

研究报告

## 大豆疫霉对寄主大豆和非寄主菜豆根及根分泌物的响应与其对寄主选择性的关系

武文旭 陈秋明 陈宇飞 吴迪 高新颖 赵钰琦 徐莹 张卓群

宋光梅 文景芝\*

(东北农业大学农学院 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:**【背景】大豆疫霉根腐病作为大豆生产上的一种毁灭性病害已被美国、加拿大等多国报道,其病原菌大豆疫霉(*Phytophthora sojae* Kaufmann and Gerdemann)为典型的土传病原菌。近年来,土传病原菌与植物根系的互作成为研究土传病原菌寄主选择机制的主要方向。【目的】探究寄主大豆和非寄主菜豆根及根分泌物对大豆疫霉的不同影响,阐明这种影响与大豆疫霉对寄主选择的关系。【方法】应用原位土培法种植大豆疫霉感病品种 Sloan、抗病品种 Williams82 和非寄主菜豆一点红,测定了单个大豆疫霉游动孢子对寄主大豆和非寄主菜豆幼根的侵染行为,收集了寄主及非寄主根分泌物,测定了根分泌物对大豆疫霉游动孢子的趋化作用,包括吸引游动孢子的能力以及对游动孢子成囊、孢囊萌发和芽管生长的影响。【结果】大豆疫霉单个游动孢子对寄主大豆幼根表现强烈趋向性,沿着根面进行多次试探性接触后在根尖伸长区快速成囊并萌发,产生的芽管顶端贴附在幼根表面,在感病大豆品种根面上的芽管比抗病大豆品种上的短且粗,而非寄主菜豆幼根则不具有趋向性,接触一次后即远离,最终在距离幼根 75  $\mu\text{m}$  的位置成囊萌发,且芽管生长不具有方向性。此外,大豆疫霉游动孢子对抗病、感病大豆和非寄主菜豆幼根的侵染行为差异完全在根分泌物试验中重现,即寄主大豆根分泌物对大豆疫霉游动孢子具有较强的趋向作用,能够有效吸引游动孢子,促进游动孢子快速成囊及萌发,抑制芽管的伸长,而非寄主菜豆根分泌物不具有上述作用。【结论】大豆疫霉对寄主的选择性与根分泌物有关,为进一步了解大豆疫霉的寄主选择机制提供理论依据。

**关键词:** 大豆疫霉, 游动孢子, 根分泌物, 趋化性, 寄主选择性

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (31670444, 31370449)

\*Corresponding author: E-mail: jzhwen2000@163.com

**Received:** November 23, 2017; **Accepted:** March 16, 2018; **Published online** (www.cnki.net): April 11, 2018

基金项目: 国家自然科学基金(31670444, 31370449)

\*通信作者: E-mail: jzhwen2000@163.com

收稿日期: 2017-11-23; 接受日期: 2018-03-16; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-04-11

## Response of *Phytophthora sojae* zoospores to the rootlet and root exudates of host soybean and non-host common bean and host selectivity

WU Wen-Xu CHEN Qiu-Ming CHEN Yu-Fei WU Di GAO Xin-Ying ZHAO Yu-Qi  
XU Ying ZHANG Zhuo-Qun SONG Guang-Mei WEN Jing-Zhi\*

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

**Abstract:** [Background] *Phytophthora* root rot as a devastating soybean disease has been reported in the United States, Canada and many other countries, its pathogen *Phytophthora sojae* is a typical soil-borne pathogen. In recent years, the interaction between soil-borne pathogens and plant roots has become the main direction for studying the host selectivity mechanism of soil-borne pathogens. [Objective] To study the effects of *Phytophthora sojae* zoospores to the rootlet and root exudates of host soybean and non-host common bean, illustrate the relationship between these effects and *P. sojae* selecting its host. [Methods] The soybean susceptible cultivar Sloan and resistant cultivar Williams82 as well as non-host common bean Yidianhong of *P. sojae* were cultivated by the method of situ soil culture. The pre-infection behavior of the single zoospore of *P. sojae* to the rootlet of host soybean and non-host common bean was determined. The root exudates of host soybean and non-host common bean were collected and the chemotaxis of *P. sojae* zoospores to the root exudates was measured, including taxis of the zoospores to the root exudates, the promotion of the root exudates on the zoospores encystment, and on the germination and the growth of the germ tubes. [Results] The single zoospore had strong chemotaxis to the host rootlet. It encysted and germinated rapidly on the elongation zone of the root tip after several exploratory contacts along the root surface. The tip of the germ tube attached to the rootlet surface. The difference between the susceptible and resistant cultivar was that the germ tube on the rootlet of susceptible cultivar is shorter and thicker. However, the single zoospore had no chemotaxis to the rootlet of non-host common bean rootlet. It ran away from the rootlet after first visit of the rootlet surface, then encysted and germinated in a random growth direction at the location of approximately 75  $\mu\text{m}$  far away from the rootlet. The substantial difference in the behavior which the *P. sojae* zoospores infected the rootlet of host soybean and non-host common bean had been repeated in the experiments with root exudates, that is *P. sojae* zoospores had strong chemotaxis to host root exudates. The host root exudates could effectively attract zoospores and promote encystment of the zoospores and germination of cysts, but inhibit the growth of the germ tube, whilst the root exudates of non-host common bean had no effect on the zoospores. [Conclusion] *P. sojae* selects its host depending on the root exudates, which will provide a theoretical basis for further understanding the host selection mechanism of *P. sojae*.

**Keywords:** *Phytophthora sojae*, Zoospores, Root exudates, Chemotaxis, Host selection

大豆疫霉根腐病是大豆生产上的毁灭性病害，全世界每年因该病造成的经济损失高达 10 亿美元以上<sup>[1]</sup>。引起大豆疫霉根腐病的病原菌为大豆疫霉 (*Phytophthora sojae* Kaufmann and Gerdemann)，在自然条件下只侵染大豆 (*Glycine max* (L.) Merr)<sup>[2]</sup>，寄主范围非常窄<sup>[3-4]</sup>。

大豆疫霉为典型的土传病原菌，土传病原菌与植物根系互作是其成功定位寄主和导致土传病害发生的关键<sup>[5]</sup>。研究表明，植物根分泌的一些化合物作为信号物质调节植物与微生物的相互作用，抑制或促进微生物生长发育。如辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 抗病品种根分泌物对辣椒疫霉 (*Phytophthora capsici*)

菌丝生长、游动孢子囊形成、游动孢子释放和孢囊萌发均有显著抑制作用<sup>[6]</sup>; 假苍耳(*Iva xanthifolia*)根分泌物对根瘤菌(*Rhizobium*)生长具有一定抑制作用, 并且这种抑制作用随着根分泌物浓度的增加而逐渐增强<sup>[7]</sup>; 西瓜(*Citrullus lanatus*)根分泌物能显著促进西瓜专化型尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *Niveum*, FON)分生孢子的产生和萌发, 而非寄主植物水稻(*Oryza sativa*)根分泌物能显著抑制该菌的产孢和萌发<sup>[8]</sup>, 以上研究均证明植物根分泌物能影响病原菌的行为。

大豆疫霉主要利用游动孢子进行侵染。当土壤积水时卵孢子萌发产生的游动孢子囊(也可以由菌丝产生)会释放大量游动孢子, 游动孢子感受到寄主幼根发出的信号时就会游向寄主幼根, 接触到根面后快速成囊, 产生芽管侵入寄主<sup>[9-10]</sup>。研究表明, 大豆疫霉游动孢子对寄主根及其分泌物有强烈的趋向性, 即使将根分泌物稀释 100 倍, 这种趋向性依然存在<sup>[11-13]</sup>, 说明大豆疫霉的寄主选择与其寄主大豆根分泌物有关。但大豆疫霉不侵染非寄主是否与非寄主根及其分泌物有关尚不清楚。本论文以大豆感病品种、抗病品种和非寄主菜豆为试验材料, 研究他们的根及根分泌物对大豆疫霉游动孢子侵染前和侵染初期行为的影响, 为阐明根分泌物在大豆疫霉决定其寄主范围中的作用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株及植物品种

大豆疫霉(*Phytophthora sojae* Kaufmann and Gerdemann)菌株 Eps597-3, 由东北农业大学植物病理学实验室保存, 致病型为 1a、3c、7, 保存在胡萝卜琼脂(CA)培养基上<sup>[14]</sup>。

大豆感病品种 Sloan 和抗病品种 Williams82 由阿肯色大学的 Sung M. Lim 博士惠赠, Sloan (*rps*)不含任何已知抗大豆疫霉根腐病基因, 可被大豆疫霉任何生理小种侵染; Williams82 含有 *Rps1k* 基因, 对 Eps597-3 表现抗病; 菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)一点红为黑龙

江省主栽品种, 非寄主, 市购。

### 1.2 主要试剂和仪器

磷酸, 天津市天力化学试剂有限公司。荧光显微镜, Nikon 公司; 德国冷冻真空干燥器, Martin Christ 公司。

### 1.3 大豆疫霉游动孢子对寄主和非寄主幼根的侵染行为

#### 1.3.1 供试植物幼根的准备

分别选取籽粒饱满的大豆感病品种 Sloan、抗病品种 Williams82 和非寄主菜豆一点红种子数粒, 表面消毒和冲洗后置 25 °C 恒温恒湿光照培养箱内催芽, 当幼根长至 7 cm 时, 取幼根备用。

#### 1.3.2 大豆疫霉游动孢子悬浮液制备

采用 Suo 等<sup>[14]</sup>的方法制备大豆疫霉游动孢子悬浮液。本试验中单个游动孢子对寄主和非寄主幼根的侵染行为研究、游动孢子对寄主和非寄主幼根及根分泌物的趋化性研究采用 300 个游动孢子/mL 和 500 个游动孢子/mL 的游动孢子悬浮液, 其他试验采用  $2 \times 10^4$  个游动孢子/mL(以下将单位个游动孢子/mL 简写为 z/mL)。

#### 1.3.3 寄主和非寄主幼根对单个游动孢子侵染行为的影响

在洁净血球计数板上滴 250  $\mu$ L 无菌水, 将一段供试植物幼根放置于无菌水中, 置于荧光显微镜下, 先在自然光下观察, 找到目标, 调整好位置和焦距, 用移液器从吸取含有 1 个游动孢子的大豆疫霉游动孢子悬浮液滴加到距离幼根较远一侧, 在坐标纸上根据血球计数板上的小格建立横纵坐标, 在蓝光(475 nm)下观察游动孢子游动情况, 当游动孢子游动到某个坐标点时, 及时记录坐标的具体位置, 直到游动孢子停止游动为止。最终得出游动孢子朝寄主感病品种和抗病品种以及非寄主一点红幼根游动的轨迹模拟图。当游动孢子停止游动开始萌发时, 继续在蓝光(475 nm)下观察萌发及芽管生长情况。全程记录游动轨迹以及游动孢子停止游动和开始萌发的时间, 测量接种后 120 min 的芽管长

度。试验重复 3 次。

### 1.3.4 游动孢子对寄主和非寄主幼根的趋化性

趋化性试验在 Suo 等<sup>[14]</sup>描述的一种测定室内进行。将供试植物幼根插入到趋化性测定室的孢悬液中。在 5 min 内每隔 1 min 记录根际周围 5  $\mu\text{m}$  范围内的游动孢子数量。试验重复 3 次。

## 1.4 根分泌物对大豆疫霉游动孢子的趋化作用

### 1.4.1 根分泌物收集

盆栽大豆 Sloan、Williams82 和菜豆一点红出苗后 20 d 将植株完整拔出,依次用蒸馏水和去离子水将根系冲洗干净,取 15–20 g 植物根系浸入 100 mL 灭菌去离子水中,根部做遮光处理。在去离子水中滴加 1 滴浓磷酸以避免微生物对根分泌物的分解,同时在等量灭菌去离子水中滴加 1 滴浓磷酸做平行对照,该灭菌去离子水即为后续对照试验使用的去离子水,以消除浓磷酸对试验结果的影响。放在阳光下培养 5 h,根分泌物会释放到去离子水中。将含有根分泌物的去离子水过滤除菌后用冷冻真空干燥器冷冻干燥成粉末备用。一般浸泡 15–20 g 根系的 100 mL 灭菌去离子水可冷冻干燥成 0.36 g 粉末。本试验中应用的根分泌物溶液按 1 g 根干重对应 1 mL 浓缩液的比例加灭菌去离子水溶解。

### 1.4.2 根分泌物吸引大豆疫霉游动孢子的数量

在充满游动孢子悬浮液的趋化性测定室两端分别插入充满灭菌去离子水(为之前加磷酸的平行对照液,下同)的毛细管和充满根分泌物的毛细管,记录 5、15、25、35、45、55 min 时 2 只毛细管中的游动孢子数量。试验重复 3 次。

### 1.4.3 根分泌物对大豆疫霉游动孢子成囊的影响

将游动孢子悬浮液与根分泌物轻轻混合后(二者的终浓度为试验所需浓度)加入到凹玻片的凹槽内,以不加根分泌物的游动孢子悬浮液为对照,记录 30、60、90、120 min 时游动孢子成囊率。试验重复 3 次。

### 1.4.4 根分泌物对大豆疫霉游动孢子萌发和芽管生长的影响

利用涡旋混合器使游动孢子成囊,将游动孢子

悬浮液与根分泌物混合后(二者的终浓度为试验所需浓度)加入到凹玻片的凹槽内,以不加根分泌物的游动孢子悬浮液为对照,记录 16、17、18 h 时孢囊萌发率及芽管长度。试验重复 3 次。

## 1.5 数据分析

用 WPS 表格 2016 进行散点图和柱形图的绘制,用 SPSS 17.0 进行数据的方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆疫霉游动孢子对寄主和非寄主幼根的侵染行为及趋化性

#### 2.1.1 大豆疫霉游动孢子对寄主和非寄主幼根的侵染行为

将游动孢子滴加到距离幼根约 1 500  $\mu\text{m}$  处,无论是寄主还是非寄主,游动孢子均先朝幼根方向做无规则游动,当游动到距离幼根约 400  $\mu\text{m}$  时开始以螺旋型运动方式接近幼根,并与幼根发生第一次接触。此后游动孢子的行为在 3 个品种间出现差异,对于感病品种 Sloan,游动孢子沿幼根长轴方向做螺旋型运动,对幼根进行多次试探性接触,每次往返的垂直距离约为 40–60  $\mu\text{m}$ ,接种后约 30 min 在根面上休止,90 min 萌发,芽管伸长将休止胞推离根部,但芽管顶端仍粘附在根上,接种后 120 min 时芽管继续伸长,将孢囊推离幼根大约 17  $\mu\text{m}$  (图 1A);对于抗病品种 Williams82,游动孢子同样对幼根进行多次试探性接触,但每次往返的垂直距离约为 40–100  $\mu\text{m}$ ,同样于接种后约 30 min 在根面上休止,90 min 萌发,但萌发产生的芽管较细长,大约为 30  $\mu\text{m}$  (图 1B)。此外,不论游动孢子侵染抗病品种还是感病品种,侵染位点均位于根尖伸长区;对于非寄主菜豆一点红,游动孢子在第一次接触到幼根后,马上向远离幼根的方向游动,并且不再与幼根接触,在与幼根垂直距离约 70–150  $\mu\text{m}$  的范围内做螺旋型运动,接种后 30 min 在距离幼根约 75  $\mu\text{m}$  的位置休止,90 min 萌发,芽管生长无固定方向(图 1C)。

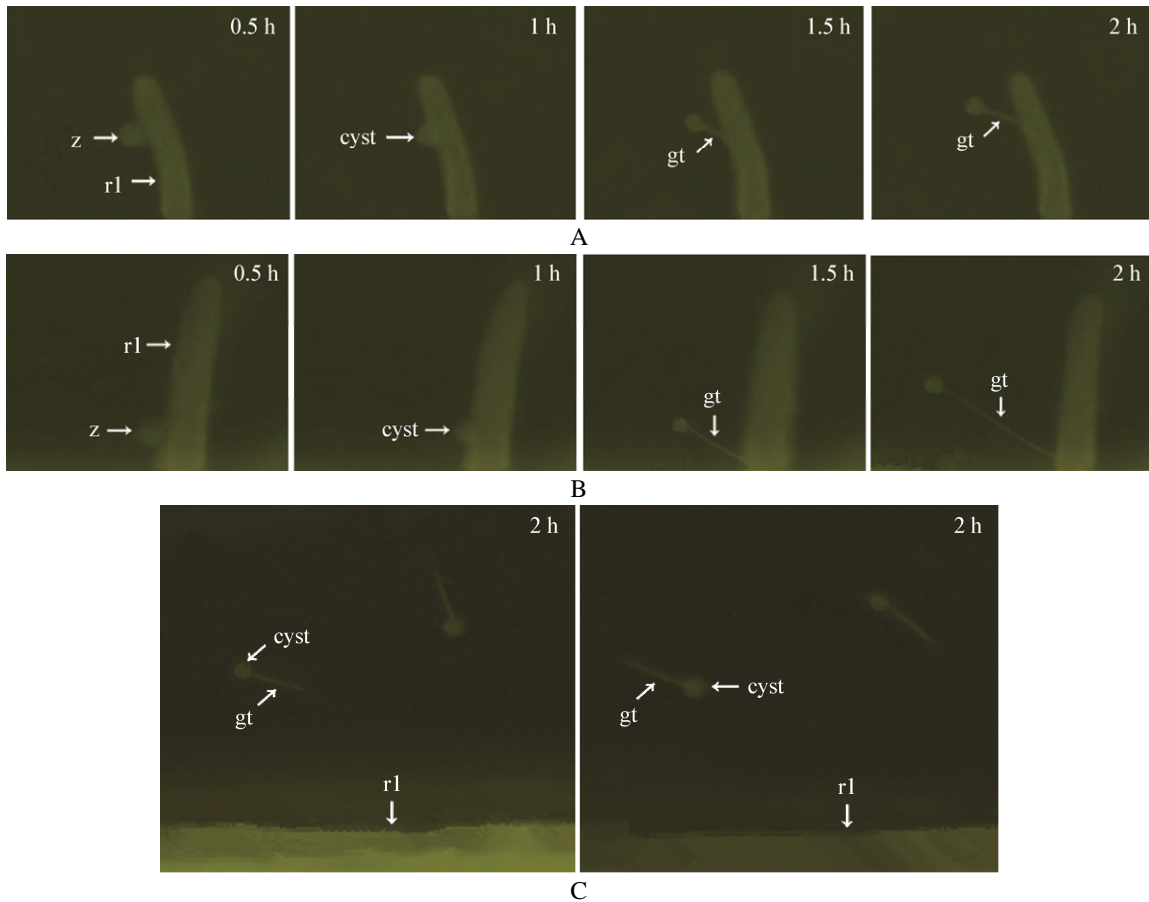


图 1 大豆疫霉游动孢子侵染植物幼根的行为

Figure 1 The infection behavior of single zoospore of *P. sojae* to the plant rootlets

注: A: 侵染大豆感病品种 Sloan 幼根. B: 侵染大豆抗病品种 Williams82 幼根. C: 侵染非寄主菜豆一点红幼根. z: 游动孢子; r1: 植物幼根; cyst: 孢囊; gt: 芽管. 放大倍数: 200×.

Note: A: The infection behavior of the rootlets of the susceptible cultivars *Glycine max* Sloan. B: The infection behavior of the rootlets of the resistant cultivars *Glycine max* Williams82. C: The infection behavior of the rootlets of the non-host legume *Phaseolus vulgaris* Yidianhong. z: Zoospore; r1: Rootlet; cyst: Cyst; gt: Germ tube. The magnifications: 200×.

### 2.1.2 大豆疫霉游动孢子对寄主和非寄主幼根的趋化性

无论是 300 z/mL 还是 500 z/mL 悬浮液处理, 均表现为在 5 min 内寄主根尖伸长区吸引的游动孢子数量快速增长, 而非寄主根尖伸长区吸引的游动孢子数量几乎没有变化。300 z/mL 处理在最初 4 min 内和 500 z/mL 在最初的 3 min 内, 感病品种 Sloan 与抗病品种 Williams82 吸引的游动孢子数量差异不显著;但此后,与抗病品种 Williams82 相比,感病品种 Sloan 吸引到更多游动孢子, 并且寄主吸引的游动孢子数量远远超过了非寄主。根尖伸长区游动孢子的增长速率也表现为感病品

种 Sloan 高于抗病品种, Williams82 高于非寄主菜豆一点红。

在低浓度游动孢子悬浮液处理中, 感病品种 Sloan 根尖伸长区吸引的游动孢子数量呈线性增长, 而高浓度游动孢子悬浮液处理中则呈指数增长。低浓度处理在接种后 5 min, 感病品种 Sloan 根尖伸长区吸引的游动孢子数量为 7.67 个, 抗病品种 Williams82 的为 5.33 个, 非寄主菜豆一点红的为 1.33 个(图 2A); 而高浓度处理在接种后 5 min, 感病品种 Sloan 根尖伸长区的吸引游动孢子数量为 25.33 个, 抗病品种 Williams82 的为 18.67 个, 非寄主菜豆一点红的为 2 个(图 2B)。

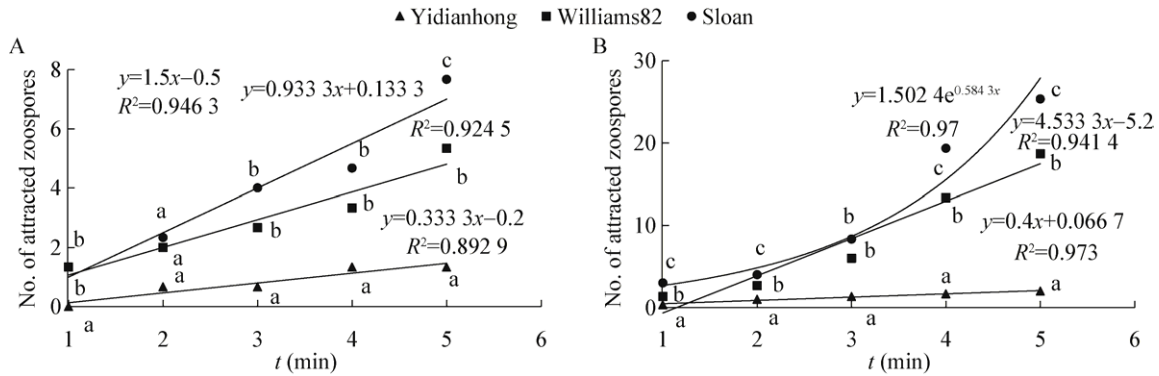


图 2 寄主(A)和非寄主(B)根尖伸长区吸引的游动孢子数量时间动态

Figure 2 The temporal dynamics of the number of zoospores attracted by the host (A) and non-host (B) root elongation zone

注: A: 300 z/mL; B: 500 z/mL. 图中不同字母表示在 0.05 水平下的差异显著性。

Note: A: 300 zoospores/mL; B: 500 zoospores/mL. The different letters in each column indicate significant difference at 0.05 levels.

2.2 根分泌物对大豆疫霉游动孢子的趋化作用

2.2.1 根分泌物吸引的游动孢子数量

无论是 300 z/mL 还是 500 z/mL 悬浮液处理, 均表现为寄主根分泌物吸引的游动孢子数量显著高于非寄主, 而感病品种 Sloan 根分泌物吸引的游动孢子数量又显著高于抗病品种 Williams82, 非寄主根分泌物吸引的游动孢子数量与对照无显著差异, 这一结果与幼根试验结果相同(图 3)。在接种后 55 min 内, 随时间推移, 寄主根分泌物吸引的游动孢子数量呈线性增加, 与抗病品种 Williams82 相比, 感病品种 Sloan 根分泌物吸引的游动孢子数量增加的更快些; 而非寄主根分泌物和去离子水对照吸引的游动孢子数量均呈多项式关系, 并且随时间推

移, 二者吸引的游动孢子数量几乎没有增加。

接种后 55 min, 在 300 z/mL 悬浮液处理中, 感病品种 Sloan 根分泌物吸引的游动孢子数量为 12.68 个, 抗病品种 Williams82 的为 9.33 个, 非寄主菜豆一点红的为 2.95 个, 空白对照的为 2.74 个(图 3A); 而 500 z/mL 悬浮液处理中, 感病品种 Sloan 根分泌物吸引的游动孢子数量为 18.3 个, 抗病品种 Williams82 的为 12 个, 非寄主菜豆一点红的为 3.33 个, 空白对照的为 3.86 个(图 3B)。

2.2.2 根分泌物对游动孢子成囊的影响

随时间推移, 各处理游动孢子成囊率均不断上升。根分泌物与游动孢子悬浮液混合后 2 h 内, 寄主根分泌物中游动孢子成囊率显著高于非寄主及

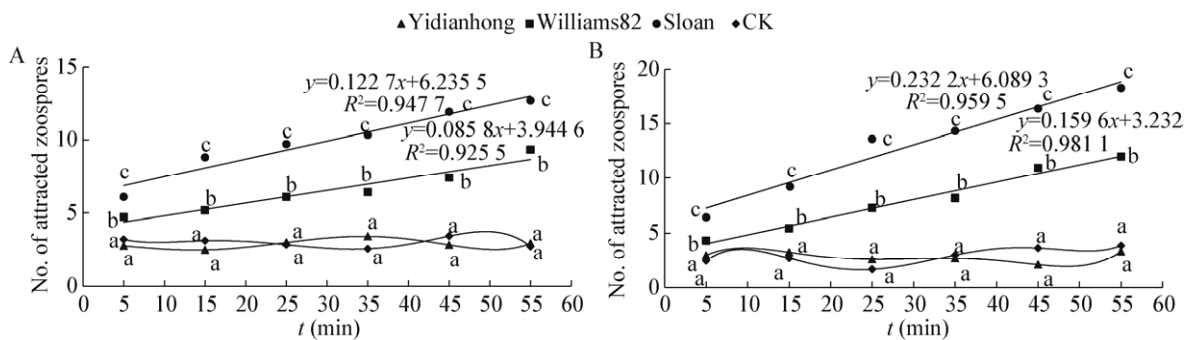


图 3 寄主(A)和非寄主(B)根分泌物吸引的游动孢子数量时间动态

Figure 3 The temporal dynamics of the number of zoospores attracted by the host (A) and non-host (B) root exudates

注: A: 300 z/mL; B: 500 z/mL. 图中不同字母表示在 0.05 水平下的差异显著性。

Note: A: 300 zoospores/mL; B: 500 zoospores/mL. The different letters in each column indicate significant difference at 0.05 levels.

对照, 除 30 min 时感病品种 Sloan 根分泌物中的游动孢子成囊率与抗病品种 Williams82 无显著差异外, 其余时间点感病品种 Sloan 根分泌物中的成囊率均显著高于抗病品种 Williams82, 而非寄主根分泌物与对照之间没有显著性差异。根分泌物与游动孢子悬浮液混合后 2 h, 感病品种 Sloan 处理的游动孢子成囊率为 81.56%, 抗病品种 Williams82 的为 76.45%, 非寄主菜豆一点红的为 23.09%, 对照的为 24.17% (图 4A)。

### 2.2.3 根分泌物对游动孢子萌发的影响

同时形成的孢囊处理 1.5 h 时, 各处理部分孢囊开始萌发, 但寄主根分泌物中的孢囊萌发得更快一些。处理 16 h, 寄主感病品种根分泌物中的孢囊萌发率显著高于非寄主及抗病品种, 抗病品种及非寄主根分泌物中的孢囊萌发率与对照差异不显著。随着时间推移, 各处理孢囊萌发率均增加。18 h 时,

寄主根分泌物中的孢囊萌发率显著高于非寄主, 而感病品种 Sloan 根分泌物中的孢囊萌发率又显著高于抗病品种 Williams82, 非寄主根分泌物中的孢囊萌发率与对照差异不显著, 感病品种 Sloan 根分泌物中的孢囊萌发率为 92.16%, 抗病品种 Williams82 的为 86.81%, 非寄主菜豆一点红的为 81.93%, 对照的为 81.57% (图 4B)。

### 2.2.4 根分泌物对芽管生长的影响

从总体上看, 寄主根分泌物明显抑制芽管生长, 其中感病品种 Sloan 根分泌物的抑制作用明显强于非寄主菜豆一点红, 非寄主根分泌物与对照无显著差异, 这一结果与幼根试验结果一致。接种后 18 h, 感病品种 Sloan 处理的芽管长度为 104.07  $\mu\text{m}$ , 抗病品种 Williams82 的为 118.39  $\mu\text{m}$ , 非寄主菜豆一点红的为 131.61  $\mu\text{m}$ , 对照中的为 135.91  $\mu\text{m}$  (图 4C)。

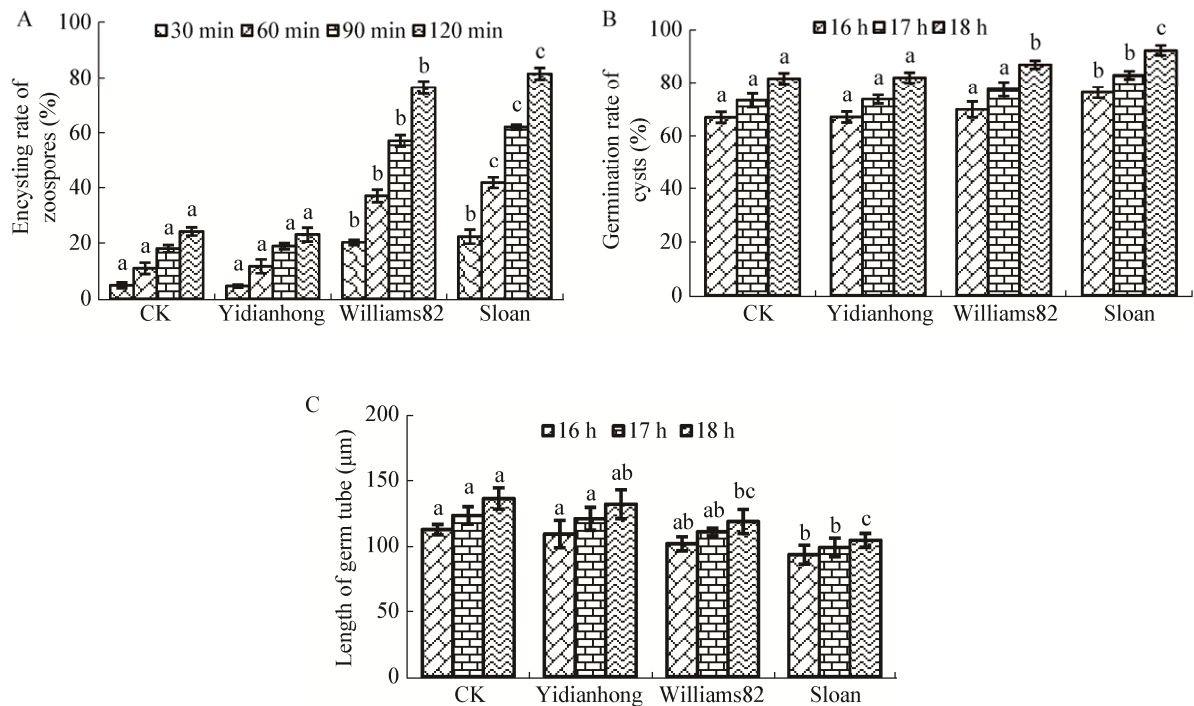


图 4 寄主和非寄主根分泌物对游动孢子成囊(A)、萌发(B)及芽管生长(C)的影响

Figure 4 Influence of the host and non-host root exudates on the encystation (A), germination (B) and length of germ tubes of the cysts (C)

注: 图中不同字母表示在 0.05 水平下的差异显著性。

Note: The different letters in each column indicate significant difference at 0.05 levels.

### 3 讨论与结论

许多病原菌在成功侵入寄主方面都具有巧妙的机制,大豆疫霉主要是利用游动孢子进行传播和扩散。本文首次观察到大豆疫霉游动孢子对寄主感病品种和抗病品种以及非寄主菜豆幼根的差异性侵染行为,以及大豆疫霉游动孢子对其根分泌物的差异性趋化性;通过这两组试验结果的对比,将大豆疫霉的侵染行为研究转移到游动孢子与根分泌物关系研究上来,确定了根分泌物在大豆疫霉侵染过程中的重要作用,为研究大豆疫霉的侵染机制提供了一定的理论依据。

#### 3.1 大豆疫霉单个游动孢子对寄主大豆和非寄主菜豆幼根侵染行为的差异

本试验中,大豆疫霉单个游动孢子在侵染寄主和非寄主幼根时,其向根面游动的轨迹、在根面成囊和萌发的行为差异很大。对于寄主大豆,游动孢子会在距离幼根 400  $\mu\text{m}$  处感受到幼根发出的信号,表现出稳定的趋向性,转向频率明显降低;而对于非寄主菜豆幼根则不存在这一现象,说明寄主大豆根分泌物中存在某些(种)特异性诱导物,游动孢子会感受到这些(种)诱导物并发生趋向游动,而非寄主菜豆根分泌物中不存在这类物质,游动孢子以高转向频率非趋向自由游动<sup>[15]</sup>。此外,本试验显示游动孢子对寄主大豆幼根会有多次试探性接触,最后在根尖伸长区休止(成囊)萌发并产生芽管侵入,这与 Gunawardena 等<sup>[16]</sup>的研究结果一致,而对非寄主菜豆幼根,虽然也发生一次试探性接触,但马上离开,在距离幼根 75  $\mu\text{m}$  的位置成囊萌发并产生芽管,但芽管的生长方向并不朝向根,说明非寄主菜豆根分泌物中可能存在某种对大豆疫霉游动孢子有趋避作用的物质,有待进一步研究。

游动孢子对大豆抗病品种和感病品种的侵染行为也有差异,表现为在感病品种上芽管比较粗短,而在抗病品种上芽管则比较细长,这是由于寄主抗病性会延缓附着胞的形成,从而导致芽管伸长<sup>[17-19]</sup>。这为从细胞水平上了解大豆抗病机制提

供了可靠数据。

#### 3.2 大豆疫霉游动孢子对寄主大豆和非寄主菜豆幼根侵染行为差异与根分泌物的相关性

本试验发现大豆疫霉游动孢子对寄主大豆和非寄主菜豆幼根的侵染行为及趋化性差异完全在根分泌物试验中重现:寄主大豆根分泌物能吸引游动孢子,而非寄主菜豆却不能,这是因为大豆疫霉游动孢子对寄主大豆根分泌出的某些化合物具有强烈趋向性<sup>[20-23]</sup>,而非寄主菜豆根分泌物中没有对游动孢子有特异性吸引作用的物质。此外,寄主大豆根分泌物吸引的游动孢子数量显著受到游动孢子浓度的影响,游动孢子浓度越高,被寄主大豆根分泌物吸引的数量就越多,而非寄主菜豆根分泌物和空白对照组对游动孢子的吸引量基本不受游动孢子浓度的影响,这一结果与幼根试验结果一致。推测大豆疫霉游动孢子与细菌一样存在群体感应现象(Quorum sensing, QS),即依靠密度调控基因表达,由可以在细胞间扩散的小信号分子调节,当群体数量达到一定临界值时信号分子就会诱导特定基因表达。近年来的研究发现,真菌中也存在类似于细菌群体感应信号分子的信息素,并参与调节真菌诸如菌相转化、致病性及次级代谢物产生等生理行为<sup>[24]</sup>。在本试验中,当近处的游动孢子受到吸引游向某个地方时,由于群体密度增大,导致游动孢子出现特定基因表达,从而致使其余的游动孢子也朝相同方向游动,才出现了本试验中的结果。从本试验结果还可以看出,寄主大豆根分泌物能够显著促进游动孢子成囊和萌发,抑制芽管生长,非寄主菜豆却与对照无明显差异,结合相关文献[9,15,23,25]可知,这是由于根分泌物中的许多信号分子如氨基酸、异黄酮、胶质、钙离子等可诱导游动孢子形成休止孢,而非寄主菜豆根分泌物中不存在这些物质,或者虽然存在但在含量上不足以对游动孢子产生影响,或者具有某些对大豆疫霉游动孢子有抑制作用的物质,目前尚不清楚。游动孢子能在众多物质中识别这些特殊的促进或抑制性物质,并通过与



这些物质的相互作用确定寄主范围。本课题组将继续探索非寄主根分泌物中的抑制性信号分子, 这些物质的发现将是研究大豆疫霉寄主选择性的关键。

## REFERENCES

- [1] Erwin DC, Ribeiro OK. *Phytophthora Diseases Worldwide*[M]. St. Paul, MN: APS Press, 1996: 162
- [2] Tyler BM. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2007, 8(1): 1-8
- [3] Li BY, Ma SM, Ding JJ. Investigations of soybean phytophthora root rot disease and its determinant factors[J]. *Plant Protection*, 1999, 25(5): 8-11 (in Chinese)  
李宝英, 马淑梅, 丁俊杰. 大豆疫霉病发生危害及影响其发生因素的探讨[J]. *植物保护*, 1999, 25(5): 8-11
- [4] Wen JZ, Zhang MH. The pathogen causing *Phytophthora* disease of soybean[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1998, 20(4): 76-78 (in Chinese)  
文景芝, 张明厚. 黑龙江省大豆疫病病原鉴定[J]. *中国油料作物学报*, 1998, 20(4): 76-78
- [5] Badri DV, Vivanco JM. Regulation and function of root exudates[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2009, 32(6): 666-681
- [6] Wang JY, Lv YY, Yu D, et al. Effects of root exudates from different resistant pepper varieties on *Phytophthora capsici*[J]. *China Vegetables*, 2014(1): 13-16 (in Chinese)  
王继元, 吕雅悠, 于迪, 等. 不同抗性辣椒品种根系分泌物对疫霉菌的影响[J]. *中国蔬菜*, 2014(1): 13-16
- [7] Tao B, Zhao W, Han YJ, et al. Effect of *Iva xanthifolia* root secretion on soil microorganisms amount[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2010, 41(2): 15-19 (in Chinese)  
陶波, 赵微, 韩玉军, 等. 假苍耳根系分泌物对土壤中微生物的影响[J]. *东北农业大学学报*, 2010, 41(2): 15-19
- [8] Hao WY, Ran W, Shen QR, et al. Effects of root exudates from watermelon, rice plants and phenolic acids on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(12): 2443-2452 (in Chinese)  
郝文雅, 冉炜, 沈其荣, 等. 西瓜、水稻根分泌物及酚酸类物质对西瓜专化型尖孢镰刀菌的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(12): 2443-2452
- [9] Donaldson SP, Deacon JW. Effects of amino acids and sugars on zoospore taxis, encystment and cyst germination in *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *P. catenulatum* Matthews and *P. dissotocum* Drechs[J]. *New Phytologist*, 1993, 123(2): 289-295
- [10] Agrios GN. *Plant Pathology*[M]. 5th ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005: 399-412
- [11] Hua CL, Yang XY, Wang YC. *Phytophthora sojae* and soybean isoflavones, a model to study zoospore chemotaxis[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2015, 92: 161-165
- [12] Tyler BM, Wu M, Wang J, et al. Chemotactic preferences and strain variation in the response of *Phytophthora sojae* zoospores to host isoflavones[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(8): 2811-2817
- [13] Morris PF, Bone E, Tyler BM. Chemotropic and contact responses of *Phytophthora sojae* hyphae to soybean isoflavonoids and artificial substrates[J]. *Plant Physiology*, 1998, 117(4): 1171-1178
- [14] Suo B, Chen QM, Wu WX, et al. Chemotactic responses of *Phytophthora sojae* zoospores to amino acids and sugars in root exudates[J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2016, 82(3): 142-148
- [15] Cameron JN, Carlile MJ. Binding of isovaleraldehyde, an attractant, to zoospores of the fungus *Phytophthora palmivora* in relation to zoospore chemotaxis[J]. *Journal of Cell Science*, 1981, 49: 273-281
- [16] Gunawardena U, Rodriguez M, Straney D, et al. Tissue-specific localization of pea root infection by *Nectria haematococca*. mechanisms and consequences[J]. *Plant Physiology*, 2005, 137(4): 1363-1374
- [17] Chen XR, Cheng BP, Wang XY, et al. Study on interaction between *Phytophthora sojae* and soybean using green fluorescent protein[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2009, 54(13): 1894-1901 (in Chinese)  
陈孝仁, 程保平, 王新乐, 等. 利用绿色荧光蛋白研究大豆疫霉与大豆的互作[J]. *科学通报*, 2009, 54(13): 1894-1901
- [18] Bignell DC. Studies on the prepenetration stage of *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary on potato leaves and its relation to general resistance[D]. Canada: Doctoral Dissertation of the University of Western Ontario, 1975: 20-100
- [19] Lapwood DH. Observations on the infection of potato leaves by *Phytophthora infestans*[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1968, 51(2): 233-240
- [20] Zentmyer GA. Chemotaxis of zoospores for root exudates[J]. *Science*, 1961, 133(3464): 1595-1596
- [21] Sekizaki H, Yokosawa R, Chinen C, et al. Studies on zoospore-attracting activity. II. synthesis of isoflavones and their attracting activity to *Aphanomyces euteiches* zoospore[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1993, 16(7): 698-701
- [22] Horio T, Kawabata Y, Takayama T, et al. A potent attractant of zoospores of *Aphanomyces cochlioides* isolated from its host, *Spinacia oleracea*[J]. *Experientia*, 1992, 48(4): 410-414
- [23] Morris PF, Ward EWB. Chemoattraction of zoospores of the soybean pathogen, *Phytophthora sojae*, by isoflavones[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1992, 40(1): 17-22
- [24] Xu BH, Xie LX, Zhang LY. Advanced in group irritability phenomenon in fungi[J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 34(5): 100-105 (in Chinese)  
徐博恒, 谢林香, 张燎原. 真菌群体感应现象的研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2014, 34(5): 100-105
- [25] Irving HR, Grant BR. The effects of pectin and plant root surface carbohydrates on encystment and development of *Phytophthora cinnamomi* zoospores[J]. *Microbiology*, 1984, 130: 1015-1018