

# 菜豆种质资源对炭疽病的抗性鉴定研究

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:** 采用苗期人工接种鉴定法, 对 20 份菜豆种质资源进行了苗期抗炭疽病抗性的鉴定, 结果表明, 有 7 份材料为高抗材料; 2 份材料为抗病材料; 1 份材料为中抗材料, 其余的材料为感病材料。

**关键词:** 菜豆; 炭疽病; 抗性

**中图分类号:** S 643.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)01-0222-02

菜豆炭疽病是由菜豆炭疽病菌(*Colletotrichum lindemuthianum*)引起的一种真菌性病害, 世界各国菜豆产区均有发生<sup>[1]</sup>。我国食荚菜豆产量位居世界第一, 籽用菜豆产量列世界第三, 目前菜豆炭疽病在全国各地均有发生, 明确报道或采集到病害样的有北京、天津、河北、陕西、内蒙古、辽宁、吉林、黑龙江、山东、江苏、浙江、江西、福建、台湾、河南、湖南、陕西、青海、四川、云南及香港等 20 个省、市及地区<sup>[2]</sup>。

菜豆炭疽病不仅为害叶片, 而且侵染豆荚, 产生大量红褐色凹陷病斑, 为害籽粒导致干瘪皱缩并失色。影响食荚菜豆的商品价值和籽用菜豆的产量和质量, 一般减产 20%~30%, 重者绝产<sup>[3]</sup>。

通过菜豆种质资源对炭疽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 试验材料

菜豆种子由哈尔滨市农业科学院豆类研究室提供; 菜豆炭疽病菌由中国农科院作物科学研究所抗病虫鉴定与检疫研究室提供。

材料的播种和管理: 试验设置已知的感病品种作对照, 将供试菜豆种子经 5% 次氯酸钠溶液消毒 10 min 后, 用清水冲洗, 放到铺有湿纱布的培养皿内, 然后将培养皿置于恒温培养箱中 28℃ 催芽。待胚根长至 0.5 cm 时, 将其播于塑料钵中育苗, 每份试验材料播种 30 株, 设 3 次重复, 每重复 10 株。放置在 20~25℃ 人工气候室内育苗, 育苗期间保持充足的水分供应。

### 1.2 试验方法

**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、黄瓜育种工作, 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

**1.2.1 基质灭菌** 播种基质为灭菌(121℃下高压灭菌 30 min)的蛭石草炭营养土(3:1)。

**1.2.2 菌液的制备** 将在 PDA 斜面培养基上保存的炭疽菌接种于灭菌的 MA 培养基(配方: 葡萄糖 2.80 g、硫酸镁 1.23 g、磷酸二氢钾 2.72 g、蛋白胨 1.00 g、琼脂 20.00 g、蒸馏水 1 000 mL、菜豆叶片汁少许)上, 放在 24℃ 的恒温培养箱中黑暗培养 14 d。用无菌水冲洗培养基上的孢子, 配成孢子悬浮液, 用血球记数板计数孢子数。接种浓度为  $5 \times 10^5$  个孢子/mL。

**1.2.3 真菌孢子数量的计测** 测定液体中孢子浓度的方法很多。除了菌落记数和比浊法外, 常用的是用血球记数板来测量孢子的数量。血球记数板的使用方法: 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(血球记数室)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 × 40 000 000。

**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, 则要稀释后再将稀释的菌液用来镜检、记数。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× 40 000 000/ 80= 80 个小格中孢子总数× 500 000。

1.2.4 喷雾接种 当菜豆幼苗第 1 片对生真叶展开时, 于叶正、背面喷雾接种配置好的孢子悬浮液。接种后的植株置于 RH 90% ~ 100%、温度 20 ~ 22 ℃ 的温度内黑暗保湿 24 h, 再将植株置于 22 ~ 28 ℃ 的温室内培养<sup>[4]</sup>。

于接种后 7 d 进行调查记载接种病叶的病级, 计算病情指数并对其抗性进行归类。病情分级标准如下: 0: 无病状; 1: 叶片上只有少数几个病斑; 3: 病斑面积占叶面积的 10% 以下; 5: 病斑面积占叶面积的 10% ~ 25%; 7: 病斑面积占叶面积的 25% ~ 50%; 9: 病斑面积占叶面积的 50% 以上。

病情指数的计算公式为:  $DI = \sum (s_i n_i) \times 100 / 9N$ 。

表 1 菜豆炭疽病抗病性鉴定调查结果

品种编号	品种名	病情指数	抗病表现	品种编号	品种名	病情指数	抗性表现
3	黄家雀蛋	0	高抗(HR)	52	98-12	73.33	高感(HS)
7	1-MAX	0	高抗(HR)	51	大白云豆	75.56	高感(HS)
35	江豆宽	0	高抗(HR)	75	M95-51	75.56	高感(HS)
60	ARA-18	0	高抗(HR)	106	CIAT-106	82.22	高感(HS)
64	DDR390	0	高抗(HR)	57	9Z-312	82.22	高感(HS)
80	VAX	0	高抗(HR)	105	CIAT-105	84.44	高感(HS)
81	VAXL	0	高抗(HR)	31	哈菜豆六号	88.89	高感(HS)
42	黑挤豆	17.78	抗病(R)	27	麻雀蛋	93.33	高感(HS)
77	一串丰	17.78	抗病(R)	89	红旗油豆	93.33	高感(HS)
102	英国红	37.78	中抗(MR)	25*	96-3-41	95.56	高感(HS)

注: 带 \* 的材料为感病对照。

影响菜豆抗炭疽病鉴定结果的因素主要有出苗的整齐度、苗的健康状况、基质的清洁程度、环境条件、接种孢子悬浮液的浓度及喷雾的均匀程度等。每一个环节都必须严格按照操作规程去做, 才有可能减少人为因素的干扰。

在菜豆个体中存在着苗期和成株期抗性不完全一致的现象。即存在着阶段抗病性, 因此经苗期鉴定后, 成株期再进行一次鉴定也是必要的, 能使鉴定结果更为可靠。以便指导生产上抗病育种和为病害的防治提供理论基础。

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。

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

2 结果

从表 1 中可以看出: 3 号、7 号、35 号、60 号、64 号、80 号、81 号材料在有大量病原菌存在和环境条件适宜的情况下不发病, 为高抗材料; 42 号、77 号材料为抗病材料; 102 号材料为中抗材料, 其余的材料为感病材料。

3 讨论

参考文献

[ 1 ] 赵晓彦, 王晓鸣, 朱振东, 等. 普通菜豆抗炭疽病基因鉴定与分子标记[ J ]. 植物遗传资源学报, 2006, 7( 1 ): 95-99.

[ 2 ] 王晓鸣, 李怡琳, 李淑英. 菜豆种质资源对菜豆炭疽病抗性鉴定研究[ J ]. 作物品种资源, 1989( 2 ): 18-19.

[ 3 ] Shao F Mand, Teri, J M. Yield losses in Phaseolus beans induced by anthranthrnose in Tanzania[ J ]. Tropical Pest Management, 1985 31( 1 ): 60-62

[ 4 ] 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: 62-63.

Study on Germplasm of *Phaseolus Vulgaris* L. Resistance to Anthracnose

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. Northeast Forest University Heilongjiang, Harbin 150040, China; 2. Harbin Academy of Agricultural Sciences, Heilongjiang, Harbin 150070, China)

**Abstract:** Inoculating anthracnose to 20 germplasm of *Phaseolus Vulgaris* L on seedlings period and investing the index of the disease. The result showed that 7 materials were high resistant; 2 materials were resistant; 1 materials were moderate resistant 10 materials were susceptible.

**Key words:** *Phaseolus Ualgaris* L; Anthracnose; Resistance