

油桐抗枯萎病株系的选鉴研究*

花 锁 龙

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所)

摘要 10年研究的结果表明,油桐主要品种或类型,以及绝大多数抗病单株的自由授粉子代均不抗枯萎病。抗病单株 R44⑥自交一代, R44⑥×R53⑥杂交一代显著抗病。幼苗期伤根浇菌液接种法是一种早期有效的鉴别油桐抗病性的测定方法。抗病株系的氨基酸含量明显高于感病株系,而低于对枯萎病免疫的千年桐。

关键词 油桐;油桐枯萎病;株系选鉴

油桐枯萎病(*Fusarium oxysporum* f. sp. *aleuritidis*)长期以来毁灭了大批桐林,严重影响和阻碍了油桐生产的发展,也是我国桐油产量逐年下降的重要因素之一。浙江金华东方红林场千亩油桐良种基地,发病5年,基本被毁。由此可见良种必须抗病。不抗病的高产良种就难以立足和推广。实践证明,选育抗病品种确是防治枯萎病的根本途径。本文阐述和分析了10年来抗病品种、抗病株系的选育和鉴定结果。

1 材料与方 法

1.1 选育材料的来源

油桐枯萎病抗病选鉴的研究始于1979年,是在本所(浙江富阳)油桐(*Aleurites fordii*)品种园进行的。品种园建于1973年,面积30余亩,土壤属低丘红壤。共收集了全国油桐主产区的主要品种、类型和优良单株39个共717株。1977年个别品种开始发病,后逐渐蔓延全园。1979~1980年进行10天一次的发病观察,1981~1983年连续3年每年在3~4月(发病率最高接种期)用伤根浇菌液法进行一次人工接种,大量淘汰不抗病品种和单株。

1.2 选育程序

抗病品种自然选择和人工接种鉴定→抗病单株自由授粉实生子代的抗病选鉴→抗病单株自交和杂交子代的苗期选鉴→抗病子代的成熟期鉴定。

1.3 苗期抗病性测定

苗期抗病性测定在本所固定病圃中进行。一般于3月播种,5月下旬至6月初油桐苗真叶展开后进行伤根浇菌液法接种。具体方法是先配置好麦粒种菌液(麦粒菌种加清水按1:2的比例混合),在苗颈周围3cm处用小铁铲插入土中3~5cm,前后摇动寸许,倒入10ml菌液,拔出土铲,用土盖没接种孔即可。接种后半个月开始,每月二次观察发病情况,统计

本文于1990年4月23日收到。

*本研究项目得到浙江省林业厅种苗站的资助。

发病株数。年终按各品种或株系的发病率高低筛选。一般苗期发病率低于参试品种或株系平均发病率一半以上的品种或株系, 作为初定抗病株系进入成熟期抗病性鉴定。

1.4 成熟期抗病性考察

苗期筛选出的抗病株系的抗病苗木定植造林(或留圃), 继续观察各株系的发病情况, 最后加以统计和综合分析, 进一步确定抗病株系的抗病力。

1.5 抗病株系鉴定的试验设计和材料的统计分析

苗期测定和成熟期考察均采用随机区组设计, 4~6次重复, 按各小区的平均发病率加以比较分析。因为油桐枯萎病, 一般是一旦发病就全株枯萎死亡, 少数植株为半株发病或1~2个主枝发病, 1~2年内也即全株枯死。尤其是幼苗期一发病几天内就全株枯死。因此表示一个品种的抗感病程度, 用株发病率就能表达。当测试结果出现发病率明显低于对照和参试株系的平均发病率一半以上的则入选抗病株系, 对材料进行方差分析和显著性检验。为确定株系平均发病率差异是否显著, 采用SSR法(新复极差测验)进行测验。

1.6 抗感病株系氨基酸测定

为探索抗病株系抗病的内在机制, 对选鉴出的抗病株系, 以千年桐为抗病对照, 葡萄桐自交系和五爪桐×葡萄桐为感病对照, 随机选取各株系(或组合)20粒种子, 取其种仁, 粉碎后水解, 在Waters 244型液相色谱仪(日产)上测定各样品15种氨基酸含量, 分析氨基酸含量与抗病程度的相关关系。

2 结果与分析

2.1 油桐品种园所有品种、类型和单株的抗病性测定

从表1可以看出, 品种园39个品种、类型和单株系717株油桐, 1977~1979年自然发病36个共302株, 发病率分别为99.2%和42.1%; 经过3年连续人工接种, 发病率分别达100%和99.2%。717株油桐仅剩下6株没有发病。

浙江林学院经多年选育出的10个油桐优良家系品种, 经笔者子代苗期接种, 均严重感病。二年累计发病率达74.5%~88.2%。

1982年从全国主产区收集的9个主要品种的子代苗期接种测定结果也均严重感病^[2]。综合以上试验结果可以得出一个事实, 即要从目前的油桐品种类型中选出抗病品种类型是不大可能的。

2.2 抗病单株自由授粉子代的抗感病情况

1981年从品种园中选择当时没有发病的14个油桐单株, 以5株已发病但没有全株枯死的感病单株为对照, 分别采集其自由授粉种子, 于1982年播种育苗, 进行苗期接种测定。结果除R53①的发病率明显低于对照和参试株系平均发病率外, 其它株系均不抗病, 抗感病单株之间也无明显相关, 详见表2。

2.3 抗病单株自交和杂交子代的抗病株系筛选

1984年开展抗病单株的自交和杂交育种, 1985年进行苗期选鉴。24个组合中, 表现出抗病的有R44⑥自交一代(贵州米桐508号单株系)和R44⑥×R53⑨杂交一代(贵州米桐508×安徽歙县座桐单株)。6个重复小区, 小区平均发病率分别为9.5%和4.8%(对照葡萄桐发病

表1 油桐主要品种或单株系对枯萎病的抗性测定结果 (浙江富阳, 1983年)

品种名称	种植株数	发病株数			发病率 (%)	品种名称	种植株数	发病株数			发病率 (%)
		自然发病	人工接种	合计				自然发病	人工接种	合计	
四川米桐	33	20	13	33	100.0	广西三门江桐	16	11	5	16	100.0
四川饼桐	22	20	2	22	100.0	湖南葡萄桐	71	12	59	71	100.0
四川球桐	22	13	9	22	100.0	湖南罌子桐	11	10	1	11	100.0
四川万县柿饼桐6号	53	6	47	53	100.0	湖南多头米桐	11	11	0	11	100.0
四川万县米桐14号	11	3	8	11	100.0	湖南高脚米桐	11	10	1	11	100.0
浙江五爪桐	20	4	16	20	100.0	湖北九子桐	11	10	1	11	100.0
浙江座桐I。	16	7	9	16	100.0	湖北矮九子桐	11	6	5	11	100.0
浙江座桐I ₁	14	0	14	14	100.0	湖北五子桐	11	7	4	11	100.0
浙江吊桐II ₁	14	5	9	14	100.0	湖北青桐	11	4	7	11	100.0
浙江小葫芦桐II ₁	11	10	1	11	100.0	湖北黄桐	11	10	1	11	100.0
四川万县柴桐12号	11	6	5	11	100.0	陕西棉桃桐	26	3	23	26	100.0
贵州铜仁米桐	22	14	6	20	90.9	陕西柿饼桐	11	5	6	11	100.0
贵州米桐508号	23	3	19	22	95.6	陕西大米桐	11	9	2	11	100.0
云南象鼻桐	11	8	3	11	100.0	陕西小米桐	11	5	6	11	100.0
云南厚壳桐	11	7	4	11	100.0	河南西峡2号	15	0	15	15	100.0
广西四季桐	11	9	2	11	100.0	河南西峡10号	10	0	10	10	100.0
广西小潘桐	11	6	5	11	100.0	安徽歙县桐	11	0	9	9	81.8
广西对岁桐	22	15	7	22	100.0	江苏2、3号	45	7	37	44	97.8
广西老桐	11	8	3	11	100.0	江苏1、4号	27	2	25	27	100.0
广西龙胜对岁桐	26	16	10	26	100.0	合计39个品种或单株	717	302	409	711	99.2

表2 油桐抗感病单株自由授粉子代对枯萎病抗性的苗期测定

(浙江富阳, 1982~1983年)

单株代号	接种株数	发病株数	发病率 (%)	单株代号	接种株数	发病株数	发病率 (%)
*R53①	91	23	25.3	R54①	77	47	61.0
R53②	56	44	78.6	S54②	55	35	63.6
R53⑤	64	37	57.8	*R44⑩	79	44	55.7
R53⑥	37	26	70.3	*R44⑧	94	35	37.2
R53⑧	75	47	62.7	*R44②	88	45	51.1
*R53⑨	92	45	48.9	R44③	66	39	59.1
S53③	55	41	74.5	S44①	88	69	78.4
R50④	79	53	67.1	R19⑦	56	37	61.1
R50①	80	57	71.3	广西对岁桐混合种子(对照)	63	39	61.9
S50⑩	69	56	81.2	*五爪桐(对照)	84	46	54.8
S50③	50	31	62.0				

注:打“*”号的6个单株苗期接种后保留的抗病苗木是成熟期测定结果表5的材料。“R”字母带头的单株号表示抗病,“S”字母带头的表示感病。

率为42.3%)。同时参试的R53①(安徽歙县座桐单株)自由授粉一代也表现出明显的抗性,发病率为11.4%,详见表3。

表 3 三个油桐抗病株系苗期接种测定及留床 4 年的发病观察结果 (1985~1989年)

处 理 号	株 系 号	区 组 号	接 种 株 数	接种株历年发病率(%)					处 理 号	株 系 号	区 组 号	接 种 株 数	接种株历年发病率(%)						
				1985	1986	1987	1988	1989					合计	1985	1986	1987	1988	1989	合计
1	R44⑥ 自交代	I	5	40.0	0	0	0	0	40.0	23	R44⑥ × R53① 杂交代	I	7	28.6	14.3	14.3	0	14.3	71.4
		II	6	0	33.3	0	0	0	33.3			II	3	0	33.3	0	0	0	33.3
		III	7	0	42.9	0	14.3	0	57.2			III	2	0	0	50.0	0	0	50.0
		IV	6	16.7	33.3	0	0	16.7	66.7			IV	5	0	20.0	0	0	40.0	60.0
		V	3	0	0	0	33.3	33.3	66.7			V	3	0	33.3	0	0	0	33.3
		VI	5	0	20.0	20.0	0	0	40.0			VI	5	0	20.0	20.0	0	0	40.0
		小区平均 发病率	9.5	21.6	3.3	7.9	7.9	50.65	小区平均 发病率			4.8	20.1	14.1	0	9.0	48.0		
5	R53① 自由授 粉子代	I	5	40.0	40.0	0	0	80.0	24	葡萄桐 自由授 粉子代 (对照)	I	11	45.5	9.1	45.5	0	0	100.0	
		II	4	0	50.0	0	0	50.0			II	18	61.1	16.7	22.2	0	0	100.0	
		III	3	0	33.3	33.3	33.3	0			100.0	III	16	37.5	18.8	0	12.5	25.0	93.8
		IV	7	28.6	14.3	0	14.3	28.6			85.7	IV	17	58.8	29.4	0	11.8	0	100.0
		V	3	0	0	0	33.3	33.3			66.7	V	16	6.3	6.3	0	43.8	43.8	100.0
		VI	1	0	0	0	0	0			0	VI	18	44.4	11.1	11.1	5.6	22.2	94.4
		小区平均 发病率	11.4	22.9	5.6	13.5	10.3	63.7			小区平均 发病率	42.3	15.2	13.1	12.3	15.2	98.0		

为了检验 3 个株系(组合,下同)加对照 4 个处理的平均发病率差异是否显著和各个株系之间差异的显著性,将表 3 中 1985 年苗期各个株系的平均发病率进行方差分析和 SSR 测验。

方差分析结果表明,处理间 F 值达 12.50, 大于 $F_{0.01}(3,15) = 5.42$, 说明 4 个株系苗期的总体平均发病率差异极显著。

SSR 测验结果表明, 3 个株系分别与对照比较, 平均发病率差异极显著, 而 3 个抗病株系之间的差异则不显著。

2.4 3 个抗病株系 4 年成熟期发病考察结果

从表 3 可以看出 3 个株系与对照的 5 年累计平均发病率差异极显著。方差分析和 SSR 测验结果与 1985 年苗期的分析测验结果基本相符。R53①自由授粉子代抗性稍差。

2.5 苗期发病率高可以代表一个品种或株系对枯萎病抗性的强弱

经过苗期接种测定筛选出的抗病苗木, 在成熟期仍有不少植株感病死亡。成熟期阶段的发病率各个品种或株系之间没有显著差异。将表 3 中 4 个株系 1986~1989 年间的累计发病率进行方差分析, 结果 4 个株系的总体平均发病率不存在显著差异, F 值仅 0.74。这就说明经过苗期接种测定留下的抗病苗木再受病菌侵染的死亡率基本上是相同的, 而株系间的抗病性差异就取决于苗期发病率的高低。也就是说, 苗期接种测定结果就可以代表一个株系整个生命周期的相对抗性。

为了验证上述结论, 再从表 2 中选择 5 株打“*”号发病率较低的株系和 1 个对照(浙江五爪桐), 进行苗期和后 7 年(1983~1989年)成熟期发病率方差分析, 结果分别见表 4~6。

表 4 分析结果表明 6 个株系苗期的总体平均发病率差异极显著, 而表 5 和表 6 则表明, 后 7 年成熟期发病率差异是不显著的。进一步证明, 品种或株系的抗病力通过苗期接种就可可见分晓。

表4 6个油桐株系苗期接种发病率方差分析

变异来源	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值
株系间	4 098.94	5	819.77	4.32**
误差	3 419.58	18	189.98	
总变异	7 518.42	23		

注: $F_{0.05}(5, 18) = 2.77$; $F_{0.01}(5, 18) = 4.25$ 。

表5 6个油桐株系成熟期7年发病率统计

(1983~1989)

处理号	株系号	各区组发病率(%)						合计 (%)	平均发病率 (%)
		I	II	III	IV	V	VI		
1	R53①	66.7	83.3	50.0	100.0	66.7	66.7	433.4	72.2
2	R53⑩	50.0	100.0	50.0	75.0	75.0	100.0	450.0	75.0
3	R44⑥	83.3	66.7	66.7	83.3	66.7	100.0	466.7	77.8
4	R44②	50.0	75.0	100.0	100.0	75.0	100.0	500.0	83.3
5	R44⑩	75.0	25.0	75.0	75.0	100.0	100.0	450.0	75.0
6	五爪桐(CK)	75.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	575.0	95.8

表6 表5资料方差分析

变异来源	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值
区组间	3 188.67	5	637.73	1.98
株系间	2 261.56	5	452.31	1.40
误差	8 068.09	25	322.72	
总变异	13 518.33	35		

注: $F_{0.05}(5, 25) = 2.60$, $F_{0.01}(5, 25) = 3.66$ 。

2.6 种仁的氨基酸含量与株系抗感病之间的关系

抗病株系的氨基酸总量和谷氨酸、天门冬氨酸等氨基酸含量明显高于感病株系, 而低于免疫种千年桐(*Aleurites montana*), 详见表7。

3 讨论与建议

(1) 经过10多年的抗病选鉴实践, 证明子代苗期伤根浇菌液接种法, 是早期筛选油桐抗病株系的有效方法。苗期接种的发病率高可以表达油桐品种、类型或株系的抗感病程度。

(2) 10年筛选结果表明, 我国油桐主产区的主要栽培品种、类型和株系均不抗病, 人工接种筛选出来的抗病单株的自由授粉子代绝大多数也不抗病。以抗病单株为基础, 开展自交和杂交育种是当前选育油桐抗枯萎病品种的可行方法。

(3) 选育出的R44⑥自交一代和R44⑥×R53⑩杂交一代两个株系, 经过6年接种测定和观察, 其发病率在50%左右, 而对照感病品种几乎全部病死, 可见两个株系具有显著的抗病力。因此, 笔者认为只要在造林中加大造林密度1倍, 就可保持油桐正常林相和生产力。这两个抗病株系经过病区的多点测定, 在生产上具有一定的推广价值。

表7 油桐抗感病株系氨基酸含量(占含N量%)分析比较

氨基酸	R44⑥ 自交一代	R53① 自由授粉 一代	R44⑥× R53① 杂交一代	葡萄桐 自交一代 (感病)	五爪桐× 葡萄桐 (感病)	千年桐 (免疫种)
天门冬氨酸	3.612	3.077	3.350	2.503	2.324	4.507
苏氨酸	1.487	1.276	1.413	1.108	1.104	1.855
丝氨酸	1.944	1.827	1.963	1.544	1.314	2.567
谷氨酸	5.263	4.943	5.146	3.919	3.242	7.901
甘氨酸	1.716	1.574	1.755	1.369	1.172	2.274
丙氨酸	1.575	1.360	1.535	1.233	1.121	2.014
缬氨酸	2.313	1.667	1.835	1.351	1.178	2.923
甲硫氨酸	0.060					0.052
异亮氨酸	1.362	0.550	0.611	0.501	0.474	1.038
亮氨酸	2.608	1.011	1.123	0.934	0.859	1.844
酪氨酸	1.004	0.085	0.120	0.091	0.121	0.171
苯丙氨酸	1.715	0.162	0.310	0.162	0.192	0.194
组氨酸	1.638	1.316	1.394	1.168	1.158	1.695
赖氨酸	1.773	1.669	1.923	1.785	1.827	2.593
精氨酸	3.129	2.703	2.567	1.999	2.523	3.760
总量	31.129	23.222	25.045	19.667	18.519	35.336

注: 氨基酸含量由本所中心实验室测定。

(4) 两个抗病株系均是以R44⑥为母本的自交和杂交子代, 建立以R44⑥单株系为母本, R53①为父本的双系列无性系杂交种子园, 只要种子园的外界隔离条件好, 从种子园母本上采集的种子即为两个株系的混合种子, 应具有两个抗病株系的平均抗病力。

(5) 油桐去壳种仁的氨基酸含量和总量, 3个抗病株系明显高于感病株系, 且这种内部的生化指标与外部病状的表现是一致的。这一结果与棉花抗枯萎病品种的测定结果完全相同, 这就说明, 在一定程度上寄主氨基酸含量的高低可以表达一个油桐品种或株系的抗病力。这从另一方面说明了3个抗病株系选鉴结果的可靠性。但寄主氨基酸含量的高低与寄生菌入侵和繁殖的内在联系, 以及10多种氨基酸中哪种氨基酸起主导作用, 还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 花锁龙, 1981, 油桐枯萎病原菌的研究, 南京林产工业学院学报, 9(3): 45~53。
- [2] 花锁龙, 1983年, 油桐主要品种(类型)对枯萎病的抗性及其测定方法, 林业科技通讯, (8): 13~16。
- [3] 花锁龙, 1988年, 油桐枯萎病发病规律的研究, 中国林业科技论文选, 中国林业出版社, 409~415。
- [4] 黄骏麒等, 1986, 外源抗枯萎病棉DNA导入感病棉的抗性转移, 中国农业科学, (3): 32~35。

*Studies on the Selection and Appraisal of
Blight-disease-resistant Families of *Aleurites fordii**

Hua Suolong

(The Research Institute of Subtropical Forestry CAF)

Abstract Investigations conducted in the recent 10 years have showed that the major varieties or forms, as well as most of the open-pollination progenies from blight-disease-resistant parent individuals of *Aleurites fordii* were not tolerant to the blight disease infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *aleuritidis*. However, trees of the first generation from self-pollination of the resistant individual R44⑥ and from crossbreeding of R44⑥ × R53⑨ were found to possess an evident resistance to the disease. The early effective examination of the disease resistance was conducted by inoculation through application of the fungus suspension to wounded roots at the young seedling stage. It was also found that the content of amino acid in resistant trees was significantly higher than that in the susceptible ones, but lower than that in *A. montana* trees, which are immune from the wilt disease.

Key words *Aleurites fordii*; blight disease of tungoil tree; selection and appraisal of families

“华北石质山风沙防护区遥感综合调查研究”通过鉴定验收

“华北石质山风沙防护林区遥感综合调查研究”是国家“七五”攻关项目“遥感技术开发”的组成部分，由中国林科院资源信息所和北京农大畜牧系主持，全国19个单位参加。经过近4年的团结攻关，行程1.5万km，完成了9万km²的制图、7万km²的多学科数据量算分析，做了大量深入、细致的研究，超额完成了合同下达的各项指标。该课题于1990年12月31日在北京通过了由中国科学院资源环境科学局主持的鉴定和验收。鉴定委员有学部委员吴中伦、陈述彭等12名同行专家和教授。通过审查，他们认为：该项研究在科学性和实用性等诸方面均具特色，技术上取得了突破性进展；在航天遥感图象处理上，开拓了导向比值法，针对华北石质山区地形复杂、山势阴影较重的特点，通过纠正变换获得了清晰图象；在遥感信息系统建立上，融空间数据管理、数字图象处理、数据库管理和应用分析为一体，实现了从试验阶段到大区域性实用化的过渡；将数字分析模型应用到综合调查的各专题中，如草地的并行指示法分类、多种遥感资料进行蓄积估测与评定、立地类型的模糊评判等，完善了从定性到半定量、定量分析的遥感手段；提出了该地区土地利用方向、土地资源的空间分布及质量评价、宜林地立地类型划分及实用性图件，林业、草地建设的战略性意见，对今后该地区资源开发、环境保护将产生明显的社会效益。鉴定委员会和验收组一致认为该研究从总体上和实用性上均达到国际先进水平。在图象处理、防护林信息提取方面居国际领先地位。

(中国林业科学研究院资源信息研究所 袁帆先)