

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2016.01.010

4 个不同地区十字花科根肿病菌生理小种鉴定及甘蓝新组合的抗性鉴定^①

陈 静, 任雪松, 宋洪元,
李成琼, 袁天成, 司 军

西南大学 园艺园林学院/重庆市蔬菜学重点实验室/南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆 400716

摘要: 采用 Willimas 鉴别系统对采自重庆市涪陵区、四川省成都市新都区、云南省昆明市嵩明县、四川省攀枝花市盐边县的 4 份根肿病菌菌样进行生理小种鉴定, 结果表明: 4 个地区生理小种分别为 4 号, 11 号, 7 号, 7 号. 利用田间自然鉴定法在 4 号为优势小种的重庆市涪陵区发病区对 79 个甘蓝新组合进行了抗性鉴定, 其中表现高抗、抗病、耐病和感病的分别有 8, 20, 20, 31 个. 从中选择 8 个具有抗性且经济性状较优良的组合进行室内接种鉴定, 结果表明: 甘蓝新组合 GZ04, GZ09, GZ40, GZ76 和 GZ80 为耐病杂种组合, GZ03, GZ19 和 GZ78 为抗病杂种组合, 其中 GZ78 表现为高抗.

关 键 词: 生理小种; 根肿病菌; 抗性鉴定; 甘蓝新组合

中图分类号: S6

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2016)01-0067-06

十字花科根肿病是由专性寄生菌芸薹根肿菌(*Plasmodiophora brassicae* Woron.) 侵染引起的一种毁灭性土传病害^[1-2]. 根肿病菌原菌在土壤中可存活 8 年以上, 一旦土壤受到根肿病菌侵害, 就不宜再种十字花科作物^[3]. 该病在我国大部分地区都有分布, 尤其是近年来在我国西南地区、长江中上游地区、东北地区以及山东地区等地迅速蔓延, 危害极大, 造成减产甚至绝收, 严重制约着我国十字花科蔬菜及油料作物产业的发展^[4]. 在诸多防御措施中, 选育和种植抗根肿病品种是防治十字花科蔬菜根肿病最经济有效的方法^[5]. 然而, 根肿病菌生理小种地区差异和快速分化, 严重制约着抗根肿病的育种进程.

1931, HONIG^[6] 首次证实根肿病菌存在生理小种分化; TOXOPEUS^[7], AYERS^[8], WILLIAMS^[9], LAMMERINK^[10] 等人相继对根肿病菌的生理小种分化进行了相关研究. 目前国际上通用的根肿病菌生理小种鉴别系统有 2 个, 分别是 Williams 鉴别系统和欧洲根肿病菌鉴别寄主(ECD)系统. ECD 鉴别体系共有 15 个鉴别品种, 鉴别寄主太多, 很难在国内大量获得种子, 且进行大量菌株的鉴定条件难以有效控制, 而 Williams 鉴别系统是据被侵染的 4 种十字花科植物品种的反应类型制定了一个根肿病菌小种鉴别系统. 按照 4 个寄主的排列组合, 有 16 个小种, 因具有鉴别寄主少、使用方便、不需要分离单孢等优点被广泛应用和推广.

我国沈阳群^[11]、丁云华^[12]、谭翀^[13]、季海文^[14] 等人对四川、重庆、云南 11 个主要发病区域的根肿病

① 收稿日期: 2014-10-19

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD02B01); 重庆市农作物良种创新工程[CSTC2012GG(80005)]; 中央高校基本科研业务费资助项目(XDJK2014C181, XDJK2014C179, XDJK2014A015).

作者简介: 陈 静(1989-), 女, 河南信阳人, 硕士研究生, 主要从事蔬菜遗传育种与生物技术研究.

通信作者: 司 军, 副研究员.

菌生理小种进行了鉴定, 鉴定出 2,4,7,10 号生理小种. 但目前对四川省成都市新都区、云南省昆明市嵩明县、四川省攀枝花市、重庆市涪陵区等地的生理小种并没有进行准确的鉴定. 本试验采用 Williams 鉴别系统对重庆市涪陵区、四川省成都市新都区、云南省昆明市嵩明县、四川省攀枝花市盐边县 4 个不同地区进行了生理小种鉴定, 并在重庆市涪陵区采样地对 79 个甘蓝新组合进行了初步鉴定, 为进一步选育抗根肿病品种奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料

供试菌样 4 份, 分别是采自重庆市涪陵区、成都市新都区、昆明市嵩明县、攀枝花市盐边县根肿病高发区的十字花科作物大白菜、甘蓝的肿根. 清水洗净后, 密封保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待用.

Williams(1966)鉴别系统^[9]的 4 个鉴别寄主(2 个结球甘蓝 JerseyQueen 和 Badgershipper, 2 个芜菁甘蓝 Laurentian 和 Wilhelmsburger); 79 份甘蓝新组合和感病对照 GZ01(京丰一号)、抗病对照 GZ87(先甘 336)均由西南大学十字花科蔬菜研究所提供.

1.2 方法

1.2.1 菌土接种法

从感染根肿病的组织中分离休眠孢子并制成孢子悬浮液, 利用纽鲍尔血球计数板计数, 配制成浓度为 2×10^8 个/mL 的母液. 将孢子悬浮液与灭菌土(干土)按 2×10^8 /g 充分混合, 使用时将菌土分装到苗钵中. 提前 1 d 将待测植物的种子置于带有湿润滤纸的培养皿中, 于 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右催芽, 挑选胚根突破种皮的种子播在菌土中.

1.2.2 病情调查

接种 50 d 后开始调查病情指数, 对甘蓝苗期根肿病室内分级标准^[15]稍作改进(图 1).

0 级: 根系生长正常、无肿瘤;

1 级: 根系主根不发病, 部分侧根或须根上有较小肿瘤;

2 级: 根系主根发病较轻, 轻微膨大, 部分侧根或须根有肿瘤; 或者主根不发病、较多侧根或须根有明显肿瘤;

3 级: 根系主根发病较重, 异常膨大、龟裂, 有明显侧根或须根;

4 级: 根系几无侧根或须根, 主根异常膨大、龟裂或者腐烂.

$$\text{病情指数}(DI) = \left[\sum (\text{各级病株数} \times \text{相应级值}) / (\text{调查总株数} \times \text{发病级别最高代表值}) \right] \times 100$$

甘蓝根肿病群体抗性分级标准(国家“九五”甘蓝育种攻关项目组制定)^[16]为: ① 免疫(I). 病情指数=0, 高抗(HR) $0 < \text{病情指数} \leq 5$; ② 抗病(R). $5 < \text{病情指数} \leq 20$; ③ 耐病(T). $20 < \text{病情指数} \leq 30$; ④ 感病(S). 病情指数 > 30 .

1.2.3 4 个不同地区根肿病菌生理小种鉴定

在重庆市蔬菜学重点实验室人工气候室进行生理小种鉴定. 根据 Williams(1966)根肿病菌生理小种鉴别寄主抗、感病反应, 确定病原菌的生理小种类型.

1.2.4 甘蓝新组合田间抗病性鉴定

在重庆市涪陵区根肿病高发区对甘蓝新组合及亲本材料进行田间鉴定. 以 GZ01 为感病对照, GZ87 为抗病对照. 6 月下旬苗床小拱棚育苗. 8 月上旬幼苗 6 叶 1 心时进行大田移栽, 随机区组排列, 每小区 30 株, 按 $40\text{ cm} \times 50\text{ cm}$ 密度栽植, 3 次重复, 正常田间管理, 11 月上旬调查. 对各单株进行根肿病症状分级, 统计根肿病发病率, 计算病情指数.

1.2.5 田间抗性组合室内鉴定

为了提高鉴定结果的客观性与准确性, 从田间自然鉴定初步筛选 8 个抗病性高且经济性状较优良的组合进行室内接种鉴定. 接种处理和方法同前. 每个处理 20 株, 3 次重复. 接种 50 d 后调查各品种的发病情况.

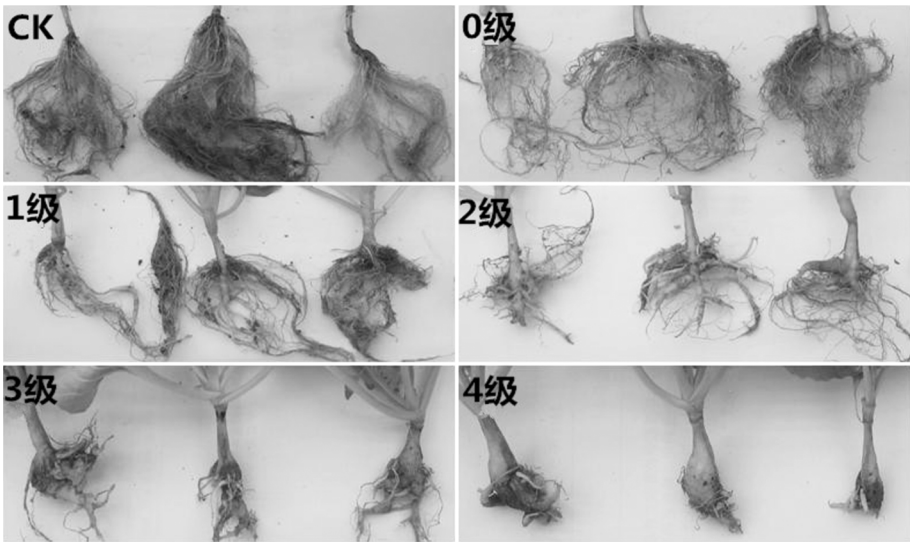


图 1 甘蓝根肿病室内单株分级标准

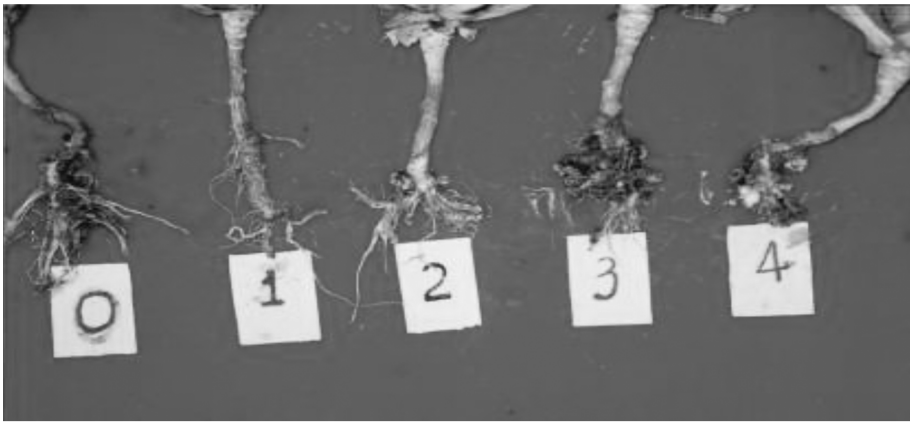


图 2 甘蓝根肿病田间单株分级标准

2 结果与分析

2.1 不同地区根肿菌生理小种鉴定结果

对重庆市涪陵区、四川省成都市新都区、云南省昆明市嵩明县、四川省攀枝花市盐边县 4 个地区的根肿病菌样品进行了鉴定,结果显示:共被鉴定为 3 个生理小种,分别为 4 号,11 号,7 号(表 1)。

表 1 不同地区根肿菌生理小种鉴定结果

菌株来源	鉴别寄主反应				生理小种
	Jersey Queen	Badgershipper	Laurentian	Wilhelmsburger	
涪陵区	+	+	+	+	4
新都区	—	+	+	+	11
嵩明县	+	+	—	—	7
盐边县	+	+	—	—	7

注: + 代表感病, — 代表抗病。

2.2 甘蓝新组合田间抗病性鉴定

根据 2.1 的试验结果,重庆市涪陵区的根肿病菌为 4 号生理小种,结合前人的研究经验,沈向群等人^[11]和丁云花等人^[12]鉴定的我国的十字花科根肿病菌以 4 号生理小种为主,在重庆市涪陵区对 79 个甘蓝新组合进行了田间自然鉴定.从表 2 中看出,对 4 号生理小种表现高抗、抗病、耐病和感病的品种分别有 8,

20,20,31 种, 分别占供试材料的 10.1%,25.3%,25.3%和 39.2%.

表 2 甘蓝新组合对 4 号生理小种的田间抗病性鉴定结果

品种	病情指数	抗病性	品种	病情指数	抗病性	品种	病情指数	抗病性
GZ01(ck)	22.1	T	GZ28	38.3	S	GZ55	33.2	S
GZ02	20.6	T	GZ29	39.5	S	GZ56	25.8	T
GZ03	10.9	R	GZ30	48.4	S	GZ57	34.6	S
GZ04	25.0	T	GZ31	27.8	T	GZ58	47.0	S
GZ05	23.0	T	GZ32	60.6	S	GZ59	42.0	S
GZ06	12.6	R	GZ33	51.6	S	GZ60	44.9	S
GZ07	19.2	R	GZ34	40.0	S	GZ61	48.3	S
GZ08	23.7	T	GZ35	36.6	S	GZ62	64.9	S
GZ09	6.8	R	GZ36	36.2	S	GZ63	11.2	T
GZ10	11.2	R	GZ37	27.0	T	GZ64	3.2	HR
GZ11	18.0	R	GZ38	36.4	S	GZ65	2.7	HR
GZ12	12.0	R	GZ39	31.8	S	GZ66	6.5	R
GZ13	13.0	R	GZ40	29.9	T	GZ67	3.6	HR
GZ14	35.5	S	GZ41	33.1	S	GZ68	5.4	R
GZ15	20.1	T	GZ42	27.8	T	GZ69	2.2	HR
GZ16	24.9	T	GZ43	25.2	T	GZ70	10.3	R
GZ17	29.2	T	GZ44	21.0	T	GZ71	14.7	R
GZ18	31.3	S	GZ45	22.2	T	GZ72	16.3	R
GZ19	23.2	T	GZ46	34.2	S	GZ73	5.9	R
GZ20	39.8	S	GZ47	33.8	S	GZ74	7.1	R
GZ21	52.9	S	GZ48	26.8	T	GZ75	6.8	R
GZ22	54.2	S	GZ49	27.9	T	GZ76	1.5	HR
GZ23	37.8	S	GZ50	16.3	R	GZ77	11.3	R
GZ24	53.1	S	GZ51	19.7	R	GZ78	3.8	HR
GZ25	45.5	S	GZ52	23.0	T	GZ79	5.0	HR
GZ26	27.1	T	GZ53	35.3	S	GZ80	4.7	HR
GZ27	52.8	S	GZ54	47.2	S	GZ87(ck)	0.0	I

注: I 为免疫(病情指数=0); HR 为高抗(0<病情指数≤5); R 为抗病(5<病情指数≤20); T 为耐病(20<病情指数≤30); S 为感病(病情指数>30).

2.3 田间抗性品种的室内鉴定

通过田间自然鉴定, 初步筛选得到 8 个抗病效果好且经济性状较优良的组合进行室内接种鉴定(表 3), 以田间表现感病的 GZ62 作为感病对照, GZ87 作为抗病对照; 结果表明, GZ87 个别单株轻微发病, 但仍然表现极高的抗性. 田间鉴定感病的 GZ62 仍呈现最高的根肿病侵染率, 但病情指数明显降低. GZ03,GZ04, GZ09,GZ19,GZ40,GZ76,GZ78 和 GZ80 表现较好的抗病和耐病.

表 3 部分甘蓝新组合对 4 号生理小种的室内抗抗病性鉴定结果

品种	病情指数	抗性类型	病情变化	品种	病情指数	抗性类型	病情变化
GZ87(ck)	3.5	HR	↑	GZ40	23.9	T	↓
GZ03	19.1	R	↑	GZ76	29.2	T	↑
GZ04	20.6	T	↓	GZ78	16.0	R	↑
GZ09	29.5	T	↑	GZ80	23.5	T	↑
GZ19	19.7	R	↓	GZ62(ck)	48.3	S	↓

注: ↑表示病情指数升高, ↓表示病情指数降低(与田间试验比较).

3 结论与讨论

采用 Williams 方法对采自 4 个不同地区的根肿病菌进行了生理小种鉴定, 首次明确了重庆市涪陵区、四川省成都市新都区、云南省昆明市嵩明县、四川省攀枝花市盐边县十字花科蔬菜的致病生理小种, 为研究者有目的地选育抗根肿病品种提供理论依据。

试验表明不同地区根肿病菌生理小种有所差异. 重庆市涪陵区根肿病菌为 4 号生理小种, 这与丁云花等人^[12]和沈向群等人^[11]的研究结果相吻合. 同时 4 号生理小种对鉴别寄主表现更强的致病力, 这可能与生理小种差异致病力不同有关, 也可能是复合小种, 还有待进一步论证。

结合育种的实际需求和市场上抗根肿病品种的大量涌现, 本试验选用国内主要的 4 号生理小种为接种材料. 对西南大学十字花科蔬菜研究所提供的 79 份甘蓝新组合, 进行了抗性鉴定, 通过室内外结合的方法, 发现 GZ78 最高的根肿病抗性, GZ04, GZ09, GZ40, GZ76 和 GZ80 为耐病杂种组合, GZ03, GZ19 和 GZ78 为抗病杂种组合, 为培育具有地区特征性的抗性品种奠定了基础。

在十字花科作物抗根肿病育种中, 生理小种的差异和迅速分化, 严重制约着抗根肿病的育种进程, 单抗 1 种生理小种的品种也难以满足生产的需要, 不同地区菌源筛选抗性品种尤为重要, 为选育具有广谱抗性的十字花科作物新品种提供理论基础. 室内和田间接种鉴定存在差异性, 这也与黄小莉等人^[17]对湖南白菜品种抗性鉴定结果一致. 田间鉴定接近根肿病发生的适宜自然条件, 鉴定结果可最大程度地反映生产实际情况, 但该方法易受气候、其他有害生物等的影响, 且菌源分布不均会导致鉴定结果有一定偏差. 温室人工接种鉴定易于管理、出苗整齐、成活率高, 但温、湿、光等因素较难控制. 因此, 将室内与室外鉴定相结合, 才能够提高鉴定结果的客观性和可靠性。

参考文献:

[1] CRUTE I R, GRAY A R, CRISP P, et al. Variation in *Plasmodiophora brassicae* and Resistance to Clubroot Disease in Brassicas and Allied Crops—a Critical Review [J]. Plant Breed, 1980, 50: 91—104.

[2] HIRAI M. Genetic Analysis of Clubroot Resistance in Brassica Crops [J]. Breed Sci, 2006, 56(3): 223—229.

[3] 李金萍, 朱玉芹, 李宝聚, 等. 十字花科蔬菜根肿病的传播途径 [J]. 中国蔬菜, 2010(5): 21—22.

[4] 孙保亚, 沈向群, 郭海风, 等. 大白菜抗根肿病遗传规律初探 [J]. 中国蔬菜, 2005(6): 15—17.

[5] 杨玉珠, 符明联, 李根泽, 等. 不同油菜品种对根肿病的抗性分析 [J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(4): 443—447.

[6] HONIG F. Der Kohlkopferreger (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) Eine Monographie [M]. Garetenbauwissenschaft, 1931: 116—225.

[7] TOXOPEUS H, JANSEN AMP. Clubroot Resistance in Turnip II. The ‘slurry’ Screening Method and Clubroot Races in the Netherlands [J]. Euphytica, 1975, 24: 751—755.

[8] AYERS G W, LELACHEUR KE. Genetics of Resistance in Rutabaga to Races of *Plasmodiophora brassicae* [J]. Plant Sci, 1972, 52: 897—900.

[9] WILLIAMS P H. A System for the Determination of Races of *Plasmodiophora brassicae* That Infect Cabbage and Rutabaga [J]. Phytopathology, 1966, 56: 624—626.

[10] LAMMERINK J. Pathologic Specialisation of *Plasmodiophora brassicae* Wor [J]. NZ J Agric Res, 1964, 7: 37—41.

[11] 沈向群, 聂凯, 吴 琼, 等. 大白菜根肿病主要生理小种群分化鉴定初报 [J]. 中国蔬菜, 2009(8): 59—62.

[12] 丁云花, 简元才. 十字花科蔬菜根肿病菌生理小种及接种方法 [J]. 中国蔬菜, 2005(8): 29—31.

[13] 谭 翀, 岳艳玲. 不同大白菜品种对根肿病的抗性鉴定 [J]. 中国蔬菜, 2013(8): 91—94.

[14] 季海雯, 任 莉, 陈坤荣, 等. 油菜根肿病病原主要生理小种和品种抗病性鉴定 [J]. 中国油料作物学报, 2013, 35(3): 301—306.

- [15] 司 军, 李成琼, 肖崇刚, 等. 甘蓝根肿病抗性遗传规律的研究 [J]. 园艺学报, 2003, 30(6): 658—662.
- [16] 司 军, 李成琼, 肖崇刚, 等. 甘蓝根肿病接种方法的研究 [J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2003(3): 216—219.
- [17] 黄小莉, 任佐华, 彭沙沙. 湖南白菜品种根肿病抗性鉴定及评价 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2014, 40(1): 43—47.

Identification of Races of *Plasmodiophora brassicae* from Four Different Regions and Resistance Identification of New Cabbage Cross Combinations

CHEN Jing, REN Xue-song, SONG Hong-yuan,
LI Cheng-qiong, YUAN Tian-cheng, SI Jun

School of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University; Chongqing Key Laboratory of Olericulture;
Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing 400715, China

Abstract: Williams identification system was used to identify the races of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) in four different regions (Fuling District of Chongqing, Xindu District of Chengdu in Sichuan, Songming County of Kunming in Yunnan and Yanbian County of Panzhihua in Sichuan). The races were identified to be NO. 4, NO. 11, NO. 7 and NO. 7, respectively. Then natural identification method in the field was applied and race No. 4, which was the dominant race of clubroot in Fuling, was used to test the resistance of 79 cabbage cross combinations. Eight combinations were shown to be highly resistant to the disease, 20 were resistant, 20 were tolerant and 31 were susceptible. In addition, 8 excellent cross combinations with good economic traits and resistance were inoculated with race No. 4 in the laboratory. The result showed that GZ04, GZ09, GZ40, GZ76 and GZ80 were tolerant, GZ03 and GZ19 were resistant, and GZ78 was highly resistant to clubroot.

Key words: race; *Plasmodiophora brassicae*; resistance identification; hybrid

责任编辑 潘春燕

