

# 黑龙江省大豆疫霉根腐病生理小种鉴定结果<sup>\*</sup>

马淑梅 丁俊杰 郑天琪 顾 鑫

(黑龙江省农业科学院合江农业科学研究所, 佳木斯 154007)

**摘要** 用美国大豆疫霉病菌生理小种鉴别寄主(Harosoy、Harosoy 63、Sanga、Mack、PI103091、Kingwa、PI171442、Aitona)对采自黑龙江省六个大豆生态区的 120 份(已纯化 40 份)疫霉病菌标样进行鉴定。共鉴定出 7 个生理小种,即生理小种 1 号、3 号、9 号、11 号、17 号、21 号、24 号;其中 1 号生理小种出现频率为 60%,3 号、11 号、17 号为 15%,9 号、21 号、24 号为 5%。

**关键词** 大豆;疫霉根腐病;生理小种;鉴定

**中图分类号** S 565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000—9841(2005)04—0260—03

大豆疫霉根腐病(*Phytophthora megasperma* Duar Sojae)也称大豆疫霉病。是一种分布广泛,危害极其严重的土传性病害。1948 年在美国的印第安那洲首次发现,以后日本、澳大利亚、新西兰、印度、加拿大、巴西、阿根廷、俄罗斯、匈牙利、英国、瑞士、埃及、尼日利亚、中国等国家相继报导了该病的发生。该病 1948 年在美国印地安那洲发现后,1951 年在俄亥俄洲西北部的一个县发现,1955 年正式报导,不久在美国的北卡罗来那,密苏里及伊利诺斯州相继发生并造成大面积危害,1957 年该病在俄亥俄洲所有的大豆田发生,每年造成的经济损失为 150 万美元。1978 年该病在美国第二次爆发,全国发病面积约有 800 万公顷,据资料查证,该病在美国已有 23 个州发生危害的报导。

大豆疫霉病可以发生在大豆的整个生育期,并造成危害。其病原菌可侵染植株的根、茎、叶和部分豆荚。可引起根腐、茎腐、植株矮化、枯萎和死亡,在感病品种上可造成损失 25%—50%以上,个别高感品种损失可达 100%。被害种子的蛋白质含量明显降低,是大豆毁灭性病害之一。1999 年,马淑梅、李宝英在《大豆科学》上报道了“大豆疫霉根腐病生理小种鉴定结果初报”一文。

大豆疫霉病菌生理小种研究最多的是美国,目前已鉴定出 54 个生理小种,做的较系统的是印第安那州和俄亥俄州,在印第安那州的普度大学对该项研究已有近 30 年的历史。在日本也已鉴定出从 A

—J10 个生理小种群,而且建立了完善的生理小种鉴定体系。

本文对 1998~2005 年在黑龙江省采集的大豆疫霉根腐病部分菌株进行生理小种鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株采集与分离

**菌株采集地点:**佳木斯郊区、同江、鸡西、依兰、宾县、阿城、哈尔滨、双城、呼兰、黑河、集贤、五九七、北安、合江农科所、黑龙江农垦科学院、部队良种场、莲江口、桦川、桦南、汤原、富锦、宝清、萝北、绥滨、宝泉岭、二九〇、友谊、军川、明山、宝泉岭、林口、牡丹江农科所、富锦长安乡、富锦富民乡、富锦富兴乡、二九一、讷河、密山、嫩江农场、宝清、虎林、九三农场、海林。

**菌株分离:**第一,分离材料选择。在采集标样前,预先准备好盛有选择培养基的培养皿,根据病害症状特点,采集新近发病离地面尽可能高的病株病斑(这样可避免腐霉菌)经病组织经处理后,立即分离。若分离受环境条件限制时,分离标样的保存时间最好不要超过 24h;第二,病组织消毒。疫霉病菌对多种消毒剂都很敏感,尤其是升汞。因此,在消毒时应慎重选择消毒剂,严格掌握消毒时间。在分离大豆疫霉菌时,将病组织用自来水反复冲洗,以

\* 收稿日期:2005—10—11

项目来源:国家攻关项目

作者简介:马淑梅(1959—),女,研究员,研究方向植物病理。

70%的酒精消毒 5s, 立即用灭菌水彻底冲洗, 放在无菌的滤纸上吸干水份, 消毒时间不要超过 30s; 第三, 培养基选择。疫霉病菌是较难分离的病原菌, 在 PDA 培养基上生长缓慢, 易被其他病原菌污染。为此, 选择使用适宜的培养基是分离大豆疫霉菌成功的关键之一, 在实验中, 我们主要选用了以下四种选择培养基二种基础培养基。选择性培养基为: 50% 苯菌灵 20mg、五氯硝基苯 27mg、新霉素硫酸盐 100mg、氯霉素 30mg; 苯来特 0. 01g、五氯硝基苯 0. 054g、异菌尿 0. 04g、硫酸新霉素 0. 1g、氯霉素 0. 01g; 匹马霉素 10mg、氨卞青霉素 25mg、利福平 10mg、五氯硝基苯 100mg、恶霉灵 20mg; 五氯硝基苯 20mg、苯菌灵 10mg、恶霉菌 20mg、硫酸新霉素 100mg、利福平 9mg。基础培养基 V—8 汁 100mg, 经 3 层纱布过滤, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000mg; 胡萝卜 200g, 捣碎, 三层纱布过滤, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000ml。将前两种选择培养基分别直接加到基础培养基中灭菌, 后两种选择性培养基分别加到经 121℃高压灭菌后冷却至 45℃的 1000ml 基础培养基中, 即为分离所需的选择培养基。四种选择性培养基中所含的硫酸新霉素、氯霉素、氨卞青霉素、利福平、五氯硝基苯抑制真菌, 恶霉灵主要抑制腐霉菌。这四种选择性培养基对分离大豆疫霉病均有较好的效果, 其中以第二种选择培养基分离效果最好,

表 1 大豆疫霉根腐病菌生理小种鉴定结果

Table 1 Preliminary result on the identification of the physiological races phytophthora megasperma

菌株编号 生理小种 鉴定寄主	基因型	P <sub>1-25</sub> 1	P <sub>26-31</sub> 3	P <sub>37</sub> 9	P <sub>32-36</sub> 11	P <sub>38</sub> 17	P <sub>39</sub> 21	P <sub>40</sub> 24
Harosoy	Rpsh	S	S	S	S	S	S	S
Harosoy 63	Rpsl	R	S	S	R	R	S	R
Sanga	Rpsl—b	R	R	R	S	R	R	S
Mack	Rpsl—c	R	R	R	R	R	R	R
Pi103091	Rpsl—d	R	R	R	R	S	R	R
Kingwa	Rpsl—k	R	R	R	R	R	R	R
Pi171442	Rps3	R	R	R	R	S	S	S
Aitna	Rps6	R	R	S	S	S	R	S

2.2 各生理小种出现频率

1 号生理小种的出现频率为 62.5%, 即 40 个被鉴定的疫霉菌株, 属 1 号生理小种反应型的有 25 个疫霉菌株; 3 号生理小种出现频率为 15%, 属 3 号生理小种反应型的有 6 个菌株; 9 号生理小种出现频率为 12.5%, 即 40 个被鉴定的疫霉菌株, 属 9 号生理小种反应型的有 5 个菌株, 11 号生理小种、17 号生

且配制简便, 价格低廉。

1.2 鉴别寄主

Harsoy, Harosoy63, Sanga, Mack, PI103091, Kingwa, Pi171442, Aitna。

1.3 鉴定方法

将鉴别寄主播种在盆钵里, 每盆 5 株, 重复 1 次, 盆土用无菌土壤, 在苗期(真叶开时)用胚轴伤口接种方法, 将分离纯化菌株转移到 PDA 或 CA 平面培养基上培养 7—10 天, 取菌膜伤口贴菌接种, 接菌后立即罩上塑料薄膜保湿, 在 20—25℃下保湿 48 小时, 6 天后调查发病情况。

1.4 病情调查

接种后, 感病植株很快发生植株萎蔫, 植株从接种部位折断, 全株死亡, 抗病植株仅在下胚轴伤口处发生局部变褐, 植株继续生长。抗病记以 R, 感病记以 S。

2 结果与分析

2.1 不同生理小种对鉴别寄主的反应

用标准生理小种鉴别寄主对 40 个疫霉菌菌株进行鉴定, 鉴定结果如表 1。

理小种, 21 号生理小种、24 号生理小种出现频率各为 2.5%, 即被鉴定的疫霉菌株中, 有 4 个菌株分别属于这 4 个生理小种的反应型。

2.3 大豆疫霉病菌生理小种的分布

在几年的生理小种鉴定中, 从不同地区采集的标样看, 经鉴定 1 号生理小种为优势生理小种, 在鉴定出的 7 个生理小种中, 出现频率为 62.5%, 菌株的

来源地区比较广泛;其次是3号生理小种,出现频率为15%,菌株主要来源东部的三江平原和中部的一个地点标样。再次是9号生理小种,出现频率为12.5%,菌株主要来自于东部的三江平原地区;另外的4个(11号、17号、21号、24号)生理小种出现频率相同,菌株来源为东部三江平原地区的二个地块。

生理小种鉴定发现,主要优势生理小种分布广泛而且致病力较强;一般生理小种、次要生理小种分布集中,致病力相对较弱。鉴定中还发现,在同一地块采集的标样中存在几个生理小种,这是疫霉病菌生理小种分布较显著特点。

### 3 讨论

3.1 鉴定结果表明1号生理小种所占的比例大,说明1号生理小种为我省的主要优势生理小种。通过生理小种研究,为遗传基因的筛选提供了理论依据,为抗病育种打下了良好的基础。

3.2 我国大豆疫霉病菌生理小种研究工作尚处于初步阶段,无论从病菌标样的采集数量上,还是小种的鉴定种类上,都是在有限的范围内鉴定的,目前仅利用现有已纯化好的菌株进行的,尚未纯化的菌株有待进一步鉴定;在小种分类鉴定上比较保守,小种分类的划分上十分严格,抗感要求非常明显。

3.3 目前,我们尚需建立我国的生理小种鉴定体

系,研究小种的组成和分布。并与国外鉴定体系进行比较,这样既能与国际接轨,又能把小种鉴定与大豆生产紧密结合。

### 参 考 文 献

- 1 苏彦纯,沈崇尧.大豆疫霉病菌在中国的发现及其生物学特性的研究[J].植物病理学报,1993,23:341—347.
- 2 马淑梅,李宝英.大豆疫霉根腐病生理小种鉴定结果初报[J].大豆科学,1999,18(2):151—153.
- 3 Schmitthenner, A. F. Compendium of Soybean Diseases[J]. Third Edition, 1989, 38.
- 4 李宝英,马淑梅.大豆疫霉根腐病的发生与防治研究[J].中国油料作物学报,1999,21(4):47—48.
- 5 沈崇尧.中国大豆疫霉病菌的发现及初步研究[J].植物病理学报,1991,21(4):298.
- 6 李长松.大豆疫霉根腐病研究进展[J].大豆科学,1993,12(2):165—169.
- 7 周肇惠.大豆疫霉的研究[J].植物检疫,1995,9(5):257—261.
- 8 文景芝,张明厚.黑龙江省大豆疫病病原鉴定[J].中国油料作物学报,1998,20(4):76—78.
- 9 藏忠婧,左豫虎,刘惕若,等.大豆疫霉菌的分离、鉴定及菌株致病力的测定[J].黑龙江八一农垦大学学报,2000,12(1):37—42.
- 10 周肇惠,严进.大豆疫病的检疫研究—病原菌的分离鉴定[J].植物检疫,1995,(4):257—261.
- 11 Schmitthenner A. F. Problems and Progress in control of phytophthora Rt Root Rot of Soy bean[J]. Plant Disease 1985, 69(4)362—368.

## THE IDENTIFICATION OF PHYSIOLOGICAL RACES OF *PHYTOPHTHORA MEGASPERMA*

Ma Shumei Ding Junjie Zheng Tianqi Gu Xin

(Hejiang Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Jiamusi 154007)

**Abstract** By using American soybean hosts (Harosoy, Harosoy63, Sanga, Mack, PI171142, Aitona) of Physiological Races of *phytophthora megasperma*, 120 strains were identified, which came from six soybean eco-regions of Heilongjiang Province. Among them 40 strains had been purified. The results showed 7 races were identified, they were race—1, race—3, race—9, race—11, race—17, race—21, race—24. The distribution frequency of race—1 was 60%, of race—3, race—11 and race—17 together were 15%, and of race—9, race—21 and race—24 together were 5%.

**Key words** Soybean; *Phytophthora megasperma*; Physiological race; Identification