

芥菜抗芜菁花叶病毒种质资源的鉴定与评价

杨 媛¹ 蔡 丽² 刘淑晶¹ 姚培杰¹ 万正杰¹

1. 华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070;

2. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070

摘要 对 33 份不同变种的芥菜种质资源材料(大头芥 4 份、笋子芥 1 份、茎瘤芥 3 份、分蘖芥 6 份、大叶芥 11 份、结球芥 2 份、长柄芥 1 份、籽用芥 1 份、宽柄芥菜 4 份)进行人工机械摩擦接种,通过病情调查和抽薹期 ELISA 检测,最终筛选出 9 份抗病毒病材料。在病情调查中,17Y-7V、17Y-36V 病情指数都为 0,表现为免疫,其 ELISA 鉴定 D_P/D_N 比值小于 2.1,分别为 1.38、1.97,呈阴性;17Y-13V、17Y-20V、17Y-21V、17Y-31V、17Y-33V、17Y-34V、17Y-35V 病情指数分别为 2.86、5.33、2.00、8.00、5.93、5.71、2.00,表现为高抗,其 ELISA 鉴定 D_P/D_N 比值分别为 1.12、0.89、1.60、0.93、0.78、0.81、1.33,均小于 2.1,呈阴性。

关键词 芥菜; 病毒病; 抗性鉴定; TuMV; ELISA

中图分类号 S 637; S 436.37 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)02-0065-08

芥菜(*Brassica juncea* L.)属于十字花科(Cruciferae)芸薹属(*Brassica*)芥菜种(*juncea* Coss., $2n=36$, AABB),是由染色体组为 AA 的芸薹属白菜(*Brassica campestris*, $2n=20$)与染色体组为 BB 的黑芥(*Brassica nigra*, $2n=16$)天然杂交后再自然加倍而成的异源二倍体^[1]。它是十字花科芸薹属一种重要蔬菜,起源于我国,欧美各国极少栽培。我国是芥菜原生起源中心之一,其中西北地区是芥菜起源地,四川盆地是芥菜的次生起源中心^[2]。芥菜在我国种植历史悠久,种类繁多,栽培也十分广泛,除干旱和高寒地区外,全国各地均有种植。芥菜类蔬菜包括根用芥菜、叶用芥菜、茎用芥菜、薹用芥菜等,与其他十字花科蔬菜相比较,其加工产品更是出类拔萃^[3]。芥菜不仅可以作为鲜食蔬菜,也同样可以制作腌制加工产品,甚至部分地区的芥菜已经成为国家的驰名商标和名牌产品,已经成为我国出口创汇的“名特优产品”,如“涪陵榨菜”、“华容芥菜”、“襄阳孔明菜”等都为我国经济作出了巨大的贡献^[4-5]。

芥菜病毒病是芥菜类蔬菜最典型的病害,给芥菜类蔬菜产业带来较大的危害。前人调查了 28 个国家和地区的大田蔬菜病毒病危害情况,芜菁花叶

病毒(*Turnip mosaic virus*, TuMV)是病毒病中仅次于黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)、危害大田蔬菜的三大主要病害之一^[6]。尤其是对十字花科蔬菜, TuMV 能造成严重产量损失,直接影响农作物的产量和品质^[7]。在西安远郊区的十字花科蔬菜毒原鉴定中, TuMV 侵染的植株数量占绝对优势^[8]。在对湖北和安徽 2 省的 12 县市油菜产区进行病毒病种类调查中, TuMV 占样品总数的 90.7%^[9]。近期的调查发现,引起湖北省十字花科蔬菜病毒病的主要毒源也以 TuMV 为主,其检出率占采样总数的 85.62%^[10]。为了提高芥菜抗病性,减轻病毒病给芥菜类蔬菜造成的危害,筛选并应用抗病品种是防治病毒病最经济有效的途径。基于此,笔者选用芜菁花叶病毒,对 33 份优良的芥菜类蔬菜种质材料进行苗期接种抗性鉴定及 DAS-ELISA 检测鉴定以筛选抗性材料。

1 材料与方法

1.1 参试芥菜种质资源

本试验所用材料由华中农业大学园艺林学学院十字花科蔬菜遗传育种课题组提供。材料如表 1 所示。

收稿日期: 2018-09-14

基金项目: 国家特色蔬菜产业技术体系项目(CARS-24-A-06)

杨 媛, 硕士研究生, 研究方向: 蔬菜抗病鉴定与育种, E-mail: 1006961776@qq.com

通信作者: 万正杰, 教授, 研究方向: 蔬菜遗传育种, E-mail: wanzj@mail.hzau.edu.cn

表 1 参试的芥菜种质资源

Table 1 *Brassica juncea* germplasma used in this study

编号 Number	品种类别 Variety	品种类型 Type	拉丁学名 Latin literature name
17Y-1V	根用芥菜	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss.var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee
17Y-2V	根用芥菜	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss.var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee
17Y-3V	茎用芥菜	笋子芥	<i>B. juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang
17Y-4V	茎用芥菜	茎瘤芥	<i>B. juncea</i> var. <i>tumida</i> Tsen et Lee
17Y-5V	叶用芥菜	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee
17Y-7V	叶用芥菜	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee
17Y-8V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-9V	叶用芥菜	结球芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17Y-10V	叶用芥菜	结球芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort
17Y-11V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-12V	叶用芥菜	长柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>longepetiolata</i> Yang et Chen
17Y-13V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-14V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-15V	叶用芥菜	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee
17Y-16V	籽用芥菜	籽用芥	<i>Brassica juncea</i> Coss.var. <i>gracilis</i> Tsen et Lee
17Y-17V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-18V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-19V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-20V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-21V	根用芥菜	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss.var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee
17Y-22V	叶用芥菜	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee
17Y-23V	茎用芥菜	茎瘤芥	<i>B. juncea</i> var. <i>tumida</i> Tsen et Lee
17Y-24V	叶用芥菜	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17Y-27V	叶用芥菜	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17Y-28V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-29V	叶用芥菜	茎瘤芥	<i>B. juncea</i> var. <i>tumida</i> Tsen et Lee
17Y-30V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-31V	根用芥菜	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss.var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee
17Y-32V	叶用芥菜	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17Y-33V	叶用芥菜	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li
17Y-34V	叶用芥菜	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey
17Y-35V	叶用芥菜	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee
17Y-36V	叶用芥菜	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee

1.2 供试病毒来源

本试验所用纯化 TuMV 毒源由华中农业大学植物科学技术学院病理研究室提供,在大白菜幼苗上复活扩繁,保存于防虫网室内,供试验用。

1.3 试剂

常用化学试剂均购自武汉中科友生物科技有限公司;TuMV 双抗夹心 ELISA 检测试剂盒购自美国 Adgia 公司;病毒接种所用的磷酸缓冲液配方参照马伟伟^[1]的方法,调节 pH 至 7.2,定容至 1 L。

1.4 芥菜培养

2017 年 10 月 16 日,在华中农业大学蔬菜基地的防虫大棚内,将表 1 中所列的 33 个芥菜品种播种于 50 孔的穴盘中育苗,每个品种播 50 粒,幼苗于 2 叶 1 心时,每个品种选择 40 株生长健康、大小均一的幼苗移植于华中农业大学蔬菜育种分中心的防虫网室中,缓苗 1 周后进行病毒接种。

1.5 芥菜苗期病毒接种方法

在芥菜 3 叶 1 心期进行 TuMV 接种。新鲜病

叶按照 1:10(m/V)的比例加入 0.02 mol/L PBS 缓冲液研磨成匀浆,用纱布过滤出汁液,接种前在汁液中加入 0.1%(V/V)巯基乙醇。于待接种植株 2 片真叶正面均匀喷撒少许过孔径 0.002 mm 筛网的金刚砂,用手指沾取病毒汁液进行摩擦接种,每个品种接种 10 株并将所有接种的叶片做好标记,使用缓冲液接种作为对照(MOCK),试验设置 3 次重复。接种 4 周后进行发病情况调查。

1.6 接种植株 DAS-ELISA 法检测

人工摩擦接种后,抽薹期通过检测芥菜植株心叶的病毒含量(尽量采集有症状的叶片),进行抗病性鉴定。先用捕捉抗体包被酶联板,加入待检测植株新叶汁液,再加入碱性磷酸酯酶(AP)标记的 TuMV 抗体结合物,最后加入反应底物对硝基苯磷酸酯(pNPP),若有 TuMV 存在则会形成“抗体-抗原-酶标抗体”结合物,AP 催化底物 pNPP 则会呈现出黄色。通过测量各微量反应孔在 405 nm 下 D 值,计算 D_p/D_N 值(D_p/D_N :被测样品孔吸光度与阴性对照孔吸光度平均值之比)。 $D_p/D_N \geq 2.1$ 时,呈阳性, $D_p/D_N < 2.1$ 时,呈阴性。具体操作步骤参照 Agdia DAS-ELISA 检测试剂盒内的说明书进行。

1.7 病情调查分级标准

0 级:植株生长正常,无典型病毒病症状,不发病;1 级:植株心叶发病,出现轻微病毒病症状如明脉、皱缩或花叶;2 级:感病叶片数占全株叶片数的 1/3,出现花叶、明脉、皱缩症状,但对产量的影响不明显;3 级:植株病叶较多,约占全株叶片总数的 1/3~1/2,表现为叶不对称、病叶皱缩、花叶明显、植株生长缓慢,达到了影响产量的程度;4 级:植株病叶较多,约占全株叶片总数的 1/2 以上,病叶皱缩、花叶、扭曲显著,植株几乎停止生长、矮缩,显著影响产量;5 级:全株显现症状,无健康叶,叶片皱缩、褪绿、严重畸形,植株严重矮缩,产量受到严重影响,甚至毫无商业价值。

1.8 数据统计

根据植株发病情况与对照比较之后的调查结果,计算每个供试材料的发病率和病情指数,依据病情指数并参照蔡丽^[12]和许智颖^[6]的方法划分抗性等级。

免疫(I):病情指数=0;高抗(HR):0<病情指数≤10;抗病(R):10<病情指数≤30;感病(S):

30<病情指数≤50;高感(HS):病情指数>50。

$$\text{发病率} = \frac{\text{病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100\%$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{病株数} \times \text{相应病情数})}{\text{调查总株数} \times \text{最高病情数}} \times 100$$

2 结果与分析

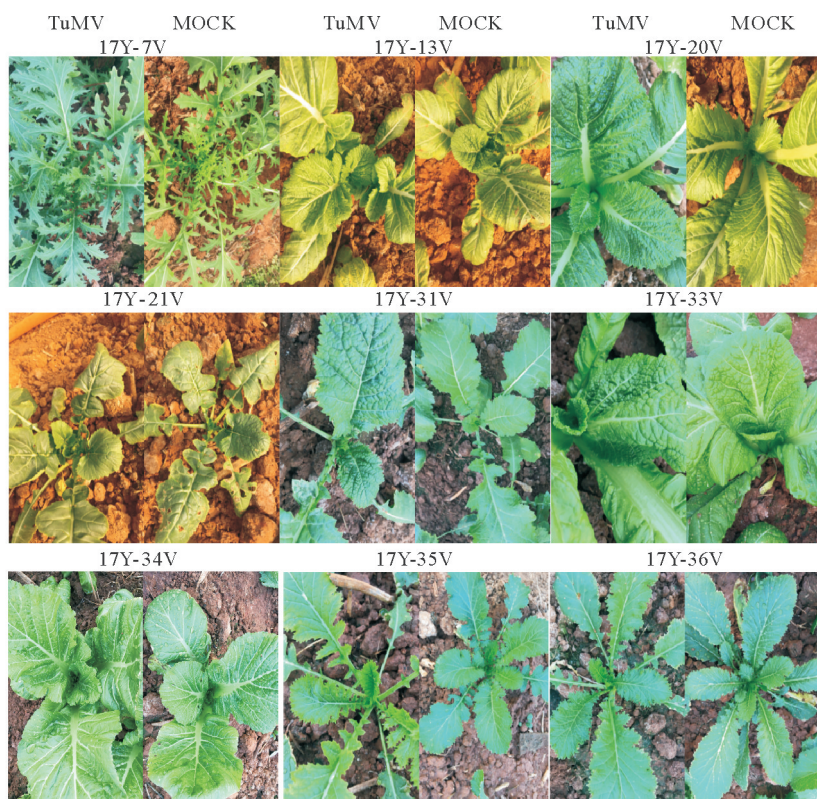
2.1 表型鉴定

对来自各地不同类型不同品种的 33 份芥菜材料进行苗期 TuMV 摩擦接种鉴定,4 周后调查植株发病情况。试验结果表明:参试品种对 TuMV 的抗性有明显差异,不同品种的发病率、病情指数和感病症状均有明显差异。通过观察接种植株与未接种植株的表型(图 1)差异,并对 33 份芥菜材料进行病情分级计算病情指数(表 2),结果显示:17Y-7V、17Y-36V 这 2 份材料对 TuMV 表现免疫;17Y-13V、

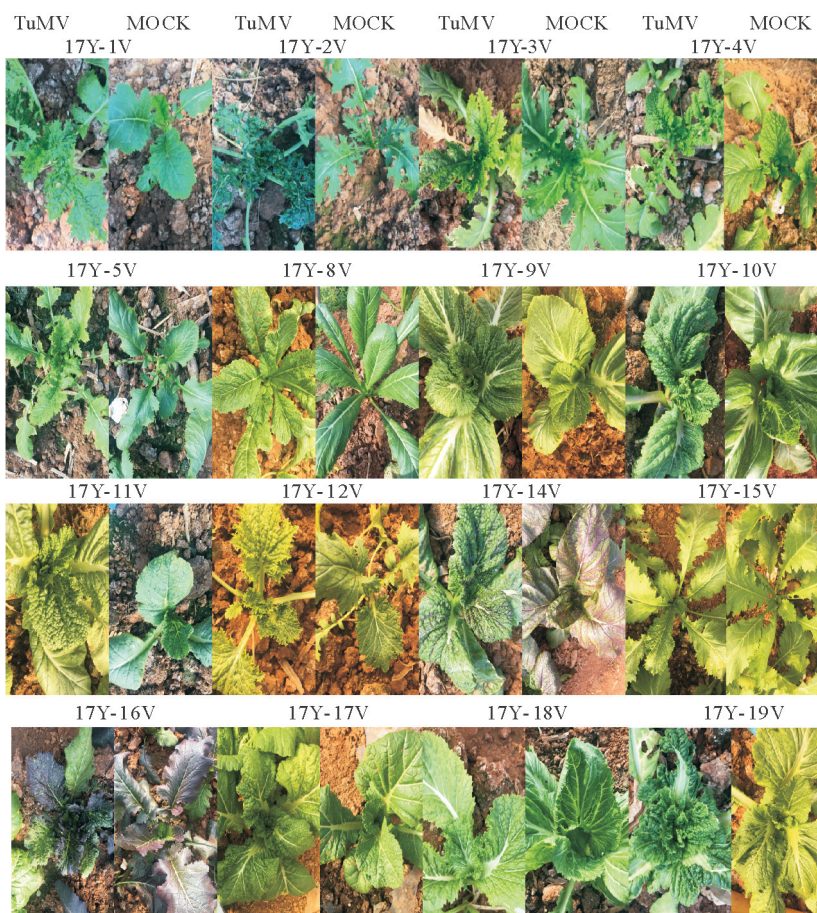
表 2 各芥菜品种对 TuMV 的抗性调查结果

Table 2 The results of *Brassica juncea* varieties resistance to TuMV

编号 Number	发病率/% Incidence rate	病情指数 Condition index	抗性等级 Resistance level
17Y-1V	87.50	41.25	S
17Y-2V	80.00	46.00	S
17Y-3V	96.67	39.33	S
17Y-4V	96.55	55.86	HS
17Y-5V	53.57	23.57	R
17Y-7V	0.00	0.00	I
17Y-8V	92.31	36.92	S
17Y-9V	96.55	46.21	S
17Y-10V	100.00	47.41	S
17Y-11V	51.72	15.86	R
17Y-12V	93.33	42.67	S
17Y-13V	14.29	2.86	HR
17Y-14V	87.10	49.68	S
17Y-15V	44.83	14.48	R
17Y-16V	78.79	56.36	HS
17Y-17V	100.00	65.71	HS
17Y-18V	41.38	13.10	R
17Y-19V	42.42	18.79	R
17Y-20V	16.67	5.33	HR
17Y-21V	10.00	2.00	HR
17Y-22V	93.10	44.14	S
17Y-23V	100.00	52.90	HS
17Y-24V	67.86	20.00	R
17Y-27V	53.85	19.23	R
17Y-28V	80.77	28.46	R
17Y-29V	80.00	71.00	HS
17Y-30V	71.43	25.71	R
17Y-31V	25.00	8.00	HR
17Y-32V	32.00	10.40	R
17Y-33V	22.22	5.93	HR
17Y-34V	25.00	5.71	HR
17Y-35V	10.00	2.00	HR
17Y-36V	0.00	0.00	I



A



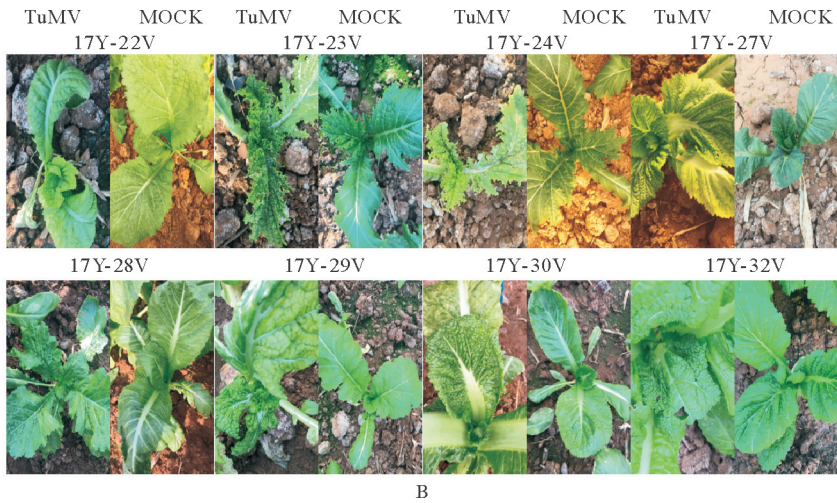


图 1 芥菜种质抗 TuMV 苗期表型鉴定

Fig.1 Identification of the germplasm of *Brassica juncea* at seedling stage

17Y-20V、17Y-21V、17Y-31V、17Y-33V、17Y-34V、17Y-35V 等 7 份材料表现为高抗;其余 24 份材料抗性不明显。抗病植株接种后发病症状轻或不发病,其长势与正常植株差异不明显,植株无明显表型变化,不影响产量(图 1A)。而感病植株初期表现出整株叶片呈现黄绿相间的花叶症状,叶不对称,叶片畸形皱缩(图 1B),后期植株生长受到抑制,严重矮化或整株死亡^[13-14]。

2.2 DAS-ELISA 鉴定

在苗期对 33 份芥菜品种接种 TuMV,抽薹期采集叶片利用 DAS-ELISA 法进行病毒检测。结果表明:有 11 份芥菜样品 $D_P/D_N < 2.1$,表现为抗病,其余 22 份样品 D_P/D_N 值均大于 2.1,抗性不明显或感病(图 2)。在 11 份抗病材料中,有 2 份材料(17Y-29V 和 17Y-32V)与表型鉴定结果不一致(表 3)。这 2 份材料在苗期接种鉴定中植株叶片有明显皱缩和花叶症状,呈感病症状,而在抽薹期检测则呈抗病反应。后期经过调查发现,17Y-29V 由于植株抗病能力差,接种植株全部死亡,用于 ELISA 检测样品采集于对照组对试验造成误导;而品种 17Y-32V 可能是栽培管理不当或本身幼叶就有轻微皱缩,或是苗期花叶症状轻,品种本身有抗病性,苗期虽有感病症状,但后期抗性增强,植株体内病毒含量逐渐下降,对生长并无影响。

3 讨 论

本研究对 33 份芥菜种质进行人工苗期接种鉴定,接种 4 周后感病植株表现出叶片花叶、卷曲、皱

缩、褪绿、叶不对称,植株畸形、生长停滞、矮化等现象,与潘春清等^[15]的研究结果一致,通过病情调查最终筛选出 9 份抗病品种。而通过 DAS-ELISA 检测鉴定筛选出 11 份抗病品种,2 种方法鉴定结果相差不大,综合这 2 种方法最终筛选到的抗病品种有 9 份,分别为 17Y-7V、17Y-13V、17Y-20V、17Y-21V、17Y-31V、17Y-33V、17Y-34V、17Y-35V 和 17Y-36V。其中 17Y-7V 的抗性较好,可作为抗病亲本进行后续试验。但是,2 种方法检测鉴定个别品种时,二者表现结果不一致,例如 17Y-29V 和 17Y-32V 这 2 份材料在人工接种 4 周后病情调查发现叶片有轻微的皱缩、卷曲、叶不对称的症状,根据病情指数测定结果属于感病植株;但是通过 ELISA 检测其 D_P/D_N 值分别为 0.88、0.81,均小于 2.1,属于抗病植株。针对这种情况,通过田间观察发现芥菜编号 17Y-29V 的接种植株已经全部死亡,所采集做 ELISA 鉴定的叶片属于假侵染叶片。而编号 17Y-32V 的芥菜生长情况良好,ELISA 检测时其 D_P/D_N 值小于 2.1,且植株内病毒含量与阴性对照相差无几。在病情调查时期,如果栽培管理情况不佳,或者药害、肥害、低温阴雨天气等多种原因会引起新叶皱缩现象。并且可能品种本身有抗病性,苗期虽有感病症状,但后期抗性增强,ELISA 检测的是植株叶片内病毒的积累量,若病毒在植株体内蔓延较慢,病毒含量逐渐下降且分布不均,检测叶片内含量较少,结果可能为阴性。

据报道,TuMV 可由 89 种蚜虫以非持久性的方式传播^[16-17],采用杀虫剂不仅不能快速杀死全部

蚜虫阻止传播,还会造成蚜虫产生抗药性以及环境污染。经国内外学者的研究,利用植物的天然抗性可有效地控制病毒病的发生,而且对生态环境没有破坏^[18],所以应用抗病品种是控制病毒病及其危害发生的最有效的途径,而鉴定筛选抗病种质资源是成功选育抗病品种的关键措施。植株的表型观察是

最直接有效的方法。据张成良等^[19]、孙伟等^[20]和梁新苗等^[21]分析,ELISA 技术的使用范围很广,并且具有特异性强、灵敏度高、快速、经济等特点。通过 ELISA 检测病毒含量高来判断某一植株的抗性特性,相对于常规的人工观察鉴定来说,具有更准确、客观的优点。但两种方法各有优缺点,因此,在

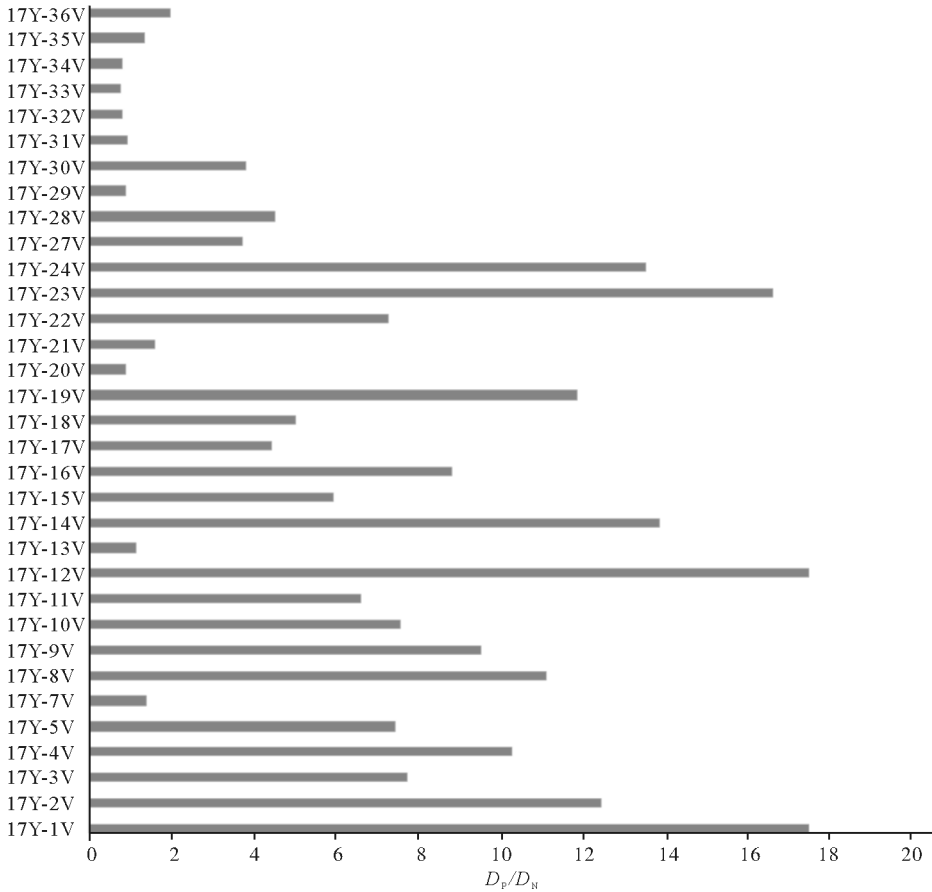


图 2 芥菜种质芜菁花叶病毒 ELISA 检测 D_p/D_N 的鉴定结果

Fig.2 Results of D_p/D_N value identification of mustard germplasm turnip mosaic virus ELISA

表 3 芥菜种质抗 TuMV 鉴定结果

Table 3 Determination of TuMV resistance of *Brassica juncea*

编号 Number	品种类型 Variety	拉丁学名 Latin literature name	表型观察 Phenotype	ELISA 检测 ELISA test	抗性 Resistance
17Y-1V	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarhiza</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-2V	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarhiza</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-3V	笋子芥	<i>B. juncea</i> var. <i>crassicaulis</i> Chen et Yang	+	+	S
17Y-4V	茎瘤芥	<i>B. juncea</i> var. <i>tumida</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-5V	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-7V	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee	-	-	R
17Y-8V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-9V	结球芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort	+	+	S
17Y-10V	结球芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>capitata</i> Hort	+	+	S
17Y-11V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-12V	长柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>longepetiolata</i> Yang et Chen	+	+	S

续表 3 Continued Table 3

编号 Number	品种类型 Variety	拉丁学名 Latin literature name	表型观察 Phenotype	ELISA 检测 ELISA test	抗性 Resistance
17Y-13V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	—	—	R
17Y-14V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-15V	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-16V	籽用芥	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>gracilis</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-17V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-18V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-19V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-20V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	—	—	R
17Y-21V	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee	—	—	R
17Y-22V	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>multiceps</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-23V	茎瘤芥	<i>B. juncea</i> var. <i>tumida</i> Tsen et Lee	+	+	S
17Y-24V	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li	+	+	S
17Y-27V	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li	+	+	S
17Y-28V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-29V	茎瘤芥	<i>B. juncea</i> var. <i>tumida</i> Tsen et Lee	—	+	S
17Y-30V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	+	+	S
17Y-31V	大头芥	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee	—	—	R
17Y-32V	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li	—	+	S
17Y-33V	宽柄芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>latipa</i> Li	—	—	R
17Y-34V	大叶芥	<i>Brassica juncea</i> var. <i>rugosa</i> Bailey	—	—	R
17Y-35V	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee	—	—	R
17Y-36V	分蘖芥	<i>Brassica juncea</i> Coss. var. <i>megarrhiza</i> Tsen et Lee	—	—	R

筛选抗病材料时,尽量多种方法结合,保证筛选鉴定的种质资源是抗病品种。

参 考 文 献

[1] YAO X C, GE X H, CHEN J P, et al. Intra-and intergenomic relationships in interspecific hybrids between *Brassica* (*B. rapa*, *B. napus*) and a wild species *B. maurorum* as revealed by genomic *in situ* hybridization (GISH)[J]. *Euphytica*, 2010, 173(1):113-120.

[2] 陈材林,周源,周光凡,等.中国的芥菜起源探讨[J]. *西南农业学报*, 1992,5(3):6-11.

[3] 孟秋峰.芥菜类蔬菜进化及分类研究[D].杭州:浙江大学, 2005.

[4] 万正杰,李海渤,姚培杰,等.芥菜类蔬菜杂种优势利用的研究进展与展望[J]. *华中农业大学学报*, 2018,37(1):115-120.

[5] 范永红,沈进娟,董代文.芥菜类蔬菜产业发展现状及研究前景思考[J]. *农学学报*, 2016,6(2):65-71.

[6] 许智颖.中国芥菜芜菁花叶病毒抗性的分子鉴定[D].杭州:浙江大学, 2006.

[7] 祝富祥.芜菁花叶病毒的分子变异及其 P3 蛋白在病毒与寄主互动中的功能研究[D].长春:吉林大学, 2016.

[8] 西北农学院植保系,西安市农科所.西安地区十字花科蔬菜病毒病的鉴定[J]. *微生物学报*, 1976(2):46-51.

[9] 蔡丽,许泽永,陈坤荣,等.湖北和安徽省油菜病毒病调查和病毒血清鉴定[J]. *植物保护*, 2007, 33(2):88-90.

[10] 张艳超,侯明生,蔡丽.湖北省蔬菜病毒病主要毒原种类检测[J]. *华中农业大学学报*, 2017,36(6):31-38.

[11] 马伟伟.芥菜抗芜菁花叶病毒种质鉴定与抗性基因定位研究[D].杭州:浙江大学, 2015.

[12] 蔡丽.油菜病毒株系鉴定和抗病相关基因研究及转基因飘逸评价[D].武汉:华中农业大学, 2008.

[13] 赵建平,周钊美,陈集双,等.芜菁花叶病毒(TuMV)特性的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2004, 31(6):100-104.

[14] 洪健,徐颖,黎英英,等.芜菁花叶病毒(TuMV)侵染对寄主植物光合作用的影响[J]. *电子显微学报*, 2002, 21(2):110-113.

[15] 潘春清,张俊华,崔崇士,等.芜菁花叶病毒研究现状[J]. *东北农业大学学报*, 2008, 39(1):129-133.

[16] TOMLINSON J A. Epidemiology and control of virus diseases of vegetables.[J]. *Annals of applied biology*, 1987, 110(3): 661-681.

[17] TAN Z, GIBBS A J, TOMITAKA Y, et al. Mutations in *Turnip mosaic virus* genomes that have adapted to *Raphanus sativus*[J]. *Journal of general virology*, 2005, 86(Pt 2):501-510.

[18] 王雪,刘玉梅,李汉霞,等.芸薹属作物抗芜菁花叶病毒育种研究进展[J]. *园艺学报*, 2005, 32(5):939-946.

- [19] 张成良, 张作芳. 酶联免疫吸附技术. III. 酶联免疫吸附法在检测植物病毒上的应用[J]. 植物检疫, 1982(3):15-33.
- [20] 孙伟, 焦奎. 酶联免疫吸附分析法在植物病毒检测中的应用[J]. 化学研究与应用, 2002, 14(5):511-514.
- [21] 梁新苗, 边勇, 汪万春, 等. ELISA 在植物检疫中的应用及其质量控制[J]. 检验检疫学报, 2015(4):64-67.

Identification and evaluation of resistance to *Turnip mosaic virus* in germplasm resources of mustard (*Brassica juncea*)

YANG Yuan¹ CAI Li² LIU Shujing¹ YAO Peijie¹ WAN Zhengjie¹

1.College of Horticulture and Forestry/Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2.College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Thirty three *Brassica* materials including four *Brassica juncea* Coss.var. *megarhiza* Tsen et Lee, one *B. juncea* var. *crassicaulis* Chen et Yang, three *B. juncea* var. *tumida* Tsen et Lee, six *Brassica juncea* var. *multiceps* Tsen et Lee, eleven *Brassica juncea* var. *rugosa* Bailey, two *Brassica juncea* var. *capitata* Hort, one *Brassica juncea* var. *longepetiolata* Yang et Chen, one *Brassica juncea* Coss.var. *gracilis* Tsen et Lee, four *Brassica juncea* var. *latipa* Li were inoculated with TuMV isolate. Through disease investigation and convulsion ELISA, nine mustard materials were found to be TuMV-resistant, laying the foundation for disease resistance breeding. The condition indexes of both of the numbers 17Y-7V and 17Y-36V in disease investigation were 0, showing immunity. Its D_P/D_N ratio of the ELISA test were less than 2.1, which were 1.38 and 1.97, showing negative performance. The condition index of the numbers 17Y-13V, 17Y-20V, 17Y-21V, 17Y-31V, 17Y-33V, 17Y-34V, and 17Y-35V in disease investigation were 2.86, 5.33, 2.00, 8.00, 5.93, 5.71, 2.00, showing high resistance. Its D_P/D_N ratio of the ELISA test were less than 2.1, which were 1.12, 0.89, 1.60, 0.93, 0.78, 0.81, and 1.33, showing negative performance.

Keywords *Brassica juncea*; virus disease; resistance identification; TuMV; ELISA

(责任编辑:张志钰)