

大豆孢囊线虫病抗病性鉴定技术的研究*

吴和礼 姚振纯 李秀兰 林 红

(黑龙江省农业科学院品种资源室)

刘汉起 商绍刚 霍 虹

(黑龙江省农业科学院植保所)

提 要

种植抗病品种是防治大豆孢囊线虫 (*Heterodera glycines*) 病经济有效的措施, 而培育抗病品种的关键乃在于抗病性鉴定方法的正确与否。本文报道了大豆品种资源与抗病转育后代对大豆孢囊线虫病抗病性简便、迅速、准确的鉴定技术, 其中包括病土的选用、种植管理、鉴定时间及病级标准等技术环节, 将有助于从我国丰富的大豆资源中筛选出类型更多的抗大豆孢囊线虫病的抗源材料; 并加速抗病育种进程。

前 言

五十年代中期, 美国在北卡罗来纳、阿肯色、密苏里等州陆续发现大豆孢囊线虫 (*Heterodera glycines*), 并对大豆生产造成严重危害。他们先后筛选出“Peking”、“PI88788”等抗源, 至六十年代末便育成“皮科特”、“福来斯蒂”、“贝德福德”^[1,2,3,4]等一批抗病品种, 使大豆孢囊线虫的为害基本得到了控制。该病在我国东北地区发现已有八十余年历史^[5], 近年来仍有蔓延趋势, 目前除东北三省外, 内蒙、河南、河北、安徽、江苏、山东、山西等省都有发生, 造成不同程度的减产, 尤其是黑龙江省西部风砂干旱盐碱土地区的毁灭性病害, 轻者减产10%, 重者颗粒无收。种植抗病品种是防治该病经济有效的措施, 目前我国孢囊线虫病病区尚无抗病品种, 有关对该病抗病性的鉴定方法也未见详细报道。我们于1976—1983年结合筛选抗源和抗病育种, 对大豆孢囊线虫病抗病性鉴定方法进行了研究, 兹将试验条件和鉴定方法报道如下。

050986

* 毛冬青、贺玉香、王秀珍、张鑫等同志参加部份工作。

试验条件

试验用病土取自黑龙江省肇东县四方山军马场孢囊线虫病严重发生的地块, 土壤为碳酸盐土, pH8.1, 用芬奈维克漂浮器漂浮检查, 每百克土含线虫孢囊20—50个。1976—1983年共鉴定了省内外各类型大豆1041份材料和大量转育后代, 其中栽培大豆532份, 半野生大豆227份, 野生大豆282份, 1978年筛选出抗源后, 用“龙抗SCN—781”、“龙抗SCN—792”为抗病对照, 以“黑农10”、“黑农26”为感病对照。文中所涉及的温度, 生育期, 线虫世代发育等均为哈尔滨地区资料。

鉴定方法

一、盆栽、病圃和病区大田鉴定的比较

几年来, 抗病性鉴定进行了三种种植方式的比较, 即分别播种在重病区——肇东县四方山军马场, 本院病圃和盆钵中, 结果表明, 进行孢囊线虫病抗病性鉴定的种植方式以盆钵优于病圃和病区大田, 其主要原因是盆栽便于管理和控制试验条件的一致, 诸如对盆内病土经过充分混合, 使孢囊分布均匀, 易控制水分, 鉴定材料在较为干旱的条件下, 有利线虫侵入; 倒盆鉴定时不损伤根系, 察看根系孢囊数量准确可靠, 鉴定出的抗病植株移栽成活率高等等。盆栽鉴定时, 每盆留苗2—3株为宜, 株数过多, 根系互相缠绕, 不易分离鉴定, 盆钵大小以上口直径15—17厘米即可, 盆钵过大, 需用病土多, 倒盆和搬运也较困难。

二、病土的选用

只有被鉴定的材料种植在能够充分发病的土壤上, 才能真正的表现出其感病或抗病程度, 因此选用有足够孢囊数量的病土, 作为鉴定抗病性盆栽用土则是最重要的条件。多年多次鉴定调查结果表明, 随着土壤内孢囊数量的增加, 感病对照根系着生的孢囊数也随之增加, 当一百克土内孢囊数达到20个以上时, 感病对照根系着生孢囊15.6个, 而当一百克土内孢囊数少于20个时, 感病对照则不易达到感病级(表1)因此, 只有

表1 土壤内不同孢囊密度对大豆根系着生孢囊数量的影响 (1983)

| 每百克病土孢囊数量(个) | | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
|--------------|-------------------|---|-----|------|----|------|----|
| 根系着生孢囊数量(个) | 感病对照 (黑农26) | 4 | 9.6 | 15.6 | 19 | 35.6 | 32 |
| | 抗病对照 龙抗SCN-792 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

一百克土内孢囊数量在20个左右时, 才能选作盆栽病土。

表 2 肇东县四方山大豆孢囊线虫病重病区孢囊在土壤中的垂直分布

| 地号 土层(cm) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 平均 |
|--------------|----|-----|-----|-----|-----|-------|
| 0—5 | 35 | 36 | 38 | 134 | 42 | 57 |
| 5—10 | 43 | 172 | 241 | 364 | 232 | 210.4 |
| 10—15 | 85 | 74 | 51 | 117 | 42 | 73.8 |
| 15—20 | 35 | 36 | 19 | 40 | 48 | 35.6 |
| 20—25 | 11 | 6 | 18 | 38 | 30 | 20.2 |
| 25—30 | 0 | 2 | 0 | 2 | 4 | 1.6 |
| 30—35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

孢囊 95 %分布在 20 厘米以上表层土壤中（表 2），为保证盆栽用土有足够的孢囊数，病土应取自大豆孢囊线虫病重发区田间20厘米以上表土，经充分混合后，用芬奈维克漂浮器检查土壤中孢囊数量分布的均匀度，若每个样本 100 克土内孢囊数量均在20个（± 5 个）时，就可作为鉴定用土，如达不到上述指标，则应从其它地块取土，或用芬奈维克法漂浮出孢囊，均匀混进病土中，使之达到鉴定要求的数量。

从病区取回做盆栽鉴定用的病土，使用 2—3 年后，感病对照根系着生孢囊数量从第一年的 42.1个，第二年减为 23.5个，第三年则骤减为 4.3—11.8 个，因此盆栽病土使用两年后则需更换。或到重病区重新采挖有足够数量孢囊的病土，或在病圃种植高感大豆品种，繁殖线虫，以增加病土中孢囊数量。

三、抗病性级别的划分标准

大豆受孢囊线虫侵染为害后，地上部茎叶一般表现出明显的症状，但这种症状的轻重还受土壤肥力或其它病虫害的干扰，如我们于 1978 年在四方山军马场抗病鉴定材料中，高感品种“嫩丰七号”的一个试验重复小区，因土壤水肥条件较优越，植株生育良好，而无明显受害状，根系却着生 43个孢囊；而高抗材料“龙抗 SCN-781”的一个重复小区，根系虽仅有 0.4 个孢囊，但由于受大豆根潜蝇 (*Melanagromyza* sp.) 为害，地上部症状十分明显，并与孢囊线虫病症状极为相似^[6]，因此，如果仅根据地上部症状的轻重来鉴定供试材料抗病或感病是不准确的，甚至会得出错误的结论，延误抗病性转育的进程。

表 3 大豆孢囊线虫病病级标准

| 抗(感)病级别 | 0 | 1 | 2 | 3 |
|---------|----|-----|------------|------|
| 抗(感)病程度 | 免疫 | 高抗 | 中抗 (轻感) | 感 |
| 根系孢囊数/株 | 0 | 1—3 | 4—10 | 11以上 |

病抗病或感病的根据是准确可靠的。几年来，我们在筛选大豆抗孢囊线虫病的抗源及对抗病转育后代抗病性鉴定时采用的病级标准如表 3。

1976—1981年我们以此标准筛选出的四个抗源：龙抗SCN-781，龙抗SCN-782，

龙抗 SCN-791和龙抗 SCN-792，在黑龙江省经多年、多点鉴定，都表现了稳定的抗病性。我们认为只有抗性达到 0 级、1 级才能作为抗病性的抗源材料进行抗病转育。抗性为 2 级（轻感）的材料，对其中耐病性较强的品种也应予以注意，这样的材料在轻病区可暂时利用，也可作为培育具有水平抗性品种的亲本。

四、鉴定时间

鉴定材料可进行春播、夏播和冬季温室播种，但由于春播根系发育好，环境条件有利于线虫侵入和发育，孢囊着生数量稳定，便于直观鉴定，且鉴定出的抗病植株能及时移栽田间，秋季能正常成熟采种，保证抗源筛选或抗病基因转育工作的连续进行。而夏播鉴定，由于降雨多，水份偏大；冬播温室鉴定，光照不足，温度也难以控制等原因，影响了线虫对大豆的侵染和发育，由表 4 可看出，同一感病品种，夏播、冬播根系着生

表 4 不同播期黑农26大豆根系孢囊着生数量 (哈尔滨)

| 播期 | | 春播 | 夏播 | 冬播（温室） |
|------|---------|------|------|--------|
| 年份 | 孢囊数量（个） | | | |
| 1979 | | 40 | 11.7 | 14.1 |
| 1981 | | 34 | 8.8 | |
| 1982 | | 41 | 4.5 | 14 |
| 三年平均 | | 38.3 | 8.3 | 14 |

孢囊数比春播明显减少，81、82年夏播的感病品种根系着生孢囊数量尚未达到感病级，孢囊发育也较小，鉴定时难以察看。其次，夏播和冬季温室播种，鉴定出的抗病株移栽、采种困难，对转育后代的抗性分离世代，更不宜夏播或温室播种鉴定。

在哈尔滨地区，盆栽鉴定材料，一般于 5 月10日前后播种，5 月25日左右出苗，由表 5 不同鉴定时间大豆根系孢囊着生情况可看出，出苗后 35—45 天（六月末至七月

表 5 不同鉴定时间根系孢囊着生情况 (1983哈尔滨)

| 出苗—鉴定（天） | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 | 50 | 55 | 60 |
|----------|------------|-----------|---------------------|-----|---------------|----------|-------------|--------------|
| 鉴定日期 月·日 | 6.19 | 6.24 | 6.29 | 7.4 | 7.9 | 7.14 | 7.19 | 7.24 |
| 孢囊数量（个） | 5 | 24 | 30 | 33 | 41.8 | 10.8 | 5.2 | 1.4 |
| 孢囊发育情况 | 白色小囊，肉眼难辨。 | 囊白色，肉眼可见。 | 白色柠檬状囊，大小正常，肉眼查数容易。 | 同前期 | 白色或黄色柠檬状囊，个大。 | 囊变黄，部份脱落 | 孢囊深黄色，大部脱落。 | 孢囊变褐，几乎全部脱落。 |

初），地上部展开四片复叶时，大量孢囊线虫第一代雌虫已突破根部表皮，形成肉眼可见的白色柠檬状囊，个体大，又极少脱落，是鉴定抗病性最适宜的时间。表 5 还可以看出，在出苗后 25 天前鉴定，虫体刚刚露出根表皮形成白色小囊，数量少，肉眼难以辨认。而当出苗 45 天以后，孢囊陆续变黄而脱落，60 天以后，根系几乎无孢囊着生。可见，过

早或过晚鉴定孢囊线虫病抗病性的结果都是不准确的。

上述对大豆孢囊线虫病抗病性鉴定时间与近年对大豆孢囊线虫世代发育的研究结果⁽⁷⁾是一致的, 研究结果表明, 大豆孢囊线虫在哈尔滨地区大豆田间每年完成三个世代(表6), 第一世代由于地温较低, 播后历期56天, 于7月15日完成第一世代。第二、

表 6 孢囊线虫各世代历期与虫量变化 (1981哈尔滨)

| 世 代 | 世代历期 (天) | 10厘米地温 (℃) | 完成各世代日期 (月日) | 线虫数量变化 (0.5克根) |
|------|----------|------------|--------------|----------------|
| 第一世代 | 播后56 | 22.2 | 7.15 | 572.7 |
| 第二世代 | 27 | 25.3 | 8.11 | 185.6 |
| 第三世代 | 33 | 21.3 | 9.16 | 12.2 |

第三世代历期27和36天, 并分别于8月11日与9月16日完成世代发育, 世代间有重叠现象。研究还表明, 大豆孢囊线虫不同世代侵入大豆的数量变动较大, 而以第一世代最多(表6)。

因此, 无论从对大豆孢囊线虫病抗病性鉴定的实际工作情况, 还是从孢囊线虫世代发育的规律表明, 抗病性鉴定材料以春播为宜, 在出苗后40天前检查根系孢囊着生数量, 并力争七天内完成, 最晚不能晚于7月15日, 否则因孢囊脱落, 致使鉴定结果不准确。若鉴定份数或株数多, 应考虑春季分期播种, 以避免鉴定时间拖晚, 孢囊脱落, 而导致试材报废。

结 语

在每一百克土内, 含有孢囊20个以上的病土进行春播盆栽, 控制水分, 出苗后40天前检查根系着生孢囊(雌成虫)数量, 并以大豆根系无孢囊着生为0级(免疫)、1—3个孢囊为1级(高抗)、4—10个孢囊2级(轻感)、孢囊在11个以上为3级(感病)做病级标准, 只有抗病性为0级、1级的材料才可作为抗源。上述对大豆孢囊线虫(*Heterodera glycines*)病抗病性鉴定方法是简便、准确、可靠的。1976—198³年以此方法鉴定出的抗源在黑龙江省内经多年、多点、不同播期反复鉴定, 都稳定地表现了高抗或免疫, 并在以其为抗源的抗病转育后代中, 鉴定出稳定的抗病株系。

参 考 文 献

- [1] Epps, J. M. and Alberty, Chambers; 1937, Control of the Soybeancyst nematode. Soybean Dig., 27(9): 6—9.
- [2] Brim, C. A. and I. P. Ross; 1966, Relative resistance of pickett soybean to various strains of *Heterodera glycines*. phytopathol gy, 56: 451—454.
- [3] Milo Hamilton; 1978, Select new varieties armed with resistance. Soybean Dig. 38 (6): 10—11.
- [4] J. D. Thomas, C. E. Caviness, R. D. Riggs, and E. E. Hartwig.; 1975, Inheritance of reaction to race 4 of Soybean cyst nematode. Crop Sci., 15 (2): 205—210.
- [5] 戴芳澜、相增年、郑儒永; 1958, 中国经济植物病原目录, 147页。科学出版社。

- [6] 吴和礼、姚振纯、李秀兰、刘汉起、商绍刚、毛冬青:1982, 大豆孢囊线虫病的抗原筛选研究, 中国农业科学 (6) 19—24.
- [7] 刘汉起、商绍刚:1981, 大豆孢囊线虫病在我省世代的研究, 黑龙江农业科学 (5) 44—47.

STUDIES ON THE METHODS OF IDENTIFICATION OF RESISTANT TO CYST NEMATODE (*Heterodera glycines*)

Wu Heli Yao Zhenchun Li Xiulan Lin Hong

(Field Crop Germplasm Laboratory, Heilongjiang
Academy of Agricultural Sciences)

Liu Hanqi Shang Shaogang Huo Hong

(Plant Protective Research Institute, Heilongjiang
Academy of Agricultural Sciences)

Abstract

The use of resistant cultivars is an effective and economic measure which protects crops from disease infestation. The key to soybean cyst nematode resistance breeding will depend upon some correct methods of identification.

This paper deals with the simple, rapid and accurate methods of identification for resistance screening in soybean germplasm and in large hybrid populations. These include the use of infested soils, identification time, the scale of soybean infected by the nematode, planting method, management during the seedling stage and others.