鉴定

2.1.1 甘蓝自交系材料对黑腐病的抗性表现 从表 1 可以看出,参试 83 份甘蓝自交系中,2 份材料对黑腐病表现高抗,即 99-192、20-2-5(CK₂),占总数的 2.4%;抗病材料 6 份,即秋德、富士早生、HB34、JS119、ZL66、8020,占总数的 7.2%;中抗材料 18 份,占总数的 21.7%;感病材料 37 份,占总数的 44.6%,高感材料 20 份,占总数的 24.1%。其中,99-192 与 20-2-5 的抗病性最强,表现最好(图 2),平均病情指数仅为 9.9 和 6.7;在抗病材料中,JS119 和 ZL66 为首次筛选获得的早熟、圆球类型抗病甘蓝材料,这 4 份材料可作为甘蓝黑腐病抗源材料在今后的抗病育种中利用。

2.1.2 甘蓝自交系材料对枯萎病的抗性表现 从表 1 可以看出,参试甘蓝自交系中枯萎病抗性材料比例较高,且多为高抗,这是因为参试的部分材料已经过初步田间抗性筛选。其中,高抗枯萎病材

表 1 83 份甘蓝自交系材料对黑腐病和枯萎病的抗性鉴定结果

编号	材料名称	来源	熟性	球形	叶色	黑腐病		枯萎病	
						病情指数	抗性级别	病情指数	抗性级别
KB1	01-16-5 (CK ₁)	加拿大	早	圆	绿	72.2 ± 2.8	HS	78.1 ± 4.2	HS
KB5	引 162	荷兰	早	圆	灰	81.1 ± 1.8	HS	0	HR
KB10	秋德	日本	晚	扁	灰	26.2 ± 8.2	R	0	HR
KB11	富士早生	日本	晚	扁	浅绿	24.5 ± 2.1	R	82.4 ± 2.3	HS
KB12	99-192	日本	晚	扁	深绿	9.9 ± 0.1	HR	0	HR
KB15	奥奇娜	日本	晚	扁	灰绿	62.5 ± 6.2	S	0	HR
KB16	华扁 1	日本	晚	扁	绿	56.6 ± 5.0	S	0	HR
KB23	HB34	日本	晚	扁	灰	26.2 ± 2.2	R	0	HR
KB24	96-109-645	日本	中早	近圆	深绿	48.1 ± 1.4	MR	17.2 ± 1.3	R
KB27	08-754	美国	早	圆	绿	36.4 ± 2.5	MR	57.2 ± 9.4	S
KB29	96-100-919	印度	早	圆	灰绿	65.8 ± 4.3	S	0	HR
KB33	HB1180-716	日本	早	圆	深绿	44.0 ± 0.5	MR	0	HR
KB34	HB1180-723	日本	早	圆	深绿	56.9 ± 1.9	S	0	HR
KB35	BJ1012	荷兰	早	圆	灰	42.9 ± 2.3	MR	12.4 ± 2.6	R
KB36	旺旺 871	日本	早	圆	绿	32.9 ± 4.9	MR	0	HR
KB38	205-786	日本	早	圆	深绿	46.6 ± 3.0	MR	0	HR
KB39	205-792	日本	早	圆	深绿	74.3 ± 2.2	HS	0	HR
KB40	205-799	日本	早	圆	深绿	85.2 ± 2.7	HS	0	HR
KB41	207-801	日本	早	圆	绿	83.8 ± 6.0	HS	0	HR
KB42	207-809	日本	早	圆	绿	41.7 ± 7.1	MR	1.9 ± 0.7	HR
KB44	BJ118	日本	早	圆	绿	82.5 ± 1.2	HS	0	HR
KB46	BJ348	日本	早	圆	绿	63.2 ± 2.1	S	0	HR
KB48	BJ869	日本	早	圆	绿	33.4 ± 5.6	MR	0	HR
KB49	JS119	日本	早	圆	灰	22.4 ± 4.9	R	0	HR
KB50	JS350	日本	早	圆	灰	47.3 ± 4.0	MR	0	HR
KB53	JS885	日本	早	圆	灰	69.2 ± 2.0	S	0	HR
KB54	HN1	日本	中晚	扁	深绿	64.6 ± 5.2	S	0	HR
KB57	1038-1	荷兰	中早	近圆	深绿	47.0 ± 3.1	MR	0	HR
KB58	1038-2	荷兰	中早	近圆	深绿	32.0 ± 3.0	MR	0	HR
KB60	QS9-1	中国	晚	扁	灰	30.7 ± 4.2	MR	90.7 ± 0.7	HS
KB64	ZL66	日本	早	圆	灰	26.9 ± 1.8	R	2.9 ± 0.4	HR
KB65	非洲甜牛心	赞比亚	晚	尖	绿	72.3 ± 0.5	HS	82.7 ± 0.1	HS
KB67	HN011	日本	早	圆	灰	80.8 ± 5.6	HS	0	HR
KB68	HN035	日本	早	圆	灰	44.6 ± 2.0	MR	0	HR
KB69	觉绿	日本	早	圆	深绿	60.5 ± 2.8	S	0	HR
KB71	20-2-5 (CK ₂)	中国	晚	扁圆	灰	6.7 ± 2.5	HR	86.6 ± 0.3	HS
KB72	8020	日本	晚	扁	绿	22.5 ± 6.1	R	72.5 ± 8.2	HS
KB73	21-3	中国	中	扁圆	灰绿	63.0 ± 2.6	S	72.9 ± 5.6	HS
KB75	夏结 229	日本	晚	扁	深绿	58.2 ± 1.9	S	89.5 ± 2.4	HS
KB76	似柳生	日本	晚	扁	深绿	63.3 ± 3.7	S	83.6 ± 5.7	HS
KB77	梦舞台 252	日本	晚	扁	深绿	68.4 ± 3.4	S	26.2 ± 8.2	R
KB78	梦舞台 253	日本	晚	扁	绿	69.4 ± 4.6	S	19.4 ± 2.0	R
KB79	HN1	日本	中晚	扁	深绿	63.9 ± 1.1	S	0	HR
KB80	YF308	日本	中	圆	绿	68.3 ± 2.1	S	0	HR
KB81	YF313	日本	中	圆	绿	65.5 ± 6.8	S	0	HR
KB82	华扁 2	日本	晚	扁	绿	58.7 ± 7.6	S	0	HR
KB83	春蓝	日本	晚	扁	绿	52.4 ± 2.4	S	0	HR
KB84	1039	荷兰	中早	近圆	深绿	43.8 ± 1.6	MR	78.5 ± 3.5	HS
KB86	欧圆 324	荷兰	中	圆	绿	67.5 ± 4.8	S	64.7 ± 2.8	S

(续表)

编号	材料名称	来源	熟性	球形	叶色	黑腐病		枯萎病	
						病情指数	抗性级别	病情指数	抗性级别
KB87	欧圆 326	荷兰	中	圆	绿	57.5 ± 0.4	S	54.3 ± 0.2	S
KB88	LY328	日本	早	圆	绿	69.1 ± 5.7	S	28.5 ± 1.5	R
KB92	HB1186	日本	中早	圆	灰绿	63.7 ± 3.5	S	23.6 ± 2.1	R
KB94	LY857	日本	早	圆	绿	72.0 ± 14.7	HS	12.0 ± 0.7	R
KB95	珍奇 (CK ₃)	日本	中早	近圆	灰绿	65.7 ± 8.9	S	0	HR
KB96	似珍奇	日本	中	圆	灰绿	62.3 ± 4.0	S	0	HR
KB97	96-109-646	日本	中早	近圆	深绿	54.2 ± 0.0	S	24.3 ± 1.6	R
KB98	99-198	韩国	早	圆	灰	58.5 ± 1.3	S	0	HR
KB99	96-100-660	印度	早	圆	灰绿	69.0 ± 2.2	S	0	HR
KB100	CB521	泰国	早	圆	深绿	72.7 ± 8.2	HS	83.7 ± 5.3	HS
KB101	嘉宝	日本	早	圆	深绿	70.4 ± 4.3	HS	0	HR
KB103	旺旺 868	日本	早	圆	绿	55.8 ± 5.3	S	0	HR
KB104	引 650 绿	荷兰	早	圆	绿	59.5 ± 2.1	S	0	HR
KB107	207-812	日本	早	圆	绿	44.1 ± 3.6	MR	0	HR
KB108	207-820	日本	早	圆	绿	62.7 ± 0.9	S	0	HR
KB109	0102-831	日本	早	圆	灰	59.5 ± 0.3	S	18.7 ± 1.2	R
KB110	0102-833	日本	早	圆	灰	49.2 ± 5.5	MR	19.8 ± 1.6	R
KB123	084	丹麦	早	圆	绿	71.2 ± 5.0	HS	41.3 ± 3.5	MR
KB124	02-12	中国	早	尖	灰绿	76.3 ± 4.1	HS	77.6 ± 4.5	HS
KB125	01-20 中	加拿大	早	圆	绿	72.1 ± 0.8	HS	83.3 ± 0.5	HS
KB126	01-88	加拿大	早	圆	浅绿	71.7 ± 0.1	HS	78.6 ± 4.2	HS
KB127	87-534	德国	早	圆	绿	72.8 ± 5.4	HS	76.9 ± 5.5	HS
KB128	雪早	日本	早	圆	绿	73.2 ± 1.4	HS	82.0 ± 5.8	HS
KB129	SG643	丹麦	早	圆	绿	59.4 ± 8.6	S	29.1 ± 1.4	R
KB130	79-156	丹麦	早	圆	浅绿	66.0 ± 6.1	S	76.7 ± 4.4	HS
KB131	绿球	韩国	早	圆	绿	81.2 ± 5.2	HS	21.6 ± 2.2	R
KB132	美早 473	日本	早	圆	绿	65.6 ± 6.6	S	75.7 ± 3.9	HS
KB133	美早 477	日本	早	圆	绿	66.4 ± 1.2	S	76.5 ± 4.3	HS
KB134	HN137	日本	早	圆	深绿	64.3 ± 4.5	S	74.8 ± 7.4	HS
KB135	夏结 226	日本	晚	扁	绿	47.7 ± 3.6	MR	87.1 ± 8.9	HS
KB136	CB516	泰国	早	圆	绿	74.1 ± 8.8	HS	74.5 ± 6.2	HS
KB137	GlobeStar	日本	早	圆	绿	73.6 ± 3.7	HS	78.5 ± 5.9	HS
KB138	HB1180-708	日本	早	圆	深绿	55.4 ± 2.0	S	0	HR
KB139	XW721	日本	早	圆	绿	38.7 ± 7.4	MR	29.0 ± 2.2	R

注: HR—高抗, R—抗病, MR—中抗, S—感病, HS—高感; 下表同。



图 2 部分甘蓝自交系黑腐病抗性表现

从左至右依次为高感材料 205-799、高抗材料 99-192、高感材料 205-799、高抗材料 20-2-5 (CK₂)。

料 43 份, 占总数的 51.8%; 抗病材料 13 份, 占总数的 15.7%; 中抗材料 1 份, 占总数的 1.2%; 感病材料 3 份, 占总数的 3.6%; 高感材料 23 份, 占总数的 27.7%。图 3 为部分甘蓝自交系枯萎病的抗性表现。

2.1.3 双抗材料的筛选 通过对 83 份甘蓝自交系

材料进一步分析可知, 5 份对黑腐病表现高抗或抗病的材料同时对枯萎病表现高抗, 这 5 份甘蓝材料分别为秋德、99-192、HB34、JS119、ZL66, 均是优良的双抗种质资源, 尤其以 99-192 表现最好, 对黑腐病和枯萎病均为高抗。另外, 还有 14 份对黑腐病表现中抗的材料同时对枯萎病表现高抗或抗



图 3 部分甘蓝自交系枯萎病抗性表现

从左至右依次为高感材料 01-16-5 (CK₁)、高抗材料 96-100-919、高抗材料 99-192、高抗材料 HB34、高感材料 01-20 中。

病。这 19 份材料作为双抗种质资源, 不仅可以用于甘蓝育种研究, 还可用于抗性遗传分析和基因挖掘等研究, 其中 ZL66、205-786、JS119、HB1180-716、BJ1012、旺旺 871、BJ869、JS350、HN035、207-809、207-812、0102-833、XW721 为首次筛选出的早熟类型抗性材料。

2.1.4 甘蓝自交系材料的抗性与地理来源及主要农艺性状的关系 对表 1 中不同抗性表现的甘蓝自交系材料的地理来源及主要农艺性状进行分析发现 (图 4、5), 在地理来源方面, 抗黑腐病的 26 份自交系大多数来自日本, 共计 19 份, 占 73.1%; 其次是荷兰, 为 4 份; 其他抗病材料来自中国和美国。在 57 份枯萎病抗病材料中, 有 46 份来自日本, 占 80.7%, 其他抗病材料来自荷兰、印度、韩国、丹麦。

黑腐病抗性与主要农艺性状的关系: 从熟性来看, 具有黑腐病抗性的材料大多为早熟材料, 为 18 份, 晚熟材料为 8 份, 无中熟材料, 但是高抗黑腐病的 99-192 与 20-2-5 (CK₂) 却为晚熟材料, 说明早熟性状中高抗黑腐病的材料较少; 从叶球类型来看, 圆球类型的抗性材料有 19 份, 占圆球型材料总数的 29.7%, 扁球类型的材料有 7 份, 占扁球型材料的 41.2%, 2 份尖球类型材料均高感黑腐

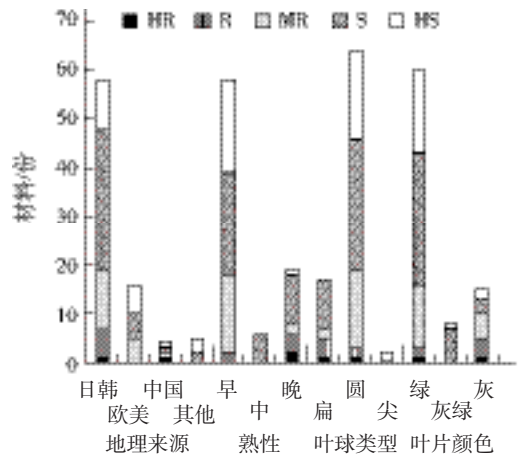


图 4 甘蓝黑腐病抗性与地理来源及主要农艺性状的关系

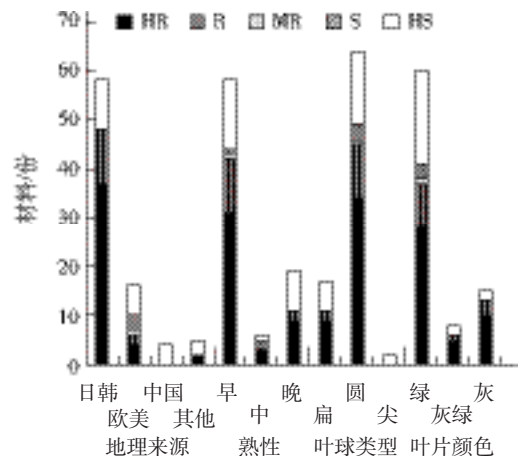


图 5 甘蓝枯萎病抗性与地理来源及主要农艺性状的关系

病；从叶片颜色来看，绿色的抗性材料有 16 份，占绿色材料总数的 26.7%，灰色抗性材料有 10 份，占灰色材料总数的 66.7%，8 份灰绿色材料均感病。

枯萎病抗性与主要农艺性状的关系：从熟性来看，具有枯萎病抗性的早熟材料有 43 份，中熟材料有 3 份，晚熟材料有 11 份，早熟材料居多；从叶球类型来看，64 份圆球类型材料中有 46 份表现抗病，占 71.9%，扁球类型材料中有 11 份表现抗病，占扁球型材料总数的 64.7%，尖球类型材料都不抗枯萎病；从叶片颜色来看，绿色的抗病材料较多，为 38 份，8 份灰绿色材料中有 6 份表现抗病，还有 13 份灰色材料表现抗病，占灰色材料总数的

86.7%。

总体来说，对甘蓝黑腐病与枯萎病有较高抗性的材料大多来自于日本、韩国等国家。从农艺性状来看，高抗或抗黑腐病材料多为晚熟、扁球类型，且抗性材料很少；对枯萎病而言，由于所选材料已经过初步田间抗性鉴定，本次鉴定中枯萎病抗性材料较多，且多为早熟、圆球类型。

2.2 甘蓝杂交组合的抗性及其黑腐病抗性遗传规律初探

从表 2 可以看出，16 份甘蓝杂交组合均对黑腐病表现感病或高感；但大多对枯萎病具有抗性，其中 11 份表现高抗，3 份表现抗病。

表 2 16 份甘蓝杂交组合对黑腐病和枯萎病的抗性表现

编号	杂交组合	亲本材料名称	黑腐病		枯萎病	
			病情指数	抗性级别	病情指数	抗性级别
KB61	KB29 × KB11	96-100-919 × 富士早生	63.4 ± 0.4	S	0	HR
KB62	KB125 × KB11	01-20 中 × 富士早生	58.3 ± 0.3	S	78.7 ± 0.6	HS
KB63	KB127 × KB11	87-534 × 富士早生	71.4 ± 1.0	HS	73.4 ± 0.4	HS
KB66	KB129 × KB127	SG643 × 87-534	58.5 ± 5.7	S	21.6 ± 1.5	R
KB111	KB78 × KB135	梦舞台 253 × 夏结 226	54.0 ± 0.0	S	23.0 ± 0.2	R
KB112	KB95 × KB80	珍奇 × YF308	77.6 ± 5.7	HS	0	HR
KB113	KB95 × KB81	珍奇 × YF313	79.8 ± 6.4	HS	0	HR
KB114	KB95 × KB84	珍奇 × 1039	68.5 ± 1.6	S	0	HR
KB115	KB71 × KB83	20-2-5 × 春蓝	59.4 ± 3.7	S	0	HR
KB116	KB29 × KB97	96-100-919 × 96-109-646	77.4 ± 9.2	HS	0	HR
KB117	KB100 × KB81	CB521 × YF313	70.8 ± 0.7	HS	0	HR
KB118	KB41 × KB80	207-801 × YF308	67.9 ± 0.1	S	0	HR
KB119	KB41 × KB84	207-801 × 1039	67.3 ± 0.9	S	0	HR
KB120	KB81 × KB88	YF313 × LY328	78.7 ± 8.2	HS	0	HR
KB121	KB100 × KB88	CB521 × YF328	75.3 ± 7.9	HS	25.4 ± 0.2	R
KB122	KB80 × KB92	YF308 × HB1186	79.0 ± 7.7	HS	0	HR

在遗传规律方面，由黑腐病抗性材料富士早生、1039、夏结 226、20-2-5 以及感病材料 96-100-919、87-534、01-20 中、珍奇、207-801、梦舞台 253、春蓝配成的杂交种 KB61、KB62、KB63、KB111、KB114、KB115、KB119 对黑腐病均表现高感或感病，初步推断甘蓝黑腐病为隐性遗传，但是否为单基因遗传尚不明确，还有待深入研究。甘蓝枯萎病抗病材料 96-100-919、SG643、梦舞台 253、珍奇、春蓝、YF313 与感病材料富士早生、87-534、夏结 226、1039、20-2-5、CB521 配制的杂交组合 KB61、KB66、KB111、KB114、KB115、KB117 均表现抗病，进一步验证了前人关于甘蓝枯萎病为显性遗传的研究报道 (Walker, 1930; 康俊

根等, 2010; 吕红豪等, 2011)。

3 结论与讨论

国外在甘蓝黑腐病育种工作方面起步较早。在抗源筛选方面，20 世纪 50 年代，Bain (1952) 就利用种子侵染接种法筛选出了富士早生、Hugent 两个对黑腐病有高水平抗性的甘蓝品种。Hunter 等 (1987) 研究发现了苗期与成株期抗性一致的 PI436609，该品种已经成为甘蓝育种上优良的抗源材料。国内黑腐病研究工作起步较晚，在 20 世纪 80~90 年代我国才开展抗黑腐病育种工作，且筛选出的抗病材料多为晚熟材料，几乎没有早熟材料，也未见兼抗黑腐病与枯萎病甘蓝材料的报道

(李树德, 1995)。刘佳等(1988)对110份甘蓝材料进行鉴定后发现8286-1和20-2-5-2两份材料对黑腐病表现高抗。简元才和钉贯靖久(1994)采用离体剪叶法在24份甘蓝材料中筛选出91-306、91-304、91-316等3份抗病材料。张恩慧等(2001)采用苗期室内人工接种结合田间自然诱发鉴定的方法,筛选出甘蓝3种病害(TuMV、黑腐病、CMV)的抗源材料H8501和B8502。目前,国内外育种工作者在黑腐病抗源材料筛选上均取得了一定研究进展,获得了一些优良的抗病材料,但晚熟、扁球类型材料居多,限制了其在育种中的进一步应用(彭锐和雷建军,1998)。为了获得新型抗源材料,国内外学者近年来在不断进行着鉴定筛选工作,Lema等(2012)从256份甘蓝材料中筛选出具有黑腐病抗性的材料Balón和Quintal de Alsacia;张云霞(2014)采用不同的接种方法筛选出了1份稳定高抗黑腐病的甘蓝材料C7;但鉴定筛选工作进展较为缓慢,高抗黑腐病中的早熟、优良甘蓝种质资源仍然较少(张黎黎等,2012)。因此,抗病育种工作仍受到较大限制,目前育成的抗黑腐病的栽培品种也较少。本试验鉴定了99份不同来源的甘蓝材料(包括83份自交系和16份杂交种)的黑腐病和枯萎病抗性,筛选出了一批黑腐病抗性种质,尤其是首次获得了13份优良双抗且早熟的种质资源,不仅丰富了育种材料,也为下一步培育兼抗或高抗、早熟品种提供了种质资源。

目前,苗期人工接种已经广泛地应用于植物的抗病性鉴定,其优点在于试验周期短、速度快,节省大量人力物力,且环境条件容易控制(崔瑞峰,2004)。苗期喷雾法接种和浸根法接种对于鉴定甘蓝黑腐病和枯萎病来说技术体系较为成熟(龚静等,2001;田仁鹏等,2009),方法简便、快速,能较好地反映不同品种间的抗性水平。本试验采用苗期喷雾法和浸根法对99份甘蓝材料进行黑腐病及枯萎病的抗性鉴定,鉴定结果表明不同材料对两者的抗性表现不尽相同,各材料之间也存在着显著的差异。同时,本试验探讨了自交系抗性与其地理来源和主要农艺性状的关系,发现目前国外的抗性材料较多,尤其是日本,但是在早熟材料中高抗或抗黑腐病的材料仍然较少。在今后的研究中可利用鉴定出的抗病种质作为抗源材料,结合常规育种、

单倍体育种、分子辅助选择等育种方法,培育出农艺性状优良的抗病甘蓝新品种。此外,本试验还初步分析了甘蓝黑腐病的抗性遗传规律,根据抗、感杂交组合及亲本的抗性表现,初步判断甘蓝黑腐病为隐性遗传,支持Dickson和Hunter(1987)、王晓武(1992)等的观点;也初步佐证了甘蓝枯萎病为显性遗传的报道(Walker,1930;康俊根等,2010;吕红豪等,2011)。然而,甘蓝黑腐病的遗传规律较为复杂,为探明黑腐病抗性的遗传规律和抗性机制,还需开展更加系统和深入的工作。

参考文献

- 崔瑞峰. 2004. 甘蓝黑腐病苗期抗病性鉴定研究[硕士论文]. 晋中: 山西农业大学.
- 方智远. 2008. 甘蓝栽培技术. 北京: 金盾出版社: 1-7.
- 方智远. 2017. 中国蔬菜育种学. 北京: 中国农业出版社: 542-547.
- 耿丽华, 迟胜起, 焦晓辉, 康俊根, 田仁鹏. 2009. 北京延庆县甘蓝枯萎病病原菌的分离及其生物学特性的研究. 中国蔬菜, (2): 34-37.
- 龚静, 朱玉英, 吴晓光. 2001. 甘蓝黑腐病抗性材料筛选及接种方法的研究. 上海农业科技, (4): 87.
- 黄德芬, 李成琼, 司军, 任雪松, 宋洪元. 2011. 甘蓝黑腐病生理小种划分及其抗病性鉴定研究进展. 中国蔬菜, (18): 6-10.
- 简元才, 钉贯靖久. 1994. 甘蓝黑腐病抗病性材料的鉴定及筛选. 农业新技术, (3): 29-30.
- 康俊根, 田仁鹏, 耿丽华, 陈延阳, 简元才, 丁云花. 2010. 甘蓝抗枯萎病种质资源的筛选及抗性基因分布频率分析. 中国蔬菜, (2): 15-20.
- 李明远. 1997. 注意防治十字花科黑腐病. 蔬菜, (4): 23-24.
- 李明远, 张涛涛, 李兴红, 严红. 2003. 十字花科蔬菜枯萎病及其病原鉴定. 植物保护, 29(6): 44-45.
- 李明远, 马永军, 姚金亮. 2006. 警惕十字花科蔬菜枯萎病在我国蔓延. 中国植保导刊, 26(1): 21-22.
- 李树德. 1995. 中国主要蔬菜抗病育种进展. 北京: 科学出版社: 617-619.
- 李锡香. 2008. 萝卜种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社: 82-83.
- 李永镛, 徐丽波. 1990. 甘蓝黑腐病苗期抗病性鉴定方法的研究. 东北农业大学学报, 21(2): 125-129.
- 吕红豪, 方智远, 杨丽梅, 谢丙炎, 刘玉梅, 庄木, 张扬勇, 杨宇红. 2011. 甘蓝枯萎病抗源材料筛选及抗性遗传研究. 园艺学报, 38(5): 875-885.
- 刘佳, 冯兰香, 蔡少华, 方智远, 孙培田. 1988. 结球甘蓝对TuMV和黑腐病的抗性鉴定. 植物保护, 14(6): 9-11.
- 彭锐, 雷建军. 1998. 甘蓝抗黑腐病研究现状. 西南园艺, (3): 29-32.
- 田仁鹏, 康俊根, 耿丽华, 颀建明, 简元才, 丁云花. 2009. 甘蓝

- 枯萎病抗性鉴定方法研究. 中国农学通报, 25 (4): 39–42.
- 王晓武. 1992. 甘蓝黑腐病抗性遗传分析 [硕士论文]. 北京: 中国农业科学院.
- 杨丽梅, 方智远, 庄木, 张扬勇, 吕红豪, 刘玉梅, 李占省. 2016. “十二五”我国甘蓝遗传育种研究进展. 中国蔬菜, (11): 1–6.
- 杨宇红, 吕红豪, 杨翠荣, 龚慧芝, 杨丽梅, 谢丙炎. 2011. 甘蓝枯萎病苗期抗性鉴定技术及抗源筛选. 植物保护学报, 38 (5): 425–431.
- 张恩慧, 程永安, 许忠民, 王妍妮, 马青山. 2001. 甘蓝3种病害抗源筛选及抗病品种选育研究. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 29 (6): 30–33.
- 张黎黎, 刘玉梅, 田自华, 方智远, 杨丽梅, 庄木, 张扬勇, 李占省, 舒金帅. 2012. 十字花科蔬菜抗黑腐病育种研究进展. 园艺学报, 39 (9): 1727–1738.
- 张扬, 郑建秋, 吴学宏, 师迎春, 谷培云, 李健强. 2007. 北京延庆甘蓝枯萎病发生和危害调查. 中国农学通报, 23 (5): 315–320.
- 张扬, 李金萍, 周慧敏, 李宝聚. 2011. 十字花科蔬菜细菌性黑腐病的发生规律及防治. 中国蔬菜, (17): 23–25.
- 张云霞. 2014. 甘蓝苗期黑腐病抗性鉴定及抗病相关机理的研究 [硕士论文]. 南京: 南京农业大学.
- Alvarez A M. 2000. Black rot of crucifers. The Netherlands: Kluwer Academic: 21–52.
- Bain D C. 1952. Reaction of brassica seedlings to black rot. Phytopathology, 42: 497–500.
- Bain D C. 1955. Resistance of cabbage to black rot. Phytopathology, 45: 35–37.
- Dickson M D, Hunter J E. 1987. Inheritance of resistance in cabbage seedlings to black rot. Hortscience, 22 (1): 108–109.
- Guo H, Dickson M H, Hunter J E. 1991. *Brassica napus* sources of resistance to black rot in crucifers and inheritance of resistance. Hortscience, 26 (12): 1545–1547.
- Hunter J E, Dickson M H, Ludwig J W. 1987. Source of resistance to black rot of cabbage expressed in seedlings and adult plants. Plant Disease, 71 (3): 263–266.
- Jensen B D, Vicente J G, Manandhar H K, Roberts S J. 2010. Occurrence and diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in vegetable *Brassica* fields in Nepal. Plant Dis, 94: 298–305.
- Lema M, Cartea M E, Sotelo T, Velasco P, Soengas P. 2012. Discrimination of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races among strains from northwestern Spain by *Brassica* spp. genotypes and rep-PCR. European Journal of Plant Pathology, 133 (1): 159–169.
- Lv H H, Wang Q B, Yang L M, Fang Z Y, Liu Y M, Zhuang M, Zhang Y Y, Yang Y H, Xie B Y, Wang X W. 2014a. Breeding of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) with Fusarium wilt resistance based on microspore culture and marker-assisted selection. Euphytica, 200 (3): 465–473.
- Lv H H, Fang Z Y, Yang L M, Zhang Y Y, Wang Q B, Liu Y M, Zhuang M, Yang Y H, Xie B Y, Liu B, Kang J G, Wang X W. 2014b. Mapping and analysis of a novel candidate Fusarium wilt resistance gene *FOCI* in brassica oleracea. BMC Genomics, 15 (1): 1094–1103.
- Sherf A F, Macnab A A. 1986. Vegetable disease and their control. 2nd. Canada: John Wiley & Sons Inc: 264–266.
- Smith E F. 1899. The fungous infection of agricultural soils in the United States. Sci Amer Sup, 48: 19981–19982.
- Vicente J G, Taylor J D, Sharpe A G, Parkin I A, Lydiate D J, King G J. 2002. Inheritance of race-specific resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in *Brassica* genomes. Phytopathology, 92 (10): 1134–1141.
- Vicente J G, Holub E B. 2013. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. Molecular Plant Pathology, 14 (1): 2–18.
- Walker J C. 1930. Inheritance of *Fusarium* resistance in Cabbage. Journal of Agricultural Research, 40 (1): 721–745.
- Williams P H, Staub T, Sutton J C. 1972. Inheritance of resistance in cabbage to black rot. Phytopathology, 62: 247–252.
- Williams P H. 1980. Black rot: a continuing threat to world crucifers. Plant Disease, 64 (8): 736–742.

Identification and Screening of Cabbage Accessions with Resistance both to Black Rot and Fusarium Wilt

KONG Cong-cong, LIU Xing, XING Miao-miao, YANG Li-mei, ZHUANG Mu, ZHANG Yang-yong, WANG Yong, FANG Zhi-yuan*, LYU Hong-hao*

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China)

Abstract: By spraying and root-dipping methods, this study carried out identification of resistance to black rot and Fusarium wilt on 99 cabbage accessions from domestic and overseas, including 83 inbred lines and 16 hybrid combinations. In total, 26 accessions showed resistance to black rot, of which ‘99-192’ and ‘20-2-5’ with high resistance ($DI < 10$); 54 accessions with high resistance to Fusarium wilt, including ‘Yin162’,

黄瓜果刺大小遗传分析

狄胜强 李 豪 栾倩倩 王丽娜 李 强 任仲海*

(山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东果蔬优质高效生产协同创新中心, 农业部黄淮地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018)

摘 要: 以大果刺黄瓜自交系 CNS5 和小果刺黄瓜自交系 RNS4 为亲本, 构建 P₁、F₁、P₂、B₁、B₂ 和 F₂ 6 世代群体, 利用主基因 + 多基因混合遗传模型多世代联合分析法, 对连续两季的黄瓜果刺大小的表型值 (基座直径) 进行遗传分析, 以探究黄瓜果刺大小性状的遗传规律。结果表明, 黄瓜果刺大小的遗传符合 C-0 模型, 即加性 - 显性 - 上位性多基因混合遗传模型。多基因加性和显性效应均为正向, 基因上位性效应累计为正向。2016 ~ 2017 年连续两季 F₂ 群体中多基因遗传率分别是 79.21% 和 71.25%, 相对较高, 环境效应分别为 20.79% 和 28.75%, 影响较小。在基因定位策略上, 选择高代回交群体效果会更好。

关键词: 黄瓜; 果刺大小; 主基因; 多基因; 遗传分析

黄瓜刺瘤密度及大小决定了黄瓜果实的光滑程度。黄瓜刺瘤由果刺和果瘤两种结构组成, 而果刺又包括上部单细胞针状刺和下部多细胞球状基座 (Yang et al., 2014)。多细胞基座决定果刺大小, 当基座小到一定程度时, 果刺即成为小且柔软的毛刺, 这时黄瓜果实也表现为光滑的外观性状。目前

对黄瓜刺瘤的研究主要集中在刺瘤的有无及密度方面 (杨双娟等, 2011; Li et al., 2015; Pan et al., 2015; Zhang et al., 2016; Xie et al., 2018), 虽然已有对小刺基因定位的报道 (杜辉, 2008), 但是果刺大小的遗传规律仍不清楚。

曹辰兴和郭红芸 (1999) 报道了无刺黄瓜自然突变体 (*glabrous 1*, *gl1*), 该突变体地上部均无毛, 叶片有光泽。接着, 曹辰兴等 (2001) 对无刺基因 (*gl1*) 与果瘤基因 (*Tu-tu*) 的关系进行了初步探索, 发现果刺和果瘤基因互作可产生有瘤有刺、无瘤有刺、无瘤无刺 3 种黄瓜类型, 表明 *gl1* 对果瘤基因存在隐性上位作用。果瘤基因 *Tu* 编码 1 个 C₂H₂ 型锌指蛋白, 通过促进 CTK (细胞分

狄胜强, 男, 硕士研究生, 专业方向: 蔬菜分子遗传学, E-mail: dishengqiang@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author): 任仲海, 男, 教授, 博士生导师, 专业方向: 蔬菜分子遗传学, E-mail: zhren@sdau.edu.cn

收稿日期: 2018-01-22; 接受日期: 2018-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31222048, 31401894, 31501781), 山东省泰山学者建设工程项目, 山东省“双一流”专项建设基金项目

‘Aoqina’ and ‘96-100-919’ (DI < 10). Among them, 5 accessions with high resistance or resistance to black rot+high resistance to Fusarium wilt. They were ‘Qiude’, ‘99-192’, ‘HB34’, ‘JS119’ and ‘ZL66’. ‘JS119’ and ‘ZL66’ were of early-maturity and round ball type. This study also conducted further analysis on the geographical origin and major agronomic traits of these resistant materials. The results showed that accessions highly resistant to Fusarium wilt out of 83 inbred lines were mostly originated from Japan and Korea and of early-maturity and round ball type. While, accessions highly resistant to black rot were mostly of late maturity and spheroidicity. Among early maturing material, there were few accessions with stronger resistance to black rot. Genetic analysis on 16 hybrid combinations made up by different resistance showed that black rot and Fusarium wilt resistance was accorded with recessive and dominant inheritance, respectively.

Key words: Cabbage; Black rot; Fusarium wilt; Material with multi-resistance; Agronomic traits