

PHYTOPHTHORA ROOT AND STEM
ROT AND PATHOGENICITY
MECHANISM OF ITS PATHOTOXIN

大豆疫霉根腐病 及其毒素 的致病机制

张淑珍 吴俊江 著
李文滨 陈维元 杨传平 审
黑龙江科学技术出版社



大豆疫霉根腐病及其毒素的致病机制

PHYTOPHTHORA ROOT AND STEM ROT AND
PATHOGENICITY MECHANISM OF ITS PATHOTOXIN

张淑珍 吴俊江 著
李文滨 陈维元 杨传平 审

黑龙江科学技术出版社

中国·哈尔滨

图书在版编目 (CIP) 数据

大豆疫霉根腐病及其毒素的致病机制/张淑珍, 吴俊江著. —哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2007.1
ISBN 978-7-5388-5290-5

I. 大... II. ①张... ②吴... III. 大豆—根腐病—防治 IV. S435.651

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 003738 号

责任编辑 常瀛莲
封面设计 洪 冰
版式设计 汪 涟

大豆疫霉根腐病及其毒素的致病机制

PHYTOPHTHORA ROOT AND STEM ROT AND
PATHOGENICITY MECHANISM OF ITS PATHOTOXIN

张淑珍 吴俊江 著

李文滨 陈维元 杨传平 审

出 版 黑龙江科学技术出版社

(150001 哈尔滨市南岗区建设街 41 号)

电话 (0451) 53642106 电传 53642143 (发行部)

印 刷 黑龙江龙新印刷有限公司

发 行 黑龙江科学技术出版社

开 本 850×1168 1/32

印 张 6.375

字 数 200 000

版 次 2007 年 3 月第 1 版·2007 年 3 月第 1 次印刷

印 数 1—1 000

书 号 ISBN 978-7-5388-5290-5/S·651

定 价 25.00 元

前 言

大豆疫霉根腐病 (*Phytophthora sojae*) 是由大豆疫霉菌引起的一种对大豆危害较大的土传性真菌病害。该病危害严重, 减产明显, 感病品种损失可达 25%~50%, 有时达 100%, 是毁灭性的病害之一。

我国由于分离技术上的原因, 直到 1989 年才由沈崇尧和苏彦纯首次在黑龙江省分离成功, 证实了该病在我国的存在。其后, 大豆疫霉根腐病在该省逐年大面积发生, 现已成为制约大豆生产的主要因素之一。鉴于该病的严重危害, 我国学者分别对病原菌的分离方法、生物学特性、生理小种的分化、浸染、抗原筛选、抗性机制及防治等方面进行了较深入的研究。但在病害分布、病原菌的遗传多样性、病原菌的致病机制及大豆抗毒素的生理生化机制方面研究很少。

黑龙江省是我国大豆主产区, 而大豆疫霉根腐病在该省每年都呈现扩大蔓延趋势, 对病害分布进行调查以及病样采集和病原菌的分离纯化是研究该病的基础。根据笔者调查累积的数据, 本书中将对黑龙江省大豆疫霉根腐病地区分布及病原菌的分离纯化进行详细介绍。

大豆疫霉病菌是具有寄主专化性的致病菌, 在与寄主互作的过程中, 大豆疫霉病菌致病性、毒力在不断的演变, 目前国际上至少已鉴定出 55 个生理小种。可见, 对病原菌进行遗传多样性分析, 对揭示其毒力变异具有一定的意义。但如果只是用国际上通用的一套含不同抗大豆疫霉病基因的鉴别寄主进行病原菌的毒力分析和生理小种鉴定, 不仅具有一定的局限性, 而且很难在 DNA 水平揭示病原菌的遗传多样性。随着分子生物学的发展,

RAPD, ITS, SSR 等技术被广泛用于微生物遗传背景、种间和种内遗传相似性和多样性等的分析。本研究对在黑龙江省部分地区采集到的病样进行病原菌的分离、鉴定和纯化,并用来自北美的大豆疫霉菌菌株为参试试材,从分子水平揭示大豆疫霉菌的遗传变异及菌株之间的系统发育关系。同时,用来自加拿大的一套鉴别寄主对分离的菌株进行了生理小种鉴定,确定了黑龙江省的优势生理小种,并广泛搜集资源,进行了抗性资源的筛选。

病原物的浸染过程是在病原物与寄主植物在相互适应的基础上完成的。病原物对寄主的致病作用主要是通过产生破坏寄主的酶类、产生破坏寄主细胞膜和正常代谢的致病激素和正常代谢的毒素。目前,还未见对大豆疫霉根腐病菌毒素的研究报道。本书中介绍了筛选适合大豆疫霉根腐病菌毒素的液体培养条件、分离和提取毒素的方法,说明了毒素的组分、特性、致病活性以及毒素对抗、感寄主在细胞水平上的致病差异。

本书中还对抗、感不同水平的大豆对疫霉根腐病菌毒素的生理生化抗性进行了研究,为揭示大豆抗毒素机制奠定了一定的理论基础。

感谢东北农业大学大豆研究所李文滨所长和我的博士后导师——东北林业大学杨传平教授及黑龙江省农业科学院绥化农业科学研究所陈维元研究员对实验多年悉心指导,感谢中国农业科学院作物所邱丽娟研究员和常汝镇研究员对编者实验给予的关心和指导,感谢许修宏教授、左豫虎教授以及徐鹏飞、韩英鹏、赵孝武、靳立梅、王金生、于安亮、陈晨、南海洋对本书出版给予鼎力相助。

本书的出版,得到了国家自然科学基金(30400285)“大豆疫霉根腐病菌的分离纯化、生理小种鉴定、抗原筛选及致病过程中基因表达序列标签分析”、国家自然科学基金(30671317)“SSH 结合 cDNA 芯片筛选大豆疫霉根腐病抗性相关基因”、黑龙江省普通高校骨干教师项目“大豆抗疫霉根腐病基因资源拓宽

及 EST 图谱构建”、黑龙江省青年基金 (QC06C012)、黑龙江省农业科学院博士后基金 (LRB06-010)、国家教育部大豆生物学重点实验室开放课题、博士后落户黑龙江启动基金 (LBH-Q05032)、国家重点基础研究发展规划课题 (973) 子课题 (2004CB117203-4)、中国博士后基金 (20060400825)、农业部寒地重点开放实验室开放课题“大豆疫霉根腐病抗性相关基因 cDNA 序列的克隆与定位”、黑龙江省教育厅新世纪人才基金 (NCET-06-007) 和科技部国际合作项目 (2005DFA30340) 的资助, 特此感谢。

由于笔者经验不足、时间有限, 书中难免有不妥之处, 敬请有关专家、同行、广大读者批评指正。

张淑珍 吴俊江

2006 年 12 月于哈尔滨

谨以此书献给敬爱的恩师！

本书出版得到国家自然科学基金 (30400285)、国家自然科学基金 (30671317)、黑龙江省教育厅高校骨干教师项目“大豆抗疫霉根腐病基因资源拓宽及 EST 图谱构建”、黑龙江省青年基金 (QC06C012)、黑龙江省农业科学院博士后基金 (LRB06-010)、国家教育部大豆生物学重点实验室开放课题 (SB06A09)、博士后落户黑龙江启动基金 (LBH-Q05032)、国家重点基础研究发展规划课题 (973) 子课题 (2004CB117203 - 4)、中国博士后基金 (20060400835)、农业部寒地重点开放实验室开放课题“大豆疫霉根腐病抗性相关基因 cDNA 序列的克隆与定位”、黑龙江省教育厅新世纪人才基金 (NCET-06-007) 和科技部国际合作项目 (2005DFA30340) 资助，一并感谢。

目 录

第一章 大豆疫霉根腐病及病原菌毒素的研究现状	(1)
第一节 大豆疫霉根腐病研究现状与大豆抗性机制	
研究进展.....	(1)
一、大豆疫霉根腐病研究现状.....	(1)
二、大豆抗疫霉根腐病机制的研究.....	(9)
第二节 病原菌 DNA 分子标记研究进展	(16)
一、常用 DNA 分子标记技术特点	(17)
二、分子标记技术在病原真菌上的应用	(21)
第三节 病原菌毒素的研究进展及植物抗毒素机制	
研究	(25)
一、病原生物的致病因子毒素的致病机制	(26)
二、植物抗毒素的机制	(32)
三、毒素在农业上的应用	(35)
四、大豆疫霉根腐病研究展望	(36)
第二章 黑龙江省大豆疫霉根腐病分布及病原菌分离	
鉴定	(38)
第一节 黑龙江省大豆疫霉根腐病分布调查	(38)
一、实验材料与方法	(38)
二、结果与分析	(38)
三、小结	(40)
第二节 大豆疫霉根腐病菌的分离鉴定	(41)
一、实验材料与方法	(41)
二、结果与分析	(42)
三、小结	(45)

第三章 大豆疫霉根腐病菌的遗传多样性分析、生理小种鉴定及抗原筛选	(46)
第一节 大豆疫霉病菌的 RAPD 和 EST-SSR 分析	(47)
一、实验材料与方法	(47)
二、结果与分析	(50)
三、小结	(56)
第二节 大豆疫霉病菌的 ITS 分析	(57)
一、实验材料与方法	(57)
二、结果与分析	(59)
三、小结	(66)
第三节 病原菌菌株的生理小种鉴定	(66)
一、实验材料与方法	(66)
二、结果与分析	(68)
三、小结	(68)
第四节 栽培大豆和野生大豆的抗性资源鉴定	(69)
一、实验材料与方法	(70)
二、结果与分析	(71)
三、小结	(76)
第四章 大豆疫霉根腐病菌致病毒素的产生、提取、组分及致病机制	(77)
第一节 大豆疫霉根腐病菌产毒条件的优化	(77)
一、实验材料与方法	(77)
二、结果与分析	(79)
三、小结	(82)
第二节 大豆疫霉根腐病菌毒素的提取及生物活性的测定	(82)
一、实验材料与方法	(82)
二、结果与分析	(83)
三、小结	(95)

第三节 大豆疫霉根腐病原菌毒素组分的分析	(96)
一、实验材料与方法	(96)
二、结果与分析	(101)
三、小结	(109)
第四节 大豆疫霉根腐病菌毒素对抗感不同大豆品 种叶片和根部超微结构的影响	(110)
一、实验材料与方法	(110)
二、结果与分析	(111)
三、小结	(127)
第五章 大豆对疫霉根腐病菌毒素的生理生化抗性	(128)
一、实验材料与方法	(128)
二、结果与分析	(136)
三、小结	(155)
第六章 讨论与结论	(156)
一、讨论	(156)
二、主要结论	(168)
参考文献	(172)

第一章 大豆疫霉根腐病及病原菌毒素的研究现状

第一节 大豆疫霉根腐病研究现状与大豆抗性机制的研究进展

一、大豆疫霉根腐病研究现状

大豆疫霉根腐病 (*Phytophthora sojae* M. J. Kaufmann & J. W. Gerdemann, 异名 *P. megasperma* Drechs. f. *sp. glycinea* T. Kuan & D. C. Erwin) 是由大豆疫霉菌引起的一种对大豆危害较大的土传性真菌病害 (Schmitthenner, 1972)。大豆疫霉根腐病危害严重, 减产明显, 感病品种损失可达 25% ~ 50%, 有时达 100%, 是毁灭性的病害之一。

大豆疫霉根腐病于 1948 年首次在美国的印地安纳州发现, 而后相继在澳大利亚、加拿大、巴西、阿根廷、日本、意大利、新加坡、俄罗斯、白俄罗斯、乌克兰、哈萨克斯坦、匈牙利、德国、英国、法国、瑞士、新西兰、埃及、尼日利亚、印度、中国等国都发现了该病 (Hildebrand *et al.*, 1959; 沈崇尧等, 1991; Jee Hyeongjin *et al.*, 1998; 徐永华等, 1999), 可见由疫霉菌引起的大豆根腐病和茎腐病已成为一个主要的世界性大豆病害。

我国由于分离技术上的原因, 直到 1989 年才由沈崇尧和苏彦纯首次在东北大豆主产区分离成功, 证实了该菌在我国的存在。其后苏彦纯等 (1993) 在黑龙江省、吉林省和北京分离到该病原菌, 并对病原菌的形态、生物学特性、菌体可溶蛋白质凝胶

电泳和菌体酯酶同工酶电泳、致病性及寄主范围、卵孢子在土壤中存活的情况进行了初步研究。其后周肇蕙等（1995）、李宝英和马淑梅（1996）以及王晓鸣等（1998）相继在黑龙江省的多个地区发现了大豆疫霉根腐病原菌。到1997年，大豆疫霉根腐病已在黑龙江省的29个县（市）和4个国营农场发生，发病面积达80 000 hm²，成为严重影响该省大豆生产的新问题（韩晓增等，1998）。1998年黑龙江省的34个县、5个国营农场分局有306.7万hm²大豆田出现该病害。迄今为止，大豆疫霉根腐病发病面积在黑龙江省仍呈现扩大蔓延趋势。

鉴于该病的严重危害，自20世纪50年代起，国内外，特别是北美的学者们分别对病原菌的分离方法、生物学特性、生理小种的分化、浸染、抗原筛选、抗性机制及防治等方面进行了较深入的研究，现分述如下：

1. 大豆疫霉根腐病的危害症状及病原菌的分离

大豆疫霉根腐病菌是一种真菌，属于鞭毛菌亚门、卵菌纲、霜霉目、腐霉科、疫霉属。除浸染大豆外，在温室人工接种的条件下，还可以造成苜蓿草（*Medicago sativa* L.）、甜三叶草（*Melilotus alba* Desr.）的猝倒死亡，对菜豆（*Phaseolus vulgaris* L.）、老鹳草（*Geranium carolinianum* L.）也有致病力（Schmitthenner, 1989）。大豆疫霉根腐病可引起种子腐烂、出苗前腐坏、出苗后枯萎或生长发育的其他时期植株生活力下降、逐渐死亡（Kittle *et al.*, 1979; Athow *et al.*, 1985, 1987）。大豆在整个生育期均可感染大豆疫霉病，尤以苗期最宜感病。感病品种苗期被浸染，其茎呈水渍状，叶片变黄萎蔫以至死亡，在抗病品种上只浸染根部表现矮化。在较老的植株上，感病品种下部叶片黄化，上部叶片褪绿，以后植株萎蔫，叶片一般不脱落，密植易发病，暗褐色病斑可扩展到地上部第10节上，最后皮层及维管组织变色。在较耐病的品种上根腐只限于侧根，植株一般不死亡，可出现矮化和叶片轻微褪绿，症状类似轻度缺氮，偶有狭

长凹陷的褪色病斑扩展到茎部一侧。大雨后该病菌还可引起叶片萎蔫，病斑浅褐色，边缘黄色，感病品种幼苗期整个叶片黄化，病斑在较老的叶片上限于局部，此所谓的成株期抗性（Sinclair, 1982）。这种病症可导致高达 40% 的产量损失，一般成条或成块发病，很少单株发病（Quebral, 1976; Ross *et al.*, 1982）。

病原菌的分离是病害系统研究中最基本的环节之一，所谓分离，就是指用人工的方法将病原菌从植物病组织中或从土壤中分开，然后培养成纯的培养物（黄世钰，1993）。但分离大豆疫霉根腐病原菌是比较困难的，因为由其引起的病害，在后期容易伴生次生菌，如 *Fusarium spp.*, *Phythium spp.* 和 *Rhizoctonia*，所以在分离过程中容易受到它们的污染或本身复合浸染（周肇蕙等，1995）。大豆疫霉菌虽然较难分离，但只要在选择标样时注意采集典型的、新鲜的材料，严格掌握消毒方法和时间，选择适宜疫霉菌生长的培养基，分离成功的机率就会大大提高。根据分离材料和发病部位的不同，可采用不同的分离方法，主要有病株分离法、土壤分离法、诱饵法等方法（李宝英，1997）。王晓鸣等（1998）认为从病株上成功分离大豆疫霉菌的关键在于以下几个方面：一是应选用对光不敏感的药剂组配选择性培养基，以适应长期的田间调查与分离工作；二是必须选择新鲜病株进行分离；三是酒精表面消毒后应用无菌水彻底冲洗，以防酒精影响大豆疫霉根腐病菌的生长；四是消毒后分离部位必须用无菌吸水纸吸干，以减少细菌污染；五是所取组织应在病健交界处，老的病组织易被其他弱寄生菌如腐霉菌和镰刀菌污染；六是所取病组织块不宜过小，在较大病组织块上大豆疫霉根腐菌容易长出；七是田间已干枯病株不宜做病原菌分离，可采集病土用感病品种诱发病株再进行组织分离，或用叶片诱集法直接从土壤中分离。

2. 大豆疫霉根腐病菌的形态特征、生物学特性和生活史

大豆疫霉根腐病菌的幼龄菌丝无隔多核，老龄菌丝有隔，菌丝分枝近直角，基部溢缩。孢子囊无色，呈倒梨形，大小为

(42~65) μm $\times$ (32~53) μm , 孢子囊萌发形成泡囊, 泡囊壁很薄, 内含大量游动孢子, 很快伸长开裂。有的游动孢子留在泡囊内, 并在其内萌发, 形成芽管穿过泡囊壁。孢子囊有时直接萌发产生芽管, 其作用类似分生孢子或直接由顶端孔口释放出游动孢子, 在老的空孢子囊内一般形成新孢子囊, 也可形成厚垣孢子。游动孢子多为肾形, 一端或两端钝圆, 侧面平滑, 前面一根鞭毛, 后面一根比前者长4~5倍, 游动孢子游动缓慢, 从运动到形成休眠孢子需数天。大豆疫霉菌菌落呈白色, 绒毡状。菌株的最适生长温度为25~28℃, 最高为32~35℃, 最低为5℃。产生游动孢子的最适温度为20℃, 最低温度为5℃, 最高温度为35℃。孢子囊直接萌发的最适温度为25℃, 间接萌发的最适温度为14℃ (Hilty *et al.*, 1962; Sinclair, 1982)。卵孢子形成和萌发的最适温度为24℃。休眠孢子在营养液中比在蒸馏水中萌发率高 (Sinclair, 1982)。菌株都能利用淀粉作为唯一的碳源, 并且在利用能力上差异不明显。在含有0.125 mg/mL的孔雀石绿的CA上能正常生长 (沈崇尧等, 1991; 文景芝等, 1998)。该菌在利马豆、V-8汁液、玉米粉、胡萝卜琼脂、芸豆、马铃薯葡萄糖琼脂等多种培养基上生长良好。

大豆疫霉根腐病原菌的菌丝体均为同宗结合。菌丝体生长一定时期, 在温湿度条件适宜的时候, 进行无性繁殖, 产生孢子囊, 在作物的生长季节可以反复多次地进行再浸染。当外界环境条件不适宜时, 便产生厚垣孢子, 或由雌雄配子体配合形成卵孢子, 以休眠的状态抵御不良环境。*P. sojae* 的卵孢子可以在土壤中存活多年, 当外界条件适宜时, 卵孢子可直接萌发产生芽管, 当接触到固体表面时芽管膨大产生附着胞, 然后马上从附着胞上产生菌丝。休眠孢子也可产生孢子囊, 当下大雨或灌溉土壤水分饱和时, 孢子囊释放大量的游动孢子, 游动孢子附着于种子或幼苗根上, 进而萌发浸染。所以, 水分饱和的土壤是浸染的必要条件。

3. 大豆疫霉根腐病菌的生理小种分化

自从 1955 年 Kaufmann 等首次报道了大豆疫霉根腐病以来, *P. sojae* 的致病性分化十分复杂, 新的小种不断出现, 除大量中间型外, 到目前为止已报道的至少有 55 个生理小种。1957 年 Bernard 等鉴定了第 1 个生理小种, 此后 Morgen 等在 1965 年在美国的密西西比州发现并鉴别了 2 号生理小种; 到了 1972 年由 Schmitthenner 在俄亥俄发现了 3 号生理小种; Schwenk 于 1974 年报道了在美国的堪萨斯州发现的 4 号生理小种; 5 号和 6 号生理小种是 Hass 在加拿大发现的; 7~9 号小种是由 Laviolette 在 1977 年首次报到的; 1979 年 Keeling 在美国的密西西比州发现了 10~16 号小种, 他在 1982 年又报道了 17~20 号小种; Laviolette *et al.* 报道了美国印地安纳州的小种 21 号和 22 号; White *et al.* 报道了美国内布拉斯州的 23 号小种; Layton *et al.* 在 1986 年报道了 24 号和 25 号小种; Merr L. 分离出了 26 号小种; Wagner 于 1992 年分离出了 27 号生理小种; 在 1993 年又鉴定出了 28 号、29 号和 30 号生理小种; 35~40 号小种是在俄亥俄、加利福尼亚、阿肯萨斯和依阿华分离鉴定的 (Henry, 1995); Abney *et al.* 于 1997 年报道了印地安纳州的 33~45 号小种; Reley *et al.* 于 1998 年报道了在澳大利亚发现的 46~53 号小种。目前为止, 国际上已报道了至少 55 个大豆疫霉菌生理小种 (Leitz and Hartman, 2000)。

在我国马淑梅等 (1999) 对黑龙江省三江平原大豆田的 10 株疫霉根腐病株进行了测定, 初步认为其中 7 个菌株属于 1 号生理小种。许修宏 (2000) 采用下胚轴接种法, 利用美国寄主对从黑龙江省的大部分县市及吉林省的舒兰市分离到的大豆疫霉根腐病菌进行了分析, 鉴定出了 1 号、3 号和 8 号生理小种。

4. 大豆疫霉根腐病菌的同工酶研究及分子遗传标记的建立

同工酶技术是 20 世纪 70 年代发展起来的一项新技术, 它将蛋白质结构的近代知识与同工酶概念联系起来, 并作为一种有力

的生化技术得到广泛地应用。自从 Chang (1962) 首次将可溶性蛋白凝胶分析引入脉孢泳的研究以来, 在病原菌的研究中已有很多应用同工酶分析的研究报道。研究的结果一致认为, 同工酶技术为病原菌的鉴定及其分类提供了新的方法和依据。Nygaard *et al.* (1989) 对 *P. sojae* 的同工酶谱分析指出, 其种内同工酶带相对一致, 但与其他 *Phytophthora* 有明显的差异。

随着分子生物学的发展, 分子标记已广泛地应用到各种生物的研究之中。Forster *et al.* (1994) 对 *P. sojae* 的 48 个菌株 (包括 25 个生理小种) 的核 DNA 及线粒体 DNA 的 RFLP 分析指出, 种内存在中度变异。包括 7 个生理小种的一组菌株的 RFLP 图谱几乎与 1 号生理小种一致, 这说明这些小种可能是由 1 号生理小种突变而来的。绝大多数的 RFLP 变异都可以在 4 个基因型中找到, 这 4 个基因型是 P1658, P7064, P7074 和 P7076。其他菌株似乎是由这 4 个基因型偶尔杂交产生的。从实验结果看, 尚无法用 RFLP 鉴别 *P. sojae* 的不同生理小种。Whission *et al.* (1992) 用核 DNA 探针、cDNA 探针和 RAPD 对美国 5 个菌株的研究结果和 Drenth *et al.* (1996) 用 5 个 RFLP 探针对代表 12 个生理小种的 15 个美国菌株的实验结果表明, 美国的 *P. sojae* 群体比澳大利亚的 *P. sojae* 群体具有更大的基因型变异。许修宏 (2001) 运用毒性和 RAPD 多态性检测采自黑龙江省、吉林省的 20 个大豆疫霉根腐病菌株的遗传变异, 结果表明, 供试引物可以将菌株分成若干个 RAPD 类型, 将几个引物扩增出来的 RAPD 图谱综合起来, 可以将所有菌株有效区分开来。说明大豆疫霉根腐病菌群体内部存在着丰富的遗传多样性, 也证明了 RAPD 技术是检测植物病原真菌群体遗传变异的有效工具。

5. 抗、耐性资源筛选

尽管 *P. sojae* 生理小种很多, 并且新小种出现也较快, 利用抗、耐性品种仍然是最有效的防治手段 (Sinclair, 1982;

Schmithenner, 1985), 这样大豆疫霉根腐病抗原的筛选工作就尤为重要。国外对抗原筛选方面做了大量的工作。研究表明, 不论在美国、澳大利亚、加拿大还是中国大豆品种中, 单基因小种专化抗性都普遍存在, 这就为利用 *Rps* 基因防治 *P. sojae* 提供了极为有利的条件。现在利用较多的 *Rps* 基因有 *Rps1-a*, *Rps1-c* 和 *Rps1-k*, 其中 *Rps1-k* 抗 20 多个小种, *Rps1-a* 和 *Rps1-c* 抗十多个小种, 利用这些抗病基因育成许多抗病品种 (Hartwig *et al.*, 1998; Kile *et al.*, 1998)。在我国, 朱振东 (1998) 用 1 号生理小种接种来源于黑龙江省的 82 个大豆品种和 53 个大豆品系, 结果表明, 其中的 16 个品种及 27 个品系表现为抗性。许修宏等 (1999) 对东北三省的大豆种质进行了筛选, 7.6% 的品种对美国强毒性小种 R25 抗病, 28.3% 的种质对本地代表菌株 1 号小种表现抗病, 2.6% 的品种对 2 个小种均表现抗病, 这表明东北地区大豆疫霉根腐病抗原十分丰富。抗病品种可完全控制病害, 并且抗性基因易于转育, 但单基因抗性强, 对病菌的选择压力大, 就促进了新小种的出现, 从而使原来的品种抗性丧失, 利用具有多个抗性的单基因系的品种可以延长其抗性保持年限。

耐病性是非小种专化性的, 其大豆疫霉根腐病的持久性上会更好些。但耐病性品种是感染的, 有时可能严重受害, 它本身对病害的防治能力有限, 但可以与其他的防治方法相结合。如与药剂防治相结合, 或与专化的抗病品种的抗性基因用回交的手段相结合 (Buzzell, 1982), 既可有效地防治病害, 又可保持抗性的持久性。

6. 大豆疫霉根腐病抗性基因的发掘及耐病遗传的研究

对大豆疫霉根腐病抗病基因的研究起步较早, 1954 年大豆疫霉根腐病被正式确定由 *P. sojae* 引起, 同年在 Blackhawk 和 Monroe 2 个品种中发现了抗病基因 *Rps1*, 携带该基因的品种很快在美国得到推广。1972 年以前, 大豆疫霉根腐病似乎得到了