

中国油菜对黑胫病的抗性评价及抗病基因推导研究

宋培玲^{1,2}, Malgorzata Jedryczka³, 郝丽芬², 皇甫海燕², 李子钦², 包玉英¹

(1. 内蒙古大学 生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特 010020; 2. 内蒙古农牧业科学院 植物保护研究所, 内蒙古 呼和浩特 010031; 3. 波兰国家科学院 作物遗传研究所, 波兰 波兹南)

摘要:为掌握中国油菜品种的黑胫病抗性水平,为抗病育种及品种合理布局提供理论依据。在室内采用子叶穿刺接种法,对35个油菜品种开展了黑胫病的抗性评价及抗病基因推导研究。供试品种中没有发现对病原菌 *Leptosphaeria maculans* 和 *Leptosphaeria biglobosa* 表现高抗或免疫的品种,只有3个品种可以兼抗 *Leptosphaeria maculans* 和 *Leptosphaeria biglobosa*,但均表现低抗。供试的35个品种对12个菌株共产生了17种反应型,其中12个品种的反应型与鉴别寄主的完全相同,18个品种的反应型与鉴别寄主的非常相近,5个品种的反应型不同于任何鉴别寄主。抗病基因推导,已知的12个黑胫病抗性基因 *Rlm1*~*9*, *Lep RI*~*3* 多数以基因组合的形式分布在我国30个品种中,这些主栽品种可能含有已知的或新的抗病基因。说明现有的油菜种质资源中可能蕴藏着对改良黑胫病抗性具有潜在应用价值的基因资源。

关键词:油菜;黑胫病;抗性评价;抗病基因推导

中图分类号:S432.2⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2015)04-0059-07

doi:10.7668/hbxb.2015.04.011

Resistance Evaluation and Postulation of Blackleg in China Oilseed Rape Cultivars

SONG Pei-ling^{1,2}, Malgorzata Jedryczka³, HAO Li-fen², HUANGFU Hai-yan², LI Zi-qin², BAO Yu-ying¹

(1. College of Life Science, Inner Mongolia University, Huhhot 010020, China; 2. Plant Protection Institute, Inner Mongolia Academy of Agricultural & Animal Husbandry Sciences, Huhhot 010031, China; 3. Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland)

Abstract: In order to master the resistance level, we provide a theoretical basis for blackleg resistance breeding and varieties rational distribution. 35 cultivars were tested to identify and postulate their resistances to *Phoma* stem canker using the cotyledons puncture method. No high resistance or immune varieties to *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa* were found in the 35 oilseed rape cultivars. Only three varieties showed low resistance to both *Leptosphaeria maculans* and *Leptosphaeria biglobosa*. 35 varieties produced 17 reaction types to 12 strains, totally. Among which, the reaction type of 12 varieties were same with the differential hosts, the reaction type of 18 varieties were very similar to the differential hosts, the reaction type of 5 varieties were unlike any differential hosts. Based on the genetic postulate method, we postulated that the twelve genes known blackleg resistance (*Rlm1*-*9*, *LepRI*-*3*) were mainly in form of combinations in thirty cultivars, these main oilseed rape cultivars may carry the known or other new resistance genes. So, some genetic resources in our rape germplasm could be used potentially to modify the resistance to *Phoma* stem canker.

Key words: Oilseed rape; *Phoma* stem canker; Resistance evaluation; Resistance gene postulation

我国是世界上最大的油菜生产国,油菜种植面积和总产量均占世界总量的1/3。自2000年以来,我国的油菜年播种面积近700万hm²,约占全国油料作物总面积的55%,居第一位^[1]。油菜与其他农

作物一样,其生产也同样受到多种病虫害的危害。据报道,国内外目前已知的油菜病害有108种,其中因真菌病害引起的油菜产量损失异常严重。而真菌病害中——黑胫病是目前世界上最重要的油菜病害

收稿日期:2015-04-04

基金项目:内蒙古农牧业创新基金项目(NM22032);内蒙古农牧业科学院青年创新基金项目(2014QNJJN03)

作者简介:宋培玲(1981-),女,内蒙古乌兰察布人,助理研究员,在读博士,主要从事植物病理学研究。

通讯作者:李子钦(1962-),男,内蒙古鄂尔多斯人,研究员,博士,主要从事植物病理学研究。

包玉英(1963-),女,内蒙古通辽人,教授,博士,主要从事植物学研究。

之一,其在各大油菜主产区(除中国、印度外)均已造成严重的经济损失,是限制许多国家油菜产业发展的重要因素^[2-3]。

近年来,由于油菜生产规模的扩大,黑胫病发生危害程度的增强,造成的产量损失越来越严重,抗黑胫病已是世界上许多国家油菜育种的重要目标之一,选育和利用抗病品种是防治黑胫病最理想的方法,也是控制油菜黑胫病的第一道防线。而筛选、发掘以及创新抗病种质是开展黑胫病抗病育种工作的前提和基础。我国是白菜型和芥菜型油菜的起源地,具有非常丰富的野生芸薹属多样性资源材料,但截至目前,还没有人对我国现有的种质资源进行过抗黑胫病的筛选、鉴定研究。

而在英国、澳大利亚、加拿大等一些因黑胫病造成较大经济损失的国家,他们对油菜品种的抗性鉴定已经进入了品种审定及推荐程序。早在 20 世纪 90 年代,Pilet 等^[4-5]研究菌株 *Leptosphaeria maculans* 与特定油菜品种间的互作对应关系,定位了 5 个与甘蓝型油菜苗期抗性有关的基因。迄今为止,根据黑胫病菌与油菜品种间的互作关系,在甘蓝型油菜品种中定位的至少有 10 个小种特异性黑胫病抗病基因,研究较为深入的是甘蓝型油菜中的 9 个抗黑胫病基因(*Rlm1* ~ 9),以及与之相对应的存在于黑胫病菌 *Leptosphaeria maculans* 中的 9 个无毒基因(*AvrLm1* ~ 9)^[6]。目前,有关黑胫病菌无毒基因类型及分布的研究都是围绕这些含已知抗病基因的油菜品种(系)进行的^[7]。

由于我国的油菜育种工作并没有考虑黑胫病,且在生产实际中,我国选育及推广的油菜品种未经过黑胫病菌的压力选择。因此,缺乏潜在的抗性资源材料,有必要针对黑胫病强、弱 2 种致病菌对来自我国不同地区的油菜品种进行多抗性鉴定及抗病基因推导,以了解现有品种的抗性现状,明确我国部分油菜品种可能携带的已知的或新的抗病基因,以弥补这方面的工作空白,进一步丰富、挖掘更好的育种资源,为我国油菜黑胫病的综合防治及抗病育种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试油菜品种

主要种植在我国内蒙古、青海、新疆等西北省区的春油菜以及上海、江苏、浙江、安徽、福建等华东地区的冬油菜,共 35 个品种,品种名称及种植区域见表 1。含有不同抗黑胫病基因(*Rlm* 及 *Lep* 基因)的油菜品种及高感对照品种 Westar 由波兰国家科学

院作物遗传所 Malgorzata Jedryczka 教授提供,品种名称及所含抗病基因见表 2。

表 1 油菜品种来源及种植区域

Tab. 1 Oilseed rape cultivars used in this study	
品种 Cultivars	种植区域 Planting area
赣两优 2 号 gy2	江西
滁核杂 1 号 ch1	江苏
中油 5628 zy5628	湖北、江西、安徽、江苏、上海
滁杂油 3 号 cz3	江苏淮河以南、安徽淮河以南、浙江、上海
华双 5 号 hs5	湖北、湖南、江西
皖油 16 wy16	沿淮淮北和江淮丘陵地区,沿江江南
皖油 20 wy20	安徽
黄油 21 号 hy21	上海、浙江及安徽和江苏两省淮河以南
扬油 6 号 yy6	浙江、上海及安徽、江苏两省的淮河以南地区
沪油 1 号 hl1	福建
沪油 15 号 hl15	上海、浙江、江苏和安徽省淮南地区
沪油 17 号 hl17	浙江、上海及安徽、江苏两淮河以南地区
华协 1 号 hx1	新疆、甘肃省
华协 102 hx102	安徽
湘杂油 5 号 xz5	湖南、湖北、江西
苏油 1 号 sy1	安徽、浙江、上海
核优 46 hy46	安徽大别山区以外地区
核优 56 hy56	安徽
秦杂油 3 号 qzy3	甘肃河西冷凉灌区、洮岷阴湿区
秦优十号 qy10	福建
青杂 2 号 qz2	青海、甘肃海拔 2750 m 以下地区,新疆、内蒙古无霜期较长地区
青杂 3 号 qz3	青海、新疆、甘肃、内蒙古、黑龙江
青杂 4 号 qz4	青海东部海拔 3000 m 以下,年均温 1 ℃ 以上的高位山旱地
青杂 5 号 qz5	内蒙古、新疆及甘肃、青海两省低海拔地区
青油 14 号 qy14	青海、黑龙江、内蒙古、新疆、甘肃
垦油 3 号 ky3	黑龙江、内蒙古
垦油 4 号 ky4	黑龙江、内蒙古
垦油 5 号 ky5	黑龙江、内蒙古
垦油 6 号 ky6	黑龙江
锡盟黄油菜 xmh	内蒙古锡盟
武川黄油菜 wch	内蒙古武川
化德黄油菜 hdh	内蒙古化德
察右中旗黄油菜 zqh	内蒙古察右中旗
新疆黄油菜 xjh	新疆
石宝黄油菜 sbh	内蒙古石宝

表 2 含已知抗病基因的鉴别寄主

Tab. 2 The differential hosts possessing the known resistance gene	
品种 Cultivars	基因 Gene
01-23-1-1	<i>Rlm7</i>
JetNeuf	<i>Rlm4</i>
Bristol	<i>Rlm2</i> 、9
Columbus	<i>Rlm1</i> 、3
156-2-1	<i>Rlm8</i> 、 <i>LepR1</i> 、 <i>LepR2</i> 、 <i>LepR3</i>
99-150-2-1	<i>Rlm5</i>
02-22-2-1	<i>Rlm3</i>
Darmor MX	<i>Rlm6</i> 、9

1.2 供试菌株

用于抗性鉴定的强致病性菌株及抗病基因推导中 12 个不同毒力的菌株均由波兰国家科学院作物遗传所 Malgorzata Jedryczka 教授提供,弱致病性菌株 *Leptosphaeria biglobosa* 分离自内蒙古海拉尔油菜产区的患病茎秆上。强致病性菌株的抗性评价及抗病基因推导试验在波兰国家科学院作物遗传所温室内进行,弱致病性菌株的抗性评价试验在内蒙古农牧业科学院植物保护研究所的人工气候室进行。

1.3 播种及接种方法

将健康、饱满的 44 个品种(35 个主栽品种、8 个鉴别寄主和高感对照)的种子播于口径 7.5 cm 的营养钵中,每个品种 14 钵,置于 25 ℃/18 ℃,光照/黑暗 = 16 h/8 h 昼夜交替的人工气候室中培养。并对所有接种试验重复 3 次。

将纯化保存好的菌株转接在 PDA 平板上,置于 25 ℃的光照培养箱内培养 7~10 d,待产孢后,在已产孢的平板上加 3~5 mL 无菌水,静置 10 min,待分生孢子器充分吸水膨胀后,载玻片轻刮平板表面,使分生孢子充分释放,无菌纱布过滤悬浮液,获得分生孢子接种体。光学显微镜下镜检并用血球计数板计数,并将所得孢子悬浮液逐步稀释到接种所需浓度 1×10^7 个/mL。用灭菌接种针刺伤子叶,分别在不同品种的伤口处接种 10 μL(10^7 个/mL)各菌株的分生孢子悬浮液,用内部湿润的塑料薄膜覆盖接种幼苗以保湿,置于 21 ℃,相对湿度约为 90% 的人工气候培养室内培养,前 48 h 黑暗培养,48 h 后移去塑料薄膜在光照/黑暗 = 16 h/8 h 条件下继续培养。并对接种子叶进行连续监测,一旦有新生真叶出现,用剪刀将其剪去,以延缓子叶衰老时间。

1.4 调查及抗性鉴定方法

接种 7~14 d 后,根据油菜黑胫病子叶接种鉴定的标准(表 3)调查、统计植株的发病情况,并根据抗性分级标准(表 4)进行抗性鉴定。

1.5 抗性基因推导

以基因对基因学说为基础,参照基因推导方法^[9-11],比较主栽品种与鉴别寄主对 12 个黑胫病菌菌株的反应型,筛选、推导我国部分油菜品种可能携带的抗病基因。若供试油菜品种所产生的反应型与某一个鉴别寄主的反应型或某 2 个鉴别寄主组合的反应型一致或非常相近,说明产生这种反应型的油菜品种可能携带与该鉴别寄主或组合鉴别寄主相同的抗病基因。

1.6 聚类分析

将每个油菜品种对 12 个不同毒力菌株的抗、感

表型进行数据转换,分别将抗病反应 R 记为“1”,感病反应 S 记为“0”,将表型资料转换成数据资料,输入到 Excel 5.0/95 工作表中,建立特征数据矩阵。采用 NTSYSp2.1 软件对供试的 35 个油菜品种、8 个鉴别寄主和高感对照 Westar 进行聚类分析,构建聚类树状图。

表 3 油菜黑胫病子叶接种鉴定病情分级标准

Tab.3 Description of cotyledon rating scale for the evaluation of symptoms on *Brassica* spp. caused by *Leptosphaeria maculans* (Modified from Delwiche 1980^[8])

病级 Disease grade	症状 Symptoms
0	接种点周围无症状可见
1	接种点周围呈轻微黑色,有黄色晕圈
3	接种点周围出现 1.5~3.0 mm 坏死斑,或有黄色晕圈,有的产生孢子
5	接种点周围出现 3.0~6.0 mm 坏死斑,有的坏死组织有明显的边缘
7	组织灰绿色萎蔫,3.0~6.0 mm 坏死斑,有明显的边缘,有的形成分生孢子器
9	病斑腐烂,叶片枯死,上面有大量的分生孢子器

表 4 油菜黑胫病抗性分级标准

Tab.4 The standard of resistance on *Phoma* stem canker

等级 Grade	抗病性 Disease resistance	病情指数 Disease index
1	免疫(I)	DI = 0
2	高抗(HR)	$0 < DI \leq 20$
3	中抗(MR)	$20 < DI \leq 40$
4	低抗(LR)	$40 < DI \leq 50$
5	低感(LS)	$50 < DI \leq 60$
6	中感(MS)	$60 < DI \leq 80$
7	高感(HS)	$DI > 80$

2 结果与分析

2.1 抗性评价

不同油菜品种的抗性鉴定结果见表 5。在供试的 35 个品种中没有发现对黑胫病强、弱 2 种致病菌(*Leptosphaeria maculans* 和 *Leptosphaeria biglobosa*)表现高抗或免疫的品种。

对强致病性菌株 *Leptosphaeria maculans*,供试品种中仅内蒙古的 1 个农家芥菜型品种锡盟黄油菜表现中抗,5 个品种表现低抗,抗性比例为 17.14%,12 个品种表现低感,9 个品种表现中感,8 个品种表现高感。对弱毒型病原菌 *Leptosphaeria biglobosa*,有 16 个品种表现低抗,抗性比例为 44.4%,10 个品种表现低感,8 个品种表现中感,仅中油 5628 这 1 个品种表现高感。

表 5 不同油菜品种抗黑胫病水平

Tab.5 The resistance level of *Leptosphaeria* spp. among different oilseed rape varieties

品种 Cultivar	油菜特性 Character of oilseed rape	抗 病 性 Disease resistance	
		<i>Leptosphaeria</i> <i>maculans</i>	<i>Leptosphaeria</i> <i>biglobosa</i>
赣两优 2 号 gy2	半冬性	低抗	低抗
滁核杂 1 号 ch1	半冬性	高感	低抗
中油 5628 zy5628	半冬性	中感	高感
滁杂油 3 号 cz3	半冬性	中感	低抗
华双 5 号 hs5	半冬性	中感	低抗
皖油 16 wy16	半冬性	低感	中感
皖油 20 wy20	半冬性	低感	中感
黄油 21 号 hy21	半冬性	高感	低感
扬油 6 号 yy6	半冬性	低感	中感
沪油 1 号 hy1	半冬性	高感	中感
沪油 15 号 hy15	半冬性	低抗	中感
沪油 17 号 hy17	半冬性	低感	中感
华协 1 号 hx1	半冬性	低感	低感
华协 102 hx102	半冬性	中感	低感
湘杂油 5 号 xz5	半冬性	中感	低感
苏油 1 号 sy1	半冬性	低感	低抗
核优 46 hy46	半冬性	低感	低感
核优 56 hy56	半冬性	低感	低感
秦杂油 3 号 qzy3	春性	低感	低感
秦优十号 qy10	半冬性	低感	中感
青杂 2 号 qz2	春性	高感	低抗
青杂 3 号 qz3	春性	中感	低抗
青杂 4 号 qz4	春性	中感	低抗
青杂 5 号 qz5	春性	高感	低抗
青油 14 号 qy14	春性	中感	中感
垦油 3 号 ky3	春性	高感	低抗
垦油 4 号 ky4	春性	高感	低抗
垦油 5 号 ky5	春性	高感	低抗
垦油 6 号 ky6	春性	中感	低抗
锡盟黄油菜 xmh	春性	中抗	低感
武川黄油菜 wch	春性	低感	低抗
化德黄油菜 hdh	春性	低抗	低感
察右中旗黄油菜 zqh	春性	低感	低感
新疆黄油菜 xjh	春性	低抗	低抗
石宝黄油菜 sbh	春性	低抗	低抗
Westar	冬性	高感	高感

由表 5 可以看出,不同油菜品种对黑胫病强、弱 2 种致病菌 (*Leptosphaeria maculans* 和 *Leptosphaeria biglobosa*) 的抗病性差异较大。对弱毒型病原菌 *Leptosphaeria biglobosa* 表现低抗的品种,却对多数强毒型病原菌表现感病。例如,在对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现低抗的 16 个品种中,仅 3 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现低度抗病,有 6 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现高度感病,5 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现中度感病。2 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现低度感病。反之亦然,在对 *Leptosphaeria maculans* 表现高度感病的 8 个品种中,6 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现低抗,

1 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现低度感病,1 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现中度感病。在对 *Leptosphaeria maculans* 表现中度感病 9 个品种中,5 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现低度抗病,比例为 55.56%。

供试的 35 个品种中含 19 个半冬性油菜品种,16 个春性油菜品种。半冬性油菜品种中 5 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现抗病,比例为 26.32%;2 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现抗病,比例为 10.53%。春性油菜品种中 11 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现抗病,比例为 68.75%;4 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现抗病,比例为 25%,即 75% 的春性油菜品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现感病。

2.2 抗性基因推导

比较主栽品种与鉴别寄主对 12 个黑胫病菌菌株的反应型(表 6,7),我国的 35 个主栽品种对 12 个菌株共产生了 17 个反应型,其中 12 个品种的反应型与个别鉴别寄主的反应型完全相同,18 个品种的反应型与鉴别寄主的反应型非常相近,5 个品种的反应型不同于任何鉴别寄主的反应型。依据基因推导法,在已知的黑胫病抗病基因中,基因 *Rlm1* ~ 9、*LepR1* ~ 3 多数以基因组合的形式分布于 30 个品种中,其中携带抗病基因 *Rlm3* 的品种所占比例最大,高达 82.9%;携带基因 *Rlm5* 的品种占 54.3%;携带基因 *Rlm8* 及 *LepR1* ~ 3 的品种占 45.7%;携带基因 *Rlm7* 的品种占 20%;携带基因 *Rlm2*、4、6、9 的品种占 14.3%;携带基因 *Rlm1* 的品种仅为 2.9%。

抗性基因推导,供试的 35 个主栽品种中有 20 个品种含有多个已知的抗病基因,仅含 1 个已知抗病基因的品种有 10 个;有 5 个品种未能推导出任何已知的基因。品种 gy2 与鉴别寄主 Columbus (含抗病基因 *Rlm1*、3) 产生的反应型完全相同;品种 zy5628、hx1、qz3 与鉴别寄主 156-2-1 (含抗病基因 *Rlm8*、*LepR1* ~ 3) 以及 99-150-2-1 (含单个抗病基因 *Rlm3*) 产生的反应型完全相同;品种 cz3、wy16、hx102 与鉴别寄主 Jet Neuf (*Rlm4*)、Bristol (*Rlm2*、9) 以及 Darmor MX (*Rlm6*、9) 产生的反应型完全相同;品种 hy21、xz5、qz4、qz5、ky4、ky5 与鉴别寄主 02-22-2-1 (*Rlm3*) 产生的反应型完全相同。因此推测,品种 gy2 可能含抗病基因 *Rlm1*、3;品种 zy5628、hx1、qz3 可能含抗病基因 *Rlm3*、8、*LepR1* ~ 3;品种 cz3、wy16、hx102 可能含有抗病基因 *Rlm2*、4、6、9。品种 hy21、xz5、qz4、qz5、ky4、ky5 可能含抗病基因 *Rlm3*。

表 6 含已知抗病基因的鉴别寄主对 12 个黑胫病菌株的反应

Tab. 6 Differential reactions of differential hosts possessing resistance gene after inoculation with 12 strains of *L. maculans*

品种 Cultivars	基因 Gene	油菜黑胫病菌株的反应型 Reaction of <i>Leptosphaeria maculans</i> strains											
		MB36	MB43	MB221	MB222	UK7.9	UK2.13	S1-18	D2.22	Exbor2	Ex22	Ex13	UK4.24
01-23-1-1	<i>Rlm7</i>	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R
JetNeuf	<i>Rlm4</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
Bristol	<i>Rlm2</i> 、 <i>9</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
Columbus	<i>Rlm1</i> 、 <i>3</i>	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
156-2-1	<i>Rlm8</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R
99-150-2-1	<i>Rlm5</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R
02-22-2-1	<i>Rlm3</i>	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R
Darmor MX	<i>Rlm6</i> 、 <i>9</i>	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
Westar	None	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

注：R. 抗病；S. 感病。
Note：R. Resistance；S. Susceptible.

表 7 35 个油菜品种对 12 个油菜黑胫病菌菌株的反应型

Tab. 7 Reaction of 35 cultivars to 12 strains of *Leptosphaeria maculans*

品种 Cultivars	反应型 Reaction type												推导基因或基因组合 Postulated gene or gene combination
	MB36	MB43	MB221	MB222	UK7.9	UK2.13	S1-18	D2.22	Exbor2	Ex22	Ex13	UK4.24	
gy2	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>Rlm1</i> 、 <i>2,3,4,5,6,7,8,9</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>
chl	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>Rlm3</i>
zy5628、hx1、qz3	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	<i>Rlm3</i> 、 <i>5,8</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>
cz3、wy16、hx102	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>Rlm2</i> 、 <i>3,4,5,6,9</i>
hs5、hy1	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>Rlm3</i>
wy20	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>Rlm2</i> 、 <i>3,4,5,6,8,9</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>
hy21、xz5、qz4、qz5、ky4、ky5	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	<i>Rlm3</i>
yy6、hy15、hy17、hy56、qzy3	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	<i>Rlm3</i> 、 <i>5,8</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>
syl	S	S	R	S	R	S	R	R	R	S	R	R	None
hy46	S	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	None
qy10	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	<i>Rlm3</i> 、 <i>5,8</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>
qz2	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	None
qy14	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	None
ky3	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	R	None
ky6	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	<i>Rlm3</i>
xmh、wch、hdh、zqh、sbh	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	<i>Rlm3</i> 、 <i>5,7,8</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>
xjh	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	<i>Rlm3</i> 、 <i>5,7,8</i> 、 <i>LepR1 ~3</i>

同时试验中发现,所有的已知黑胫病抗病基因 *Rlm1 ~9* 及 *LepR1 ~3* 均对菌株 MB36、MB222 表现感病。而内蒙古的 5 个农家品种 (xmh、wch、hdh、zqh、sbh)对菌株 MB36、MB222 表现抗病,11 个主栽品种 chl、wy20、yy6、hy15、hy17、hy56、qzy3、hy46、qy10、ky6、xjh 对菌株 MB222 表现抗病。因而推测这些品种可能含有其他的未知抗病基因。

2.3 聚类分析

采用 NTSYSpc2.10 软件对 35 个主栽品种、8 个鉴别寄主以及高感对照的抗性表型进行聚类分析,结果见图 1,从图中可以看出,相似系数为 0.29 时,即可将高感对照与 35 个供试品种及 8 个鉴别寄主相区分。相似系数约为 0.83 时,抗性鉴定的 44 个

油菜品种聚为 7 个类群,第Ⅰ类群由 (gy2、Columbus、cz3、wy16、hx102、yy6、hy15、hy17、hy56、qzy3、xjh)等 22 个品种组成,第Ⅱ类群由 (chl、hs5、hy1、qy14)等 11 个品种组成,第Ⅲ类群由 (syl、ky3、qz2) 3 个品种组成,第Ⅳ类群由 (ky6) 1 个品种组成,第Ⅴ类群由 (xmh、wch、hdh、zqh、sbh)5 个品种组成,第Ⅵ类群由 (hy46) 1 个品种组成,第Ⅶ类群仅含高感对照 (Westar)1 个品种。聚在第Ⅰ类群中的主栽品种可能携带多个抗病基因,且多数以基因组合形式存在。在Ⅱ类群中,抗性基因推导这些品种中除 qy14 外,其余 10 个品种都只含有 *Rlm3* 这个抗病基因,即聚在第Ⅱ类群中的主栽品种可能只含有单个抗性基因。聚在第Ⅲ类群、第Ⅳ类群、第Ⅵ类群中的

品种不含任何抗性基因。聚在第 V 类群中品种可能含有 (*Rlm3*、5、7、8, *LepRI* ~ 3) 等抗病基因。在相似系数为 0.91 时,44 个品种聚为 17 个类群,这与抗

性基因推导中依据侵染型所推导的一致,即抗性基因推导中反应型相同或极为相似的品种各自聚为一类。

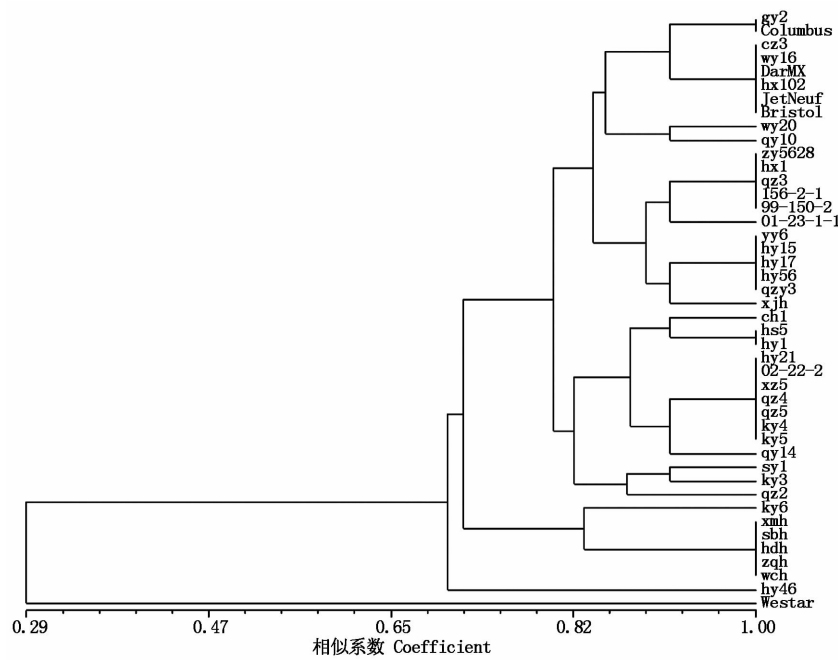


图 1 35 个油菜品种、8 个含抗病基因的鉴别寄主及高感品种 Westar 的 UPGMA 聚类图分析

Fig. 1 Dendrogram of 35 oilseed rape cultivars, 8 differential hosts with known resistance genes and the cultivar Westar

3 结论与讨论

我国不同产区的油菜品种对黑胫病强、弱 2 种致病菌 (*Leptosphaeria maculans* 和 *Leptosphaeria biglobosa*) 的抗病性差异很大。在供试的 35 个油菜品种中,对强毒型病原菌 *Leptosphaeria maculans* 表现抗病的品种有 6 个,比例为 17.14%,其中仅有 1 个品种对其表现中度抗病。对弱毒型病原菌 *Leptosphaeria biglobosa* 表现抗病的品种有 16 个,比例为 44.4%。同时还发现,多数对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现抗病的品种却对 *Leptosphaeria maculans* 表现感病,供试的 35 个品种中,仅有 3 个品种同时对 *Leptosphaeria maculans* 和 *Leptosphaeria biglobosa* 2 种病原菌表现低度抗性。

19 个半冬性油菜品种中,5 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现抗病,2 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现抗病。16 个春性油菜品种中,11 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现抗病;4 个品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现抗病。即 75% 的春性油菜品种对 *Leptosphaeria maculans* 表现感病。这与 Rouxel 等^[12] 进行抗性资源筛选的试验结果相一致。Rouxel 等采用子叶穿刺接种鉴定法,对 453 份甘蓝型油菜 *B. napus* 种质资源,主要针对包括 *Rlm1*、*Rlm2* 和 *Rlm4* 等在内的几个抗病基因进行了广泛的黑胫病抗性筛选,试验发现黑胫病抗性在 *B. napus* 春

油菜和冬油菜品种上存在着广泛的变异,65.7% 的春油菜品种对接种的所有病原菌表现感病。

供试的 35 份油菜品种中含 6 个芥菜型油菜品种,这 6 个芥菜型油菜品种中 4 个对 *Leptosphaeria maculans* 表现抗病,比例为 66.67%;3 个品种对 *Leptosphaeria biglobosa* 表现抗病,比例为 50%。即芥菜型 (*B. juncea*) 油菜种质资源对黑胫病表现较高的抗性。这亦与前人的研究结果相似。如有研究者认为芸苔作物的 B 基因组物种 (*B. nigra*、*B. juncea* 和 *B. carinata*) 在整个生育期间都有较高的黑胫病抗性表现。在澳大利亚,无论是幼苗阶段还是成熟阶段, *B. juncea* 对黑胫病抗性都比 *B. rapa* 和 *B. napus* 强^[13]。Purwantara 等^[14] 通过子叶及茎秆接种来筛选鉴定 *B. juncea* 和 *B. carinata* 的抗病种质,发现供试的 92 个 *B. juncea* 株系尽管都有黑胫症状出现,但抗性水平皆比抗病的甘蓝型油菜品种 Dunkeld 高。

同时,本研究推导了我国部分油菜品种的抗病基因。初步探明了我国部分油菜品种的抗病基因现状,30 个品种可能含有已知的黑胫病抗病基因,且多数以基因组合形式存在,其中内蒙古的 5 个农家品种和 11 个主栽品种可能含有新的抗病基因。

应用基因推导法可以在短期内获得大量的寄主植物和病原物的遗传信息。但由于试验中对单基因系有毒性的菌株较少,因而未能很好的将这些抗病

基因加以区分。同时基因推导法也存在着一定局限性,它只能提供可能的结果,其结果还需进一步用常规遗传学的方法加以验证。尤其是那些对所有菌系都有抗性的抗病基因,基因推导法只能发现它们是否存在,而不能将它们区分开来。而恰恰这些基因才是抗病育种中最有利用价值的基因,因此,对这类抗病基因应该进一步展开更为深入的研究,并结合生产实际,进行成株抗性基因的鉴定和利用研究。

我国是白菜型和芥菜型油菜的起源地,具有非常丰富的野生芸薹属多样性资源材料。这些资源材料中可能蕴藏着非常丰富的抗黑胫病基因资源而却并未被发现、有效的开发利用,如能提早在这些资源中寻找出一些新的抗源,并对这些新抗源展开系统研究,并在将来可以加以利用,这不仅拓宽了油菜抗黑胫病育种中抗源的选择范围,也为抗病品种的培育提供了丰富的抗源和更为广泛的抗病基因选择余地。本研究通过子叶穿刺接种法鉴定了部分资源材料,筛选、发掘油菜苗期抗性的新基因源,为今后指导我国油菜抗黑胫病的品种选育、抗源材料利用以及品种的合理布局奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] 刘 泽. 农作物病害之研究——油菜黑胫病害[M]. 光明日报出版社,2010.
- [2] Fitt B D L, Brun H, Barbetti M J, *et al.* World-wide importance of *Phoma* stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*) [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2006(114): 3 – 15.
- [3] Zhou Y, Fitt B D L, Welham S J, *et al.* Effects of severity and timing of stem canker (*Leptosphaeria maculans*) symptoms on yield of winter oilseed rape (*Brassica napus*) in the UK [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1999(105): 715 – 728.
- [4] Mayerhofer R, Good A G, Bansal V K, *et al.* Molecular mapping of resistance to *Leptosphaeria maculans* in Australian cultivars of *Brassica napus* [J]. *Genome*. 1997(40): 294 – 301.
- [5] Pilet M L, Delourme R, Foisset N, *et al.* Identification of loci contributing to quantitative field resistance to blackleg disease, causal agent *Leptosphaeria maculans* (Desm. Ces. et de Not.), in winter rapeseed (*Brassica napus*) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998(96): 23 – 30.
- [6] Rimmer S R. Resistance genes to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus* [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2006(28): 288 – 297.
- [7] Balesdent M H, M J, Li H, *et al.* Analysis of *Leptosphaeria maculans* race structure in a worldwide collection of isolates [J]. *Phytopathology*, 2005(95): 1061 – 1071.
- [8] Delwiche P A. Genetic aspects of blackleg (*Leptosphaeria maculans*) resistance in rapeseed (*Brassica napus*) [D]. Madison: University of Wisconsin, 1980, 144.
- [9] Loegering W Q. The relationship between host and pathogen in stem rust of wheat [J]. *Hereditas supp*, 1966, 12: 167 – 177.
- [10] Luig N H. A survey of virulence genes in wheat stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* [J]. *Journal of Plant Breeding*, 1983(11): 24 – 26.
- [11] Statler G D. Probable genes for leaf rust resistance in several hard red spring wheats [J]. *Crop Science*, 1984(24): 883 – 886.
- [12] Rouxel T, Willner E, Coudard L, *et al.* Screening and identification of resistance to *Leptosphaeria maculans* (stem canker) in *Brassica napus* accessions [J]. *Euphytica*, 2003(27): 145 – 149.
- [13] Li C X, Wratten N, Salisbury P A, *et al.* Response of *Brassica napus* and *B. juncea* germplasm from Australia, China and India to Australian populations of *Leptosphaeria maculans* [J]. *Australian Plant Pathology*, 2008(37): 162 – 170.
- [14] Purwantara A, Salisbury P A, Burton W A, *et al.* Reaction of *Brassica juncea* (Indian mustard) lines to Australian isolates of *Leptosphaeria maculans* under glasshouse and field conditions [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1998(104): 895 – 902.