

黑龙江省大豆细菌性斑点病菌生理小种鉴定 及抗性资源筛选^{*}

张淑珍¹ 徐鹏飞¹ 雷虹² 兰雨峰³ 韩英鹏¹ 张大勇¹
赵世君¹ 李文滨¹

(1. 东北农业大学大豆研究所, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江大学, 哈尔滨 150080;
3. 宾县农业技术推广中心 150400)

摘要 根据在国际通用鉴别品种上的反应, 采用室内幼苗接种鉴定的方法, 将黑龙江省 38 个供试的大豆细菌性斑点病菌菌株划分为 1 号、4 号、3 号和 7 号, 其中 4 号小种为优势小种, 占供试菌株的 86.67%。本试验采用针刺接种方法用 4 号优势生理小种接种鉴定 108 个栽培大豆品种和育成品种, 研究表明: 东北三省育成的品种或品系存在着抗源, 供试 108 个品种中抗病资源比例为 13.89%, 中抗比例为 22.2%, 根据抗性资源筛选结果, 可合理地用于大豆生产和抗病育种。

关键词 大豆; 细菌性斑点病; 生理小种; 抗性资源

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2006)02-0141-04

近几年, 黑龙江省大豆细菌性病害发生严重, 导致产量损失和品质下降。细菌病害主要由以下三种病原菌引起: 大豆细菌性斑点病 (*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*), 大豆细菌性野火病 (*P. syringae* pv. *Tabaci*) 和细菌性脓疱病 (*Xanthomonas campestris* pv. *Glycines*)。其中, 以 PSG 引起的大豆细菌性斑点病发生最为普遍^[1~5]。

大豆细菌性斑点病在我国及世界大豆主产区均有不同程度的发生和流行, 特别是在黑龙江省的佳木斯、哈尔滨、宾县、牡丹江、绥化、黑河发病日趋严重。轻者可减产 5%~10%, 重者则可达到 30%~40%, 感病重时可使籽粒变色, 降低商品价值。据报道, 大豆细菌性斑点病菌有生理分化现象, 不同地区的大豆细菌性斑点病菌的生理小种不完全相同。因此, 加强对大豆细菌性斑点病的研究, 选育(选用)抗性(耐性)品种具有重要的现实意义。目前为止, 对黑龙江省大豆细菌斑点病还未有较系统的研究报告, 笔者于 2002~2004 年对黑龙江省大豆细菌斑点病进行了病原菌的分离纯化、小种鉴定及抗性资源

筛选, 以期病原菌的分子生物学、分子遗传学的研究奠定一定的理论基础, 为培育抗性稳定的品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 采集的病样

2002~2004 年, 笔者于哈尔滨、宾县、牡丹江、绥化、佳木斯、黑河等地田间采集的 620 个病样。

1.1.2 供试大豆品种或品系

来自育种单位的大豆品种(系)共计 108 份, 详见表 1, 于 2005 年室内播种试验。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株分离纯化及病原菌鉴定

菌株的分离及纯化、致病性测定、分离菌的染色反应、形态特征及培养性状及生理生化特征测定参照方中达植病研究法^[6]。

1.2.2 生理小种鉴定

按照 Cross^[7] 标准对供试菌株进行生理小种鉴

* 收稿日期: 2005-10-17

基金项目: 本研究得到黑龙江省教育厅项目“大豆细菌性斑点病机理的研究及抗性资源的筛选”10541026 资助

作者简介: 张淑珍(1972-), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向: 大豆抗病遗传育种 E-mail: dnzhshzh@yahoo.com.cn

通讯作者: 李文滨, 教授, 博导

表 1 供试大豆材料名称及来源
Table 1 The soybean material and their sources

| 品种(系) Variety | 来源 Source | 品种(系) Variety | 来源 Source | 品种(系) Variety | 来源 Source |
|------------------|--------------|------------------|--------------|------------------|--------------|
| 农大 9721 | 黑龙江八一农大 | 黑 170 | 黑河农科所 | 蒙豆 12 | 内蒙古农科所 |
| 农大 9699 | 黑龙江八一农大 | 黑 0226 | 黑河农科所 | 绥农 14 | 绥化农科所 |
| 合丰 25 | 合江农科所 | 黑 980 | 黑河农科所 | 合 98-1 | 合江农科所 |
| 垦农 18 | 黑龙江八一农大 | 黑河 13 | 黑河农科所 | 东农 273 | 东北农业大学 |
| 合 1400 | 合江农科所 | 黑河 14 | 黑河农科所 | 合丰 43 | 合江农科所 |
| 东农 300 | 东北农业大学 | 黑河 28 | 黑河农科所 | 合 90-3958 | 合江农科所 |
| 合丰 35 | 合江农科所 | 黑 1872 | 黑河农科所 | 合 99-170 | 合江农科所 |
| 绥农 10 | 绥化农科所 | 黑 1774 | 黑河农科所 | 黑 00-99 | 黑河农科所 |
| 绥农 14 | 绥化农科所 | 黑 02-2286 | 黑河农科所 | 东农 46 | 东北农业大学 |
| 东农 9602 | 东北农业大学 | 黑河 29 | 黑河农科所 | 红丰 12 | 红兴隆农科所 |
| 垦农 4 | 黑龙江八一农大 | 黑 1900 | 黑河农科所 | 合 00-23 | 合江农科所 |
| 东农 42 | 东北农业大学 | 黑 2008 | 黑河农科所 | 合 98-3948 | 合江农科所 |
| 绥 30501 | 绥化农科所 | 黑 1750 | 黑河农科所 | 合 03-16 | 合江农科所 |
| 农大 1193 | 黑龙江八一农大 | 黑 1408 | 黑河农科所 | 合 98-393 | 合江农科所 |
| 绥农 4 | 绥化农科所 | 黑 00-1176 | 黑河农科所 | 合 98-170 | 合江农科所 |
| 垦农 16 | 黑龙江八一农大 | 黑河 18 | 黑河农科所 | 合 00-93 | 合江农科所 |
| 黑农 38 | 黑龙江省农科院 | 黑河 19 | 黑河农科所 | 合 00-96 | 合江农科所 |
| 中豆 27 | 中国农科院 | 合丰 49 | 合江农科所 | 北 16 | 北丰农科所 |
| 黑农 37 | 黑龙江省农科院 | 合丰 48 | 合江农科所 | 垦农 17 | 黑龙江八一农大 |
| 东农 32299 | 东北农业大学 | 黑河 33 | 黑河农科所 | 合 99-459 | 合江农科所 |
| 无腥一号 | 绥化农科所 | 黑 2065 | 黑河农科所 | 黑农 41 | 黑龙江省农科院 |
| 黑农 25 | 黑龙江省农科院 | 黑 00-1162 | 黑河农科所 | 合 03-1352 | 合江农科所 |
| 农大 1209 | 黑龙江八一农大 | 黑农 43 | 黑龙江省农科院 | 合 00-23 | 合江农科所 |
| 北丰 14 | 北丰农科所 | 410 大粒 | 东北农业大学 | 合 97-165 | 合江农科所 |
| 垦农 4 | 黑龙江八一农大 | 吉林 35 | 吉林农科院 | 合 97-1163 | 合江农科所 |
| 农大 1201 | 黑龙江八一农大 | 黑农 41 | 黑龙江省农科院 | 合 97-1165 | 合江农科所 |
| 农大 1207 | 黑龙江八一农大 | 农大 1199 | 黑龙江八一农大 | 九丰 4 号 | 九三管局农科所 |
| 吉林 21 | 吉林农科院 | 铁丰 20 | 铁岭农科所 | 合 03-487 | 合江农科所 |
| 黑农 40 | 黑龙江省农科院 | 绥农 8 | 绥化农科所 | 合 99-793 | 合江农科所 |
| 垦农 19 | 黑龙江八一农大 | 黑农 42 | 黑龙江省农科院 | 东农 01-977 | 东北农业大学 |
| 吉林 2 号 | 吉林农科院 | 铁丰 18 | 铁岭农科所 | 黑河 9 号 | 黑河农科所 |
| 吉林 7 号 | 吉林农科院 | 合丰 15 | 合江农科所 | 合 00-97 | 合江农科所 |
| 黑农 44 | 黑龙江省农科院 | 农大 1189 | 黑龙江八一农大 | 九丰 5 号 | 黑龙江省农科院 |
| 东农 434 | 东北农业大学 | 黑 1643 | 黑河农科所 | 合丰 41 | 合江农科所 |
| 黑农 35 | 黑龙江省农科院 | 黑河 32 | 黑河农科所 | 蒙豆 9 | 内蒙古农科所 |
| 东农 1223 | 东北农业大学 | 黑河 27 | 黑河农科所 | 垦农 19 | 黑龙江八一农大 |

定。鉴别寄主 Acme、Chippewa、Flambean、Harosoy、Lindarin、Merit、Norchief 由中国农业科学院品种资源所常汝镇、邱丽娟研究员提供。

1.2.3 抗源材料筛选

采用针刺法对供试材料进行抗性鉴定,每个处理 5 株,对照材料为长农 4 号感病品种。参照

表2 按照 Cross 标准对供试菌株划分结果
Table 2 The differentiation results of isolates to test according to the standard of Cross

| 鉴别品种 Differentials | Cross 提出的生理小种 Races classified by Cross | | | | | | |
|-----------------------|--|----|----|----|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Acme | S | S | S | S | R | R | S |
| Chippewa | R | R | R | It | R | R | R |
| Flambean | S | S | R | S | R | S | R |
| Harosoy | R | S | S | S | R | S | R |
| Lindann | R | S | S | S | R | R | R |
| Merit | R | It | It | S | S | R | R |
| Norchief | R | It | It | S | R | S | R |

注: S: 感病; R: 抗病; It: 中间。
S: Susceptible R: Resistant It: Intermediste
Cross^[7] 的标准:
抗病(R): 接种点坏死, 无水浸状, 无褪绿扩展区;
感病(S): 接种点呈水浸状, 后出现枯死, 周围有或无明显褪绿扩展区;
中间反应(It): 比感病反应枯死多, 水浸状和褪绿区少。

2 结果与分析

- 2.1 病原菌菌株的分离纯化及致病性鉴定
从采集到的 620 个病样中, 经革兰氏染色反应、形态特征及培养性状、生理生化及致病性鉴定, 共鉴定得到 38 个菌株, 其表现为: 革兰氏染色呈阴性, 菌体短杆状, 鞭毛 1~4 根, 极生, 有荚膜, 无芽孢。NA 平板上菌落乳白色, 圆形, 微突起, 透明或半透明, KB 培养基上产生荧光。生理生化鉴定符合大豆细菌性斑点病病原菌特征。在感病品种长农 4 号呈现典型的细菌斑点病致病性状。
- 2.2 生理小种鉴定
根据在国际通用鉴别寄主上的反应, 采用室内幼苗针刺接种鉴定的方法, 将黑龙江省 38 个供试的大豆细菌性斑点病菌菌株主要划分为 1、3、4 和 7 号生理小种, 其中 4 号生理小种为优势小种, 占供试菌株的 86.67%。还有 8 个菌株不符合 Cross 生理小种鉴定标准。
- 2.3 抗性资源材料筛选

通过不同品种(系)对细菌性斑点病的抗性测定结果表明: 供试的品种对优势生理小种表现抗病的有吉林 2 号、吉林 7 号、吉林 35、黑农 25、铁丰 18、铁

丰 20、九丰 4 号、九丰 5 号、黑河 9 号、合丰 15、东农 42、东农 01-977、农大 9799、农大 9721 和合 97-1163, 占供试材料的 13.89%; 24 个品种或品系表现为中间类型, 占供试材料的 22.2%; 其余均为感病材料(见图 1)。这可能是 4 号小种成为黑龙江省大豆细菌性斑点病优势小种的原因之一。因此, 通过培育和利用抗病品种防治细菌性斑点病, 应注意选择对 4 号小种的抗源材料。根据抗性资源筛选结果, 可合理地用于大豆生产和抗病育种。

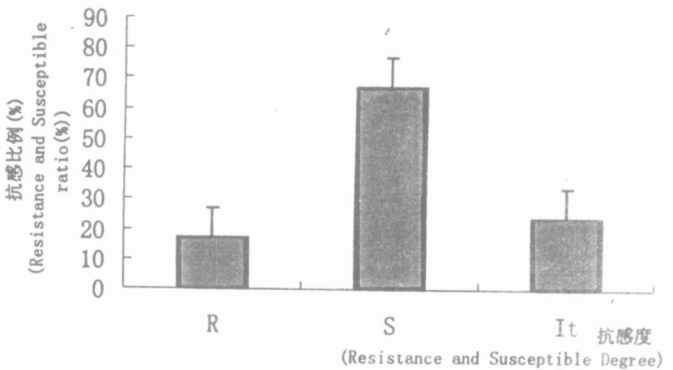


图1 大豆品种(系)抗感细菌斑点病比率
Fig.1 The ratio of soyben varieties(lines) resistant to soybean bacterial spot disease

3 结论与讨论

- 3.1 在 620 份采集的样本中, 共分离鉴定出 38 个菌株。主要划分为 1、3、4 和 7 号生理小种, 其中 4 号生理小种为黑龙江省优势小种, 占供试菌株的 86.67%。其中还有 8 个菌株不符合 Cross 生理小种鉴定标准。这说明, 随着新的生理小种的产生和不同地区的差异, 国外 Cross 建立的一套鉴别寄主并不完全适合我国细菌性斑点病生理小种鉴定研究, 在我国进行资源大量筛选试验, 建立一套适宜的鉴别寄主是必要的。
- 3.2 采用针刺接种方法对 108 个栽培大豆品种和育成品系用 4 号优势生理小种接种鉴定, 抗病资源占 13.89%, 这说明东北三省存在着较为丰富的抗源, 所鉴定的抗源一是可以直接用于生产, 二是可用于抗病育种的亲本, 创造抗病新材料。以后还要进一步加大抗性资源筛选工作, 拓宽基因资源, 为培育抗性稳定的品种提供优秀的抗源。

参 考 文 献

1. 张佳环, 高洁, 袁美丽. 吉林省大豆细菌性斑点病菌生理小种鉴定

- 结果初报[J]. 吉林农业大学学报, 1993, 15(4): 24–27.
- 2 Sinclair, J. B. Compendium of soybean diseases[M]. The American Phytopathological Society Press, 1989
- 3 Thomas M D, Leary J V. A New race of pseudomonas glycinia [J]. Phytopathology, 1980, 70: 310–312.
- 4 Fett W F, Sequeira L. Further characterization of physiologic race of Pseudo monas glycinia[J]. Can J Bot, 1981, 59: 283–287.
- 5 Kucharek T, Stall B. A bacterial leaf spot of soybean caused by a new race of Pseudo monas syringae pv. glycinia[J]. Review of Plant Pathology, 1986, 65(9): 509.
- 6 方仲达. 植病研究方法[M]. 北京. 农业出版社, 1977
- 7 Cross J. E. Kennedy B W, Lambert J W. Plant disease reporter [R]. 1996, 50: 557–560

STUDY ON THE RACE IDENTIFICATION OF *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *GLYCINEA* AND SCREENING OF RESISTANCE RESOURCE OF SOYBEAN

Zhang Shuzhen¹ Xu Pengfei¹ Han Yingpeng¹ Zhang Dayong¹ Zhao Shijun¹
Lei Hong² Li Wenbin¹

(1. Soybean Research Institute of Northeast Agricultural University, Harbin 150030; 2. Heilongjiang University, Harbin 150000; 3. Agriculture Technique Extension Center of Bin County 150400)

Abstract 38 strains of *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinia* by way of pathogenicity, morphology, physiological and biochemical characters designation were collected from 620 leaves of soybean varieties in Heilongjiang Province, and they were identified to 1, 3, 4 and 7 races according to the Cross standard. Therein to, Race 4 is the dominant one in Heilongjiang Province. The resistance ratio is 15.74% in the 108 soybean varieties or lines, and 22.2% is the interim resistance ratio. The identification results can be used in soybean production and resistance breeding.

Key words Soybean; *Pseudomonas syringae* pv; *Glycinia*; Race; Resistance resource