

菜心炭疽病苗期抗病性鉴定技术^{*}

张 华¹ 周而勋² 刘自珠¹ 杨 媚² 沈应杆¹

(1 广州市蔬菜科学研究所, 广州, 510315; 2 华南农业大学资源环境学院)

摘要 试验采用人工喷雾接种方法, 通过对接种体浓度、保湿时间和苗龄试验, 摸索出了一套适合于菜心炭疽病苗期抗病性鉴定的方法, 即在气温为 23~32℃ 范围内, 用 $6 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个/L 的分生孢子悬浮液于 3~4 片叶期接种, 保湿 24~48 h, 7 d 后调查病情, 可明显地区分出菜心品种对炭疽病的抗病性差异。

关键词 菜心; 炭疽病; 抗病性鉴定

中图分类号 S 436.3

菜心(*Brassica parachinensis* Bailey)是十字花科芸薹属中以花薹为产品的一类蔬菜, 又名广东菜薹、菜花等。炭疽病(*Colletotrichum higginsianum* Sacc.)是菜心生长过程中的主要病害之一, 广东地区高温高湿的气候条件特别适宜该病的发生, 每年 4~9 月该病发生比较普遍, 既影响菜心的外观及品质, 又造成减产, 严重者损失可达 30%~40%。十字花科蔬菜炭疽病, 国内外除了调查报道和病原菌的鉴定外, 均极少研究。众所周知, 蔬菜抗病育种是高产稳产的保证, 也是当前蔬菜生产上急需解决的问题。进行抗病育种首先要解决精确、可靠、快速、简便的抗病性鉴定方法, 菜心抗炭疽病鉴定技术的研究, 虽然可借鉴国内外在黄瓜(谢双大等, 1988; Littrell et al, 1965)、辣椒(卢鉴植等, 1992)和菜豆(菜豆种质资源主要性状鉴定子专题组, 1992)等作物上所做的一些工作, 但毕竟不能完全适应菜心抗炭疽病育种的需要, 故作者对菜心炭疽病苗期抗病性鉴定技术进行了研究。

1 材料与方法

1.1 菌种的分离和培养

供试菌种先后从广州地区的石井、冼村、龙洞及广州市蔬菜研究所等地的菜心炭疽病病叶上分离获得。经过人工接种试验, 证明各菌株的致病力基本一致后, 采用市蔬菜研究所的菌株供试验用。菌种的培养采用马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基, 培养温度为 25℃。用新鲜培养产生的分生孢子制备悬浮液供接种用。

1.2 鉴定材料的准备

本研究以目前生产上田间表现较为抗病的四九—19 菜心和较易感病的油青四九菜心作抗、感材料进行各项试验。试验采用 3 次重复(1 盆为 1 次重复)。将供试材料播于装有育苗土的塑料盆内, 每处理每品种播种 3 盆, 接种时每盆保留 10 株苗。

1.3 接种体浓度试验

接种体浓度试验共进行 2 次, 接种菜心苗龄均为 3~4 片叶期。第 1 次采用 7 种浓度, 即悬

浮液含孢子数分别为： 2×10^6 、 6×10^6 、 1×10^7 、 1.5×10^7 、 2×10^7 、 2.5×10^7 和 3×10^7 个/L，在温度为 23~28℃，保湿 48 h 条件下进行。

第 2 次是在第 1 次试验结果的基础上采用 5 种浓度即悬浮液含孢子数分别为： 2×10^6 、 4×10^6 、 6×10^6 、 8×10^6 和 1×10^7 个/L，在温度为 26~30℃，保湿 24 h 条件下进行。

1.4 苗龄试验

设置 5 种苗龄，即子叶期，1~2 片叶期，3~4 片叶期，5~6 片叶期和 7 片叶期。用含孢子 6×10^6 个/L 的悬浮液接种，在温度为 24~27℃，保湿 36 h 条件下进行。

1.5 保湿时间试验

设置 5 种处理，即接种后不保湿以及保湿 12、24、36 和 48 h。接种时孢子悬浮液浓度为 8×10^6 个/L，苗龄为 3~4 叶，在温度为 27~32℃条件下进行。

1.6 接种方法

上述各项试验均采用喷雾法用小型手持喷雾器将孢子悬浮液喷洒到植株上，以叶片正反面充分湿润为宜。接种后立即用塑料薄膜罩住，同时在放置育苗盆的槽内灌水密封保湿。

1.7 病情调查与分级标准

接种后逐日观察发病情况，7 d 后调查发病程度。发病程度以叶片为单位，按 6 级的分级标准调查。0 级：无症状(级值为 0)；I 级：叶片上只有少数几个病斑(级值为 1)；II 级：病斑面积占叶面积的 10% 以下(级值为 3)；III 级：病斑面积占叶面积的 10%~25%(级值为 5)；IV 级：病斑面积占叶面积的 25%~50%(级值为 7)；V 级：病斑面积占叶面积的 50% 以上(级值为 9)。

首先根据各处理的发病情况计算病情指数，然后根据病情指数将供试品种的抗病性分为 6 级：免疫，无症状；高抗，病指小于 10.0；抗，病指 10.1~35.0；中抗，病指 35.1~55.0；感病，病指 55.1~75.0；高感，病指为 75.1~100.0。试验数据进行方差分析，先计算单株的病情指数(x)，将其转换为 $\sin^{-1}\sqrt{x}$ ，然后采用 t 测验对 2 个供试品种的抗病性进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 接种体浓度对品种抗病性表现的影响

试验结果见表 1。从表 1 可看出，供试品种病情的轻重与接种体浓度呈正相关。在第 1 次接种试验的 7 个接种体浓度中，当孢子浓度达到 2.5×10^7 个/L 以上时，2 个品种的发病程度都非常严重，大部分叶片已枯死，两者差异不大，未作调查。从其余浓度处理调查结果(表 1)来看，当孢子浓度为 1.5×10^7 个/L 和 2×10^7 个/L 时，由于浓度太高，使得抗病品种(四九—19)的病情指数接近于感病品种(油青四九)的病情指数，经 t 测验两者之间的差异不显著，未能很好地把两者的抗病性区分开来；而当孢子浓度为 6×10^6 个/L 以下时，由于浓度较低，使

表 1 接种体浓度对菜心品种病情指数的影响¹⁾

品种	接种体浓度/(个·L ⁻¹)									
	第 1 次接种					第 2 次接种				
	2×10 ⁶	6×10 ⁶	1×10 ⁷	1.5×10 ⁷	2×10 ⁷	2×10 ⁶	4×10 ⁶	6×10 ⁶	8×10 ⁶	1×10 ⁷
四九—19	8.06A	12.99a	29.69A	54.06a	63.27a	23.64A	35.25A	33.17A	52.47A	51.60A
油青四九	13.47B	19.38b	57.70B	51.71a	70.22a	38.51B	50.52B	62.00B	61.18B	65.43B

1) 本表同列数据采用 t 测验进行差异显著性分析，数字后大写英文字母不同者表示差异极显著，小写英文字母不同者表示差异显著，英文字母相同者表示差异不显著。

得感病品种的病情指数接近于抗病品种,在统计上虽达到显著或极显著水准,但两者病情指数的差值不大;只有当孢子浓度为 1×10^7 个/L时,2个供试品种的病情指数差异才最大,达极显著水准,能很好地将两者的抗病性区分开来.所以,当温度为 $23\sim 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,接种体浓度以 1×10^7 个/L为宜.在第2次接种试验中,虽然所有浓度处理的抗病性差异均达极显著水准,但孢子浓度低于 4×10^6 个/L或高于 8×10^6 个/L的处理都不如 6×10^6 个/L的处理的病情指数差异大,能较好地把这2个品种的抗病性区分开来.所以,当温度为 $26\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,接种体浓度以 6×10^6 个/L为宜.

2.2 苗龄对品种抗病性表现的影响

表2结果表明,不同苗龄接种的2个供试品种的抗病性差异均达极显著水准.其中苗龄小,接种后发病轻,随着寄主苗龄的增长,接种后发病程度逐渐加重,即苗龄越小(子叶期除外),抗性越强,苗龄越大,抗性越弱.这与田间表现出的苗期炭疽病发病程度轻而到生长中后期发病程度重的结果相吻合.苗龄为1~2片叶时,2个供试品种的病情指数均较低,表现为抗病;而当苗龄为5~6片叶以后,2个供试品种的病情指数均较高,均表现为感病,不能很好地将这2个品种的抗病性差异区别开来;只有在苗龄为3~4片叶接种时,这2个品种的抗感差异才最明显,可以比较容易地将这2个品种的抗病性区分开来.所以在3~4片叶期接种较为适宜.

表2 苗龄对菜心品种病情指数的影响¹⁾

品种	子叶期	1~2叶期	3~4叶期	5~6叶期	7叶期
四九一19	25.12A	17.09A	44.05A	77.89A	77.84A
油青四九	51.97B	30.42B	72.90B	91.33B	88.48B

1) 本表同列数据采用*t*测验进行差异显著性分析,数字后大写英文字母不同者表示差异极显著

2.3 保湿时间对品种抗病性表现的影响

从表3可看出,接种炭疽病菌后,不同保湿时间处理的2个供试品种的抗病性差异均达显著或极显著水准.其中不保湿处理的2个供试品种的病指最低,基本上不发病,不能充分表现出品种间的抗病性差异,但随着保湿时间的延长,发病逐渐加重,以保湿24h处理的2个供试品种的抗病性差异最大,而保湿时间达到36h以上时,2个供试品种的抗病性差异又缩小.因而接种后在温度为 $27\sim 32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,以保湿24h能更好地将品种间的抗病性差异区别开来.但若温度低于这个范围,则保湿时间可延长到48h.

表3 保湿时间对病情指数的影响¹⁾

品种	<i>t</i> 保湿/h				
	0	12	24	36	48
四九一19	1.23A	50.00A	63.26A	71.46A	74.04a
油青四九	4.58B	69.04B	83.39B	85.53B	81.75b

1) 本表同列数据采用*t*测验进行差异显著性分析,数字后大写英文字母不同者表示差异极显著,小写英文字母不同者表示差异显著

3 讨论与结论

对接种体浓度的选择:接种时既要考虑到有足够的接种体数量使鉴定植株发病,同时又要将品种间的抗病性差异区分开来,达到鉴定的目的.本研究在温度为 $23\sim 32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内,以选用分生孢子 $6\times 10^6\sim 1\times 10^7$ 个/L的悬浮液接种较为适宜.温度较高时,接种体浓度可选择下限,否则接种体浓度过高,抗、感病品种发病均较重,无法将两者的抗病性差异区别开来;温度较低时,接种体浓度可选择上限,否则感病品种亦不能充分发病,不能很好地将品种间的抗病性差异区别开来.

对接种后保湿时间的选择:应注意在气温较高时,即温度在 $27 \sim 32^{\circ}\text{C}$ 范围内,接种后只需保湿 24 h;若气温较低时,即温度在 $23 \sim 28^{\circ}\text{C}$ 范围内,可将保湿时间延长到 48 h. 本研究在进行保湿时间筛选试验时,由于接种后气温较高,所以发病快且重,保湿时间在 24 h 以内即可较好地区别品种间的抗病性差异.

对接种叶龄的选择:以 3~4 片叶期较为适宜. 当接种苗龄小于 3 片叶时,感病品种发病程度轻;而当苗龄超过 5 片叶期时接种,此时抗病品种发病较重,均不能很好地把品种间的抗病性区别开来. 这种苗龄小,抗性较强,苗龄大,抗性较弱的现象与田间苗期炭疽病很少发生而到生长中后期炭疽病发生严重的观察结果相吻合.

本研究选用田间筛选出的表现较为抗病的当家品种四九—19 及较易发病的油青四九作为供试材料,对炭疽病苗期抗病性的鉴定技术进行了研究,初步摸索出了一套菜心抗炭疽病的鉴定方法,即在温度为 $23 \sim 32^{\circ}\text{C}$ 范围内,用 $6 \times 10^7 \sim 1 \times 10^6$ 个/L 分生孢子的悬浮液采用喷雾法于 3~4 片叶期接种,保湿 24~48 h,7 d 后调查病情,可以较好地把品种间的抗病性差异区别开来,初步认为该法可作为菜心炭疽病苗期抗病性鉴定方法应用.

致谢 本文承蒙戚佩坤教授审阅并提宝贵意见;刘艳辉和孙怀志参加了部分试验工作,谨此一并致谢.

参 考 文 献

- 卢鉴植,刘建华,巩振辉. 1992. 辣椒炭疽病苗期抗病性鉴定方法研究. 江苏农业科学, (5): 42~44
菜豆种质资源主要性状鉴定子专题组. 1992. 荚用菜豆品种资源炭疽病苗期抗病性鉴定. 中国蔬菜 (6): 21~23
谢双大,朱天圣,陈桂珍,等. 1988. 黄瓜抗炭疽病的苗期人工接种鉴定方法研究初报. 中国蔬菜 (1): 28~30
Littrell R H, Epps W M. 1965. Standardization of a procedure for artificial inoculation of cucumbers with *Colletotrichum lagenarium*. Plant Dis Repts, 49: 649~652

A TECHNIQUE FOR IDENTIFICATION OF RESISTANCE TO ANTHRACNOSE OF *Brassica parachinensis* IN SEEDLING STAGE

Zhang Hua¹ Zhou Er 'xun² Liu Zizhu¹ Yang Mei² Shen Yinggan¹

(1 Guangzhou Vegetable Scientific Research Institute, Guangzhou, 510315;

2 College of Natural Resources and Environment, South China Agric. Univ.)

Abstract

A technique suitable for identification of resistance to anthracnose of *Brassica parachinensis* in seedling stage was proposed by testing inoculum concentrations, moisture preservation times and seedling ages and using artificial spray inoculation method. That is, while in the temperatures ranged from 23 to 32°C , the suspensions of $6 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ conidia/L were sprayed to the seedlings with three to four leaves, and the moisture was kept for 24 to 48 hours. In seven days after treatment, the disease severity was investigated. It was showed that the technique could be easy to distinguish the resistant differences in different varieties of *Brassica parachinensis*

Key words *Brassica parachinensis*; anthracnose; identification of disease resistance