

用无菌苗法鉴定油菜对菌核病的抗(耐)病性

Identification of disease resistance (tolerance) of rapeseed to *Sclerotinia sclerotiorum* using aseptic seedlings

张志元^{1,2} 官春云²

(1. 长沙大学生物技术研究所, 长沙 410003; 2. 湖南农业大学油料作物研究所, 长沙 410128)

ZHANG Zhi-yuan^{1,2} GUAN Chun-yun²

(1. Institute of Biotechnology, Changsha University, Changsha 410003, China; 2. The Oilseed Crops Institute, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

快速、准确、有效的抗病性鉴定方法是抗病育种的基础和保障。目前,国内外鉴定油菜菌核病的抗(耐)病性的方法归纳起来主要有草酸鉴定法、人工气候室盆栽苗接种鉴定、大田成株期人工辅助接种鉴定和大田病圃或非病圃自然侵染鉴定法等。草酸鉴定法对鉴定材料的破坏性大,育种中应用仅供筛选抗草酸的单株或材料,且不能鉴定抗菌核病菌侵入的材料。人工气候室盆栽苗接种鉴定受空间或成本的限制,难以用于大量的筛选工作,大田成株期人工辅助接种鉴定和大田自然侵染鉴定既受季节的限制,也受环境因素的影响。因此,探寻更高效、准确的抗(耐)病性鉴定方法,仍是抗病育种的迫切需要。本文介绍了一种准确、快速、高效的鉴定新方法。

1 材料与方法

1.1 材料:PSA培养基参照方中达^[1]的方法,并略加修改,即将PSA培养基中琼脂的成分由1.7%~2.0%改为1.0%。供试油菜品种为高抗品系中R-888和M004,系中国农业科学院油料作物研究所提供,低抗品系085、对照品种甘油5号(中感)和高感品系98C40系湖南农业大学油料作物研究所收集保存。油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lid.) de Barg 由湖南农业大学油料作物研究所提供,编号为SS₂。

1.2 方法

1.2.1 油菜菌核病菌菌种的扩大培养:在无菌条件下,从斜面试管挑取原始菌种,移入改良的PSA平皿内,每皿移取5点菌丝,均匀摆放,盖上盖,贴好标

签,用高分子封口膜封口。在25℃下,培养5天,取出放置在冰箱中6℃下保存。

1.2.2 无菌苗的培养:试验设5个处理(品种),每处理40粒种子,重复3次。对每品种选籽粒饱满、颜色正常的种子各120粒,用50%地菌杀净500倍液,在37℃下浸泡7h。将经药液浸泡后的种子,用单层纱布包好,自来水冲洗,洗净种子表面粘附的药剂。在无菌条件下,将洗净的种子,用75%乙醇浸种数秒钟,再移入0.1%升汞溶液中浸4min,然后用无菌水洗3次,即可播种。消毒的油菜种子播种于PSA培养基上,每皿播10粒,每个处理播12皿,每4皿为1次重复。在光照培养箱内培养苗,温度为25℃,每天12h 5000lx的光照。培养过程中,如有少量微生物污染,则将其从培养基上刮除。

1.2.3 接种:将各处理油菜无菌苗移入超净工作台内,在无菌条件下,将事先培养好的油菜菌核病菌用移菌铲裁成0.4mm×0.4mm的菌丝琼脂块,紧靠无菌苗接菌丝琼脂块1块,有菌丝的那一面贴培养基。接种后用一次性注射器滴加无菌水(每株2滴),以补充水分。接种后仍置光照培养箱中培养,条件同前,66h后调查发病情况。

1.2.4 病害调查:病情分级:0级,无病;1级,病斑长度占下胚轴长度10%以下;2级,病斑长度占下胚轴长度11%~30%;3级,病斑长度占下胚轴长度31%~50%;4级,病斑长度占下胚轴长度50%以上。发病率(%)=(病株数/鉴定总株数)×100。按文献^[1]计算病情指数和相对抗性指数(RRI),依据RRI,划分抗性等级。

基金项目:国家“863”项目(2001AA241101)

作者简介:张志元,男,1957年生,教授,主要从事植物病害及油菜抗病育种研究, email: zhzy@ccsu.cn

收稿日期:2004-11-12

2 结果与讨论

对一套已知抗性水平材料的鉴定结果表明,油菜无菌苗对油菜菌核病的抗(耐)病性,品种间有显著差异或极显著差异(表 1)。2 个高抗品系中 R-888 和 M004 的病情指数分别是 61.7 和 63.1,显著低于 98C40 和对照品种甘油 5 号,按 RRI 标准划分为高抗;085 病情指数为 76.0,RRI 为 -0.6,属低抗类型;感病品系 98C40 的病情指数为 97.2,极显著高于中 R-888、M004 和 085,这都与文献报道的鉴

定结果一致^[2~3]。尽管依据 RRI 定 98C40 为中感,但其 RRI 为 1.8,非常接近高感类型(HS 的 RRI 应大于 2)。

无菌苗法不仅能鉴定抗病性变异,而且能较准确地鉴定出材料的抗性等级。无菌苗法的特点是,抗性鉴定不受季节限制,鉴定周期短,一个月内即可完成,占空间小,成本低,可用于大批量的材料鉴定。因此,有较好的应用价值。

表 1 油菜无菌苗不同品种对菌核病的抗、感差异

Table 1 Differences in resistance or susceptibility of aseptic seedlings among different rapeseed varieties

品种编号 Number	品种 Variety	鉴定株数 Number of plant	发病率(%) Rate of disease	病情指数 Disease index	差异显著性 Significant difference		相对抗性指数 Relative resistance index	品种抗感类型 Resistant or susceptible types of variety
					0.05	0.01		
1097	98C40	106	100	97.2	a	A	1.8	中感 MS
1078	甘油 5 号 Ganyou-5	115	100	85.5	b	AB	0.0	
1073	085	120	100	76.0	bc	B	-0.6	低抗 LR
1071	M004	105	100	63.1	c	B	-1.2	高抗 HR
1077	中 R-888 Zhong R-888	98	100	61.7	c	B	-1.3	高抗 HR

注:数据为 3 次重复的平均值。Note: Mean of three replicates.

参 考 文 献(References)

1 方中达. 植病研究方法. 北京:农业出版社,1979,p83

2 吴纯仁,刘后利. 油菜菌核病抗(耐)病性筛选方法的研究. 植

物保护学报,1991,18(4):324-327

3 刘胜毅,潘家荣. 油菜对毒素草酸的吸收代谢与抗性机理. 植

物病理学报,1998,28(1):33-37