

栽培大豆种质资源对大豆疫霉根腐病的抗性评价

张淑珍¹,徐鹏飞¹,吴俊江²,李文滨¹,邱丽娟³,常汝镇³,陈维元⁴,于安亮¹,
王金生¹,靳立梅¹,陈晨¹,南海洋¹,陈艳秋⁵,丁广洲¹

(1. 东北农业大学大豆研究所,教育部大豆生物学重点实验室,哈尔滨 150030;2. 黑龙江省农业科学院大豆研究所,哈尔滨 150086;3. 中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081;4. 黑龙江省农业科学院绥化所,绥化 152052;5. 辽宁省农业科学院作物所,沈阳 110161)

摘要 由大豆疫霉菌引起的大豆疫霉根腐病是严重影响大豆生产的毁灭性病害之一。防治该病经济有效的方法是抗病育种,而抗性资源筛选又是抗病育种的基础。采用下胚轴伤口接种法,用黑龙江省大豆疫霉菌的1号优势生理小种对来自黑龙江、吉林、河南、内蒙古、辽宁、湖北、四川、河北、陕西、中国农业科学院的536份栽培大豆材料(其中农家品种280份、其它大豆品种256份)进行抗性鉴定,抗病的152份,占28.3%,中间类型的135份,占25.2%,感病的249份,占46.5%。280份农家品种中,抗病的有89份,占农家品种的32%,这说明农家大豆品种资源抗性比例较高。种皮色或种脐色为黄色或褐色的材料中抗性种质较多。

关键词 大豆;大豆疫霉根腐病;农家品种;抗性鉴定

中图分类号 S435.651 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)06-0914-04

IDENTIFICATION OF RESISTANCE TO *PHYTOPHTHORA SOJAE* IN SOYBEAN GERMPLASM

ZHANG Shu-zhen¹, XU Peng-fei¹, WU Jun-jiang², LI Wen-bin¹, QIU Li-juan³, CHANG Ru-zhen³, CHEN Wei-yuan, YU An-liang¹, WANG Jin-sheng¹, JIN Li-mei¹, CHEN Chen¹, NAN Hai-yang¹, CHEN Yan-qiu⁵, DING Guang-zhou¹

(1. Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University/Key Laboratory of National Education Department, Harbin 150030;2. Soybean Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences (HAAS), Harbin 150086;3. Crop Science Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;3. Suihua Research Institute of HAAS, Suihua 152052;4. Crop Research Institute, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110161)

Abstract Phytophthora root and stem rot caused by *Phytophthora sojae* is a destructive disease in soybean production regions all around the world. Utilization of resistant variety is the most economical and environmentally safe method for controlling the disease, and it is the basement for resistance breeding. 536

收稿日期:2007-05-29

基金项目:国家自然科学基金(30400285,30671317);中国博士后基金(20060400835);黑龙江省教育厅新世纪人才基金(NCET-06-007);黑龙江省高校骨干教师项目(1151G007);科技部国际合作项目(2005DFA30340);973子课题(2004CB117203-4);黑龙江省农科院博士后基金(LRB06-010);农业部寒地重点开放实验室开放课题,博士后落户黑龙江启动基金(LBH-Q05032)资助

作者简介:张淑珍(1972-),女,博士,副教授,主要从事大豆抗病遗传育种。E-mail: dnzhshzh@yahoo.com.cn;Tel:0451-55191487

通讯作者:吴俊江,徐鹏飞,陈维元,李文滨。

soybean germplasms(including 280 native soybean varieties) from Heilongjiang, Jilin, Henan, Liaoning, Hubei, Sichuan, Hebei, Shannxi, Chinese Academy of Agricultural Sciences were inoculated with race 1 of *Phytophthora sojae*, which is the superiority race in Heilongjiang Province. The results showed the resistant, intermediate and susceptible ones were 152, 135 and 249, and accounted for 28.3%, 25.2% and 46.5%, respectively. Among the 280 native soybean varieties, eighty-nine (accounted for 32%) were resistant. The results suggest that native soybean varieties are more resistant to *Phytophthora sojae*, and there is more resistance germplasm in soybean with yellow hilum or brown seed coat.

Key words Soybean germplasm; *Phytophthora sojae*; Native soybean variety; Germplasm screening

由大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)引起的大豆疫霉根腐病是严重影响大豆生产的毁灭性病害之一^[1]。该病于1948年首次在美国的印第安纳州发现,而后相继在澳大利亚、加拿大、巴西、日本、法国、英国、北朝鲜、印度等主要大豆生产国都发现了该病^[2-4]。我国由于分离技术上的原因,直到1989年才由沈崇尧和苏彦纯首次分离到病原菌^[5]。其后,该病在我国大豆主产区——黑龙江省严重发生,现已构成了大豆生产的严重威胁^[6]。

抗病育种是防治该病的一项经济有效的措施,而抗性资源的筛选是抗病育种的工作基础。大豆疫霉菌具有复杂的遗传组成和丰富的遗传变异,目前国际上已报道了至少55个生理小种^[7]。拓宽基因资源、减轻新生理小种对生产造成的压力,是推进抗病育种进程的保证。朱振东等^[8]用1号生理小种接种源于黑龙江省的82个大豆品种和53个大豆品系,许修宏^[9]曾对近900份东北三省的大豆资源进行过抗性评价,王晓鸣等^[10]对1027份栽培大豆种质、霍云龙等^[11]对60份野生大豆资源进行了抗性筛选。为拓宽抗病种质资源,创造抗病新材料,本研究用黑龙江大豆疫霉菌1号优势生理小种对来源于全国各地的栽培大豆品种包括农家品种进行了抗性评价,以期拓宽我国栽培大豆的抗性基因谱。

1 材料和方法

1.1 供试材料

栽培大豆品种资源由中国农业科学院作物科学研究所邱丽娟研究员提供。其种皮颜色包括黄、青、褐、黑、双色5种颜色,种脐色包括无色、黄色、黑色、青色、褐色。籽粒形状有椭圆形、圆形、长椭圆形,百

粒重10.2~35.6 g。共计536份(包括280份农家大豆品种)。病原菌为黑龙江省大豆疫霉根腐病优势1号生理小种。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆疫霉根腐病病原菌培养基的制备及菌种的扩繁

1.2.1.1 培养基的制备 将新鲜的胡萝卜洗净,称取200 g,切成小块放入植物组织搅碎机中搅成匀浆,加入1 000 mL蒸馏水煮沸30 min,过滤除去残渣,将20 g琼脂加入滤液中搅拌融化后,备用。

1.2.1.2 菌种的扩繁 将培养基和培养皿在一个大气压下灭菌20 min后,放置于超净工作台冷却,再将15 mL CA培养基倒入直径为10 cm的已灭菌的培养皿中,冷却后制成CA固体培养基,然后用接种针将活化的病原菌接种于平皿中间,倒置于25℃温箱中培养10 d。

1.2.2 植株的培养 每个栽培大豆材料分别取6粒种子播种于直径为8 cm的盆钵中,待对生真叶展开后,用大豆疫霉根腐病病原菌1号生理小种对其进行下胚轴接种,3次重复。

1.3 抗性评价

栽培大豆对生真叶完全展开后,用消毒过的刀片在其子叶节下约1 cm处划一伤口,伤口深度不超过大豆茎粗的三分之一,取扩繁后的带有培养基的病原菌菌丝体切成3 mm的方块嵌入伤口中,接种后在苗的上部罩上塑料膜,向膜内浇水,保持膜内相对湿度在90%以上,在25℃下培养3 d,接种后4 d进行病情调查。参照Yang^[11]抗性评价标准,栽培大豆对大豆疫霉菌的反应共分为3种类型:倒伏率≥70%的为感病(Sensitive, S),≤30%的为抗病(Resistant, R),在30%~70%的品种为中间类型(Intermediate, I)。

2 结果与分析

2.1 抗感品种接种后症状表现及栽培大豆种质资源的抗性总体评价

接种大豆疫霉根腐病菌 1 号生理小种 24 h 后,抗病品种在接种部位出现红褐色病斑,茎坚挺,子叶仍为绿色。感病品种,在接种部位出现淡褐色水浸斑,其茎呈水渍状,子叶仍为绿色(图版 A)。48 h 后,抗感品种子叶都黄化,抗病品种茎坚挺,真叶叶片轻微褪绿,感病品种真叶叶片褪绿,水渍状病斑沿茎向上方扩展(图版 B)。72 h 后,感病品种黄化的子叶出现水渍状溃斑,植株从接种部位上部倒伏图版 C,D),抗病品种接种部位上的红褐色病斑没有扩展,茎部仍然坚挺,没有出现倒伏,子叶黄化,但无溃斑出现(图版 C)。

对来自黑龙江、吉林、河南、内蒙古、辽宁、湖北、

四川、河北、陕西、中国农业科学院的 536 份栽培大豆材料(其中农家品种 280 份、其它大豆品种 256 份)进行抗性鉴定,抗病的 152 份,占 28.3%,中间类型的 135 份,占 25.2%,感病的 249 份,占 46.5%,280 份农家品种中,抗病的有 89 份,占农家品种的 32%,这说明农家大豆品种资源抗性比例较高。

2.2 大豆对疫霉根腐病抗性与籽粒脐色的关系

根据大豆籽粒脐色进行归类,研究抗大豆疫霉根腐病种质在不同脐色大豆类群中的分布特点,初步分析表明,在脐色为黑色的种质中,抗病材料的比率较低,而在脐色黄色以及褐色的种质中,抗病种质较多,分别为 29.9% 和 40.2%,明显高于黑色种质的 20.2%。在脐色为黑色的种质中,感病材料的比率较高,而在脐色黄色以及褐色的种质中,感病种质相对较少,分别为 41.7% 和 35.7%,低于黑色种质的 56.6%(见表 1)。

表 1 大豆抗疫霉种质在不同种脐色类型中的分布特点
Table 1 Distribution of resistant soybean varieties in different hilum types

脐色 Color of hilum	鉴定数量 No.	感病类型 Sensitive		抗病类型 Resistant		中间类型 Intermediate	
		数量 No.	百分率 Percent	数量 No.	百分率 Percent	数量 No.	百分率 Percent
黄色 Yellow	204	85	41.7	61	29.9	58	28.4
黑色 Black	198	112	56.6	40	20.2	46	23.2
褐色 Brown	112	40	35.7	45	40.2	27	24.1
青色 Green	1	1	100	0	0	0	0
其它 Others	21	11	52.4	6	28.5	4	19.1

2.3 大豆对疫霉根腐病抗性与籽粒种皮色的关系

根据大豆种皮色进行归类,研究抗大豆疫霉根腐病种质在不同种皮色大豆类群中的分布特点,初步分析表明,在种皮色为黑色的种质中,抗病材料的比率较低,而在种皮色黄色、青色以及褐色的种质中,抗病种质较多,分别为 31%、26% 和 30%,明显

高于黑色种质的 12.5%。在种皮色为黑色的种质中,感病材料的比率较高,而在种皮色黄色、青色以及褐色的种质中,感病种质相对较少,分别为 43.3%、45% 和 37%,低于黑色种质的 58.9%(表 2)。

表 2 大豆抗疫霉种质在不同种皮色类型中的分布特点
Table 2 Distribution of resistant soybean varieties in different seed coat color types

种皮色 Seed coat colour	鉴定数量 No.	感病类型 Sensitive		抗病类型 Resistant		中间类型 Intermediate	
		数量 No.	百分率 Percent	数量 No.	百分率 Percent	数量 No.	百分率 Percent
黄色 Yellow	342	148	43.3	106	31	88	25.7
黑色 Black	112	66	58.9	22	19.7	24	21.4
褐色 Brown	27	10	37	7	26	10	37
青色 Green	20	9	45	6	30	5	25
其它 Others	35	16	45.7	11	31.4	8	22.9

3 讨论

尽管大豆疫霉根腐病生理小种很多,并且新小种出现也较快,利用抗、耐性品种仍然是最有效的防治手段^[1,12],因此,大豆疫霉根腐病抗源的筛选工作就尤为重要。国外对于抗源的筛选和利用作了大量的工作,自从抗疫霉根腐病的基因发现以来,已培育出了大量的抗病品种广泛应用于生产,但是抗病品种种植 8~10 年后,会出现抗性丧失而成为感病品种。随着大豆疫霉新小种的不断出现,寻找新的抗性基因、拓宽抗性种质资源对抗病育种工作的开展十分必要。近几年朱振东等^[8]、许修宏等^[9]、王晓鸣等^[10]、霍云龙等^[11]对我国的部分大豆栽培品种(品系)和野生大豆资源进行了疫霉根腐病的抗性鉴定。认为我国存在着较丰富的抗源,与本研究结果相似,在农家品种抗性筛选方面做的工作却很少。

我国保存有大量的农家品种资源。在 50 年代,一些优良的农家品种如山东的腰角黄和爬蔓青,河南的牛毛黄,湖北的矮脚早和猴子毛,江苏的泰兴黑豆等在生产上利用了很长一段时间,迄今为止,南方省份的农民还在利用其中的一些品种。由于农家品种有较长的自然选择历史,因此其中可能含有丰富的抗病基因。

本研究对来自于中国大豆主产区的 280 份农家品种进行了较大规模的抗源筛选研究,发现 32% 的农家品种对大豆疫霉根腐病优势生理小种(1 号小种)具有很好的抗性,这为下一步抗病育种研究奠定了良好的基础。

王晓鸣等^[10]的研究结果表明,在大豆籽粒脐色为黄色和褐色的材料中,大豆疫霉根腐病的抗性种质较多,本研究得出了类似的结论,但脐色与抗性基因是否紧密连锁,还需进一步的试验证实。

大豆疫霉根腐病作为一种危害性极强的土传真菌病害,对我国大豆生产造成的潜在威胁是不容忽视的,而该病害目前正处于一种病原菌积累演变阶段,而且其毒性变异的非常快,我们应当积极拓宽抗性资源,发掘抗性基因,以防止病害的突发式流行。

4 结论

对来自黑龙江、吉林、河南、内蒙古、辽宁、湖北、四川、河北、陕西、中国农业科学院的 536 份栽培大豆材料(其中农家品种 280 份、其它大豆品种 256 份)进行对疫霉根腐病的抗性鉴定,抗病的 152 份,占 28.3%,中间类型的 135 份,占 25.2%,感病的 249 份,占 46.5%。农家大豆品种资源抗性比例较高。种皮色或种脐色为黄色或褐色的材料中,抗性种质较多。

参 考 文 献

- [1] Schmitthenner A F. Problems and progress in control of *Phytophthora* root rot of soybean[J]. *Plant Disease*, 1985, 69(4): 362-368.
- [2] Hidebrand A. A root and stalk rot caused by *P. me. var. sojae* [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1959, 37: 927-957.
- [3] Hilty J W. Phytopathogenic and cultural variability of single zoospore isolates of *P. me. Var. sojae* [J]. *Phytopathology*, 1962, 52: 859-862.
- [4] Jee Hyeongjin. Occurance of *Phytophthora* root rot on soybean (*Glycine max*) and indentification of the causal fungus. RAD [J]. *Journal of Crop Protection*, 1998, 40(1): 16-22.
- [5] 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(3): 298.
- [6] Leiz R A, Harman G L. Races of *Phytophthora sojae* on soybean in Illinois [J]. *Plant Disease*, 2000, 84: 487.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 许修宏, 吕慧颖, 杨庆凯, 等. 大豆疫霉根腐病抗源筛选[J]. *大豆科学*, 1999, 18(2): 147-150.
- [10] 王晓鸣, 朱振东, 王化波, 等. 大豆种质对疫霉根腐病抗性特点研究[J]. *植物遗传资源学报*, 2001, 2(2): 22-26.
- [11] 霍云龙, 朱振东, 李向华, 等. 抗大豆疫霉根腐病野生大豆资源的初步筛选[J]. *植物遗传资源学报*, 2005, 6(2): 182-185.
- [12] Yang X B. Races of *Phytophthora sojae* in Iowa soybean fields [J]. *Plant Disease*, 1996, 80: 1418-1420.
- [13] Sinclair J B. *Phytophthora* Rot. In compendium of soybean diseases[M]. APS Press; St Paul Minnesota, 1982: 41-43.