

新疆大豆疫霉菌的毒力组成研究

崔林开, 胡艳红

(河南科技大学, 河南 洛阳 471003)

摘要: 为明确大豆疫霉菌在新疆的分布和新疆大豆疫霉菌的毒力组成, 采用大豆叶碟诱捕法从新疆大豆田土壤中分离大豆疫霉菌, 并采用幼苗下胚轴伤口接种法鉴定大豆疫霉菌的毒力。结果共分离到 26 个大豆疫霉菌株, 毒力测定鉴定出 20 个不同的毒力型, 说明新疆的大豆疫霉菌表现出丰富的毒力多样性。新疆大豆疫霉菌对抗病基因 *Rps1a*, *Rps1c* 和 *Rps1k* 的毒力频率均为 0, 因此, 可应用这 3 个抗病基因对新疆大豆疫霉根腐病进行有效控制。

关键词: 大豆疫霉菌; 分布; 毒力; 抗病基因

中图分类号: S435.651 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)07-0088-03

Study on Virulence Structure of *Phytophthora sojae* in Xinjiang

CUI Lin-kai, HU Yan-hong

(Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: *Phytophthora sojae* was isolated from soil samples collected in Xinjiang by the soybean leaf-disc baiting method, and then their pathotypes were characterized using the hypocotyl slit inoculation method. A total of 26 *P. sojae* isolates were obtained and 20 pathotypes were identified from these isolates. The result indicated that virulence diversity of *P. sojae* was abundant in Xinjiang. All the isolates were avirulent to cultivars with single resistance genes *Rps1a*, *Rps1c*, and *Rps1k*, so these resistance genes had a high application value in better control of *Phytophthora* root and stem rot.

Key words: *Phytophthora sojae*; distribution; virulence; resistance genes

大豆疫霉根腐病引起大豆幼苗的猝死和成株的根腐, 是一种非常重要的大豆病害, 也是我国大豆上的一种重要检疫病害。在美国西北地区, 每年因该病造成的大豆损失达 2 亿美元, 在世界范围内, 每年因此造成的大豆损失高达 10~20 亿美元^[1]。在我国, 沈崇尧等^[2]于 1989 年首次从东北地区大豆田分离到大豆疫霉菌, 随后在其他省市也相继发现该病原菌的存在。2005 年, 新疆发现了大豆疫霉菌, 且部分地区病害发生比较严重, 该病可能已成为新疆大豆生产上的一种潜在威胁^[3]。本研究拟检测新疆大豆产区的土壤, 并测定新疆大豆疫霉菌的毒力, 初步明确大豆疫霉菌在新疆的分布和新疆大豆疫霉菌的毒力组成, 以期为大豆抗疫霉根腐病品种的选育

以及抗病品种的合理布局提供理论上的指导。

1 材料和方法

1.1 土样的采集

2007—2008 年, 在新疆一些常年种植大豆的地区(表 1), 选择有根腐病发生史或地势低洼的大豆田, 采用五点取样法, 挖取大豆根部周围土壤约 200 cm³, 同一块田中的 5 个土样混合均匀, 最终取约 100 cm³ 置纸袋中带回实验室。将土样在室内晾干, 去除其中的植物组织和小石块等杂物, 倒入灭过菌的研钵中磨成粉末状, 放回纸袋置室温下保存。

1.2 菌株的分离

土壤中大豆疫霉菌的分离按王子迎等^[4]改进的

收稿日期: 2012-02-08

基金项目: 河南科技大学博士启动基金项目(09001506)

作者简介: 崔林开(1978-), 男, 河南林州人, 讲师, 博士, 主要从事植物疫霉病害研究。E-mail: cuilk@mail.haust.edu.cn

大豆叶碟诱捕法进行。大豆叶碟由感病大豆品种合丰 47 号制得,纯化的大豆疫霉菌株保存在 10% 的 V₈A 培养基上。

1.3 菌株的毒力测定

采用幼苗下胚轴伤口接种法鉴定大豆疫霉菌株的毒力,具体方法参照文献[5]。使用的 13 个鉴别寄主(抗病基因)分别为 Harlon (*Rps1a*)、Harosoy13xy (*Rps1b*)、Williams79 (*Rps1c*)、PI103091 (*Rps1d*)、Williams82 (*Rps1k*)、L76-1988 (*Rps2*)、Chapman (*Rps3a*)、PRX146-36 (*Rps3b*)、PRX145-48 (*Rps3c*)、L85-2352 (*Rps4*)、L85-3059 (*Rps5*)、Harosoy62xx (*Rps6*) 和 Harosoy (*Rps7*),感病对照品种为 Williams,每种鉴别寄主接种 10 株,试验重复 3 次。以植株死亡率作为抗感的分类标准:植株死亡率 $\leq 30\%$,记为抗病;植株死亡率 $\geq 70\%$,记为感病;植株死亡率介于 $30\% \sim 70\%$,记为中间类型。最终列出各个菌株的毒力公式,并计算大豆疫霉菌群体对各个抗病基因的毒力频率,毒力频率 = 能够克服某个抗病基因的菌株数/总菌株数 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 新疆大豆疫霉菌的分布

采用大豆叶碟诱捕法对来自阿勒泰地区布尔津县,博尔塔拉蒙古自治州博乐市、温泉县,伊犁哈萨克自治州巩留县、伊宁县、新源县、霍城县、察布查尔县,以及石河子市等 9 个县市的大豆田土壤进行了大豆疫霉菌分离,发现除伊犁哈萨克自治州霍城县和博尔塔拉蒙古自治州温泉县没有分离到大豆疫霉菌外,其他 7 个县市均分离到大豆疫霉菌(表 1),共分离到菌株 26 个(表 2)。说明大豆疫霉菌在新疆大豆产区的分布较为广泛,已成为新疆大豆生产的潜在威胁。

表 1 大豆疫霉菌在新疆的分布

采样地点	年份	检测结果
阿勒泰地区布尔津县	2007	+
博尔塔拉蒙古自治州博乐市	2007	+
博尔塔拉蒙古自治州温泉县	2008	—
伊犁哈萨克自治州巩留县	2007	+
伊犁哈萨克自治州伊宁县	2007	+
伊犁哈萨克自治州新源县	2007	+
伊犁哈萨克自治州霍城县	2008	—
伊犁哈萨克自治州察布查尔县	2008	+
石河子市	2008	+

2.2 新疆大豆疫霉菌的毒力多样性

使用 13 个鉴别寄主,采用幼苗下胚轴伤口接种法鉴定所分离到的 26 个大豆疫霉菌株的毒力,发现

新疆的大豆疫霉菌表现出丰富的毒力多样性,26 个菌株中共鉴定出 20 个不同的毒力型。其中,11 个菌株的毒力测定中未出现中间类型,而另外 15 个菌株的毒力测定中均出现中间类型。XJ04、XJ05 和 XJ06、XJ07 和 XJ13、XJ08、XJ15 和 XJ25、XJ17 和 XJ26 分别具有相同的毒力型,其余 16 个菌株的毒力型各不相同(表 2)。

表 2 新疆大豆疫霉菌的毒力鉴定

菌株	采样地点	毒力公式
XJ01	阿勒泰地区布尔津县	3b、3c、4、5、6
XJ02	阿勒泰地区布尔津县	$\pm 2、3b、3c、4、5、6、\pm 7$
XJ03	阿勒泰地区布尔津县	3c、4、5、6、 ± 7
XJ04	阿勒泰地区布尔津县	3c、4、5、6
XJ05	阿勒泰地区布尔津县	3c、4、5、6
XJ06	阿勒泰地区布尔津县	3c、4、5、6
XJ07	阿勒泰地区布尔津县	$\pm 2、3c、4、\pm 5、6$
XJ08	博尔塔拉蒙古自治州博乐市	2、3c
XJ09	石河子市	1d、2、3c、5、6、 ± 7
XJ10	石河子市	2、 ± 4
XJ11	伊犁哈萨克自治州察布查尔县	2、3a、3b、3c、4、5、6、7
XJ12	伊犁哈萨克自治州巩留县	$\pm 2、3a、3c、4、5、6、\pm 7$
XJ13	伊犁哈萨克自治州巩留县	$\pm 2、3c、4、\pm 5、6$
XJ14	伊犁哈萨克自治州巩留县	2、6、 ± 7
XJ15	伊犁哈萨克自治州巩留县	2、3c
XJ16	伊犁哈萨克自治州巩留县	$\pm 3c、4、5$
XJ17	伊犁哈萨克自治州巩留县	2、3c、4、5、6、 ± 7
XJ18	伊犁哈萨克自治州巩留县	2、3c、4、5、6
XJ19	伊犁哈萨克自治州巩留县	2、3c、4、5、 ± 6
XJ20	伊犁哈萨克自治州新源县	2、3c、4、 ± 6
XJ21	伊犁哈萨克自治州新源县	1b、2、3c、4、5、6、7
XJ22	伊犁哈萨克自治州新源县	2、3c、 $\pm 4、\pm 7$
XJ23	伊犁哈萨克自治州新源县	2、3c、 $\pm 4、\pm 5$
XJ24	伊犁哈萨克自治州新源县	2、3c、5
XJ25	伊犁哈萨克自治州伊宁县	2、3c
XJ26	伊犁哈萨克自治州伊宁县	2、3c、4、5、6、 ± 7

注:“ \pm ”表示中间类型。

2.3 新疆大豆疫霉菌的毒力组成

从图 1 可以看出,新疆的大豆疫霉菌群体对 13 个抗性基因的毒力频率差异明显,对抗性基因的毒力频率大小顺序为 $Rps3c > Rps4 > Rps2 = Rps5 = Rps6 > Rps3b > Rps3a = Rps7 > Rps1b = Rps1d > Rps1a = Rps1c = Rps1k$ 。新疆的大豆疫霉菌群体对 $Rps2$ 、 $Rps3c$ 、 $Rps4$ 、 $Rps5$ 和 $Rps6$ 的毒力频率均大于 69%,因此,对这 5 个抗病基因的毒力为优势毒力,说明抗病基因 $Rps2$ 、 $Rps3c$ 、 $Rps4$ 、 $Rps5$ 和 $Rps6$ 已被多数新疆大豆疫霉菌株所克服,基本丧失了应用价值。而对 $Rps1a$ 、 $Rps1b$ 、 $Rps1c$ 、 $Rps1d$ 、

Rps1k、*Rps3a*、*Rps3b* 和 *Rps7* 的毒力频率均小于 15%，特别是对于 *Rps1a*、*Rps1c* 和 *Rps1k*，其毒力频率均为 0，说明新疆大豆疫霉菌株都带有无毒基

因 *Avr1a*、*Avr1c* 和 *Avr1k*，因此，可以选用带有抗病基因 *Rps1a*、*Rps1c* 和 *Rps1k* 的大豆品种，能够有效控制新疆大豆疫霉根腐病的发生。

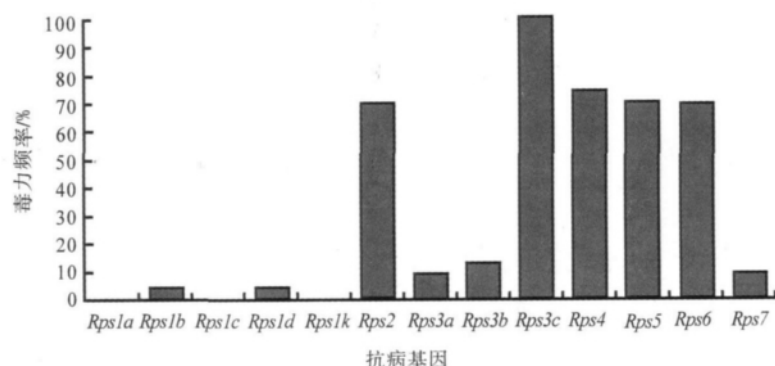


图 1 新疆大豆疫霉菌对 13 个抗病基因的毒力频率

3 结论与讨论

本研究从新疆大豆产区 9 个县市的大豆田采集土样，进行大豆疫霉菌的检测，结果从其中的 7 个县市分离到了大豆疫霉菌，分属于博尔塔拉蒙古自治州、伊犁哈萨克自治州、阿勒泰地区和石河子市，其中博尔塔拉蒙古自治州是首次发现大豆疫霉菌的存在。说明自 2005 年王华等^[3]首次在新疆发现大豆疫霉菌后，大豆疫霉菌根腐病在新疆大豆产区的危害不断扩大，目前在新疆大豆产区的分布已较为广泛，一旦出现适合的气候条件，大豆疫霉菌根腐病在新疆有可能大发生，造成较大的经济损失。因此，需密切监测新疆各个大豆产区该病害的发生情况，及时进行病害的防控，以防止该病害的大发生。

本研究采用幼苗下胚轴伤口接种法，对分离到的 26 个大豆疫霉菌株进行了毒力鉴定，发现 26 个菌株表现为 20 个不同的毒力型，显示出丰富的毒力多样性。这与董立明等^[6]的研究结果相似，他们从新疆的 34 个大豆疫霉菌株中鉴定出 28 个毒力型，同样表现出丰富的毒力多样性。但是本研究鉴定出的 20 个毒力型与他们鉴定的 28 个毒力型没有一个相同。这可能是由于采集土样的地点不同造成的，同时也说明大豆疫霉菌的进化速度比较快，容易发生变异，毒力多样性非常丰富。虽然测定的大豆疫霉菌毒力型没有一个相同，但其对 13 个抗病基因的

毒力频率存在一定的相似性，本研究中毒力频率表现最低的 3 个抗病基因是 *Rps1a*、*Rps1c* 和 *Rps1k*，董立明等^[6]研究中毒力频率最低的 3 个抗病基因是 *Rps1c*、*Rps1k* 和 *Rps3b*。抗病基因 *Rps1c* 和 *Rps1k* 在 2 次研究中都是毒力频率最低的，说明新疆大豆疫霉菌大多数都带有无毒基因 *Avr1c* 和 *Avr1k*，可应用抗病基因 *Rps1c* 和 *Rps1k* 对大豆疫霉根腐病进行有效控制。

参考文献：

- [1] Tyler B M. *Phytophthora sojae*: Root rot pathogen of soybean and model oomycete[J]. *Molecular plant pathology*, 2007, 8: 1-8.
- [2] 沈崇尧, 苏彦纯. 中国大豆疫病的发现及初步研究[J]. *植物病理学报*, 1991, 21(4): 298.
- [3] 王华, 李国英, 战勇, 等. 新疆大豆根腐疫病鉴定初报[J]. *新疆农业科学*, 2006, 43(2): 106-108.
- [4] 王子迎, 王源超, 张正光, 等. 土壤中大豆疫霉菌诱捕方法的改进[J]. *植物病理学报*, 2005, 35(6): 557-559.
- [5] Laviolette F A, Athow K L. Physiologic races of *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* in Indiana, 1973-1979[J]. *Plant Disease*, 1981, 65: 884-885.
- [6] 董立明, 王晓鸣, 郭庆元, 等. 新疆大豆疫霉菌毒力及大豆品种抗病性[J]. *新疆农业大学学报*, 2008, 31(4): 11-15.