

文章编号: 1003-8701(2008)04-0026-03

大豆菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)接种 技术研究综述

宋淑云, 晋齐鸣*, 张伟, 李红, 苏前富, 王立新, 隋晶

(吉林省农业科学院植物保护研究所, 吉林 公主岭 136100)

摘要: 开展大豆品种对大豆菌核病的抗性研究, 对控制该病害的发生和流行具有重要的意义。综述了大豆品种对大豆菌核病的抗性评价中所采用的各种人工接种技术和田间自然诱发鉴定等方法。对人工接种技术所涉及病原菌的萌发及培养方法等相关性研究也加以阐述, 并展望了今后的发展趋势。

关键词: 大豆菌核菌; 接种技术

中图分类号: S435.651

文献标识码: A

A Review on Studies of Inoculation Technique to *Sclerotinia sclerotiorum*

SONG Shu-yun, JIN Qi-ming, ZHANG Wei, LI Hong, SU Qian-fu, WANG Li-xin, SUI Jing

(Institute of Plant Protection, Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: All kinds of artificial inoculation techniques and natural induced disease in the fields on resistant identification of soybean varieties to *Sclerotinia sclerotiorum* were reviewed in the paper. Methods of pathogen germination and cultural methods related to the artificial inoculation technique were also described. Prospects for the developing trend of the inoculation technique were put forward.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*; Inoculation technique

大豆菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum*(Lib.) deBary)是大豆的一种常见病害,分布较广,尤以黑龙江省及内蒙古北部危害较重,流行年份减产20%~30%。2003年陈卫民^[1]在新疆地区也首次发现了大豆菌核病的发生和流行。吉林省近年来该病害的发生有逐年加重的趋势,已由零星发生到局部地区连年发生。随着种植业结构的调整,大豆种植面积在不断扩大,导致大豆重迎茬比例增加,大豆菌核病发生面积越来越大,危害程度越来越重。因此,科学地控制大豆菌核病是生产上亟待解决的问题。目前,传统的防病措施主要依赖于化学防治方法,忽略了以农业生态系统为整体对象和自然控制因素的作用。有害生物可持续控制是以农业生态系统为对象、以自然控制因素为主要手

段、提高整体生态效益为目标的观点,才能适应未来农业发展的要求^[2]。农业生态调控技术的一项重要措施就是培育、筛选和利用品种的抗性。研究表明,品种间对大豆菌核病的抗性存在着明显的差异。因此,开展大豆品种对大豆菌核病的抗性研究,对控制该病害的发生和流行具有重要的意义。

在抗性研究中,品种的抗病性评价是一项重要内容。目前,主要采用人工接种鉴定和病圃田自然诱发鉴定两种方法,但经常会出现接菌不发病或发病不理想的问题。目前国内外在大豆菌核病接菌方法的研究方面主要有以下几种。

1 人工接菌技术的研究

在品种对大豆菌核病的抗性研究中,对所鉴品种进行人工接菌诱发病害发生是品种抗性筛选研究不可缺少的手段和方法。目前大豆菌核病的人工接菌技术仍然是应用上的一大难点问题。国内外在此方面的研究不是很多。主要有以下几种方法。

收稿日期: 2008-03-03

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2006BAD08A08-)和(2006BAD521B01-2-4)资助项目

作者简介:宋淑云(1956-),女,研究员,主要从事植物病理学研究。

通讯作者:晋齐鸣,男,研究员。E-mail:qinming56@sohu.com

1.1 离体接种法

矫洪双^[3]等做了大豆对菌核病室内抗性鉴定方法的研究。他们对 V3 期的大豆进行了 3 种方法的试验研究。即离体茎 PDA 菌丝块接种、离体整株麦粒菌丝接种及菌丝滤液浸根接种测定。离体茎的接种是在大豆幼苗第一个 3 重复叶节开始取 10 cm, 两端缠湿棉球, 然后将直径 3.5 mm 的 PDA 菌丝块圆片置于大豆茎中间, 使菌丝面与大豆茎接触, 室温下用透明塑料袋封闭保湿, 以菌丝侵染长度计算发病严重程度。整株麦粒接种是将麦粒菌丝体接种体置于植株的叶腋处, 大豆根系保持于水层内, 室温下套罩保湿 24 h 即可记载菌丝侵染植株的受害程度。浸根接种测定是将幼苗根浸于菌丝滤液中 24 h 后, 观察记载植株受害萎蔫程度。其研究表明, 菌丝块和麦粒接种体现了大豆菌核病的主要致病特性, 因此, 试验效果较好。菌丝滤液浸根接种大豆表现出了明显的受害差异, 推测与核盘菌分泌的毒素 - 草酸有关。因此认为毒素应用于大豆菌核病的抗源筛选有着良好的应用前景。

1.2 叶柄接种法

吴柄芝^[4]等研究将沾有 0.3% 琼脂水溶液的直径 3 mm 菌丝圆片接种在大豆植株第一片复叶的叶柄基部, 将菌片有菌丝的一面朝茎秆, 在 20~25 条件下保湿 7 d 后开始调查。结果表明, 叶柄接种法的发病率高且病斑长, 平均发病率为 90%, 平均病斑长度为 2 cm 以上。用此方法在 40 个品种中, 鉴定出免疫品种 1 个、高抗品种 4 个、抗病品种 17 个、感病品种 12 个、高感品种 6 个。

1.3 菌丝喷雾法

矫洪双等还对大豆菌丝悬浮液整株喷雾接种进行了研究。当钵栽大豆进入 V3 期后用菌丝悬浮液喷雾接种, 室温下套塑料罩保湿 48 h 后逐日观察记载发病情况。研究表明, 在保持高湿条件下, 病情发展很快, 96 h 后几乎全部材料发病严重程度都达到了 100%。因此, 要客观的反映品种的抗病性, 必须控制好适宜的湿度及持续时间。否则, 将导致一系列原本抗病的品系遭到淘汰。

1.4 茎尖接菌法

美国的 TD Vuong 等^[5]在 2004 年进行了大豆对菌核病的抗性评价方法研究。他们在温室内与在田间对大豆植株的主茎顶端通过剪茎制造伤口, 在伤口处接入菌丝培养基的柱块方法进行抗性评价。在温室和田间两者的评价结果的相关系数为 0.74 和 0.50。由此而知, 在温室内接菌比在

田间接菌效果好。吴柄芝等将沾有 0.3% 琼脂水溶液的直径 3 mm 菌丝圆片接种在大豆植株的生长点处, 在 20~25 条件下保湿 7 d 后调查病情。植株平均发病率及病斑长度均明显低于上述叶柄接种法, 因此不宜应用。美国密歇根州 Michigan State 大学的 Y.Chen^[6]等在湿度达到 60%~80% 的温室内, 用菌丝液滴入大豆主茎的茎尖处, 取得了很好的接菌效果, 差异显著性测定达到 1% 水平。并且认为此方法简便易行, 用菌量少、成本低廉, 是适用于大量种质资源材料的抗性鉴定方法。

1.5 菌核根埋法

苗保河^[7]对大豆品种资源进行了抗菌核病的鉴定研究, 5 月中旬将营养钵小盆种在苗床内, 在三出复叶期埋入大豆菌核, 每日浇水保持湿度, 开花后期发病, 9 月末收获时, 调查其抗病性。用此方法对东北三省的 365 份材料进行了抗病性评价。鉴定出抗病品种 24 个、中抗 15 个、中感 91 个、感病品种 87 个、高感品种 137 个。笔者在做大豆品种对大豆菌核病的抗性鉴定时, 试验用高粱粒培养的大豆菌核菌, 能产生大量菌核。当植株生长到第 3 片复叶时, 将菌核与高粱粒培养基一并施入盆栽表土层中, 浇水后进行扣棚保湿 1 周, 植株茎基部已长满白色菌丝, 发病良好, 发病株率能达到 90% 以上。保证了在抗性鉴定中人工接菌致病的需要。另外试验只将菌核施入盆栽表土中, 尽管在保湿 7 d 的同样条件下, 菌核无变化, 植株未发病。因此, 表明高粱粒培养基对菌核萌发产生菌丝具有一定的促进作用。

1.6 田间小区土壤接种法

美国的 H.S.Kim^[8]在田间环境下对 18 个大豆不同基因型品种进行了对菌核病的抗性评价。在春季播种后, 将菌核撒于土壤中与 3 cm 表土层均匀混合。从植株生长期达到 R1 期时开始进行喷灌保湿, 直至全部植株均开花为止。所鉴植株全部发病, 品种间的病情指数差异达到极显著程度。

2 自然诱发鉴定

在大豆菌核病的常发区和重发区, 尚可直接种植鉴定品种, 在自然诱发病的条件下, 也能达到鉴定目的。矫洪双^[9]等在 1991~1993 年期间, 在黑龙江省大豆菌核病发生较重的嫩江地区的疫区内, 依靠自然感病条件, 评价了 800 多份大豆种质资源对菌核病的相对抗性。筛选出的 9 份种质材料, 在抗病育种研究中发挥出了较稳定的抗性。他还提出了一个值得注意的问题, 评价不同大豆材

料对菌核病的田间抗性, 必须考虑到熟期类型因素。因为极早熟和极晚熟大豆材料的发病率均相对较低, 认为是由于开花期避开了菌核萌发弹孢子的高峰期, 而使这部分大豆材料得以避病。尚有气象因子与大豆开花期相互作用的影响也能造成避病结果。如降雨、温度及土壤湿度均能影响土壤中菌核的萌发, 气象因子还影响到大豆花期的提前和推后, 直接影响到大豆开花期能否与菌核萌发高峰期相遇的问题。因此, 气象条件形成的避病因素在菌核病抗性鉴定中也应予以重视。

3 人工接种方法的相关研究

3.1 菌核萌发研究

大豆菌核病是通过病原菌的子囊盘释放子囊孢子进行传播侵染的, 而子囊盘的形成要靠紫外光的照射诱发才能完成。程志明^[10]在紫外光对菌核萌发和子囊盘形成速度方面做了研究, 他将菌核暴露在 30 瓦紫外灯下 40 cm 处, 从 10~150 min 分 7 个照射时段进行了试验。发现以照射 90 min 效果最佳, 菌核萌发率达到 94% 以上。用紫外线照射的大豆菌核, 不仅能促进菌核的有效萌发, 还能增加子囊盘的数目, 并且缩短了菌核形成子囊盘的时间。

3.2 菌核培养方法研究

室内研究需要菌核菌的子实体萌发、制备子囊孢子悬浮液和进行田间防治试验均要求提供大量的纯菌核。但在传统的 PDA 培养基上培养的菌核数量很少, 不能满足试验研究的需要。张永杰^[11]等对核盘菌核培养方法做了研究, 比较了培养基种类、培养方法及不同自然基质对核盘菌形成的影响。从马铃薯皮、胡萝卜、传统 PDA、燕麦及麦麸等 7 种培养基的筛选试验中, 明确核盘菌在麦麸葡萄糖琼脂培养基上 25 °C 黑暗培养 2 d 后转至 25 °C 光照培养, 所产生的菌核数量和质量均显著优于其它培养基和其它培养方法。

笔者试验用高粱粒 2 级扩繁技术培养大量的菌核数量获得成功。首先将菌核进行表面消毒后置于培养皿中进行菌种培养, 然后转入试管斜面进行 1 级扩繁, 待菌丝长满斜面后连同培养基一起挑入装有高温灭菌过的高粱粒的罐头瓶中进行 2

级扩繁, 置 25 °C 恒温箱中培养 20 d 后即可使用。用此种方法培养的菌核数量是瓶中高粱粒数量的 2/3 之多, 能够满足大量使用菌核数量的需要。

4 展 望

现阶段的菌核病抗性研究还离不开传统的人工接菌技术手段。人工接菌方法一般比较费工费时, 程序繁琐, 并且受自然环境和操作环节的影响较大, 有时会影响到试验结果分析的可靠性。现代生物技术已从研究水平达到了应用阶段, 特别是重组 DNA 技术的应用, 为获得抗菌核病的大豆品种展示了光明的前景。目前, 世界上如美国等一些科学技术发达国家已经开始了生物技术在大豆菌核病的控制方面的研究。可以预料, 一种能够取代人工接种方法的全新抗性研究技术定能实现。

参考文献

- [1] 陈卫民, 陈 祥, 宋红梅, 等. 新疆大豆菌核病研究初报[J]. 大豆通报, 2003(5): 14.
- [2] 潘洪玉, 席景会, 刘伟成, 等. 大豆菌核病可持续控制技术[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2002, 4(2): 162-166.
- [3] 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): 295-301.
- [4] 吴柄芝, 李 勇, 林佩力, 等. 大豆品种抗菌核病鉴定方法的研究简报[J]. 大豆科学, 2000(11): 246.
- [5] T D Vuong, D D Hoffman, B W Diers, J F Miller, et al. Evaluation of Soybean, Dry Bean, and Sunflower for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Crop Science. Madison: May/June 2004. Vol. 44, Iss. 3; pg. 777, 7 pgs
- [6] Y.Chen. et al.. Two Convenient Methods to Evaluate Soybean for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. 2005. Plant Disease /Vol. 89 No12: 1268-1272.
- [7] 苗保河. 大豆品种资源抗菌核病鉴定研究 [J]. 作物品种资源, 1995(2): 35-36.
- [8] H.S.Kim. et al.. Evaluation of Soybean Cultivars for Resistance to *Sclerotinia Stem Rot* in Field Environments Crop Sci. 1999. 39: 64-68.
- [9] 矫洪双, 程志明, 许修宏, 等. 大豆种质资源对菌核病的抗性鉴定研究[J]. 大豆科学, 1994, 13(4): 349-356.
- [10] 程志明. 紫外光对菌核(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) 萌发和子囊盘形成速度的影响 东北农学院学报 1990, 21(4): 311-314.
- [11] 张永杰, 韩巨才, 刘慧平, 等. 核盘菌菌核培养方法的研究 [J]. 植物保护, 2004, 30(6): 74-77.

欢迎订阅 2009 年《河南农业科学》

本刊为月刊, 国际标准 16 开本, 120 页, 彩色封面, 每期定价 5.00 元, 全年 60 元。各地邮局均可订阅, 邮发代号: 36-32。如错过订期, 可直接与本刊编辑部联系订阅。

地 址: 郑州市农业路 1 号 邮 编: 450002 电 话: 0371-65739041 传 真: 0371-65712747

E-mail: hnnykx@163.com hnny@chinajournal.net.cn