

# 连作条件下大庆和安达地区大豆胞囊线虫毒力类型鉴定研究

陈井生<sup>1,2</sup>, 李肖白<sup>1</sup>, 李泽宇<sup>1</sup>, 周长军<sup>1</sup>, 罗璇<sup>2,3</sup>, 王东<sup>2</sup>, 段玉玺<sup>2</sup>, 陈立杰<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 大庆分院, 黑龙江 大庆 163316; 2. 沈阳农业大学 植物保护学院/北方线虫研究所, 辽宁 沈阳 110866; 3. 辽东学院 农学院, 辽宁 丹东 118001)

**摘要:**采用国际通用的鉴别寄主法, 鉴定连作条件下大庆和安达大豆胞囊线虫天然育种病圃生理小种和 HG 毒力类型。结果表明:生产条件下安达地区大豆胞囊线虫优势小种为毒力较强的 14 号生理小种, 大庆地区为 3 号生理小种。室内盆栽鉴定安达试验基地 HG 类型为 1. 3. 4. 7, 大庆试验基地 HG 类型为 7。由于大豆胞囊线虫生理小种和毒力类型的组成日趋多样性, 迫切需要发掘新的抗源和加紧培育水平抗性品种。

**关键词:**大豆; 大豆胞囊线虫; 生理小种; HG 专化型  
**中图分类号:**S565. 1      **文献标识码:**A      **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2015. 04. 0675

## Identification of the Virulence Type of Soybean Cyst Nematode under Continuous Cropping in Daqing and Anda

CHEN Jing-sheng<sup>1,2</sup>, LI Xiao-bai<sup>1</sup>, LI Ze-yu<sup>1</sup>, ZHOU Chang-jun<sup>1</sup>, LUO Xuan<sup>2,3</sup>, WANG Dong<sup>2</sup>, DUAN Yu-xi<sup>2</sup>, CHEN Li-jie<sup>2</sup>

(1. Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing 163316, China; 2. Nematology Institute of Northern China, Department of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 3. Agricultural College, Eastern Liaoning University, Dandong 118001, China)

**Abstract:** The soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) is an important constraint to soybean production in the world. Knowledge of the virulence phenotypes of soybean cyst nematode is crucial in choosing appropriate sources for breeding resistant varieties and managing the nematode. The objective of this study was to characterize the HG type and SCN race under continuous cropping in Daqing and Anda. The research results showed that: the SCN virulence type of Anda was HG type 1. 3. 4. 7 (race 14) and Daqing was HG type 7 (race 3). It is urgent to explore new sources of resistance and breed horizontal resistance varieties because of diversity of virulence type of soybean cyst nematode.

**Keywords:** Soybean; Soybean cyst nematode(*Heterodera glycines*); Race; Virulence type

大豆胞囊线虫(Soybean cyst nematode, SCN)是危害大豆生产的限制性病害,防治该病最经济有效方式就是利用抗病品种<sup>[1]</sup>。全世界的育种家们一直把高产抗线虫品种列为大豆育种计划之一,世界上大部分国家的商业化大豆品种都是抗线虫品种。大豆胞囊线虫是专性寄生物,不同种群存在明显的生理分化<sup>[2]</sup>。由于抗病基因的选择压力,长期持续种植一种品种会导致抗性丧失。1970 年,Golden 等<sup>[3]</sup>组成的一个小组决定,在种内的分化用生理小种(race)表示。1988 年,首次建立了以 4 个鉴别寄主来识别大豆胞囊线虫 16 个生理小种的鉴别模式<sup>[4]</sup>。2002 年,Niblack 等<sup>[5]</sup>建立了一个新的大豆胞囊线虫基因多样性分类系统-“HG 类型”。到目前为止,大豆胞囊线虫生理分化分为生理小种和 HG 专化类型两种不同方式。两种概念的提出得到

育种家和病理学家的广泛认可。迄今为止,我国发现 8 个生理小种,其中 1、3、4、6、14 号在黑龙江省发生<sup>[1,6]</sup>。我国大豆胞囊线虫遗传多样性丰富,王东等<sup>[7]</sup>报道我国有 HG 0、HG 7、HG 2. 7 等多个不同毒力类型。黑龙江省大庆和安达试验基地是大豆胞囊线虫的天然病圃,由于长期连作的选择压力安达基地由原来 3 号生理小种变异为 14 号生理小种。大庆市红旗泡抗线虫大豆中心基地为 3 号生理小种,但由于多年持续连作也存在致病性分化的可能。截至目前,两基地大豆胞囊线虫 HG 专化型却鲜有报道。因此,有必要在盆栽和生产条件下对其生理小种和专化型进行持续监测。

本文在田间和室内条件下,监测大庆市和安达市病圃的大豆胞囊线虫的生理小种和毒力类型,旨在为黑龙江省大豆胞囊线虫生理分化、致病性变异

收稿日期:2014-12-26  
基金项目:国家现代农业产业技术体系(CARS-004-CES07, CARS-04-PS13);农业部公益性行业科研专项(201103018, 200903040-03)。  
第一作者简介:陈井生(1982-),男,博士,助理研究员,主要从事大豆抗线虫育种和抗性基因研究。E-mail:jingsheng6673182@163.com。  
通讯作者:李泽宇(1965-),男,研究员,主要从事大豆抗病育种和表面活化剂研究。E-mail:dqnkylzy@126.com。

以及抗病新品种选育提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试大豆土样 采自黑龙江省农业科学院大庆分院安达封闭育种基地和大庆红旗泡农业示范基地;其中大庆试验基地和安达基地长期连作大豆均在5年以上。

1.1.2 鉴别寄主 生理小种鉴别寄主 Pickett、Peking、PI88788、P90763、Lee68;HG 专化型鉴别寄主 PI548402、PI88788、P90763、PI437654、PI209332、PI89772、PI548316 和 Lee74。

1.1.3 大豆胞囊线虫孢囊的获得 对采集回来的土壤采用改良淘洗-过筛法分离胞囊,在体视解剖镜下用自制的玻璃挑针挑出新鲜饱满成熟的胞囊。消毒干燥后4℃冰箱保存备用。

1.1.4 大豆胞囊线虫卵悬液的制备 将饱满的胞囊放入组织破碎器中,用组织破碎器芯轻轻扭动1~2次后用吸管加入5~10 mL自来水,把胞囊碎皮及卵洗入烧杯内,然后倒入200目和500目筛子组,用自来水轻轻洗下200目筛子上的卵,收集500目筛子内的卵于烧杯内,制成浓度约为2 000 卵·mL<sup>-1</sup>的卵悬液<sup>[4]</sup>。

1.2 抗性鉴定

1.2.1 生理小种鉴定 生理小种鉴定在黑龙江省农业科学院大庆分院安达和大庆试验地自然感染SCN地块进行。田间鉴定采用顺序排列,鉴别寄主播种2行,行长1 m,行距70 cm,重复5次。大豆生长30 d左右,每个品种调查5株,记录根上的胞囊数量<sup>[7]</sup>。

1.2.2 HG 专化型鉴定 病土取自大庆和安达封闭育种基地SCN发病严重的病圃,将病土充分混合均匀,鉴别寄主每盆5株,催芽后移栽高温灭菌的砂土混合物(体积比1:2)的塑料钵中,接种2龄幼虫,每株约2 000粒卵,3次重复。试验整体重复1次。大豆生长30 d左右,试验材料带回室内用解剖镜镜检。先剪去苗上部,将塑料杯中的土壤倒入盆中,用高压水枪淋洗根部和塑料杯中的胞囊。采用淘洗过筛法分离胞囊,解剖镜下镜检计数。

1.3 数据分析

盆栽鉴定计算雌虫指数(Female index, FI),公式如下:

雌虫指数(FI/%) = (鉴别品种根上雌虫数 / Lee根上的雌虫数) × 100

大豆抗病性鉴定按抗感分级标准进行分级:FI < 10% 为抗R, FI ≥ 10% 为感S。

采用Excel 2003对数据进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 大豆胞囊线虫生理小种鉴定

采用鉴别寄主法,对生产条件下采自黑龙江省大庆市和安达市大豆胞囊线虫生理小种进行鉴定。结果表明:安达地区生理小种为14号小种,大庆地区生理小种为3号小种(表1)。从鉴别寄主的反应上来看,14号生理小种的致病能力要远远强于3号小种,因为它可以在小黑豆(Peking)上很好的繁殖。大庆地区多年连作生理小种仍为3号小种,原因是进行大豆抗感连作,种植抗病品种后次年种植感病品种,这样能够延缓抗病基因的选择压力,在一定程度上保持了大豆胞囊线虫群体的稳定性。

表 1 大豆胞囊线虫生理小种田间鉴定  
Table 1 Result of identification of SCN races in Anda and Daqing

鉴别寄主 Host differentia	安达 Anda			大庆 Daqing		
	平均雌虫数	雌虫指数	抗感	平均雌虫数	雌虫指数	抗感
	Mean female No.	FI	R & S	Mean female No.	FI	R & S
Peking	22. 00	14. 50	S	7. 33	4. 05	R
PI 88788	5. 33	3. 50	R	3. 25	1. 80	R
PI 90763	31. 00	20. 36	S	1. 00	0. 55	R
Pickeet	32. 50	21. 35	S	4. 00	2. 21	R
Lee68	152. 25	—		181. 00		—

2.2 大豆胞囊线虫专化型鉴定

室内条件下对安达和大庆连作大豆基地的大豆胞囊线虫进行鉴定,结果如下:PI548402、P90763、

PI437654、PI548316 在安达大豆胞囊线虫上表现 IF ≥ 10% 为感病,PI88788、PI209332、PI89772 表现抗病;因此安达的HG类型为1.3.4.7。

大庆地区的 HG 专化型为 7,说明 PI548316 是该地区大豆胞囊线虫的适合寄主,因为在相对较短的时间内在抗线品系上建立了群体。此外,在鉴定

盆栽鉴定中加入了鉴别寄主 Pickett,因此获得生理小种的类型,大庆为 3 号生理小种,安达为 14 号生理小种,与田间鉴定结果一致。

表 2 大豆胞囊线虫 HG 专化型鉴定

Table2 Result of identification of HG type in Anda and Daqing

地区	鉴别寄主	平均雌虫数	雌虫指数	抗感	HG 类型
Area	Indicator line	Mean female No.	FI	R & S	HG type
安达 Anda	PI548402 ( Peking )	20. 00	16. 13	S	1
	PI88788	4. 85	3. 91	R	
	PI90763	17. 67	14. 25	S	3
	PI437654	67. 33	54. 30	S	4
	PI209332	3. 00	2. 7	R	
	PI89772	0	0	R	
	PI548316( Cloud )	57. 15	46. 1	S	7
大庆 Daqing	Pickett	24. 33	19. 62	S	
	PI548402 ( Peking )	10. 10	6. 69	R	
	PI88788	1. 20	0. 80	R	
	PI90763	0	0	R	
	PI437654	5. 33	0	R	
	PI209332	4. 00	3. 53	R	
	PI89772	0	0	R	
	PI548316( Cloud )	24. 67	16. 34	S	7
	Pickett	10. 50	6. 95	R	

3 结论与讨论

连作条件下安达地区大豆胞囊线虫优势小种为毒力较强的 14 号生理小种,HG 类型为 1. 3. 4. 7; 大庆地区为 3 号生理小种,HG 类型为 7。田中艳等<sup>[8]</sup>报道了生产条件对安达试验基地大豆胞囊线虫连作 13 年后,由原来 3 号生理小种变为 4 号和 14 号,其中 14 号为优势小种。但有关大庆和安达地区的 HG 专化型报道较少。导致大豆胞囊线虫生理分化有两个原因,其一由于长期连作对大豆胞囊线虫形成了一定抗病选择压力,以致生理小种呈现规律性定向变异;此外大豆胞囊线虫本身具有遗传异质性,发病的任何地块都是混合群体存在,仅是某个小种或者专化型占优势。

目前,国际上通常用生理小种和 HG 专化型划分不同大豆胞囊线虫群体对大豆的致病力。传统的生理小种鉴定模式中 3 号生理小种是毒性最弱的,而 HG 分类系统中 3 号小种仍可以分出不同毒力的类型。生理小种的鉴定参照 Riggs 和 Schmitt 的鉴别模式;HG 类型的鉴定参照 Niblack<sup>[5]</sup>提出的鉴别模式。生理小种的鉴定可以是室内也可以是

田间的结果。在生理小种的鉴别系统中,鉴别寄主 Pickett 是以 Peking 为抗源选育出的抗病品种,因此,从理论上推测 Peking 包含了所有 Pickett 中所具有的抗性基因,因此有专家认为生理小种不能代表大豆胞囊线虫遗传的多样性。大豆胞囊线虫 HG 类型分类系统种群的毒力指标包括 SCN 7 个大豆品种 (PI) 和感病品种 Lee 74。这 7 个品种中,只有 PI548402,PI88788,PI437654 已在 SCN 抗性大豆品种得到应用<sup>[9]</sup>,是世界抗线虫大豆的主要抗性来源。我国早期的抗线品种大多数抗 3 号生理小种,因为 3 号小种是东北大豆产区的优势小种,其抗性很多来源于 Franklin,其抗性基因可以追溯到 Peking 北京小黑豆 (PI548402)<sup>[10]</sup>。

大豆胞囊线虫由于生理分化和遗传多样性存在,长期连续种植同一抗源大豆品种会导致抗性丧失,比如安达地区的 3 号小种变为现在的 14 号生理小种;同时长期种植大豆超过 10 年以上土壤中胞囊量会逐渐减少,会出现生理小种衰退现象。安达和大庆是我国大豆胞囊线虫长期鉴定病圃,因此对毒力类型的监测更为重要,为了保证病圃大豆胞囊线虫种群的相对稳定,应种植不同抗源的品种,同时抗感品种轮作能够减轻抗病基因选择的压力,这样

才有利于大量的后代材料在田间选育<sup>[11-12]</sup>。

参考文献

[1] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京:中国农业出版社,2000: 285-288. (Liu W Z. 2000. Plant pathogen nematology [M]. Beijing:China Agriculture Press, 2000;285-288. )

[2] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 1995. (Liu W Z. Research techniques of plant nematology [M]. Shenyang:Liaoning Science and Technology Press,1995. )

[3] 陈井生,李肖白,李泽宇,等. 大豆胞囊线虫生理分化与致病性变异研究进展[J]. 中国农学通报,2010,26(12):261-265. (Chen J S,Li X B,Li Z Y,et al. Research progress of soybean cyst nematode physiological differentiation and pathogenic differentiation[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(12): 261-265. )

[4] Riggs R D, Schmitt D P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 1988; 20:392-395.

[5] Niblack T L, Arelli P R, Noel G R, et al. A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines* [J]. Journal of Nematology. 2002,34:279-288.

[6] Riggs R D. Race of soybean cyst nematode in People's Republic of China[J]. Journal of Nematology,1985,17(4):511.

[7] Wang D, Zhu X F, Wang Y Y, et al. A reassessment of virulence phenotypes of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) in China with HG typing method [J]. Plant Disease, 2014, 98 (5):702.

[8] 田中艳,高国金,周长军,等. 大豆胞囊线虫生理小种变异研究[J]. 大豆科学, 2007; 26(2):290-292. (Tian Z Y,Gao G J, Zhou C J,et al. Study on the variation of soybean cyst nemayode [J]. Soybean Science, 2007, 26(2):290-292. )

[9] Zheng J W, Li Y H, and Chen S Y. Characterization of the virulence phenotypes of *Heterodera glycines* in Minnesota [J]. Journal of Nematology, 2006, 38(3):383-390.

[10] 李泽宇,李肖白,陈井生,等. 大豆品种(系)抗大豆胞囊线虫 14 号生理小种的抗病鉴定研究[J]. 大豆科学, 2014, 33(3): 383-390. (Li Z Y,Li X B, Chen J S,et al. Identification of soybean varietirs for resistance to soybean cyst nemayode races 14 [J]. Soybean Science,2014, 33(3):383-390. )

[11] 刘维志. 关于加速抗胞囊线虫病大豆品种选育问题的商榷 [J]. 大豆科学, 1986, 5 (1):77-82. (Liu W Z. Adiscussion for speeding up breeding soybean cultivars resistant to the soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 1986, 5 (1):77-82. )

[12] Zheng J W, Chen S Y. Estimation of virulence type and level of soybean cyst nematode field populations in response to resistant cultivars [J]. Journal of Entomology and Nematology, 2011, 3 (3):37-43.

(上接第 674 页)

[7] 孙漫红,刘杏忠. 淡紫拟青霉发酵滤液对大豆胞囊线虫趋化性的影响[J]. 植物病理学报, 2004,34(4):376-379. (Sun M H, Liu X Z. Effects of *Paecilomyces lilacinus* M-14 fermentation filtrate on the affinity between soybean cyst nematode and soybean root[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(4): 376-379. )

[8] 赵晓晖,许艳丽. 镰刀菌发酵液对大豆胞囊线虫的抑制作用 [J]. 大豆科学,2011,30(3):468-470. (Zhao X H, Xu Y L. Inhibition of *Fusarium*. spp fermented filtrates on soybean cyst nematode[J]. Soybean Science, 2011,30(3):468-470. )

[9] 钱洪利,许艳丽,孙玉秋,等. 明尼苏达被毛孢代谢物对大豆胞囊线虫二龄幼虫的影响[J]. 大豆科学, 2009, 28(1):118-121. (Qian H L, Xu Y L, Sun Y Q, et al. Effects of *Hirsutalla Minnesotensis* metabolites on soybean cyst nematode juvenile[J]. Soybean Science, 2009, 28(1):118-121. )

[10] 司兆胜,许艳丽,李兆林,等. 不同茬口种植的大豆品种根渗出物对大豆胞囊线虫卵孵化的影响[J]. 中国油料作物学报, 2004,26(3):62-65. (Si Z S,Xu Y L,Li Z L, et al. Hatch of soybean cyst nematode *Heterodera glycines* egg in root diffusate from resistant and susceptible soybean cultivars on different rotation systems[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004,26(3): 62-65. )

[11] 孙玉秋,许艳丽,李春杰,等. 东北地区大豆胞囊线虫卵定殖真菌的多样性研究[J]. 华北农学报, 2011, 26(2):233-238.

(Sun Y Q, Xu Y L, Li C J, et al. Mycofloras in eggs of soybean cyst nematode in Northeast China[J]. Acta Agriculture Boreall-Sinica, 2011, 26(2):233-238. )

[12] Racke J, Sikora R. A. Isolation, formulation and antagonistic activity of rhizobacteria toward the potato cyst nematode *Globodera pallida*[J]. Soil Biology and Biochemistry,1992,24:521-526.

[13] 肖顺. 根结线虫寄生真菌资源与淡紫拟青霉 PL89 的研究 [D]. 福州:福建农林大学, 2006:37-40. (Xiao S. Resource of fungal parasites of root-knot nematode and study on *Paecilomyces lilacinus* strain PL89[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2006: 37-40. )

[14] Segers R, Butt T M, Kerry B R, et al. The role of the Proteinase VCPPIP reduced by the nematophagous *Verticillium chlamydosporium* in the infection process of nematode eggs[J]. Mycological Research,1996,100(4):421-428.

[15] 孙漫红,刘杏忠. 淡紫拟青霉在大豆根际的定殖及对根际微生物的影响[J]. 微生物学通报,1998,25(3):133-136. (Sun M H, Liu X Z. Colonization of *paecilomyces lilanus* on soybean root and its effect on rhizosphere micro-organisms[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1998,25(3):133-136. )

[16] Yong B, Deborah A N,Chen S Y. Effect of soil disturbance and biocides on nematode communities and extracellular enzyme activity in soybean cyst nematode suppressive soil [J]. Nematology, 2011,13(6):687-699.