

甘蓝根肿病抗性遗传规律的研究

司 军¹ 李成琼^{1,*} 肖崇刚² 任雪松¹ 王小佳¹⁽¹⁾ 西南农业大学园艺园林学院, 重庆 400716; ⁽²⁾ 西南农业大学植物保护学院, 重庆 400716)

摘 要: 采用 4×4 完全双列杂交的方法, 对甘蓝苗期根肿病抗性遗传规律进行了研究。结果表明: 抗病性受 3 对以上基因控制, 为不完全隐性, 回交效应极显著, 正反交效应差异不显著, 呈现核遗传, 细胞质的作用不明显。甘蓝对根肿病抗性的狭义遗传力较高。一般配合力和特殊配合力均较重要, 符合“加性—显性”模型, 加性效应是主要的。这种抗性表现在亲代和 F_1 代间存在极显著正相关, 呈现出数量性状遗传的特点。

关键词: 甘蓝; 根肿病; 抗性; 双列杂交; 遗传规律

中图分类号: S 635 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 06-0658-05

甘蓝根肿病是由 *Plasmodiophora brassicae* 浸染引起的一种世界性病害, 在我国北至黑龙江, 南至广东、广西均有分布。该病主要发生在寄主根部, 被害根系由于病菌的刺激作用, 其薄壁细胞大量分裂和增大而形成肿瘤, 可导致作物产量严重下降, 甚至全部失收^[1]。国外在根肿病的抗病遗传方面做了不少研究, 但结论不太一致。一般认为, 甘蓝对根肿病的抗性为数量遗传。J. D. Vriesenga 等曾报道甘蓝对根肿病的抗性受两个基因控制, 一个为隐性, 另一个为不完全显性^[2]。Chiang 发现, 欧洲油菜 (*Brassica napus*) 中对芸薹根肿菌 1 和 3 小种的抗性受单一显性基因控制, 对 5 小种的抗性受两个隐性基因控制^[3]。Standberg 发现在大白菜中有抗 6 和 7 小种的显性基因^[4]。英国的 Grute 等在研究了 3 种芸薹属植物基因型与芸薹根肿病菌的某些菌株之间的关系后认为, 油菜和芜菁对不同菌株的抗性是不同的, 可能由寡基因控制, 与基因对基因假说完全一致, 与此相比, 大多数甘蓝基因型抗病性的主要成分看来是非分化的; 同时还发现抗病的油菜基因型和芜菁基因型之间可能存在共同基因^[5]。日本吉川等发现抗病芜菁 77b 的抗性是由一个显性基因控制, 抗病羽衣甘蓝 K269 的抗性是由一个隐性基因遗传的^[6]。

为了给甘蓝抗根肿病育种提供理论依据, 加速育种过程和改进育种方法, 本试验主要对甘蓝根肿病的抗性遗传规律进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 菌种和材料

由重庆市涪陵区农业科学研究所提供芥菜病根, 低温冷冻保存 (芸薹根肿病为专性寄生菌, 即不能在离体培养基上培养, 只能对根肿组织进行低温冷冻保存或活体保存)。供试材料由西南农业大学园艺系提供, 经多代人工控制自交, 抗病性稳定, 抗病自交系 A (南宝 F_{10})、A' (金春), 抗病性弱的自交系 B (23-6-57-4-14-2-4-3)、B' (小平头)。

1.2 方 法

2000 年春天, 采用 4×4 完全双列杂交, 人工去雄套袋隔离授粉获得亲本和 F_1 种子; 2001 年春天用人工控制自交和人工去雄套袋回交的办法, 获得 F_2 、 BC_1 种子, 秋天将 4 个亲本、 F_1 、 F_2 及 BC_1 育

收稿日期: 2002-12-13; 修回日期: 2003-05-06

基金项目: 国家“863”项目 (2001AA241121-02); 重庆市科委“十五”蔬菜育种攻关项目

* 通讯联系人 Corresponding author; Tel: (023) 68251611; E-mail: chqli@swau.cq.cn

苗并同时移栽定植在甘蓝根肿病接种苗圃。每个材料3次重复,每重复30株,随机排列,待苗长到3~4片真叶时,用1:20的根肿病根悬浮液(孢子浓度为 $3\sim4\times10^{10}$ 个 $\cdot\text{L}^{-1}$)进行灌根接种(休眠孢子的分离,采用根肿组织研磨、过滤、反复离心的方法,得到休眠孢子悬浮液),一个月左右调查发病情况,并计算病情指数。根肿病发病情况采用甘蓝根肿病田间病情分级标准进行分级(见下图1):0级,根系生长正常,无肿瘤;1级,主根不发病,部分侧根、须根上有较小的肿瘤;2级,主根发病较轻,微膨大,部分侧根、须根上有明显的肿瘤;3级,主根发病较重,异常膨大,龟裂,大部分侧根、须根上有明显的肿瘤;4级,根系上几乎无须根,主根异常膨大、龟裂。调查数据按 Griffing^[7]的方法I模式I分析双列杂交组合,抗根肿病的一般配合力效应和特殊配合力效应,按 Hayman^[8,9]的方法,通过 F_1 代双列表计算各阵列的方差 V_r ,各阵列与其共同亲本的协方差 W_r ,进行回归分析,并估算相应的遗传参数。

2 结果与分析

2.1 亲本、 F_1 、 F_2 的抗病性鉴定结果

苗期对4个亲本进行人工接种鉴定,经F值测定可知4个亲本材料间存在着显著差异。进一步对亲本抗病性进行了差异显著性分析,得知两个抗病亲本与两个感病亲本间抗病性差异极显著,而抗与抗、感与感亲本间抗病性差异不显著,这说明亲本遗传型对根肿病的抗病性存在着相对真实稳定的差异,故可作为遗传变异规律研究的试材进行遗传分析。对表1进行分析,可以得出以下结论:(1)双亲抗病的,其 F_1 代也抗病;双亲感病的,其 F_1 代也感病;抗病与感病亲本或感病与抗病亲本的 F_1 代表现中间偏感。将各组合的 F_1 代抗病性作为一个处理,把中亲值(MP)作为另一个处理,按两组成对数据平均数比较进行t测验,其t值为1.539, ($t_{0.05}=2.201$)没有达到显著水平,抗性比中亲值要小,但不会小于感病亲本,抗病性表现为不完全隐性。(2) F_2 代与 F_1 代的抗病性趋势是一致的,抗病 \times 感病或感病 \times 抗病的 F_2 代的抗性均高于 F_1 代的抗性(个别组合除外),这可能是由于一些抗病的微效基因纯合使整体抗性上升的缘故。(3)对表1数据进行相关系数及显著性测验,其中 $\overline{F_1}$ 与 \overline{MP} 的相关系数(r)为0.945,这说明甘蓝对根肿病的抗性在亲代与 F_1 代间存在高度正相关。

2.2 抗病性的回交效应

采用每个 F_1 的父本作为轮回亲本与 F_1 进行回交,其结果列于表2。

从下表2中可以看出,轮回亲本为抗病的, BC_1 抗病性都极显著地较 F_1 代的抗性高;而轮回亲本为感病的, BC_1 抗病性都极显著地较 F_1 代的

表1 苗期人工接种鉴定病情指数

Table 1 Resistance appearance of F_1 and F_2 through inoculation (disease index)

组合 Combination	中亲值 Mean of parents	F_1	F_2
小平头 Xiaopingtou \times 23-6-57-4-14-2-4-3	61.45	51.4	36.0
23-6-57-4-14-2-4-3 \times 小平头 Xiaopingtou	61.45	52.7	39.4
小平头 Xiaopingtou \times 南宝 F_{10} Nanbao F_{10}	37.15	38.9	21.6
南宝 F_{10} Nanbao F_{10} \times 小平头 Xiaopingtou	37.15	40.8	27.5
小平头 Xiaopingtou \times 金春 Jinchun	37.5	40.4	25.8
金春 Jinchun \times 小平头 Xiaopingtou	37.5	42.7	28.6
南宝 F_{10} Nanbao F_{10} \times 23-6-57-4-14-2-4-3	41.0	46.5	31.7
23-6-57-4-14-2-4-3 \times 南宝 F_{10} Nanbao F_{10}	41.0	47.1	27.8
金春 Jinchun \times 南宝 F_{10} Nanbao F_{10}	17.05	25.4	35.5
南宝 F_{10} Nanbao F_{10} \times 金春 Jinchun	17.05	27.5	37.2
23-6-57-4-14-2-4-3 \times 金春 Jinchun	41.35	43.7	34.1
金春 Jinchun \times 23-6-57-4-14-2-4-3	41.35	46.9	35.2

表2 回交一代与 F_1 代的病情指数比较

Table 2 Resistance comparison of first backcross generation and first hybrid generation (disease index)

组合 Combination	BC_1	F_1	$BC_1 - F_1$
23-6-57-4-14-2-4-3 \times 南宝 F_{10} Nanbao F_{10}	37.2	47.1	-9.9**
南宝 F_{10} Nanbao F_{10} \times 23-6-57-4-14-2-4-3	53.4	46.5	6.9**
23-6-57-4-14-2-4-3 \times 小平头 Xiaopingtou	59.8	52.7	7.1**
小平头 Xiaopingtou \times 23-6-57-4-14-2-4-3	57.9	51.4	6.5**
23-6-57-4-14-2-4-3 \times 金春 Jinchun	35.1	43.7	-8.6**
金春 Jinchun \times 23-6-57-4-14-2-4-3	55.7	46.9	8.8**
小平头 Xiaopingtou \times 金春 Jinchun	33.2	40.4	-7.2**
金春 Jinchun \times 小平头 Xiaopingtou	52.1	42.7	9.4**
小平头 Xiaopingtou \times 南宝 F_{10} Nanbao F_{10}	24.8	38.9	-14.1**
南宝 F_{10} Nanbao F_{10} \times 小平头 Xiaopingtou	51.7	40.8	10.9**
金春 Jinchun \times 南宝 F_{10} Nanbao F_{10}	20.1	25.4	-5.3**
南宝 F_{10} Nanbao F_{10} \times 金春 Jinchun	18.2	27.5	-9.3**

$LSD_{0.01}=0.24$ 。

抗性低;进一步说明抗病性主要是核基因控制。

2.3 抗性配合力的方差分析

4个亲本材料按照 Griffing 方法 I、模型 I 配成 $P^2 = 16$ 双列, 对其进行 3 次重复的完全随机区组试验中, 得到抗性鉴定结果。以小区为单位分别作方差分析, 结果表明, MS (基因型) 的 F 值为 28.502^{**} ($F_{0.01} = 2.74$), 达极显著水平, 说明不同遗传型对根肿病的抗性差异极为显著, 而区组的 F 值为 1.954 ($F_{0.05} = 3.32$), 差异不显著, 故可进行配合力方差分析, 其结果见表 3。

从表 3 可以看出, 一般配合力 (G.C.A) 的 F 值为 2873.11^{**} ($F_{0.01} = 4.51$), 特殊配合力 (S.C.A) 的 F 值为 43.00^{**} ($F_{0.01} = 3.47$), 其差异均达到极显著水平。这说明两种配合力对甘蓝根肿病抗病的性都重要, 而从二者的比值来看, $G.C.A/S.C.A = 66.81$, 一般配合力远大于特殊配合力, 基因的加性效应远大于非加性效应, 因此在抗根肿病育种时, 选择高抗自交系或品种比较容易, 选择免疫的一代杂种则比较难。

表 3 甘蓝对根肿病抗性配合力方差分析

Table 3 Variance analysis of combining ability of clubroot resistance in cabbage

变因 Variation	DF	SS	MS	F	$F_{0.01}$	$F_{0.05}$
一般配合力 General combining ability (G.C.A)	3	84676.21	28225.4	2873.11^{**}	4.51	
特殊配合力 Special combining ability (S.C.A)	6	2534.843	422.474	43.00^{**}	3.47	
反交效应 Reciprocal effect	6	27.53	4.588	0.467		2.42
误差 Error	30		9.824			
G.C.A/S.C.A ratio			66.81			

2.4 阵列方差 (V_r) 对阵列协方差 (W_r) 的回归分析

从表 3 可以看出, 反交效应差异不显著, 即正、反交之间无显著差异, 因而将 F_1 的抗性平均值合并, 且计算各阵列方差 (V_r) 与各阵列间的协方差 (W_r) 列于表 4。

依表 4 对双列杂交中抗性遗传行为是否符合 Hayman 的“加性—显性”模型进行了验证, 可以检验阵列协方差 (W_r) 与阵列方差 (V_r) 两者的差值 ($W_r - V_r$) 与各阵列是否有关。如果 $W_r - V_r$ 呈一致性, 表明假设有效, 反之可能存在非等位基因互作 (上位效应)。可用 $t^2 = [(n-2)/4] \cdot [V_{(V_r)} - V_{(W_r)}]^2 / [V_{(V_r)}V_{(W_r)} - COV_{(V_r, W_r)}^2]$ 统计量来检验是否 $W_r - V_r$ 表现一致性 [注, $V_{(V_r)}$: 阵列方差的方差; $V_{(W_r)}$: 阵列协方差的方差; $COV_{(V_r, W_r)}$: 阵列方差和阵列协方差的协方差], 因该统计量服从自由度为 $[4, (n-2)]$ 的 F 分布。经统计 t^2 测定值为 17.796 ($F_{0.05} = 19.25$) 呈现不显著, 表明符合“加性—显性”模型。这进一步说明甘蓝抗根肿病是以基因的加性效应与显性效应为主, 而非等位基因间的互作效应并不明显。

由表 4 计算阵列协方差 (W_r) 在阵列方差 (V_r) 上的回归系数 $b = 1.936$, 依据 $\bar{W} = a + b\bar{V}$ 求出回归截距 $a = \bar{W} - b\bar{V} = 7.661$, 其回归方程为 $W = 7.661 + 1.936V$, 据此得图 1。沿着回归线各点 (W_r, V_r) 的次序说明亲本显性基因和隐性基因的分布状况, 从而可判明区分抗、感亲本, 具有较多显性基因的亲本有较低的 W_r 和 V_r 值, 这些

表 4 各亲本阵列方差和阵列协方差

Table 4 Array variance and array covariance of all parents

亲本 Parent	W_r	V_r	$W_r - V_r$	$W_r + V_r$	Y_r
23-6-57-4-14-2-4-3	203.679	82.766	117.58	283.112	65.3
小平头 Xiaopingtou	215.209	103.879	111.33	319.088	57.6
金春 Jinchun	321.956	170.078	151.878	492.034	17.4
南宝 F_{10} Nanbao F_{10}	331.956	181.582	150.374	513.538	16.7

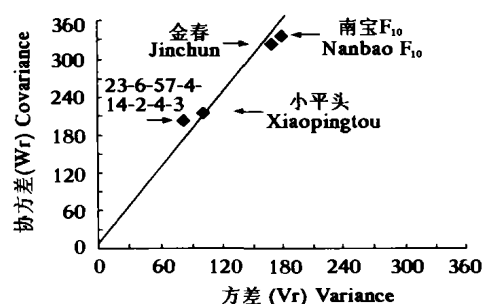


图 1 甘蓝根肿病抗性 (W_r, V_r)

Fig. 1 Clubroot resistance in cabbage (W_r, V_r)

点离原点较近。具有较多隐性基因的亲本有较大的 W_r 和 V_r 值, 这些点离原点较远。由图 2 可看出, 23-6-57-4-14-2-4-3、小平头离原点较近, 说明它们具有较多的显性基因, 且表现为相对感病; 而南宝 F_{10} 、金春离原点较远, 说明它们具有较多隐性基因, 且表现为相对抗病; 故可得出抗病性为隐性遗传的结论。

2.5 其他遗传参数估计

应用常规的分析方法获得了如下遗传参数: 加性效应方差 D 667.080, 显性效应方差 H_1 132.584, 负效基因引起的方差 H_2 120.044。 $D > H_1$, 说明甘蓝抗根肿病的遗传主要受加性效应控制, $(H_1/D)^{1/2} = 0.446 < 1$, 表明亲本中抗根肿病的抗性不存在超显性, 即表明感病亲本 \times 抗病亲本所有组合的 F_1 代不会出现抗性低于感病亲本的组合。 $H_2/4H_1$ 是衡量显性基因和隐性基因频率的平均值, 本试验 $H_2/4H_1 = 0.23 < 0.25$, 说明该组亲本中控制抗病性的显隐性基因频率存在显著差异。各阵列的 $W_r + V_r$ 与该阵列共同亲本间的相关系数为 -0.998 , 负值表明其含更多增效基因的亲本具有较低的 $W_r + V_r$ 值。既该亲本含有较多的显性基因。采用最少基因对数估算的公式^[10]: $K = (\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2 / 8 \cdot \delta d^2$ 对各组合进行了基因对数的估算, 其中 $\delta d^2 = V_{F_2} - (1/4V_{P_1} + 1/4V_{P_2} + 1/2V_{F_1})$ 得到 $K = 3.85$ 可估算控制抗病性状至少受 3 对以上基因控制, 抗病基因为隐性微效基因, 故呈现数量遗传的特点。为了探索表型选择抗病性在育种上的作用, 进行了遗传力的估算, 其狭义遗传力为 83.42%, 说明加性遗传变量比重较大, 故若在人工接种条件下, 根据表型抗病性去选择高抗单株, 将其抗病性递给后代的可能性较大, 因此选育出高抗系统并不十分困难。

3 讨论

从国外的报道看, *Plasmodiophora brassicae* 生理小种较多, 但我国目前还没有对此进行过研究, 本研究采用的病原是重庆市涪陵地区的芥菜上的病原 (同属于 *Plasmodiophora brassicae*), 另外, 甘蓝根肿病为专性寄生菌, 保存时对根肿组织进行低温冷冻保存或活体保存; 在试验室内先把芥菜病根制成孢子悬浮液, 用 Neubauer 血球计数计进行测定, 得到病根的孢子浓度为 $(6 \sim 8) \times 10^8$ 个 $\cdot g^{-1}$ 。

从育种角度出发, 甘蓝对根肿病的抗性虽然属于核遗传, 但尚不能排除细胞质的作用, 故在配制一代杂种时, 应以最抗亲本做母本较好。由于该抗性的遗传表现为不完全隐性, 所以欲选育出免疫的品种或一代杂种似乎是十分困难的; 可是在较多位点上把抗病基因聚集起来育出高抗、抗或耐病的品种或一代杂种却是比较容易的。由于抗病基因是不完全隐性基因, 以加性效应为主, 所以在进行抗病育种时, 以杂交后系统选育或同抗病亲本回交选择较易育成抗病品种; 又由于受两对以上基因共同作用, 呈现数量性状遗传的特点, 纯化抗病材料时, 应以人工控制自交抗病性纯化速度较快, 一般自交 4~6 代既可获得抗病性基本稳定的自交系。配制组合时最好双亲均抗根肿病。

国外对甘蓝根肿病的抗性遗传规律也进行了较多研究。国内还没有这方面的报道。在甘蓝根肿病抗性遗传方面有多人提出显性遗传。本文分析的结果抗性为隐性, 在一定程度上支持 Chiang 和吉川的观点, 但我们的试验只用了两个感病亲本, 两个抗病亲本, 病原只有 1 个, 加上物理、化学以及其他环境因素诱导的影响, 试验结论未必具有普遍性, 尚需进一步研究。

参考文献:

- 1 司 军, 李成琼, 任雪松, 等. 十字花科植物根肿病及抗根肿病育种研究进展. 西南农业学报, 2002, 15 (2): 69~72
- 2 李树德. 中国主要蔬菜抗病育种进展. 北京: 科学出版社, 1995. 702 页
- 3 Chiang M S, Crete R. Inheritance of clubroot resistance in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.). Canadian Journal of Genetics and Cytology, 1970, 12: 253~256
- 4 Strandberg J O, Williams P H. Inheritance of clubroot resistance in Chinese cabbage. Phytopathology, 1967, 57: 330
- 5 Crute I R, Gray A R, Crisp P, et al. Variation in *Plasmodiophora brassicae* and resistance to clubroot disease in Brassicas and allied crops - a

critical review. Plant Breeding Abstract, 1980, 50: 91 ~ 104

- 6 吉川宏昭. 日本十字花科作物的抗根肿病育种. 王素译. 中国蔬菜, 1989, (3): 55 ~ 56
- 7 Griffing, Bruce. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. Aust. Jour. Biol. Science, 1956, 9: 463 ~ 493
- 8 Hayman B I. The theory and analysis of diallel crosses. Genetics, 1954, 39 (8): 789 ~ 809
- 9 Hayman B I. The analysis of variance of diallel tables. Biometrics, 1954, 10 (9): 235 ~ 244
- 10 李加纳. 数量遗传学概论. 重庆: 西南师范大学出版社, 1995. 247 ~ 250

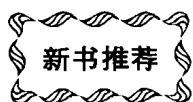
Inheritance of Resistance to Clubroot Disease in Cabbage

Si Jun¹, Li Chengqiong¹, Xiao Chonggang², Ren Xuesong¹, and Wang Xiaojia¹

(¹ College of Horticulture and Landscape, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China; ² College of Plant Protection, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China)

Abstract: By adopting complete diallel crossing method, inheritance of clubroot resistance in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) was studied in the seedling. The results showed the resistance was controlled by at least three pairs of nuclear genes, and was incompletely recessive. Effect of backcross was very significant and that of reciprocal cross was not. Resistance was dominated by nuclear gene, and effect of cytoplasm was very small. Narrow heritability was comparatively high. Both general combining ability (G.C.A) and special combining ability (S.C.A) were very significant. The resistance conformed to the additive-dominance model, and dominance was dominating. To some degree, the resistance to clubroot disease showed a quantitative character.

Key words: Cabbage; *Plasmodiophora brassicae*; Resistance; Diallel crossing; Inheritance



新书推荐

《英汉生物学词汇》(第二版)

本书是《英汉生物学词汇》1983年版的增修订本,是一部综合生物学各分支学科词汇的大型工具书。收有动物学、植物学、人体解剖学、组织胚胎学、微生物学、遗传学、细胞学、生物化学、生物物理学、时间生物学、生物工程、分子生物学、生态学等学科以及医学、农学的词汇,共约130 000条。定价:99元(含邮费)。

《汉英生物学词汇》

本书是一部汉英对照的中型工具书。收有动物学、植物学、人体解剖学、组织胚胎学、微生物学、遗传学、细胞学、生物化学、生物物理学、时间生物学、生物工程、分子生物学、生态学等学科以及医学、农学的名词,共约14万条。定价:106元(含邮费)。

《英汉园艺学词典》 章文才主编

该词典共收集专业词汇约两万条,按照全、新、准、精的收词原则,收录了园艺科学的基本词汇和与园艺科学有密切联系的基础科学和边缘科学词汇,其中从现代外文书刊中摘录的拼合新词约100多条。为了便于检索,本词典将主要的果树、蔬菜、花卉种名,按植物属分类汇编。可供我国园艺界的教学、科研、生产方面的专业人员和广大园艺工作者参考使用。定价:23元(含邮费)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街12号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部,邮编100081。

