



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Crop Genetics and Breeding—Review

Aphanomyces euteiches——加拿大豌豆生产的严重威胁

Longfei Wu^a, Kan-Fa Chang^b, Robert L. Conner^c, Stephen Strelkov^a, Rudolph Fredua-Agyeman^b, Sheau-Fang Hwang^{b,*}, David Feindel^b

^a Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta, Edmonton, AB T6G 2P5, Canada

^b Crop Diversification Center North, Alberta Agriculture and Forestry, Edmonton, AB T5Y 6H3, Canada

^c Agriculture and Agri-Food Canada, Morden Research and Development Centre, Morden, MB R6M 1Y5, Canada

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 February 2018

Revised 2 May 2018

Accepted 8 June 2018

Available online 17 July 2018

关键词

豌豆

Aphanomyces euteiches

根腐病

致病力变异

数量性状基因座

摘要

豌豆 (*Pisum sativum* var. *arvense* L.) 是世界上重要的豆科作物。豌豆籽粒蛋白质含量很高, 并能提高土壤中有效氮的含量。由一种土传卵菌根腐丝囊霉 (*Aphanomyces euteiches* Drechs.) 引起的 *Aphanomyces* 根腐病 (ARR), 在包括加拿大在内的许多地区对豌豆生产构成严重威胁, 在潮湿的土壤条件下引起严重的根损伤、萎蔫, 造成大幅度减产。在有利于病害发生的条件下, 由于病原体孢子的寿命长, 在豌豆任何生长阶段都可以侵染豌豆植株, 传统病害防控措施 (如作物轮作和拌种处理) 不能完全防治病害的危害。培育部分抗病或耐病豌豆品种可能是分析豌豆中根腐丝囊霉变异性和生理转化性、提高病害防治效果的有效途径。因此, 检测抗病数量性状基因座 (QTL) 对豌豆育种计划至关重要。本文对根腐丝囊霉的致病特点、ARR 防控措施以及部分与抗性相关的 QTL 进行了综述。

© 2018 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

豌豆 (*Pisum sativum* var. *arvense* L.)、普通菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.)、蚕豆 (*Vicia faba* L.)、大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.]、鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* L.) 和小扁豆 (*Lens culinaris* Medik.) 均属豆科作物。豌豆与根瘤菌的互作导致根瘤的形成, 使豌豆根能够直接固定大气中的氮, 从而有利于豌豆和下茬作物的生产。豌豆种子蛋白质含量高, 富含淀粉、膳食纤维、维生素、矿物质和多酚类化合物, 为人类和牲畜提供富含蛋白质的食物来源[1]。豌豆由食品企业加工成罐头或冷冻产品, 豌豆是加拿大草原供人类消费和牲畜饲料种

植最广泛的作物之一, 2016年出口市场价值达 1.2×10^{12} CAD[2]。

1990年世界豌豆产量最高, 达 1.66×10^7 t。2014年, 由于欧洲豌豆种植面积减少, 产量降低了 5.5×10^6 t [3,4]。从那时起, 因新的共同农业政策 (CAP) 绿化措施, 欧洲的豌豆种植面积又有增加[5]。豌豆栽培在一个多世纪以前传入加拿大[6], 在19世纪末首次出现在加拿大东部个别地区。1985年, 加拿大豌豆播种面积仅为 8.05×10^4 hm²。从20世纪90年代开始, 北美洲 (即加拿大和美国) 豌豆栽培显著增加。由于豌豆适应于寒冷气候以及其对人类和牲畜消费的营养价值较高, 因而作为一种经济作物越来越受欢迎, 以满足加拿大出口市场

* Corresponding author.

E-mail address: sheau-fang.hwang@gov.ab.ca (S.-F. Hwang)

的需求。到2014年，加拿大已经成为世界上最大的豌豆生产国，现在产量占全球的21%[4]。

目前，*Aphanomyces*根腐病（ARR）是世界范围内豌豆生产的主要限制因素之一。该病害由根腐丝囊霉（*Aphanomyces euteiches* Drechs.）引起，其形成的厚壁卵孢子区别于大多数其他土传病原[7]。根腐丝囊霉在寄主的所有生长阶段都能严重危害根系。根腐丝囊霉卵孢子的寿命很长，且缺乏完全抗病的豌豆基因型，使得防控ARR变得很困难。本文综述了根腐丝囊霉的致病性变异，以及传统防控策略和部分抗性在防控豌豆ARR中的应用。

豌豆根腐病复合症（PRRC）是加拿大乃至世界豌豆生产中的一个严重问题[8,9]。当病害严重时，产量降低可高达70%[10,11]。据报道，一些土传播病原参与PRRC，包括根腐丝囊霉、镰孢菌属（*Fusarium* spp.）、腐霉属（*Pythium* spp.）、疫霉属（*Phytophthora* spp.）和立枯丝核菌（*Rhizoctonia solani* Kühn）[12–15]。腐皮镰孢（*F. solani* (Mart.) Sacc）是世界范围内豌豆根腐病的最常见致病菌[16]。除镰孢菌属外，根腐丝囊霉在北美洲和欧洲的某些国家，以及日本、澳大利亚和新西兰也有发生[17]。美国也报道了终极腐霉（*Pythium ultimum*）和根腐丝囊霉侵染造成产量损失[18,19]。1983年，在安大略南部PRRC造成豌豆减产 2.4×10^4 t[10]。燕麦镰孢（*Fusarium avenaceum* (Corda ex. Fr.) Sacc.）是阿尔伯塔省和马尼托巴省豌豆镰孢根腐病的主要病原菌，占收集的田间样品的80%以上[20,21]。据Hwang和Chang [22]报道，PRRC在加拿大阿尔伯塔省很普遍。Tu [23]指出，镰孢菌引起的豌豆减产受土壤压实、温度和水分的影响，这也可能影响茄病镰孢（*F. solani*）[16]和燕麦镰孢的相对流行率[20]。

PRRC侵染可导致种子腐烂、立枯、幼苗枯萎、根腐病和枯萎病。然而，仅仅通过检查症状还不能确定致病物的身份[24]。这增加了在加拿大西部和其他地区预测和控制豌豆根腐病的难度。任何一种导致PRRC的真菌直接侵入种子后通常是造成种子腐烂的原因[25,26]，但最常见的是腐霉属（*Pythium* spp.），这导致种子变软、呈糊状并迅速腐烂。立枯和幼苗枯萎降低了出苗率和植株密度，限制了豌豆生长，推迟了冠层闭合，从而增加了杂草竞争力。所有这些因素都可能导致减产[27]。根腐还限制了受害根系中水分和养分的运输，降低了冠层密度和作物成熟的一致性[28]。根腐还可破坏根瘤，导致根部固氮减少[29]。

2. 根腐丝囊霉引起的 ARR

根腐丝囊霉属于卵菌纲（Oomyceta），由一大群真核生物组成，其中包括最多样化、最重要和最早的已知水性霉菌[30]。卵菌在形态上与真菌相似（即菌丝生长），许多是寄生的。与真正的真菌不同，卵菌产生运动的双鞭形游动孢子[30,31]。细胞学和生化研究发现卵菌和真菌还有其他不同之处[32–34]。在营养生长阶段，卵菌的菌丝由保持二倍体的多核菌体组成[33][图1(a)]。单倍体细胞核的形成仅通过减数分裂形成配子。在此阶段，真菌菌体产生分隔细胞，每个细胞带有一个单倍体细胞核。此外，真菌细胞壁主要由几丁质（乙酰氨基葡萄糖聚合物）与葡聚糖、多糖、黏多糖、蜡和色素一起组成，与此相反，卵菌的细胞壁含有纤维素、葡聚糖和羟脯氨酸，但没有几丁质[35]。

丝囊霉属（*Aphanomyces* spp.）包括许多鱼类、小龙虾和植物的腐生或寄生水霉[36]。丝囊霉属有40个种[37]，大多数种的寄主属不同的科，但也有一些例外，如螺壳状丝囊霉（*A. cochlioides* Drechs.）只侵染甜菜（*Beta vulgaris* L.）[37]，鸢尾丝囊霉（*A. iridis* Ichitani and Tak. Kodama）只侵染鸢尾属植物（*Iris* spp.）[36]。虽然根腐丝囊霉在蝶形花科中有广泛的寄主，但对豌豆和扁豆造成的经济损失最大[38–40]。这种寄生菌已从豌豆、苜蓿（*Medicago sativa* L.）、菜豆和红豆（*P. vulgaris* L.）、蚕豆、红三叶草（*Trifolium pratense* L.）、白三叶草（*T. repens* L.）、扁豆和几种杂草中分离出来[38,41]。然而，它的发生和致病性的程度可能有所不同。从美国和法国已经鉴定出侵染豌豆和苜蓿的根腐丝囊霉菌株，有些菌株既可侵染豌豆又可侵染苜蓿[39,42,43]。Papavizas和Ayers [38]报道，根腐丝囊霉对北美洲和欧洲的豌豆以及苜蓿作物造成了巨大的经济损失。根腐丝囊霉的广泛寄主范围结合其卵孢子寿命长的特点，导致利用作物轮作控制ARR的难度很大。

自从Jones和Drechsler [44]首次描述、Papavizas和Ayers [38]深入综述以来，根腐丝囊霉被认为是豆科植物中最具破坏性的土传病原菌之一。目前，根腐丝囊霉在世界上所有豌豆主要栽培地区均有报道[17]。根腐丝囊霉影响了法国北部地区的豌豆生产[41]。在北美洲，根腐丝囊霉在加拿大和美国的五大湖地区、美国东北地区[25]以及太平洋西北地区[45]均造成了严重的产量损失。最近有报道显示，根腐丝囊霉引起的豌豆根腐病在阿尔伯塔严重发生[46]。在遭受重度侵

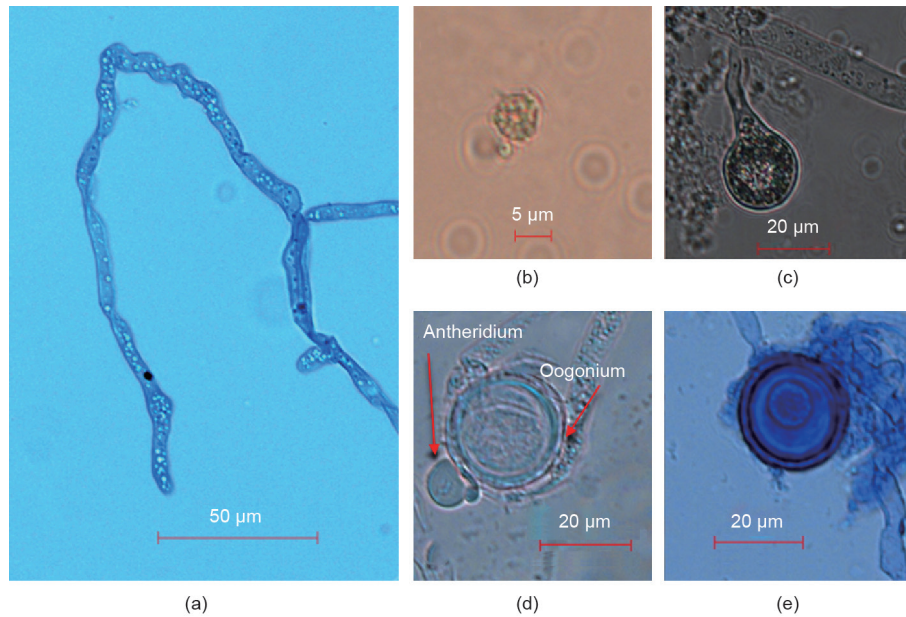


图1. 根腐丝囊霉的结构。(a) 无隔膜的多核菌丝；(b) 失去鞭毛的囊生孢子；(c) 根腐丝囊霉卵原细胞；(d) 有性阶段的卵母细胞和卵原细胞；(e) 厚壁卵孢子在不利条件下存活。

染的豌豆地块中，这种寄生菌引起的产量损失可高达86%[47]。

2.1. 发病条件

ARR症状可在第一次侵染后7~14 d内发病，这取决于土壤湿度、温度和卵孢子的浓度[38,47]。根腐丝囊霉的高接种密度增加了ARR的发生率和严重程度。Chan和Close [7]报道每100 g土壤卵孢子数与根腐病严重度呈正相关。卵孢子可形成胚芽管，直接穿透豌豆根部的皮层。土壤水分含量影响孢子囊的形成和游动孢子的释放，并使具鞭毛的游动孢子在土壤颗粒周围的水分膜中迁移到植物根系[48,49]。游动孢子侵染也有利于豌豆根部代谢产物的渗出[50]，它刺激卵孢子的萌发并吸引更多的游动孢子[9]。大量降雨有利于ARR暴发，根腐丝囊霉只需很短时间就能完成侵染过程[25]。ARR启动所需土壤水分的最低水平约为土壤持水能力的30% [51,52]。

ARR发生的温度范围与豌豆生长相同[25]，然而，侵染的最适温度约为16℃，病害发展最适温度为20~28℃ [53,54]。重度侵染进一步限制了豌豆中的水分和养分的输送，所以根腐丝囊霉侵染后高温可能加速豌豆根的腐烂[55]。

Gaulin等[56]报道，根腐丝囊霉可在任何生长阶段侵染豆科寄主，另一些研究则认为侵染在苗期最常见[57,58]。

2.2. 根腐丝囊霉的生活史

根腐丝囊霉的生活史包括无性和有性阶段，使其通过游动孢子有效传播并在冬季严酷条件下以卵孢子形式存活[41]。卵孢子的直径为18~25 μm，有一层厚的保护壁，并含有大的油球形式的能量储备[9,38]。它们可以在土壤中存活超过10年[47]，并且可以通过侵染的土壤和（或）受感病植物残茬的运输而进行长距离传播[38]。

当卵孢子靠近豌豆根时，在适宜温度和水分条件下可以萌发，形成菌丝体或游动孢子囊。游动孢子囊在卵孢子上形成长管，可以释放大量的游动孢子[59]。双鞭形游动孢子通过根系分泌物中的化学信号吸引到合适的寄主上[60]，数分钟内在根表面形成包囊[图1 (a)]。所产生的包囊在几小时内萌发并穿透寄主皮层细胞[38]。一旦建立侵染点，多核菌丝在寄主根组织的细胞间隙中迅速发育，病原菌从根蔓延到茎（下胚轴和上胚轴），最终定殖于整个根系。被侵染的根变得柔软、水渍状，并呈现蜂蜜棕色或黑棕色斑，在病害发展的后期阶段变成橙棕色或黑棕色[图2 (b) 和 (c)]。

侵染几天内，根腐丝囊霉可能进入单性生殖腺和卵原细胞的形成和融合的有性阶段[59][图1 (a) 和 (d)]。随后，形成厚壁卵孢子，确保病原菌的长期存活，并作为随后几年的主要侵染源[61][图1 (e)]。寄生菌可以从根部的第一次侵染到卵孢子的形成，在10~14 d内就可完成[62]。

严重根腐病使感病植株的水分和养分运输严重受限

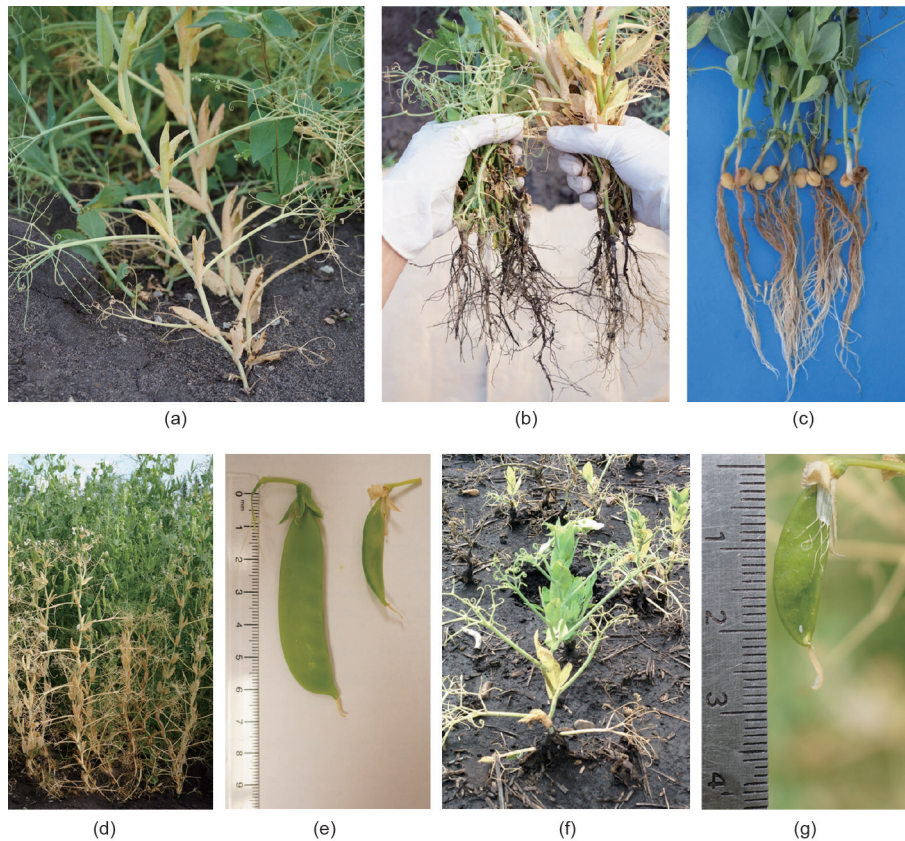


图2. 根腐丝囊霉引起的豌豆根腐病症状。(a) 豌豆茎在田间变黄和矮化;(b) 健株(左)和病株(右)的比较;(c) 感病豌豆根的变色和水渍状;(d) 收获期间田间枯萎的豌豆植株;(e) 健株(左)的豆荚和病株(右)比较;(f) 强降雨后田间低洼处幼苗枯萎的发生;(g) 叶片发白与荚果早熟。

[63][图2 (a) 和 (f)]。感病植株在早期生长阶段可能发育迟缓, 然后开始枯萎, 导致提前死亡[64][图2 (d)]。此外, ARR可能严重推迟豌豆成熟, 降低荚果大小和种子数, 降低种子质量[64][图2 (e) 和 (g)]。

2.3. 根腐丝囊霉的变异和生理专化性

关于根腐丝囊霉致病性变异和生理专化性的信息是有限的。由于缺乏完全抗性或免疫的豌豆基因型, 很难建立一套鉴别寄主来区分不同小种, 而且, 由少数几个鉴别寄主鉴定的小种可能表现出非典型性[38]。尽管如此, 根据游动孢子和卵孢子大小、孢子形成所需的时间和产生游动孢子的能力、培养基上的生长速率、果胶酶和纤维素酶的产生等特点已经检测出菌株之间的差异[38]。

King和Bissonette [65]首先检查了根腐丝囊霉的生理专化性, 指出在明尼苏达州的豌豆品种中, 寄生菌的毒力模式不同。通过接种抗病和感病豌豆品种的根尖, Carlson [55]检测了从明尼苏达、纽约和威斯康星等州侵染的土壤中分离到的10个根腐丝囊霉菌株, 并报道了不同菌株侵染植物和产生卵孢子能力存在着相当

大的差异。从萌发卵孢子中分离到7株单孢子菌, 并对毒力和培养基上的生长特性进行了观察[48]。Beute和Lockwood [66]用15个根腐丝囊霉单孢菌株接种了6个不同品种, 并根据它们在豌豆品种上的毒力鉴定出两个小种(表1)[66-70]。根据病害严重度, 两个小种在6个豌豆品种上表现出不同病害反应模式。采用Beute和Lockwood [66]的鉴别寄主, Sundheim和Wiggen [67]证实了挪威4个县的14个根腐丝囊霉菌株中存在4个生理小种。Sundheim和Wiggen [67]通过计数接种后10 d死亡植物的数量来评价抗性。Sundheim和Wiggen [67]所述的小种鉴定方法受到Manning和Menzie [68]的质疑, 后者认为接种后10 d的不可逆枯萎植物不能完全反映根腐丝囊霉的毒力谱。这些研究之间的不一致说明了根腐丝囊霉小种鉴定的难度。

Malvick和Percich [69]用一套新的鉴别寄主(包括豌豆基因型MN313、MN314、90-2079、WI-8904、Little Marvel、Saranac和Early Gallatin)评价美国的114个根腐丝囊霉菌株的致病多样性(表1), 还利用随机扩增多态性DNA (RAPD)进行了遗传多样性分析。所有菌株对一个或多个豌豆品种具有致病性, 18%和14%可分

表1 利用不同豌豆鉴别寄主基因型对根腐丝囊霉的致病性变异和生理专化性

| Method | Differential genotypes | Identified race/virulence type | Isolate region | Reference |
|------------------------|---|--------------------------------|------------------------------------|-----------|
| Race identification | Miragreen; Early Perfection; PI 175232; PI 169604; PI 180693; PI 166159 | Races 1 and 2 | United States | [66] |
| Race identification | Miragreen; Early Perfection; PI 175232; PI 169604; PI 180693; PI 166159 | Races 1–4 | Norway | [67] |
| Race identification | Miragreen; Early Perfection; PI 175232; PI 169604; PI 180693; PI 166159 | Race 5 | New Zealand | [68] |
| Pathogenic variability | MN313; MN314; 90-2079; WI-8904; Little Marvel; Saranac; Early Gallatin | Virulence groups I–IV | United States | [69] |
| Pathogenic variability | Baccara; Capella; 90-2131; MN313; 552; PI 180693 | Virulence types I–XI | North America, Europe, and Oceania | [70] |

别使苜蓿 (Saranac) 和豆 (Early Gallatin) 致病。Malvick和Percich [71]得出结论, 美国中西部地区的根腐丝囊霉群体具有遗传 (根据RAPD分析) 和表型变异。在随后的研究中, 确定了4个毒力组, 其中病害严重度大于3.0 (即大于90%的根呈棕色或黄色, 但上胚轴或下胚轴无症状) 被用作明确的致病相互作用的阈值[72]。

后来, Wicker和Rouxel [70]用另一套鉴别寄主 (Baccara, Capella, 90-2131, MN313, 552和PI 180693) 分析来自法国、丹麦、瑞典、挪威、美国、加拿大和新西兰的109个根腐丝囊霉菌株, 鉴定出11个毒力型 (表1)。在这项研究中, 能够引起所有鉴别寄主严重ARR症状的毒力I型菌株占大多数, 毒力最强。Wicker和Rouxel [70]还根据个体病害严重度的平均值 (0~5) 计算病害严重度指数 (DSI), 并将DSI<1作为抗性的指标。

稍后, Wicker等[17]指出, Malvick和Percich [69]所用的豌豆鉴别寄主基因型无法区分法国的根腐丝囊霉菌株。为了更准确地评价来自不同国家的病原菌的毒力, Wicker等[17]评价了Wicker和Rouxel [70]最初所用的33个豌豆品系和5个寄主。在这些研究中鉴别寄主的抗性已被用于培育抗ARR的豌豆品种[17]。Wu [73]采用Westor和Rouxel [72]所用的鉴别寄主对阿尔伯塔省和马尼托巴省的8个根腐丝囊霉菌株进行了温室鉴定。大多数菌株被鉴定为毒力I型, 有一个菌株为毒力III型。为了更好地了解这种病原菌的生理专化性, 还需要用更多的鉴别寄主品系对来自加拿大其他地区的菌株进行进一步检测。

2.4. 根腐丝囊霉的分离

根腐丝囊霉菌株的分离是困难的。豌豆根和根茬样品很容易从感染的组织中脱落到土壤中[74]。许多真菌也干扰根腐丝囊霉的分离[75]。Manning和Menzie [75]利用土壤诱饵成功地在马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 平板上分离出根腐丝囊霉。为了提高分离的成功率, 甲酰苯基万古霉素 (MBV) [25]培养基已广泛用于分离根腐丝

囊霉, 因为它能够抑制腐霉、疫霉和大多数细菌的生长。

Wu [73]采用了感病根样品直接分离和土壤诱饵两种方法。对于直接分离法, 播种后2~3周当根尚未完全感染PRRC时收集根和土壤样品。随后将土壤样品用于感病豌豆品种的诱饵[68]。从浸泡过的豌豆根中切下根尖, 在显微镜下观察卵孢子的存在。根尖在浓度为1%的NaClO中表面消毒30 s, 经无菌水冲洗, 置于MBV培养基上。然而, 根据Vandemark等[76]所述的实时聚合酶链反应 (PCR) 检测结果, 其在浓度为0.1%的样本中检测到了根腐丝囊霉[76]。

2.5. 接种方法

游动孢子是温室试验中最常见的一种根腐丝囊霉接种物[23,43,70,77–83], 卵孢子培养基也用于温室和田间试验[38,73]。以游动孢子为基础的接种物已广泛应用于豌豆抗ARR的鉴定[77–83]。游动孢子接种物通常是由玉米粒、麦芽糖蛋白胨和燕麦 (*Avena sativa* L.) 熬制而成的液体培养基, 或用根腐丝囊霉接种悬浮在水中的豌豆种子, 在室温下暗培养5~7 d[84]。将所得菌丝垫放置在矿物盐溶液中并充气过夜, 产生每毫升含 $3 \times 10^5 \sim 8 \times 10^5$ 个游动孢子的悬浮液。游动孢子通常被用于精确地接种7日龄豌豆幼苗, 然后将幼苗移栽到温室中的盆中, 游动孢子浓度是确定的, 以消除培养基中营养物质的不良影响。

卵孢子接种物是用砂、玉米粉和水在高压蒸过的燕麦上产生的。将该基质接种根腐丝囊霉, 室温下暗培养30 d[38]。Wu [73]对此方法进行了改进: 以燕麦粒代替玉米粉。麦粒砂接种物常用于田间试验, 也用于温室试验中, 需要强烈的感病条件。Thygesen等[85]将根腐丝囊霉接种到燕麦液体培养基, 20℃暗培养4~8周; 在搅拌器中匀浆, 然后用矿物盐溶液过滤和洗涤。悬浮液与灭菌后的沙子混合, 室温干燥, 储存于4℃。卵孢子悬浮液也可以精准地接种豌豆幼苗和豌豆种子, 可以在温室实验中连续释放游动孢子。

3. 传统病害防治措施

ARR已被公认为近20年来豌豆危害最严重的根病之一[86]。然而,这种病害的防控方法是有限的。对ARR来说没有完全抗性的豌豆品种[25,87],只有部分抗性和(或)耐性材料[80,81,88]。一些研究集中在苗期杀菌剂种子处理的效果,这已证明可以改善植株健康[89,90]。目前,最广泛推荐的ARR防治方法是在作物播种前通过作物轮作和评价侵染水平进行避病处理[91]。生物防治(包括种子和土壤处理)在实验阶段是可行的[9,92]。

3.1. 栽培措施

作物轮作是防治土传致病菌病害最古老、最基本的方法之一,但其有效性与轮作周期高度一致[93]。豌豆种植的频率与根腐病严重度存在正相关关系[86]。因此,与非寄主作物的轮作可降低土壤中根腐丝囊霉的密度,从而降低ARR的严重度。长期作物轮作可以降低土壤中的根腐丝囊霉密度,但轮作不能有效地根除病害[94]。然而,作为一种防治ARR的方法,作物轮作的实用性和有效性是值得怀疑的,因为卵孢子在没有寄主的情况下可以存活10~15年[95]。此外,许多替代寄主,包括鹰嘴豆、扁豆、苜蓿和某些杂草,可以在没有豌豆的情况下维持接种水平[38]。Hossain等[96]建议作物轮作周期为6~8年。Williams Woodward等[97]研究了燕麦作为豌豆的轮作作物的效应,发现燕麦残茬对ARR的抑制作用。因此,作物多样性的增加可能是防治病害良好的长期策略[98]。

土壤条件可以抑制或有益于ARR[99]。Heyman等[100]发现钙浓度与病害发展呈显著负相关,说明游离钙是根腐丝囊霉土壤抑制程度的主要因素。这一发现表明钙可能起到抑制卵孢子产生游动孢子的作用[100]。

十字花科植物,如卷心菜(*Brassica oleracea* L.)、芥菜(*B. nigra* L.)、芜菁(*B. rapa* L.)和油菜(*B. napus* L.) [7,8,63,101-103],以及禾本科植物,如燕麦、黑麦(*Secale cereale* L.)和玉米(*Zea mays* L.) [8,97,104-108],可以降低ARR的严重度。

土壤压实会加剧ARR的发展,导致豌豆产量损失高达63%[107]。相比之下,燕麦苗和残茬覆盖豌豆地块的产量比没有残茬的地块提高48%,表明燕麦残茬是利用栽培措施防治ARR的有效的方法。Allmaras等[87]证明了燕麦作为前茬作物对ARR的抑制作用,并指出与耕作

和机械作业造成的过度压实可能损害土壤内部排水,从而降低燕麦残茬在控制病害中的有效性。

田间取样确定土壤根腐丝囊霉接种量是豌豆播种前处理ARR的有效方法。在温室条件下,已经确定并区分了严重侵染的田块和非侵染或轻度侵染的田块[109,110],这种预先检验田块选择方法是避免ARR的一种经济可靠的方法[111]。RT-PCR分析也被用于测定田间土壤中根腐丝囊霉群体。Vandemark等[112]和Armstrong-Cho等[113]证明,豌豆根中几种分离物的DNA浓度与ARR严重度存在正相关关系。

3.2. 病害预测与根腐丝囊霉的分子检测

分子标记是真菌和卵菌属植物病原菌鉴定的有效工具。用物种特异性引物进行PCR分析,检测土壤或植物样品中根腐丝囊霉DNA的存在已被广泛应用[76]。Chatterton等[46]和Armstrong-Cho等[113]利用PCR分析分别检测了阿尔伯塔省和萨斯喀彻温省豌豆田的根腐丝囊霉。许多商业试剂盒也被用来有效地识别根腐丝囊霉[46,76,112]。尽管如此,关于使用分子标记来鉴定根腐丝囊霉的特异小种或致病类型的信息仍然是有限的和初步的。

Malvick和Percich [69]开展了RAPD分析以评价美国根腐丝囊霉菌株的遗传多样性,但76个多态性RAPD标记与致病性变异均不相关。在另一项研究中,他们根据5个豌豆基因型和RAPD分析成功地将来自美国4个地点114个菌株区分为一组主要菌株和两组密切相关的次要菌株[69]。Sauvage等[111]利用两组标记136F/136R和11F/280R扩增了105个根腐丝囊霉分离物的不同大小PCR产物,表明土壤的病菌接种量与ARR严重度密切相关。

3.3. 种子和土壤处理

在一些地区,包括欧洲大部分地区,禁止使用某些土壤杀菌剂防治ARR [96]。此外,用化学物质处理土壤的成本和不利的环境影响使得这种方法在广大豌豆种植地区是不切实际的和不理想的[114,115]。杀霉唑(hymexazol)等种衣剂可有效提高出苗率[116]。然而,Tu [106]指出用克菌丹(captan, *N*-三氯甲基硫代-4-环己烯-1,2-二甲酰亚胺)防治豌豆根腐病的局限性。此外,根腐丝囊霉对一些用于控制其他卵菌的杀菌剂具有抗性。例如,甲霜灵(metalaxyl)对大多数卵菌是有效的,但对抗丝囊霉却无效。它是分离根腐丝囊霉的选择

性培养基的主要成分[25]。无论是系统性的酰基丙氨酸类杀真菌剂（如甲霜灵），还是乙基膦酸盐（如福赛特铝或环莫西尼、fosetyl-AL或cymoxanil）都不能有效地控制ARR [117]。一些化学物质在控制条件下可有效地抑制根腐丝囊霉，但在田间试验中仅表现有限的有益效果[89,90]。在田间试验条件下，土菌消（tachigaren）（羟异噻唑或恶霉灵、hydroxyisoxazole或hymexazol）可降低根腐病严重度，提高产量[116]，该化合物在日本可用于控制甜菜腐霉和丝囊霉[117]。然而，在其他研究中，土菌消（tachigaren）对于防治ARR的有效性是不同的[118–120]。最近的一项研究确定Intego Solo[噻唑菌胺（ethaboxam）]（Valent, Guelph, ON）、BAS 516F和BAS 720F在温室条件下可降低病害的严重度，但在田间条件下没有效果[73]。目前，在加拿大大豆科植物中，噻唑菌胺是唯一的防治腐霉根腐病及抑制由疫霉和丝囊霉引起的种子腐烂的杀菌剂。

3.4. 生物防治

拮抗微生物在种子或土壤中的应用有助于保护豌豆植株免受真菌和卵菌的侵染。放线菌（AM）真菌和一些芽孢细菌的孢子，作为种子包衣在豌豆田中控制ARR，在田间试验中显著抑制了ARR的发展[121]。利用异硫氰酸盐（由十字花科植物茎组织中产生的一种化合物）具有控制ARR的潜在能力，因为在控制条件下对根腐丝囊霉具有毒性作用[96]。

生物防治和杀菌剂处理常常被用于种子处理。最近的研究已经表明，一些真菌和细菌菌株，如粉红粘帚霉[*Gliocladium roseum*, syn. *Clonostachys rosea* (Link) Schroers]、荧光假单胞菌[*Pseudomonas fluorescens* (Flügge) Migula]和伯克霍尔德里氏菌[*Burkholderia cepacia* (Pal-leroni和Holmes)]复合种的一些种，被制成种衣剂与杀菌剂一起使用，与仅施用杀真菌剂的处理相比，在根腐丝囊霉侵染的田间出苗率要大得多[17,18,90]。Xue [90]评价了由真菌菌株ACM941（粉红粘帚霉）和杀菌剂[Thiram 75 WP (thiram) 或Apron FL (metalaxy)]组成的种子处理，发现用ACM941+杀真菌剂的种子包衣提高了根腐丝囊霉侵染田块的豌豆种子发芽率。在温室试验中，AM真菌也被证明能提高豌豆幼苗的出苗率，但它们在田间并不总是有效的[85,122]。有几项研究表明，在与绿肥作物、较低剂量的化学物质或生物控制生物联合使用时，在温带地区防治豌豆根腐病是有效的[123,124]。

4. 根腐丝囊霉的遗传抗性

4.1. ARR 部分抗性

豌豆的抗病性是防治ARR最经济有效的策略。已经培育出部分抗性或耐病的豌豆品系，并用于防止豌豆生产区的产量损失[78,79,88,125]。一些鉴别寄主豌豆基因型，如Capella、MN 144、MN 313、MN 314、902131、90-2079、552和PI 180693，对某些根腐丝囊霉小种具有部分抗性[17,72,125]。鉴别寄主PI 180693和552因其对ARR具有较高水平的稳定抗性而备受关注[17,126]。

Conner等[88]报道豌豆品系00-2067具有高水耐病性，在加拿大马尼托巴省的ARR病圃的严重发生病圃中植株生长势和产量均较好。Wu [73]报道了类似的结果。因此，00-2067可能是将ARR耐病性转移到农艺性状理想的豌豆基因型的一个可选材料。然而，一些抗源与节长及花和种脐颜色呈不良性状连锁，从而增加了将抗性转移到或耐病性转育到农艺性状优良品系的难度[127]。ARR部分抗性传统育种受豌豆抗性多基因遗传的影响[79]。因此，为了有效地聚合抗性基因，部分抗性基因的鉴定和定位是培育抗病豌豆品系的关键。

4.2. 豌豆对 ARR 的抗性评价

Papavizas和Ayers [38]详细描述了评价ARR严重度的最常用方法。播种后3~4周从土壤中挖出植株，用自来水冲洗，按0~4级逐一评价严重度，0 = 根系健康无明显根腐病症状；1 = 初生或次生根呈轻度水渍状；2 = 初生或次生根或上胚轴中度水渍状，具浅褐色区域和大面积变色；3 = 侵染范围扩大，软化，但整个根系部不塌陷，且上胚轴萎缩不明显；4 = 根系大面积变色，组织塌陷和崩解，或植物完全死亡[图3 (a)]。Rao等[128]按照根和上胚轴的症状发生程度，制定了1~5级的病害严重度评价方法。Xue [129]提出了一个0~9级标准，不仅可以评价根系侵染的百分比，而且还考虑了坏死程度[图3 (b)]。

4.3. ARR 部分抗性

部分抗性是由许多数量性状位点（QTL）控制的，对病害症状表现微效至主效的抑制作用[130,131]。利用不同亲本基因型的杂交组合创制的连锁作图群体已经检测出控制部分抗病性相关的QTL[77–83]。利用Puget×90-2079的重组近交系（RIL）群体在连锁群（LG）IVb、V和Ia中分别检测3个稳定的QTL——*Aph1*、*Aph2*



图3. ARR病害评价标准比较。(a) 0~4级[38]和 (b) 0~9级[129]。

和*Aph3* [77]。此外, *Aph1*和*Aph2*对美国和法国的根腐丝囊霉菌株具有部分抗性, 而*Aph2*仅对法国菌株具有抗性[78]。

Hamon等[79]报道了Baccara × PI 180693和Baccara × 552杂交组合两个RIL群体的135个加性效应QTL, 对应于23个基因组区域和13个显著上位性互作。Pilet-Nayel等发现[77], 在LG I、II、III、IV和VII上发现5个影响根腐病指数(RRI)和地上部减损指数(ADI)一致性基因组区域(*Ae-Ps1.2*、*Ae-Ps2.2*、*Ae-Ps3.1*、*Ae-Ps4.1*和*Ae-Ps7.6*), *Ae-Ps1.2*与*Aph3*位置相同。对Puget × 90-2079 [77]、Baccara × PI 180693和Baccara × 552 [79]3个RIL群体, 以及第4个群体DSP × 90-2131 [80]一起进行了QTL联合分析。共鉴定出27个抗ARRmeta-QTL, 分布在7个连锁群中, 其中11个meta-QTL位于7个基因组区域。

Lavaud等[81]还用抗病亲本基因型90-2131、PI 180693和552杂交产生的近等基因系(NIL)验证了两个主效QTL(*Ae-Ps4.5*和*Ae-Ps7.6*)和几个微效QTL。在随后的研究中, Lavaud等[82]研究了*Ae-Ps4.5*、*Ae-Ps7.6*和其他一些微效QTL在豌豆中的功能, 发现这些QTL对ARR症状表现和根腐丝囊霉在根系上定殖有显著影响。

Loridon等[132]开发的SSR标记在上述研究中被广泛应用于筛选参考标记。其他各种分子标记也被用于ARR抗性的研究, 包括AFLP、RAPD、ISSR和STS标记。近年来, 由于分子标记技术的快速发展和基因分型成本的降低, 全基因组关联分析(GWAS)已被广泛应用于检测复杂性状的自然变异, 尤其是豆科作物的多基因抗性[133,134]。与抗、感基因型之间的连锁作图分析相比, 由于物种进化历史的原因, GWAS能够分析更广泛的遗传多样性, 同时具有更高的重组率; 因此, 该技术大幅度细化了与性状变异相关的基因组区域的位置。

Desgroux等[83]用13 204个单核苷酸多态性(SNP)

标记进行GMAS作图, 以缩小ARR严重度相关的QTL置信区间。这项研究在较小区间内发现52个QTL, 这对于豌豆育种上作为提高对根腐丝囊霉部分抗性来说是非常有价值的[83]。

在QTL检测研究中, 根腐病严重度是评价豌豆中ARR发展最常用的性状[77-83]。其他测定ARR不良效应的方法包括ADI [79,80], 以及根重、叶重和植株生长势[88]。Wu [73]发现ARR严重度与生长势、株高、根干重和叶干重相关。

5. 结语

豌豆是一种重要的豆科作物, 为人类和牲畜的消费提供了宝贵的蛋白质来源。豌豆生产受ARR的限制, ARR是由根腐丝囊霉引起的一种严重的土传病害。孢子寿命长, 缺乏高水平的寄主抗性, ARR造成严重的经济损失, 使得这种病害成为一个严重问题。与根腐病综合征中的其他病原菌相比, 根腐丝囊霉具有高度破坏性, 在严重侵染的田块中造成的产量损失超过80% [47]。虽然对根腐丝囊霉在豌豆生产中的重要性的认识已有近一个世纪[44], 但是根据分子和形态学鉴定方法对ARR的发生和严重度的普查是在最近几年才开始的。根腐丝囊霉致病性变异的研究一直没有开展。不同研究中小种的名称和鉴别寄主往往不同, 使结果难以直接比较。为了分析根腐丝囊霉种内的遗传多样性, 可以通过利用新一代测序(NGS)技术来进行基因分型测序(GBS)。

ARR的成功防控在全球范围内仍然是一个挑战。由于土壤中厚壁卵孢子能够长期存活, 传统的栽培措施如作物轮作对ARR的控制效果十分有限。种子处理不能持续足够长时间, 在整个豌豆生长阶段抑制ARR, 而且目前很少有商业产品可用。应进一步研究杀菌剂和生物防治剂组合的种子包衣剂应用, 作为抑制ARR的手段。部分抗性耐病性可能是减少ARR引起的籽粒产量和品质损失的最有希望的途径。通过多种分子技术鉴定了许多主效QTL, 这些技术可为豌豆育种计划中的基因聚合提供宝贵的资源。利用基于NGS技术的全基因组、转录组的豌豆SNP标记平台可以进一步提高已检测到的QTL的精确性和实用性。

要想更好地理解根腐丝囊霉耐病性和抗病性的性状和表型, 还需要更大的努力。效应因子触发的免疫性的机制在其他土传卵菌中已有深入的研究, 如大豆疫霉(*Phytophthora sojae*)引起的大豆疫霉根腐病, 对根腐丝囊霉-豌豆互作也应该进行研究。对于致病机制还有

待于进一步研究，如暴发、采集、摄取和侵染寄主组织的机制，还有可能触发卵孢子形成的化学信号等。这些信息将有助于研发新的农药，抑制病原菌的生长，防止孢子形成，或者减少侵染。

Acknowledgements

We are grateful for funding support received from Agriculture and Agri-Food Canada, the Saskatchewan Pulse Growers Association, the Manitoba Pulse and Soybean Growers through the Growing Forward 2, and the Pest Management and Surveillance Implementation Program.

Compliance with ethics guidelines

Longfei Wu, Kan-Fa Chang, R.L. Conner, Stephen Strelkov, Rudolph Fredua-Agyeman, Sheau-Fang Hwang, and David Feindel declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Felix M, Perez-Puyana V, Romero A, Guerrero A. Development of thermally processed bioactive pea protein gels: evaluation of mechanical and antioxidant properties. *Food Bioprod Process* 2017;101:74–83.
- [2] Canada: outlook for principal field crops, 2017-12-18 [Internet]. Ottawa: Minister of Agriculture and Agri-Food; 2017 Dec 20 [cited 2018 Jan 15]. Available from: <http://www.agr.gc.ca/eng/industry-markets-and-trade/market-information-by-sector/crops/outlook-for-principal-field-crops-in-canada/canadaoutlook-for-principal-field-crops-2017-12-18/?id=1513698779109#a4>.
- [3] Karkanis A, Ntatsi G, Kontopoulou C, Pristeri A, Bilalis D, Savvas D. Field pea in European cropping systems: adaptability, biological nitrogen fixation and cultivation practices. *Not Bot Horti Agrobo* 2016;44(2):325–36.
- [4] FAOSTAT database collections [Internet]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; c2014 [cited 2017 Dec 27]. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- [5] De Cicco A. Dry pulses in EU agriculture—statistics on cultivation, production and economic value [Internet]. Luxembourg: Eurostat Statistics Explained; [updated 2017 Dec 20 cited 2018 Jan 12]. Available from: http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Dry_pulses_in_EU_agriculture_-_statistics_on_cultivation_production_and_economic_value.
- [6] Slinkard AE, van Kessel C, Feindel DE, Aii-Khan ST, Park R. Addressing farmers' constraints through on-farm research: peas in western Canada. In: Muehlbauer FJ, Kaiser WJ, editors. Expanding the production and use of cool season food legumes. New York: Kluwer Academic Publisher; 1994. p. 877–89.
- [7] Chan MYK, Close RC. *Aphanomyces* root rot of peas: evaluation of methods for assessing inoculum density of *Aphanomyces euteiches* in soil. *New Zeal J Agric Res* 1987;30(2):213–7.
- [8] Tu JC, Findlay WL. The effects of different green manure crops and tillage practices on pea root rots. In: Proceedings of 1986 British Crop Protection Conference. 1986 Nov 17–20; Brighton, UK: Pests and Diseases; 1986. p. 229–36.
- [9] Pfender W, Malvick DK, Pflieger FL, Grau CR. *Aphanomyces* root rot. In: Kraft JM, Pflieger FL, editors. Compendium of pea diseases and pests. St. Paul: APS Press; 2001. p. 9–13.
- [10] Tu JC. Integrated control of the pea root rot diseases complex in Ontario. *Plant Dis* 1987;71(1):9–13.
- [11] Hwang SF, Lopetinsky K, Evans IR. Effects of seed infection by *Ascochyta* spp., fungicide seed treatment, and cultivar on yield parameters of field pea under field conditions. *Can Plant Dis Surv* 1991;71:169–72.
- [12] Bailey KL, Gossen BD, Gugel RK, Morrall RAA, editors. Diseases of field crops in Canada. Saskatoon: Canadian Phytopathological Society; 2003.
- [13] Chang KF, Bowness R, Hwang SF, Turnbull GD, Howard RJ, Lopetinsky K, et al. Pea diseases occurring in central Alberta in 2004. *Can Plant Dis Surv* 2005;85:89–90.
- [14] Chang KF, Hwang SF, Ahmed H, Gossen BD, Turnbull GD, Strelkov SE. Management strategies to reduce losses caused by *Fusarium* seedling blight of field pea. *Can J Plant Sci* 2013;93(4):619–25.
- [15] Chang KF, Hwang SF, Ahmed H, Fu H, Zhou Q, Strelkov SE, et al. First report of *Phytophthora sansomeana* causing root rot in field pea in Alberta, Canada. *Crop Prot* 2017;101:1–4.
- [16] Ondrej M, Dostalova R, Trojan R. Evaluation of virulence of *Fusarium solani* isolates on pea. *Plant Prot Sci* 2008;44(1):9–18.
- [17] Wicker E, Moussart A, Duparque M, Rouxel F. Further contributions to the development of a differential set of pea cultivars (*Pisum sativum*) to investigate the virulence of isolates of *Aphanomyces euteiches*. *Eur J Plant Pathol* 2003;109(1):47–60.
- [18] Parke JL, Rand RE, Joy AB, King EB. Biological control of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of peas by application of *Pseudomonas cepacia* or *P. fluorescens* to seed. *Plant Dis* 1991;75(10):987–92.
- [19] Bowers JH, Parke JL. Epidemiology of *Pythium* damping-off and *Aphanomyces* root rot of pea after seed treatment with bacterial agents for biological control. *Phytopathology* 1993;83(12):1466–73.
- [20] Feng J, Hwang R, Chang KF, Hwang SF, Strelkov SE, Gossen BD, et al. Genetic variation in *Fusarium avenaceum* causing root rot on field pea. *Plant Pathol* 2010;59(5):845–52.
- [21] McLaren DL, Henderson TL, Kim YM, Chang KF, Kerley TD, Thompson MJ. Field pea diseases in Manitoba in 2016. *Can Plant Dis Surv* 2017;97:200–2.
- [22] Hwang SF, Chang KF. Incidence and severity of root rot disease complex of field pea in northeastern Alberta in 1988. *Can Plant Dis Surv* 1989;69(2):139–41.
- [23] Tu JC. Effects of soil compaction, temperature, and moisture on the development of the *Fusarium* root rot complex of pea in southwestern Ontario. *Phytoprotection* 1994;75(3):125–31.
- [24] Xue AG. Biological control of pathogens causing root rot complex in field pea using *Clonostachys rosea* strain ACM941. *Phytopathology* 2003;93(3):329–35.
- [25] Pfender WF. *Aphanomyces* root rot. In: Hagedorn D, editor. Compendium of pea diseases. St. Paul: APS Press; 1984. p. 25–8.
- [26] Schrum H, Kotcon J, Verlinden S. Organic methods for control of root rot in pea and spinach in northeastern US. In: Neuhoff D, Halberg N, Alfdi T, Lockeretz W, Thommen A, Rasmussen IA, et al., editors. Proceedings of the Second Scientific Conference of the International Society of Organic Agriculture Research; 2008 Jun 18–20; Modena, Italy; 2008. p. 624–7.
- [27] Lawson HM, Topham PB. Competition between annual weeds and vining peas grown at a range of population densities: effects on the weeds. *Weed Res* 1985;25(3):221–9.
- [28] Xi K, Stephens JHG, Hwang SF. Dynamics of pea seed infection by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani*: effects of inoculum density and temperature on seed rot and pre-emergence damping-off. *Can J Plant Pathol* 1995;17(1):19–24.
- [29] Hwang SF, Gossen BD, Chang KF, Turnbull GD, Howard RJ, Blade SF. Etiology, impact and control of *Rhizoctonia* seedling blight and root rot of chickpea on the Canadian prairies. *Can J Plant Sci* 2003;83(4):959–67.
- [30] Heffer Link V, Powelson ML, Johnson KB. Oomycetes. Plant health instr [Internet]; 2002 [cited 2018 Jan 12]; [about 1 p.]. Available from: <https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/LabExercises/Pages/Oomycetes.aspx>.
- [31] Alexopoulos CJ, Mims CW. Introductory mycology. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 1979.
- [32] Kamoun S. Molecular genetics of pathogenic oomycetes. *Eukaryot Cell* 2005;2(2):191–9.
- [33] Judelson HS, Blanco FA. The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:47–58.
- [34] Pérez-Jiménez RM. Significant avocado diseases caused by fungi and oomycetes. *Eur J Plant Sci Biotechnol* 2008;2(1):1–24.
- [35] Rossman AY, Palm ME. Why are *Phytophthora* and other Oomycota not true fungi? *Outlooks Pest Manage* 2006;17(5):217–9.
- [36] Grünwald NJ. The biology of the genus *Aphanomyces*. In: Proceedings of the 2nd International *Aphanomyces* Workshop. Washington, DC: US Department of Agriculture; 2003. p. 9–14.
- [37] Diéguez-Urbeondo J, García MA, Cerenius L, Kozubíková E, Ballesteros I, Windels C, et al. Phylogenetic relationships among plant and animal parasites, and saprotrophs in *Aphanomyces* (oomycetes). *Fungal Genet Biol* 2009;46(5):365–76.
- [38] Papavizas GC, Ayers WA. *Aphanomyces* species and their root diseases in pea and sugarbeet: a review. Report. Washington, DC: Agricultural Research Service, US Department of Agriculture; 1974 Sep. Report No.:1485.
- [39] Moussart A, Onfroy C, Lesne A, Esquibet M, Grenier E, Tivoli B. Host status and reaction of *Medicago truncatula* accessions to infection by three major pathogens of pea (*Pisum sativum*) and alfalfa (*Medicago sativa*). *Eur J Plant Pathol* 2007;117(1):57–69.
- [40] Vandemark GJ, Porter LD. First report of lentil root rot caused by *Aphanomyces euteiches* in Idaho. *Plant Dis* 2010;94(4):480.
- [41] Gaulin E, Jacquet C, Bottin A, Dumas B. Root rot disease of legumes caused by *Aphanomyces euteiches*. *Mol Plant Pathol* 2007;8(5):539–48.
- [42] Malvick DK, Grau CR. Characteristics and frequency of *Aphanomyces euteiches* races 1 and 2 associated with alfalfa in the Midwestern United

- States. *Plant Dis* 2001;85(7):740–4.
- [43] Wicker E, Hullé M, Rouxel F. Pathogenic characteristics of isolates of *Aphanomyces euteiches* recovered from pea in France. *Plant Pathol* 2001;50(4):433–42.
- [44] Jones FR, Drechsler C. Root rot of peas in the United States caused by *Aphanomyces euteiches*. *J Agric Res* 1925;30(4):293–325.
- [45] Kraft JM. Registration of 90-2079, 90-2131 and 90-2322 pea germplasms. *Crop Sci* 1992;32(4):1076.
- [46] Chatterton S, Bowness R, Harding MW. First report of root rot of field pea caused by *Aphanomyces euteiches* in Alberta, Canada. *Plant Dis* 2015;99(2):288.
- [47] Pfender WF, Hagedorn DJ. Disease progress and yield loss in *Aphanomyces* root rot of peas. *Phytopathology* 1983;73(8):1109–13.
- [48] Scharen AL. Germination of oospores of *Aphanomyces euteiches* embedded in plant debris. *Phytopathology* 1960;50(4):274–7.
- [49] Hoch HC, Mitchell JE. The effects of osmotic water potentials on *Aphanomyces euteiches* during zoospore germination. *Can J Bot* 1973;51(2):413–20.
- [50] Kerr A. Influence of soil moisture on infection of peas by *Pythium ultimum*. *Aust J Biol Sci* 1964;17(3):676–85.
- [51] Haenseler CM. Studies on the root rot of peas (*Pisum sativum*) caused by *Aphanomyces euteiches* Drechsler. *NJ Agric Exp Stn Annu Rpt* 1926;46:467–84.
- [52] Smith PG, Walker JC. Certain environmental and nutritional factors affecting *Aphanomyces* root rot of garden pea. *J Agric Res* 1941;63:1–20.
- [53] Burke DW, Mitchell JE. Temperature and moisture effects on infection of pea seedlings by *Aphanomyces euteiches* in soil [abstract]. *Phytopathology* 1968;58(8):1045.
- [54] Burke DW, Mitchell JE, Hagedorn DJ. Selective conditions for infection of pea seedlings by *Aphanomyces euteiches* in soil. *Phytopathology* 1969;59:1670–4.
- [55] Carlson LE. Studies on the root rot of peas caused by *Aphanomyces euteiches* Drechs [dissertation]. Minneapolis and Saint Paul: University of Minnesota; 1965.
- [56] Gaulin E, Madoui MA, Bottin A, Jacquet C, Mathé C, Couloux A, et al. Transcriptome of *Aphanomyces euteiches*: new oomycete putative pathogenicity factors and metabolic pathways. *PLoS One* 2008;3(3):e1723.
- [57] King EB, Parke JL. Biocontrol of *Aphanomyces* root rot and *Pythium damping-off* by *Pseudomonas cepacia* AMMD on four pea cultivars. *Plant Dis* 1993;77(12):1185–8.
- [58] Kraft JM, Kaiser WJ. Screening for disease resistance in pea. In: Singh KB, Saxena MC, editors. *Breeding for stress tolerance in cool-season food legumes*. Chichester: John Wiley and Sons; 1993. p. 123–44.
- [59] Scott WW. A monograph of the genus *Aphanomyces*. Blacksburg: Virginia Agricultural Experiment Station; 1961.
- [60] Sekizaki H, Yokosawa R, Chinen C, Adachi H, Yamane Y. Studies on zoospore attracting activity. II. Synthesis of isoflavones and their attracting activity to *Aphanomyces euteiches* zoospore. *Biol Pharm Bull* 1993;16(7): 698–701.
- [61] Mitchell JE, Yang CY. Factors affecting growth and development of *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 1966;56(8):917F–22.F.
- [62] Kjølner R, Rosendahl S. Enzymatic activity of the mycelium compared with oospore development during infection of pea roots by *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 1998;88(9):992–6.
- [63] Muehlchen AM, Rand RE, Parke JL. Evaluation of crucifer green manures for controlling *Aphanomyces* root rot of peas. *Plant Dis* 1990;74(9):651–4.
- [64] Chupp C, Sherf AF. *Vegetable diseases and their control*. New York: Ronald Press Company; 1960.
- [65] King TH, Bissonnette HL. Physiologic specialization in *Aphanomyces euteiches* [abstract]. *Phytopathology* 1954;44:495.
- [66] Beute MK, Lockwood JL. Pathogenic variability in *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 1967;57:57–60.
- [67] Sundheim L, Wiggen K. *Aphanomyces euteiches* on peas in Norway, isolation technique, physiologic races and soil indexing. *Norgres Landbr Hoiskoles Meld* 1972;51:17.
- [68] Manning M, Menzies SA. Pathogenic variability in isolates of *Aphanomyces euteiches* from New Zealand soils. *N Z J Agric Res* 1984;27(4):569–74.
- [69] Malvick DK, Percich JA. Variation in pathogenicity and genotype among single-zoospore strains of *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 1998;88(1):52–7.
- [70] Wicker E, Rouxel F. Specific behaviour of French *Aphanomyces euteiches* Drechs. populations for virulence and aggressiveness on pea, related to isolates from Europe, America and New Zealand. *Eur J Plant Pathol* 2001;107(9):919–29.
- [71] Malvick DK, Percich JA. Genotypic and pathogenic diversity among pea-infecting strains of *Aphanomyces euteiches* from central and western United States. *Phytopathology* 1998;88(9):915–21.
- [72] Malvick DK, Percich JA. Identification of *Pisum sativum* germplasm with resistance to root rot caused by multiple strains of *Aphanomyces euteiches*. *Plant Dis* 1999;83(1):51–4.
- [73] Wu LF. Occurrence and management of root rot of field pea cause by *Aphanomyces euteiches* [dissertation]. Edmonton: University of Alberta; 2018.
- [74] Scott RE. Root rot and soil compaction problems of pea crops. *Agron Soc New Zealand Spec Publ* 1987;6:45–50.
- [75] Manning MA, Menzies SA. Root rot of peas in New Zealand caused by *Aphanomyces euteiches*. *N Z J Agric Res* 1980;23(2):263–5.
- [76] Vandemark GJ, Barker BM, Gritsenko MA. Quantifying *Aphanomyces euteiches* in alfalfa with a fluorescent polymerase chain reaction assay. *Phytopathology* 2002;92(3):265–72.
- [77] Pilet-Nayel L, Muehlbauer FJ, McGee RJ, Kraft JM, Baranger A, Coyne CJ. Quantitative trait loci for partial resistance to *Aphanomyces* root rot in pea. *Theor Appl Genet* 2002;106(1):28–39.
- [78] Pilet-Nayel ML, Muehlbauer FJ, McGee RJ, Kraft JM, Baranger A, Coyne CJ. Consistent quantitative trait loci in pea for partial resistance to *Aphanomyces euteiches* isolates from the United States and France. *Phytopathology* 2005;95(11):1287–93.
- [79] Hamon C, Baranger A, Coyne CJ, McGee RJ, Le Goff I, L'Anthoëne V, et al. New consistent QTL in pea associated with partial resistance to *Aphanomyces euteiches* in multiple French and American environments. *Theor Appl Genet* 2011;123(2):261–81.
- [80] Hamon C, Coyne CJ, McGee RJ, Lesné A, Esnault R, Mangin P, et al. QTL metaanalysis provides a comprehensive view of loci controlling partial resistance to *Aphanomyces euteiches* in four sources of resistance in pea. *BMC Plant Biol* 2013;13(1):45.
- [81] Lavaud C, Lesné A, Piriou C, LeRoy G, Boutet G, Moussart A, et al. Validation of QTL for resistance to *Aphanomyces euteiches* in different pea genetic backgrounds using near-isogenic lines. *Theor Appl Genet* 2015;128(11):2273–88.
- [82] Lavaud C, Baviere M, Le Roy G, Hervé MR, Moussart A, Delourme R, et al. Single and multiple resistance QTL delay symptom appearance and slow down root colonization by *Aphanomyces euteiches* in pea near isogenic lines. *BMC Plant Biol* 2016;16(1):166.
- [83] Desgroux A, L'Anthoëne V, Roux-Duparque M, Rivière JP, Aubert G, Tayeh N, et al. Genome-wide association mapping of partial resistance to *Aphanomyces euteiches* in pea. *BMC Genomics* 2016;17(1):124.
- [84] Kraft JM, Haware MP, Jiménez-Díaz RM, Bayaa B, Harrabi M. Screening techniques and sources of resistance to root rots and wilts in cool season food legumes. *Euphytica* 1994;73(1–2):27–39.
- [85] Thygesen K, Larsen J, Bodker L. Arbuscular mycorrhizal fungi reduce development of pea root-rot caused by *Aphanomyces euteiches* using oospores as pathogen inoculum. *Eur J Plant Pathol* 2004;110(4):411–9.
- [86] Jones FR, Linford MB. Pea disease survey in Wisconsin. Madison: Agricultural Experiment Station of the University of Wisconsin; 1925.
- [87] Allmaras RR, Fritz VA, Pflieger FL, Copeland SM. Impaired internal drainage and *Aphanomyces euteiches* root rot of pea caused by soil compaction in a fine-textured soil. *Soil Tillage Res* 2003;70(1):41–52.
- [88] Conner RL, Chang KF, Hwang SF, Warkentin TD, McRae KB. Assessment of tolerance for reducing yield losses in field pea caused by *Aphanomyces* root rot. *Can J Plant Sci* 2013;93(3):473–82.
- [89] Oyarzun P, Gerlagh M, Hoogland A, Vos I. Seed treatment of peas with fosetyl-Al against *Aphanomyces euteiches*. *Neth J Plant Pathol* 1990;96(5):301–11.
- [90] Xue AG. Efficacy of *Clonostachys rosea* strain ACM941 and fungicide seed treatments for controlling the root rot complex of field pea. *Can J Plant Sci* 2003;83(3):519–24.
- [91] Kraft JM, Marcinkowsha J, Muehlbauer FJ. Detection of *Aphanomyces euteiches* in field soil from Northern Idaho by a wet-sieving/baiting technique. *Plant Dis* 1990;74(9):716–8.
- [92] Vandemark GJ, Kraft JM, Larsen RC, Gritsenko MA, Boge WL. A PCR based assay by sequence-characterized DNA markers for the identification and detection of *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 2000;90(10): 1137–44.
- [93] Garrett SD. Root disease fungi: a treatise on the epidemiology of soil-borne disease in crop plants, and a first exposition of the principles of root disease control. Waltham: Chronica Botanica; 1944.
- [94] Temp MV, Hagedorn DJ. Influence of cropping practice on *Aphanomyces* root rot potential of Wisconsin pea fields. *Phytopathology* 1967;57:667–70.
- [95] Olofsson J. Root rot of canning and freezing peas in Sweden. *Acta Agr Scand* 1967;17(2–3):101–7.
- [96] Hossain S, Bergkvist G, Berglund K, Glinwood R, Kabouw P, Mårtensson A, et al. Concentration- and time-dependent effects of isothiocyanates produced from Brassicaceae shoot tissues on the pea root pathogen *Aphanomyces euteiches*. *J Agric Food Chem* 2014;62(20):4584–91.
- [97] Williams-Woodward JL, Pflieger FL, Fritz VA, Allmaras RR. Green manures of oat, rape and sweet corn for reducing common root rot in pea (*Pisum sativum*) caused by *Aphanomyces euteiches*. *Plant Soil* 1997;188(1):43–8.
- [98] Krupinsky J, Bailey K, McMullen M, Gossen B, Kelly Turkington T. Managing plant disease risk in diversified cropping systems. *Agron J* 2002;94(2): 198–209.
- [99] Oyarzun PJ, Dijst G, Zoon FC, Maas PW. Comparison of soil receptivity to *Thielaviopsis basicola*, *Aphanomyces euteiches*, and *Fusarium solani* f. sp. pisi causing root rot in pea. *Phytopathology* 1997;87(5):534–41.
- [100] Heyman F, Lindahl B, Persson L, Wikström M, Stenlid J. Calcium concentrations of soil affect suppressiveness against *Aphanomyces* root rot of pea. *Soil Biol Biochem* 2007;39(9):2222–9.
- [101] Papavizas GC. Suppression of *Aphanomyces* root rot of peas by cruciferous soil amendments. *Phytopathology* 1966;56:1071–5.
- [102] Papavizas GC. Comparison of treatments suggested for control of *Aphanomyces* root rot of peas. *Plant Dis Res* 1967;51:125–9.
- [103] Papavizas GC, Lewis JA. Effect of amendments and fungicides on *Aphanomyces* root rot on peas. *Phytopathology* 1971;61(2):215–20.
- [104] Davey CV, Papavizas GC. *Aphanomyces* root rot of peas as affected by organ-

- ic and mineral soil amendments. *Phytopathology* 1961;51:131–2.
- [105] Tu JC. Effect of soil pH on pea root rots, yield and soil biology. *Med Fac Landbouww Rijksuniv Gent* 1990;55:827–34.
- [106] Tu JC. Management of root rot diseases of peas, beans, and tomatoes. *Can J Plant Pathol* 1992;14(1):92–9.
- [107] Fritz VA, Allmaras R, Pflieger FL, Davis DW. Oat residue and soil compaction influences on common root rot (*Aphanomyces euteiches*) of peas in a fine-textured soil. *Plant Soil* 1995;171(2):235–44.
- [108] Wilkins D, Darnell T, Kraft J. Integrated conservation tillage system for control of pea root rot disease. In: *Proceedings of the 1998 ASAE Annual International Meeting*; 1998 Jul 11–16; Orlando, FL, USA; 1998.
- [109] Sherwood RT, Hagedorn DJ. Determining the common root rot potential of pea fields. Madison: Agricultural Experiment Station, University of Wisconsin; 1958.
- [110] Reiling TP, King TH, Fields RW. Soil indexing for pea root rot and the effect of root rot on yield. *Phytopathology* 1960;50:287–90.
- [111] Sauvage H, Moussart A, Bois F, Tivoli B, Barray S, Laval K. Development of a molecular method to detect and quantify *Aphanomyces euteiches* in soil. *FEMS Microbiol Lett* 2007;273(1):64–9.
- [112] Vandemark GJ, Grünwald NJ. Use of real-time PCR to examine the relationship between disease severity in pea and *Aphanomyces euteiches* DNA content in roots. *Eur J Plant Pathol* 2005;111(4):309–16.
- [113] Armstrong-Cho C, Tetreault M, Banniza S, Bhadauria V, Morrall RAA. Reports of *Aphanomyces euteiches* in Saskatchewan. *Can Plant Dis Surv* 2014;94:193–4.
- [114] Cohen M. Environmental toxins and health—the health impact of pesticides. *Aust Fam Physician* 2007;36(12):1002–4.
- [115] Deberdt P, Mfegue C, Tondje P, Bon M, Ducamp M, Hurard C, et al. Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. *Biol Control* 2008;44(2):149–59.
- [116] Kotova VV, Tsvetkova NA. Effectiveness of chemical control measures against *Aphanomyces* root rot of peas [abstract]. *Rev Plant Pathol* 1980;59:342.
- [117] Bruin GCA, Edgington LV. Chemical control of diseases caused by zoospore fungi: a many-sided problem. In: Buczacki ST, editor. *Zoospore plant pathogens: a modern perspective*. London: Academic Press; 1983. p. 193–223.
- [118] Gossen BD, Conner RL, Henriquez MA, Chang KF, Hwang SF, Pasche J, et al. Identifying and managing root rot of pulses on the northern Great Plains. *Plant Dis* 2016;100(10):1965–78.
- [119] Jermyn WA, Banfield RA, Hedley J, Russell AC. Effect of seed treatment on *Aphanomyces* root rot of peas. *Proc Agron Soc New Zealand* 1982;12:15–8.
- [120] Gritton ET, Parke JL, Percich JA, Fritsch YA, Kraft JM, Grau CR, et al. Integrated control of *Aphanomyces* root rot of pea (*Pisum sativum* L.). In: *Improving production and utilisation of grain legumes*. Proceedings of the 2nd European Conference on Grain Legumes; 1995 Jul 9–13; Copenhagen, Denmark. Paris: AEP; 1995. p. 148–9.
- [121] Wakelin S, Walter M, Jaspers M, Stewart A. Biological control of *Aphanomyces euteiches* root-rot of pea with spore-forming bacteria. *Australas Plant Pathol* 2002;31(4):401–7.
- [122] Bødker L, Kjølner R, Kristensen K, Rosendahl S. Interactions between indigenous arbuscular mycorrhizal fungi and *Aphanomyces euteiches* in field-grown pea. *Mycorrhiza* 2002;12(1):7–12.
- [123] Katan J. Soil solarization. In: Chet I, editor. *Innovative approaches to plant disease control*. New York: John Wiley and Sons; 1987. p. 77–105.
- [124] Ramierz-Villapudua J, Munnecke DE. Effect of solar heating and soil amendment of cruciferous residues on *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* and other organisms. *Phytopathology* 1988;78(3):289–95.
- [125] Davis DW, Fritz VA, Pflieger FL, Percich JA, Malvick DK. MN 144, MN 313 and MN 314: garden pea lines resistant to root rot caused by *Aphanomyces euteiches* Drechs. *HortSci* 1995;30(3):639–40.
- [126] Pilet-Nayel ML, Coyne C, Hamon C, Lesne A, Le Goff I, Esnault R, et al. Understanding genetics of partial resistance to *Aphanomyces* root rot in pea for new breeding prospects. *Proceedings of the Third International Aphanomyces Workshop on Legumes*, 2007.
- [127] Marx GA, Schroeder WT, Providenti R, Mishance W. A genetic study of tolerance in pea (*Pisum sativum* L.) to *Aphanomyces* root rot. *J Am Soc Hortic Sci* 1972;97:619–21.
- [128] Rao A, Gritton ET, Grau CR, Peterson LA. Aeroponics chambers for evaluating resistance to *Aphanomyces* root rot of peas (*Pisum sativum*). *Plant Dis* 1995;79(2):128–32.
- [129] Xue AG. Effect of seed-borne *Mycosphaerella pinodes* and seed treatments on emergence, foot rot severity, and yield of field pea. *Can J Plant Pathol* 2000;22(3):248–53.
- [130] Poland JA, Balint-Kurti PJ, Wisser RJ, Pratt RC, Nelson RJ. Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends Plant Sci* 2009;14(1):21–9.
- [131] Kou Y, Wang S. Broad-spectrum and durability: understanding of quantitative disease resistance. *Curr Opin Plant Biol* 2010;13(2):181–5.
- [132] Loridon K, McPhee K, Morin J, Dubreuil P, Pilet-Nayel ML, Aubert G, et al. Microsatellite marker polymorphism and mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Theor Appl Genet* 2005;111(6):1022–31.
- [133] Bao Y, Vuong T, Meinhardt C, Tiffin P, Denny R, Chen S, et al. Potential of association mapping and genomic selection to explore PI 88788 derived soybean cyst nematode resistance. *Plant Genome* 2014;7(3):1–13.
- [134] Cheng P, Holdsworth W, Ma Y, Coyne CJ, Mazourek M, Grusak MA, et al. Association mapping of agronomic and quality traits in USDA pea single plant collection. *Mol Breed* 2015;35(2):75.