

豇豆枯萎病抗原筛选研究*

方木壬 黄健坤

(园艺系)

提 要

1982~1983年用苗期人工接种及田间病圃的方法鉴定了80个长豇豆(*Vigna sesquipedalis* (L)Fruh)品种及两个眉豆(*Vigna cylindrica* Skeels.)品种对镰刀菌枯萎病(*Fusarium* sp.)的抗病性。筛选出“猪肠豆”和“珠燕”两个高度抗镰刀菌枯萎病的长豇豆品种,为抗病育种提供两份有价值的抗原。

前 言

长豇豆(*V. sesquipedalis* (L) Fruhw.)是我国重要的豆类蔬菜之一,各地栽培普遍,但在高温多雨的华南地区,长豇豆枯萎病(*Fusarium* sp.)为害严重。根据对广西梧州市,广东湛江,海口及广州等地的调查,一般田间发病率(死株率)在15~25%左右,病害严重的田块发病率可达30~40%,对生产造成很大损失。长豇豆枯萎病是一种土壤传播的病害,从苗期到商品成熟期都能侵染为害,目前,除采用土地轮作外,尚无理想的农药可防治,因此,抗病育种途径很值得研究。

国外对豇豆枯萎病的研究,主要是在粮用豇豆(*Vigna sinensis* Enal)方面。五十年代美国在筛选抗原的基础上,育成了一些抗镰刀菌枯萎病的粮用豇豆品种^{[1][2]},但在长豇豆方面,尚无报道。我国长豇豆品种资源丰富,但过去未作过系统的抗病性鉴定。也未有抗枯萎病品种的报道。作者等于1982~1983年对我国部分长豇豆品种资源进行抗枯萎病的鉴定研究,目的是为抗病育种寻找抗原。在鉴定筛选过程中,对抗病性鉴定方法,也作了一些研究,以便找出简单、迅速、准确的筛选方法,为筛选大量选种材料创造条件。

材 料 与 方 法

本试验所用材料包括从我国各地收集到的80个长豇豆(*V. sesquipedalis* (L)Fruh.)品种及二个眉豆(饭豆)(*V. cylindrica* Skeels.)品种。

*本文蒙李鹏飞教授和戚佩坤付教授审阅并提出宝贵意见;广州市蔬菜研究所,广州郊区蔬菜研究所及我校毛瑞昌同志为本试验提供部分品种材料,深表谢忱。

(一) 菌种的分离和培养

供试菌种是1982~1983年先后分离自广州地区东圃、棠下、鹤洞、石井、夏茅及我院蔬菜场的长豇豆病株。经过人工接种致病性试验,证明其致病性与大田病株一致后,在马铃薯、葡萄糖、琼脂培养基(PDA)上培养,温度为28°C,保留各菌株供试验用。

(二) 接种孢子液的制备

各菌株先分别以(PDA)培养基或改订Leonian培养液,培养一周。接种时,前者用无菌水把培养皿上的菌丝体及孢子洗出,过滤;后者则把菌块及培养液置于组织捣碎机内,用低速捣碎菌块,然后过滤。接种时,将这两种菌液分别用无菌水稀释到以低倍镜(125倍)下,每个视野含100个孢子作为原液,并分别稀释为含50、25、12、6个孢子浓度的菌液,作不同孢子量浓度的试验。

(三) 幼苗接种方法

将供试的品种播种于花盆(盆栽沙土预先经1:50福尔马林溶液消毒)。4-5天后,当幼苗第一对真叶展开时,将幼苗挖起,剪去部分主根,然后将幼苗根部浸入上述5个菌株的等量混合菌液中,约10秒钟,立即将带菌的幼苗移植于鉴定圃(鉴定圃前作为水稻田,土壤经充分晒透,并用1:50福尔马林溶液进行土壤消毒),以后定期淋水,并记录其发病率。

每一供试品种种植三个小区,每个小区40株。

(四) 田间病圃鉴定方法

田间病圃是一块连作八造豇豆的重病田。试验小区面积15×3市尺,播种50株。每品种重复三次,随机排列。第一次田间病圃试验,在1982年7月1日播种,10月3日结束。第二次田间病圃试验在1983年4月4日播种,7月10日结束。病圃按一般栽培方法进行日常管理,治虫不治病,并定期调查记录发病率,一直到未收期停止。

结 果

(一) 接种液最适孢子量的试验

为确定品种抗病鉴定的最适宜的病菌接种量,用感病的品种“红嘴燕”及“四季青”为材料,分别以固体培养(PDA)及液体培养(改订Leonian液)的不同浓度的菌液,进行接种鉴定。结果发现:二种培养基配制成的接种液,在同一浓度下,发病率无明显差异,说明对病菌致病力的影响不大。但PDA用料简单,操作简便,因此,从育种实践的需要来看,较为合适。

不同的接菌量(即不同孢子浓度),对发病率影响较大。虽然在6~100个孢子浓度范围内都能致病,但发病率随浓度的增加而提高。以感病品种“红嘴燕”为例,对照(未接种病菌)发病率为0%;接菌量为6个孢子,发病率为77.2%;12个孢子,发病率为87.0%;25个孢子,发病率为92.4%,50个孢子及100个孢子的,发病率都是100%。

不同接菌量有浓度高潜育期短的趋势,长短相差最多2天。50~100个孢子的菌液浓度接种后第7天开始发病,第14天达到高峰。但低浓度的(含6~25个孢子)菌液接种

后发病进程较缓慢, 最后发病率也比较低。不同孢子浓度引起的苗期病状是一致的。最先是第一对真叶退绿黄化, 继而幼茎呈水渍状病斑, 内部维管束变黑褐色, 很快地第一对真叶脱落, 植株枯萎死亡。每批鉴定工作, 从接种开始到记载工作结束约25天, 比田间鉴定大大加快了进度。

(二) 不同品种苗期人工接种鉴定结果

1982年秋季进行第一次苗期接种鉴定, 参试品种20个。1983年夏季进行第二次苗期接种鉴定, 参试品种有80个长豇豆品种及2个眉豆品种, 共82份材料。两次接种孢子浓度都是低倍镜下每视野含50个孢子。日平均温度为22~28℃。

鉴定结果表明: 不同品种对枯萎病的抗病性存在显著的差异。从高度抗病到高度感病之间, 有一系列的抗(感)病类型。以1983年夏季材料为例, 80个长豇豆品种抗(感)病程度大致可以分为四类:

1. 抗病品种(发病率为0~20%), 有“猪肠豆”(发病率0%, 引种地区: 广东)、“珠燕”(1.1%, 广东)、“西园”(18.8%, 广东)等, 共三个品种, 占3.7%。

2. 中抗品种(发病率为21~40%), 有“揭上一号”(37.5%, 广东)、“长德豆角”(36.4%, 广东)等两个品种, 占2.5%。

3. 中感品种(发病率为41~60%), 有“司前金山豆”(47.6%, 广东)、“搓衣白豆”(50.0%, 广东)、“翡翠”(51.0%, 广东)、“浙江青皮”(60.0%, 浙江)、“翁沅八月角”(60.0%广东)共5个品种, 占6.3%。

4. 高感品种(发病率为61~100%), 有“新溜铁线青”(63.0%, 广东)、“芦113”(65.3%, 广东)、“红嘴莲”(66.1%, 广东)、“14832”(67.2%, 广东)、“浙江白皮”(67.4%, 浙江)、“乌陂豆角”(67.5%, 广东)、“十八罗汉”(67.8%, 北京)、“银燕”(68.2%, 广东)、“80公分”(69.2%, 广东)、“园身青”(69.4%, 北京)、“龙须青”(70.3%, 广东)、“掘尾青”(71.4%, 广东)、“芦114”(71.5%, 广东)、“竹叶青”(71.6%, 北京)、“紫尾青”(72.0%, 安徽)、“大鸡青”(72.3%, 广东)、“南海早花”(73.0%, 广东)、“东莞松皮”(73.5%, 广东)、“红粒白尖”(74.4%, 旅大)、“五叶子”(75.0%, 成都)、“油身白”(76.3%, 广东)、“早青豇”(76.4%, 江苏)、“四大青”(77.2%, 广东)、“茶1483”(77.6%, 广东)、“米尺豇”(78.8%, 上海)、“南岗青豆”(79.3%, 广东)、“青丰”(79.4%, 陕西)、“芦花白”(80.4%, 广东)、“芦119”(81.0%, 广东)、“云南白豇豆”(81.0%, 云南)、“乌仁”(84.1%, 广东)、“马尾青”(84.1%, 广东)、“大条青”(85.4%, 安徽)、“中山八月角”(85.6%, 广东)、“长青”(85.7%, 广东)、“旅大红豇”(86.2%, 旅大)、“齐眉青”(86.6%, 广东)、“南宁白豆角”(86.6%, 广西)、“河旁青豆”(87.1%, 广东)、“快子青”(87.6%, 广东)、“铁线青”(88.7%, 广东)、“五月青”(89.2%, 广东)、“罗裙带”(89.6%, 陕西)、“新桥豇豆”(89.8%, 贵州)、“粤夏二号”(89.8%, 广东)、“桂林白豆角”(91.0%, 广西)、“富育

青” (91.5%, 广东)、“上海红豇” (92.5%, 上海)、“紫荚白露豇豆” (92.5%, 成都)、“司前八月豆” (92.8%, 广东)、“北京紫豇” (92.9%, 北京)、“铁线藤” (93.8%, 广东)、“四季仔” (94.9%, 广东)、“杭州粉皮” (95.0%, 浙江)、“长身白豆” (95.3%, 广东)、“红膳鱼骨” (95.5%, 武汉)、“五月鲜” (95.9%, 武汉)、“米一生” (96.0%, 陕西)、“指甲青” (96.2%, 广东)、“花皮豇豆” (96.6%, 成都)、“龙眼七叶仔” (96.8%, 广东)、“沈阳十八粒” (97.4%, 沈阳)、“四季青” (98.7%, 广东)、“之豇, 228—2” (98.9%, 浙江)、“蛇豆” (100%, 广东)、“江西白豇豆” (100%, 江西)、“白荚白露豇豆” (100%, 成都)、“红嘴燕” (100%, 成都), 共70个品种, 占87.3%。

眉豆是长豇豆的近缘种, 它们之间的杂交容易亲和^[3], 因而通过种间杂交就有可能进行抗病基因的转移。但本试验所用的两个眉豆品种 (“白眉豆” 和 “揭西红眉豆”), 其发病率分别为60%及86.8%, 都属于高感类型的品种, 利用价值不大。

(三) 田间病圃鉴定结果

为比较苗期人工接种鉴定与田间病圃成株鉴定的结果, 1982年秋季及1983年夏季选择14个有代表性的品种进行田间病圃鉴定。结果仍然以“猪肠豆”及“珠燕”两个品种抗病能力最强。其中“猪肠豆”发病率为0~2.3%，“珠燕”为0~1.5%。经过多次苗期人工接种鉴定及田间病圃鉴定, 都证明这两个品种具有高度抗镰刀菌枯萎病的能力, 是两份有重要育种价值的抗原。“西园”、“浙江青皮”及“司前金山豆”三个品种发病率分别为21.0%, 22.7~30.7%和29.4~40.0%, 属于中抗类型的品种。而“芦花白” (发病率61.3%), “富育青” (80.5%), “乌仁” (80.7~82.0%)、“粤夏二号” (86.7~89.0%), “铁线青” (87.6%)、“南岗青豆” (83.0~88.1%)、“揭上一号” (96.5%)、“四季青” (94.1~96.5%)、“红嘴燕” (95.4~98.4%)等9个品种的发病率都在60%以上, 属高感类型的品种。两年田间病圃结果都比较相近。

如果将上述14个品种田间病圃鉴定的结果与苗期人工接种鉴定的结果进行比较, 发现其中12个品种 (“猪肠豆”、“珠燕”、“西园”、“司前金山豆”、“芦花白”、“富育青”、“乌仁”、“粤夏二号”、“铁线青”、“南岗青豆”、“四季青”、“红嘴燕”) 苗期人工接种的发病率与田间病圃的发病率非常接近。但有两个品种则差异较大, 如“揭上一号”苗期鉴定发病率为34.4% (属高抗类型), 而田间病圃鉴定发病率却达到96.5% (属高感类型); 相反, “浙江青皮”苗期发病率为60% (属中感类型); 而田间鉴定发病率则只有22.7%及30.7%, (属中抗类型)。这一结果表明, 大多数品种人工接种鉴定与田间病圃鉴定是一致的, 但少数品种则可能不一致, 甚至相反。因此, 在运用苗期人工接种鉴定来确定品种的抗病性时, 必须注意到这种差异。

讨 论

(一) 1982年~1983年鉴定的80个长豇豆品种, 分别来自我国华南、西南、长江流域地区及北方等14个省、市、自治区。从鉴定筛选的结果看, 被列为抗病及中抗类型的品种都是来自枯萎病为害严重的华南地区。而来自没有枯萎病为害或为害很轻的其

他地区的品种中，除了“浙江青皮”属于中感品种外，其他品种都是“高感”类型品种。这一结果反映出，豇豆枯萎病抗原的分布与该病害的分布有密切的联系。在枯萎病为害严重的华南（尤其是广东）地区的品种，由于自然选择及人工选择的结果，抗病变异较多，在众多的地方品种中有可能蕴藏着一些抗病基因资源。因此，应通过大量的鉴定筛选，把这些抗病品种资源发掘出来，为生产或育种所利用。

(二) 我国（尤其是华南地区）长豇豆品种资源很丰富，但过去未作过系统的抗病性研究，或者仅仅依靠病区大田自然发病率来鉴定品种的抗病性，不仅进展缓慢，数量有限，而且也欠准确。本试验所用的苗期接种鉴定方法，其特点是苗期病菌侵染后，即有明显的症状，短期内即能较准确的鉴定出品种间抗病或感病的差异。因此，在抗病育种过程中，用这种方法进行抗源或大量育种材料的初步选择或淘汰，可以节省许多田间鉴定的工作量，加快选择的进度。但是，正如本试验所指出，个别品种苗期人工接种抗病性与田间病圃鉴定的结果可能不一致，因此，对那些重要的抗原材料或选择材料，除进行苗期接种初步筛选之外，还必须同时进行田间病圃成株鉴定，以便更准确的反映品种的抗病性。

参 考 文 献

- [1] Hare, W.W (1952). Reaction of cowpea varieties to *Fusarium* wilt. *Phytopathology*, 42: 283 (abst.)
- [2] Hare, W.W. (1957). Missisipi Crowder, a new disease—resistant cowpea. *Phytopathology*, 47: 565—566.
- [3] Steele, W. M. (1976). Cowpea. In Simmonds, N. W. (ed.), *Evolution of crop plants*. London. 183—185.

STUDIES ON SCREENING FOR THE SOURCES OF RESISTANCE IN YARDLONG BEAN (*Vigna sesquipedalis*) (L) Fruhw) TO FUSARIUM WILT DISEASE

Fang Muren Hwang Cheinkun
(Department of Horticulture)

ABSTRACT

Fusarium wilt of yardlong bean (*Vigna sesquipedalis* (L) Fruhw) is a serious disease in South China. However, there is no effective measure for its control yet, except the adaptation of crop rotation.

with the aim to search for the resistance sources of *Fusarium* wilt for breeding purposes, during 1982—1983, 80 varieties of yardlong bean (*Vigna sesquipedalis*) from various regions of China and 2 varieties of rice bean (*Vigna cylindrica* (L) SKecls) were screened for resistance against this pathogen by using of seedling inoculation as well as making use of materials in the naturally infested field. The results showed that only 2 of the varieties, "Zhu Chang Dou" and "Zhu Yan", possessed high and stable resistance to *Fusarium* wilt (juust 0—2.3% disease incidence) in both seedling inoculation and under naturally infected field condition. Thus they might be ranked as the sources of resistance in breeding for resistant varieties and would be used in our hybridization program.