

## 不同鉴别寄主对中国大豆疫霉病菌鉴定结果

马淑梅<sup>1</sup>, 马成云<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>黑龙江大学农学院, 黑龙江 哈尔滨 150080; <sup>2</sup>黑龙江农业职业技术学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

**摘 要:**用美国、日本和中国 3 套鉴别寄主对近年在中国大豆主产区新采集的 18 份有代表性的疫霉病菌株进行鉴定。采用苗期下胚轴人工接种鉴定的方法进行, 结果表明: 多数大豆疫霉病菌株对不同鉴别寄主抗感反应差异较大, 少数菌株按标准模式表现稳定一致的反应。说明中国大豆疫霉病菌与美国和日本大豆疫霉病菌存在生理分化的复杂性及反应模式的多样性; 自行筛选的鉴别寄主进一步完善后能成为独立的鉴定体系。

**关键词:**大豆; 鉴别寄主; 疫霉病菌

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2008)05-0819-04

## Identification of Soybean *Phytophthora Sojae* with Soybean Hosts from Different Countries

MA Shu-mei<sup>1</sup>, MA Cheng-yun<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Agriculture College of Heilongjiang University, Harbin 150080; <sup>2</sup>Heilongjiang Agriculture Occupation Technology College, Jiamusi 154007, Heilongjiang, China)

**Abstract:** *Phytophthora* root rot, caused by *Phytophthora sojae* Kaufmann & Gerdemann, is a devastating disease of soybean. Planting resistant cultivars is the most effective and economic method of controlling the disease. However, *P. sojae* is highly variable pathogen, resistance can be overcome by development of new races of the pathogen. To set up the host differential sets for *P. sojae* in China and make the results in accordance with that of other countries, eighteen accessions of *P. sojae* from Heilongjiang Province, the main soybean production area of China, were tested by three sets of host differentials from America, Japan and China, respectively. The strains of *P. sojae* were inoculated to lower-hypocotyl of soybean seedlings and the reaction types of host plants were determined. Results showed most *P. sojae* strains reacted differently among differential host sets and only a few strains had stable reaction. It suggested that the differentiation and reaction types of *P. sojae* races were different among countries.

**Key words:** Soybean; Differential host; *Phytophthora sojae*

大豆疫霉病 (*Phytophthora sojae*) 是黑龙江省大豆生产上发生为害十分严重的病害, 对大豆产量和品质影响很大。在大豆主产区有些地块发生非常严重, 病株率可达 15% 以上, 个别严重地块发病率可达 75% 左右, 发生的普遍性也较强。研究疫霉病的生理小种无论从植物病理学的角度还是对抗疫霉病育种都有十分重要意义<sup>[1]</sup>。关于大豆疫霉病生理小种研究国内一直没有统一的鉴别寄主, 作者多年来一直用由分别携带 8 个抗病基因的品种 (系) 组成的一套美国鉴别寄主, 对疫霉病菌进行生理分化研究, 并在采集的菌株范围内鉴定出黑龙江大豆产

区有 7 个生理小种<sup>[2-3]</sup>。鉴别病原菌的生理小种是进行研究病害病原菌群体动态的基础, 也是进行抗病育种的基础。近年来随着疫霉病菌标样数量的增多, 为了更好的用生物学方法划分其生理小种有必要扩大鉴别寄主的范围。因此, 作者近年用日本鉴别品种和我国自行筛选的鉴别品种<sup>[4-7]</sup>对疫霉病菌进行生理小种鉴定。

现报道了 3 套鉴别寄主对我国大豆疫霉病菌进行鉴定的结果, 旨在为建立我国大豆疫霉病菌鉴定体系并使研究结果与国际接轨提供理论依据。

收稿日期: 2007-12-25

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目 (2006BAD08A08); 农业行业专项资助项目 (nyhyzx07-053)。

作者简介: 马淑梅 (1959-), 女, 教授, 主要从事大豆病害研究。E-mail: msm2006@126.com。

1 材料及方法

1.1 鉴别寄主

美国鉴别寄主: Harosoy, Harosoy63, Sanga, Mack, PI103091, Kingwa, Pi171442, Aitna; 日本鉴别寄主: 黄宝珠, 中生光黑, ゲデンシラズ, トヨスズ, イスズ, キタムスメ; 中国鉴别寄主: 合丰 35、合丰 42、绥农 11, 黑农 36, 黑河 3 号, 建 93-11。

1.2 菌株来源

共有 18 份菌株, 分别取自佳木斯、依兰、宾县、哈尔滨、双城、呼兰、集贤、北安、桦川、桦南、汤原、富锦、宝清、萝北、绥滨、宝泉岭农场、二九 0 农场、友谊农场、明山农场、富锦、二九一农场、宝清等地。

1.3 菌株分离、纯化、保存

菌株分离: 第一, 分离材料选择, 根据病害在大豆各生育时期的症状表现特点, 采集新近发病的、典型的病株样本进行分离。第二, 病组织消毒, 在分离大豆疫霉菌时, 将病组织用自来水反复冲洗, 以 70% 的酒精消毒 5 s, 立即用灭菌水彻底冲洗, 放在无菌的滤纸上吸干水份后放入先准备好装有选择培养基的培养皿中。第三, 选择性培养基为: 苯来特 10 mg、五氯硝基苯 54 mg、异菌尿 40 mg、硫酸新霉素 100 mg、氯霉素 10 mg; 基础培养基 V<sub>8</sub>-汁, 将选择培养基直接加到基础培养基中灭菌, 即为分离所需

的选择性培养基。

将分离后得到纯化菌株 18 株, 这些菌株用燕麦片培养基保存, 在 15 ~ 17℃ 的条件下 80 ~ 90 d 转接一次。

1.4 鉴定方法及病情调查

将鉴别寄主播种在盆钵里, 每盆 10 株, 2 次重复, 盆土用无菌土壤, 在苗期(真叶展开时)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 d, 取菌膜伤口贴菌接种, 接菌后立即罩上塑料履膜保湿, 在 20 ~ 25℃ 下保湿 48 h, 6 ~ 7 d 后调查发病情况。

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 美国大豆鉴别寄主对中国大豆疫霉菌反应

美国大豆鉴别寄主对中国大豆疫霉菌反应结果见表 1, 1 ~ 7 号菌株分别为 1、3、9、11、17、21、24 号生理小种, 这一结果是与美国标准模式比较得出的, 在过去采集的标样中也曾鉴定发现过。8 号菌株反应的模式为美国的 5 号生理小种; 16 号菌株为美国的 15 号生理小种。9、10、11、12、13、14、16、17、

表 1 美国大豆鉴别寄主对中国大豆疫霉菌反应  
Table 1 Responses of American soybean differential hosts to physiological race of *P. megasperma* f. sp. *glycinea*

供试菌株 Tested isolates	鉴别寄主 Differential hosts							
	Harosoy	Harosoy 63	Sanga	Mack	PI103091	Kingwa	Pi171442	Aitna
P <sub>1</sub>	S	R	R	R	R	R	R	R
P <sub>2</sub>	S	S	R	R	R	R	R	R
P <sub>3</sub>	S	S	R	R	R	R	R	S
P <sub>4</sub>	S	R	S	R	R	R	R	S
P <sub>5</sub>	S	R	R	R	S	R	S	S
P <sub>6</sub>	S	S	R	R	R	R	S	R
P <sub>7</sub>	S	R	S	R	R	R	S	S
P <sub>8</sub>	S	R	S	S	S	R	R	R
P <sub>9</sub>	R	R	R	R	S	R	S	R
P <sub>10</sub>	R	R	R	R	S	S	S	R
P <sub>11</sub>	R	R	R	R	S	S	S	S
P <sub>12</sub>	R	R	R	S	S	R	R	R
P <sub>13</sub>	R	R	R	S	S	S	S	R
P <sub>14</sub>	R	S	R	R	S	S	R	R
P <sub>15</sub>	R	S	R	R	S	R	S	R
P <sub>16</sub>	S	R	R	R	R	R	S	R
P <sub>17</sub>	R	S	R	R	S	R	S	S
P <sub>18</sub>	R	S	R	R	S	S	S	R

18 号菌株与美国标准模式比较均不一致,说明美国这套鉴别寄主还不能够完全适用鉴定中国大豆疫霉病菌生理小种;9 个菌株中有在一个地块上不同采样点的对一套鉴别寄主反应不同的 5 个菌株,证明在同一地块内存在几个大豆疫霉病菌生理小种。几

个不同生理分化类型混合发生在同一地块的原因尚不清楚,这使得在利用抗病品种防治该病时,对品种抗性谱有更加严格的要求,同时也为小种种类的鉴定和研究小种生态分布增加了难度。

2.2 日本大豆鉴别寄主对中国大豆疫霉病菌反应

表2 日本大豆鉴别寄主对中国大豆疫霉病菌反应

Table 2 Responses of Japanese soybean differential hosts to physiological race of *P. megasperma* f. sp. *glycinea*

供试菌株 Tested isolates	鉴别寄主 Differential hosts					
	黄宝珠	中生光黑	ゲデンシラズ	トヨスズ	イスズ	キタムスメ
	Huangbaozhu	Zhongshengguanghei	Gedenshirazu	Toyosuzu	Isuzu	Kitamusume
P <sub>1</sub>	S	R	R	R	S	R
P <sub>2</sub>	S	S	R	R	S	R
P <sub>3</sub>	S	R	S	R	S	R
P <sub>4</sub>	S	R	S	S	S	R
P <sub>5</sub>	R	S	R	R	S	S
P <sub>6</sub>	R	S	R	R	S	R
P <sub>7</sub>	R	S	S	R	R	S
P <sub>8</sub>	R	S	S	R	S	R
P <sub>9</sub>	S	R	R	R	S	R
P <sub>10</sub>	S	R	R	S	S	S
P <sub>11</sub>	S	R	R	S	S	R
P <sub>12</sub>	S	R	S	S	S	S
P <sub>13</sub>	S	S	R	R	S	S
P <sub>14</sub>	S	S	R	R	S	R
P <sub>15</sub>	S	S	R	S	S	S
P <sub>16</sub>	I	I	S	I	S	R
P <sub>17</sub>	I	S	I	R	I	S
P <sub>18</sub>	S	I	R	I	R	I

日本大豆疫霉病鉴别寄主对中国大豆疫霉病菌生理小种的鉴别结果(表2)是 P<sub>12</sub>和 P<sub>15</sub>2 个菌株致病力很强,有 5 个鉴别寄主对其感染;其次是 P<sub>4</sub>、P<sub>10</sub>、P<sub>13</sub>3 个菌株致病力较强,有 4 个鉴别寄主对其感染。P<sub>1</sub>和 P<sub>9</sub>的反应型相同,即 SRRRSR;P<sub>2</sub>和 P<sub>4</sub>的反应型相同,即 SSRRSR;P<sub>5</sub>和 P<sub>6</sub>在前 5 个鉴别寄主上反应型相同,即 RSRRS;P<sub>10</sub>和 P<sub>11</sub>也是在前 5 个鉴别寄主上反应型相同,即 SRRSS;P<sub>13</sub>和 P<sub>14</sub>也是在前 5 个鉴别寄主上反应型相同,即 SSRRS。整体看日本这套鉴别寄主能较稳定的区分出 5 个致病型,具有一定的鉴别作用,但对一些菌株表现出不稳定的反应并出现了一些中间类型。

2.3 中国大豆鉴别寄主对大豆疫霉病菌反应

中国鉴别寄主对我国大豆疫霉病菌反应有明显的区分能力,结果见表3。在现有的 18 个菌株范围内,可区分为 10 个生理小种,按顺序即生理小种 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 号,按鉴别寄主顺序其反应型依次为:R R R R S S,R R R S S S,R R S S R S,R S

R R S S S,R R S S S S S,R S R S S S S,R S S S S S S,S R S S S S,S S S S R S,S S S S S S S。其中 1 号菌株和 18 号株反应型相同,3、11、15 号反应型相同,5 号和 14 号反应型相同,8 号和 13 号反应型相同。12 号和 14 号出现了中间类型的反应。

中国的一套鉴别寄主是从 500 多份材料中选出的,比较有代表性。其中有相当一部份品种(系)出现了中间类型反应,将这部分品种(系)淘汰掉。有 50 多个品种(系)对供试的几十个菌株有明确的抗感反应,而且,对这些个菌株的抗感反应呈现出多样性,从中选择了 6 个品种(系)可以将供试的菌株区分开来。

3 讨论

对于大豆疫霉病生理小种的研究,目前美国已报导有 59 个生理小种,是用美国 8 个鉴别品种在不同时期鉴定出的。目前随着疫霉病发生范围扩大,

表3 中国大豆鉴别寄主对大豆疫霉病菌反应

Table 3 Responses of Chinese soybean differential hosts to physiologic race of *P. megasperma* f. sp. *glycinea*

供试菌株 Tested isolates	鉴别寄主 Differential hosts					
	黑农 36	绥农 11	合丰 42	黑河 3 号	建 93-11	合丰 35
	Heinong 36	Suinong 11	Hefeng 42	Heihe 3	Jian 93-11	Hefeng 35
P <sub>1</sub>	R	R	R	R	S	S
P <sub>2</sub>	R	R	R	S	S	S
P <sub>3</sub>	R	R	S	S	R	S
P <sub>4</sub>	R	S	R	R	S	S
P <sub>5</sub>	R	R	S	S	S	S
P <sub>6</sub>	R	S	R	S	S	S
P <sub>7</sub>	R	S	S	S	S	S
P <sub>8</sub>	S	R	S	S	S	S
P <sub>9</sub>	S	S	S	S	R	S
P <sub>10</sub>	S	S	S	S	S	S
P <sub>11</sub>	R	R	S	S	R	S
P <sub>12</sub>	I	I	S	I	S	I
P <sub>13</sub>	S	R	S	S	S	S
P <sub>14</sub>	R	R	S	S	S	S
P <sub>15</sub>	R	R	S	S	R	S
P <sub>16</sub>	R	I	S	I	S	S
P <sub>17</sub>	R	R	S	S	R	S
P <sub>18</sub>	R	R	R	R	S	S

采集病菌标样数量越来越多,只用美国鉴别寄主来鉴别存在一定难度。因此,用3套鉴别寄主对上述菌株鉴定、比较,目的旨在能更明显的区分不同菌株致病力差异,同时对更进一步完善和增添辅助鉴别寄主具有十分重要意义。

用3套鉴别寄主对近年采集的新菌株进行鉴定,美国鉴别寄主对中国疫霉菌鉴定在一定时期、一定菌株范围内相对比较是可行的,有些菌株鉴定结果是稳定的;日本鉴别寄主对部分菌株也有较好的鉴别能力;作者自行筛选的鉴别寄主整体反应型都比较稳定,但还需要更多的菌株标样鉴定来验证,因为建立比较完整的一套鉴别寄主需要多年大量的研究,需要用大量病原菌进行多次重复接种鉴定,才能保证鉴定体系的可靠性和稳定性。目前国际上多使用单基因抗病品种(系)作为鉴别寄主,要达到这一目标,还得确定鉴别寄主中的抗病基因。所以下步工作要进一步扩大鉴定菌株数量,更重要的是确定鉴别寄主中的抗病基因。

参考文献

[1] 朱振东,王晓鸣,常汝镇,等. 黑龙江省大豆疫霉菌生理小种鉴定及大豆种质的抗性评价[J]. 中国农业科学,2000,33(1):62-67. (Zhu Z D, Wang X M, Chang R Z, et al. Identification of race of *Phytophthora sojae* and reaction of soybean germplasm resources in Heilongjiang Province [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2000, 33 (1):62-67. )

[2] 马淑梅,李宝英. 大豆疫霉菌生理小种鉴定结果初报[J]. 大豆科学,1999,18(2):151-153. (Ma S M, Li B Y. A preliminary report on the identification of the physiological races of *Phytophthora megasperma* [J]. Soybean Science, 1999, 18 (2): 151-153. )

[3] 马淑梅,丁俊杰,郑天琪,等. 黑龙江省大豆疫霉根腐病生理小种鉴定结果[J]. 大豆科学,2005,24(4):260-262. (Ma S M, Ding J J, Zheng T Q, et al. The identification of physiological races of *Phytophthora megasperma* [J]. Soybean Science, 2005, 24 (4): 260-262. )

[4] 马淑梅,李宝英,丁俊杰. 大豆疫霉根腐病抗病资源筛选及抗性遗传研究[J]. 大豆科学,2001,20(3):197-199. (Ma S M, Li B Y, Ding J J. Selections of soybean germplasms with resistance to *Phytophthora* root rot and its use in breeding for resistance [J]. Soybean Science, 2001, 20(3):197-199. )

[5] 马淑梅,李宝英. 大豆种质资源对大豆疫霉菌抗病性测定[J]. 大豆科学,2006,25(3):279-282. (Ma S M, Li B Y. Identification the resistance of soybean germplasm to *Phytophthora sojae* [J]. Soybean Science, 2006, 25(3):279-282. )

[6] 王晓鸣,朱振东,王化波,等. 中国大豆疫霉根腐病和大豆种质抗病性评价研究[J]. 植物病理学报,2001,31(4):324-329. (Wang X M, Zhu Z D, Wang H B, et al. Occurrence of soybean *Phytophthora* root rot and evaluation of germplasm resistance in China [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2001, 31(4):324-329. )

[7] 许修宏,吕慧颖,陈秀双,等. 大豆疫霉根腐病菌生理小种中国鉴别寄主的初步筛选[J]. 东北农业大学学报,33(2):139-142. (Xu X H, Lü H Y, Chen X S, et al. Preliminary screening for differential soybean varieties/lines suitable for race test of *Phytophthora sojae* [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 33 (2): 139-142. )