

DOI:10.12403/j.1001-1498.20220382

山茶种质资源的花腐病抗性评价

刘莹¹, 耿显胜¹, 俞文仙², 李纪元^{1*}

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400; 2. 杭州市富阳区农业林业资源保护中心, 浙江 杭州 311400)

摘要: [目的] 建立山茶种质资源花腐病抗性评价技术, 评价山茶种质资源对花腐病的抗性水平。[方法] 采用 3 份抗性不同的种质资源设置时间梯度, 分析接种山茶叶杯菌菌丝块后不同培养时间对抗性评价的影响; 计算接种后山茶种质资源病斑的相对面积和病情指数, 制定花腐病病情严重度的分级标准和抗性评判标准, 建立山茶种质资源花腐病抗性评价技术; 利用该技术评价 56 份种质资源对花腐病的抗性。[结果] 接种菌丝块于山茶种质资源的离体花瓣, 并在接种后 72 h 统计病斑的相对面积, 能准确地对山茶种质资源进行抗病性评价。56 份种质资源抗性评价结果表明, 8 份种质资源为免疫或高抗花腐病、24 份种质资源为中抗、14 份种质资源为中感、10 份种质资源为高感。山茶属不同组间种质资源的抗性水平不同, 同一组内不同种间以及同一亲本的不同杂交组合之间的抗性水平也有差异。[结论] 本研究建立了山茶花腐病抗性评价技术, 明确了 56 份山茶种质资源花腐病的抗性水平, 筛选出了 8 份免疫或高抗花腐病的种质资源。

关键词: 山茶; 种质资源; 花腐病; 抗性评价

中图分类号: S763.15

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2023)04-0157-08

山茶是山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia*) 的常绿小乔木或灌木, 被尊为中国十大传统名花之一, 栽培历史 1 800 多年, 是世界著名的观赏花卉, 具有极高的观赏价值, 在城市绿化、庭院栽培、盆花生产等领域中得到广泛应用。山茶属植物绝大多数原产于中国, 在日本、越南等地也有少数物种分布, 在北美、欧洲、大洋洲 (澳大利亚、新西兰) 等地区广泛引种栽培^[1-4]。

山茶花腐病是由山茶叶杯菌 (*Ciborinia camelliae*) 引起的真菌性病害, 该病严重影响山茶花的观赏价值和经济价值^[5]。山茶叶杯菌主要危害花朵, 危害症状初期为褐色的斑点, 后期蔓延至整朵花, 致使受害花朵枯萎脱落。脱落后的花朵仍保持其形状和硬度, 后期在花瓣基部产生菌核, 菌核在夏、秋季处于休眠状态。翌年春天, 随着气温升高, 菌核萌发, 形成子囊盘和子囊孢子等有性世

代的结构, 子囊孢子成熟后从子囊盘内散发出来, 借助风力传播到健康的花朵上, 进行新一轮侵染^[6]。山茶花腐病最早于 1919 年在日本被发现^[7], 后来美国^[8]、新西兰^[9]和欧洲部分地区^[10-12]也陆续报道了该病害。鉴于其危害的严重性, 以及其扩散和蔓延的普遍性, 山茶叶杯菌在 2003 年被欧洲和地中海植物保护组织 (European and Mediterranean Plant Protection Organization, EPPO) 列入 A2 类检疫性有害生物^[13], 2013 年被列入我国进境植物检疫有害生物名录^[14]。我国虽然仅有该病害零星发生的报道^[2], 但实际上该病已在山茶花重要产区扩散和蔓延, 需引起高度重视。

新西兰的研究人员在 1999—2014 年采用孢子接种法对部分山茶种质资源进行了花腐病的抗性评价^[10,15-16], 但评价的种质资源多为国外品种且数量有限, 我国绝大多数种质资源的抗性水平尚不明

收稿日期: 2022-07-25 修回日期: 2022-09-15

基金项目: 国家重点研发项目课题 (2019YFD1001005) 和浙江省农业 (花卉新品种选育) 新品种选育重大科技专项课题 (2021C02071)。

* 通讯作者: 李纪元, 研究员, E-mail: jiyuan_li@126.com, 主要从事景观植物育种与栽培研究

确。本研究拟确定接菌后适宜的抗性评价时间点,制定山茶花腐病病情严重度分级标准和抗性评判标准,建立山茶种质资源花腐病抗性评价技术,筛选出高抗花腐病的山茶种质资源,研究结果为制定高效、安全的山茶花腐病的防控措施提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

委托中国工业微生物菌种保藏中心从荷兰乌特勒支的微生物菌种保藏中心(Centraalbureau voor Schimmelcultures, CBS)订购花腐病的病原菌山茶叶杯菌(*C. camelliae*, 编号 CBS 101527)。

本研究评价的56份山茶种质资源来源于中国林业科学研究院亚热带林业研究所国家山茶种质资源库(RISF)、金华市国际山茶物种园国家山茶种质资源库(JHICS)、浙江金华茶花苗圃(JHCNS)和肇庆棕榈谷花园有限公司生产基地(PETC)。

1.2 山茶花腐病抗性评价适宜时间点的确定

将山茶叶杯菌转接到PDA平板上,20℃下培养15d,用无菌打孔器从菌落的边缘打取直径为5mm的菌丝块,作为接种体。取无病虫害、无损伤、刚开放的攸县油茶(*Camellia yuhsienensis* Hance)、单体红山茶(*C. uraku* Kitamura)和皱果茶(*C. rhytidocarpa* Chang et S.Y. Liang)的离体花瓣作为试验材料,每种山茶取30片花瓣,设

置3个重复,每个重复10片花瓣。用无菌昆虫针在花瓣的中央刺6个针孔,在针孔处接上接种体,接菌后的花瓣摆放在铺有无菌湿润滤纸的培养皿中,培养皿置于人工气候箱内培养。人工气候箱培养条件设置为:温度20℃,湿度80%,光照强度4000 Lx,光周期12 L:12 D。试验以接种无菌水的离体花瓣为对照处理组。

接菌后0、24、48、72和96h,分别观察接菌组和对照组花瓣的发病情况,使用单反相机(SELP1650 SONY CORP)拍照。使用Image J软件测量病斑面积和花瓣的总面积,计算病斑的相对面积,依据病斑相对面积确定抗性评价适宜的时间点。

1.3 山茶花腐病病情严重度分级标准和抗性评判标准的制定

采集无病虫害、无损伤、刚开放的山茶花朵,采用1.2中的方法准备花瓣样品并接种山茶叶杯菌菌丝块,接菌后72h,使用单反相机拍照记录试验结果。采用Image J软件测量病斑面积和花瓣面积,计算病斑相对面积。

采用SPSS 23.0对所有测定样品的病斑相对面积值做频次分布统计。参考谢艺贤等^[17]病害抗性评价的分级标准,依据本研究中不同山茶种质资源病斑相对面积的频次分布数据,制定山茶花腐病病情严重度分级标准(表1)。

表1 山茶花腐病病情严重度的分级标准

Table 1 Severity grading criteria of *Camellia* germplasm resources to flower blight.

| 病害级别 Infection category | 发病情况 Disease conditions |
|-------------------------|--|
| 0级 Level 0 | 无病 No observable infection |
| 1级 Level 1 | 病斑相对面积为15%以下 The relative area of the lesion was less than 15% |
| 3级 Level 3 | 病斑相对面积为15%~25% The relative area of the lesion was 15%~25% |
| 5级 Level 5 | 病斑相对面积为25%~40% The relative area of the lesion was 25%~40% |
| 7级 Level 7 | 病斑相对面积为40%~75% The relative area of the lesion was 40%~75% |
| 9级 Level 9 | 病斑相对面积75%以上,花瓣腐烂坏死 The relative area of the lesion was more than 75%, the petal rot and necrosis |

接菌后72h的山茶花瓣,采用病情严重度分级标准确定其发病级别,计算山茶种质资源的病情指数(Disease index, DI)。依据病情指数的大小制定山茶种质资源花腐病抗性评判标准(表2)。

1.4 山茶种质资源花腐病抗性的评价

从1.1中描述的4个地点采集无病虫害、无损伤、刚开放的山茶种质资源的花朵,立即带回实验

室,用于种质资源的抗性评价。采用1.2中描述的方法准备花瓣样品并接种山茶叶杯菌的菌丝块,人工气候箱内培养72h后,拍照记录每片花瓣的发病情况。测量并计算病斑的相对面积,采用制定的病情严重度分级标准确定每片花瓣的发病级别,计算每份种质资源的病情指数,依据制定的抗性评判标准评判每份种质资源的抗性水平。病情指数

表2 山茶花腐病抗性评判标准

Table 2 Resistance evaluation criteria of *Camellia* germplasm resources to flower blight.

| 抗性水平 Resistance level | 病情指数 Disease index |
|----------------------------|--------------------|
| 免疫 (I) Immune | DI = 0 |
| 高抗 (HR) Highly resistant | 0 < DI ≤ 5 |
| 中抗 (MR) Medium resistant | 5 < DI ≤ 15 |
| 中感 (MS) Medium susceptible | 15 < DI ≤ 25 |
| 高感 (HS) Highly susceptible | DI > 25 |

DI的计算公式如下:

$$DI = \sum(R_i \times T_j) / 9N \times 100$$

式中, DI为病情指数; R_i 为病害级别; T_j 为病害级别的花瓣数; 9为最高病害级别; N 为某份种质资源调查的花瓣总数。

2 结果与分析

2.1 山茶花腐病抗性评价适宜时间点的确定

从接种后花瓣病害症状来看,不同山茶种质资源对花腐病的抗性存在明显的差异。攸县油茶接种

后0~96 h均未出现病斑,单体红山茶和皱果茶在接菌后0~24 h同样未观察到病斑,但随着时间的增加,病斑开始扩展(表3)。通过比较3份山茶种质资源在接菌后相同培养时间的病斑相对面积,发现在接菌后0 h和24 h,3份种质资源均未出现病斑,无法通过病斑的相对面积将它们的抗性水平区分开来;接菌后48 h,攸县油茶和皱果茶的病斑相对面积均为0.00%,也无法通过病斑相对面积将这两者的抗性水平区分开来;接菌后72 h和96 h,均是单体红山茶病斑相对面积明显大于皱果茶病斑相对面积,皱果茶病斑相对面积明显大于攸县油茶的病斑相对面积,即这2个时间点都能够通过病斑的相对面积将3份山茶种质资源的抗性水平区分开来。但是,接菌后72 h单体红山茶病斑相对面积是相同时间点皱果茶病斑相对面积的30.23倍,明显高于接菌后96 h单体红山茶和皱果茶病斑相对面积的比值,即在该时间点3份山茶种质资源的抗性水平区分最好。基于以上结果,本研究确定接菌后72 h为抗性评价的适宜时间点。

表3 3份种质资源接菌后不同时间点病斑相对面积

Table 3 The relative area of lesions at different time after inoculation of three germplasm resources.

| 种质资源 Germplasm resources | 病斑相对面积 The relative area of lesions /% | | | | |
|--|--|------|-------|-------|-------|
| | 0 h | 24 h | 48 h | 72 h | 96 h |
| 攸县油茶 <i>Camellia yuhsienensis</i> Hance | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 单体红山茶 <i>C. uraku</i> Kitamura | 0.00 | 0.00 | 14.45 | 55.93 | 61.11 |
| 皱果茶 <i>C. rhytidocarpa</i> Chang et S.Y. Liang | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.85 | 3.89 |

2.2 不同山茶种质资源花腐病抗性的评价

山茶种质资源的病情指数和抗病水平分析发现,不同山茶种质资源花腐病的抗性存在明显差异,攸县油茶的病情指数最小,为0.00,其对花腐病抗性水平为免疫,单体红山茶的病情指数最大,高达55.93,其对花腐病抗性水平为高感(表4)。本研究评价的56份山茶种质资源中,免疫和高抗种质资源共8份,占参试种质资源的比例为14.29%,包括攸县油茶、大花红山茶(*C. magniflora* Chang)、“彩丹”、杜鹃红山茶、“葡萄酒”、皱果茶、“迷茫的春天”和“夏梦文清”;中抗种质资源24份,占参试种质资源的比例为42.86%,包括“爱丽牡丹王”、“山崎大锦”、“夏日七心”、崇左金花

茶(*C. chuangtsoensis* S. Y. Liang et L. D. Huang)、长尾红山茶(*C. longicaudata* Chang et S.Y. Liang)、“春江虹蕊”、浙江红山茶(*C. chekiangoleosa* Hu)、“花牡丹”、“菊冬至”等;中感种质资源14份,占参试种质资源的比例为25.00%,包括“夏梦华林”、“园林之娇”、越南油茶(*C. vietnamensis* T. C. Huang ex Hu)、“夏日衍平”、“富士之峰”、“春节”、博白大果茶(*C. gigantocarpa* Hu et Huang)等;高感种质资源10份,占参试种质资源的比例为17.86%,包括“伊豆立寒”、中东金花茶(*C. achrysantha* Chang et S. Y. Liang)、“小玫瑰”、单体红山茶、红皮糙果茶(*C. crapnelliana* Tutch)、金花茶(*C. nitidissima* Chi)等(表4)。

表4 56份山茶种质资源的花腐病抗性水平

Table 4 The resistance levels of 56 *Camellia* germplasm resources to flower blight.

| 序号 Serial number | 种质资源 Germplasm resources | 拉丁学名 Latin names | 采样时间 Date of sampling | 地点 Locations | 组别 Categories | 病情指数 Disease index | 抗性水平 Resistance level |
|---------------------|-----------------------------|---|--------------------------|-----------------|------------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1 | 攸县油茶 | <i>C. yuhsienensis</i> Hance | 3月 March | RISF | 短柱茶组 Sect. <i>Paracamellia</i> | 0.00 | I |
| 2 | 大苞山茶 | <i>C. granthamiana</i> Sealy | 12月 December | JHCNS | 古茶组 Sect. <i>Archeacamellia</i> | 25.56 | HS |
| 3 | 皱果茶 | <i>C. rhytidocarpa</i> Chang et S.Y. Liang | 11月 November | RISF | 瘤果茶组 Sect. <i>Tuberculata</i> | 1.85 | HR |
| 4 | 博白大果茶 | <i>C. gigantocarpa</i> Hu et Huang | 11月 November | JHICS | 糙果茶组 Sect. <i>Furfuracea</i> | 22.22 | MS |
| 5 | 红皮糙果茶 | <i>C. crapnelliana</i> Tutch | 11月 November | JHICS | 糙果茶组 Sect. <i>Furfuracea</i> | 48.15 | HS |
| 6 | 崇左金花茶 | <i>C. chuangtsoensis</i> S. Y. Liang et L. D. Huang | 7月 July | RISF | 金花茶组 Sect. <i>Chrysantha</i> | 9.26 | MR |
| 7 | 中东金花茶 | <i>C. achrysantha</i> Chang et S. Y. Liang | 4月 April | RISF | 金花茶组 Sect. <i>Chrysantha</i> | 31.11 | HS |
| 8 | 金花茶 | <i>C. nitidissima</i> Chi | 3月 March | RISF | 金花茶组 Sect. <i>Chrysantha</i> | 48.52 | HS |
| 9 | 大花红山茶 | <i>C. magniflora</i> Chang | 3月 March | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 0.93 | HR |
| 10 | 彩丹 | <i>C. japonica</i> 'Caidan' | 4月 April | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 1.11 | HR |
| 11 | 杜鹃红山茶 | <i>C. azalea</i> Wei | 7月 July | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 1.11 | HR |
| 12 | 迷茫的春天 | <i>C.</i> 'Spring Daze' | 3月 March | JHCNS | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 1.11 | HR |
| 13 | 夏梦文清 | <i>C.</i> 'Xiameng Wenqing' | 5月 May | PETC | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 4.81 | HR |
| 14 | 爱丽牡丹王 | <i>C. japonica</i> 'Alice Wood' | 3月 March | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 5.19 | MR |
| 15 | 夏日七心 | <i>C.</i> 'Xiari Qixin' | 11月 November | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 5.56 | MR |
| 16 | 丹心 | <i>C. japonica</i> 'Danxin' | 11月 November | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 6.30 | MR |
| 17 | 长尾红山茶 | <i>C. longicaudata</i> Chang et S.Y. Liang | 3月 March | JHICS | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 6.30 | MR |
| 18 | 春江虹蕊 | <i>C.</i> 'Chunjiang Hongrui' | 3月 March | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 7.03 | MR |
| 19 | 迈诺萨 | <i>C. x williamsii</i> 'Mimosa Jury' | 3月 March | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 8.15 | MR |
| 20 | 浙江红山茶 | <i>C. chekiangoleosa</i> Hu | 12月 December | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 9.63 | MR |
| 21 | 鸳鸯凤冠 | <i>C. japonica</i> 'Yuanyang Fengguan' | 4月 April | JHCNS | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 10.00 | MR |
| 22 | 黄达 | <i>C. japonica</i> 'Dahlohnega' | 3月 March | JHCNS | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 10.74 | MR |
| 23 | 莉萨盖尔 | <i>C.</i> 'Lisa Gaier' | 3月 March | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 11.48 | MR |
| 24 | 紫酱金花 | <i>C. japonica</i> 'Maroon and Gold' | 12月 December | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 12.59 | MR |
| 25 | 花牡丹 | <i>C. japonica</i> 'Huamudan' | 12月 December | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 14.81 | MR |
| 26 | 夏梦华林 | <i>C.</i> 'Xiameng Hualin' | 5月 May | PETC | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 15.93 | MS |
| 27 | 园林之娇 | <i>C.</i> 'Yuanlin Zhijiao' | 5月 May | PETC | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 18.89 | MS |
| 28 | 夏日衍平 | <i>C.</i> 'XiariYanping' | 11月 November | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 19.26 | MS |
| 29 | 春节 | <i>C.</i> 'Spring Festival' | 3月 March | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 22.22 | MS |

续表4

| 序号 Serial number | 种质资源 Germplasm resources | 拉丁学名 Latin names | 采样时间 Date of sampling | 地点 Locations | 组别 Categories | 病情指数 Disease index | 抗性水平 Resistance level |
|---------------------|--------------------------------|---|-----------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 30 | 毛果山茶 | <i>C. trichocarpa</i> Chang | 11月 November | JHICS | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 26.67 | MS |
| 31 | 夏梦岳婷 | <i>C. 'Xiameng Yueting'</i> | 5月 May | PETC | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 27.41 | HS |
| 32 | 乔伊 | <i>C. japonica 'Joy Kendrick'</i> | 3月 March | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 28.15 | HS |
| 33 | 单体红山茶 | <i>C. uraku</i> Kitamura | 12月 December | RISF | 红山茶组 Sect. <i>Camellia</i> | 55.93 | HS |
| 34 | 葡萄酒 | <i>C. sasanqua 'Sparkling Burgundy'</i> | 11月 November | JHICS | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 0.74 | HR |
| 35 | 山崎大锦 | <i>C. sasanqua 'Ô-nishiki'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 5.19 | MR |
| 36 | 梅之风 | <i>C. sasanqua 'Ume-no-kaze'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 5.93 | MR |
| 37 | 白九重 | <i>C. sasanqua 'Shiro-kokonoe'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 6.30 | MR |
| 38 | 厚礼 | <i>C. sasanqua 'Showa Supreme'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 7.41 | MR |
| 39 | 千代鹤 | <i>C. sasanqua 'Chiyo-zuru'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 8.15 | MR |
| 40 | 艳姿 | <i>C. sasanqua 'Enishi'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 9.26 | MR |
| 41 | 荣光 | <i>C. sasanqua 'Eiko'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 9.63 | MR |
| 42 | 东牡丹 | <i>C. sasanqua 'Azuma-botan'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 10.37 | MR |
| 43 | 菊冬至 | <i>C. sasanqua 'Kiku-toji'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 12.96 | MR |
| 44 | 福雀 | <i>C. sasanqua 'Fuku-suzume'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 13.33 | MR |
| 45 | 油茶 | <i>C. oleifera</i> Abel | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 22.22 | MS |
| 46 | 财神 | <i>C. sasanqua 'Bonanza'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 15.26 | MS |
| 47 | 朝仓 | <i>C. sasanqua 'Asakura'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 19.63 | MS |
| 48 | 桃园 | <i>C. sasanqua 'Momozono'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 21.48 | MS |
| 49 | 富士之峰 | <i>C. sasanqua 'Fuji-no-mine'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 21.48 | MS |
| 50 | 雪月花 | <i>C. sasanqua 'Setsugekka'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 22.22 | MS |
| 51 | 越南油茶 | <i>C. vietnamensis</i> T. C. Huang ex Hu | 12月 December | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 22.22 | MS |
| 52 | 七福神 | <i>C. sasanqua 'Shichi-fukujin'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 24.48 | MS |
| 53 | 伊豆立寒 | <i>C. sasanqua 'Izu-tachikan'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 28.15 | HS |
| 54 | 飞天玉 | <i>C. sasanqua 'Feitianyu'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 14.44 | MR |
| 55 | 小玫瑰 | <i>C. sasanqua 'Shishi-gashira'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 37.04 | HS |
| 56 | 稚儿樱 | <i>C. sasanqua 'Chigo-zakura'</i> | 11月 November | RISF | 油茶组 Sect. <i>Oleifera</i> | 43.33 | HS |

本研究评价了山茶属短柱茶组 (Sect. *Paracamellia*)、瘤果茶组 (Sect. *Tuberculata*)、红山茶组 (Sect. *Camellia*)、油茶组 (Sect. *Oleifera*)、古茶组 (Sect.

Archeamellia)、金花茶组 (Sect. *Chrysantha*) 和糙果茶组 (Sect. *Furfuracea*) 共 7 组的种质资源, 这 7 个组的平均病情指数依次为 0.00、1.85、13.25、16.57、25.56、29.63 和 35.19。短

柱茶组和瘤果茶组的抗性最强,表现为免疫和高抗;红山茶组的抗性较强,表现为中抗;油茶组抗性水平较弱,表现为中度感病;古茶组、金花茶组和糙果茶组的抗性最弱,都表现为高感花腐病。

同一组内不同种间的抗性水平也存在差异。红山茶组虽然总体抗性水平为中抗,但是在该组中既有高抗的大花红山茶、‘彩丹’、杜鹃红山茶、‘迷茫的春天’和‘夏梦文清’;也有中抗的‘夏日七心’、‘丹心’、浙江红山茶等种质资源,还有高感花腐病的‘夏梦岳婷’、‘乔伊’和单体红山茶;油茶组总体抗性水平为中感,但油茶组中也有高抗品种‘葡萄酒’;并且还有中抗的‘山崎大锦’、‘梅之风’、‘白九重’、‘厚礼’、‘千代鹤’、‘荣光’等种质资源;金花茶组总体抗性水平为高感,但该组内也有中抗种质资源崇左金花茶(表4)。

在同一亲本的不同杂交组合中,杂交品种的抗性也表现不同。以杜鹃红山茶为亲本的杂交品种中,‘夏梦文清’(杜鹃红山茶×‘帕克斯先生’)、‘夏日七心’(杜鹃红山茶×‘帕克斯先生’)、‘夏梦华林’(红山茶品种‘都鸟’×杜鹃红山茶)、‘园林之娇’(杜鹃红山茶×红山茶品种‘达婷’)、‘夏日衍平’(‘媚丽’×杜鹃红山茶)和‘夏梦岳婷’(‘客来邸’×杜鹃红山茶)的病情指数分别为4.81、5.56、15.93、18.89、19.26和27.41。‘夏梦文清’表现为高抗花腐病,‘夏日七心’表现为中抗花腐病,‘夏梦华林’、‘园林之娇’和‘夏日衍平’表现为中感花腐病,‘夏梦岳婷’表现为高感花腐病(表4)。与亲本杜鹃红山茶相比,除了‘夏梦文清’外,其它5个杂交品种的抗花腐病的水平均有所降低,表明杂交品种的抗性水平发生分离,可能是双亲亲本共同影响子代的抗病性。

3 讨论

种质资源的抗病性是以植物物理和化学因子为基础,减轻或克服病原物致害作用的一类特性^[18]。实践表明,利用种质资源的抗病性防控病害是高效、安全的防控措施^[18]。我国具有极为丰富的山茶种质资源,众多的山茶种质资源为抗病育种提供了丰富的候选种质资源。本研究对我国华东和华南地区收集和保存的山茶种质资源开展花腐病的抗性评价,研究结果有助于明确山茶种质资源花腐病的抗性水平,为利用种质资源的抗病性防控花腐病提供基础。

国外花腐病抗性评价工作起步早, Taylor^[19]于1999年首次采用气传子囊孢子接种法评价了78份山茶种质资源对花腐病的抗性,初步明确了抗病和感病种质资源,发现10份中抗花腐病的种质资源,包括攸县油茶、尖连蕊茶(*C. cuspidata* Wright ex Gard), 川滇连蕊茶(*C. longicarpa* Chang), 五柱滇山茶(*C. yunnanensis* Cohen)和‘春雾’等。2004年, Taylor^[15]在1999年的抗性评价的基础上,比较了不同接种方法和接种后不同时间点对抗性评价的影响,发现气传子囊孢子接种法优于孢子悬浮液接种法,确定接菌后72 h为适宜的抗性评价时间点。另外,该研究还鉴定出了13份高抗种质资源,包括攸县油茶及以攸县油茶为亲本的杂交种、玫瑰连蕊茶(*C. rosaeflora* Hooker)、五柱滇山茶(*C. yunnanensis* Cohen)、台湾连蕊茶(*C. lutchuensis* Wright ex Gard)等。2013年, Denton-Giles等^[20]采用病斑相对面积、乳突有无、胞间H₂O₂、初生菌丝的相对数量等多个指标,综合评价了短柱茶组、连蕊茶组(Sect. *Theopsis*)、红山茶组和实果茶组(Sect. *Stereocarpus*)内40份物种及1份杂交种对花腐病的抗性,发现短柱茶组中的攸县油茶、连蕊茶组的台湾连蕊茶和南投秃连蕊茶(*C. transnokoensis* Hayata)为高抗种质资源,占总评价种质资源的7.32%。以上抗性评价都是采用子囊孢子作为接种体进行抗性鉴定,子囊孢子接种虽在一定程度上模拟自然侵染过程,但山茶叶杯菌不能够在人工培养基上产生子囊孢子,田间收集子囊孢子难度大,且孢子质量难以控制。本研究采用菌丝块作为接种体进行抗性评价,结果表明,菌丝块能够在较短的时间内引起山茶花瓣发病,并且通过病斑相对面积能够将不同抗性水平的种质资源区分开来,故山茶叶杯菌的菌丝块也能够作为接种体用于种质资源的抗病性评价。本研究采用3份抗性不同的种质资源设置时间梯度,比较了接菌后不同培养时间对抗性评价的影响,确定接菌后72 h为适宜的评价时间点,该研究结果与 Taylor^[15]采用子囊孢子接种时的结果一致。

本研究以病斑相对面积为测量指标,制定了山茶花腐病病情严重度分级标准和抗性评判标准,建立了山茶花腐病抗性评价技术体系,评价了56份山茶种质资源花腐病的抗性,明确了8份为免疫或

高抗花腐病种质资源、24份为中抗种质资源、14份为中感种质资源、10份为高感种质资源。在8份免疫或高抗花腐病种质资源中,攸县油茶的抗性最强,这与Taylor^[15]和Denton-Giles等^[20]的研究结果一致。攸县油茶原产于我国,具有浓烈花香味、耐瘠薄、果实出仁率高、果油率高等优点^[21],并且该物种还抗花腐病和炭疽病^[22],因此攸县油茶可以作为优质抗源用于花腐病和炭疽病的抗性育种。杜鹃红山茶是山茶属特有的珍稀濒危物种,该物种的自然种群仅分布于广东省阳春市^[23]。杜鹃红山茶是夏季和秋季开花的物种,而夏、秋季节山茶叶杯菌处于不活跃状态,因此杜鹃红山茶能够避免被山茶叶杯菌侵染,具有避病性。本研究室抗性评价结果表明,杜鹃红山茶以及以杜鹃红山茶为亲本的杂交品种‘夏梦文清’对花腐病的抗性水平都为高抗,因此杜鹃红山茶也可作为优质抗源用于花腐病的抗性育种。

4 结论

本研究比较了接种山茶叶杯菌后不同培养时间对抗性评价的影响,确定接种菌丝块于山茶种质资源的离体花瓣,并在接菌后72 h统计病斑的相对面积,能有效地对山茶种质资源进行抗病性评价。本研究制定了山茶花腐病病情严重度分级标准和抗性评判标准,建立了一套山茶花腐病抗性评价技术,应用该技术对我国华东和华南地区收集和保存的56份山茶种质资源开展花腐病的抗性评价,明确这56份山茶种质资源花腐病的抗性水平,分析了山茶属不同组间、同一组内不同种间以及同一亲本的不同杂交组合之间抗病性的差异性,筛选出了攸县油茶、大花红山茶、‘彩丹’、杜鹃红山茶、‘葡萄酒’、皱果茶、‘迷茫的春天’和‘夏梦文清’8份免疫或高抗花腐病的山茶种质资源。研究结果为制订高效、安全的山茶花腐病的防控措施提供理论依据。

参考文献:

- [1] 张宏达. 中国植物志(第49卷,第3册)[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] 高继银, 陈邵云, 徐碧云. 世界名贵茶花[M]. 杭州: 浙江科技出版社, 1999.
- [3] 管开云, 李纪元, 王仲朗. 中国茶花图鉴[M]. 杭州: 浙江科技出版社, 2014.
- [4] 沈荫椿. 山茶(精)[M]. 北京: 中国林业出版社, 2009.
- [5] SARACCHI M, LOCATI D, COLOMBO E M, et al. Updates on *Ciborinia camelliae*, the causal agent of camellia flower blight[J]. Journal of Plant Pathology, 2018, 101: 215-223.
- [6] MCCORKLE K L, KOEHLER A M, LARKIN M, et al. Petal blight of *Camellia*[EB]. [2019]. [https://www.apsnet.org/edcenter/dis-andpath/fungusco/pdlessons/Pages/Petal Blight Camellia.aspx](https://www.apsnet.org/edcenter/dis-andpath/fungusco/pdlessons/Pages/Petal%20Blight%20Camellia.aspx).
- [7] HARA K. A sclerotial disease of *Camellia* (*Camellia japonica*)[J]. Dainpon Sanrin Kaiho, 1919, 436: 29-31.
- [8] HANSEN H N, THOMAS H E. Flower blight of *Camellias*[J]. Phytopathology, 1940, 30(2): 166-170.
- [9] JONES D R, BAKER R H A. Introductions of non-native plant pathogens into Great Britain, 1970-2004[J]. Plant Pathology, 2007, 56(5): 891-910.
- [10] TAYLOR C H, LONG P G. Review of literature on *Camellia* flower blight caused by *Ciborinia camelliae*[J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2000, 28(2): 123-138.
- [11] MANSILLA J P, BARROTE MC, PINTOS C, et al. Situação fitopatológica das camélias na região do entre douro e minho de Portugal[J]. Boletim de Sanitat Vegetal Plagas, 2002, 28(4): 609-622.
- [12] GARIBALDI A, GILARDI G, BERTETTI D, et al. Proof for the occurrence of flower blight caused by *Ciborinia camelliae* in Italy[J]. Plant Disease, 2007, 85(8): 924.
- [13] OEPP/EPPO. Diagnostic protocols for regulated pests *Ciborinia camelliae*[J]. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2003, 33: 257-264.
- [14] 中华人民共和国宁波出入境检验检疫局. 山茶花腐病菌检疫鉴定方法: SN/T3427-2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [15] TAYLOR C H. Studies of *Camellia* flower blight (*Ciborinia camelliae* Kohn)[D]. Palmerston North: Massey University, 2004.
- [16] DENTON-GILES M. Characterization of incompatible and compatible *Camellia-Ciborinia camelliae* plant-pathogen interactions[D]. Palmerston North: Massey University, 2014.
- [17] 谢艺贤, 符悦冠. 热带作物种质资源抗病虫性鉴定技术规程[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009.
- [18] 商鸿生. 植物免疫学(第二版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- [19] Taylor C H. Studies of *Camellia* flower blight (*Ciborinia camelliae*) in New Zealand[D]. Palmerston North: Massey University, 1999.
- [20] Denton-Giles M, Bradshaw R E, Dijkwel P P. *Ciborinia camelliae* (Sclerotiniaceae) induces variable plant resistance responses in selected species of *Camellia*[J]. Phytopathology, 2013, 103(7): 725-732.
- [21] 肖杰, 林少韩. 攸县油茶的生态条件及主要经济性状的初步调查[J]. 经济林研究, 1986, 4(1): 47-53.
- [22] 庄瑞林. 中国油茶(第二版)[M]. 北京: 中国林业出版社, 2008.
- [23] 李辛雷, 孙振元, 李纪元, 等. 杜鹃红山茶花芽分化及其代谢产物的变化[J]. 林业科学, 2012, 48(8): 81-86.

Evaluation of Resistance to Flower Blight of *Camellia* Germplasm Resources

LIU Ying¹, GENG Xian-sheng¹, YU Wen-xian², LI Ji-yuan¹

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, Zhejiang, China;

2. Hangzhou Fuyang Conservation Center for Agriculture & Forestry Resources, Hangzhou 311400, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] To develop the evaluation technology for flower blight resistance of *Camellia* germplasm resources and evaluate the resistance levels of *Camellia* germplasm resources to flower blight. [Method] The time gradient of three germplasm resources with different resistance was used to analyze the effects of different culture time on the resistance evaluation after inoculating the hyphae plug of *Ciborinia camelliae*. We calculated the relative area of lesion and disease index of *Camellia* germplasm resources after inoculation, formulated the severity grading criteria and resistance evaluation criteria, and established the resistance evaluation technology of *Camellia* germplasm resources to flower blight. This technique was used to evaluate the resistance of 56 germplasm resources to flower blight. [Result] Inoculating hyphae plug on the detached petals of *Camellia* germplasm resources, and calculating the relative area of lesions at 72 hours after inoculation, could accurately evaluate the disease resistance of *Camellia* germplasm resources. The results of resistance evaluation of 56 germplasm resources showed that 8 germplasm resources were immune or highly resistant to flower blight, 24 germplasm resources were medium resistant, 14 germplasm resources were medium susceptible, and 10 germplasm resources were highly susceptible. Resistance levels among different sections of *Camellia* germplasm resources were different, and the resistance levels of different species within the same sections and different crosses of the same parent were also different. [Conclusion] In this study, resistance evaluation technology of *Camellia* germplasm resources to flower blight has been established. The resistance level of 56 germplasm resources was identified, and 8 germplasm resources with immune or highly resistant to flower blight were screened out.

Keywords: *Camellia*; germplasm resource; flower blight; resistance evaluation

(责任编辑: 崔 贝)