

黑龙江东部地区大豆疫霉病致病型及毒力分布

马淑梅
(黑龙江大学农业资源与环境学院,黑龙江 哈尔滨 150080)

摘 要:2007 ~ 2008 年从黑龙江东部地区佳木斯、绥滨、富锦、桦川、桦南、双鸭山、抚远、密山、依兰、汤源、集贤、宝清等采集的典型病症大豆疫霉病株上分离 53 份菌株,用国际上通用的一套鉴别寄主(分别携带 *Rps1a*, *Rps1b*, *Rps1c*, *Rps1d*, *Rps1k*, *Rps3a*, *Rps6*, *Rps7* 基因),鉴定出 1、13、17 和三个致病型;其病原菌可以划分为四个毒性类型并初步明确了其毒力分布情况。
关键词:大豆疫霉病;致病型;毒力分布
中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2009)04-0687-03

Pathotype and Virulence Distribution of *Phytophthora Megasperma* in Eastern of Heilongjiang Province

Ma Shu- mei
(Agriculture Source and Environmental College, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang, China)

Abstract:Fifty-three strains of *Phytophthora sojae* have collected from eastern district of Heilongjiang from 2007 to 2008. Race1 1,13,17 and three pathotypes were identified with a set of international universal differential hosts(taking along with Gene *Rps1a*, *Rps1b*, *Rps1c*, *Rps1d*, *Rps1k*, *Rps3a*, *Rps6* and *Rps7*, respectively). We found that the pathogenic bacteria can be divided into 4 virulence types and primarily ascertained the situation of virulence distribution.
Key words:Soybean; *Phytophthora megasperma*; Pathotype; Virulence distribution

由大豆疫霉菌 (*Phytophthora sojae*)引起的大豆疫霉病是严重影响黑龙江大豆生产的重要土传病害^[1-2]。该病于 1948 年首次在美国的印第安纳州发现,而后相继在很多主要大豆生产国和地区都有该病的报道。1989 年由沈崇尧和苏彦纯首次分离到病原^[3],证实该菌在我国的存在。随后,周肇蕙等、马淑梅等以及朱振东等相继在黑龙江的一些地区发现了大豆疫霉菌^[4-5]。目前对大豆疫霉病已有很多的研究报道。从 1955 年 Kaufmann^[6]首次报道了大豆疫霉病以来,*P. soja* 的致病性分化十分复杂,新的致病型不断出现。目前国际上已报道了至少有 55 个大豆疫霉病生理小种^[7]。在我国,马淑梅、朱振东等均对大豆疫霉菌的致病性分化进行了报道^[8-9]。针对大豆疫霉病菌变化的复杂性和近年大豆疫霉病有逐渐发展扩大的趋势,立足于解决生产实际问题,2007 ~ 2008 年以一个大豆区域为单元,进行集中密集收集病菌样本,重点是对一个区域的

大豆疫霉病致病型进行研究,并对其毒力进行分析,初步明确了一个地区的病菌致病类型。这一研究结果对进行抗疫霉病育种和当地品种的合理布局有着理论和现实意义。

1 材料与方法

1.1 病害发生调查与病菌样本采集

2007 ~ 2008 年重点对黑龙江东部大豆产区进行疫霉病调查。在黑龙江佳木斯、绥滨、富锦、桦川、桦南、双鸭山、抚远、密山、依兰、汤源、集贤、宝清等采集的具有典型病症的病株 150 份。用 PBNIC 选择性培养基进行大豆疫霉菌分离。分离到的大豆疫霉菌经多次纯化后保存在 V-、蔬菜培养基上,待用。

1.2 病组织分离法分离病原菌

采集到的新鲜病株的病组织用自来水流水冲洗 1 h 后,75% 酒精浸泡 30 s,无菌水冲洗 3 ~ 4 次,用

收稿日期:2009-02-22
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(3-20)。
作者简介:马淑梅(1959-),女,教授,主要从事大豆病害研究。E-mail:lmsm2006@126.com。

灭菌的滤纸吸干表面水分,取适当大小病健交界处组织置于选择性培养基上,25℃温箱中培养 7 d。

1.3 大豆疫霉病菌致病型鉴定

采用幼苗下胚轴伤口接种方法鉴定疫霉菌致病型,接种及抗性评价方法和标准参照文献[5]。13 个美国鉴别寄主由南京农业大学提供。

1.4 大豆疫霉菌毒力分布

通过大豆疫霉菌致病型鉴定并结合病害发生区域调查进行分析,初步确立大豆疫霉菌毒力分布情况。

2 结果与分析

2.1 大豆疫霉病调查与病菌样本采集

在大豆不同生育期对 40 多个地点 520 个地块调查结果表明,发现病田可见叶片发黄萎蔫下垂,苗期茎基部有水渍状,生育中、后期茎基部有黑褐色病斑,茎髓变褐等大豆疫霉根腐病典型症状可疑病株地块 422 个,占调查地块 81.2%。调查得到了适于分离疫霉病可疑病株 150 株,病土壤 38 份。

2.2 大豆疫霉病菌致病型鉴定

2.2.1 鉴别寄主与各菌株互作反应 2007~2008 年从各发病地区分离疫霉病菌经纯化获得 53 个菌株,将这 53 个菌株分别接种在含不同抗性基因的鉴别寄主进行致病型测定(表 1)。

表 1 不同菌株在鉴别寄主上的致病型表现
able 1 Response of differential host to different isolates of *P. sojae*

大豆品种 Cultivar	基因 Gene	菌株 Isolates of <i>P. sojae</i>			
		P1- P29	P30- P42	P43- P49	P50- P53
Willams	rps	S	S	S	S
Harlon	1a	R	R	R	S
Harosoy13xy	1b	R	R	S	R
Williams79	1c	R	R	R	R
P1103091	1d	R	R	S	S
Williams82	1k	R	R	R	R
L76-1988	2	R	R	R	R
Chapman	3	R	R	S	R
PRX46-36	3b	R	R	R	R
PRX145-48	3c	R	R	R	S
L85-2352	4	R	R	R	R
L85-3059	5	R	R	R	S
Harosoy62xx	6	R	S	S	R
Harosoy	7	S	S	S	S

从表 1 中可知,53 个菌株中有 29 个菌株可克服 7 号抗性基因,而不能克服其它抗病基因,这与国

际上已鉴定的致病型 1 号的毒力公式一致,可确定为致病型 1 号。13 个菌株可克服 6、7 号抗性基因,而不能克服其它抗病基因,其毒力公式与已报道的致病型 13 号一致,可确定为致病型 13 号。7 个菌株可克服 1b、1d、3a、6、7 号抗性基因,而不能克服其它抗病基因,其毒力公式与已报道的致病型 17 号一致,可确定为致病型 17 号。另有 5 个菌株其致病毒力为 1a、1d、3c、5、7,与已报道的毒力公式均不同,为新的致病型。

2.2.2 毒力频率 从表 1 还可以看出 53 个菌株对各鉴别寄主出现的毒力频率在对照品种 Willams 为 100%,说明已达到了充分发病状态,接种效果是理想的。在含不同抗性基因的品种上毒力频率出现依次为 Harosoy 为 100%,Harosoy62 和 Pi103091 为 50%,Harlon、Harosoy13、Chapman、PRx145-48 和 L85-3059 为 25%,Willams79、Willams82、L76-1988、PRx146-36 和 L85-2352 为 0。从另一方面分析,能克服一个抗病基因的菌株占 55%,能克服 2 个抗病基因的菌株占 25%,能克服 5 个不同抗病基因的菌株占 23%。由此看出在黑龙江东部大豆产区疫霉病菌群体中存在着一定比例的强毒性菌株。

2.2.3 毒力分布 53 个菌株毒力分布情况是,在佳木斯西郊、佳南农场、良种场于大豆苗期(三片复叶)采集的 12 个菌株在 Willams 和 Harosoy 上产生毒力;在桦川的长发、梨丰于大豆五片复叶期采集的 7 个菌株在 Willams 和 Harosoy 上产生毒力;桦南的五星、曙光于大豆苗期(三片复叶)采集的 4 个菌株在 Willams 和 Harosoy 上产生毒力;大豆的生育中后期于抚远采集的 1 个菌株、集贤的 1 个菌株、宝清的 4 个菌株在 Willams 和 Harosoy 上产生毒力。绥滨农场、绥滨东郊于大豆苗期(三片复叶)采集的 4 个菌株在 Willams、Harosoy 和 Harosoy62 上产生毒力;于大豆生育中期在富锦长安采集的 2 个菌株、大榆树 1 个菌株、清化 1 个菌株在 Willams、Harosoy 和 Harosoy62 上产生毒力;双鸭山采集的 1 个菌株在 Willams、Harosoy 和 Harosoy62 上产生毒力;大豆苗期于密山镇和良种场采集的 2 个菌株在 Willams、Harosoy 和 Harosoy62 上产生毒力;汤原郊区的 2 个菌株在 Willams、Harosoy 和 Harosoy62 上产生毒力。与此同时在上述相同地点的桦川长发的 1 个菌株、佳南农场的 2 株、抚远的 2 个菌株、集贤的 2 个菌株在 Harosoy13、Pi103091、Chapman、Harosoy62、Harosoy 上产生毒力。新致病型菌株来自于富锦的 3 个菌株和

汤源的 2 个菌株,它们分别在 Willams、Harlon、Pi103091、PRx145 - 48、L85 - 3059、Harosoy 上产生毒力。

3 结论

鉴别寄主中多数主要抗病基因在病原菌中都能找到其对应的毒性基因。在现有鉴定的菌株内 100% 的菌株对 *Rps7* 具有毒性,说明 *Rps7* 基因已经完全被克服,丧失其应用价值。50% 的菌株对 *Rps1d* 和 *Rps6* 具有毒性,说明 *Rps1d* 和 *Rps6* 基因已经被一半的菌株克服,还有一定的应用价值。25% 的菌株对 *Rps1a* 和 *Rps1b* 具有毒性,说明 *Rps1a* 和 *Rpsb* 基因已经被四分之一的菌株克服,还有相当的应用价值。此外,在现有菌株内没有能够克服 *Rps1c* 和 *Rps1k* 的,说明这两个基因具有很好的应用价值。特别是 *Rps1k* 目前在国外也是应用比较好的基因,能抗疫霉病菌 20 多个生理小种,是国外抗大豆疫霉根腐病利用的重要抗病基因之一,有学者报道我国已存在对其具有毒性的病原菌株,所占比例有所上升,说明在我国的大豆生产区存在这样的强毒性菌株。但是,目前在黑龙江的东部地区现有采集的菌株里尚未发现使其致病的毒性菌株。

过去马淑梅对黑龙江的分离物是用由 8 个品种组成的鉴别寄主进行毒力划分的,其结果表明对主要的抗性基因毒力表现都是比较稳定的,强毒性基因菌株较少。研究表明,黑龙江的分离物与以前的鉴定结果有些不同,这些分离物对抗病基因毒力的变化主要表现在对几个新增加的抗性基因具有毒力,而且对已前的 8 个抗病基因的毒力也发生一定的改变,这种改变的结果是毒力都已增强。有研究表明,大豆疫霉菌在连续培养的条件下其毒力有时会发生变化,这种变化常常是来自于分离物本身。那么,其毒力的变化除了分离物自身的因素外,主要还是品种和病原菌互作的效应。

总之,在 53 个菌株中共鉴定出 1、13、17 三个致病型和同一个毒力类型的 5 个新的分离物。55% 的菌株为致病型 1。致病型 1 为黑龙江东部地区的主

要致病型,有 25% 和 13% 的菌株为致病型 13 和 17,也占有一定比重。这一结果对当前抗大豆疫霉病育种和指导抗病品种合理布局具有一定的理论和现实意义。

参考文献

[1] Schmitthenner A F. Problems and progress in control of Phytophthora root rot of soybean[J]. Plant Disease,1985,69:362-368.

[2] 韩晓增,何志鸿,张增敏. 大豆主要病虫害防治技术[J]. 大豆通报,1998(6):5-6. (Han X Z, He Z H, Zhang Z M. Major soybean pest control technology[J]. Soybean Bulletin,1998(6):5-6.)

[3] 沈崇尧,苏彦纯. 中国大豆疫霉菌的发现及初步研究[J]. 植物病理学报,1991,21:298. (Shen C Y, Su Y C. Discovery and preliminary studies of phytophthora megasperma on soybean in China [J]. Acta Phytopathologica Sinica,1991,21:298.)

[4] 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,2000,33:62-67. (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: 62-67.)

[5] 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. (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.)

[6] Kaufmann M J, Gerdemann W. Root and stem rot of soybean caused by Phytophthora sojae. s[J]. Phytopathology,1958,48:201-208.

[7] Leiz R A, Harman G L. Races of *phytophthora sojae* on soybean in Illinois[J]. Plant Disease,2000,84:487.

[8] 马淑梅,丁俊杰,郑天琪. 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.)

[9] 朱振东,王晓鸣,常汝镇. 黑龙江省大豆疫霉菌生理小种鉴定及大豆种质抗性评价[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.)