

大豆灰斑病生理小种及抗性遗传研究进展

肖国政, 方婷, 侯晶晶, 王伟东, 孙连军

(中国农业大学农学院, 北京 100193)

摘要: 灰斑病是大豆尾孢菌(*Cercospora sojina* K. Hara)导致的世界性大豆真菌病害, 在大豆主要生产区的流行有增长趋势, 给生产带来重大损失。大豆尾孢菌变异迅速, 已演化出多个具有致病性差异的生理小种, 导致现有品种抗性不能满足生产需求。随着分子生物学的发展, 为了获得具有广谱抗性的种质, 近年来研究方向从传统的抗病育种转移到对大豆尾孢菌致病机制解析及大豆抗灰斑病基因精细定位上。本文对大豆尾孢菌生理小种的鉴定及其致病性、抗病遗传、抗病育种等方面的国内外研究进展进行了系统综述, 并对未来大豆灰斑病的表型精准鉴定、致病机制解析、抗病基因精细定位和抗病育种进行了探讨, 为大豆抗灰斑病的进一步研究提供参考。

关键词: 大豆; 灰斑病; 生理小种; 抗性遗传; 抗病育种

Advances in *Cercospora sojina* Physiological Races and Inheritance of Resistance to Soybean Frogeye Leaf Spot

XIAO Guozheng, FANG Ting, HOU Jingjing, WANG Weidong, SUN Lianjun

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract: Frogeye leaf spot is a global soybean disease caused by *Cercospora sojina* K. Hara, and its prevalence in major soybean production areas has resulted in significant yield losses. *Cercospora sojina* mutates rapidly and evolves multiple physiological races with different pathogenic specificity to overcome the resistance of cultivars. With the rapid development of molecular biotechnology recently, research focuses have been shifted in traditional breeding of resistance varieties to generate germplasm with broad-spectrum resistance, uncover its pathogenic mechanism and delimit resistance genes against soybean frogeye leaf spot. This article provides a systematic review on the identification of physiological races and pathogenicity of *Cercospora sojina*, inheritance of resistance and resistant breeding. We also explore the precise identification of disease phenotype, analysis of pathogenic mechanism, fine mapping of resistance gene, and resistant breeding, which provides reference for further research on soybean resistance to frogeye leaf spot.

Key words: soybean; frogeye leaf spot; physiological races; inheritance of resistance; disease resistance breeding

大豆灰斑病又称褐斑病或蛙眼病, 是一种真菌性病害, 病原菌为尾孢菌属大豆尾孢菌(*Cercospora sojina* K. Hara), 主要侵染大豆叶、茎、荚和籽粒(图1)。大豆灰斑病于1915年首次在日本被发现, 随后在中国(1921年)、美国、巴西等国家地区陆续

被报道^[1]。灰斑病的流行及其严重程度在全球范围内有增长的趋势, 是大豆主要生产国不可忽视的病害。灰斑病在我国发生普遍, 黑龙江、吉林、辽宁、河北、山东、安徽、江苏、福建、四川、广西、云南等省均有报道, 其中以黑龙江省的发病情况最为严重。

收稿日期: 2024-02-03 网络出版日期: 2024-04-19

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240203001>

第一作者研究方向为大豆抗病遗传育种, E-mail: xgz_nemo@cau.edu.cn

通信作者: 孙连军, 研究方向为大豆分子育种, E-mail: sunlj@cau.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD1200603)

Foundation project: National Key Research and Development Program of China(2023YFD1200603)

20世纪60年代至今,我国共经历了4次大豆灰斑病的大流行,给生产带来了重大损失^[2-3]。仅1985-1986年,黑龙江省就因灰斑病的流行导致大豆年均减产 2.5×10^8 kg^[4]。灰斑病的一般流行年份可使大豆减产12%~15%,严重流行年份可达30%~50%^[5]。



图1 灰斑病侵染叶片(A)、茎(B)、豆荚(C)、籽粒(D)的症状^[6-8]

Fig.1 Symptoms of frog-eye leaf spot on leaves(A), stems(B), pods(C), seeds(D)

随着分子生物学技术的发展,目前国内外大豆灰斑病研究方向正从传统抗病育种转移到大豆尾孢菌致病机制解析及大豆抗灰斑病基因定位上。本文综述了大豆尾孢菌生理小种的鉴定及其致病性、抗病遗传、抗病育种等方面的国内外研究进展,并对未来大豆灰斑病的表型精准鉴定、致病机制解析及抗病基因精细定位和抗病育种进行了探讨,为大豆抗灰斑病进一步研究提供参考,以期通过分子设计育种将抗病基因聚合,获得具有广谱抗性的优异种质。

1 大豆尾孢菌的侵染特性及生理小种划分

1.1 侵染症状及病害循环

大豆尾孢菌可以在大豆全生育期内造成侵染,以成株期最为严重,主要侵染大豆的叶、茎、荚和籽粒。灰斑病的发展由植株下部叶片开始,环境适宜时,逐渐向植株上部发展。随着病情发展,成株叶片上病斑由圆形变为不规则形状,中心由灰色变为棕色,边缘呈红紫色,形似“蛙眼”;空气相对湿度较高时,叶片下表面的病斑中心往往会出现灰色霉层

(图1A)。严重时病菌扩展至全植株,病斑扩大互相融合,最终叶片干枯脱落^[9-13]。茎(图1B)和豆荚(图1C)上的病斑与叶片症状发展情况相似,但茎上病斑通常呈长条状。籽粒受到病原菌侵染后,会出现浅灰色到棕褐色的变化(图1D),但感染的种子也可能没有任何症状^[6, 13]。

灰斑病是一种多循环病害,病原菌侵染、病情发展和分生孢子产生在整个生长阶段可以重复发生(图2)^[1, 14-15]。大豆尾孢菌在受感染种子和受感染大豆病残体中以菌丝体形态越冬^[15-17]。Zhang等^[14]研究发现,伊利诺伊州中部病原体越冬后可存活长达24个月。当病残体或子叶上的分生孢子被雨水或风吹散时,发生初侵染。适宜温度(25~30℃)和潮湿天气(如降雨、露水或相对湿度>90%)等条件有利于病菌感染和病情发展,分生孢子随风雨传播到同一植株其他部位或周围植株促进再侵染,其中成熟叶片比幼嫩叶片对病原菌侵染具有更高抗性^[1, 9, 13]。温和的冬季气温和保护性耕作(少耕、免耕等)有利于病原体越冬生存^[14]。若灰斑病的初侵染在R5(鼓粒期)或之后的时期,则对植株影响较小。若病原菌侵染发生在开花之前或开花时,对大豆植株影响较大,进而造成减产^[9]。

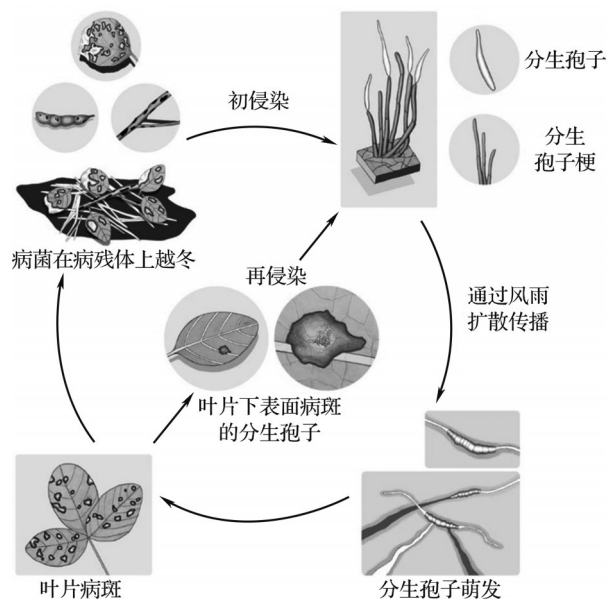


图2 大豆灰斑病的病害循环^[9]

Fig.2 Disease cycle of frog-eye leaf spot in soybeans

1.2 侵染机制

弭忠祥等^[18]通过电镜观察到灰斑病菌既可以从气孔、表皮毛的根部,也可以从表皮细胞与细胞凹陷处直接侵入到组织中。菌丝在侵入过程中不形成附着胞或侵染钉,在进入组织细胞后,吸收营

养形成分枝在胞间或胞内扩展,继续侵染周围细胞。李海英等^[19]利用扫描电镜和透射电镜观察到病原菌在感病品种上以多种方式侵入,但在抗病品种中观察到菌丝有横穿气孔或绕过气孔的现象,且在抗病品种细胞中的扩展受到抑制,最多只能侵染2个细胞。

1.3 生理小种划分

大豆尾孢菌进化迅速,已经演化形成了多个致病性不同的生理小种。美国学者采用16个大豆鉴别品种鉴定出12个生理小种,巴西学者采用10个大豆鉴别品种鉴定出22个生理小种^[1]。我国主要采用黄桂潮等^[20]、霍虹等^[21]筛选出的6个大豆品种——九农一号、双跃四号、合交69-231、Ogden、钢5151、合丰22号(取代桦南绿大豆)作为鉴别品种,各学者利用这套鉴别品种先后鉴定出16个生理小种(表1)^[20-23]。1988年,霍虹等^[21]鉴定出黑龙江省存在1号~4号、6号~11号共10个生理小种,且1号小种出现频率最高,为该地区的优势小种,其次为7号小种。21世纪初,众多学者调查认为,1号小

种仍是黑龙江省的优势小种,其次为7号小种,与前人研究一致^[22-25]。马淑梅对2006-2010年的144份材料调查结果发现,1号小种的频率有所降低,而6号、7号、10号生理小种的频率上升,其中6号小种频率上升明显,与1994年绥化地区灰斑病流行由6号小种频率上升所致的结论一致^[22, 26]。丁俊杰等^[27]综合2009-2011年的调查结果发现,黑龙江省的优势小种为15号小种,其次为1号小种;并通过EST-SSR分析了不同大豆尾孢菌生理小种的亲缘关系,推测12号小种和15号小种分别由3号小种和1号小种演化而来。由于真菌的核糖体基因(rDNA)的内转录区(ITS, internal transcribed spacer)高度保守,且含有一些能反映进化进程的序列,因此常用于真菌的分类和分化研究。张俊华等^[28]以此构建了一套PCR-RFLP检测体系,用3个限制性内切酶将16个生理小种的600 bp扩增产物进行酶切产生15个酶切片段,利用这些酶切片段可准确鉴定大豆尾孢菌的16个生理小种,从分子水平上揭示了大豆尾孢菌生理小种的差异。

表1 鉴别寄主对大豆尾孢菌生理小种的抗感反应

Table 1 Reactions of differential cultivars to *Cercospora sojina* races

序号 No.	鉴别品种 Differential cultivars	生理小种 Physiological races															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	九农一号	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	双跃四号	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
3	合交69-231	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R
4	Ogden	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	S
5	钢5151	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
6	合丰22号	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R

R:抗病;S:感病

R: Resistance; S: Susceptibility

李海英等^[29-30]先后采用巴西和美国灰斑病鉴别品种测定其对我国大豆尾孢菌生理小种的抗感反应,认为这两个国家的鉴别品种不能有效地划分我国的大豆尾孢菌生理小种,且不同国家的大豆尾孢菌生理小种间没有明显相似性。这说明大豆尾孢菌的遗传变异相当丰富,不同地区间的生理小种分化差异较大,因此不同国家鉴别生理小种的方法不具有普适性。张丽娟等^[31]构建了两套单生理小种鉴别体系,使单一鉴别品种对我国大豆尾孢菌1号~10号小种仅表现为抗(感)病,而其余鉴别品种则表现为感(抗)病,两套鉴别体系的结果可以相互验证。Mian等^[32]分析了38个假定的大豆差异品种对

93个菌株的抗感反应,确定了一套由其中12个大豆差异品种组成的鉴别品种,并将93个菌株分成了13个簇,将其中9个簇的11个毒力较强的菌株,命名为5号~11号生理小种。Mengistu等^[33]认为Mian的方法^[32]没有考虑差异品种上的病害严重程度,即不同生理小种间的致病性差异,因此提出了致病性组(PG, pathogenicity group)的生理小种划分方案,采用与Mian相同的大豆差异品种,根据不同差异品种上的灰斑病严重程度不同,将83个菌株分成了5个致病性组(PG1~PG5)。

大豆尾孢菌丰富的遗传多样性可能来源于其有性生殖,但目前在田间或实验室条件下均未观察

到其有性阶段^[34]。Kim等^[34]发现在阿肯色州采集的132个菌株中,MAT1-1-1交配型和MAT1-2交配型的比例没有显著偏离1:1,且没有任何一个菌株同时具有两种交配型;同时还进行了SSR分析,发现同一叶片上不同菌株存在不同交配型和基因型,这些结果表明阿肯色州的大豆尾孢菌种群内可能存在潜在的有性繁殖。Shrestha等^[35]对田纳西州收集的186个菌株进行了SNP标记分型,揭示了35个独特的基因型,且在单病斑中同时存在两种交配型,这为有性繁殖与基因重组提供了机会。

1.4 致病机制

陈绍江等^[36]将大豆幼苗及叶片直接浸渍于大豆尾孢菌毒素中,叶片表面出现萎蔫、褪绿斑等病变,说明毒素可能是大豆尾孢菌重要的致病因素。分类学研究指出,尾孢菌素是尾孢菌属物种的重要特征,但这在大豆尾孢菌中并未得到证实^[4,37]。

大豆尾孢菌如何在快速进化中保持毒性及其侵染机制尚未得到广泛研究。Luo等^[38]首次发布了我国大豆尾孢菌1号生理小种的高质量基因组序列,鉴定出8个尾孢菌素生物合成基因,这些基因在感染期间的转录表达增加,说明大豆尾孢菌在感染过程中可能产生尾孢菌素,但却无法在感病植物组织中成功分离出这种毒素;进一步发现氮饥饿处理和环腺苷(cAMP, cyclic adenosine monophosphate)处理的大豆尾孢菌中灰色色素(纯化后成分主要为灰色、浅黄色、深灰色色素)含量增加,这些结果表明大豆尾孢菌可能通过非尾孢菌素的其他毒素导致寄主感病。病原菌通常还会分泌效应子来干扰宿主的免疫反应以增强毒性,Luo等^[38]发现1号小种中超过1/3的效应子在氮饥饿处理期间显著上调,说明大豆尾孢菌可能通过分泌效应子促进对宿主的侵染;此外还发现大豆尾孢菌中约23.5%的潜在分泌蛋白被注释为碳水化合物活性酶(CAZy, carbohydrate-active enzymes),这表明大豆尾孢菌在侵染过程中可能通过CAZy来降解宿主细胞壁从而促进侵染。

我国学者调查认为,目前15号小种已取代1号小种成为黑龙江省部分地区大豆灰斑病的优势小种,这导致许多品种失去了对灰斑病的抗性^[27]。Gu等^[39]对15号小种进行了基因组测序,并将其与1号小种进行了比较基因组分析,发现15号小种和1号小种的基因组共线性程度较好,但也存在大量倒位、易位,推测这两个小种可能在进化过程中经历了大量基因组结构变异,导致一些编码基因变化,甚至是功能蛋白突变,最终导致两者毒力出现差

异;并通过核心泛基因分析发现15号小种中与毒力相关的特有基因*Vtc4*,该基因编码的蛋白与酵母多磷酸盐合成中液泡运输伴侣相似,敲除*Vtc4*后,芽殖酵母呈丝状生长,多磷酸盐合成显著降低,毒力减弱。

2 大豆抗灰斑病研究

2.1 抗病分子标记及基因的鉴定

植物抗病基因在基因组内通常为成簇的串联重复排列,大约73%的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)抗病基因和76%的水稻(*Oryza sativa*)抗病基因的分布属于这种模式^[40-41]。这些抗病基因通常因为存在广泛复制、重排而结构复杂,给相应的基因功能注释带来严峻挑战^[40]。目前国内外学者均未精确定位到大豆抗灰斑病基因,仅获得了潜在的抗病候选基因以及与抗病基因连锁的分子标记。

刘忠堂^[42]通过接种1号生理小种,对8个杂交组合的F₁、F₂、F₃进行了调查统计分析,认为大豆对单一生理小种导致的灰斑病抗病性由单显性基因控制。杨庆凯等^[43]和曹越平等^[44]的研究显示,灰斑病对多生理小种的抗病遗传存在明显的主基因效应,符合一个主基因与多基因加显性模型及两个主基因独立遗传模型。美国学者最先鉴定出3个显性抗病基因——Lincon中的*Rcs1*^[45]、Kent中的*Rcs2*^[46]以及Davis中的*Rcs3*^[47],分别控制对美国大豆尾孢菌的1号、2号、5号生理小种的抗性,进一步研究发现*Rcs3*能抵抗美国目前已知的生理小种。Pace等^[48]认为在Lee、Stonewall和Ransom中分别存在与*Rcs3*非等位的抗病基因,且三者之间彼此也非等位。来源于PI 594891和PI 594774的两个靠近的单一显性抗病基因*Rcs*(PI 594891)和*Rcs*(PI 594774)被报道具有与*Rcs3*相似的高抗性,但这两个基因位于13号染色体,与位于16号染色体的*Rcs3*非等位,已获得大豆遗传委员会的认可^[49]。

我国学者对大豆生产区的优势小种抗病基因进行定位,鉴定出*Hrcs1*、*Hrcs7*、*Hrcs15*分别控制对1号、7号、15号生理小种的抗性,其中*Hrcs1*、*Hrcs7*间可能存在互作^[50-51]。Sun等^[52]基于全基因组关联分析(GWAS, genome-wide association studies)、单倍型分析等,初步发现了4个基因——*Glyma.05g121100*、*Glyma.17g228300*、*Glyma.19g006900*和*Glyma.19g008700*,这4个基因在对我国灰斑病1号小种的抗性中可能发挥重要作用(表2)。Na等^[53]采用与Sun等^[52]相同的分析方法,发现*Glyma.16g176800*、*Glyma.16g177300*、

Glyma.16g177400 和 *Glyma.16g182300* 可能参与对 7 号小种的抗性。Gu 等^[54] 则通过 GWAS 分析了我国 290 份大豆种质对 15 号小种的抗性, 将 *Glyma.05g28980*、*Glyma.20g31510*、*Glyma.20g31520* 和 *Glyma.20g31630* 列为候选抗病基因。上述基因的同源表达产物已在大量研究中被证实参与抗病防御反应, 如 *Glyma.16g176800* 编码的富亮氨酸重复类受体激酶 (LRR-RLK, leucine-rich repeat-receptor like kinase) 被认为是重要的模式识别受体 (PRR, pattern

recognition receptor), 作为直接受体或参与形成间接受体复合物, 诱导细胞内信号转导, 触发 PTI (pathogen associated molecular pattern-triggered immunity) 和 ETI (effector-triggered immunity)^[55-56]。而 *Glyma.05g28980* 编码的丝裂原蛋白活化激酶 (MPK7, mitogen-activated protein kinase 7), 在棉花中被证实参与水杨酸调节的对真菌和病毒的广谱抗性; 在拟南芥中, MPK7 与 MKK3 共表达, 促进丁香假单胞菌抗性基因的强表达^[54]。

表 2 我国大豆对灰斑病生理小种的候选抗病基因

Table 2 Candidate resistant genes to *Cercospora sojina* races in China

生理小种 Physiological races	候选基因 Candidate genes	注释 Annotation	参考文献 Reference
Race 1	<i>Glyma.05g121100</i>	RNA 结合 (RRM/RBD/RNP 基序) 蛋白	[52]
	<i>Glyma.17g228300</i>	α/β -水解酶 (ABH) 超家族蛋白	
	<i>Glyma.19g006900</i>	NAD(P) 结合 Rossmann-fold 蛋白	
	<i>Glyma.19g008700</i>	锌结合脱氢酶蛋白	
Race 7	<i>Glyma.16g176800</i>	富亮氨酸重复类受体激酶 (LRR-RLK)	[53]
	<i>Glyma.16g177300</i>	五肽重复蛋白 (PPR)	
	<i>Glyma.16g177400</i>	五肽重复蛋白 (PPR)	
	<i>Glyma.16g182300</i>	剪切多聚腺苷酸化特异性因子蛋白 (CPSF)	
Race 15	<i>Glyma.05g28980</i>	丝裂原蛋白活化激酶 (MPK7)	[54]
	<i>Glyma.20g31510</i>	钙依赖性蛋白激酶 (CDPK4)	
	<i>Glyma.20g31520</i>	钙依赖性蛋白激酶 (CDPK4)	
	<i>Glyma.20g31630</i>	丙酮酸脱氢酶 (PDH)	

近年来随着基因定位技术及分子标记技术的快速发展, RAPD、SSR、SNP 等分子标记提高了对大豆抗灰斑病基因的研究效率。表 3 为近 20 年国内外研究发现的灰斑病抗性相关的主要分子标记, 这些分子标记的应用加速了大豆抗灰斑病育种进程。*Rcs3* 作为目前美国大豆品种对灰斑病最重要的抗性来源, 对目前已知的大豆尾孢菌生理小种均具有较强抗性, Mian 等^[57] 将其定位在 J 连锁群 (16 号染色体) 上与 Satt244 相同的基因座上, 与另一 SSR 标记 Satt547 相距 1.5 cM。McDonald 等^[58] 将 *Rcs3* 精细定位到 16 号染色体上 1.15 Mb 区间内, 与 KASP 标记 GSM883 紧密连锁。Hoskins^[49] 对具有广谱抗性的中国引种大豆进行分析, 将 PI 594774 和 PI 594891 的抗病基因定位于 13 号染色体 Satt114 标记附近, 该标记周围区域是抗性基因富集的区域, 如 *Rps3*、*Rps8* 对大豆疫霉菌 *Phytophthora sojae* 引起的根腐病具有抗性, *Rpa1* 对瓜果腐霉菌 *Pythium aphanidermatum* 导致的猝倒病具有抗性, *Rsv1* 对特定株系的大豆花叶

病毒具有抗性, *Rag2*、*Rag5* 和 *RagFMD* 对特定生物型的大豆蚜虫具有抗性等^[59-61]。Pham 等^[59] 进一步将 *Rcs* (PI 594891) 定位到具有 5 个注释基因的 72.6 kb 区域, *Rcs* (PI 594774) 则被精细定位到 540 kb 区域, 该区域包含 *Rcs* (PI 594891) 所在的 72.6 kb 区域, 二者已被确定为非等位基因。

我国学者主要针对大豆生产区的灰斑病优势生理小种展开研究, 但目前尚无定论将对单一生理小种的抗性基因定位于某一染色体基因区段, 仅开发了潜在抗病基因连锁标记作为抗性参考 (表 3 和图 3)^[51, 64-74]。16 号染色体上鉴定出大量抗不同生理小种的分子标记^[51, 66, 70, 72-74], 而美国大豆的高抗灰斑病基因 *Rcs3* 也位于该染色体^[57-58, 63], 这些证据表明 16 号染色体上的某些基因有可能在抗灰斑病方面发挥重要作用。第 3、5、6、9、10、16、17 号染色体上有关 Race 7 和 Race 10 的抗性分子标记存在一定关联^[70, 72-73], 这表明 Race 7 和 Race 10 可能存在潜在亲缘关系, 致病性及致病机理相似。

表3 灰斑病抗性分子标记

Table 3 Molecular makers of resistance to *Cercospora sojina*

抗病基因/生理小种 Resistant genes/ Physiological races	染色体 Chromosome	标记类型 Maker type	分子标记 Molecular makers	参考文献 Reference
<i>Rcs2</i>	11(336 kb)	KASP	GSM783	[62]
<i>Rcs3</i>	16	SSR	Satt547、Satt244	[57]
		InDel, SNP	AZ573AG393、AZ573TA150、 AQ455GA396、AQ166AG280	[63]
	16(1.15 Mb)	KASP	GSM883	[58]
<i>Rcs(PI 594774)</i>	13(540 kb)	SSR	Satt114	[59]
<i>Rcs(PI 594891)</i>	13(72.6 kb)			
Race 1	4	SSR	Satt565、SOYGRATR、Satt396	[64]
	4、6、11、13、19	SSR	AW277661、Satt363、Satt430、Satt656、Satt652	[65]
	3、8、11、12、16、18	SSR	Satt387、Satt233、Satt332、Satt142、 Satt309、Satt244、Satt431	[66]
Race 7		RAPD	OPS03 ₅₈₀ 、OPS03 ₆₂₀	[67]
		SCAR	SCS3 ₅₈₀ 、SCS3 ₆₂₀	[68]
		RAPD	OPC08 ₈₃₁	[69]
	3、5、6、9、10、 11、12、15、16、17	SSR	Satt549、Sat_280、Satt200、Satt454、Satt422、 Satt260、Satt478、Satt509、Sat_214、Satt302、 Satt384、Satt411、Sat_366、Satt372	[70]
	15	SSR	Satt384、Satt411	[71]
Race 10	2、3、5、6、8、9、 10、11、16、17、20	SSR	Satt703、Satt549、Satt200、Satt422、BE820148、 Satt260、Satt478、Satt197、Sat_366、Satt372、Satt587	[72-73]
Race 12	1、5、6、10、12、13、16	SSR	Sat_346、Sat_368、Satt557、Satt243、 Satt052、Satt335、Sat_151	[74]
Race 15	16	SSR	Sat_151、Satt529、Satt547、Sat_224、Satt431	[51]

括号内数据表示该基因的定位区间大小

The data in parentheses represents the size of the localization interval of the gene

2.2 防御反应

病程相关蛋白 (PRP, pathogenesis-related proteins) 是植物在逆境和胁迫下产生的, 可以通过增厚细胞壁、抗菌活性、信号转导等多种机制参与抗病^[75]。病程相关蛋白的主要功能包括降解毒素、消除病原体以及结合或抑制病毒外壳蛋白^[75]。Du 等^[75]通过对感病大豆不同生长阶段进行的 RNA-seq 分析, 鉴定到病程相关蛋白基因 *GmPRIL*, *GmRPIL* 的过表达诱导了抗真菌病害基因 *WRKY*、*PR9* 和 *PR14* 等的表达, 同时过表达 *GmPRIL* 的大豆植株中超氧化物歧化酶 (SOD, superoxide dismutase)、过氧化物歧化酶 (POD, peroxidase)、过氧化氢酶 (CAT, catalase)、苯丙氨酸解氨酶 (PAL, phenylalanine ammonia-lyase) 等抗病相关酶活性显著增加, 从而提高大豆对灰斑病的抗性。

2.3 抗病育种

我国大豆灰斑病抗性资源丰富, 但大豆尾孢菌生理小种变异迅速, 当前主栽品种的抗性难以长期保持, 需要不断培育新抗性品种^[76]。丁俊杰等^[24]对近年来黑龙江省主栽品种进行了灰斑病抗性分析, 认为随着新的生理小种出现, 很多生产中的主栽抗病品种已成为高感品种, 栽培面积也逐年锐减。培育具有广谱灰斑病抗性的品种是当务之急。

美国早在 20 世纪 50 年代就开始了灰斑病的抗病育种工作, 先后鉴定出抗性基因 *Rcs1*、*Rcs2*、*Rcs3*, 开发选育出一系列表现优异的抗性品种, 如 Davis、Kent、Clark 等^[5]。在黑龙江省, 50% 以上抗灰斑病品种与美国大豆有亲缘关系, 特别是高抗品种, 美国抗病品种资源在黑龙江省大豆抗灰斑病育种中发挥了重要作用^[77]。20 世纪 70 年代起, 刘忠堂

开展了大豆灰斑病抗病育种工作,根据先前得出的结论——抗灰斑病由单显性基因控制,提出了一次杂交、简单回交的抗病育种程序^[78]。我国育种家依此育种程序培育出了一系列具有良好抗性的品种。

但大豆尾孢菌生理小种变异迅速,对广谱抗性品种的需求增加,培育过程中应注意抗病基因的积累,避免对少数生理小种的抗性降低乃至丧失而导致灰斑病大流行。

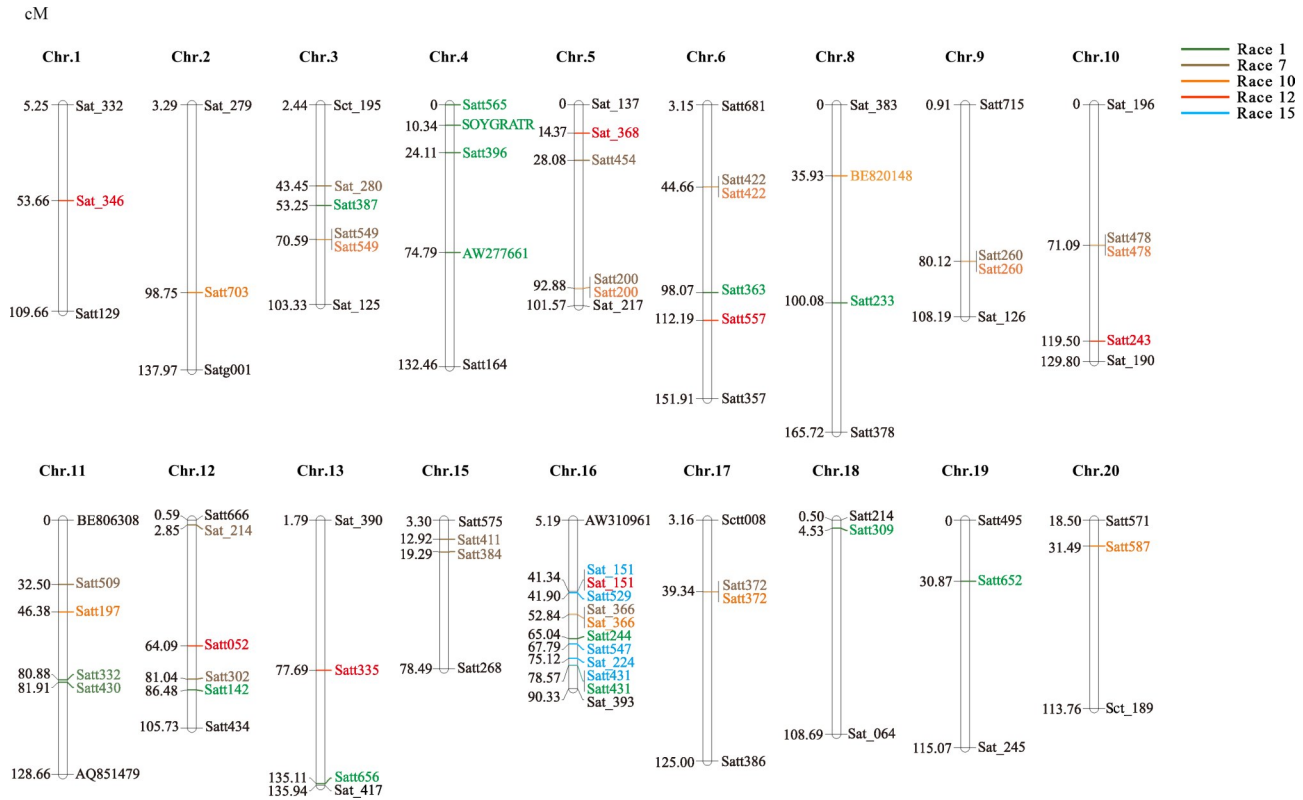


图3 我国灰斑病抗性分子标记的遗传图谱

Fig.3 Genetic map of molecular markers for resistance to frogeye leaf spot in China

转基因是作物育种的重要技术手段,已在大豆抗灰斑病育种方面有所应用。张彪^[79]将油菜的乙烯应答因子基因 *BnERF104* 导入大豆,通过乙烯应答因子超表达快速传递信号,启动多种激素途径介导的植物防御反应,达到提升广谱抗灰斑病的作用。尹俊琦等^[80]和孟祥鹏等^[81]将 *hrpZ_{P_{sta}}* 导入大豆,通过其编码的 *hrpin* 蛋白,诱导植物发生过敏反应,触发自然免疫机制,从而达到抵制病原菌侵害的目的;该研究发现 *hrpZ_{P_{sta}}* 在大豆中能稳定遗传,且转基因大豆的抗灰斑病能力显著提升,达到中抗水平。

3 展望

我国大豆抗灰斑病研究及抗性育种取得的重要进展集中于20世纪80至90年代,现阶段灰斑病相关研究的主要问题有三点:一是病害表型鉴定没有统一标准,部分病害如细菌性叶斑病等,在大豆叶片上的症状与灰斑病表现相似,难以区分;二是

大豆尾孢菌生理小种的鉴别体系较为繁琐,效率低且鉴别结果可能存在偏差;三是在实际生产中,同一区域内灰斑病可能由多个生理小种共同流行导致,因此针对单一生理小种研究寄主抗性不具有普适性。

国内外均有学者在灰斑病表型划分以及病情分级的算法模型构建方面取得了一定进展。与传统肉眼评估灰斑病严重程度相比,图像分析提供了更高的分辨率,可以提高评估精确度和效率。McDonald等^[82]提出了一种基于颜色空间变换和像素值阈值来分割图像关键特征的灰斑病表型分析方法,即通过测量患病叶面积百分比并计算病斑数量来评估病害严重程度。孙红敏等^[83]提出一种加权深度投票模型,通过迁移学习训练,优选传统卷积神经网络模型,利用遗传算法得出了不同模型加权投票权重,对传统卷积神经网络模型加权集成,实现大豆灰斑病分级,该模型在7500张测试集上识别准确率达到93.0%。Liu等^[84]分析了健康和感病

叶片的图像和高光谱反射数据,以此构建了不同模型,通过支持向量机(SVM, support vector machine)、最小二乘支持向量机(LS-SVM, least squares support vector machine)对灰斑病病情进行了评估,其中SVM准确率为91.8%~94.5%,而LS-SVM为94.5%~97.3%。刘爽等^[85]还探究了高光谱在病害分类方面的应用,利用LS-SVM可准确区分灰斑病和细菌性叶斑病,模型训练集和预测集的总分类正确率分别为100%和98.85%。

对于生理小种的划分,目前传统上都是通过鉴别寄主的抗感反应来鉴定,效率较低且鉴定结果可能存在偏差。张俊华等^[28]利用核糖体基因内转录区保守序列构建了一套PCR-RFLP检测体系,可准确鉴定大豆尾孢菌的16个生理小种,从分子水平上揭示了大豆尾孢菌生理小种的差异,可快速检测大豆尾孢菌的种群动态,具有广泛应用前景。目前已有团队组装了1号和15号生理小种的基因组^[38-39],且先前有研究表明15号可能由1号进化变异而来^[27]。未来可通过对不同生理小种基因序列比较,对灰斑病菌毒性和不同生理小种间的进化亲缘关系进行分析,深入探究解析大豆尾孢菌的侵染机制。同时可依据“基因对基因假说”——寄主植物抗性基因与病原菌无毒基因相互识别使寄主表现为抗病,鉴定大豆尾孢菌无毒基因,从而精准定位大豆中相应的抗病基因,为灰斑病防治措施提供新思路。

尾孢菌属病原菌导致的灰斑病不仅侵染大豆,在玉米上也有相应症状。玉米灰斑病是由玉蜀黍尾孢菌 *Cercospora zea-maydis* 和玉米尾孢菌 *Cercospora zeina* 导致的世界性玉米叶部病害。Zhong等^[86]通过图位克隆精确定位到编码细胞壁相关受体激酶样蛋白的抗病基因 *ZmWAKL*,并揭示了 *ZmWAKL-ZmWIK-ZmBLK1-ZmRBOH4* 受体/信号/执行器模块在感知病原体入侵、转导免疫信号、激活防御反应和增强玉米对灰斑病抵抗力方面的作用。Zhong等^[86]的研究将为大豆抗灰斑病基因的精细定位以及相关防御反应的调控网络解析提供一条新思路——大豆是否具有与玉米相似的抗灰斑病机制,以及在我国推行的一种大豆种植模式“大豆-玉米带状复合种植”下,同为尾孢属的大豆灰斑病菌和玉米灰斑病菌是否具有相似的侵染机制并同时侵染大豆和玉米是一个值得思考的问题。

另外,我国大豆灰斑病的抗性资源丰富,随着Williams 82^[87]、中黄13^[88-89]、Jack^[90]等大豆高质量基因组的组装完成,灰斑病抗病基因将逐渐被标记和

定位,各农艺性状间的调控网络也将被解析。对抗病基因与产量、品质相关基因的互作关系进行分析,筛选出最优组合,使用基因编辑技术对相关性状的关键节点基因进行多重定点编辑,通过分子设计育种实现优异基因聚合,在短时间内选育出对包括但不限于抗多大豆尾孢菌生理小种在内的抗多种病害的大豆品种,在抗病的同时兼顾高产和优质等性状^[91]。

参考文献

- [1] Barro J P, Neves D L, Del Ponte E M, Bradley C A. Frogeye leaf spot caused by *Cercospora sojina*: A review. *Tropical Plant Pathology*, 2023, 48:363-374
- [2] 顾鑫,丁俊杰. 大豆灰斑病的研究现状. *中国农学通报*, 2010, 26(9):303-306
Gu X, Ding J J. The research status of *Cercospora sojina*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(9):303-306
- [3] 刘忠堂. 大豆灰斑病的危害与抗病育种工作回顾. *大豆科学*, 1991, 10(2):157-161
Liu Z T. Review on damage and resistant breeding of soybean frogeye leaf spot. *Soybean Science*, 1991, 10(2):157-161
- [4] 曹越平,李海英,刘学敏,陈绍江,张丽娟,杨庆凯. 大豆灰斑病菌(*Cercospora sojina* Hara)及其对寄主作用的研究. *植物病理学报*, 2003, 33(2):116-120
Cao Y P, Li H Y, Liu X M, Chen S J, Zhang L J, Yang Q K. Study on *Cercospora sojina* Hara and its action to soybean. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2003, 33(2):116-120
- [5] 董志敏,厉志,刘佳,陈亮,衣志刚,王博,刘宝权. 大豆抗灰斑病研究进展. *作物杂志*, 2017(3):1-5
Dong Z M, Li Z, Liu J, Chen L, Yi Z G, Wang B, Liu B Q. Advances in soybean resistance to frogeye leaf spot. *Crops*, 2017(3):1-5
- [6] Bradley C, Chilvers M, Freije A, Giesler L, Mueller D, Sikora E, Sisson A, Smith D, Tenuta A, Wise K. An overview of frogeye leaf spot. (2016-12-01) [2024-04-16]. <https://cropprotectionnetwork.org/publications/an-overview-of-frogeye-leaf-spot>
- [7] Phillips X A, Kandel Y R, Mueller D S. Impact of foliar fungicides on frogeye leaf spot severity, radiation use efficiency and yield of soybean in Iowa. *Agronomy*, 2021, 11(9):1785
- [8] Telenko D. Fungal diseases that can impact soybean pod and seed quality. (2018-10-05) [2024-04-16]. <https://extension.entm.purdue.edu/newsletters/pestandcrop/article/fungal-diseases-that-can-impact-soybean-pod-and-seed-quality/>
- [9] Lin B, Kelly H. Frogeye leaf spot of soybean. (2018) [2024-04-16]. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/FrogeyeLeafSpot.aspx>
- [10] 马永波. 大豆灰斑病的发生特点及防治措施. *新农业*, 2022(20):17

- Ma Y B. Occurrence characteristics and managements of soybean frogeye leaf spot. *Modern Agriculture*, 2022 (20):17
- [11] 徐晓旭. 大豆常见病虫害的识别与防治. *乡村科技*, 2021, 12 (19):79-81
- Xu X X. Identification and control of common diseases and pests in soybean. *Rural Science and Technology*, 2021, 12 (19):79-81
- [12] 陈广义. 大豆灰斑病发生特点及抗病遗传育种研究进展. *黑龙江科学*, 2019, 10(16):42-43
- Chen G Y. Research progress on occurrence characteristics and disease resistance genetics and breeding of soybean grey spot disease. *Heilongjiang Science*, 2019, 10(16):42-43
- [13] Mane A, Everhart S, Ziems T J. Fungicide resistance and management of frogeye leaf spot of soybean in Nebraska. (2020-06-24) [2024-04-16]. <https://cropwatch.unl.edu/2020/fungicide-resistance-and-management-frogeye-leaf-spot-soybean-nebraska>
- [14] Zhang G, Bradley C A. Survival of *Cercospora sojina* on soybean leaf debris in Illinois. *Plant Health Progress*, 2014, 15 (3):92-96
- [15] 靳学慧, 马汇泉, 辛惠普. 大豆灰斑病初侵染来源与病菌侵染条件的研究. *黑龙江八一农垦大学学报*, 1993, 7(1):18-24
- Jin X H, Ma H Q, Xin H P. Study on the initial infection sources and pathogen infection conditions of soybean frogeye leaf spot. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*, 1993, 7(1):18-24
- [16] 钟兆西, 王伟. 大豆灰斑病接种体来源及接种条件的研究. *东北农学院学报*, 1991, 22(1):15-19
- Zhong Z X, Wang W. Study on the source and inoculation conditions of soybean frogeye leaf spot inoculation. *Journal of Northeast Agricultural University*, 1991, 22(1):15-19
- [17] Sautua F J, Scandiani M M, Gordo M, Carmona M A. Detection and chemical control of *Cercospora sojina* infecting soybean seed in Argentina. *Tropical Plant Pathology*, 2018, 43:552-558
- [18] 弭忠祥, 陈绍江. 大豆灰斑病菌侵染途径与扩展方式的研究. *电子显微学报*, 1998, 17(4):62-63
- Mi Z X, Chen S J. Study on the infection pathway and expansion mode of soybean frogeye leaf spot pathogen. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 1998, 17(4):62-63
- [19] 李海英, 刘亚光, 葛秀秀, 杨庆凯. 大豆灰斑病菌侵染过程的组织病理学研究. *东北农业大学学报*, 2001, 32(3):235-238
- Li H Y, Liu Y G, Ge X X, Yang Q K. Histopathological study on the infection process of soybean frogeye leaf spot pathogen. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2001, 32(3):235-238
- [20] 黄桂潮, 霍虹, 张再兴, 芦官仲, 马淑梅. 大豆灰斑病菌 (*Cercospora Sojina* Hara) 生理小种鉴定结果初报. *大豆科学*, 1984, 3(3):231-235
- Huang G C, Huo H, Zhang Z X, Lu G Z, Ma S M. Preliminary report on the identification results of physiological races of soybean frogeye leaf spot pathogen (*Cercospora Sojina* Hara). *Soybean Science*, 1984, 3(3):231-235
- [21] 霍虹, 马淑梅, 芦官仲, 张再兴, 李宝英, 严国芳, 王亚州. 黑龙江省大豆灰斑病菌 (*Cercospora sojina* Hara) 生理小种的研究. *大豆科学*, 1988, 7(4):315-320
- Huo H, Ma S M, Lu G Z, Zhang Z X, Li B Y, Yan G F, Wang Y Z. Study on the physiological races of *Cercospora sojina* Hara, a soybean frogeye leaf spot pathogen, in Heilongjiang province. *Soybean Science*, 1988, 7(4):315-320
- [22] 马淑梅. 2006-2010年黑龙江省大豆灰斑病菌生理小种监测及部分主栽品种抗性鉴定. *大豆科学*, 2011, 30(3):450-454
- Ma S M. Monitoring of physiological races of *Cercospora sojina* in Heilongjiang province from 2006 to 2010 and resistance identification of partial main cultivars. *Soybean Science*, 2011, 30(3):450-454
- [23] 张俊华, 刘洋大川, 韩英鹏, 李文滨. 黑龙江省大豆灰斑病菌生理小种鉴定. *中国油料作物学报*, 2009, 31(4):537-539
- Zhang J H, Liu Y D C, Han Y P, Li W B. Physiologic race identification of *Cercospora sojina* in Heilongjiang province. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2009, 31(4):537-539
- [24] 丁俊杰, 文景芝, 胡国华, 姜翠兰, 陈庆山, 刘春艳, 顾鑫, 杨晓贺. 黑龙江省大豆灰斑病生理小种监测及主栽品种抗性分析. *大豆科学*, 2009, 28 (1):178-180
- Ding J J, Wen J Z, Hu G H, Jiang C L, Chen Q S, Liu C Y, Gu X, Yang X H. Monitoring of physiological race of soybean frogeye spot and analysis of variety resistance in Heilongjiang province. *Soybean Science*, 2009, 28 (1):178-180
- [25] 刘洋大川, 潘春清, 孙洪利, 刘扬, 王中业, 张俊华. 2008-2009年黑龙江省大豆灰斑病菌生理小种的监测. *东北农业大学学报*, 2010, 41(11):10-17
- Liu Y D C, Pan C Q, Sun H L, Liu Y, Wang Z Y, Zhang J H. Physiological race monitoring of *Cercospora sojina* in Heilongjiang province from 2008 to 2009. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2010, 41(11):10-17
- [26] 马淑梅, 李宝英. 绥化地区大豆灰斑病菌生理小种消长变化的研究. *大豆科学*, 1994, 13(4):281-285
- Ma S M, Li B Y. Study on the growth and decline of physiological races of soybean frogeye leaf spot pathogen in Suihua. *Soybean Science*, 1994, 13(4):281-285
- [27] 丁俊杰, 顾鑫, 杨晓贺, 赵海红, 申宏波, 姜翠兰, 仕相林, 刘春燕, 胡国华, 陈庆山. 黑龙江省大豆灰斑病菌生理小种及遗传关系分析. *中国农业科学*, 2012, 45(21):4377-4387
- Ding J J, Gu X, Yang X H, Zhao H H, Shen H B, Jiang C L, Shi X L, Liu C Y, Hu G H, Chen Q S. Analysis of race and genetic relationship of *Cercospora sojina* in Heilongjiang province. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(21):4377-4387
- [28] 张俊华, 张明, 韩英鹏, 李文滨. 大豆灰斑病菌生理小种 PCR-RFLP 分子检测. *中国油料作物学报*, 2010, 32(1):128-131
- Zhang J H, Zhang M, Han Y P, Li W B. Studies on PCR-

- RFLP molecular detection for physiologic races of *Cercospora sojina*. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(1): 128-131
- [29] 李海英, 杨庆凯, 颜世文. 巴西四个大豆灰斑病鉴定寄主对中国灰斑病菌生理小种的反应. 中国油料, 1995, 17(2): 59-60
- Li H Y, Yang Q K, Yan S W. Response of four hosts from Brazil to the physiological races of *Cercospora sojina* in China. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 1995, 17(2): 59-60
- [30] 李海英, 杨庆凯, 曹越平, 张丽娟, 刘志明. 美国鉴别寄主对中国大豆灰斑病菌反应的研究. 作物品种资源, 1998(2): 31-33
- Li H Y, Yang Q K, Cao Y P, Zhang L J, Liu Z M. Study on the response of American hosts to Chinese soybean frogeye leaf spot pathogen. China Seed Industry, 1998(2): 31-33
- [31] 张丽娟, 杨庆凯, 徐奉学. 大豆灰斑病菌单生理小种鉴别寄主体系的建立. 大豆科学, 1998, 17(1): 40-44
- Zhang L J, Yang Q K, Xu F X. Establishment of a host system for the identification of single physiological race of soybean frogeye leaf spot pathogen. Soybean Science, 1998, 17(1): 40-44
- [32] Mian M A R, Missaoui A M, Walker D R, Phillips D V, Boerma H R. Frogeye leaf spot of soybean: A review and proposed race designations for isolates of *Cercospora sojina* Hara. Crop Science, 2008, 48(1): 14-24
- [33] Mengistu A, Ray J D, Kelly H M, Lin B, Yu H, Smith J R, Arelli P R, Bellaloui N. Pathotype grouping of *Cercospora sojina* isolates on soybean and sensitivity to QoI fungicides. Plant Disease, 2020, 104(2): 373-380
- [34] Kim H, Newell A D, Cota-Sieckmeyer R G, Rupe J C, Fakhoury A M, Bluhm B H. Mating-type distribution and genetic diversity of *Cercospora sojina* populations on soybean from Arkansas: Evidence for potential sexual reproduction. Phytopathology, 2013, 103(10): 1045-1051
- [35] Shrestha S K, Cochran A, Mengistu A, Lamour K, Castro-Rocha A, Young-Kelly H. Genetic diversity, QoI fungicide resistance, and mating type distribution of *Cercospora sojina*—implications for the disease dynamics of frogeye leafspot on soybean. PLoS ONE, 2017, 12(5): e0177220
- [36] 陈绍江, 王金陵, 杨庆凯, 章元寿. 大豆灰斑病菌毒素生物活性分析. 植物病理学报, 1998, 28(3): 42-45
- Chen S J, Wang J L, Yang Q K, Zhang Y S. Analysis of biological activity of toxins from soybean frogeye leaf spot pathogen. Acta Phytopathologica Sinica, 1998, 28(3): 42-45
- [37] Goodwin S B, Dunkle L D, Zismann V L. Phylogenetic analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* based on the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. Phytopathology, 2001, 91(7): 648-658
- [38] Luo X, Cao J, Huang J, Wang Z, Guo Z, Chen Y, Ma S, Liu J. Genome sequencing and comparative genomics reveal the potential pathogenic mechanism of *Cercospora sojina* Hara on soybean. DNA Research, 2017, 25(1): 25-37
- [39] Gu X, Ding J, Liu W, Yang L, Gao X, Zhang M, Yang S, Wen J. Comparative genomics and association analysis identifies virulence genes of *Cercospora sojina* in soybean. BMC Genomics, 2020, 21: 172
- [40] Barragan A C, Weigel D. Plant NLR diversity: The known unknowns of pan-NLRomes. The Plant Cell, 2021, 33(4): 814-831
- [41] Liu J, Wang F Z, Li C, Li Y, Li J F. Hidden prevalence of deletion-inversion bi-alleles in CRISPR-mediated deletions of tandemly arrayed genes in Plants. Nature Communications, 2023, 14(1): 6787
- [42] 刘忠堂. 大豆灰斑病(*Cercospora sojina* Hara)抗病性的遗传分析. 大豆科学, 1983, 2(4): 322-326
- Liu Z T. Genetic analysis of resistance to soybean frogeye leaf spot (*Cercospora sojina* Hara). Soybean Science, 1983, 2(4): 322-326
- [43] 杨庆凯, 齐永安, 张晓刚, 武天龙. 大豆灰斑病生理小种抗性鉴定研究. 中国农学通报, 1988(5): 27-29
- Yang Q K, Qi Y A, Zhang X G, Wu T L. Identification of physiological race resistance to soybean gray spot. Chinese Agricultural Science Bulletin, 1988(5): 27-29
- [44] 曹越平, 杨庆凯. 大豆抗灰斑病主基因的发现与遗传研究. 遗传学报, 2002, 29(1): 67-71
- Cao Y P, Yang Q K. Discovery and genetic study on main gene for resistance to soybean frogeye leaf spot. Journal of Genetics and Genomics, 2002, 29(1): 67-71
- [45] Athow K, Probst A H. The inheritance of resistance to frogeye leaf spot of soybeans. Phytopathology, 1952, 42: 660-662
- [46] Probst A H, Athow K L, Lavolette F A. Inheritance of resistance to race 2 of *Cercospora sojina* in soybeans. Crop Science, 1965, 5(4): 332
- [47] Phillips D V, Boerma H R. Two genes for resistance to race 5 of *Cercospora sojina* in soybeans. Phytopathology, 1982, 72(7): 764-766
- [48] Pace P F, Weaver D B, Ploper L D. Additional genes for resistance to frogeye leaf spot race 5 in soybean. Crop Science, 1993, 33(6): 1144-1145
- [49] Hoskins A J. Genetic mapping of soybean resistance genes to frogeye leafspot in five Chinese plant introductions and efficiency of early generation selection for low phytate soybean lines. Athens: University of Georgia, 2011
- [50] 杨庆凯, 张晓刚, 王金陵. 大豆对灰斑病7号生理小种的抗性遗传研究. 大豆科学, 1995, 14(1): 80-82
- Yang Q K, Zhang X G, Wang J L. Genetic study on resistance of soybean to frogeye leaf spot physiological race 7. Soybean Science, 1995, 14(1): 80-82
- [51] 姜翠兰, 丁俊杰, 文景芝, 胡国华, 陈庆山, 刘春燕. 大豆对灰斑病菌15号小种的抗病基因定位及标记检测. 植物保护学报, 2011, 38(2): 116-120
- Jiang C L, Ding J J, Wen J Z, Hu G H, Chen Q S, Liu C Y. Identification and mapping of the *Cercospora sojina* race 15 resistance gene in soybean. Acta Phytophylacica Sinica, 2011,

- 38(2):116-120
- [52] Sun M, Na C, Jing Y, Cui Z, Li N, Zhan Y, Teng W, Li Y, Li W, Zhao X, Han Y. Genome-wide association analysis and gene mining of resistance to China race 1 of frogeye leaf spot in soybean. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:867713
- [53] Na C, Miao H, Jiang H, Ma J, Liu H, Lv S, Zhou J, Yang Y, Zhan Y, Teng W, Li Y, Zhao X, Han Y. Genome-wide association analysis of resistance to frogeye leaf spot China race 7 in soybean based on high-throughput sequencing. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, 136(5):119
- [54] Gu X, Huang S, Zhu Z, Ma Y, Yang X, Yao L, Gao X, Zhang M, Liu W, Qiu L, Zhao H, Wang Q, Li Z, Li Z, Meng Q, Yang S, Wang C, Hu X, Ding J. Genome-wide association of single nucleotide polymorphism loci and candidate genes for frogeye leaf spot (*Cercospora sojina*) resistance in soybean. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1):588
- [55] Boutrot F, Zipfel C. Function, discovery, and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrum disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 2017, 55: 257-286
- [56] Tang P, Zhang Y, Sun X, Tian D, Yang S, Ding J. Disease resistance signature of the leucine-rich repeat receptor-like kinase genes in four plant species. *Plant Science*, 2010, 179(4):399-406
- [57] Mian M A R, Wang T, Phillips D V, Alvernaz J, Boerma H R. Molecular mapping of the *Rcs3* gene for resistance to frogeye leaf spot in soybean. *Crop Science*, 1999, 39(6): 1687-1691
- [58] McDonald S C, Buck J W, Li Z. Pinpointing *Rcs3* for frogeye leaf spot resistance and tracing its origin in soybean breeding. *Molecular Breeding*, 2023, 43(6):49
- [59] Pham A T, Harris D K, Buck J, Hoskins A, Serrano J, Abdel-Haleem H, Cregan P, Song Q, Boerma H R, Li Z. Fine mapping and characterization of candidate genes that control resistance to *Cercospora sojina* K. Hara in two soybean germplasm accessions. *PLoS ONE*, 2015, 10(5):e0126753
- [60] Sandhu D, Schallock K G, Rivera-velez N, Lundeen P, Cianzio S, Bhattacharyya M K. Soybean *Phytophthora* resistance gene *Rps8* maps closely to the *Rps3* region. *Journal of Heredity*, 2005, 96(5):536-541
- [61] Yang J, Liu G, Tang J, Wang X, Diao Y, Su Y, Sun D, Shang J, Guo Y, Qiu L J. Fine mapping and characterization of an Aphid-resistance gene in the soybean landrace Fangzheng Moshidou. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13:899212
- [62] McDonald S C, Buck J W, Li Z. Genetic mapping of the *Rcs2* locus in soybean cultivar Kent for resistance to frogeye leaf Spot. *Crop Science*, 2023, 63(5):2740-2749
- [63] Missaoui A M, Ha B K, Phillips D V, Boerma H R. Single nucleotide polymorphism detection of the *Rcs3* gene for resistance to frogeye leaf spot in soybean. *Crop Science*, 2007, 47(4):1681-1690
- [64] 张文慧. 大豆灰斑病1号生理小种抗性基因分子标记及资源分析. 哈尔滨: 东北农业大学, 2004
- Zhang W H. Analysis of resistant gene against *Cercospora sojina* race 1 in soybean with molecular markers and germplasm identification. Harbin: Northeast Agricultural University, 2004
- [65] 秦芳芳. 大豆资源抗灰斑病1号生理小种优异等位变异的发掘. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2018
- Qin F F. Soybean resource resistance to *Cercospora sojina* race 1: Mining of elite alleles. Harbin: Heilongjiang University, 2018
- [66] 王财金, 弟文静, 马淑梅, 王洋. 发掘大豆资源中灰斑病1号生理小种抗性优异等位变异. *作物杂志*, 2020(6):189-196
- Wang C J, Di W J, Ma S M, Wang Y. Exploring elite allelic variations in the soybean resistance to frogeye leaf spot physiological race 1. *Crops*, 2020(6):189-196
- [67] Zou J, Dong W, Yang Q, Cao Y, Chen S. Inheritance of resistance to race 7 of *Cercospora sojina* in soybeans and RAPD tagging of the resistance gene. *Chinese Science Bulletin*, 1999, 45(5):452-456
- [68] Zou J, Yang Q, Chen S, Chen Q, Liu Y, Dong W. Molecular characterization of RAPD and SCAR marker linked to the frog-eye leaf spot resistance gene in soybean. *Chinese Science Bulletin*, 2000, 45(5):460-466
- [69] 武小霞. 大豆灰斑病种质资源鉴定及抗病基因的RAPD标记. 哈尔滨: 东北农业大学, 2002
- Wu X X. Inheritance of soybeans resistance on *Cercospora sojina* and RAPD tagging of the resistance gene. Harbin: Northeast Agricultural University, 2002
- [70] 蒋红娇, 赵慧艳, 林春雨, 梁晓宇, 马淑梅, 王洋. 大豆品种资源抗灰斑病7号生理小种优异等位变异的发掘. *中国农学通报*, 2020, 36(31):97-102
- Jiang H J, Zhao H Y, Lin C Y, Liang X Y, Ma S M, Wang Y. Soybean variety resource resistant to *Cercospora sojina* race 7: Mining of elite alleles. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(31):97-102
- [71] Dong Z, Wang S, Liu J, Li Z, Yi Z. Preliminary mapping of soybean dominant locus *Hrcs7* conferring resistance to *Cercospora sojina* race 7. *Molecular Plant Breeding*, 2011, 2(6):37-40
- [72] 弟文静, 梁晓宇, 马淑梅, 王洋. 基于SSR标记关联分析挖掘大豆灰斑病10号生理小种抗病资源. *中国油料作物学报*, 2021, 43(6):1132-1140
- Di W J, Liang X Y, Ma S M, Wang Y. Association analysis of resistance of soybean to *Cercospora sojina* Hara Race 10 based on SSR markers. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2021, 43(6):1132-1140
- [73] 梁晓宇. 利用连锁不平衡发掘大豆灰斑病10号小种抗性位点. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2020
- Liang X Y. Exploring resistance loci to soybean frogeye leaf spot physiological race 10 using linkage disequilibrium. Harbin: Heilongjiang University, 2020
- [74] 董亚楠, 魏嵘, 丁俊杰, 王伟威, 于志远, 张丽, 杨晓杰, 刘丽君. 应用关联分析挖掘大豆对灰斑病12号生理小种的抗

- 性位点. 大豆科学, 2016, 35(3):402-406
- Dong Y N, Wei L, Ding J J, Wang W W, Yu Z Y, Zhang L, Yang X J, Liu L J. Excavation the resistance locus to *Cercospora sojina* Hara race 12 in soybean by association analysis. *Soybean Science*, 2016, 35(3):402-406
- [75] Du Y, Amin N, Ahmad N, Zhang H, Zhang Y, Song Y, Fan S, Wang P. Identification of the function of the pathogenesis-related protein GmPR1L in the resistance of soybean to *Cercospora sojina* Hara. *Genes (Basel)*, 2023, 14(4):920
- [76] 马淑梅. 大豆种质资源对灰斑病抗性鉴定评价. 植物遗传资源学报, 2011, 12(5):820-824
- Ma S M. Evaluation of soybean germplasm resources to *Cercospora sojina* resistance race. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2011, 12(5):820-824
- [77] 孙长征. 大豆灰斑病发生规律及防控技术研究. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2010
- Sun C Z. Research on the occurrence pattern and control techniques of soybean frogeye leaf spot. Harbin: Heilongjiang University, 2010
- [78] 刘忠堂. 抗灰斑病大豆育种技术的探讨. 大豆科学, 1986, 5(2):147-152
- Liu Z T. Exploration of soybean resistance breeding techniques for frogeye leaf spot. *Soybean Science*, 1986, 5(2):147-152
- [79] 张彪. 大豆灰斑病抗性鉴定方法及转 *BnERF104* 大豆的灰斑病抗性研究. 北京: 中国农业科学院, 2011
- Zhang B. Identification method and transformation with *BnERF104* for resistance to *Cercospora sojina* Hara in soybean. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011
- [80] 尹俊琦, 王楠, 周莹, 卢实, 吴楠, 曲静, 张卓, 王丕武. 两个大豆品种转 *hrpZ_{Psta}* 基因后代对大豆灰斑病的抗性分析. 大豆科学, 2013, 32(2):238-241
- Yin J Q, Wang N, Zhou Y, Lu S, Wu N, Qu J, Zhang Z, Wang P W. Analysis on resistance to frogeye leaf spot between two species of transgenic soybean progenies with *hrpZ_{Psta}* gene. *Soybean Science*, 2013, 32(2):238-241
- [81] 孟祥鹏, 宋阳, 金羽琨, 张林, 王丕武. 转 *hrpZ_{Psta}* 大豆株系对灰斑病的抗病性鉴定. 吉林农业大学学报, 2020, 42(5):502-509
- Meng X P, Song Y, Jin Y K, Zhang L, Wang P W. Identification of soybean lines with *hrpZ_{Psta}* gene resistant to *Cercosporidium sofinum*. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2020, 42(5):502-509
- [82] McDonald S C, Buck J, Li Z. Automated, image-based disease measurement for phenotyping resistance to soybean frogeye leaf spot. *Plant Methods*, 2022, 18(1):103
- [83] 孙红敏, 王钰涵, 戴百生, 李晓明, 孟希璠, 那晨. 基于加权集成的深度投票模型大豆灰斑病分级研究. 东北农业大学学报, 2022, 53(10):76-85
- Sun H M, Wang Y H, Dai B S, Li X M, Meng X F, Na C. Research on grading of soybean gray spot based on weighting deep voting model. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2022, 53(10):76-85
- [84] Liu S, Yu H, Sui Y, Zhou H, Zhang J, Kong L, Dang J, Zhang L. Classification of soybean frogeye leaf spot disease using leaf hyperspectral reflectance. *PLoS ONE*, 2021, 16(9):e0257008
- [85] 刘爽, 于海业, 隋媛媛, 孔丽娟, 于占东, 郭晶晶, 乔建磊. 大豆病害分类的高光谱分析. 光谱学与光谱分析, 2023, 43(5):1550-1555
- Liu S, Yu H Y, Sui Y Y, Kong L J, Yu Z D, Guo J J, Qiao J L. Hyperspectral analysis of soybean disease classification. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2023, 43(5):1550-1555
- [86] Zhong T, Zhu M, Zhang Q, Zhang Y, Deng S, Guo C, Xu L, Liu T, Li Y, Bi Y, Fan X, Balint-Kurti P, Xu M. The ZmWAKL-ZmWIK-ZmBLK1-ZmRBOH4 module provides quantitative resistance to gray leaf spot in maize. *Nature Genetics*, 2024, 56(2):315-326
- [87] Wang L, Zhang M, Li M, Jiang X, Jiao W, Song Q. A telomere-to-telomere gap-free assembly of soybean genome. *Molecular Plant*, 2023, 16(11):1711-1714
- [88] Zhang C, Xie L, Yu H, Wang J, Chen Q, Wang H. The T2T genome assembly of soybean cultivar ZH13 and its epigenetic landscapes. *Molecular Plant*, 2023, 16(11):1715-1718
- [89] Zhang A, Kong T, Sun B, Qiu S, Guo J, Zhang Z, Liu Y, Hu Z, Jiang T, Liu Y, Cao S, Sun S, Wu T, Hong H, Jiang B, Yang M, Yao X, Hu Y, Liu B, Han T, Wang Y. A telomere-to-telomere genome assembly of Zhonghuang 13, a widely-grown soybean variety from the original center of *Glycine max*. *The Crop Journal*, 2023, 12(1):142-153
- [90] Huang Y, Koo D H, Mao Y, Herman E M, Zhang J, Schmidt M A. A complete reference genome for the soybean cv. Jack. *Plant Communications*, 2024, 5(2):100765
- [91] 刘佳瑞, 张钰, 彭国庆, 齐照明, 陈庆山, 辛大伟, 胡利民. 基因编辑技术在大豆基因功能鉴定及遗传改良上的应用. 植物遗传资源学报, 2023, <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20231113003>
- Liu J R, Zhang Y, Peng G Q, Qi Z M, Chen Q S, Xin D W, Hu L M. The application of gene editing technology to soybean in gene function identification and genetic improvement. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20231113003>