

# 大白菜对芜菁花叶病毒—TuMV的抗病性

## 鉴定和筛选方法研究

黑龙江省农业科学院园艺研究所

刘栩平 刘元凯

### 摘要

在玻璃温室鉴定大白菜抗TuMV的育种材料的抗病性及筛选其抗病后代,人工接种时的恰当苗令是2—3片真叶期。接种用的大白菜病叶汁液浓度不得少于1/8。白天温度以25°—30℃为最好,在过低的温度下,大白菜的固有抗病性得不到应有的发挥;在过高的温度下,病毒的侵染和增殖的潜在能力得不到充分的表达,故发病情况不是偏高就是偏低。温室的光照强度不得低于10,000 LX,光照时间不得短于8小时。春季的日照率在60%以上,从接种到症状得到充分表现需要18天;夏季的日照率在40%左右时则需要22天。对大白菜做一次接种后,未发病的单株经过剥叶处理后再接种,比较简便地使抗病性鉴定的结果达到准确的程度和提高筛得的抗病材料的纯度。

### 前言

我国大白菜病毒病的主要毒原是TuMV<sup>[1-6,8-11]</sup>。关于大白菜对TuMV的抗病性鉴定和筛选方法提法不同,Williams认为接种后的气温应保持20—25℃,2周后降到15℃<sup>[16]</sup>;providenti则认为有时需要25—30℃,要靠经验摸索<sup>[16]</sup>。关于接种时的适宜苗令,有的学

者认为是2—3片真叶期<sup>[16]</sup>,有的认为是3—4片真叶期<sup>[3]</sup>或4—5片真叶期<sup>[2]</sup>。Pound报导光照时间愈长,TuMV在小白菜体内的增殖速度愈快<sup>[15]</sup>。但是不同的光照强度及季节的差别对大白菜病毒病的症状表现程度则未见报导。鉴于一次接种不可能使所有能感病的单株全部发病,若待第一次接种发病后再补接未发病单株,又因苗令过大不易显示症状,所以有些育种工作者就在第一次摩擦接种后3—4天再全部重复摩擦接种一次<sup>[16]</sup>,增加了筛选工作的负担。为使抗病育种工作快速可靠地取得成果应用于生产,本文报导对上述问题的研究和讨论。

### 材料和方法

毒原,取自哈尔滨郊区的大白菜,经抗血清、电镜、鉴定寄主和物理属性鉴定为芜菁花叶病毒的一个分离物,将其接种在大白菜上,15天后采下病叶磨碎,加0.05 M磷酸缓冲液3—4倍(浓度试验除外),用金钢砂摩擦接种。大白菜品种为较感病的胶二叶。试验是在防虫和空调温度的玻璃温室中进行。除温度试验以外,均按大白菜苗期生长的自然条件调节温度,白天上午为28—30℃,下午为25—22℃,夜间20—16℃。苗令和病毒浓度试验用口径10厘米的花盆,其他试验均用20厘米口径的

花盆装消毒土播种。除不同苗令接种试验以外,其他试验都在2片真叶期接种。苗令和病毒浓度试验的每个处理10盆,重复一次;其他试验的每个处理6盆,重复三次。都以无毒摩擦做对照。晴天上午保持土壤含水率70—80%,按0—9分级标准调查病情。剥叶试验是在苗令14—15片叶的

时候进行剥叶处理,分别留下不同叶数,并以不剥叶做对照,次日接种。

## 结 果

1. 不同苗令接种与病害程度的关系:表1表明,接种时苗令越小,接种后

1 表 不同苗令接种与病害程度的关系\*

接种时叶片数*	播种期 (月、日)	接种后天数的病情指数**				生长情况		对照株重(g)
		8天	12天	18天	24天	叶幅(cm)	株重(g)	
子叶期	3.20	9.3	51.0	66.7	80.4	21.3	15.0	30.7
1	3.16	9.0	55.5	74.3	79.2	28.6	32.6	65.1
3	3.12	9.3	38.9	76.0	85.2	30.2	39.8	77.1
5	3.8	8.9	27.5	70.9	73.2	34.1	63.2	88.6
7	3.4	1.9	14.2	55.3	80.3	38.0	78.0	110.9
9	3.2	0.6	15.7	50.7	79.7	42.3	97.9	126.1

\*与此同时处理的有2、4、6、8片真叶的苗令其结果介于本表序列之间,故予省略。各种苗令都在3月29日接种。

\*\*凡病情指数达到66.7以上者发病率都达100%,故省略后者。

病情发展速度越快。分别在子叶期1、3、5、7、9片真叶期接种,在接种后12天,病情指数依次为51.0、55.5、38.9、27.5、14.2、15.7。在接种后18天,5片叶以下的苗令期接种的发病率都达到100%,病情指数都在66.7以上,大白菜的感病性得到了充分表现。再从大白菜的叶幅和平均单株重量看,它与接种时的苗令成正相关,就经济利用需要严格控制温度的培养室面积而言,当以子叶期到3真片叶期接种为佳。但另一试验表明,光照少于8,000 LX时,子叶期和1片真叶期接种者,容易在症状未能充分表现以前死亡,因此以2

—3片真叶期接种为最佳。

2. 毒原浓度与病害程度的关系:2表表明,接种用的病毒浓度越低,大白菜达到充分发病所需要的时间越长,病情指数也越低。就接种后18天的结果而言,病叶汁液稀释到1/2浓度的病情指数为45.6,1/4浓度为34.4,1/8浓度为42.2,1/16浓度为26.7,1/32为18.9,1/64为12.2,1/128为14.4,1/256为7.8,1/500为4.4,1/1,000为3.3。1/2,000的到41天时为3.7。因此接种用的病毒浓度,以把适令病株的榨取液稀释成1/2—1/8浓度为适宜。

2表 病叶汁液的不同稀释浓度接种与病害程度的关系

稀释 浓度	接种*后天数的病情指数							
	11天	13天	15天	18天	20天	22天	24天	41天
1/2	12.2	28.8	41.1	45.6	45.6	58.0	67.8	—
1/4	12.2	21.1	27.8	34.4	41.1	52.2	65.5	—
1/8	10.0	24.4	36.6	42.2	51.1	60.0	71.1	—
1/16	5.5	10.0	22.2	26.7	33.3	37.8	48.9	—
1/32	3.3	11.1	18.9	18.9	23.3	27.8	30.0	—
1/64	2.2	3.3	10.0	12.2	21.1	23.3	30.0	—
1/128	3.7	8.8	17.8	14.4	16.7	23.3	32.2	—
1/256	0	1.1	7.7	7.8	10.0	10.0	14.4	—
1/500	0	1.1	4.4	4.4	8.8	8.8	13.3	—
1/1,000	0	1.1	3.3	3.3	5.5	5.5	5.50	—
1/2,000	0	0	0	0	0	0	0	3.7
1/3,000	0	0	0	0	0	0	0	2.8

\* 3月15日接种

## 3. 温度与病害程度的关系:

表明大白菜生长的温度越高,接种后的病

(1) 从播种到14片真叶期,白天气温  
分别恒定在20℃、25℃、30℃和35℃,结果

情发展速度越快。以接种后10天为例,在  
20℃条件下生长的大白菜的病情指数为0,

3表 大白菜生长气温与病害程度的关系

室内气 温**	接种后天数的病情指数						株重 (g)	对照 株重 (g)
	8天	10天	12天	14天	18天	22天		
20℃	0	0	5.5	21.1	54.3	69.4	19.1	33.3
25℃	4.4	11.1	31.1	46.6	68.9	68.9	20.6	35.4
30℃	6.6	30.0	37.7	58.0	67.9	75.3	25.5	41.6
35℃	11.1	48.8	62.2*	57.7	46.6	48.8	43.6	63.6

\* 8片真叶期 \*\*夜间,均随自然温度渐降到16℃

25℃下为11.1, 30℃下为30.0, 35℃下  
为48.8, 这与温度在适当范围内上升增强  
了病毒的侵染力有关<sup>[7]</sup>, 在这4种不同温  
度条件下, 大白菜都能达到充分发病的程  
度, 只不过所需日期的长短不同而已, 以  
达到病情指数60以上为例, 在20℃条件

下, 是在接种22天, 25℃和30℃下均为18  
天, 35℃下为12天。值得注意的是, 在高  
温条件下, 虽然病情发展快, 但发展到一  
定程度以后, 又会自然隐症。本试验表  
明, 在35℃条件下, 在接种后12天, 白菜  
进入团棵期以后, 病情指数反而逐渐降

低。这种现象曾多次遇到, 因此认为抗病性鉴定或筛选应该在25—30℃气温下进行, 观察期不得少于接种后18天。

(2) 与上述试验进行的同时, 从大白

菜播种到2片真叶期间, 分别培养在20℃、25℃、30℃、35℃气温下、接种时都置于25℃条件下, 直至试验结束。从4表看出, 当大白菜接种前处于20—30℃气温范围内

4表 接种前气温与病害程度的关系

接种前的培养温度	接种后的培养温度	接种后天数的病情指数						株重 (g)	对照株重 (g)
		8天	10天	12天	14天	18天	22天		
20℃	25℃	4.4	21.1	33.3	55.5	73.3	75.5	19.5	38.5
25℃	25℃	2.5	12.3	28.4	48.1	70.4	75.3	24.1	40.0
30℃	25℃	1.3	8.6	33.3	58.0	72.8	77.7	29.1	44.0
35℃	25℃	7.7	22.2	38.8	63.9	77.8	80.5	31.4	45.6

培养时, 在接种后10天内, 病害的发展程度与温度成反相关。接种前在20℃下培养的病情指数为21.1, 25℃下为12.3, 30℃下为8.6。恰与3表的结果相反。这说明大白菜苗期在20℃的较低温度下不能充分发挥其固有的抗病性。接种前在35℃下培养, 接种后在25℃下培养的比始终在25℃下培养的(见3表), 在接种后10天内的病情指数几乎增加1倍, 说明大白菜在35℃下降低了抗病性。

上述两组试验都表明, 大白菜在35℃下的生长量仍处于优势阶段, 而抗病性与生长速度并不完全一致。

4. 光照与病害程度的关系: 在哈尔滨, 春季的自然光照强度低于夏季, 但春季的日照率达60%以上, 夏季只有40%左右, 所以整个试验期间温室内的平均光照强度, 春季比夏季还强23—25% (本试验温室的玻璃斜面与地面的夹角为29度)。

从5表看出, 春季不遮光处理的光照强度

5表 光照强度与病害程度的关系

试验季节	光照处理	光照*强度 (万Lx)	光照时数	温度℃	接种后天数及病情指数					比对照株重减少 %
					8天	12天	18天	22天	33天	
春季 (3—4月)	用竹帘半遮光	1.0	8	30	2.2	33.3	64.4	75.5	—	59.6
	不遮光	2.1	8	30	5.5	38.2	67.9	75.3	—	38.7
	不遮光	2.1	8	25	3.3	32.2	54.4	66.6	—	41.8
夏季 (6—7月)	用竹帘半遮光	0.8	8	30	6.0	23.2	36.7	34.4	44.4	23.9
	不遮光	1.7	8	30	11.1	22.2	40.7	43.1	55.6	37.1
	不遮光	1.7	16	30	28.9	44.4	51.1	64.4	75.6	36.2

\* 为试验期间各日平均光照强度 (每日7.30'、10.30'、13.30'、15.30'测值)

为21,000LX, 半遮光的为10,000LX, 前者的发病速度快于后者, 接种后8天的病情

数依次为5.5和2.2, 到接种后18天病情指数依次为67.9和64.4, 大白菜固有的感病

性或抗病性都得到了比较充分的表现。夏季不遮光的平均光照强度为17,000LX,遮光的只有8,000LX,每日都给光照8小时(与春季相等),在接种后8天的病情指数依次为11.1和6.0,接种后18天为40.7和36.7。就接种后8天的病情指数而言,夏季高于春季,因为夏季哪次试验在接种后的一周内恰是连日晴天,往后便多有阴雨天,到接种后22天光照时数和温度与春季相同的处理,夏季的病情指数只有春季的45.6—57.2%。在不遮光的条件下,夏季的光照时间长,可以对光照强度不足起到

一部份弥补作用,但充分显症的时间仍比春季延长4天。

5. 剥叶接种法: 在苗令为14—15片叶的时候进行剥叶处理,分别留下不同叶片数,并以不剥叶的做对照。第一批试验在4月份进行,第二批试验在8月份进行。不剥叶的对照在第一批试验中始终不发病;在第二批试验时光照条件比较充足,最终发病率也只有33.3%,病情指数为18.5。剥叶处理的,发病速度、发病率和病情指数都与所留叶片数成反相关。在光照和其他条件都很好的情况下,接种后

6表 大白菜剥叶接种后的发病情况

每株保留 叶片数	第一批接种后*						第二批接种后			
	12天		14天		18天		12天		18天	
	发病率%	病情指数	发病率%	病情指数	发病率%	病情指数	发病率%	病情指数	发病率%	病情指数
2	71.4	17.5	100.0	33.3	100.0	36.5	100.0	52.4	100.0	71.4
4	57.1	12.7	71.4	20.6	71.4	19.0	100.0	36.5	100.0	55.6
6	0	0	42.9	4.8	71.4	7.9	100.0	16.7	100.0	33.3
8	0	0	0	0	0	0	71.4	7.9	85.7	23.8
10	0	0	0	0	0	0	33.3	3.7	83.3	20.4
16 (不剥叶,对照)	0	0	0	0	0	0	0	0	33.3	18.5

\* 接种后连阴4天,发病不够充分12天的病情指数:留2片叶的为52.4,留4片叶的为36.5,留6片叶的为16.7,留8片叶的为7.9,10片叶的为3.7,不剥叶的未显病症,到接种后18天,留4片叶以下的病情指数达55.6以上,留6片叶以上的在33.3以下。在光照条件较差的情况下,在接种后18天,留2片叶的病情指数为36.5,留4片叶的为19.0,留6片叶的为7.9,留8片叶以上的均不发病。因此,当白菜苗令较大,而要重新验证无症植株的抗病性时,把外叶剥去,只留2片心叶,进行重复接种,

可以获得圆满的结果。

## 结论和讨论

本研究结果,在接种用的病毒浓度方面与前人的结果一致;阐述了苗令与其他条件的关系,统一了前人对接种苗令的不同提法;讨论了不同温度与毒原和寄主的相互关系,使以前不太肯定的培养温度得到了明确;初次阐明了光照强度和季节差别对病症表现的影响;找到了在大苗令的

大白菜上接种成功的方法。

1. 前人对接种的适宜苗龄的意见不同, 问题在于没有把环境对苗龄的影响联系起来。本研究从病情指数和植株生长量两个方面证实了接种时的适宜苗龄是2—3片真叶期。苗龄小于2片叶, 在短日照的冬季和多雨寡照的夏季容易在接种后病症未能充分表达前死亡。苗龄大于3片叶, 观察周期长, 占地面积大, 达不到快速而经济的目的。

2. 研究表明, 从大白菜播种到鉴定结束的全过程培养温度, 在20—35℃梯度范围内, 病害的发展速度与温度成正相关, 这与病毒的侵染力在一定温度范围内与温度成正比相关<sup>[7,13]</sup>。大白菜在接种前, 在20℃的较低温度下培养, 抗病性得不到充分发挥; 在35℃下培养, 抗病性下降。故本研究得出的适宜温度(25—30℃)恰把毒原和寄主的最佳生态因素统一起来了。斗争的双方都处于各自的最佳条件下, 斗争的胜负才是真实的。至于在35℃条件下, 接种12天以后, 病症逐渐隐退的原因, 与病毒增殖速度下降<sup>[12]</sup>白菜生长速度仍在加快的矛盾相关。

3. 夏季晴天的光照强度虽高于春季, 但日照率比春季减少1/3左右, 故平

均光照强度比春季减少19.05%, 白菜的感病性需要在接种后22天才能充分表现出来。夏季, 为了简便、经济的降低玻璃温室温度, 常常用半遮光的方法, 室内的平均光照强度只有8.000LX, 大白菜比较充分地表现病症的日期就更长。因此, 在夏季半遮光的条件下, 应当避免在接种后10天内遇上阴雨天, 或完全撤去遮光帘。

4. 把第一次接种后未发病或症状很轻的单株剥去外叶, 只留2片心叶, 进行再接种, 12天后的发病率就达100%, 病情指数达52.4; 即算在接种后遇上几个寡照日, 到接种后14天的发病率也达100%, 病情指数达33.3。以应用中的一批为例: 入筛组合28个, 共443株, 第一次接种后31天, 仍有113株无症, 剥叶再接种后只剩15株无症, 无症单株减少了86.7%。有一个原属感病的材料, 经过如此一代两次筛选就从中获得了高抗株系。因此说剥叶接种法可以使对育种亲本的抗病性鉴定达到比较准确的程度。使筛得材料的抗病性可靠。假若不是一代两次筛, 后代的抗病性真中有假, 对大白菜这样一种异交作物筛选多代也不一定能获得可靠的抗病材料。

## 参 考 文 献

1. 凌立、杨演, 1939. 油菜毒素病, 金陵学报9 (1, 2) —293—304。

2. 范怀忠、柯冲, 1957. 广州及其附近十字花科蔬菜花叶病毒的鉴定, 植物病理学报3 (2); 155—168。

3. 裘维蕃、王祈楷, 1957. 中国白菜的一种病毒病—孤丁, 植物病理学报3 (1) —25—34。

4. 魏景超、沈淑琳, 1958. 华东地

区油菜和十字花科花叶病毒的初步研究, 植物病理学报4 (2) —94—112。

5. 柯冲、范怀忠, 1962. 广州十字花科蔬菜花叶病第三类病原病毒的鉴定, 植物保护学报1 (1) —83—84。

6. 裘维蕃、梁训生, 1963. 津京大白菜孤丁病毒原的类型及其分布, 植物病理学报6 (2) —169—178。

7. 裘维蕃, 1964. 植物病毒学, 农

业出版社。

8. 李德葆、周家炽, 1964. 萝卜花叶的病毒类群和复合病侵染的研究初报, 植物保护学报3 (2) —155—164。

9. 沈淑琳、濮祖芹, 1965. 江苏省油菜上两个芜菁花叶病毒株系的初步研究, 植物保护学报4 (1) —35—43。

10. 西北农学植保系、西安农科所, 1976. 西安地区十字花科蔬菜病毒株的鉴定, 微生物学报16 (2) : 136—141。

11. 徐来升等, 1983. 芜菁花叶病毒——崇明大白菜分离株的鉴定, 植物病理学报13 (2) —21—28。

12. 刘翔平、刘元凯, 1985. TuMV在心叶烟上的症状与苗令和环境的 关系 (未发表)。

13. Liu, S.C.Y. & Silberschmidt, K.M. 1961. Heat-induced susceptibility of tobacco to *Trapaecolum*

mosaic virus. *Phytopathology*, 51(6)—413—415。

14. Pound, G.S. & Walker, J.C. 1945. Differentiation of certain crucifer viruses by the use of temperature and host immunity reaction. *Jour. Agr. Res.* 71—255—278。

15. Pound, G.S. & Garces-Orejuela, C. 1959. Effect of photoperiod on the multiplication of turnip mosaic virus in rape. *Phytopath.*, 49 (1) —16—17。

16. Williams, H. & Provvidenti, R. 1980. 关于蔬菜对病毒病的抗病性讲演 (北京)。

17. Yoshii, H. 1963. On the strain distribution of turnip mosaic virus. 植保学报(日)28(40)—221—227。

※

※

※

※

(上接第25页)

## 九、高尾

从巨峰实生苗中选出, 由于染色体比一般四倍体品种少一个 ( $2n=75$ ), 因此, 种子数极少, 可算作无核品种, 树势与巨峰相近, 但抗寒性稍差, 成熟期略早于巨峰。果穗多带有副穗, 呈圆锥形。最大果穗重可达500克, 果穗呈园形, 单粒重4~5克。借助赤霉素和修剪提高品质和防止落粒。在日本单穗重控制在350克左右, 亩产控制在2,000斤左右。

## 十、红后

巨鲸、巨峰, 树势比巨峰弱, 与巨峰大致同时成熟。落花落果习性也较重, 叶片稍大, 背面几乎没有茸毛。果粒近园形, 单粒重12~13克左右, 呈鲜艳的紫红色, 风味良好, 易裂果, 注意采取防止裂果措施。在日本要求亩产控制在2,500斤以内, 单穗重300~350克左右。

(袁青石)