

## 大豆种质对大豆疫霉菌株 Pm8 的抗性分析

任龙翠<sup>1</sup>, 张宝强<sup>1</sup>, 武晓玲<sup>1</sup>, 赵晋铭<sup>1</sup>, 王源超<sup>2</sup>, 盖钧镒<sup>1</sup>, 邢 邯<sup>1</sup>

(1. 南京农业大学 大豆研究所 国家大豆改良中心, 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京; 2. 南京农业大学 农业部病虫监测与治理重点开放实验室, 江苏 南京 210095)

**摘 要:** 采用黄化苗下胚轴接种法, 利用大豆疫霉菌株 Pm8 对来自不同地区的 355 份大豆品种(系)进行疫霉根腐病接种鉴定。结果表明: 96 份材料表现为抗病类型, 占鉴定总数的 27%, 106 份表现为中间类型, 占总数的 30%。在所鉴定的品种(系)中, 北京、浙江等省(市)抗大豆疫霉菌株 Pm8 的资源比较丰富; 吉林、四川等省的抗性资源较贫乏。研究结果为大豆抗病育种选择亲本和利用品种布局进行大豆疫霉根腐病生态控制提供了依据。

**关键词:** 大豆; 大豆疫霉根腐病; 大豆疫霉; 抗病性

**中图分类号:** S432.2<sup>+</sup>1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-9841(2010)01-0077-03

## Resistance of Soybean Germplasm to *Phytophthora sojae* Pm8

REN Long-hui<sup>1</sup>, ZHANG Bao-qiang<sup>1</sup>, WU Xiao-ling<sup>1</sup>, ZHAO Jin-ming<sup>1</sup>, WANG Yuan-chao<sup>2</sup>, GAI Jun-yi<sup>1</sup>, XING Han<sup>1</sup>

(1. Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University, National Center for Soybean Improvement, National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement; 2. Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Insects, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

**Abstract:** *Phytophthora* root rot caused by *Phytophthora sojae* is a destructive disease for soybeans [*Glycine max* (L.) Merr.] throughout the soybean production regions. Utilization of resistant varieties is the most economical and environmentally safe method for controlling disease. Three hundred and fifty-five soybean cultivars or lines from different areas were evaluated for their responses to strain Pm8 of *P. sojae* using the hypocotyls inoculation technique to the etiolated seedlings. Of all cultivars or lines, 96 were resistant and 106 were intermediate to Pm8. The resistant resources to Pm8 from Beijing and Zhejiang Provinces were rich, while Jilin, Sichuan Provinces were poor. The results of the study provided the useful information for breeding of resistant varieties and ecological control for *Phytophthora* root rot.

**Key words:** Soybean; *Phytophthora* root rot; *P. sojae*; Disease resistance

大豆疫霉根腐病是由大豆疫霉引起的严重影响大豆生产的毁灭性病害之一, 可在大豆的任何生育期进行侵染并造成危害, 现广泛分布于世界各大豆产区<sup>[1-2]</sup>。目前, 该病已在我国一些大豆主产区发生和为害, 并在局部地区造成较大损失。应用抗病品种是控制大豆疫霉根腐病最经济有效的方法。大豆疫霉变异速度快, 预防较困难, 常使抗病品种在推广 8~10 a 就被新的生理小种克服, 因此拓宽抗源显得尤为重要<sup>[3]</sup>。

该文利用大豆疫霉菌株 Pm8, 采用黄化苗下胚轴接种法对来自于中国、美国以及日本的 355 份大豆品种(系)进行了接种鉴定, 筛选出含有抗大豆疫霉菌株 Pm8 的抗源, 为大豆疫霉根腐病的防治和抗

病品种的选育奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

1.1.1 供试大豆 材料共 355 份, 其中 347 份大豆品种(系)分别来自全国 24 个省市, 3 份来自美国, 5 份来自日本, 以及 14 个鉴别寄主, 由南京农业大学国家大豆改良中心提供。

1.1.2 供试菌株 大豆疫霉菌株 Pm8, 由南京农业大学农业部病虫监测与治理重点开放实验室提供。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 培养基制备 采用利马豆培养基(LBA), 参照郑小波的方法<sup>[4]</sup>制备。

收稿日期: 2009-09-15

基金项目: 农业部行业专项资助项目(nyhyzx07-053); “长江学者和创新团队发展计划”资助项目(PCSIRT); 江苏省科学技术厅高新技术资助项目(BG2006308)。

第一作者简介: 任龙翠(1988-), 男, 本科, 研究方向为大豆遗传与分子育种。E-mail: phantomrlh@yahoo.com.cn。

通讯作者: 邢邯, 教授。E-mail: hanx@njau.edu.cn。

1.2.2 大豆植株培养 将待测大豆品种(系)播种于塑料花盆中(直径为 20 cm,基质为蛭石),将花盆置于纸箱内(长×宽×高为 510 cm×235 cm×420 cm),用胶带封口避光,置于 25 ℃ 生长室,从播种之日起生长 5 d,培养豆苗长至 10 cm 左右。

1.2.3 接种 致病性测定采用黄化苗(Etiolated Seedlings)下胚轴接种法<sup>[5-6]</sup>。取生长 5 d 或已达标的植株在弱光条件下进行接种,将豆苗拔出,用自来水冲去根部的蛭石颗粒,然后用双面胶固定于塑料托盘中。将培养 7 d 的大豆疫霉连同琼脂划成 2 mm×2 mm 小块,用手术刀将菌丝块移至豆苗真叶下 2 cm 处,菌丝面紧贴茎部,每个鉴别寄主接种 6 株。用湿润毛巾覆盖于豆苗根部保湿,托盘用保鲜膜封住,然后将托盘至于纸箱内,胶带封口避光,置于生长室,温度控制在 25 ℃ 左右。

1.2.4 感病率调查及抗性评价 接种 48 h 后调查发病情况。感病植株接种后接种部位很快发生水渍状病斑并从接种部位腐烂。抗病植株接种后无变化或接种部位局部变褐,植株继续生长。根据大豆疫霉根腐病抗性评价标准,接种后如有 70% 或以上的植株死亡则为感病类型(Susceptible, S),70% 或以上植株正常生长则为抗病类型(Resistant, R),死亡植株在 31%~69% 为中间类型(Intermediate, I)<sup>[7]</sup>,3 次重复。

2 结果与分析

2.1 Pm8 毒力公式的鉴定

采用 14 个已知抗病基因的鉴别寄主对大豆疫霉菌株 Pm8 进行毒性鉴定。大豆疫霉菌株 Pm8 对 8 个抗病基因 *Rps1a*、*Rps1d*、*Rps2*、*Rps3c*、*Rps4*、*Rps5*、*Rps6*、*Rps7* 表现感病,其毒力公式为 1a,1d,2,3c,4,5,6,7,表明该菌株毒性较强(表 1)。

表 1 大豆疫霉菌株 Pm8 的毒力鉴定

Table 1 Virulence types of Pm8 of *Phytophthora sojae*

鉴别寄主 Differential host	基因型 Genotypes	反应类型 Reaction type
Williams		S
Harlon	1a	S
Harosoy 13xx	1b	R
Williams 79	1c	R
P I 103091	1d	S
Williams 82	1k	R
L76-1988	2	S
Chapman	3a	R
PR I 46-36	3b	R
PR I 45-48	3c	S
L85-2352	4	S
L85-3059	5	S
Harosoy 62xx	6	S
Harosoy	7	S

2.2 抗病资源的分布

供试 355 份大豆品种(系)对大豆疫霉菌株 Pm8 的反应类型见图 1。感病类型 153 份,占 43%,中间类型 106 份,占 30%,抗病类型有 96 份,占 27%。

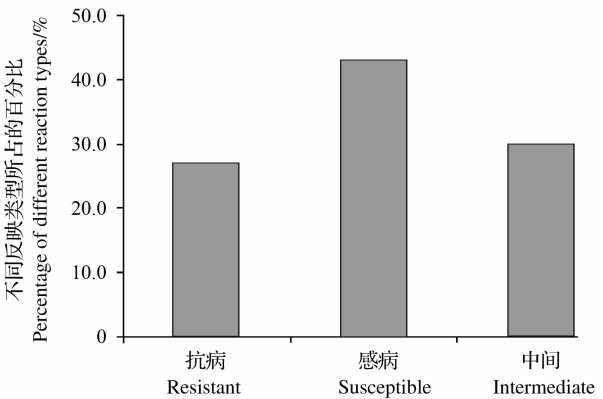


图 1 355 份大豆种质资源对大豆疫霉菌株 Pm8 的反应类型

Fig. 1 Reaction types of 355 soybean germplasm to *Phytophthora sojae* of Pm8

在鉴定的材料中,宁夏、浙江、北京的材料中抗病品种(系)的比例较高,分别是 100%、55%、48%;广州、福建、云南的材料中抗病品种(系)比例较低,分别是 14%、13%、13%;四川、山西、陕西、吉林的材料中无抗病品种(系)。在选取的东北品种(系)中,吉林省的品种(系)对大豆疫霉菌株 Pm8 全部表现为感病,而黑龙江和辽宁的感病品种(系)比例分别为 50% 与 33%。台湾的 4 个大豆品种(系)中,AGS248、AGS245、AGS91 对大豆疫霉菌株 Pm8 表现为感病,而 AGS153 则对该菌株表现为抗病。美国的 3 个品种(系)中,莫索(依)、美-2 对大豆疫霉菌株 Pm8 表现为感病,富兰克林表现为中间类型。日本的 5 个品种(系)中,表现为感病类型的品种(系)只有 1 个,其余 4 个品种(系)都表现为中间类型(图 2)。由此可见,大豆抗疫霉菌株 Pm8 资源存在明显的地区差异。

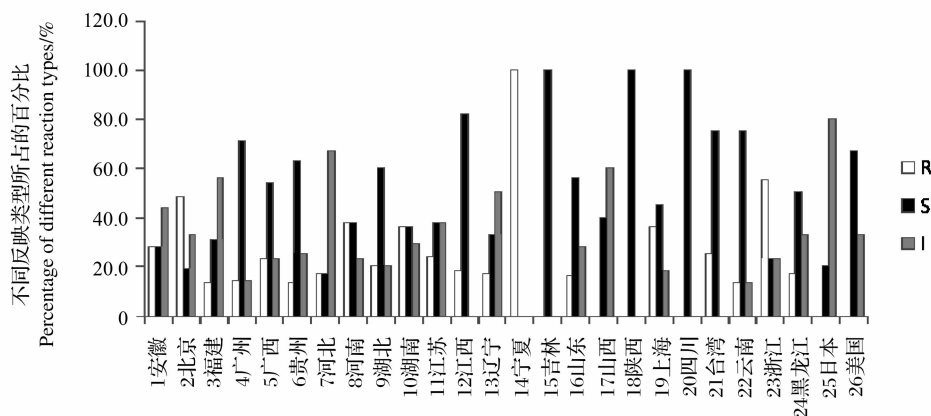
3 讨论

3.1 大豆疫霉根腐病抗性鉴定方法

采用黄化苗(Etiolated Seedlings)下胚轴接种法,与传统的下胚轴创伤接种法相比可节省 4~5 d 的时间,无需创伤并且所占空间较小,试验环境更易控制,接种后采用保鲜膜封口,可确保适宜的湿度,节省了工作时间,同时也提高了工作效率。

3.2 抗病基因资源的分布

国内外对我国大豆资源抗疫霉根腐病筛选结果



1. Anhui, 2. Beijing, 3. Fajian, 4. Guangzhou, 5. Guangxi, 6. Guizhou, 7. Hebei, 8. Henan, 9. Hubei, 10. Hunan, 11. Jiangsu, 12. Jiangxi, 13. Liaoning, 14. Ningxia, 15. Jilin, 16. Shandong, 17. Shanxi, 18. Shaanxi, 19. Shanghai, 20. Sichuan, 21. Taiwan, 22. Yunnan, 23. Zhejiang, 24. Heilongjiang, 25. Japan, 26. USA

图2 不同地区的大豆种质资源对大豆疫霉菌株 Pm8 的反应分布

Fig. 2 Reaction types of soybean germplasm from different areas to *Phytophthora sojae* of Pm8

表明,我国存在丰富的抗性资源,但抗性资源丰富度和多样性在地理分布上存在差异。Lohnes 等和 Kyle 等分别利用 4 个和 10 个生理小种对引自我国中部和南部的大豆种质资源进行了抗病性评价,结果表明,我国抗大豆疫霉根腐病资源丰富,其中安徽、江苏、山东和河南的抗性资源更为丰富<sup>[8-9]</sup>。王晓鸣等研究认为长江流域大豆抗性种质比率最高<sup>[10]</sup>。朱振东等研究结果表明,河南、安徽品种(系)中存在较丰富的抗性多样性<sup>[11]</sup>。孙石等用 7 个具有不同毒力公式的大豆疫霉菌株接种评价了 96 份黄淮海大豆资源,证明了我国黄淮地区大豆存在丰富的抗性多样性<sup>[12]</sup>。该研究利用大豆疫霉菌株 Pm8 对来自于国内外的 355 份大豆品种(系)进行鉴定,结果表明,我国存在丰富的抗性资源,但抗性资源的分布呈现明显的地区差异,北京、浙江、安徽等省市的抗病资源比较丰富,四川、山西、陕西、吉林等省的抗性资源比较匮乏。总体来说,长江流域抗性资源比较丰富,东北、西北以及南部沿海地区抗性资源比较匮乏。这种抗性资源分布的地区差异可能与品种(系)来源地的生态条件有关(如降雨、光照、土壤等因素),也可能与品种选育过程中使用的亲本抗性有关。

## 参考文献

- [1] Schmitthenner A F. Problems and progress in control *Phytophthora* root rot of soybean[J]. Plant Disease, 1985, 69: 362-368.
- [2] Bhattacharyya M K, Narayanan N N, Gao H, et al. Identification of a large cluster of coiled coil- nucleotide binding site- leucine rich repeat- type genes from the *Rpsl* region containing *Phytophthora* resistance genes in soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111: 75-86.
- [3] Leitz R A, Hartman G L, Pedersen W L, et al. Races of *Phytophthora sojae* on soybean in Illinois[J]. Plant Disease, 2000, 84: 487.
- [4] 郑小波. 疫霉菌及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 81-86. (Zheng X B, Phyphthora and technique[M]. Beijing: Agricultural Press, 1997: 81-86.)
- [5] Gijzen M, MacGregor T, Buzzell R, et al. Temperature induced susceptibility to *Phytophthora sojae* in soybean isolines carrying different *Rps* genes[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1996, 48: 209-215.
- [6] Dong S, Qutob D, Tedman Jones J, et al. The *Phytophthora sojae* avirulence locus Avr3c encodes a Multi- copy RXLR effector with sequence polymorphisms among Pathogen strains[J]. PLoS One, 2009, 4(5): e5556.
- [7] Kyle D C, Nicke H C D, Nelson R L, et al. Response of soybean accessions from provinces in southern China to *Phytophthora sojae* [J]. Plant Disease, 1998, 82: 555-559.
- [8] Lohnes D G, Nicke H C D, Schmitthermer A F. Origin of soybean alleles for *Phytophthora* resistance in China[J]. Crop Science, 1996, 36: 1689-1692.
- [9] Kyle D C, Nicke H C D, Nelson R L, et al. Response of soybean accessions from provinces in southern China to *Phytophthora sojae* [J]. Plant Disease, 1998, 82: 555-559.
- [10] 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研究[J]. 中国植物病理学报, 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 in China[J]. Chinese Journal of Plant Pathology, 2001, 31(4): 324-329.)
- [11] 朱振东, 霍云龙, 王晓鸣, 等. 大豆疫霉根腐病抗源筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(1): 24-30. (Zhu Z D, Huo Y L, Wang X M, ed. Screening for resistance source to *Phytophthora* root rot in soybean [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2006, 7(1): 24-30.)
- [12] 孙石, 赵晋铭, 武晓玲, 等. 黄淮海地区大豆种质对疫霉根腐病的抗性分析[J]. 大豆科学, 2008, 27(3): 465-470. (Sun S, Zhao J M, Wu X L, ed. Resistance of soybean germplasm to *Phytophthora* in Huanhuai Valley[J]. Soybean Science, 2008, 27(3): 465-470.)