

# 大豆灰斑病抗感标准划分的研究<sup>\*</sup>

曹越平<sup>1</sup> 杨庆凯<sup>2</sup>

(1. 上海交通大学农学院, 上海 201101; 2. 东北农业大学, 哈尔滨 150030)

**摘要** 大豆灰斑病抗感鉴定标准的确立一直是抗病育种及抗病机理研究中的关键问题, 也是一个难点。本文以大豆杂交组合的后代为材料, 从各组合 F<sub>2</sub> 植株的病情分布、F<sub>3</sub> 株系的抗感分离以及植株抗重复再侵染能力的角度, 对大豆抗灰斑病的抗感鉴定标准进行研究。提出: 在用混合菌种对大豆材料进行田间接种的条件下, 大豆灰斑病的抗感鉴定标准应在病斑型级数为 B<sub>2</sub> 处, 即植株叶片的病斑数量不能超过 5—8 个。

**关键词** 大豆灰斑病; 抗感标准; 划分

中图分类号 S 565.034 文献标识码 A 文章编号 1000—9841(2002)02—0113—04

## 0 引言

灰斑病是黑龙江省大豆的主要病害, 严重影响大豆的产量与品质, 因此进行大豆灰斑病抗性机理、遗传与育种的研究具有重要意义。然而在大豆灰斑病抗性鉴定研究中, 抗感鉴定标准的划分一直是个难点, 抗感鉴定结果的准确与否会直接影响到有关抗性研究的结果, 尤其是在结构抗性、生化抗性及抗病基因的分子标记及抗性遗传研究方面<sup>[1~4]</sup>。长期以来在大豆灰斑病抗性鉴定方面, 研究多集中在发病程度的调查和衡量, 对于从育种的角度研究材料在遗传上的抗感划分的研究尚未见报道。

在大豆灰斑病防治效果的研究中, 姚浩然曾根据病斑的大小、病叶数及病斑面积占叶片面积之比将其分为 0~5 六个级别<sup>[5]</sup>。在进行病害流行规律的研究中, 刘学敏等最初曾以病斑数量作为病害的分级标准, 之后则采用通过人工大量接种和自然发病两种途径, 测量病斑面积和叶面积之比, 按不同面积比的出现频率将病害的严重度分为 0~6 七个级别, 并制成标准图片供专业人员使用<sup>[6]</sup>。杨庆凯等人根据病斑的数量和大小, 以病斑型级数来衡量大豆材料发病的程度, 这种方法要比测量病斑面积的

方法简便易行<sup>[7]</sup>。

本研究利用抗感杂交组合的后代材料, 采用田间接种大豆灰斑病菌孢子悬浮液的方法, 从 F<sub>2</sub> 代的病斑分布、F<sub>3</sub> 代株系的抗感分离及植株抗重复再侵染能力的角度研究大豆灰斑病抗感鉴定标准的划分。

## 1 材料与方法

### 1.1 种子准备

1995 年春以 3 个抗病品种及 4 个感病品种配制 4 个杂交组合(东农 87—104×东农 9674; 东农 91212×东农 9674; 东农 593×东农 9224; 东农 93—68×东农 594), 秋天收获得到 F<sub>0</sub>, 南繁加代得到 F<sub>1</sub> 种子。1996 年种植得到 F<sub>2</sub> 代, 并对 F<sub>2</sub> 的病情进行单株调查。1997 年种植 F<sub>3</sub>, 调查 F<sub>3</sub> 株系的抗感分离情况。

### 1.2 病情调查方法

病斑型级数是反映植株感病程度的一个数量单位(杨庆凯, 1988)。先按病斑的大小和病斑的有无, 将病斑分为五种: B 斑、M 斑、N 斑、S 斑、O 斑(直径 >3mm、2~3mm、1~2mm、<1mm、0mm), 并对这五种病斑分别赋予 5、4、2、1、0 的权重系数; 再按病

\* 收稿日期: 2001—07—09

基金项目: 国家自然科学基金“大豆疫霉根腐病的抗性遗传与多抗资源创新”(39970442); “大豆灰斑病抗性遗传机制的研究”(39470454) 项目的资助。

作者简介: 曹越平(1976—), 女, 博士, 副教授, 研究方向大豆抗病育种。

斑数量的多少将病情分为五个级别:1、2、3、4、5级。将病斑数量的级别数与病斑种类的权重系数相乘,其乘积即为病斑型级数。在进行病情调查时,以每个植株感染灰斑病较重的叶片为代表,表示该大豆植株的病情。

### 1.3 接种

将大豆灰斑病菌 10 个生理小种的孢子悬浮液在雨后的傍晚或日落后喷洒在大豆植株的叶片上。14 天后待完全显症后调查。

## 2 结果与分析

### 2.1 F<sub>2</sub> 分离世代叶片上病斑种类与数量的分布

4 个组合 F<sub>2</sub> 群体的病斑型级数的分布见图 1, 在病斑型级数为 0 时, 各组合 F<sub>2</sub> 分布次数最多; 在病斑型级数为 1、2 和 8 时, 各组合 F<sub>2</sub> 的分布次数最少; 但在 8—10 之间, 四个组合的分布次数均急剧上升。从以上分布可以看出各种类型的病斑在各个数量级别上出现的概率的分布是不均匀, 这一方面与病情的分级方法有关, 另一方面也反应了 F<sub>2</sub> 植株群体的抗感分布规律, 即 F<sub>2</sub> 群体在病斑型级数为 8—10 处分布次数急剧上升, 将 F<sub>2</sub> 植株自然地分为两个群体。

在四个组合的 F<sub>2</sub> 中, 大斑出现的机率最大; 中斑出现的机率明显小于大斑; 中小斑(N 斑)出现的机率更小, 在有些组合很少出现或不出现; 小斑(S 斑)出现的机率最小, 而且极少见到 S<sub>3</sub> 斑和 S<sub>4</sub> 斑。在本试验的各组合中, 只有在 1997 年组合 5 的 F<sub>2</sub> 中出现 S<sub>1</sub> 斑。实际上, 在大量的调查材料中还极少见到 S<sub>3-4</sub> 及 N<sub>4</sub> 斑。

由于植株叶片上病斑的多少和大小直接反映着植株的抗病性, 因而从各组合 F<sub>2</sub> 群体的抗感分布来

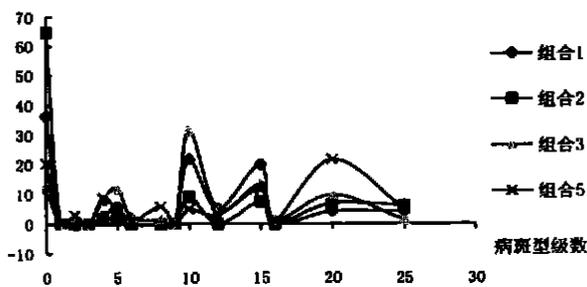


图 1 四组合 F<sub>2</sub> 病斑型级数的次数分布  
Fig. 1 Frequency distribution of LTPG of F<sub>2</sub> populations in four crosses

看, 由于 F<sub>2</sub> 分布次数在病斑型级数为 8~10 处急剧上升, 故可暂将抗感划分的界限定在 8~10 之间。另外, 由于在本试验的四个组合中, 大斑(B 斑)和无斑(O 斑)植株出现的概率之和分别为 91.74%、95.93%、79.18%和 75.73%, 因此为了调查方便, 以下分析以组合 1 为例, 仅用大斑和无斑的植株为代表, 研究不同调查时期 F<sub>2</sub> 代植株叶片病斑数量的变化及 F<sub>3</sub> 的抗性分离情况。

### 2.2 F<sub>2</sub> 分离世代在不同调查时期病斑数量的变化

在组合 1 的 F<sub>2</sub> 代植株上, 均匀接种大豆灰斑病 10 个生理小种等比例混合的孢子悬浮液, 接种后第 14 天植株充分显症, 进行第一次病情调查。再过 14 天后(即接种后第 28)天进行第二次病情调查。从接种材料充分显症的第 14 天到经过再侵染的第 28 天, 两次调查结果: (1)病斑型级数为 0 的无斑高抗植株的数量始终保持不变。说明在两次调查中, 没有产生病斑的植株数量保持不变。(2)原来叶片上有病斑的植株经过 14 天的重复再侵染, 叶片上病斑的数量增多, 植株病情加重。(3)两次调查次数分布差异最大的区间在病斑型级数为 5—10 之间, 表明感病的植株经过重复再侵染之后, 植株的病情出现加重趋势, 并且在病斑型级数为 5 处将供试材料分为两个群体。因此, 从植株抗重复再侵染能力的角度来看, 抗感划分的界限应在病斑型级数为 5—10 之间(图 2)。

另外, 供试各组合的 F<sub>3</sub>、F<sub>4</sub> 在上述的两次调查中, 病斑型级数小于 5 的, 病情基本没有加重, 或者加重不明显, 其病斑型级数仍然小于 10; 但病斑型级数大于 10 的株行, 14 天后病斑型级数均在 15~25 之间, 使田间 F<sub>4</sub> 株行之间的抗感差别极为明显。故病情抗感的划分界限应该定在病斑型级数小于 10, 大于 5 之处。

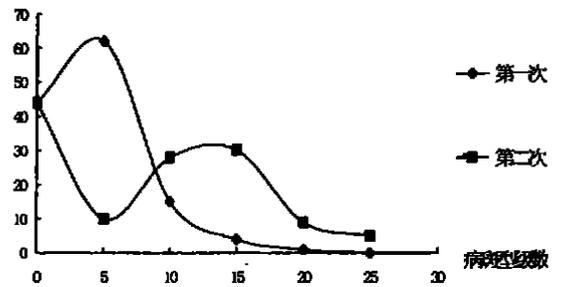


图 2 不同调查时期 F<sub>2</sub> 病斑型级数的次数分布  
Fig. 2 Frequency distribution of LTPG of F<sub>2</sub> populations in different times

### 2.3 不同抗性 F<sub>2</sub> 单株在 F<sub>3</sub> 株行中分离出抗感材

料的比例变化

若以病斑型级数为 10 作为抗感的划分界限, 将病斑型级数大于等于 10 定为感病, 小于 10 定为抗病。在组合 1、2、3 中分别选择 O、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、B<sub>4</sub>、B<sub>5</sub> 6 个抗性级别的 F<sub>2</sub> 单株, 分成六组, 每组 10 株 F<sub>2</sub>, 分别对 6 组不同抗性的 F<sub>2</sub> 单株对应的 F<sub>3</sub> 株系中分离出的抗感材料, 按病斑型级数进行分类, 并计算 F<sub>3</sub> 株系分离出的抗病材料的比例(表 2)。

当 F<sub>2</sub> 的病斑型级数分别为 0 (O)、5 (B<sub>1</sub>)、10 (B<sub>2</sub>)、15 (B<sub>3</sub>)、20 (B<sub>4</sub>)、25 (B<sub>5</sub>) 时, 3 个组合的 F<sub>3</sub> 株系分离出抗病单株的平均百分数分别是 93.8%、86.7%、82.6%、43.6%、4.4%、0.0%。从各组 F<sub>3</sub> 株系分离出的抗病植株的比例来看, 抗病植株出现的分离比例差异最大的区段在 B<sub>2</sub>—B<sub>3</sub> 及 B<sub>3</sub>—B<sub>4</sub> 之间(表 1), 说明在以抗病育种为目的选择抗病材料时, 应选择病斑型级数不超过 10 的材料, 即抗感界限不能超过 B<sub>2</sub>, 否则其后代将分离出大比例的感病材料。

表 1 F<sub>3</sub> 代分离出抗病材料的百分数(%)

Table 1 Percentage of resistance individuals in F<sub>3</sub> lines

F <sub>2</sub>	O	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>5</sub>	
F <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	92.0	80.0	76.7	72.5	0.0	0.0
	C <sub>2</sub>	89.3	80.0	76.2	58.3	8.0	0.0
	C <sub>3</sub>	100.0	100.0	95.0	0.0	5.0	0.0
	平均 Average	93.8	86.7	82.6	43.6	4.4	0.0

对 3 个组合 6 组不同抗性的 F<sub>2</sub> 单株对应的 F<sub>3</sub> 中分离出的抗病材料的比例进行抗性区组—组合间的二因素方差分析。结果表明, 按 F<sub>2</sub> 的抗性划分的不同 F<sub>3</sub> 区组间分离出的抗病材料的比例差异极显著(0.01 水平), 而不同组合之间分离出抗病材料的比例差异显著(0.05 水平)。

对不同 F<sub>2</sub> 抗性区组分离的 F<sub>3</sub> 抗病材料的比例进行新复极差分析, 结果表明: 在病斑型级数为 O、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 的 F<sub>2</sub> 抗性组中, F<sub>3</sub> 株行分离出抗病植株的比例之间差异不显著; 在病斑型级数为 B<sub>3</sub>、B<sub>4</sub>、B<sub>5</sub> 的 F<sub>2</sub> 代抗性组中, F<sub>3</sub> 株行分离出的抗病植株的比例之间差异不显著; 而在病斑型级数为 O、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 与 B<sub>3</sub>、B<sub>4</sub>、B<sub>5</sub> 的 F<sub>2</sub> 抗性组之间的 F<sub>3</sub> 株行分离出的抗病材料的比例差异极显著(见表 3)。

以上分析表明: 要从抗感亲本的杂交后代中有效地选出抗病材料, 在综合其他农艺性状的前提下, 选择 O、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 类型的 F<sub>2</sub> 单株, 对 F<sub>3</sub> 株行出现抗病材料的比例影响不大, 都能选出高比例的抗病材料; 而选择 B<sub>3</sub>、B<sub>4</sub>、B<sub>5</sub> 类型的 F<sub>2</sub> 单株, F<sub>3</sub> 中出现抗病材

料的比例与前者相比差异极显著, 出现抗病材料的比例较小或很小。因此若以育种为目的进行抗性筛选, 应将抗感的划分界限定在 B<sub>2</sub>, 即病斑型级数为 10 处。根据需要还可以将抗感细分为高抗、中抗、中感和高感(病斑型级数是 0 为高抗; 1—9 为中抗; 10—15 为中感; 15—25 为高感。)

表 2 不同抗感区组中分离出抗病材料比例的多重比较(%)

Table 2 Multiple comparison of the resistance in F<sub>3</sub> from different F<sub>2</sub> groups (%)

不同抗性的 F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub> 分离出抗病材料	0.05 水平	0.01 水平
O	98.33%	a	A
B <sub>1</sub>	82.67%	a	A
B <sub>2</sub>	81.83%	a	A
B <sub>3</sub>	24.17	b	B
B <sub>4</sub>	22.10%	b	B
B <sub>5</sub>	1.66%	b	B

### 3 讨论与结论

大豆灰斑病结构抗性的研究结果表明, 抗病植株叶片上没有病斑并不等于灰斑病菌没有侵入植株叶片。李海英 1996 年的电镜观察发现, 灰斑病菌在侵染抗病品种时, 菌丝只穿透 1—2 个表皮细胞就停止生长了, 植株不出现病斑; 但在侵染感病品种时菌丝则不断生长, 直至产生大量的肉眼可见的病斑。抗病品种之所以抗病是植株具有很强的抗侵染和抗扩展能力。当大豆叶片产生病斑后, 就会有孢子产生, 开始下一个侵染循环。经过几个再侵染循环后, 高抗品种虽然无法避免病菌的侵入, 但叶表面始终没有产生病斑。感病品种在不断重复再侵染的条件下, 病斑不断增加, 直至叶片长满病斑。根据植物抗再侵染和抗扩展能力的不同, 大豆材料的抗性还会出现一些连续的中间类型, 使得抗感难以辨别。本文则是根据这一点, 分别从植株的抗侵染、抗扩展、抗重复再侵染及抗性的遗传的角度来研究大豆材料的抗病性。

在 F<sub>2</sub> 群体中, 从感病植株病斑的类型与数量的分布来看, 鉴定植株抗感的标准应划分在 8—10 之间; 从植株群体抗再侵染能力的角度来看, F<sub>2</sub> 分离世代植株在不同调查时期病斑数量的变化, 表明鉴定植株抗感的标准应在 5—10 之间; 从不同抗感类型的 F<sub>2</sub> 单株在 F<sub>3</sub> 代分离出抗感材料的变化来看, 鉴定植株抗感的划分界限应定在病斑型级数为 10

处对育种才更有意义。因此,分析应将大豆材料抗感的划分界限确定在病斑型级数为10处。即植株感病最重的叶片上,病斑的数量不能超过5~8个。

## 参 考 文 献

- 曹越平,杨庆凯.大豆灰斑病遗传的三点测交分析[J].遗传,1996,18(2):11-13.
- 曹越平,杨庆凯.不同类型组合大豆杂交后代灰斑病抗性的遗传分析[J].大豆科学,1995,5,14(2):180-183.
- 李海英,杨庆凯,曹越平.过氧化物同工酶及其活性与大豆灰斑病抗性的关系[J].中国油料作物,1998,20(1):83-85.
- 邹继军,董伟,杨庆凯,等.大豆对灰斑病7号小种抗性的遗传分析及抗病基因的RAPD标记[J].科学通报,1998,43(21):2302-2307.
- 姚浩然,李勇,李静,等.杀菌剂新剂型“40%多菌灵胶悬剂”防治大豆灰斑病的研究[J].大豆科学,1989,8(1):75-84.
- 刘学敏,李长友,张明厚.大豆灰斑病叶部病斑严重度的分级标准[J].大豆科学,1991,10(4):330-334.
- 杨庆凯,张晓刚,齐永安,等.大豆灰斑病抗性鉴定与遗传的初步研究[J].东北农业大学学报,1988,18(4):213-217.

## STUDY ON RESISTANCE STANDARD OF SOYBEAN PLANTS TO *CERCOSPORA SOJINA* Hara

Cao Yueping<sup>1</sup> Yang Qingkai<sup>2</sup>

(1. Shanghai Jiaotong University 201101; 2. Northeast Agriculture University)

**Abstract** The establishment of resistance standard of soybean plant is very important but difficult to distinguish in resistance breeding and mechanism studies. The spots distributions of F<sub>2</sub> plant, the resistant—sensitive rate of the separations in F<sub>3</sub> lines of different F<sub>2</sub> plants and the resistance ability after the first invasion of *Cerospora soja* Hara in soybean plant was discussed in the paper. The resistant—sensitive standard of soybean plant to *Cerospora soja* Hara with several physical races existed should be at the point that BBXJS is 10. This means that the spots of the resistant plants in this system should be less than 5—8 spots.

**Key words** *Cerospora soja* Hara; Resistance standare; Classification