

栽培大豆种质资源对大豆菌核病的抗性评价

王金生¹, 于安亮¹, 徐鹏飞¹, 王 君², 陈 晨¹, 李宁辉¹, 李文滨¹, 王继安¹, 张淑珍¹

(1. 东北农业大学 大豆研究所, 教育部大豆生物学重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:采用离体叶柄接种法鉴定了 200 份栽培大豆高世代品系对大豆菌核病菌株 Jia30 和 Jian29 的抗感反应。结果表明:在所有的参鉴材料中没有发现免疫类型,但各品系间抗性有一定的差异。供试 200 个品系中既表现抗 Jia30 菌株又表现抗 Jian29 菌株的材料占供试材料的 2%;抗 Jia30 菌株的材料占 3%;抗 Jian29 菌株的材料占 5%,根据抗性资源筛选结果,这些抗性材料可合理地用于大豆生产,并为大豆抗病育种亲本选择和利用品种布局进行大豆菌核病生态控制提供了依据。

关键词:大豆;菌核病;抗性鉴定

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2009)06-1054-04

Identification of Resistance to *Sclerotinia Sclerotiorum* in Soybean Germplasm

WANG Jin-sheng¹, YU An-liang¹, XU Peng-fei¹, WANG Jun¹, CHEN Chen¹, LI Ning-hui¹, LI Wen-bin¹,
WANG Ji-an¹, ZHANG Shu-zhen¹

(1. Soybean Research Institute, Key Laboratory of Soybean Biology of Chinese Education Ministry, Northeast Agricultural University, Harbin 150030;
2. Agricultural College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: *Sclerotinia* stem rot of soybean, commonly called white mould, is a fungal disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary in the world. The disease distributed all throughout China, especially in Heilongjiang and Inner Mongolia. Heilongjiang is the main soybean production region in China, and white mould occurred seriously in recent years for the increase planting area of soybean, rape and sunflower. Utilization of resistant cultivars is the most economic, efficient, and safe method to control this disease. Screening on the resistance germplasm is the basis for resistance breeding. In this study, the reaction of 200 soybean lines to *Sclerotinia sclerotiorum* isolates Jia30 and Jian29 were evaluated by leafstalk inoculation *in-vitro* under controlled conditions. The results showed that there was no immunity accession among all the soybean lines tested, but there was difference in resistance among them. Four lines were resistant to the both isolates, representing 2% of all the accessions tested; Six lines were resistant to isolates Jia30, representing 3% of all the accessions tested; Ten lines were resistant to isolates Jian29, representing 5% of all the accessions tested. These lines could be used in soybean resistance breeding, and provide references for parent choosing in soybean resistant breeding and ecological control by arrangement of cultivars with different resistance.

Key words: Soybean; *Sclerotinia sclerotiorum*; Resistance evaluation

大豆菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bery) 是世界性范围的真菌病害。在我国各大豆产区均有发生,是大豆的主要病害之一^[1-3]。大豆菌核病又称白腐病 (White mould), 在大豆苗期、成株期均可发病,造成苗枯、叶腐和荚腐等症状,但以成株花期发生为主,受害重^[4]。

黑龙江省是我国大豆主产区,但大豆菌核病对大豆生产造成的威胁却逐年加重,1986 年发病面积 14.7 万 hm²,减产 0.76 亿 kg,减收 0.55 亿元;1997 年发病面积 20 万 hm²,减产大豆 1.03 亿 kg,减收 0.75 亿元^[5]。近年来,黑龙江省大豆菌核病发病率逐年上升,造成部分地区大豆减产甚至绝产。2005

收稿日期:2009-04-01

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30671317, 30810103063, 30400285);黑龙江省自然科学基金资助项目(C200814);黑龙江省新世纪人才培养计划资助项目(NCET-06-007);黑龙江省农业科学院博士后基金资助项目(LRB06-010);博士后落户黑龙江科研启动基金资助项目。

第一作者简介:王金生(1983-),男,在读硕士,研究方向为大豆抗病遗传育种。

通讯作者:张淑珍,博士,教授。E-mail:dnzhshzh@yahoo.com.cn。

年发生面积较大,几乎遍及整个春大豆种植区域,重病区已扩展到了齐齐哈尔、绥化等地区部分市、县,重病田病株率达 20% 以上^[6]。大豆菌核病将会有继续扩大蔓延、加重危害的趋势,如不及时采取有效措施防治,将严重威胁大豆生产。但由于菌核病菌具有广泛的寄主范围^[7],生理小种分化不明显致病力无明显分化。因此在许多寄主植物上,至今未找到有效的抗源。至目前为止,世界各国抗菌核病的育种工作多通过对种质资源的抗病性鉴定,筛选出抗性种质作为杂交亲本导入抗性基因来进行选育^[8]。Boland^[9]研究了不同大豆材料对菌核病菌的抗性差异,肯定了在大豆种质资源中存在对菌核病的抗病性,从而为开展大豆抗源筛选及抗菌核病育种工作提供了依据。因此,加强对大豆菌核病的研究,选育(选用)抗性(耐性)品种具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株 菌株 Jia30、Jian29 分别采自佳木斯、建三江地区大豆种植田中的发病株上,经 PDA 培养基培养分离出菌丝鉴定、纯化后作为供试菌种。

1.1.2 供试品种 供鉴定的材料是经育种单位多年繁育的高世代品系共 200 份,同时选择经多年抗性筛选所获得的感病品种合丰 25 为对照品种。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌培养基的制备及菌种的扩繁 用 PDA 培养基培养大豆菌核病病原菌:将土豆 200 g 切成小块,加入 1 000 mL 蒸馏水煮沸 30 min,过滤,将 20 g 琼脂和 20 g 蔗糖加入滤液中搅拌融化后,分装,湿热灭菌 20 min 备用。无菌操作下,将 15 mL 培养基倒入已灭菌的培养皿中,冷却后用接种针将活化的病原菌接种于平皿中央,倒置于 25℃ 温箱中培养 6 d 接种备用。

1.2.2 接种方法 参照矫洪双等^[10]的方法:采集田间盛花期大豆植株生长点以下第 4 个节上生长的叶柄,每个品系取 10 根顺序摆在铺有蛭石保湿的白瓷盘内,以自制打孔器(边长 D:1 cm)在 PDA 菌丝平皿内取样(取菌丝前缘 2 cm 范围),以镊子将菌丝块放在叶柄中间,菌丝面朝向叶柄,然后套透明塑料袋封闭保湿,放置在 25 ± 2℃、14 h 光照环境下观察其菌丝侵染情况。

1.2.3 调查方法 从接种第 2 天开始每天以直尺准确测量可见病斑大小,并以第 7 天病斑大小作为该试验病情严重程度。

1.2.4 抗病性评价标准 按接种后各材料的发病表现,把严重程度记载标准规定为 0 ~ 4 级。

0 级:接种处无明显病斑、全株正常;1 级:接种处轻微病斑,长度 1 ~ 3 cm;2 级:接种处病斑长度在 3 ~ 6 cm,病斑环绕达全叶柄的 1/3;3 级:接种处病斑长度在 6 ~ 8 cm,病斑环绕达全叶柄的 1/3 ~ 2/3;4 级:接种处叶柄受到严重侵染,病斑绕及全叶柄,并有黑色菌核产生。

以病情严重程度确定病情指数,病情指数以下列公式计算:

病情指数(DI) = Σ (病株数 × 代表数值)/(株数总和 × 发病最重级的代表数值) × 100%

考虑到不同批次条件下取得的各材料的病情指数的直接可比性较差,将各供试材料的病情指数作了统一的转换,从而使各结果之间能够进行相互平行比较。采用的主要指标为相对抗性指数(IR)。

相对抗病指数[Relative Index; IR] $IR = \ln [Pi/(1 - Pi)] - \ln [Pk/(1 - Pk)]$

Pi:供试各材料的病情指数;Pk:对照品种的病情指数

参照同类病害规定的抗(耐)病性评价标准^[10],结合试验所取得的各材料的严重程度差异,初步规定具体的抗病性指标如表 1。

表 1 以 IR 为指标进行的抗大豆菌核病的分级标准
Table 1 Standard of evaluating soybean resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* with IR

抗菌核病级别 Rate of resistance to <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	抗病 Resistance	低抗 Low resistance	感病 Susceptible	高感 High susceptible
抗病标准 IR(病指范围) Relative index	< -1.2	-1.2 ~ -0.4	-0.4 ~ 1.0	> 1.0

2 结果与分析

抗病材料接种第 3 天,叶柄上的平均病斑长度仅为 0.2 cm,其中病斑长度最长为 0.8 cm,部分材料没有可见病斑,病斑绕及全叶柄的 1/3,浅褐色,不规则形,发病部位坚挺;感病材料则发病症状明显,平均病斑长度为 3.5 cm,病斑长度最长的为 5 cm,最短的为 3 cm,病斑水渍状,不规则形,浅褐色绕及全叶柄的 2/3,并向上下蔓延,接种部位有明显的软化迹象。并伴有少量絮状白色菌丝生成;

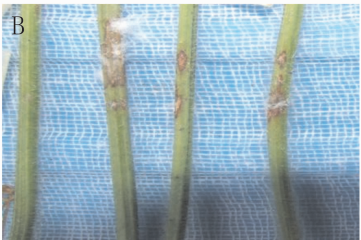
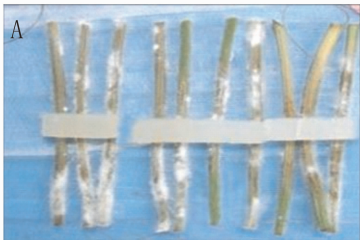


图 1 大豆材料接种菌核菌的发病情况

Fig. 1 Symptom of soybean inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum*

栽培大豆中抗大豆菌核病的材料非常少,接种 Jian29 菌株的材料中抗病材料 10 份,占供试材料的 5%;低抗材料 4 份,占供试材料的 2%;感病材料 16 份,占供试材料的 8%;高感材料 170 份,占供试材料的 85%(表 2)。

接种 Jia30 菌株的材料中抗病材料 6 份,占供试材料的 3%;低抗材料 6 份,占供试材料的 3%;感病材料 24 份,占供试材料的 12%;高感材料 164 份,占供试材料的 82%。既表现抗 Jia30 菌株又表现抗 Jian29 菌株的材料 4 份,占供试材料的 2%(表 2)。

表 2 栽培大豆接种 Jian29 和 Jia30 的抗感分布
Table 2 Different reactions of soybean inoculated with isolate Jian29 and Jia30 of *Sclerotinia sclerotiorum*/%

菌株 Strain	抗病 Resistance	低抗 Low resistance	感病 Susceptible	高感 High susceptible
Jian29	5	2	8	85
Jia30	3	3	12	82

分别取抗(R)、低抗(LR)、感病(S)和高感(HS)的材料,分析各供试材料的病情进展速率。从图 2 中可以看出,抗病材料病情进展缓慢;低抗材料和低感材料前期病情进展速率相对后期较快,低抗材料较低感材料前期病情进展速率慢;而高感材料的病情进展速率基本呈直线上升趋势。所有级别材料病斑扩展速率从第 7 天开始减慢,因此以第 7 天

接种 7 d 后,感病材料的病斑长度基本达到全叶柄,最短的病斑长度也为 8 cm,病斑绕及全叶柄,水渍状,颜色由浅褐色逐渐变为深褐色,随着病斑的扩展软化程度加深加大,并伴有大量的白色菌丝生成,覆盖于叶柄表面(图 1 A);而抗病材料则表现出明显的抗病斑扩展能力,平均病斑长度仅为 0.5 cm,病斑长度最长的也只有 1.5 cm,最短的为 0.2 cm,病斑绕及全叶柄的 2/3,颜色由浅褐色逐渐变为红褐色,有少量菌丝生成,无软化、腐烂迹象(图 1B)。

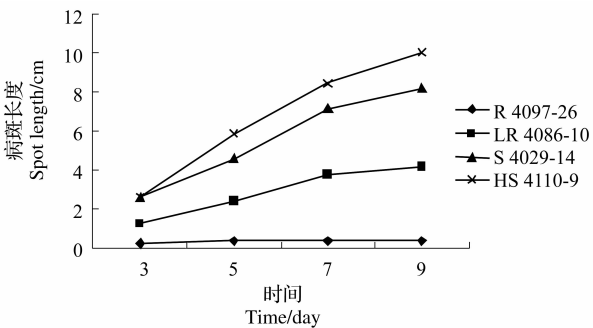


图 2 不同抗性类型材料病情进展速率

Fig. 2 Disease developing speed of different resistant type soybeans

的病斑长度作为病情严重度符合以病斑长度作为衡量标准的抗病性鉴定。

3 讨论

在 200 份鉴定材料中,仅有极少部分大豆材料对菌核病表现了稳定的抗性,此结果支持了关于菌核病抗原不易筛选的观点^[10]。通过接种时期的观察发现,病情严重度较低的大豆材料,一般茎秆较强壮,质地较硬,而且病斑的扩展受到抑制。

采用离体叶柄接种方法对 200 份栽培大豆高世代品系用 Jia30 和 Jian29 菌株接种鉴定,筛选出了少量的抗病品系,这说明已有的品系中存在着抗源,所鉴定的抗源可以直接用于生产,也可用于抗病育

种的亲本,创造抗病新材料。以后还要进一步加大抗性资源筛选工作,拓宽基因资源,为培育抗性稳定的品种提供优秀的抗源。

由于以病情指数作为抗病指标,受接菌方法、菌量以及气候因素影响,栽培管理条件不同,造成同一大豆材料在不同环境下表现的抗病程度差异较大,地区间、年份间鉴定结果的重演性差,难以正确评价大豆的抗病性。采用相对抗病指数作为抗病指标,将病情指数这一绝对值改为相对值,使作为比较对象的感病对照品种与所鉴定的材料相处的环境条件一致,这样可以最大限度排除鉴定条件对鉴定结果的影响,能够较为真实地反映出大豆抗、感病的本质,有效地提高了抗病鉴定结果的准确性和可靠性^[11]。有关大豆材料抗菌核病的机制研究鲜有报道^[12]。该研究初步筛选出的抗性材料,仍需进一步做人工接种鉴定及抗病机制研究,以便明确其抗病类型,为大豆菌核病抗病育种提供有效的抗源。

致谢: 特别感谢东北农业大学农学院刘学敏教授在实验技术上给予的大力帮助和指导。

参考文献

[1] 李济宸. 大豆病害及其防治[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996. (Li J C. Soybean disease and its prevention[M]. Beijing: Agricultural Press, 1996.)
[2] 陈庆恩, 白金恺. 大豆病虫害图志[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1988. (Chen Q E, Bai J K. Soybean pests figure[M]. Changchun: Jilin Science and Technology Press, 1988.)
[3] 戚佩坤, 白金恺. 吉林省栽培植物真菌病害志[M]. 北京: 科学出版社, 1966. (Qi P K, Bai J Q. Fungal diseases of cultivated plants in Jilin Province[M]. Beijing: Science Press, 1966.)
[4] 张波, 王国庆, 王桂华, 等. 大豆菌核病发病因素分析与防治方

法[J]. 杂粮作物, 2004, 24(1): 48-49. (Zhang B, Wang G Q, Wang G H, et al. Soybean *Sclerotinia* incidence of factor analysis and prevention methods[J]. Crops, 2004, 24(1): 48-49.)
[5] 董志敏, 王曙光, 刘玉芝, 等. 大豆抗菌核病研究进展[J]. 大豆科学, 2008, 27(6): 1053-1054. (Dong Z M, Wang S G, Liu Y Z, et al. Progress on resistance to *Sclerotinia Sclerotiorum* in soybean [J]. Soybean Science, 2008, 27(6): 1053-1054.)
[6] 董全中. 2005 年克拜地区大豆菌核病加重的原因分析[J]. 大豆通报, 2007, 3: 36. (Dong Q Z. Analysis on the reasons of aggravated white mold of soybean in Kebai region in 2005[J]. Soybean Bulletin, 2007, 3: 36.)
[7] Purdy L H. Symposium on *Sclerotinia*. the seventh annual meeting of the American phytopathological society [J]. Phytopathology, 1978, 69(8): 857-880.
[8] 黄绪堂. 向日葵菌核病抗性的遗传机制与育种研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 1999(2): 45-47. (Huang X T. The research advances on genetics mechanism and breeding of sunflower resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Heilongjiang Agricultural Science, 1999(2): 45-47.)
[9] Boland G J, Hall R. Growthroom evaluation of soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canada Journal of Plant Science, 1986, 66: 559-564.
[10] 矫洪双, 程志明, 许修宏, 等. 大豆对菌核病室内抗性鉴定方法研究[J]. 大豆科学, 1996, 15(4): 296-297. (Jiao H S, Cheng Z M, Xu X H, et al. Studies on the methods of evaluating varietal resistance of soybean to *Sclerotinia* rot under laboratory conditions [J]. Soybean Science, 1996, 15(4): 296-297.)
[11] 吴征彬, 郭介华, 冯纯大, 等. 棉花对枯、黄萎病的抗性研究[J]. 华中农业大学学报, 1998, 17(1): 1-5. (Wu Z B, Guo J H, Feng C D, et al. Studies on cotton resistance to *Fusarium* and *Verticillium* wilt [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 1998, 17(1): 1-5.)
[12] Lockwood J L. Evaluating of soybean introductions for resistance to stem rot caused by *Sclerotinia Sclerotiorum* by a laboratory method [J]. Genetics Newsletter, 1989, 16: 147-160.

欢迎订阅 2010 年《大豆科学》

《大豆科学》是由黑龙江省农业科学院主管主办国内外公开发行的专业领域学术性期刊,也是被国内外多家重要数据库和文摘收录源收录的重点核心期刊,反映大豆科学研究的最新成果。主要刊登有关大豆遗传育种、品种资源、生理生态、耕作栽培、植物保护、营养肥料、生物技术、食品加工、药用功能及工业用途等方面的学术论文、科研报告、研究简报、国内外研究述评、学术活动简讯和新品种介绍等。

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作者,大专院校师生、各级农业技术推广部门的技术人员及科技种田的农民。

国内外公开发行,双月刊,16 开本,每期 180 页。国内每期订价:10.00 元,全年 60.00 元,邮发代号:14-95。国外每期订价:10.00 美元(包括邮资),全年 60 美元。国外由中国国际图书贸易总公司发行,北京 399 信箱。国外代号:Q5587。

本刊热忱欢迎广大科研及有关企事业单位刊登广告,广告经营许可证号:23010300000004。

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《大豆科学》编辑部

邮编:150086 电话:0451-86668735 E-mail: dadoukx@ sina. com ddkexue@ 126. com