

大白菜软腐病苗期抗性鉴定方法的研究

臧 威, 崔崇士, 张耀伟

(东北农业大学园艺学院 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:主要研究了大白菜的苗龄、接种方法、接种体浓度对接种软腐病菌的影响。采用 $L_9(3^4)$ 有重复正交设计试验得出大白菜软腐病苗期接种鉴定的适宜条件是: 苗龄 6~8 片真叶; 接种方法为横切、纵切各 4 mm(毫米); 接种体浓度为 10^7 个/ml。利用该鉴定方法对黑龙江省 44 份大白菜资源进行苗期抗病筛选, 得出抗病材料 1 份, 中抗材料 12 份。

关键词:大白菜; 软腐病; 苗期; 抗性鉴定

中图分类号:S436.341.1⁺3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2003)03-0057-02

大白菜软腐病又称水烂、烂疙瘩。全国各地都有发生, 为大白菜包心后期的三大病害之一。以前曾与霜霉病和病毒病一道称为白菜的三大病害。在北方地区个别年份可造成大白菜减产 50% 以上, 个别地区可造成白菜全部绝产; 在窖内, 可引起全窖腐烂, 损失极大。此外, 在运输和销售过程中, 都可发生腐烂^[1]。

总之, 大白菜软腐病的危害已引起了人们的高度重视。虽然通过改进栽培技术和使用药剂防治可以收到一定的效果, 但易造成污染, 不能从根本上解决问题, 因此只有培育抗病品种, 增强大白菜对病害的抵抗能力, 才是最有效的办法, 同时也减少了农药的使用量, 为发展无公害蔬菜奠定基础^[2]。而这一切工作的前提就是筛选出大白菜软腐病苗期抗性鉴定方法。

本试验主要从大白菜的苗龄、接种方法和接种体浓度 3 个方面研究大白菜苗期接种软腐病菌的最佳方法, 为筛选和培育抗软腐病的大白菜新品种打下基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试菌株: Ecc。

供试品种: 韩国感病品种金芥紫白菜。

1.2 试验方法

1.2.1 大白菜育苗 育苗工作在封闭完好的防虫玻璃温室内进行。使用经过高温灭菌的营养土及 8 cm×8 cm(厘米)的营养钵育苗。种子充实、饱满、发芽势一致, 每钵一粒种子, 覆土厚度 0.8 cm~1.0 cm(厘米), 每个处理 12 株, 3 次重复。

1.2.2 病菌悬浮液的配制 在苗期抗性鉴定前 2 d(天), 用接种环蘸取无菌水中的病原菌后, 在普通肉汁胨培养基上划线, 于 28℃ 恒温培养箱中培养 24 h(小时), 然后用无菌水洗下病原菌, 采用混浊度计数法依次配制浓度为 10^7 、 10^8 及 10^9 个/ml 的菌悬液, 待接种鉴定用。

1.2.3 抗性鉴定方法 抗性鉴定方法采用离体接种。

本试验采用 $L_9(3^4)$ 设计, 3 个因素, 每个因素 3 个水平, 详见表 1。

本试验准备在 28℃ 光照培养箱内进行, 光照培养箱内设定为 12 h(小时)光照, 光照强度为 9 000 Lx(勒克斯)。每个处理 12 株, 3 次重复。用移液管或枪或注射器吸取 0.01 ml(毫升)菌悬液注入伤口进行接种, 接种后保湿 2 d(天), 5 d(天)后调查, 记载发病情况, 选用 $L_9(3^4)$ 正交表, 第 3 列为误差

差列, 实施方案见表 2。

表 1 大白菜软腐病苗期抗性鉴定试验因素与水平

水平	1	2	3
因素			
A(接种方法)	横切 2 mm	横、纵切各 2 mm	横、纵切各 4 mm
B(苗龄)	4 叶期	6 叶期	8 叶期
C(浓度)	10^7 个/ml	10^8 个/ml	10^9 个/ml

表 2 大白菜软腐病苗期抗性鉴定实施方案

列号	1	2	3
试验号			
1	1(横切 2mm)	1(4 叶期)	1(10^7)
2	1(横切 2mm)	2(6 叶期)	2(10^8)
3	1(横切 2mm)	3(8 叶期)	3(10^9)
4	2(横、纵切各 2mm)	1(4 叶期)	3(10^9)
5	2(横、纵切各 2mm)	2(6 叶期)	1(10^7)
6	2(横、纵切各 2mm)	3(8 叶期)	2(10^8)
7	3(横、纵切各 4mm)	1(4 叶期)	2(10^8)
8	3(横、纵切各 4mm)	2(6 叶期)	3(10^9)
9	3(横、纵切各 4mm)	3(8 叶期)	1(10^7)

1.2.4 病情指数分级标准 0 级: 接种点无感染病症。1 级: 病斑刚开始形成, 呈水浸状。3 级: 病斑已产生而长度小于 1 cm(厘米)。5 级: 病斑长度大于 1 cm(厘米)而小于 2 cm(厘米)。7 级: 病斑长度大于 2 cm(厘米)。9 级: 叶柄大部或全部腐烂。

1.2.5 确定最佳接种浓度 分别将供试菌株的混合菌配制成 5 个不同浓度梯度即 10^7 个/ml、 10^8 个/ml、 10^9 个/ml、 10^{10} 个/ml 及 10^{11} 个/ml 的菌悬液, 利用筛选出的苗期人工接种方法接种 4 个抗感上较有代表性的大白菜品种(用代号 1、2、3、4 表示), 确定最佳接种浓度。

2 结果与分析

2.1 大白菜软腐病抗性鉴定方法

从方差分析来看, A、C 两个因素的 F 值分别为 6.38、14.22, 均大于 $F_{0.01}=6.01$, 达到极显著水平; B 因素的 F 值为 4.71, 大于 $F_{0.05}=3.55$, 达到显著水平, 说明各水平间存在显著差异或极显著差异, 应该进行各因素的新复极差测验。

由于互作效应干扰, 主效不准确, 不能进行方差分析。但从表 3 可以看出: A、B、C 3 个因素的各水平间差异显著并且呈现这样的趋势即: 3 个因素的第 3 个水平均优于第 1、2 个水平。

收稿日期: 2003-01-20

表3 大白菜软腐病病情指数方差分析

变因	df	ss	Ms	F	F0.05	F0.01
重复	2	19.37	9.69	<1	3.55	6.01
A	2	2658.88	1329.44	6.38 **		
B	2	1960.19	980.10	4.71 *		
C	2	5919.15	2959.58	14.22 **		
误差	18	3747.19	208.18			
总变异	26					

表4 不同组间新复极差测验

试验号	处理组合	病情指数累加值	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
8	A ₃ B ₂ C ₃	230.43	a	A
3	A ₁ B ₃ C ₃	222.06	b	A
7	A ₃ B ₁ C ₂	220.83	b	A
6	A ₂ B ₃ C ₂	195.95	c	B
2	A ₁ B ₂ C ₂	120.58	d	C
5	A ₂ B ₂ C ₁	115.94	d	C
9	A ₃ B ₃ C ₁	114.40	d	C
4	A ₂ B ₁ C ₃	98.18	e	D
1	A ₁ B ₁ C ₁	25.37	f	E

从表4中可知,9个处理组合中以第8个处理最好,三次病情指数累积可达230.43,与第3、7组合差异显著,与其余几个组合差异极显著,它代表的各因素水平为:接种方法为横切、纵切各4mm(毫米),苗龄为6~8片真叶;接种体浓度为 10^7 个/ml。

表5 大白菜品种与软腐病菌浓度梯度分析

品种	浓度平均病情指数				
	10^7	10^8	10^9	10^{10}	10^{11}
1	77.87	87.21	89.43	90.03	97.38
2	65.09	74.48	77.10	80.97	89.56
3	47.91	64.89	68.42	70.62	80.19
4	33.09	48.29	50.23	54.73	70.43

从表5中可知, 10^7 个/ml浓度接种4个品种后,品种依次表现为HS、S、MR、R,真实反映了4个品种的抗感差异;而其余4个浓度未能区分开4个品种的抗感差异,所以菌浓度 10^7 个/ml为最佳接种浓度。

2.2 大白菜品种资源抗性鉴定

表6 44份大白菜种质资源的抗感反映类型

材料代号	病情指数	抗性等级	材料代号	病情指数	抗性等级
1	40.50	MR	28	64.46	S
2	34.89	MR	29	63.02	S
3	36.47	MR	30	88.36	HS
4	76.48	S	31	74.22	S
5	68.39	S	32	41.82	MR
6	26.16	R	33	42.86	MR
7	75.67	S	35	73.98	S
9	69.22	S	36	61.57	S
10	57.95	S	37	71.00	S
11	39.00	MR	38	73.67	S
12	57.14	S	39	52.50	MR
13	55.56	S	40	34.23	MR
14	40.29	MR	41	92.76	HS
16	58.00	S	43	65.81	S
17	64.65	S	44	40.83	MR
19	59.40	S	46	59.40	S
20	80.82	HS	47	34.03	MR
22	64.55	S	48	58.49	S
23	60.12	S	49	62.40	S
24	54.37	MR	50	68.31	S
25	62.55	S	51	76.83	S
26	70.70	S	52	77.75	S

在这44份材料中,高感材料3份,感病材料28份,占绝大多数,中抗材料12份,抗病材料1份。感病材料的居多,也是黑龙江省软腐病发病较重的一个原因,所以,合理进行品种布局是减轻该病发生的一个可行方法。感病品种的大多数均抗病毒病与霜霉病中的1种或2种,但对软腐病却表现为感病,这就要求大白菜在抗病育种中应进行多抗育种。

3 讨论

本试验采用了正交设计,使试验的组合数由 $3^3=27$ 个减少为9个,虽然试验次数减少,但保证了为试验提供丰富的信息,对浓度、苗龄和接种方法3个因素同时进行考察,在各个因素处于变动的情况下,获得了一套满意的结果,解决了农业试验生产季节性强,时间紧,在遇到多因素、多水平的情况下,采用全面试验法较困难的问题。

3.1 首先接种体的菌悬液浓度是一个至关重要的因素

张凤兰^[3]在进行针刺接种时用 5×10^7 个/ml。张光明^[4]、菊本敏雄^[5]、Jianping Ren^[6,7]用 10^8 个/ml。本试验认为 10^7 个/ml是最佳浓度。菌悬液浓度过大,致使发病较快且重,高抗品种在高浓度下会成为中抗,掩盖了品种本身的真实抗性;如果浓度过小,则病害潜育期长,受周围环境影响过大,而中抗品种在低浓度下会显示高抗,反映的准确性受到限制。同时,高感品种和抗病品种在低浓度下随接种时间的延长抗性差异减少,最终成为相同级别品种,使品种的真实抗性表现不明显,给育种工作带来困难。

3.2 其次,苗龄也是影响病害发生的一个重要因素

山东张光明、王翠花^[4]均认为植株4~8片真叶期为适宜的接种苗龄。土尾行天^[8]认为就发病率来看,6叶期重于3叶期。本试验研究发现,不同苗龄对材料的鉴定结果存在明显的差异。苗龄过大,发病重,浪费空间;4叶期接种,发病不充分,拖长鉴定时间,给鉴定工作带来困难。本试验鉴定结果表明,6~8叶期发病适度,能正确反映出品种的抗性。还应注意的一点是,要想使鉴定结果准确,培育壮苗也是不可缺少的。

3.3 接种方法是影响软腐病发生的一个重要条件

本试验认为横切、纵切4mm(毫米)是最佳接种方法。这样做使大白菜叶柄维管束被切断,病斑沿着叶柄发展,加快加重病害的发生。

同时,由于病原菌对湿度的要求特别严格,相对湿度在90%以上时侵染率才大大提高^[9,10],所以,在抗性鉴定试验中,空气相对湿度自始至终应保持在90%以上,这样才能保证发病迅速、完全。

3.4 抗源材料的筛选是抗病育种工作的基础

国内的研究已取得一定的进展,而东北农业大学在这方面的的工作也初见成效。除了利用现有的品种外,还应引进带有抗病基因的材料,进行分子标记与转基因,合理筛选和利用,培育出高抗品种。

参考文献

- [1] 张满良. 农业植物病理学[M]. 世界图书出版公司, 1997: 365.
- [2] 李柱刚. 大白菜黑斑病病原菌鉴别寄主筛选及致病型划分的研究[J]. 1999, 5.
- [3] 张凤兰. 白菜对软腐病的室内抗性鉴定方法及抗源筛选[J]. 蔬菜, 1992(1): 20转22.
- [4] 张光明, 王翠花. 大白菜抗软腐病接种鉴定方法的初步研究[J]. 山东农业科学, 1995(5): 39~40.
- [5] 菊本敏雄. 白菜软腐病的品种抗病性[J]. 植物检疫, 1978, 32(5): 21~26.
- [6] Jianping Ren, Michael H. Dickson and Rixana Petzoldt. Screening and identification of resistance to *Erwinia carotovora* in *Brassica rapa* crops [J]. *Cruciferae newsletter*, 1995, 17: 86~87.
- [7] Jianping Ren, Michael H. Dickson and Rixana Petzoldt. Improving the level of resistance to soft rot *Erwinia carotovora* by recurrent selection in *Brassica rapa* [J]. *Cruciferae newsletter*, 1996, 18(2).
- [8] 土尾行天. 白菜软腐病抗病性的早期鉴定[J]. 日本植物的病理学报, 1973, 39(3): 233.
- [9] T. J. Burr and M. N. Schroth. Occurrence of soft rot *Erwinia* spp in soil and plant material [J]. *Phytopatho*, 1977, 67: 1382~1387.
- [10] Dye, D. W. A taxonomic study of the genus *Erwinia* 11 the "carotovora" group [J]. *N. Z. J. Sci*, 1969, 12: 81~97.