

大豆孢囊线虫群体遗传多样性新的分类方法^{*}

许艳丽¹ T. L. Niblack²

(1. 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150040;

2. University of Illinois at Urbana—Champaign IL 61801)

摘要 以往大豆孢囊线虫采用生理小种来划分不同群体对大豆致病力的差异, 最近美国采用了新的分类系统——HG 类型, 将用此分类系统代替原来的生理小种分类系统。本文介绍了 HG 类型的命名原则、鉴别寄主、标准感病品种、鉴定标准(环境、种子、接种物制备、盆栽容器和土壤)以及 HG 类型的用途等。

关键词 *Heterodera glycines*; 线虫; 生理小种; 大豆孢囊线虫; HG 类型

中图分类号 S 565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000—9841(2002)04—0301—04

自然界中生物多样性为人们提供了作物选择和基因改造的资源。大豆品种中具有控制抗大豆孢囊线虫复杂的基因, 许多年来, 中国大豆种植者在带有大豆孢囊线虫的土壤上选择了一些抗大豆孢囊线虫的品系, 这些“Land race”携带着抗大豆孢囊线虫的基因, 其大豆孢囊线虫群体具有基因多样性。1934 年 Fujita 等人认为大豆孢囊线虫基因多样性可分为亚种(*H. Schachii*)^[1], 后来, Ross 报道了美国北卡罗莱纳州大豆孢囊线虫群体与田纳西州大豆孢囊线虫群体具有生理差别, 来自北卡罗莱纳的大豆孢囊线虫在 PI88788 上可繁殖, 但来自田纳西的大豆孢囊线虫则不能在此品系上繁殖^[10]。此后 6 年间, Miller, Smart, Golden, Riggs 和 Sugiyama 等报道了美国弗吉尼亚^[4, 11]、田纳西^[3]、阿肯色^[9]和日本^[12]的大豆孢囊线虫基因多样性。此后人们又报道了大豆孢囊线虫群体内更多的遗传差异在不断地增长^[6, 13], 因为大豆一直以一个高密度生长在广阔的地理区域中。对于大豆孢囊线虫病最经济、最有效的防治方法是种植抗病品种, 而培育抗病品种关键的一步是大豆孢囊线虫的分类, 该分类系统应当能够区别种内的主要基因组。1969 年美国线虫学家和育种学家建议采用生理小种鉴定方法, 1970 年 Golden 等提出了对大豆孢囊线虫用 Pickett、Peking、PI88788、PI90763 4 个大豆品种作为鉴别寄主进行生

理小种鉴定, 感病对照品种是 Lee(表 1 中 1—4 号小种)^[4]。当时鉴定出美国 4 个生理小种, 但很快此分类系统显示出不适于描述大豆孢囊线虫群体广泛的基因多样性。1981 年 Riggs 等在 12 个大豆抗病品系上区分出了 25 个“生理小种”。后来通过描述 2 个新的小种使此困境得到了解决。此后发展为用 Golden 的这套鉴别寄主分类系统将大豆孢囊线虫从理论上分为 16 个生理小种(表 1 中 5—16 号小种)^[8], 但这套鉴别寄主中 Pickett 是 Peking 的后代, 它也作为其中一个鉴别寄主是不适宜的。这个生理小种鉴定系统被认为是大豆孢囊线虫群体分类的 1 种方法, 而不是群体内基因型的分类, 不是作为大豆品种抗性评价的方法。此外, “小种”这个术语作为一个群体的描述是不适宜的, 对于其他病原菌, “小种”能准确地或从理论上用于区别单个的群体, 大豆孢囊线虫群体确实在基因上有差别, 且这种差别与防治策略有关。因此, 目前美国建立了一个新的大豆孢囊线虫基因多样性分类系统——HG 类型, HG 是大豆孢囊线虫学名 *Heterodera glycines* 的缩写。

1 HG 类型的确定

1.1 命名原则

HG 类型采用生物鉴定方法确定, 它同过去的

* 收稿日期: 2002—02—23

作者简介: 许艳丽(1958—), 女, 博士研究生, 研究员, 从事大豆病害和植物线虫学研究。

生理小种鉴定非常类似,此分类系统根据一套标准化的规程来进行,在原来的鉴别寄主(去掉有 Peking 抗原的 Pickett)上又补充了 4 个,标准的感病品种是 Lee 74(表 2)。鉴定方法是从一个大豆孢囊线虫群体中提取等量的卵和 2 龄幼虫接种,30 天后在大豆上繁殖的雌虫,从大豆根和土壤中提取,并在显微镜下计数。雌虫指数(F_I)计算如下:

(每个寄主上的雌虫平均数量)÷(Lee74 上的雌虫平均数量)× 100

表 1 Golden、Riggs 和 Schmitt(1988)的大豆孢囊线虫生理小种分类系统

Table 1 Races of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, according to the race determination schemes of Golden et al. (1970) and Riggs and Schmitt(1988).

生理小种 Races	鉴别寄主 Onindicator host			
	Picking	Peking	PI 88788	PI 90763
1	—	—	+	—
2	+	+	+	—
3	—	—	—	—
4	+	+	+	+
5	+	—	+	—
6	+	—	—	—
7	—	—	+	+
8	—	—	—	+
9	+	+	—	—
10	+	—	—	+
11	—	+	+	—
12	—	+	—	+
13	—	+	—	—
14	+	+	—	+
15	+	—	+	+
16	—	+	+	+

注:确定抗病和感病的标准是,鉴别品种平均每株雌虫数与感病对照品种 Lee 每株平均雌虫数之比≥10%时为感病(+),低于 10%时为抗病(—)。
Note: Race determination is made on the basis of the pattern of “+” and “—” ratings for each race. A “+” rating is given if the number of females produced by an *H. glycines* population on each soybean differential is equal to or greater than 10% of the number produced on the standard susceptible cultivar Lee. If the number of females is less than 10%, a “—” rating is given.

当鉴别寄主的 FI≥10 时,表明该品系是这个孢囊线虫群体的适合寄主,因为相对短的时间在抗线品系上建立了群体。一个群体的 HG 类型分类是表 2 中的号同适应寄主相对应。例如,一个群体在 PI548402、PI88788、PI89772 上产生雌虫的 FI≥10,它的 HG 类型为 1,2,6。FI 不≥10 的群体 HG 类型为 0。此命名规则与线虫种系(Strain)命名规则一致的。

在有些情况下,可能会出现不能完成全部的 HG 类型鉴定。当一个鉴定未完成时,所有没鉴定的鉴别寄主应当被报道,此 HG 类型命名应有一个“—

号词尾,例如,一个群体可能被称为 1,2,3—,此词尾表示鉴定未完成。

表 2 大豆孢囊线虫 *Heterodera glycines* 基因多样性 HG 类型分类系统

Table 2 HG Type classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines*

鉴别寄主(品系) Indicator lines	FI≥10(在鉴别寄主上) on indicator host						
	0	1	2	3	4	5	6 7
1 PI 548402(Peking)		+					
2 PI88788				+			
3 PI90763					+		
4 PI437654						+	
5 PI209332							+
6 PI89772							
7 PI548316(Cloud)							+

注:FI 表示雌虫指数,计算方法是,(每个寄主上的雌虫平均数量)÷(Lee74 上的雌虫平均数量)× 100。
Note: “Female index (F_I) is determined as (the average number of females produced on each indicator line) ÷ (the average number produced on Lee 74) × 100.

1.2 鉴别寄主和标准感病品种

鉴别寄主:PI 548402 (Peking)、PI88788、PI90763、PI437654、PI209332、PI89772 PI548316。
标准感病品种:Lee 74。

2 HG 类型鉴定标准

2.1 种子储存和种苗准备

鉴别寄主品系和 Lee74 的种子应来自于美国农业部(USDA)大豆种质中心的管理者或管理者的指定者。HG 类型鉴别寄主不能用其他品系代替,但其他品种或品系可增加到鉴定中。实际上,当测验是为了推荐品种时,可以额外加一些品种和品系。如果鉴定所用鉴别寄主不包括所有的鉴别寄主,此鉴定叫不完全试验,即规定的 7 个鉴别寄主既不能省掉也不能被代替。

2.2 接种悬浮液

接种用的孢囊应取之于大豆土壤和根系,然后压碎,释放出卵和 2 龄幼虫(J2)。在鉴定的大豆植株插入到盆栽钵中第二天准备卵和 2 龄幼虫并接种,接种量为每 cm³ 达到 20 个卵和 2 龄幼虫。在盆栽钵中用铅笔打孔,孔深 4—5cm,然后用注射器向孔内注入含有卵和 2 龄幼虫的悬浮液。

2.3 盆栽容器和土壤

盆栽容器应能使大豆生长 30 天,而没有过多的根受到限制,其体积应为 100—500cm³,且此容器能适于放置到水浴或生长室内。

巴士灭菌的沙壤土(含 50~65% 的沙子)最适于 HG 类型测定, 纯的粗糙沙子和有机质含量较高的沙子不适宜。

2.4 试验设计和环境条件

试验单位: 每个容器内装 1 株苗, 放入温室或按试验安排的生长箱中, 应完全随即排列, 每个试验至少设 3 个重复, 试验重复 1 次。土壤温度 27—28℃。

每天 16 小时光照, 温室内必须用水浴, 人工补光。

2.5 鉴定结果检查

试验进行 30 天时, 剪下豆苗扔掉, 把每个盆栽钵轻轻放入水桶内松去土壤, 但要避免弄掉孢囊, 将根放入 20~60 目筛子上, 用高压水注喷射洗根, 将孢囊从 20 目筛子上小心洗入 60 目筛子中, 使大多数孢囊保留在 60 目筛子上, 再洗入计数皿中计数。应首先记录 Lee74 的孢囊数, 如果 Lee74 上的孢囊数(平均数)明显低于 100, 该试验作废。

3 HG 类型测定的用途

3.1 作为一种评估和证明田间群体中的差异或群体变化的方法

3.2 为线虫学家和大豆育种家培育抗线品种。

3.3 作为一种甄别群体描写的方法。

3.4 帮助农民提供防止建议。

目前美国已开始宣传这一个更贴切、实际和可接受的“HG 类型”分类系统, 并希望在将来由此而取代原来的大豆孢囊线虫生理小种分类系统。

参考文献

- 1 Fujita, K., O. Miura. On the parasites of *Heterodera schachtii* Schmidt on beans. Trans. Sapporo Nat. Soc. 1934, 13: 359—364.
- 2 Golden, A. M., J. M. Epps, R. D. Riggs, et al. Terminology and identity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) Plant Disease Reporter. 1970, 54: 544—546.
- 3 Golden, A. M., J. M. Epps. Morphological variations in soybean cyst nematodes. Nematologica, 1965, 11: 38(Abst.).
- 4 Miller, L. I. Comparison of the pathogenicity and development of the Va. z isolate of *Heterodera glycines*. Phytopathology, 1967, 59: 1558(Abst.).
- 5 Niblack, T. L. The race concept, 1992. P: 73—86 in R. D. Riggs and J. A. Wraether(eds.). Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode. APS Press. St. Paul MN.
- 6 Rao—Arelli, A. P., J. A. Wraether, S. C. Anand. Genetic diversity among isolates of *Heterodera glycines* and sources of resistance in soybeans. Plant Disease, 1991, 76: 894—896.
- 7 Riggs, R. D., M. L. Hamblen, L. Rakes. Intra—species variation in reactions to hosts in populations. Jour of Nemat. 1981, 13: 171—179.
- 8 Riggs, R. D., D. P. Schmitt, G. R. Noel. Variability in race tests with *Heterodera glycines*. Journal of Nematology, 1988, 20: 565—572.
- 9 Riggs, R. D., D. A. Slack, M. L. Hamblen. New biotype of soybean cyst nematodes. Arkansas Farm Research, 1986, 17(5): 11.
- 10 Ross, J. P. Physiological strains of *Heterodera glycines*. Plant Disease Reporter, 1962, 46: 766—769.
- 11 Smart, G. C., Jr. Physiological strains and one additional host of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. Plant Disease Reporter, 1964, 48: 542—543.
- 12 Sugiyama, S., K. Hiroma, T. Miyahara et al. Studies on the resistance of soybean varieties to the soybean cyst nematode. II Differences of physiological strains of the nematode from Kanriwano in Kkyogahara. Japan Journal of Breeding, 1968 18(4): 206—212.
- 13 Zhang, L., R. A. Dean, H. T. Knap et al. Diversity among a *Heterodera glycines* field isolate and derived inbreds based on RAPD analysis and reproduction on soybean genotype. 1998

A NEW CLASSIFICATION SCHEME FOR GENETICALLY DIVERSE POPULATIONS OF *Heterodera glycines*

Xu Yanli¹ T. L. Niblack²

(1. Northeast Institute of Geography and Agriculture Ecology, the Chinese Academy of Sciences 150040;

2. University of Illinois at Urbana—Champaign IL 61801)

Abstract *Heterodera glycines*, the soybean cyst nematode, is recognized as a major yield—limiting pathogen in most soybean production areas worldwide. Field populations of *H. glycines* exhibit genetic diversity in their parasitism of soybean cultivars with different levels of resistance to the nematode. Since 1970, this genetic diversity has been characterized by a bioassay used to assign a race classification to a population. The value of the race scheme is reflected in the number and quality of highly resistant soybean cultivars that have been developed and released by soybean breeders and nematologists working in concert. However, the race scheme also has been misapplied as a means of studying *H. glycines* geno-

types, in part due to the use of the term "race". For fungal and bacterial pathogen species, "race" can theoretically be applied to individuals of a population, thus allowing inference of individual genotypes. Application of race designation to an individual egg or J2 of *H. glycines* is not possible because a single second-stage juvenile cannot be increased so it can be tested on multiple hosts. For other nematode species, "race" is defined by host ranges involving different host species, whereas the *H. glycines* race test involves a set of lines of the same species as is true for bacterial and fungal pathogens. Nonetheless, because *H. glycines* populations vary in genetic diversity, and this variation has implications for management strategies, a mechanism is needed for documenting and discussing population differences. In December 2000, a group of nematologists, and soybean breeders geneticists met to discuss possible discriminating schemes. The scheme described herein avoids the implication of genetic uniformity or predictability in contrast to the way the race scheme has been used.

Key words *Heterodera glycines*; Nematode; Races; Soybean cyst nematode; Types

欢迎订阅 2003 年《粮食与油脂》

《粮食与油脂》系由上海市粮食科学研究所、上海市粮油学会主办有关粮食、油脂、食品综合性专业期刊。主要报道粮油新产品开发、粮油加工新技术、新产品、新工艺、粮油资源综合利用、粮油机械、粮油检测、粮油工能性食品、新型食品添加剂;粮油市场、行情分析、粮油期货、粮油论坛、粮油食品信息等内容。内容着重新颖性、实用性、服务性、可读性。特色鲜明、资料权威、信息丰富、贴近读者。使您了解当前国内外粮油、食品行业发展趋向,获知粮油市场最新商情;把握机遇、共创未来。

《粮食与油脂》月刊,大 16 开,56 页,每月 10 日出版,每期定价 4 元,全年 48 元。

邮发代号:4-675, 请向全国各地邮局(所)订阅,也欢迎汇款至本刊订阅,本刊发行部常年办理订阅业务。

地址:上海市外马路 1469 号 邮编:200011

电话:(021)63781733 传真:(021)63773264 电子信箱:lslyyzh@online.sh.cn.