

## 大豆疫霉对甲霜灵敏感性的遗传与变异

刘 铜<sup>1</sup>, 侯巨梅<sup>2</sup>, 左豫虎<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学植物保护学院, 陕西 杨凌 712100; <sup>2</sup>景德镇高等专科学校生物与化学工程系, 江西 景德镇 333000; <sup>3</sup>黑龙江八一农垦大学植物科技学院, 黑龙江 大庆 163319)

**摘 要:**通过平板法, 在含甲霜灵  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 CAM 平板上测定了分离于不同地区的 5 个大豆疫霉菌和以 Ps411-4 为亲本的无性后代、有性后代对甲霜灵敏感性的遗传。结果表明: 分离自不同地域的菌株对甲霜灵的敏感性存在差异, 供试菌株对甲霜灵的敏感性在无性单孢后代无显著变异, 而在 50 个自交有性后代中, 上述浓度对其菌丝生长的抑制率分布范围为 70.2% ~ 96.8%, 与亲本有极显著差异, 其中 5 株高于亲本, 4 株低于亲本, 41 株与亲本相似。表明大豆疫霉对甲霜灵的敏感性同样在无性后代稳定遗传而在有性后代发生变异。结果提示, 供试大豆疫霉菌株中上述性状可能由细胞核杂合基因控制。

**关键词:**大豆疫霉; 甲霜灵; 敏感性

中图分类号: S43

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841 (2009) 02-0349-03

## Inheritance and Variation of Sensitivity to Metalaxyl in *Phytophthora Sojae*

LIU Tong<sup>1</sup>, HOU Ju-mei<sup>2</sup>, ZUO Yu-hu<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi; <sup>2</sup>Department of Biology and Chemical Engineering, Jingdezhen Comprehensive College, Jingdezhen 333000, Jiangxi; <sup>3</sup>College of Plant Science and Technology, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163319, Heilongjiang, China)

**Abstract:** This paper was to investigate the inheritance and variation of sensitivity to metalaxyl in *Phytophthora sojae*. Five *Phytophthora sojae* strains of Ps411, Ps126, Ps223, Hs6, PsSD isolated from different regions and asexual and sexual progenies of Ps411-4 were used and their sensitivity to metalaxyl was evaluated by the ratio of the growth rates on carrot agar medium amended with  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  metalaxyl to the growth rates on the same medium without metalaxyl. The sensitivity of *P. sojae* to metalaxyl varied with their origins. The sensitivity of *P. sojae* to metalaxyl also steadily inherited in three successive zoospore progenies but showed obvious variation in first generation. In 50 single-oospore descendants, the restraint rate of metalaxyl to hypha ranged 70.2% ~ 96.8%, with 5 higher, 4 lower, and 41 similar to parent. Results indicate the sensitivity of *P. sojae* to metalaxyl inherited steadily in zoospore progenies while varied obviously in single-oospore generation, and the character of *P. sojae* could be controlled by nuclear heterozygous genes.

**Key words:** *Phytophthora sojae*; Metalaxyl; Sensitivity

甲霜灵 (N-(2,6-dimethyl phenyl)-N-methoxy-acetyl alanine) 属苯酰胺类杀菌剂, 具有优良的保护、治疗和铲除作用, 是防治疫霉菌所致病害的特效药。但由于其作用位点单一, 随着长期大面积的施用, 疫霉菌对甲霜灵的抗性日益严重<sup>[1-4]</sup>。目前有关疫霉菌对甲霜灵产生抗性的遗传背景已有一些报道<sup>[5-8]</sup>。但关于我国大豆疫霉对甲霜灵抗性的遗传变异尚少有报道。以大豆疫霉为材料初步研究

了该菌对甲霜灵抗性的特点和遗传背景。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试菌株

供试大豆疫霉分离物为 Ps411 (黑龙江省同江市)、Ps126 (黑龙江省虎林市)、Ps223 (黑龙江省密山市)、Hs-6 (黑龙江省饶河县), 由黑龙江八一农垦大学植物免疫研究室提供; PsSD 由山东省农科院李

收稿日期: 2009-01-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 资助项目 (2002CD111406); 长江学者和创新团队发展计划资助项目 (200558); 黑龙江省自然科学基金资助项目 (TC2005-08)。

作者简介: 刘铜 (1978-), 男, 硕士, 研究方向为分子植物病理学。E-mail: liutongamy@sina.com。

通讯作者: 侯巨梅, 讲师。E-mail: amyliutong@163.com。

长松研究员惠赠。

1.2 供试药剂

95% 甲霜灵 (Metataxyl) 原药由温州鹿城农药厂生产。

1.3 单游动孢子无性系与单卵孢株群体的建立

按照侯巨梅等<sup>[9]</sup>的方法。

1.4 平板法测定供试菌株对甲霜灵敏感性

基础培养基为 CA,并制备含甲霜灵浓度为 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,1.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的平板 (CAM),以不含药剂培养基为对照,每菌株重复 2 次。从供试菌株的菌落边缘打取菌饼接种到培养基上,置于 25℃ 黑暗条件下培养 6 d 后,测定菌落直径,记录菌落形态。根据菌丝生长抑制率比较大豆疫霉菌株对甲霜灵的敏感性。参照马铃薯晚疫病菌对甲霜灵抗性的划分标准<sup>[10-11]</sup>,即在含药浓度为 1.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的平板上菌丝生长抑制率建立大豆疫霉对甲霜灵抗性的划分标准:丝生长抑制率大于 80% 为高度敏感菌株 (HS),大于 60% 而小于等于 80% 为敏感菌株 (S),大于

20% 而小于等于 60% 为中抗菌株 (MR),小于等于 20% 为高抗菌株 (HR)。此外,以在含药浓度为 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的 CA 平板上菌丝生长抑制率作为菌株对甲霜灵敏感性的参考。

2 结果与分析

2.1 大豆疫霉菌单游动孢子分离物对甲霜灵敏感性的测定

采用平板法测定单游动孢子分离物对甲霜灵的敏感性,根据菌丝生长抑制率确定菌株对甲霜灵的敏感性。结果表明 (表 1),被测菌株的单游动孢子分离物对甲霜灵的敏感性与各自亲本菌株基本一致。经方差分析,单孢后代群体菌株间及其与各自亲本菌株间对甲霜灵的敏感性均无显著差异。结果还发现来自不同地域的菌株对甲霜灵的敏感性存在差异,在测定的 5 株菌株中,Ps411, Ps126 和 Ps223 为高度敏感菌株,Hs6 和 PsSD 为敏感菌株。

表 1 大豆疫霉单游动孢子分离物菌株对甲霜灵的敏感性  
Table 1 Sensitivity to metalaxyl of single-zoospore culture of *P. sojae*

亲本菌株 Parental isolate	单孢株数 No. of culture	敏感性 Sensitivity/%			变异系数 CV/%	方差分析 Variance analysis		
		范围 Range	平均 $\bar{X}$	亲本菌株 Patent		F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Ps411	45	80.1 - 84.8	82.5	84.0	2.3	1.05	1.53	1.82
Ps126	50	80.5 - 85.3	82.9	82.2	1.9	0.95	1.48	1.74
Ps223	40	78.1 - 85.5	81.4	81.9	5.6	1.15	1.54	1.85
Hs6	50	72.2 - 76.3	74.3	72.6	3.5	1.02	1.48	1.74
PsSD	45	73.4 - 81.5	78.6	77.1	7.3	1.21	1.53	1.82

2.2 大豆疫霉无性后代对甲霜灵敏感性的遗传与变异

以野生型菌株 Ps411 的单游动孢子 Ps411-4 为亲本,建立其无性单孢后代群体 ZG<sub>1</sub>、ZG<sub>2</sub> 和 ZG<sub>3</sub>,测定单游动孢子后代菌株对甲霜灵的敏感性。结果表明无性单孢后代 ZG<sub>1</sub>、ZG<sub>2</sub> 和 ZG<sub>3</sub> 群体菌株对甲霜灵的敏感性与各自亲本菌株基本一致,均表现为高度敏感 (表 2),经方差分析,连续 3 代无性单孢后代群体菌株间及其与各自亲本菌株间对甲霜灵的敏感性均无显著差异。

2.3 大豆疫霉菌 Ps411 单卵孢子分离物对甲霜灵敏感性的测定

以野生型菌株 Ps411 的单游动孢子 Ps411-4 为

亲本,建立其自交有性后代群体 OG<sub>1</sub>,测定单卵孢子后代菌株对甲霜灵的敏感性。结果有性后代 OG<sub>1</sub> 群体中单卵孢株个体对甲霜灵的敏感性呈连续分布,发生显著变异,变化范围为 70.2% ~ 96.8%,变异系数为 10.2% (表 2)。方差分析表明,单卵孢株之间及其亲本菌株 Ps411-4 间,对甲霜灵的敏感性差异显著,其中 4 株显著低于亲本,5 株显著高于亲本,41 株与亲本相似。

结果表明:大豆疫霉菌对甲霜灵的敏感性在无性单游动孢子后代可以稳定遗传,而在自交单卵孢后代发生分离,说明这种遗传和变异由细胞核的杂合基因控制。供试菌株对甲霜灵都较敏感,其原因可能是我国还未大量应用甲霜灵防治该病。

表2 大豆疫霉菌株 Ps411-4 对甲霜灵敏感性在无性和有性后代的遗传

Table 2 Inheritance of sensitivity to metalaxyl in zoospore and selfed oospore progenies of isolate Ps411-4 of *P. sojae*

亲本菌株 Parental isolate	代别* Generation	株数 No. of culture	敏感性 Sensitivity/%			变异系数 CV/%	方差分析 Variance analysis		
			范围 Range	平均 $\bar{X}$	亲本菌株 Patent		F	F <sub>0.05</sub>	F <sub>0.01</sub>
Ps411-4	ZG1	40	85.4-89.3	86.3	83.9	3.5	1.19	1.54	1.85
	ZG2	40	84.8-92.3	87.5	85.7	3.8	1.25	1.54	1.85
	ZG3	40	86.4-95.6	90.2	85.3	4.7	1.37	1.54	1.85
	OG1	50	70.2-96.8	84.5	83.9	10.2	5.16**	1.48	1.74

\* ZG<sub>1</sub>、ZG<sub>2</sub>、ZG<sub>3</sub> 和 OG<sub>1</sub> 分别表示单游动孢子第一代、第二代、第三代和单卵孢第一代

\*\* 菌株对甲霜灵敏感性有极显著差异

\* ZG<sub>1</sub>、ZG<sub>2</sub>、ZG<sub>3</sub> 和 OG<sub>1</sub> stand for the first, second, third and single zoospore generation and the first selfed progeny.

\*\* The difference among sensitivity of strain to metalaxyl are very significant.

### 3 结论与讨论

有关疫霉菌对甲霜灵产生抗性的遗传背景已有一些报道<sup>[5-6,12-13]</sup>。大多数研究<sup>[6-7,14-15]</sup>认为疫霉菌对甲霜灵的抗性由细胞核基因控制,其抗药性性状在无性繁殖后代可以稳定遗传,而在有性生殖后代发生分离。

通过平板法对分离于不同地区的5个大豆疫霉菌对甲霜灵的敏感性和Ps411-4的连续3代单游动孢子无性系后代、1代单卵孢自交后代对甲霜灵抗性的遗传变异情况进行了研究,结果表明,分离自不同地域的菌株对甲霜灵的敏感性存在差异,供试菌株对甲霜灵的抗性类型在无性后代均可稳定遗传,而在自交后代发生分离现象,说明疫霉菌对甲霜灵的抗性由细胞核杂合基因控制。这一结果与已报道的疫霉菌对甲霜灵抗性遗传研究结果相似。

### 参考文献

- [1] Dowley L J. Factor effecting the survival of metalaxyl-resistant of *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary in Ireland [J]. *Potato Research*, 1987, 30: 473-475.
- [2] Daggett S S, Gotz E, Therrien C D. Phenotypic changes in population of *Phytophthora infestans* from eastern Germany [J]. *Phytopathology*, 1993, 83: 319-323.
- [3] 杨宇红, 冯兰香, 谢丙炎, 等. 番茄晚疫病菌对甲霜灵的抗性 [J]. *植物保护学报*, 2003, 30 (1): 57-62. (Yang Y H, Feng L X, Xie B Y, et al. The resistance of *Phytophthora infestans* isolates to metalaxyl [J]. *Journal of Plant Protection*, 2003, 30 (1): 57-62.)
- [4] Kadish D, Cohen Y. Estimation of metalaxyl sensitive and resistant isolates of *Phytophthora infestans* in the absence of metalaxyl [J]. *Plant Pathology*, 1988, 37: 558-564.
- [5] 高智谋, 郑小波, 陆家云. 苜蓿疫霉对甲霜灵抗性遗传研究 [J]. *南京农业大学学报*, 1997, 20 (3): 54-59. (Gao Z M, Zheng X B, Lu J Y. On inheritance of resistance of *phytophthora boehmeriae* to metalaxyl [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1997, 20 (3): 54-59.)
- [6] Chang T T, Ko W H. Resistance to fungicides and antibiotics in *Phytophthora parasitica*: genetic nature and used in Hybrid determination [J]. *Phytopathology*, 1990, 80 (12): 1414-1421.
- [7] Lucas J A, Greer G, Oudemans P V, et al. Fungicide sensitivity in somatic hybrids of *Phytophthora capsici* by protoplast fusion [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1990, 36: 175-187.
- [8] Gisi U, Cohen Y. Resistance to phenylamide fungicides: a case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1996, 34: 549-572.
- [9] 侯巨梅, 刘铜, 左豫虎. 大豆疫霉菌生物学性状的遗传与变异 [J]. *大豆科学*, 2007, 26 (6): 918-921. (Hou J M, Liu T, Zuo Y H. Inheritance and variation of biological characteristics of *Phytophthora sojae* [J]. *Soybean Science*, 2007, 26 (6): 918-921.)
- [10] Marshall-Farra K D, McGrath M, James R V, et al. Characterization of *Phytophthora infestans* in Wisconsin from 1993 to 1995 [J]. *Plant Disease*, 1998, 82 (4): 434-436.
- [11] Perez W, Gamboa M, Coca R, et al. Characterization of *Phytophthora infestans* populations in Peru [R]. The International Potato Center, CIP Program Report 1997-98. 1993, 31-38.
- [12] 王晓鸣, Schmitthenner A F, 马书君. 黑龙江省大豆疫霉根腐病调查与病原菌分离 [J]. *植物保护*, 1998, 24 (3): 9-11. (Wang X M, Schmitthenner A F, Ma S J. Investigations and pathogen isolation of *phytophthora root rot* of soybean in Heilongjiang Province [J]. *Plant Protection*, 1998, 24 (3): 9-11.)
- [13] Shattock R C. Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans* [J]. *Plant Pathology*, 1988, 37 (1): 4-11.
- [14] Hildebrand A A. A root and stalk rot of soybean caused by *Phytophthora megasperma* var. *sojae* [J]. *Phytopathology*, 1965, 55 (11): 1277-1279.
- [15] Lee T Y, Fry W E. Genetic analysis of metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans* [J]. *Phytopathology*, 1997, 87: 57.