

大豆品种对四种腐霉菌的抗性研究

魏 崴¹, 李文滨¹, 韩英鹏¹, 唐晓飞², 楼兵干³

(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, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 浙江大学 生物技术研究所, 浙江 杭州 310029)

摘 要:采用种子腐烂测试法, 用对大豆有致病性的 4 种腐霉菌对 83 个大豆栽培品种进行抗性鉴定。在参试材料中, 有抗 1 种腐霉菌的材料, 也有同时抗两 2 种以上腐霉菌的品种, 并获得 4 个对 4 种腐霉菌都具有抗性的品种; 对于单个腐霉菌而言, 抗性材料数量不同。对于 *P. aphanidermatum* 表现抗性的材料有 19 个, 占供试材料的 22.3%; 对 *P. sylvaticum* 表现为高抗的材料有 34 份, 占供试材料的 41.0%; 对 *P. irregulare* 表现为高抗的材料有 12 份, 占供试材料的 14.5%; 对 *P. ultimum* 表现为高抗的材料有 32 份, 占供试材料的 38.6%。在参试品种中, 以抗 *P. sylvaticum* 和 *P. ultimum* 的材料较多, 有 20 个品种, 占参试品种的 24.1%, 这表明在现有大豆品种资源中有较丰富的抗源。

关键词:大豆; 腐霉菌; 抗性鉴定

中文分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841 (2010) 06-0971-05

Identification of Resistance to Four *Pythium* Species in Soybean Cultivars

WEI Lai¹, LI Wen-bin¹, HAN Ying-peng¹, TANG Xiao-fei², LOU Bing-gan³

(1. Key Laboratory of National Education Department, Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang; 2. Soybean Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang; 3. Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, Zhejiang, China)

Abstract: *Pythium* is an important pathogenic fungi to many plants, and *Pythium* root rot is found in all soybean-producing regions of the world. However, only a few cultivars are known as resistant to *Pythium*. Screening resistant germplasm is the premise for soybean *Pythium* resistant breeding. Seed rot (SR) test were used to identify the resistance of 83 soybean cultivars to four *Pythium* species respectively. Results showed that there are cultivars which have resistance to one kind of *Pythium*, and there also have cultivars which have resistance to two or three kinds of *Pythium*. In this test, four cultivars had been identified to have resistance to four kinds of *Pythium*. Numbers of resistant cultivars to each *Pythium* varied greatly, 19, 34, 12 and 32 ones were resistant to *P. aphanidermatum*, *P. sylvaticum*, *P. irregulare* and *P. ultimum*, accounting for 22.3%, 41.0%, 14.5% and 38.6% of tested cultivars, respectively. Among all cultivars in the test, twenty ones were found resistant to both *P. sylvaticum* and *P. ultimum*, accounting for 24.1% of the total. All these results suggest there existing *Pythium* resistant soybean germplasm in Heilongjiang Province.

Key words: Soybean, *Pythium*, Resistance identification

单种腐霉菌能够导致植物发生病害, 但有时也能从一个植株上分离出几种腐霉菌^[1]。腐霉菌侵染的典型症状包括萌发前种子的软烂、苗期幼苗出土前后的倒伏以及和快速生长期的下胚轴变色与根部腐烂^[1-2]。

大豆腐霉菌根腐病在全世界各个大豆产区都曾经发现过, 经常被提为复合腐霉菌^[3]。复合腐霉菌导致了美国大豆幼苗的一系列问题, 而且这种病害在早播、少耕和湿冷的条件中表现得更加严

重^[4]。早期的研究证明了一定数量的腐霉菌种可能对大豆致病^[5-7]。Van der Plaats-Niterink 报道了一些腐霉菌包括 *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *P. irregulare* Buisman, *P. oligandrum* Drechsler, *P. ultimum* Trow, *P. vexans* de Bary, 和 group HS (hyphal swellings) 都在大豆根上分离得到^[8]。Bates 等证明了这些腐霉菌对大豆致病^[9]。另外, Kirkpatrick 等根据植物萌发和根部褪色证明了其分离的 208 个腐霉菌选择性分离群体中的 47% 对大豆具有中高致

收稿日期: 2010-11-18

基金项目: 引进国际先进农业科学技术计划资助项目 (2006-G5); 国家重点基础研究发展计划资助项目 (2009CB118400)。

第一作者简介: 魏崴 (1985-), 女, 在读硕士, 研究方向为大豆遗传育种。E-mail: wei_ada@live.cn。

通讯作者: 李文滨, 教授, 博士生导师。E-mail: wenbinli@yahoo.com。

病力^[10]。Zhang 等指出在玉米-大豆的轮作田里所收集到的腐霉菌种群中有更高的几率分离到对 2 种作物都致病的腐霉菌^[7]。

评价腐霉菌致病力的常用方法为直接测试法,即将种子放置在含有腐霉菌的培养皿上,然后测定腐霉菌导致的种子腐烂率^[4-7,11]。现利用种子腐烂测试法,通过 4 种已知对大豆致病的腐霉菌对 83 个春大豆品种进行测定,旨在筛选对 4 种腐霉菌都具有抗性的材料,为大豆抗病育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 大豆材料 选用 83 个栽培大豆品种(系),其中 20 份由东北农业大学农学院大豆所国家重点实验室提供,63 份由黑龙江省农科院大豆所育种二室提供。

1.1.2 腐霉菌菌种 采用 *P. aphanidermatum*, *P. irregulare*, *P. sylvaticum* 和 *P. ultimum* 4 种腐霉,由浙江大学农业与生物技术学院应用生物科学系楼兵干老师提供。

菌种在 CMA 培养基上常温培养,每 4 个月继代 1 次。

1.2 试验方法

采用种子腐烂测试法^[5]。

1.2.1 大豆种子准备 所有大豆种子都用 10% 的次氯酸钠进行表面消毒 1 min,然后去离子水中浸泡 12 h。

1.2.2 侵染测试 从培养腐霉菌的 V8 培养基上取 1 个 5 mm² 的小块,放在包含 20 mL WA (water agar) 的直径 9 cm 培养基的平皿中心。3 d 后,将 10 粒大豆种子均匀的放在距离边缘 2 cm 左右的位置。然后将平皿置于生长箱(20℃,12 h 光照)中,7 d 后记录每平皿中腐烂的种子数。试验采用双因素多重区组设计,每个大豆品种,每个菌种均设 4 次重复,以不接菌培养基为对照。整体试验重复 1 次,并记录腐霉菌造成的种子腐烂百分数。其中,种子腐烂率 < 30%,记为抗病;种子腐烂率 31% ~ 69%,记为中抗;种子腐烂率 > 70%,记为感病。

1.3 数据分析

采用 SAS (Version 6. 12, SAS Institute Inc. Cary, NC) 中的多因素随机区组方差分析,并且每

次重复实验的数据都经过单独和整合的分析。

2 结果与分析

2.1 大豆品种对腐霉菌抗性效应的方差分析

由表 1 可知,大豆品种、腐霉菌菌种以及大豆品种与腐霉菌相互作用对种子腐烂率有显著影响。

表 1 大豆品种对腐霉菌抗性效应的方差分析

Table 1 Mean squares from analysis of variance for the effect of *Pythium* species, soybean cultivar, and their interactions on seed rot (SR)

致变量	自由度	均方
Source of variance	DF	Mean square
试验 Trial	1	0.41
重复 Rep	3	1.522 5
品种 Cultivar (C)	82	189.944 8 **
腐霉菌种 <i>Pythium</i> species (S)	3	1 076.052 **
C × S	246	33.924 8 **
Error	1 989	3.319 3

** and * indicate significant at 0.01 and 0.05 probability levels, respectively.

2.2 大豆品种对腐霉菌的抗性反应

从表 2 中可知,在参试的 83 个大豆品种中,对 4 种腐霉菌都具有抗性的品种有 4 个占供试材料的 4.8%,它们是灰不支黑豆,黑农 55, MN1902 和嫩丰 16,其平均种子腐烂率分别为 6.9%、11.6%、13.4% 和 16.9%。对于 4 种腐霉菌都为高感的材料共有 11 个,占供试材料的 13.3%,它们是垦丰 5,垦丰 18,悦农 58111,黑河 38,垦丰 14,嫩丰 20,绥 07-703,绥农 29,疆封 6753M,绥农 27 和安 06-51。在被测的 83 个大豆品种中 61.4% 的品种对 *P. aphanidermatum* 表现为高感病性,对 *P. irregulare*、*P. ultimum*、*P. sylvaticum* 感病品种的比例分别为 42.2%、24.1% 和 21.7%。而对 *P. irregulare*、*P. aphanidermatum*、*P. ultimum* 和 *P. sylvaticum* 表现为抗性的品种比例分别为 14.5%、22.3%、38.6% 和 41.0%。

大豆品种对 4 种腐霉菌的表现不一,例如绥 sp064068 对 *P. aphanidermatum* 表现为高感病性,对 *P. sylvaticum* 和 *P. ultimum* 则表现为抗性,而对 *P. irregulare* 则表现为中间类型。另外,只有抗线 8 对 4 种腐霉菌都表现为中间型。

表 2 腐霉菌致大豆品种的种子腐烂率结果

Table 2 Differences in seed rot (SR) of four *Pythium* spp. on 83 soybean cultivars

品种名称 Cultivar	<i>P. aphanidem</i>	<i>P. sylvaticum</i>	<i>P. irregulare</i>	<i>P. ultimum</i>	Mean
合丰 55 Hefeng55	100.0 a	35.0 d	46.3 c	45.0 b	56.6 d
嫩丰 20 Nenfang20	100.0 a	98.8 a	91.3 a	86.3 a	94.1 a
绥农 24 Suinong24	98.8 a	66.3 b	43.8 c	55.0 b	65.9 cd
绥 08BC1F5465 Sui08BC1F5465	98.8 a	63.8 b	61.3 b	77.5 a	75.3 c
绥 08BC1F5420 Sui08BC1F5420	100.0 a	88.8 a	73.8 ab	50.0 b	78.1 b
绥 SP064068 Sui SP064068	82.5 b	27.5 e	47.5 c	23.8 c	45.3 ef
绥农 30 Suinong30	100.0 a	83.8 a	71.3 b	42.5 c	74.4 c
绥 06-8529 Sui06-8529	98.8 a	32.5 d	38.8 c	20.0 c	47.5 e
绥农 22 Suinong22	100.0 a	17.5 de	22.5 cd	27.5 c	41.9 f
绥 07-856 Sui07-856	100.0 a	18.8 de	70.0 b	16.3 d	51.3 e
绥农 26 Suinong26	100.0 a	78.8 ab	85.0 a	88.8 a	88.1 b
绥 03-3710 Sui03-3710	100.0 a	90.0 a	85.0 a	57.5 b	83.1 b
绥 07-7033 Sui07-7033	96.3 a	47.5 c	61.3 b	20.0 c	56.3 de
垦丰 10 Kenfeng10	100.0 a	36.3 d	65.0 b	31.3 c	58.1 d
垦丰 23 Kenfeng23	100.0 a	52.5 c	58.8 b	55.0 b	66.6 cd
垦丰 21 Kenfeng21	100.0 a	35.0 d	46.3 c	30.0 c	52.8 e
垦丰 13 Kenfeng13	93.8 a	73.8 b	18.8 d	6.3 d	48.1 e
垦丰 15 Kenfeng15	95.0 a	81.3 a	51.3 b	36.3 c	65.9 cd
垦丰 7 Kenfeng7	100.0 a	30.0 d	41.3 c	16.3 d	46.9 e
垦丰 16 Kenfeng16	100.0 a	76.3 b	40.0 c	33.8 c	62.5 d
吉育 102 Jiyu102	100.0 a	57.5 bc	62.5 b	65.0 b	71.3 c
LAmBER LAmBER	100.0 a	38.8 cd	76.3 ab	28.8 c	60.9 d
绥 05-7046 Sui05-7046	91.3 a	65.0 b	83.8 a	40.0 c	70.0 c
绥农 29 Suinong29	100.0 a	88.8 a	97.5 a	83.8 a	92.5 a
绥 07-536 Sui07-536	100.0 a	43.8 c	70.0 b	38.8 c	63.1 d
绥 08BC1F5405 Sui08BC1F5405	100.0 a	27.5 d	86.3 a	66.3 b	70.0 c
合辐 04-4 Hefu04-4	100.0 a	43.8 c	40.0 c	28.8 c	53.1 e
疆封 6753M Jiangfeng6753M	100.0 a	85.0 a	80.0 a	98.8 a	90.9 a
悦农 58111 Yuenong58111	100.0 a	100.0 a	98.8 a	100.0 a	99.7 a
绥 07-703 Sui07-703	100.0 a	97.5 a	98.8 a	80.0 a	94.1 a
绥农 25 Suinong25	100.0 a	43.8 c	36.3 c	28.8 c	52.2 e
绥农 27 Suinong27	97.5 a	78.8 ab	81.3 a	90.0 a	86.9 b
垦丰 25 Kenfeng25	100.0 a	67.5 b	56.3 b	32.5 c	64.1 d
垦丰 17 Kenfeng17	97.5 a	93.8 a	47.5 c	40.0 c	69.7 c
垦丰 5 Kenfeng5	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
垦丰 26 Kenfeng26	100.0 a	68.8 b	41.3 c	25.0 c	58.8 d
垦丰 9 Kenfeng9	80.0 b	7.5 e	13.8 d	7.5 d	27.2 h
东农 47 Dongnong47	100.0 a	62.5 b	70.0 b	35.0 c	66.9 cd
垦丰 20 Kenfeng20	87.5 a	12.5 e	26.3 c	8.8 d	33.8 g
垦丰 18 Kenfeng18	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
垦丰 14 Kenfeng14	100.0 a	91.3 a	100.0 a	100.0 a	97.8 a

(续表 2)

品种名称 Cultivar	<i>P. aphanidem</i>	<i>P. sylvaticum</i>	<i>P. irregulare</i>	<i>P. ultimum</i>	Mean
Mo-1	100.0 a	16.3 de	75.0 ab	16.3 d	51.9 e
龙品 03-142 Longpin03-142	100.0 a	65.0 b	85.0 a	28.8 c	69.7 c
S-1390	100.0 a	63.8 b	95.0 a	65.0 b	80.9 b
黑河 38 Heihe38	100.0 a	100.0 a	100.0 a	98.8 a	99.7 a
合丰 52 Hefeng52	47.5 d	21.3 de	57.5 b	28.8 c	38.8 fg
安 06-51 An06-51	82.5 ab	70.0 b	78.8 a	83.8 a	78.8 b
灰不支黑豆 Huibuzhiheidou	13.8 fg	5.0 e	0.0 d	8.8 d	6.9 i
秣食豆 Moshidou	35.0 e	0.0 e	47.5 c	7.5 d	22.5 h
抗线 8 Kangxian8	55.0 cd	32.5 d	47.5 c	51.3 b	45.6 ef
安 05-1330 An05-1330	13.8 fg	63.8 b	100.0 a	97.5 a	68.8 c
意大利 2 号 Yidali2hao	13.8 fg	30.0 d	73.8 ab	51.3 b	42.2 f
skgua-2	55.0 cd	61.3 b	80.0 a	78.8 a	68.8 c
MN1902	16.3 f	5.0 e	12.5 d	20.0 c	13.4 i
M101	16.3 f	10.0 e	53.8 b	61.3 b	35.3 fg
绥 08BC1F5227 Sui08BC1F5227	17.5 f	12.5 e	45.0 c	18.8 d	23.4 h
绥农 23 Suinong23	11.3 fg	12.5 e	45.0 c	21.3 c	22.5 h
意大利-2 Yidali-2	13.8 fg	8.8 e	55.0 b	52.5 b	32.5 g
Dekafast	16.3 f	2.5 e	45.0 c	20.0 c	20.9 h
M2	33.8 e	11.3 e	46.3 c	40.0 c	32.8 g
Skyua-1	48.8 d	51.3 c	91.3 a	77.5 a	67.2 cd
绥 06-8143 Sui06-8143	71.3 b	63.8 b	91.3 a	78.8 a	76.3 c
绥农 31 Suinong31	18.8 f	13.8 e	48.8 bc	100.0 c	27.5 h
嫩 06-8790 Nen06-8709	10.0 g	7.5 e	38.8 c	23.8 c	20.0 h
绥 07-1389 Sui07-1389	67.5 bc	56.3 c	82.5 a	62.5 b	67.2 cd
绥 07-8 Sui07-8	25.0 ef	30.0 d	77.5 a	37.5 c	42.5 f
绥 05-7418 Sui05-7418	6.3 g	8.8 e	33.8 c	16.3 d	16.3 i
绥 04-5147 Sui04-5147	3.8 g	0.0 e	10.0 d	38.8 c	13.1 i
绥 06-8794 Sui06-8794	30.0 e	23.8 d	60.0 b	88.8 a	50.6 e
黑农 55 Heinong55	1.3 g	2.5 e	20.0 d	22.5 c	11.6 i
嫩丰 16 Nenfeng16	12.5 fg	12.5 e	26.3 c	16.3 d	16.9 i
北交 05-8019 Beijiao05-8019	27.5 e	31.3 d	68.8 b	55.0 b	45.6 ef
宁豆 4 号 Ningdou4hao	28.8 e	17.5 de	30.0 c	46.3 b	30.6 g
沈农 101 Shennong101	37.5 de	50.0 c	76.3 ab	66.3 b	57.5 d
绥 07-361 Sui07-361	46.3 d	6.3 e	52.5 b	31.3 c	34.1 g
绥 06-8210 Sui06-8210	100.0 a	55.0 c	100.0 a	83.8 a	84.7 b
绥 07-405 Sui07-405	53.8 cd	6.3 e	27.5 c	6.3 d	23.4 h
绥 05-6022 Sui05-6022	58.8 c	32.5 d	92.5 a	28.8 c	53.1 e
绥 0813C1F5030 Sui0813C1F5030	65.0 c	26.3 d	67.5 b	32.5 c	47.8 e
绥 06-8113 Sui06-8113	86.3 a	22.5 d	57.5 b	35.0 c	50.3 e
绥农 18 Suinong18	97.5 a	21.3 de	70.0 b	17.5 d	51.6 e
绥 08BC2F5350 Sui08BC2F5350	77.5 b	31.3 d	42.5 c	18.8 d	42.5 f
绥 08BC1F5058 Sui08BC1F5058	67.5 bc	12.5 e	22.5 cd	17.5 d	30.0 gh

多重比较中同一字母表示对应的大豆品种在 $P=0.05$ 时差异不显著。

Means followed by the same letter in a column under *Pythium* spp. or soybean cultivar were not significantly different at $P=0.05$.

4 讨论

试验中发现 4 个大豆品种对 4 种腐霉菌都具有抗性,11 个品种对 4 种腐霉菌都表现为高感病性,其它大豆品种对 4 种菌种表现不一。另外,只有抗线 8 对 4 种腐霉菌都表现为中间型。这些差异主要是由品种的种质特性决定的。在供试大豆品种中,有专一抗一种腐霉菌的品种,又有抗几个腐霉菌的品种,其中同时抗 *P. sylvaticum* 和 *P. ultimum* 材料有 20 个,占参试品种的 24.1%,这对大豆抗腐霉病育种工作中确定亲本选配和基因导入、目标基因聚合的方案具有重要的指导意义。

腐霉菌是一种危害性极强的土传真菌病害,国际上已经证实了一些菌种对大豆致病^[5-7]。国内目前也已经在一些地区发现了对大豆致病的腐霉菌菌种^[12-13]。而关于大豆腐霉病抗源筛选的研究尚无报道。国际上也只有 Bates 等^[9]报道了几个品种对腐霉菌的反应。该研究结果表明,不同大豆品种对每个菌种的表现不一,菌种对大豆的致病性也有显著差异。其中 *P. aphanidermatum* 对参试品种的致病性最强,超过 60% 品种对其表现感病。由此看出,腐霉菌对我国大豆生产造成的潜在威胁是不能忽视的,应当积极拓宽抗源筛选,挖掘抗性基因,创制适宜当前大豆生产的新种质和新品种,提高生产上品种的抗病水平,以防止该病害的突发流行。

参考文献

- [1] Rosso M L, Rupe J C, Chen P, et al. Inheritance and genetic mapping of resistance to *Pythium* damping-off caused by *Pythium aphanidermatum* in 'Archer' soybean[J]. Crop Science, 2008, 48: 2215-2222.
- [2] Yang X B. *Pythium* damping-off and root rot[M]// Hartman G L. Compendium of soybean diseases 4th ed. APS Press, St. Paul, MN. 1999:42-44.
- [3] Hartman G L, Sinclair J B, Rupe J C. Compendium of Soybean Diseases[M]. 1999, 1:42-44.
- [4] Broders K D, Lipps P E, Paul P A, et al. Characterization of *Pythium* spp. associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio[J]. Plant Disease, 2007, 91:727-735.
- [5] Brown G E, Kennedy B W. *Pythium* pre-emergence damping-off of soybean in Minnesota[J]. Plant Disease Reporter, 1965, 49: 646.
- [6] Thomson T B, Athow K L, Laviolette F A. The effect of temperature on the pathogenicity of *Pythium aphanidermatum*, *P. debaryanum*, and *P. ultimum* on soybean[J]. Phytopathology, 1971, 61:933-935.
- [7] Zhang B Q, Yang X B. Pathogenicity of *Pythium* populations from corn-soybean rotation fields[J]. Plant Disease, 2000, 84:94-99.
- [8] Van der Plaats-Niterink A J. Monograph of the genus *Pythium* Study in Mycology[M]. 1981, 21:1-239.
- [9] Bates G D, Rothrock C S, Rupe J C. Resistance of the soybean cultivar Archer to *Pythium* damping-off and root rot caused by several *Pythium* spp[J]. Plant Disease, 2008, 92:763-766.
- [10] Kirkpatrick M T, Rupe J C, Rothrock C S. Soybean response to flooded soil conditions and the association with soil borne plant pathogenic genera[J]. Plant Disease, 2006, 90:592-596.
- [11] Dorrance A E, Berry S A, Browen P, et al. Characterization of *Pythium* spp. from three Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity. Online. Plant Health Progress, 2004, doi: 10.1094/PHP-2004-0202-01-RS.
- [12] 白丽艳. 大豆根腐病病原种类鉴定及分子鉴定技术研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2009. (Bai L Y. Study on pathogen identification and molecular detection technology of soybean root rot[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2009.)
- [13] 龙艳艳, 韦继光, 曹春梅, 等. 我国植物病原腐霉的为害与种类[C]. 杭州: 中国植病、菌物学会杭州联合年会论文集, 2008:77-81. (Long Y Y, Wei J G, Cao C M, et al. Plant pathogenic *Pythium* species and its harm in China[C]. Hangzhou: China plant disease, fungus annual meeting, 2008: 77-81.)