

# 萝卜种质资源对黑腐病的抗性鉴定与筛选

王少伟<sup>1</sup>, 李红双<sup>1</sup>, 魏小春<sup>1</sup>, 何勇强<sup>2</sup>, 邱 杨<sup>1</sup>, 沈 镒<sup>1</sup>, 李锡香<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; <sup>2</sup>广西大学生命科学院, 南宁 530003)

**摘要:**对40份初选萝卜种质分别接种 *Xcc8004* 和 *XccBJ* 两个菌株, 进行黑腐病苗期抗性鉴定, 对其中8份代表性萝卜种质肉质根切片接种 *Xcc8004* 进行抗性鉴定和27份萝卜种质幼苗接种8个效应物基因进行过敏反应鉴定。结果表明: 不同萝卜种质苗期对黑腐病的抗性存在显著差异, 筛选出高抗 *Xcc8004* 的材料3份, 抗病1份, 中抗4份, 高抗 *XccBJ* 的材料1份, 抗病2份, 中抗5份。萝卜苗期对 *Xcc8004* 和 *XccBJ* 的抗病性极显著相关, 幼苗和肉质根对 *Xcc8004* 的抗病性极显著相关。筛选出17份对不同效应物表现过敏反应的萝卜种质。对效应物 XC\_0241 表现过敏反应的种质数最多, 对 XC\_0542 和 XC\_0541 表现过敏反应的种质数次之。不同抗源对不同效应物的过敏反应程度有所不同。稳定可靠抗病资源的获得为萝卜抗病育种和抗病机理的深入研究提供了基础材料。

**关键词:**萝卜; 黑腐病; 苗期; 肉质根; 抗源; 效应物

## Identification and Selection of Radish (*Raphanus sativus* L.) Germplasm with Resistance to Black Rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)

WANG Shao-wei<sup>1</sup>, LI Hong-shuang<sup>1</sup>, WEI Xiao-chun<sup>1</sup>, HE Yong-qiang<sup>2</sup>,  
QIU Yang<sup>1</sup>, SHEN Di<sup>1</sup>, LI Xi-xiang<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

<sup>2</sup> College of Life Science, Guangxi University, Nanning 530003)

**Abstract:** Forty radish germplasm were inoculated with strain *Xcc8004* and *XccBJ* of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*) at seedling stage. The fleshy root of eight germplasm among them were sliced and inoculated with strain *Xcc8004*. Twenty-seven accessions of them were inoculated with eight effectors. The result indicated that radish germplasm's resistance to black rot was significantly different. Three accessions showed highly resistant (HR), one resistant (R), and four moderately resistant (MR) to *Xcc8004*. One HR, two R, and five MR radish germplasms to *XccBJ* were identified. The resistance of radish seedling to *Xcc8004* was significantly correlated to the resistance to *XccBJ*, and the resistance of seedlings and fleshy roots to *Xcc8004* was also significantly correlated. Seventeen radish germplasms exhibited hypersensitive response to different effectors. The number of radish germplasms showing hypersensitive response to XC\_0241 was the most, followed by hypersensitive response to XC\_0542 and XC\_0541. The extent of hypersensitive response in different germplasm to different effectors was not identical. The reliably resistant resources provide the basic materials in breeding for the radish resistance and studying resistance mechanism.

**Key words:** *Raphanus sativus* L.; Black rot; Seedling stage; Fleshy root; Resistance; Effectors

萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 是十字花科萝卜属一、二年生蔬菜作物, 染色体数为  $2n = 2x = 18$ , 在世界各地均有栽培。中国是萝卜的主要起源地, 种质

资源丰富, 目前我国国家蔬菜种质资源库保存萝卜种质资源有2073份。黑腐病是萝卜主要病害之一, 俗称黑心病, 由野油菜黄单胞菌野油菜致病变种

收稿日期: 2011-06-07 修回日期: 2012-02-05

基金项目: 国家科技支撑项目 (2009BADB8B03-3)

作者简介: 王少伟, 硕士, 研究方向: 蔬菜种质资源。E-mail: shaowei3456@163.com

通讯作者: 李锡香, 研究员, 研究方向: 蔬菜种质资源。E-mail: lixx0612@163.com

(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, 简称 *Xcc*) 引起, 属于细菌性病害。黑腐病在我国从 20 世纪 70 年代开始发生, 80 年代逐渐严重, 各地分布普遍<sup>[1]</sup>, 危害大部分十字花科蔬菜, 如萝卜、甘蓝、花椰菜、大白菜、西兰花及模式植物拟南芥<sup>[2]</sup>。黑腐病主要危害萝卜的叶和根<sup>[3-4]</sup>。叶片感病后, 首先从叶缘开始变黄, 逐渐成“V”字形向内扩展, 然后全叶花斑呈网状, 叶脉变黑, 最后枯黄。肉质根感病后, 首先导致根部导管变黑, 然后内部腐烂。横切萝卜可以看到维管束呈放射状, 黑褐色, 严重时有菌脓溢出。该病害在世界范围内周期性地发作, 特别是在非洲和亚洲等发展中国家, 历次黑腐病的流行都会对产量造成严重的损失<sup>[5-6]</sup>。

萝卜中对黑腐病的抗源较少。张玉勋等<sup>[7]</sup>采用喷雾法对 970 份萝卜种质资源抗黑腐病的性能进行了初步鉴定与评价, 仅筛选出较抗病资源 3 份。李红双<sup>[8]</sup>在前人研究的基础上初步筛选出黑腐病抗病材料 3 份, 中抗材料 6 份。因此, 新抗源的准确

鉴定和筛选显得尤为重要。本研究对经过初步鉴定的 40 份萝卜种质进行了苗期抗黑腐病重复鉴定, 同时对其中 8 份萝卜种质进行了肉质根切片接种鉴定, 对其中 27 份萝卜种质进行了效应物基因接种鉴定, 以期筛选出稳定可靠的抗病资源, 为萝卜抗病育种和抗病机理研究提供基础材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以 40 份不同的萝卜品系为试材, 包括经过纯化的萝卜主栽品种和国家种质资源库中的代表性资源的后代(表 1)。苗期分别接种黑腐菌 *Xcc8004* 和 *XccBJ*, 进行抗性鉴定。对其中 8 份种质取成株期的肉质根接种 *Xcc8004*, 进行抗性鉴定。对其中 27 份萝卜种质接种含有效应物基因的农杆菌, 这些效应物基因是从 *Xcc8004* 菌株分离出来的 8 个无毒基因: *XC\_0241*、*XC\_0541*、*XC\_0542*、*XC\_2602*、*XC\_2995*、*XC\_3176*、*XC\_3802*、*XC\_4273*。

表 1 接种黑腐菌的萝卜种质材料及其背景信息

Table 1 Radish germplasms and their basic informations

田间编号 Field code	原种质名称 Name	来源地 Source	田间编号 Field code	原种质名称 Name	来源地 Source
KB09-1	夏白玉	韩国	KB09-21	阳泉枕头白	山西阳泉市
KB09-2	临朐青圆脆	山东临朐	KB09-22	心里美	北京
KB09-3	大叶白蛋蛋	青海西宁	KB09-23	早春红	北京
KB09-4	新生	山西蔬菜所	KB09-24	东方黑根-1	武汉市场
KB09-5	三月萝卜	云南昆明	KB09-25	水萝卜	山东邹平县
KB09-6	武陟透心红	河南武陟县	KB09-26	东方黑根-2	北京市场
KB09-7	稍白尖	内蒙丰镇县	KB09-28	YR-2	韩国
KB09-8	大红袍	山东东平县	KB09-29	横圪迟菜头	浙江温州
KB09-9	柘城大红袍	河南	KB09-30	大红袍	山东东平县
KB09-10	俄引 4-1	俄罗斯	KB09-31	大红袍	北京
KB09-11	小梅耙齿	广东新会县	KB09-32	当地萝卜	内蒙翁牛特旗
KB09-12	红水萝卜	内蒙乌兰浩特	KB09-33	白秋美浓-2	韩国
KB09-13	秦菜二号-1	陕西西安	KB09-34	秦菜二号-2	陕西西安
KB09-14	滩头坪萝卜	湖南长沙	KB09-35	运城露八分	山西运城
KB09-15	国光	山西蔬菜所	KB09-36	生粹大根-2	韩国
KB09-16	洛阳露头青	河南洛阳	KB09-37	俄引 4-2	俄罗斯
KB09-17	白秋美浓-1	韩国	KB09-38	长红-1	俄罗斯
KB09-18	YR-1	韩国	KB09-39	长红-2	俄罗斯
KB09-19	生粹大根-1	韩国	YS09-13	野生萝卜	日本
KB09-20	西峡露头青	河南西峡县	KB09-41	YR-3	韩国

*Xcc8004* 以及 8 个效应物基因全部由广西大学何勇强老师提供, *XccBJ* 由中国农业科学院蔬菜花卉研究所植保室病害组提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 苗期接种 *Xcc8004* 和 *XccBJ* 试验 试验方法参照李锡香等<sup>[9]</sup>编制的萝卜黑腐病鉴定标准, 稍

加修改。每份材料种植 30 株,采用随机区组试验,设置 3 个重复,每个重复 10 株幼苗。待植株生长至 4~5 片叶,选择第 3、4 片新叶接种。病原菌为黑腐菌 *Xcc8004* 和 *XccBJ*。供试菌株在 NYGA 培养基(每 L 含蛋白胨 5.0g、酵母提取物 3.0g、甘油 20.0g/L, pH 7.0, 加 1.5% 琼脂)、27~28℃ 恒温箱内培养 2~3d。将病原菌加适量无菌水稀释,通过分光光度计调整菌液浓度为  $OD_{600} = 0.2$  (约  $10^8$  cfu/ml),用于接种。用灭菌的手术剪刀蘸取少量菌液,在距叶尖约 1~2cm 处垂直于中脉剪切下叶尖。接种后保湿 24h,然后在温度为 25~28℃、相对湿度大于 80% 的环境中继续生长。5~6d 后,叶片开始出现病斑,第 15 天调查发病情况。幼苗黑腐病分级标准参照李锡香等<sup>[9]</sup>的标准。

**1.2.2 肉质根接种 *Xcc8004* 试验** 材料播种于中国农业科学院蔬菜花卉所的日光温室,在肉质根膨大期,每份材料取 5 个单株的肉质根,用水清洗干净后进行肉质根离体鉴定。每个肉质根横切获取厚约 0.3cm 的圆片 3 个,分别放入 3 个培养皿(垫有湿润的滤纸)中。黑腐菌 *Xcc8004* 菌液浓度为  $OD_{600} = 0.2$  (约  $10^8$  cfu/ml)。用移液器取 100 $\mu$ l 菌液,滴在每个薄片上,用涂棒将其涂匀。然后放入 25~28℃ 恒温箱内培养。每天向培养皿中加入少量蒸馏水,至滤纸刚好浸透而没有明水残留。第 10 天调查发病情况。病情分级标准见表 2。

表 2 萝卜肉质根黑腐病病情分级标准

Table 2 Grades for black rot disease symptom in radish fleshy root

级别 Grades	病情 Symptom
0	不腐烂,不变色
1	不腐烂,木质部外围有零星浅褐色斑点
3	不腐烂,木质部外围褐色斑点连成片,或者 < 50% 面积肉质根变褐色
5	$\geq 50\%$ 面积肉质根变褐,开始腐烂
7	全部变褐,开始腐烂
9	全部变黑,或全部腐烂,有脓状物

**1.2.3 接种效应物试验** 每份材料种植 30 株,采用随机区组试验,设置 3 个重复,每个重复 10 株幼苗。待植株生长至 4~5 叶,于接种前 1d 在第 3、4 片新叶上系绳做标记,便于接种和调查。病原菌为 *Xcc8004* 中的 8 个效应物基因 *XC\_0241*、*XC\_0541*、*XC\_0542*、*XC\_2602*、*XC\_2995*、*XC\_3176*、*XC\_3802* 和 *XC\_4273*。供试菌株在 YEB 培养基(向 YEA 培养基中加 1.5% 琼脂)中于 28℃ 恒温箱内培养 2~3d,然后在

YEA(每 L 含蛋白胨 5g、牛肉膏 5g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1g、酵母提取物 1g、蔗糖 5g, pH 7.0) 培养基中 28℃、200r/min 振荡培养 26~28h。将含有效应物基因的农杆菌培养物离心沉淀,加适量无菌水稀释,调整菌液浓度为  $OD_{600} = 0.2$  (约  $10^8$  cfu/ml),用于接种。每株接种 2 个叶片,每片叶接种 2 个部位。用不带针头的微量注射器(1ml)向叶片背面的叶肉组织中压渗 50 $\mu$ l 菌液。接种后幼苗在温度为 25~28℃ 相对湿度大于 80% 的环境中生长。第 10 天观察记录过敏性反应结果。

### 1.3 数据采集和统计分析

在萝卜苗期接种 *Xcc8004*、*XccBJ* 试验中,用游标卡尺测量每株每片叶病斑扩展深度,除去一个最大值和一个最小值后,将其转化为病情级别,计算每份材料的病情指数(DI),然后用 SAS 软件进行方差分析和相关性分析。在萝卜肉质根鉴定试验中,肉眼观察病情并分级,然后用 SAS 软件进行方差分析。病情指数计算公式如下:

$$DI = \frac{\sum (si \times ni)}{9N} \times 100$$

其中,  $si$ : 发病级别,  $ni$ :

相应发病级别的株数,  $N$ : 调查总株数。

## 2 结果与分析

### 2.1 萝卜种质苗期对 *Xcc8004* 和 *XccBJ* 的抗性

对 40 份萝卜种质苗期接种 *Xcc8004* 和 *XccBJ* 的抗性鉴定结果表明(图 1),不同萝卜品种对 *Xcc8004*

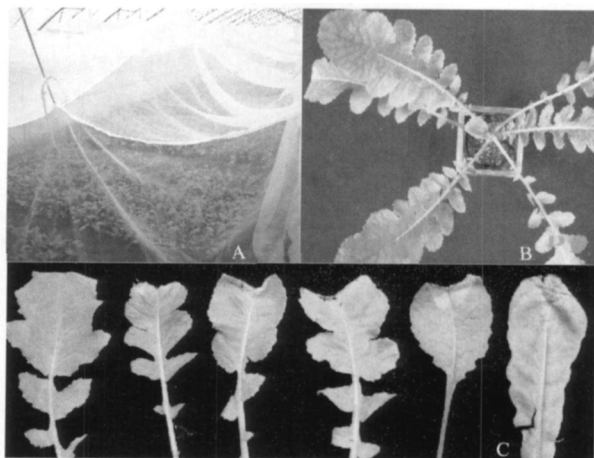


图 1 萝卜对黑腐病抗性的苗期鉴定

Fig. 1 Identification of resistance of radish germplasm to black rot at seedling stage

A: 萝卜幼苗生长于塑料大棚; B: 单株萝卜幼苗发病情况;

C: 不同萝卜品种叶片的发病情况

A: radish seedlings growing in the plastic house; B: plants with block rot symptom; C: the disease symptom on leaves for different radish germplasm

和 *Xcc*BJ 的病指分布范围比较广,品种间的抗性差异达到极显著水平。鉴定材料按照抗性强弱可分成 5 级,即高抗(HR)、抗病(R)、中抗(MR)、感病(S)、高感(HS)。通过上述苗期接种试验,筛选出 3 份高抗 *Xcc*8004 材料、1 份抗病材料、4 份中抗材料,感病和高感材料分别为 14、18 份(表 3)。从品种类型来看,高抗 *Xcc*8004 材料(夏白玉、红水萝卜和白秋美浓)分别来源于韩国杂种分离纯化的白萝卜和我国的红萝卜;抗病材料为我国的秋萝卜柘城大红袍;4 份中抗材料分别为来源我国的红心秋萝卜地方品种武陟透心红和绿肩或绿身秋萝卜稍白尖、洛阳露头青、西峡露头青的后代。筛

选出 1 份高抗 *Xcc*BJ 材料、2 份抗病材料、5 份中抗材料,感病和高感材料分别为 18、12 份(表 3)。高抗 *Xcc*BJ 材料是来源于韩国的白秋美浓杂种分离纯化后代;抗病材料分别是来源于中国的红水萝卜和洛阳露头青的后代;中抗材料分别为夏白玉、武陟透心红、稍白尖、柘城大红袍和 YR(春白萝卜)分离纯化的后代。相关分析表明萝卜种质苗期对 *Xcc*8004 和 *Xcc*BJ 的抗性反应之间存在极显著的相关性( $P < 0.0001$ )。从这些抗黑腐病萝卜材料的植物学性状来看,肉质根根色包括白、红、绿 3 种颜色,这为选育不同类型的抗病品种提供了依据。

表 3 萝卜种质接种 *Xcc*8004 和 *Xcc*BJ 的病情指数及抗性分级

Table 3 Disease index (DI) and resistant level of radish germplasm inoculated with *Xcc*8004 and *Xcc*BJ

田间编号 Field code	<i>Xcc</i> 8004		<i>Xcc</i> BJ		田间编号 Field code	<i>Xcc</i> 8004		<i>Xcc</i> BJ	
	病指 DI	抗性 R/S	病指 DI	抗性 R/S		病指 DI	抗性 R/S	病指 DI	抗性 R/S
KB09-1	3.0	HR	29.4	MR	KB09-21	68.6	HS	70.6	HS
KB09-2	41.6	S	51.7	S	KB09-22	59.9	S	58.9	S
KB09-3	53.9	S	57.6	S	KB09-23	48.7	S	58.3	S
KB09-4	56.4	S	58.1	S	KB09-24	65.0	HS	60.8	HS
KB09-5	46.0	S	46.8	S	KB09-25	60.0	S	56.3	S
KB09-6	24.8	MR	33.8	MR	KB09-26	83.0	HS	88.9	HS
KB09-7	20.1	MR	30.1	MR	KB09-28	64.8	HS	63.5	HS
KB09-8	65.6	HS	57.8	S	KB09-29	90.0	HS	87.4	HS
KB09-9	18.6	R	24.6	MR	KB09-30	69.4	HS	66.5	HS
KB09-10	43.5	S	45.3	S	KB09-31	71.8	HS	-	-
KB09-11	72.6	HS	61.0	HS	KB09-32	56.8	S	-	-
KB09-12	3.9	HR	13.4	R	KB09-33	71.8	HS	81.9	HS
KB09-13	61.6	HS	69.6	HS	KB09-34	53.4	S	55.9	S
KB09-14	60.6	HS	52.0	S	KB09-35	63.7	HS	56.1	S
KB09-15	62.4	HS	42.8	S	KB09-36	55.5	S	64.7	HS
KB09-16	20.1	MR	10.7	R	KB09-37	52.3	S	44.9	S
KB09-17	1.3	HR	4.1	HR	KB09-38	62.4	HS	58.7	S
KB09-18	51.5	S	48.2	S	KB09-39	67.4	HS	75.9	HS
KB09-19	71.7	HS	53.0	S	YS09-13	77.6	HS	81.2	HS
KB09-20	38.5	MR	44.4	S	KB09-41	54.6	S	39.2	MR

KB09-31 和 KB09-32 由于种子发芽率和成活率低,没有接种 *Xcc*BJ

KB09-31 and KB09-32 were not inoculated with *Xcc*BJ because of their low seed germination rates

## 2.2 萝卜种质肉质根对 *Xcc*8004 的抗性

对 8 份代表性萝卜种质肉质根切片人工接种 *Xcc*8004 进行抗性鉴定(图 2)。方差分析表明品种间差异达到极显著水平(表 4)。KB09-16、KB09-17 和 KB09-1 抗性最高,几乎没有发病,3 份感病材料发病非常严重,甚至有菌脓溢出。对 8 份萝卜种质分别在苗期和肉质根接种 *Xcc*8004 的结果相关分析表明,苗期和肉质根对 *Xcc*8004 抗性存在极显著的相关性( $P = 0.0036$ ),说明苗期和成株期鉴定的结果一致性好。

## 2.3 萝卜种质对 8 个效应物基因的过敏性反应

采用压渗法对 27 份萝卜种质接种 8 个效应物基因。调查发现,不同材料之间对效应物的过敏性反应表现出多样性,有的坏死斑非常明显,有的接种部位叶色变黄,有的仅在接种部位出现褪绿斑(图 3)。在 27 份试材中,有 17 份材料对不同的效应物发生过敏性反应,即存在与相应效应物基因对应的抗病基因(表 5)。这些材料中,既包含对 *Xcc*8004 或 *Xcc*BJ 的抗病材料,如 KB09-1、KB09-6、KB09-7、KB09-9、KB09-12,也包含感病材料,如 KB09-2、KB09-4、

KB09-5等。而在抗病材料KB09-16、KB09-17、KB09-20中没有发现任何过敏反应。KB09-7对3个效应物基因表现过敏性反应;KB09-5、KB09-12、KB09-13、YS09-13分别对2个效应物基因表现过敏性反应;其余材料只对1个效应物基因表现过敏性反应。

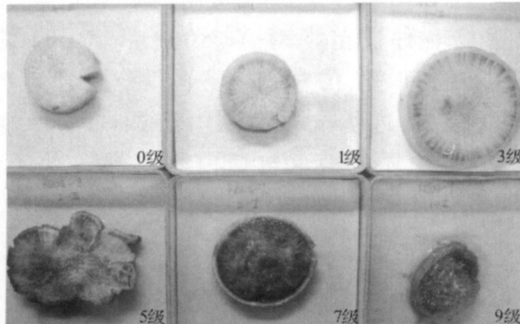


图2 萝卜种质肉质根黑腐病抗性鉴定

Fig. 2 Identification of resistance of radish fleshy roots to black rot

表4 萝卜种质肉质根切片接种 *Xcc8004* 的病情指数  
Table 4 Disease index (DI) of radish of sliced fleshy roots inoculated with *Xcc8004*

编号 No.	KB 09-29	KB 09-33	KB 09-8	KB 09-9	KB 09-12	KB 09-1	KB 09-17	KB 09-16
DI	8.2A	8.1A	7.8A	6.1B	2.9C	1.5D	1.1D	1D

不同字母表示差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ )

The different letter mean that there are significantly difference at  $P < 0.05$

表5 不同萝卜种质产生过敏反应相对应的效应物

Table 5 Hypersensitive response results of radish germplasm to effectors

编号 Code	效应物 Effector	编号 Code	效应物 Effector	编号 Code	效应物 Effector	编号 Code	效应物 Effector
KB09-1	XC_2995	KB09-8	无	KB09-15	无	KB09-24	XC_0542
KB09-2	XC_0241	KB09-9	XC_4273	KB09-16	无	KB09-35	XC_0241
KB09-4	XC_0241	KB09-10	无	KB09-17	无	KB09-38	XC_0542
KB09-5	XC_0241	KB09-11	无	KB09-18	XC_0541	S09-13	XC_0241
	XC_0541	KB09-12	XC_0241	KB09-19	无		XC_0542
KB09-6	XC_0241	KB09-13	XC_0542	KB09-20	无	KB09-41	XC_0241
KB09-7	XC_0241	KB09-14	XC_0241	KB09-21	XC_0241		
	XC_2995		XC_0542	KB09-22	无		
	XC_3802		无	KB09-23	XC_0541		

### 3 结论与讨论

#### 3.1 萝卜黑腐菌抗性的鉴定方法

人工接种黑腐菌的方法主要有苗期剪叶法和喷雾法。龚静等<sup>[14]</sup>对两种方法进行了比较,剪叶法接

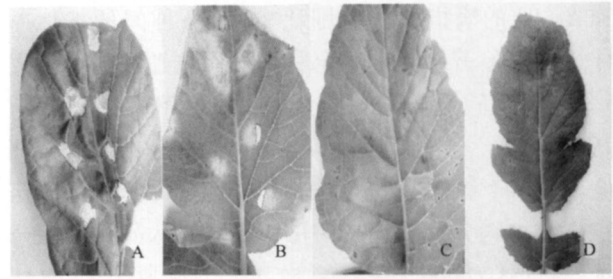


图3 萝卜种质对效应物基因的过敏性反应

Fig. 3 Hypersensitive response of radish germplasm to effectors

A: KB09-5 对 XC\_0241 的反应; B: KB09-38 对 XC\_0241 的反应; C: KB09-6 对 XC\_0241 的反应; D: KB09-17 对 XC\_3176 的反应

A: response of KB09-5 to XC\_0241; B: response of KB09-38 to XC\_0241; C: response of KB09-6 to XC\_0241; D: response of KB09-17 to XC\_3176

对不同效应物出现过敏性反应的萝卜种质的分析发现:有11份萝卜种质对效应物XC\_0241表现过敏性反应,这些品种既包括抗病材料也包括感病材料;5份抗或感病资源对效应物XC\_0542表现过敏性。对效应物XC\_0541表现过敏性反应的萝卜材料只有3份感病材料。对其余效应物表现过敏性反应的萝卜材料很少甚至没有。同一份萝卜材料对不同效应物基因表现过敏反应,表明该材料可能有不同的抗病基因;而不同萝卜材料对同一种效应物基因表现过敏反应表明它们可能拥有共同的抗病基因。

种发病重,各材料间差异不明显,认为喷雾法更适于苗期抗病性鉴定。本试验采用剪叶法进行人工接种,不同材料的抗性反应差异非常明显。认为喷雾法虽然接种操作简单,适合田间大面积苗期接种试验,但是难以做到各植株叶片接触菌液的量相同,而

且对环境的保湿条件要求高。相对而言,剪叶法接种对菌量的控制更严格,而且由于发病重,有利于筛选出真正的抗病材料。至于对品种抗性的区分度要根据参试材料的抗性范围,确定合适的发病期和调查时间。

对于黑腐病菌来说,发病条件非常重要。本试验严格控制植株苗龄,确保对温湿度条件的需求,且采用统一的黑腐病评价标准,保证了鉴定结果的可靠性。

苗期接种鉴定周期短、速度快,可节省大量人力物力。本试验也对部分萝卜材料的肉质根进行了体外接种试验,与苗期鉴定结果显著相关,说明人工接种鉴定不同器官的发病比较一致,苗期鉴定结果对成株抗性的代表性较强。翟文慧等<sup>[15]</sup>对大白菜苗期和成株期进行黑腐病抗性鉴定时也证实苗期鉴定方法可靠。

### 3.2 萝卜种质对不同黑腐菌致病菌株的抗性

我国萝卜种质资源丰富,为了满足生产和育种工作的需求,需要对萝卜种质的抗性进行精准鉴定,筛选出稳定的和遗传背景多样的抗源。张玉勋等<sup>[7]</sup>和曲世松等<sup>[10]</sup>曾分别对 970 份和 120 份萝卜原始种质资源进行了初步鉴定与评价,仅筛选出了 3 份较抗黑腐病的材料。李红双<sup>[8]</sup>筛选出黑腐病抗病材料 3 份,中抗材料 6 份。本研究对 40 份初选萝卜多代纯化材料进行了抗黑腐病苗期再鉴定,筛选出了 8 份稳定的、类型不同的抗病资源。与前人发现的抗病资源进行比对,仅有 2 份材料 KB09-1 和 KB09-20 包含在李红双筛选的抗黑腐病材料中。

黑腐病由野油菜黄单胞菌野油菜致病变种(*Xcc*)引起,属于世界性细菌病害,危害大部分十字花科蔬菜。从甘蓝<sup>[11]</sup>、大白菜<sup>[12-13]</sup>上收集的黑腐病菌株经鉴定都属于 *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*。本研究用 2 个菌株 *Xcc8004* 和 *XccBJ* 进行了接种鉴定。其中 *Xcc8004* 是研究植物-细菌互作的模式菌株,全基因组测序已经完成,*XccBJ* 为北京地区主流菌系。所鉴定萝卜种质对这两个菌株的抗性反应存在一定的相关性,说明这两个菌株的致病性差异不大。

### 3.3 萝卜种质对不同效应物的过敏性反应

本试验还利用从黑腐菌 *Xcc8004* 基因组测序中获得的 8 个效应物基因进行了压渗法接种鉴定。根据基因对基因假说,植物的一个抗病基因对应病原细菌或真菌的一个无毒基因<sup>[16]</sup>。黑腐病菌中存在

多个效应物基因,不同的效应物在细菌和细菌与植物互作的系统中何时表达以及表达量如何受特异时空调控。本试验所用的单个效应物基因,是将效应物基因从黑腐菌 *Xcc8004* 基因组分离出来后导入根癌农杆菌中,对植株进行压渗鉴定。因此其表达不受细菌中其他因子的调控,便于研究萝卜种质与特定效应物的互作。同一份萝卜材料对不同效应物基因表现过敏反应,表明该材料可能有不同的抗病基因;而不同萝卜材料对同一种效应物基因表现过敏反应,表明它们可能拥有共同的抗病基因。本试验在抗病材料和感病材料中都发现了对特定效应物表现过敏反应的种质,说明这些种质都存在相应的抗病基因。本研究结果为进一步揭示植物抗病的分子机理提供了基础,同时也为萝卜抗病育种提供了有益的参考。

### 参考文献

- [1] 彭锐,雷建军. 甘蓝抗黑腐病研究现状[J]. 西南园艺,1998(3):29-32
- [2] Williams P H. Black rot: a continuing threat to world crucifers[J]. Plant Dis,1980,64:736-742
- [3] 薛勇. 萝卜黑腐病的发生及防治[J]. 农业科技与信息,1997(11):19
- [4] 范家国. 萝卜黑腐病的发生与防治[J]. 现代园艺,2009(12):77
- [5] Qian W, Jia Y T, Ren S X, et al. Comparative and functional genomic analyses of the pathogenicity of phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* [J]. Genome Res, 2005, 15: 757-767
- [6] 张玉勋,徐月军,张炎光,等. 萝卜黑腐病菌致病性测定及苗期抗性鉴定方法的初步研究[J]. 山东农业科学,1999(2):34-36
- [7] 张玉勋,曲士松,黄宝勇,等. 萝卜种质资源抗黑腐病鉴定[J]. 山东农业科学,2000(6):33-34
- [8] 李红双. 萝卜对芜菁花叶病毒病和黑腐病抗性的遗传分析[D]. 北京:中国农业科学院,2009
- [9] 李锡香,沈颖. 萝卜种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京:中国农业出版社,2008
- [10] 曲世松,张炎光,张玉勋,等. 萝卜优异种质资源的鉴定与评价[J]. 黑龙江农业科学,2002(2):16-18
- [11] 肖崇刚,刘灼均,蔡岳松. 甘蓝黑腐病菌细菌学特性研究[J]. 西南农业大学学报,1996,18(2):162-164
- [12] 徐作琰,李林,孙传宏,等. 济南市郊区白菜黑腐病症状及其病原菌致病性测定[J]. 山东蔬菜,1997(4):30-31
- [13] 谢永梅,张成玲,赵永强,等. 山东省大白菜黑腐病病原的鉴定及其生物学特性的研究[J]. 山东农业科学,2007(6):68-70
- [14] 龚静,朱玉英,吴晓光. 甘蓝黑腐病抗性材料筛选及接种方法的研究[J]. 上海农业科技,2001(4):87
- [15] 翟文慧,张涛涛,胡俊,等. 大白菜黑腐病鉴定的湿度试验及其苗期与成株期抗性的相关分析[J]. 中国蔬菜,2010(10):59-63
- [16] Flor H H. Current status of the gene-for-gene concept [J]. Annu Rev Phytopathol,1971,9:275-296