

# 菜豆种质资源对枯萎病菌的抗性研究

冯国军<sup>1,2</sup>, 杨文月<sup>2</sup>, 王杰<sup>2</sup>, 刘大军<sup>2</sup>, 叶永亮<sup>2</sup>

(1. 东北林业大学 生命学院 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 哈尔滨市农业科学院, 黑龙江 哈尔滨 150070)

**摘要:** 对供试的 21 份菜豆种质资源材料的幼苗采用下胚轴双孔注射法进行接种菜豆枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli), 接种 7 d 后调查下胚轴维管束发病情况, 计算病情指数, 其中感病材料 2 份; 中抗枯萎病材料 11 份; 抗枯萎病材料 7 份; 高抗枯萎病材料 1 份。

**关键词:** 菜豆; 枯萎病

**中图分类号:** S 643. 102. 4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0234-03

菜豆枯萎病是菜豆的重要病害之一, 在适宜的发病年份和地区, 给菜豆生产带来较大影响<sup>[1]</sup>。菜豆枯萎病是由菜豆枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli) 引起的一种真菌性土传维管束病害, 病原菌为尖孢镰刀菌。菜豆枯萎病的症状为病株结荚大量减少并变小。病株轻者在晴天中午呈现萎蔫状, 重者枯叶大量脱落, 大片整畦地死秧。通过菜豆种质资源对枯萎病的抗性鉴定的研究, 从中筛选出抗病种质资源, 应用于菜豆抗病育种实践。

## 1 材料与方法

### 1.1 菜豆材料的来源

供鉴定的 20 份菜豆材料均由哈尔滨市农业科学院豆类课题研究室提供。

### 1.2 病原菌的来源、保存及培养

菜豆枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. phaseoli Kendrick & Snyder) 由中国农业科学院作物科学研究所抗病虫与检疫研究室提供, 菌种接种于 PDA 斜面培养基上置于电热恒温培养箱内培养备用。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 鉴定材料的准备** 工具的准备: 种子、毛巾、营养钵、高压灭菌锅、接种针、双层纱布、血球计数板、盖玻片、滴管、蛭石、草炭、恒温培养箱、医用注射针管、枯萎病病菌、PDA 培养基; 试剂的准备: 5% 次氯酸钠溶液、无菌水<sup>[2]</sup>。

**1.3.2 播种育苗** 将供试 20 份菜豆种子及 1 份对照品种经 5% 次氯酸钠溶液消毒 10 min 后, 用清水冲洗, 湿毛巾包裹放在恒温培养箱中 28℃ 催芽。待胚根长至

0.5 cm 时, 将其播于塑料育苗钵内, 播种基质为消毒 (121℃ 高压灭菌 2 h) 的蛭石草炭营养土 (3 : 1)。每试验材料重复 3 次, 每重复 10 株。20~25℃ 温室内育苗<sup>[3]</sup>。

**1.3.3 接种液的制备** 病原菌在 PDA 培养基上, 25℃ 恒温箱内培养 1 周, 用接种针刮取培养物于无菌水中, 再通过双层纱布过滤, 即得到悬浮液。接种液浓度约  $5.0 \times 10^6$  个孢子/mL。真菌孢子或细菌数量的计测: 测定液体中孢子浓度的方法很多。除了菌落计数和比浊法外, 常用的是用血球计数板来测量孢子的数量。①血球计数板是一块特制的加厚的载玻片, 在中部有 4 条纵槽, 一条横槽, 组成 H 形, 在上下两个方框中刻有高度精确而纤细的刻线, 加放盖玻片后, 上下两方框离盖玻片的距离为 0.1 mm, 在每个方框中有 9 个边长各为 1 mm 的大格, 中间一个大格的部位 (血球计数室) 适合测孢子的数量, 这个大格的边长 1 mm, 面积 1 mm<sup>2</sup>。这个大格又分为 25 个中格, 每个中格都用双线分开, 中格边长 0.2 mm 面积为 0.04 mm<sup>2</sup>。每个中格又分为 16 个小格, 每个小格边长为 0.05 mm, 面积为 0.0025 mm<sup>2</sup> = 1/400 mm<sup>2</sup>。所以每个大格的体积 1 mm<sup>2</sup> × 0.1 mm = 0.1 mm<sup>3</sup>, 每个中格的体积 0.04 mm<sup>2</sup> × 0.1 mm = 0.004 mm<sup>3</sup>, 每个小格的体积 = 1/400 mm<sup>2</sup> × 0.1 mm = 1/4000 mm<sup>3</sup>, 每毫升孢子数量 = 每个小格平均孢子数 × 4 000 × 1 000 = 每个小格有菌数 × 4000000; ②菌液孢子浓度的测定: 首先将培养的菌液摇动均匀后用滴管滴在中央平台上, 盖上盖玻片, 如果菌液浓度过大, 则要先稀释再将稀释的菌液用来镜检、计数。通常检查 5 个中格内的孢子数, 5 个中格分别在 4 个角上和中央, 共计 80 个小方格内的孢子总数。计数的方格多且分布在不同方位上, 可以避免孢子在各方位上分布不均所造成的误差。

每毫升测量的菌液中孢子浓度 = 80 个小格中孢子总数 × 4000000 / 80 = 80 个小格中孢子总数 × 500000。

接种液的配置: 无菌水倒入长好菌种的培养皿内, 然后用接种针轻轻刮菌落, 使长好的菌落能够充分的溶

第一作者简介: 冯国军 (1966-), 男, 高级农艺师, 东北林业大学在读博士, 哈尔滨市农业科学院副院长, 主要从事东北油豆角、黄爪育种工作, 主持育成了“将军油豆”、“哈研一号”水果型黄瓜等蔬菜新品种 8 个。E-mail: feng998@126.com。

收稿日期: 2007-11-29

解到无菌水中, 但注意且勿将培养基刮下, 因其刮菌落的目的在于测菌液中孢子的数目, 而有培养基会使结果有误。将菌落充分的溶解, 尽量使培养基表面的菌落全部溶解, 然后将溶有菌落的无菌水倒入烧杯内, 冲几次至无菌落。然后用漏斗垫两层纱布过滤, 取滤液做成玻片在显微镜下观察, 计算 1 mL 接种液中孢子的数目, 用血球计数板计算孢子数目。以多次测量取其平均值来求得数值的准确性。此试验测 5 次数值即  $5.5 \times 10^6$ 、 $4.5 \times 10^6$ 、 $6.5 \times 10^6$ 、 $7.5 \times 10^6$ 、 $4.5 \times 10^6$ , 5 次测量值的平均值为  $5.7 \times 10^6$  即为试验的接种液的浓度。

1.3.4 采用下胚轴双孔注射法 菜豆苗龄为 2 叶 1 心时, 用医用注射针管, 采取双孔注射法, 接种量约为 0.05~0.1 mL。接种后保湿 48 h, 相对湿度为 100%, 温度为 27~28℃, 保湿后正常管理。具体操作方法: 选好的供试菜豆植株(2 叶 1 心期幼苗), 在茎基部上方约 2 cm 处用针头先刺一观察孔, 孔深以刺到维管束为准, 然后在它的同侧下方约 1 cm 处, 用吸有菌(下胚轴双孔注射法示意图 1)液的注射器刺到相同的深度处注射菌液(此孔为注射孔), 观察下面针孔, 如稍有菌液流出, 即为接种完毕, 假如观察孔未有菌液流出则为接种失败<sup>[3]</sup>。

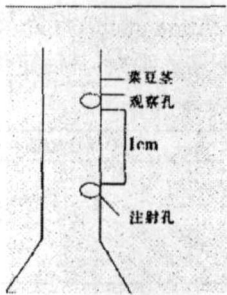


图1 下胚轴双孔注射法

1.3.5 病情调查与分级标准 接种 7 d 后将植株幼茎破开, 观察下胚轴维管束病情况, 进行病部分级调查。级别及病情分级标准分别为: 0 级: 无症状; 1 级: 针口周围维管束开始变色, 但长度不超过下胚轴的 1/4; 3 级: 维管束变色长度为下胚轴的 1/4~1/2; 5 级: 维管束变色长度为下胚轴的 1/2 到整个下胚轴; 7 级: 维管束变色长度超过下胚轴, 但植株死亡; 9 级: 植株因浸染而死亡。

病情指数的计算公式为:  $DI = \sum (s_{ni}) \times 100/9N$ 。式中:  $DI$ —病情指数;  $s_i$ —发病级别;  $n_i$ —相应发病级的植株数;  $i$ —病情分级的各个级别;  $N$ —调查总株数。

种质群体对枯萎病的抗性依据病情指数分为 5 级。1 级. 高抗(HR)( $0 \leq DI < 15$ ); 3 级. 抗病(R)( $15 \leq DI < 30$ ); 5 级. 中抗(MR)( $30 \leq DI < 50$ ); 7 级. 感病(S)( $50 \leq DI < 70$ ); 9 级. 高感(HS)( $DI \geq 70$ )。

2 结果与分析

从表 1 可以看出, 21 份菜豆材料中鉴定出感病材料 2 份即 63、60; 中抗枯萎病材料 11 份; 抗枯萎病材料 7 份; 高抗枯萎病材料 1 份即 61; 其中 60 品种为对照。高抗材料 BELBAK-RR-2 来自菜豆起源中心安第斯山脉, 在进行高抗枯萎病育种时应用此材料进行抗源转育。在抗病材料中既有来自国际热带农业中心的材料如 1-MAX、VAX、CIAT-106、A216, 也有黑龙江地方油豆角材料如黑挤豆、红旗油豆、密山油豆等, 这样为进行抗枯萎病育种提供更多亲本选择。

表 1 21 份菜豆材料的病情指数及对枯萎病的抗病性

品种代号	品种名称	病情指数(DI)	抗病性
61	BELBAK—RR—2	8.48	高抗(HR)
42	黑挤豆	16.30	抗病(R)
7	1—MAX	20.37	抗病(R)
80	VAX	23.70	抗病(R)
106	CIAT—106	25.18	抗病(R)
3	A216	25.93	抗病(R)
89	红旗油豆	26.67	抗病(R)
30	密山油豆	30.74	抗病(R)
31	哈菜豆六号	31.11	中抗(MR)
102	英国红	31.85	中抗(MR)
6	12 号玉豆	32.59	中抗(MR)
65	G0446	34.07	中抗(MR)
81	VAXL	34.07	中抗(MR)
59	♀—622	35.19	中抗(MR)
27	麻雀蛋	40.74	中抗(MR)
97	紫花	40.74	中抗(MR)
64	DDR390	43.33	中抗(MR)
52	98—12	48.15	中抗(MR)
35	江豆宽	48.52	中抗(MR)
63	CATRACHITA	56.30	感病(S)
60 *	ARA—18	58.15	感病(S)

注: 带“\*”的材料为感病对照。

3 讨论

由于阶段抗病性的存在, 评定一批种质资源材料的抗病性, 不但要看其苗期的抗病能力, 还要考察其在成株期的抗病能力, 并且还要进行多年的重复鉴定, 最后才能得出可靠的鉴定结果。苗期鉴定结果只是对大量的材料进行初步的筛选, 所得的数据只是为进一步鉴定提供參考。

在进行病情调查时, 发现 52 号材料的茎秆维管束几乎全部变色, 但幼苗外观生长状况良好, 如果单纯按发病级别来看应属于高感材料, 单从外在表现来看应属于高抗材料, 事实上这种类型的材料属于耐病类型, 在病情调查记录时应注意避免误判。

参考文献

[ 1 ] 王素. 菜豆种质资源对枯萎病抗性鉴定[J]. 植物保护, 1994(6): 28-29.  
[ 2 ] 李锡香, 王素. 菜豆种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 63-65.  
[ 3 ] 尤占武, 徐丽鸣, 艾瑞英. 采用下胚轴双孔注射法鉴定菜豆品种资源苗期抗枯萎病特性的结果[J]. 吉林蔬菜, 2004(2): 32-33.

# 青海高原区姬松茸引种栽培试验研究

韩 梅, 杨文辉, 郭石生

(青海省农林科学院土壤肥料研究所 青海 西宁 810016)

**摘 要:** 从菌丝生长速率、抗杂菌性、温度等方面, 筛选出青海省最适种植的姬松茸品种, 并从栽培试验中得出高原地区栽培姬松茸应注意的问题。

**关键词:** 青海高原区; 姬松茸; 引种; 栽培试验

**中图分类号:** S 646. 1<sup>+</sup> 5(244) **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2008)02—0236—02

姬松茸也称巴西蘑菇。姬松茸子实体圆整, 肥厚, 鲜嫩可口, 其蛋白质含量高达 40% ~ 45%, 此外还含有钾、磷、镁、钙、钠、铜、硼、锌、铁、锰、钼、锗等多种矿质元素。姬松茸在增强的人体免疫力方面在食用菌中居于首位。因此, 倍受美食、保健医学和药学界的关注。我国姬松茸栽培始于 1994 年, 虽然栽培历史短, 但产量上升很快 1998 年已达 1 000 t, 其主产区在福建省。在青海高原区尚未引种栽培, 为此青海省农科院土肥所于 2004 年 12 月引进姬松茸母种, 进行了筛选和栽培试验。

## 1 试验材料

供试菌株: 姬松茸 1 号, 引自福建三明真菌研究所; 姬松茸 3 号, 引自福建三明真菌研究所; 巴西 51240, 引

自中国农业科学院土肥所菌种保藏中心; 巴西 50654 引自中国农业科学院土肥所菌种保藏中心。以上菌种均由青海省农科院土肥所引进, 在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(简称 PDA)、麦粒培养基等培养基上进行扩繁后, 以相同菌龄的菌种进行品比试验。

## 2 试验方法及结果

### 2.1 菌丝生长速率及抗杂菌性试验

将菌种接于 PDA 斜面培养基上, 置于 25℃ 的培养箱中培养, 对菌丝生长进行观察, 包括其萌发时间, 生长速率, 菌丝色泽, 致密度和布满管时间, 每组设 7 次重复。通过对不同菌株菌丝生长情况、长势及其抗杂菌能力的研究, 在室内条件下培养观察, 其测定结果见表 1。

表 1 菌丝生长情况							
菌株	萌发时间/h	菌丝颜色	菌丝长势	菌丝粗壮及致密度	生长速度/mm · d <sup>-1</sup>	布满管时间/d	杂菌感染株数/个
姬松茸 1 号	24	白	++++	++++	8.00	10	0
姬松茸 3 号	24	白	+++	+++	8.18	9	1
巴西 51240	24	白	++++	++++	8.27	8	0
巴西 50654	26	白	++	+	6.41	12	1

注 “++++” 表示长势旺盛、粗壮致密, “+++” 较好, “++” 一般, “+” 较差。

第一作者简介: 韩梅(1974-), 女, 助理研究员, 主要从事食用菌制种、引选、示范推广等方面的科研和推广工作。E-mail: hanmei20061234@sina.com。

收稿日期: 2007—08—14

从表 1 可见, 在相同培养条件下, 菌丝生长存在明显差异。其中姬松茸 1 号、巴西 51240 日长速较快, 菌丝粗壮、致密, 活力强。姬松茸 3 号、巴西 50654 品种活力差、日长速慢, 菌丝长势弱, 且抗杂菌能力差。

## Study on Germplasm of *Phaseolus Vulgaris* L. Resistance to *Fusarium* Wilt

FENG Guo-jun<sup>1,2</sup>, YANG Wen-yue<sup>2</sup>, WANG Jie<sup>2</sup>, LIU Da-jun<sup>2</sup>, YE Yong-liang<sup>2</sup>  
(1. Life Science College Northeast Forest University, Harbin, Heilongjiang 150040, China; 2. Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150070, China)

**Abstract:** Inoculated *Fusarium* Wilt to 21 germplasm of *Phaseolus Vulgaris* L on seedlings period and invested the index of the disease. The results showed that 1 materials were high resistant; 7 materials were resistant; 11 materials were moderate resistant ; 2 materials were susceptible.  
**Key words:** *Phaseolus vulgaris* L; *Fusarium* wilt