A119.

## 大豆种质资源对胞囊线虫病1号、3号和4号生理小种的抗性鉴定

曹广禄1,赵 雪1,王 强2,孟宪新2,魏淑红2,韩英鹏1,武小霞1,李文滨1

(1. 东北农业大学大豆生物学教育部重点实验室,农业部东北大豆生物学与遗传育种重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科 学院 作物育种研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:选育抗病品种(系)是防治大豆胞囊线虫病最经济有效的方法,筛选抗源是抗病品种选育的基础。采用酸性 品红染色法,在温室内对200份栽培大豆种质资源进行了大豆胞囊线虫病1号、3号,4号生理小种的抗性鉴定。筛选 得到对 1 号生理小种表现高抗的品种资源 2 份,表现中抗的 23 份;对 3 号生理小种表现高抗的品种资源 5 份,表现中 抗的26份;对4号生理小种表现高抗的品种资源3份,中抗的14份。其中兼抗1号、3号和4号生理小种的品种资源 4份;兼抗1号和3号生理小种的品种资源5份;兼抗1号和4号生理小种的品种资源3份;兼抗3号和4号生理小种 的品种资源3份。这些抗源的发现拓宽了抗性遗传基础,将推进大豆胞囊线虫抗病品种选育的进程。

关键词:大豆胞囊线虫:生理小种:种质资源: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. 0563

# Resistance Evaluation of Soybean Germplasm to Races 1,3 and 4 of Soybean Cyst Nematode (*Heterodera giycines*)

CAO Guang-lu<sup>1</sup>, ZHAO Xue<sup>1</sup>, WANG Qiang<sup>2</sup>, MENG Xian-xin<sup>2</sup>, WEI Shu-hong<sup>2</sup>, HAN Ying-peng<sup>1</sup>, WU Xiao-xia<sup>1</sup>, LI Wen-bin<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education, Key Laboratory of Soybean Biology and Breeding/Genetics of Chinese Agriculture Ministry, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Crops Breeding Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: The most economic and effective approach to control soybean cyst nematode (SCN) is using resistant varieties in soybean production. To find the resistant resources in soybean germplasm is basic and important work for SCN resistance breeding. In this study, a total of 200 soybean germplasm were inoculated with SCN race 1,3 and 4 to evaluate and obtain resistant materials by acid magenta dving method in greenhouse. There were two and twenty-three germplasm showed highly and modestly resistant to SCN race 1. There were five and twenty-six germplasm showed highly and modestly resistant to SCN race 3. There were three and fourteen germplasm showed highly and modestly resistant to SCN race 4. In the resistant lines, twelve were resistant to two SCN races and three have multiple resistances to the three SCN races. These resistant germplasm will facilitate the process of breeding for SCN resistance in soybean.

Key words: Heterodera glycines: Race; Soybean germplasm; Resistance evaluation

大豆胞囊线虫病是大豆生产上的一种毁灭性 病害,具有寄主范围广泛、传播途径多样、繁殖力顽 强、存活时间久、胞囊存活时间等特点,是一种极难 防治的土传病害[1]。目前世界范围内每年由该病 害造成的损失约为5%~10%,严重地块可达30% 以上,造成的经济损失高达数十亿美元[2]。我国大 豆主产区黑龙江省年受害面积高达 66.7 万 hm²,— 般减产 20%~30%, 严重地区高达70%~80% [3]。

目前,国内外学者共鉴定了13个大豆胞囊线虫 病的生理小种,在我国境内共发现了8个生理小种, 其中分布较广的为1号、3号和4号,在我国大豆主 产区黑龙江省的65个市县,以3号生理小种为 主[4]。然而生产上单一小种抗性的品种会随线虫 优势小种的变化而丧失抗性[5]。因此,寻找挖掘能 够兼抗多个生理小种的抗源材料已经刻不容缓。

本研究采用酸性品红染色法对国内外大豆种 质资源进行大豆胞囊线虫病 1号、3号、4号生理小 种的抗性鉴定,以期得到兼抗大豆胞囊线虫病1号、 3号、4号牛理小种的抗源,为抗性品种选育奠定 基础。

收稿日期:2013-12-12

基金项目: 国家重点基础研究发展计划"973 计划"前期项目(2012CB126311); 国家自然科学基金(31201227,31301339); 国家"十二五"科 技支撑计划(2011BAD35B06-1);现代农业产业体系(CARS-04-PS04);中国博士后项目(20110491024);黑龙江省博士后项目 (LBH11220,LBH-TZ1210);黑龙江省教育厅青年学术骨干项目(1252G014);黑龙江省教育厅科技项目(10531012);黑龙江省 教育厅新世纪项目优秀人才(1253-NCET-005);教育部博士点项目(20122325120012);东北农业大学博士后启动金项目 (2012RCB11)<sub>o</sub>

第一作者简介: 曹广禄(1987-), 男, 硕士, 主要从事大豆抗病育种研究。E-mail: caoguanglu123@126. com。

通讯作者:武小霞(1971-),女,博士,研究员,主要从事大豆遗传育种与生物技术应用研究。E-mail:xxwu2013@126.com; 李文滨(1958-),男,教授,博士生导师,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:wenbinli@yahoo.com。

## 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 大豆种质资源 共采用 200 份大豆种质资源进行鉴定,其中 157 份为品种,43 份为品系;24 份来自国外,176 份来自国内。在 176 份国内种质资源中,有 91 份来自黑龙江省。

1.1.2 大豆胞囊线虫病生理小种 大豆胞囊线虫病 1号生理小种采集自黑龙江省农业科学院大庆分院实验病圃,3号生理小种采集自伊春大豆连作地块,4号生理小种采自黑龙江省安达地区。

#### 1.2 试验方法

将供试材料分别种植在规格为 90 cm × 60 cm 的塑料盒子里,间距 5 cm,每份材料播种 8 粒,并在每盒种植感病对照品种 Lee68。种后将盆放置在工作台上,防止失水干燥,温室生长温度控制为 28℃,每天 16 h 光照,按照干湿交替补充水分。待出苗后挂牌,保留生长状态一致的 5 棵植株。播种后 15 d 左右将植株整株取出,注意对根的保护。

采用酸性品红染色法在 20 × 的光学显微镜下 计数胞囊。每个生理小种设置 3 次重复,每次重复 测定 5 株。

#### 1.3 抗性鉴定标准

采用 Schmitt 和 Shannon<sup>[6]</sup>提出的鉴定大豆抗 胞囊线虫病的寄生指数 IP(Index of parasitism)标 准,寄生指数也称雌成虫指数,即测试植株根系上着生的胞囊量占感病对照根系胞囊量的百分比,寄生指数(%)=(测试植株的胞囊平均数/Lee68 胞囊平均数)×100。IP标准将抗性级别分为4级:高抗,0~9%(HR);中抗,10%~30%(MR);中感,31%~60%(MS);大于60%为感病(HS)。

#### 2 结果与分析

# 2.1 对大豆胞囊线虫1号、3号、4号生理小种的抗性鉴定

供试的 200 份大豆种质中,对 1 号生理小种表现高抗的有 3 份,分别为合丰 29、L-10 和垦丰 15,平均 IP 为 6%;表现中抗的有 23 份,平均 IP 为 20.72%;表现中感的有 42 份,平均 IP 为 44.21%;表现感病的有 133 份,平均 IP 为 156.09%。

对 3 号生理小种表现高抗的有 6 份,分别为抗线 2 号、抗线 3 号、L-10、金山茶秣食豆、Peking 和丰收 10 号,平均 IP 为 4.54%;表现中抗的有 26 份,平均 IP 为 23.07%;表现中感的有 54 份,平均 IP 为 45.92%;表现感病的有 115 份,平均 IP 为 98.88%。

对 4 号生理小种表现高抗的有 3 份,分别为大屯小黑豆、呼交 04-528 和抗线 2 号,平均 IP 为 2.69%;表现中抗的有 15 份,平均 IP 为 25.44%;表现中感的有 68 份,平均 IP 为 45.66%;表现感病的有 115 份,平均 IP 为 121.68%(表 1)。

表 1 大豆胞囊线虫 1号、3号、4号生理小种种质资源抗性鉴定

Table 1 The number of soybean germplasm at different resistance levels of SCN race 1,3 and 4

抗性水平 Resistance level	1 号小种 Race 1	3 号小种 Race 3	4 号小种 Race 4
高抗 HR	3	6	3
寄生指数 IP/%	6.00	4.54	2.69
中抗 MR	23	26	15
寄生指数 IP/%	20.72	23.07	25.44
中感 MS	42	54	68
寄生指数 IP/%	44.21	45.92	45.66
高感 HS	133	115	115
寄生指数 IP/%	156.09	98.88	121.68

#### 2.2 对大豆胞囊线虫病 1 号、3 号、4 号生理小种的 抗性分析

种质资源中表现兼抗大豆胞囊线虫1号、3号、4号生理小种的品种资源有4份,其中大屯小黑豆和金山茶秣食豆是农家品种;兼抗1号和3号生理

小种的品种资源有5份,方正秣食豆是农家品种;兼抗1号和4号生理小种的品种资源有3份,白城秣食豆和压破车是农家品种;兼抗3号和4号生理小种的品种资源有3份(表2)。

表 2 兼抗大豆胞囊线虫 1 号,3 号,4 号生理小种的种质资源

Table 2 The germplasm with multiple resistance to SCN race 1,3 and 4

鉴别品种 Identification host	1 号小种 Race 1	3 号小种 Race 3	4 号小种 Race 4
大屯小黑豆 Datunxiaoheidou	MR	MR	VR
金山茶秣食豆 Jinshanchamoshidou	MR	VR	MR
抗线 3 号 Kangxian 3	MR	VR	MR
L-10	VR	VR	MR
方正秣食豆 Fangzhengmoshidou	MR	MR	_
九农 20 Jiunong 20	MR	MR	-
龙品 03-311 Longpin 03-311	MR	MR	-
Peking	MR	VR	_

续表2

鉴别品种 Identification host	1 号小种 Race 1	3 号小种 Race 3	4 号小种 Race 4
绥农1号 Suinong 1	MR	MR	-
白城秣食豆 Baichengmoshikou	MR	-	MR
辽农 2 号 Liaonong 2	MR	-	MR
压破车 Yapoche	MR	-	MR
锦州 4-1 Jinzhou 4-1	-	MR	MR
抗线 2 号 Kangxian 2	-	VR	VR
绥农 30 Suinong 30	-	MR	MR

### 3 讨论

国内外学者已建立了一系列的大豆胞囊线虫病抗性鉴定方法<sup>[7]</sup>。常用的方法是病圃鉴定和盆栽鉴定,但费时费力且误差较大。塑料钵柱法在实验室条件下实用性较强,但较少应用于大批量试验材料的鉴定。而酸性品红染色法在鉴别较大群体时,鉴定结果重复性好,并且在鉴定周期和效率上明显优于塑料钵柱法<sup>[8]</sup>。因此,本研究采用酸性品红染色法来鉴定种质资源对大豆胞囊线虫病的抗性。

本研究筛选得到的兼抗大豆胞囊线虫病1号,3 号,4号生理小种的种质资源中,抗线2号和抗线3 号是黑龙江省在20世纪90年代育成的高抗大豆胞 囊线虫品种,其抗性基因可追溯到小黑豆 Peking [9]。 Peking 作为最著名的抗源,在截止 1991 年美国育成 的130个抗胞囊线虫病大豆品种中,抗3号牛理小 种的 69 个品种抗性基因都来自 Peking[10]。最近美 国新育成品种 Hartwig 抗目前发现的所有大豆胞囊 线虫生理小种,其抗性来自 PI437659 和 Peking[11]。 但 Peking 作为单一抗源,选育出的抗病品种经大面 积推广后,很容易因对田内的大豆胞囊线虫生理小 种产生选择作用导致生理小种变异而丧失抗性[12]。 而本试验筛选出的其他抗源大屯小黑豆来自河北 地区,金山茶秣食豆是吉林农家品种,方正秣食豆 和压破车是黑龙江省内农家品种,白城秣食豆是吉 林省农家品种,均是北方地区大豆,如对其包含的 抗病基因进行深入研究并有效利用,能改善当前抗 大豆胞囊线虫病育种抗源单一现状并促进大豆生 产品种抗病基因多样化。本研究筛选出具有广谱 抗性的种质资源,拓宽了抗性遗传基础,将推进大 豆胞囊线虫抗病品种选育的进程。

#### 参考文献

[1] 潘凤娟,许艳丽,孙玉秋,等. 我国大豆胞囊线虫生防真菌研究现状[J]. 大豆通报,2006,83(4):15-17. (Pan F J, Xu Y L, Sun Y Q, et al. Advance on biological control to soybean cyst nematode by fungi in China[J]. Soybean Bulletin,2006,83(4):15-17.)

- [2] 刘维志,段玉玺. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版 社,2000. (Liu W Z, Duan Y X. Plant pathogenic nematology[M]. Beijing:China Agriculture Press,2000.)
- [3] 吴海燕,远方,陈立杰,等. 大豆胞囊线虫病与大豆抗胞囊线虫机制的研究[J]. 大豆科学,2001,20(4):285-289. (Wu H Y, Yuan F,Chen L J, et al. Advances in soybean cyst nematode and mechanism of soybean resistance to *Heterodera glycines*[J]. Soybean Science,2001,20(4):285-280.)
- [4] 刘汉起,商绍刚,甄鸿杰,等. 黑龙江省大豆胞囊线虫(Heterodera glycines)生理小种分布的研究[J]. 大豆科学,1995,14 (4):330-333. (Liu H Q, Shang S G, Zhen H J, et al. Study on distribution of physiological race of soybean cyst nematode(Heterodera glycines) in Heilongjiang province [J]. Soybean Science, 1995,14(4):330-333.)
- [5] 马书君. 安达地区大豆胞囊线虫生理小种动态监测[J]. 大豆科学,1996,15(3):254-257. (Ma S J. Studies on dynamics detection to races of SCN in Anda area of Heilongjiang province[J]. Soybean Science,1996,15(3):254-257.)
- [6] Schmitt D R, Shannon J G. Differentiating soybean responses to Heterodera soybean cyst nematode race 5 [J]. 1992, 32:275-277.
- [7] 王振华,时李波,吴海燕,等. 大豆根内胞囊线虫发育进程及分布[J]. 中国农业科学,2009,42(9):3147-3153. (Wang Z H, Shi L B, Wu H Y, et al. Distribution and developmental process of *Heterodera glycines* in soybean root[J]. Scientia Agricultura Sinica,2009,42(9):3147-3153.)
- [8] 高源,常玮,韩英鹏,等.2 种大豆胞囊线虫鉴定方法比较及分析[J]. 大豆科学,2012,31(2):274-277. (Gao Y, Chang W, Han Y P, et al. Comparisons and analysis on the two methods of evaluating resistance to soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 2012,31(2):285-28.
- [9] 于佰双,王家军.不同生态区大豆新品系对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性鉴定[J]. 莱阳农学院学报,2004,21(2):115-117. (Yu B S, Wang J J. Evaluation of new soybean lines of different regions for resistance to race 3 of soybean cyst nematode[J]. Journal of Laiyang Agricultural College,2004,21(2):115-117.)
- [10] Anand S.C., Matson K.W. Effect of soil temperature and pH on resistance of soybean to *Heterodera glycines* [J]. Journal of Nematode, 1995. 27(4):478-482.
- [11] Anand S C, Rao-Arelli A P. Genetic analysis of soybean genotypes resistant to soybean cyst nematode race 5 [J]. Crop Science, 1991, 29:1181-1184.
- [12] 于佰双,王家军,崔丽伟,等. 连种抗线大豆品种(系)对大豆孢囊线虫的选择作用[J]. 黑龙江农业科学,1999,12(3):4-6. (Yu B S, Wang J J, Cui L W, et al. Effects of continuous planting of resistant soybean cultivars on races of soybean cyst nematode [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences,1999,12(3):4-6.)