

大豆品种(系)对不同疫霉菌生理小种的抗性研究

王伟威^{1,2}, 魏 嵘¹, 丁俊杰³, 刘丽君¹, 薛永国¹, 唐晓飞¹, 王兴宇¹, 于志远¹

(1. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 农产品质量安全研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 黑龙江省农业科学院 佳木斯分院, 黑龙江 佳木斯 154000)

摘要: 对分布于黑龙江省各地区的60个大豆疫霉菌菌株进行鉴定, 初步鉴定为7个生理小种, 选取黑龙江省优势小种1号、3号、9号为病原对208个国内外大豆品种(系)的抗性水平进行鉴定, 以期获得抗疫霉根腐病的品种和种质资源。结果表明: 208个大豆品种(系)中抗病品种比例较大, 东北地区的大豆品种对疫霉根腐病1号、3号小种的抗性明显优于国外品种, 而对9号生理小种则感病品种数量多于国外品种。

关键词: 大豆; 疫霉菌; 抗性鉴定

中图分类号: S565.1 文献标识码: A DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2014.04.0559

Resistance Research of Soybean Cultivars(Lines) against Different *Phytophthora sojae* Spices

WANG Wei-wei^{1,2}, WEI Lai¹, DING Jun-jie³, LIU Li-jun¹, XUE Yong-guo¹, TANG Xiao-fei¹, WANG Xing-yu¹, YU Zhi-yuan¹

(1. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. Safety and Quality Institute of Agricultural Product, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 3. Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi 154000, China)

Abstract: Selecting and using resistance cultivars is the most cost-effective way to control soybean *Phytophthora sojae* root rot disease. This research identified 60 *Phytophthora sojae* strains from Heilongjiang province and they were identified into 7 races. The most popular 3 from 7 races were used to measured the resistance level of 208 domestic and abroad soybean cultivars, so as to select valuable resistant soybean germplasm. The result showed that among 208 soybean cultivars(lines), the resistant ones took up major part, and the soybean cultivars from Northeast of China had better resistance to race 1 and race 3 than foreign cultivars, while there were more domestic cultivars susceptible to race 9 compared to foreign cultivars.

Key words: Soybean; *Phytophthora sojae*; Resistance identification

大豆疫霉根腐病已蔓延全球的大豆主产区, 它是由疫霉菌(*Phytophthora sojae*)引起危害大豆生产的世界性土传病害。*Phytophthora sojae*引起大豆根腐和茎腐, 是一种毁灭性病害, 使用抗病品种是防治大豆疫霉根腐病最有效的方法^[1]。由于疫霉自身变异性高, 抗性品种的抗性有效期只有8~15年, 为确保抗性育种的持久发展, 必须挖掘新的抗性资源^[2]。王晓鸣等^[3]对大豆种质资源进行抗病性评价时, 证实东北地区抗病种质较少, 其中黑龙江材料抗病性最低。近年来, 研究人员引进筛选资源进行新品种的改良创新, 也取得一定的进展^[4-5]。本研究利用近几年引进的国外资源和东北当前生产上推广的一些品种(系), 对黑龙江省地区大豆疫霉病生理小种分布进行鉴定, 同时对主要生理小种感染下大豆品种的抗性差异进行鉴定, 推导抗性基因, 评价当前品种抗疫霉病特性, 以期为大豆品种

改良提供技术支持和多抗的种质资源。

1 材料与方法

1.1 材料

生理小种鉴定: 鉴定实验采用的标准生理小种鉴别寄主8个, 大豆疫霉菌菌株60个, 采自黑龙江省6个生态区19个市县和3个农垦管理局。

品种抗性鉴定: 采用大豆参试品种(系)共208个。其中国内品种(系)134个, 主要为东北当前生产上应用的品种; 国外品种(系)74个, 主要来自于美国、加拿大和俄罗斯。

1.2 方法

1.2.1 种植及接种方法 将大豆疫霉根腐鉴别寄主和大豆种子播种在钵里, 每钵10株, 每个品种2钵, 土壤采用高压灭菌土, 苗期适当遮光, 使下胚轴稍伸长一些, 以有利于接种时人工操作。当大豆幼

收稿日期: 2013-11-13

基金项目: 黑龙江省留学基金(LC2012C37/C0601); 农业产业技术体系(CARS04-PS05); 国家“十二五”科技支撑计划(2011BAD35B06-1-4)。

第一作者简介: 王伟威(1981-), 男, 在读博士, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: davidwww@126.com。

通讯作者: 刘丽君(1958-), 女, 研究员, 主要从事作物遗传育种研究。E-mail: nkysbd@126.com。

苗的第一片真叶展开时采用下胚轴伤口接种方法进行接种。具体操作方法为:用刀片将子叶节以下1 cm处划一伤口,伤口长1 cm深为茎深的1/3,然后取培养好的病菌膜贴在伤口处,在菌膜外围绕茎一圈涂上保湿剂保湿,将接种后的植株于20~24℃下保湿48 h,7~10 d后调查发病情况。

1.2.2 抗感性调查标准 接种后在伤口处出现水渍状病斑,进而呈淡褐色,最终整株萎蔫,植株从接种部位折断,全株枯死,此类植株表现为感病,记为S;接种后仅在下胚轴伤口处发生局部变褐或棕褐色,病斑不扩展,植株继续生长,则植株表现为抗病,记为R;感病植株数量小于50%,即为中抗品种,记为I^[6]。

1.3 数据处理

使用Excel 2003进行数据分析处理。

2 结果与分析

2.1 黑龙江省疫霉菌生理小种分布特点

用标准的生理小种鉴别寄主对分布黑龙江省各地区的60个大豆疫霉菌菌株进行鉴定,供试的

60个菌株初步鉴定为7个生理小种,即生理小种1号、3号、9号、11号、17号、21号和24号,调查发现1号生理小种分布比较普遍,出现频率最高,达到40%,是目前黑龙江省的优势生理小种,其次为3号、21号、9号、11号、24号。调查中发现全省各地市大豆疫霉菌分化较少,如呼兰、克东、明水、桦川、青冈、抚远、同江都是仅鉴定出1号生理小种,其他县市为2~3个生理小种,目前并未发现在同一个市县中大豆疫霉菌生理小种的数量为3个以上。

2.2 大豆品种对疫霉菌的抗性分布特点

选取上述黑龙江省主要优势生理小种中的1号、3号和9号生理小种对208份不同类型的大豆材料进行接种鉴定,结果表明抗病品种比例较大,占品种(系)的30%以上,其中抗9号生理小种的品种达到了总数的34.14%,同时国内品种(系)对疫霉菌1号、3号小种的抗性明显高于国外品种(系),而国内对9号小种感病的品种多于国外品种(系)(表1)。由此看出,品种的抗性与当地大豆产区土壤中的疫霉菌生理小种的优势种群有关系。

表1 大豆品种(系)对疫霉菌(1号、3号、9号)的抗性分布特点

Table 1 Resistance distribution characteristics of soybean cultivars (lines) against *P. sojae* (race 1, 3, 9)

品种(系)类型 Cultivar(line) type		1号 Race 1			3号 Race 3			9号 Race 9		
		R	I	S	R	I	S	R	I	S
参试品种 Cultivars	数量 Number	69	71	68	63	79	66	71	91	46
	比例 Percentage/%	33.17	34.7	32.69	30.29	37.98	31.73	34.14	43.75	22.12
国外 Abroad	数量 Number	23	22	29	18	29	27	23	33	16
	比例 Percentage/%	31.10	29.73	39.19	24.32	39.19	36.49	31.08	44.59	21.62
国内 Domestic	数量 Number	46	49	39	45	50	39	48	58	30
	比例 Percentage/%	34.33	36.57	29.11	33.58	37.31	29.11	35.82	43.28	22.39

2.3 大豆品种(系)抗疫霉菌的多样性

供试的208个大豆品种(系)对一个或多个生理小种表现出中抗或抗病类型。对疫霉菌1号生理小种免疫的品种有12个:占总数的5.76%,分别为L_{13H}-TN4、永为907-32、吉宏17、垦04-8579、Loqueph0q、黑农55、哈2001-311-16、铁荚四粒豆、黑农33、Dekadast、N₁₁₂₄和钢0019-1。

对疫霉菌3号生理小种免疫的品种(系)有19个,占总数的9.13%,分别为N₀₃₀、Gmaxk9957、边02-380、绥07-536、吉育91、吉农12、OAC-HWON、北交1121、中黄43、铁荚四粒豆、M₁、OAC-KEVT、哈交06-1148、垦丰15、农大15751、makceDonavan、T₃₁、mce42CD和蒙豆28。

对疫霉菌9号生理小种免疫的品种(系)有32个,占总数的15.38%,分别为公野07-26、N036、Gmaxk9957、吉密15、吉农18、MN0302、MN0071、09-M1、哈1667、绥04-5147、绥07-531、09-M4、垦丰22、

哈06-8210、PH01082301、登科1387、M. OAC-KEVT、黑农68、九农30、哈交08-1148、垦丰15、06-8309、垦05-3389、07-8116、公野07-Y34、东农09-9067、中黄35、T31、MC042CD、呼交2027、俄18-6和蒙豆28。

大豆品种(系)对疫霉菌1号、3号、9号生理小种的抗性表现型有24种表现模式(表2)。其中有57个品种(系)抗2个生理小种,中抗1个生理小种,占总数的27.4%,主要有3种模式:RRI型有15个品种(系);RIR型有18个品种(系);IRR型有21个品种(系)。有36个大豆品种(系)对疫霉菌1号、3号、9号生理小种感病表现型中以感病较重的类型为感2个生理小种,中抗1个生理小种,占总量的17.3%,主要有3种模式:表现SSI模式的品种有18个,表现ISS模式的品种有15个,表现SIS模式品种(系)有5个。由此可见,感病品种(系)的数量相对较小。

表 2 大豆品种(系)对疫霉菌(1号、3号、9号)抗性的反应模式

Table 2 Resistancereaction pattern of soybean cultivars(lines) against *P. sojae*(race 1,3,9)

反应模式类型 Reaction patterns	品种(系) Cultivars(lines)
RRI	MN0902、L13H-TN4、长农 17、边 03-1305、垦丰 14、Namohll、永为 907-32、吉育 93、吉育 63、黑农 33、农大 15751、makceDonavan、黑农 58、KE-4、IIaJla、吉育 95
IRR	吉丰 2 号、黑农 43、绥 07-536、嫩丰 16、冀黄豆 06-8210、北交 1121、MHOTOTHCTHbIA、N1144、登科 1387、M ₁ 、OAC-KEVT、哈交 06-1148、垦 02-383、垦丰 15、哈 05-7778、黑农 51、公野 07-Y34、T31、MC042CD、蒙豆 28
RIR	G _Y H-K _Y H ₄ 、MN0302、MN0071、合 1667、绥 04-5147、N1187、垦丰 22、黑农 68、NH24、九农 30、垦 05-3389、07-8030、中黄 35、垦丰 19、SohiurmgBr、垦丰 10 号、疆丰 6770、N1187、垦 04-8579、黑农 55
SSI	绥 sp064068、垦丰 14、垦 03-1074、Zewlx-1、07-8817、垦丰 9 号、DyDigoska、Lu178-5668、extra、Antibiosis、公 0216-2、黑农 58、黑农 53、垦丰 20、Itulx-2、病 7、吉育 89、钢 9721-5
ISS	垦 09-944、俄 9-14、哈 03-1042、回育 98-2、黑农 44、黑农 26、兴 20、龙品 03-311、哈 2951、俄-1-31、Lgrtter、垦 04-8586、Willims82、DHolo94223、垦 04-9904
SIS	N1126、垦 04-8586、垦丰 17、俄 20-64、G. mvxk9952、龙品 03-321、边 03-1305、绥 0813c1flf5465、黑农 60
SRS	DU01082301、06-8963、黑农 65、边 02-380、垦丰 9 号
RSR	吉农 17、Italy-2-1-2p、嫩丰 19、Perrker、06-8206
SRI	MN0902、垦 05-2782、хэсрелг
IRI	中黄 43、垦选小金黄、陆丰 02-001、长农 15、九农 30
III	吉林 12、Mo0606CN、垦丰 2 号
ISR	公野 07-26、吉密 1 号、黑农 63、09-M ₄ 、意大利-2
SRR	N030、黑豆 3 号、OAC-HWon、绥 06-8113、东农 09-9067、呼交 2027、G. maxk9957
SII	黑农 52、垦丰 20、绥 05-7046、N1083、Zealy-3、N1132、AC. Glemgar98、Branajla、公野 07-y52、垦丰 22、辽豆 12、N1085、OAC-BAYEIECD、OAC-ProfeiAa
ISI	俄 16-49、垦丰 19、黑农 54、垦丰 7 号、黑农 36、龙品 05-63、吉林 1 号、吉农 21、Амырсаг208、黑农 43、yo1667A
IIR	吉农 18、S-1350、skgwa、06-8309、俄 18-16
IIS	绥农 28、LAmBER、gtb-51、AC-ARTHOR、Hordome
SIR	N1145、黑农 53、哈 5489、东农 09-9101、07-8116
RRS	北育 4317、吉育 91、吉农 12、loqiephai、铁荚四粒豆
RIS	中黄 42、Acqknqaryq、2001-311-16、垦丰 15、绥农 27
RII	绥 06-8210、黑河 38、龙品 06-326、ЛрHмopck21213、黑农 62、Dekadast、吉农 71、钢 0019-1、龙品 04-373、哈 06-3869、N1184
RSI	T4、MN1902、吉育 84、龙品 06-111、垦丰 23、09-Itely-2、Ford、晋豆 19
RSS	XeNXe4
IRS	黑农 57、垦豆 26、OAC-WallaOE

2.4 抗病基因的推导

各供试菌株在标准鉴别寄主上既有相同的反应型,又有不同的反应型(表 3),利用黑龙江省优势小种 1 号、3 号、9 号接种鉴定大豆品种可以获得其不同的抗性表现,并与标准生理小种鉴别寄主所表现进行比较,最终利用鉴别寄主的抗病基因型来推导预测抗病品种中存在的基因,如:垦丰 14、黑农 58、黑农 33、吉育 63 等的反应型与抗病基因 *Rps1* +

Rps1-b. c. d. k + *Rps3* + *Rps6* 的组合相同;黑农 43、嫩丰 16、黑农 51、垦丰 16 的反应型与抗病基因 *Rps1-b. c. d. k* + *Rps3* + *Rps6* 的组合相同,黑农 68、黑农 55、垦丰 22、垦丰 10 号、垦丰 19 等的反应型与抗病基因 *Rps1* + *Rps1-b. c. d. k* + *Rps3* + *Rps6* 的组合相同,其它 23 种反应型都含有 1 个或 2 个已知抗病基因。

表3 大豆疫霉菌生理小种鉴定结果

Table 3 Identification result of *P. sojae* biological races

鉴别寄主 Identification hosts	基因型 Genotypes	1号 Race 1	3号 Race 3	9号 Race 9	11号 Race 11	17号 Race 17	21号 Race 21	24号 Race 24
Harosoy	<i>Rpsh</i>	S	S	S	S	S	S	S
Harosoy63	<i>Rps1</i>	R	S	S	R	R	S	R
Sanga	<i>Rps1-b</i>	R	R	R	S	R	R	S
Mack	<i>Rps1-c</i>	R	R	R	R	R	R	R
Pil03091	<i>Rps1-d</i>	R	R	R	R	S	R	R
Kingwa	<i>Rps1-k</i>	R	R	R	R	R	R	R
Pil71442	<i>Rps3</i>	R	R	R	R	S	S	S
Aitona	<i>Rps6</i>	R	R	S	S	S	R	S

3 讨论

大豆疫霉根腐病生理小种很多,且变化也较快,选用抗耐品种是最有效的防治措施之一。本研究对208个大豆品种(系)进行了鉴定。结果表明:东北和国外大豆品种中具有较丰富的抗大豆疫霉根腐病的双抗或多抗品种(系),全部抗1号、3号、9号生理小种,反应型为RRI模式的品种(系)有16个,如垦丰14、吉育63、黑农33等;IRR模式的品种(系)有21个,如嫩丰16、黑农43、蒙豆28等。反应型RIR模式的品种(系)有20个,如黑农68、垦丰19、黑农55等。这些品种具有很高的利用价值,继续利用这些材料可创制对疫霉根腐病多抗的大豆品种(系),通过本研究发现接种疫霉菌1号、3号9号的大豆品种,有一批对单一小种不感病(即发病率为0)的品种,这些免疫品种为大豆的遗传改良提供了重要的可利用材料。通过基因聚合技术,结合高致病环境,在增大选择压力的条件下,将能获得对3个生理小种全部免疫的品种(系),实现通过品种有效防控大豆疫霉根腐病的目的。

参考文献

- [1] Schmitthenner A F. Rob Lens and progress in control of *phytophthora* root rot of soybean [J]. *Plant Disease*, 1985, 69 (4): 362-368.
- [2] 范爱颖. 大豆品种豫豆25抗疫霉根腐病基因的分子标记与作图[D]. 北京:中国农业科学院,2009;7-8. (Fan A Y. Molecular marker and mapping of *phytophthora* resistant gene in cultivar soybean Yudou 25 [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009;7-8).
- [3] 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]. *植物遗传资源科学*, 2001, 2(2): 22-26. (Wang X M, Zhu Z D, Wang H B, et al. The resistance of soybean germplasm to *phytophthora* root rot [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2001, 2(2): 22-26.
- [4] 张淑珍,徐鹏飞,靳立梅,等. 野生大豆对大豆疫霉根腐病抗性反应及聚类分析[J]. *东北农业大学学报*, 2009, 40(11): 1-6. Zhang S Z, Xu P F, Jin L M, et al. Cluster analysis and reaction of wild soybean to *phytophthora sojae* [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2009, 40(11): 1-6.
- [5] 徐鹏飞,姜良宇,李文滨,等. 黑龙江省大豆品种对大豆疫霉根腐病抗性评价及抗性基因推导[J]. *中国油料作物学报*, 2011, 33(5): 521-526. (Xu P F, Jiang L Y, Li W B, et al. Screening on soybean cultivars to *phytophthora sojae* and genes postulation in Heilongjiang province [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Science*, 2011, 33(5): 521-526.
- [6] 马淑梅,李宝英,丁俊杰. 大豆疫霉根腐病抗病资源筛选及抗性遗传研究[J]. *大豆科学*, 2001, 20(3): 197-199. (Ma S M, Li B Y, Ding J J. Selections of soybean germplasm with resistance to *pytophthora* root rot and its use in breeding for resistance [J]. *Soybean Science*, 2001, 20(3): 197-199.)
- [7] Kyle D E, Nickell 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] 刘丽君,孙欣,薛永国,等. 大豆抗疫霉根腐病基因 SSR 标记[J]. *大豆科学*, 2008, 27(3): 379-382. (Liu L J, Sun X, Xue Y G, et al. Tagging SSR markers for resistant gene to *phytophthora* root rot in soybean [J]. *Soybean Science*, 2008, 27(3): 379-382.
- [9] Schmitthenner A. F. Problems and progress in control of *phytophthora* root rot of soybean [J]. *Plant Disease*, 1985, 69 (4): 362-368.