

大豆抗菌核病研究进展

董志敏¹,王曙明¹,刘玉芝¹,刘佳¹,衣志刚¹,朱晓海²

(¹吉林省农业科学院大豆中心,吉林 长春 130033; ²吉化集团农药化工有限责任公司,吉林 吉林 132021)

摘要:大豆菌核病是导致大豆严重减产的第二大病害,近十几年在我国尤其是东北的黑龙江和吉林大豆主产区发病日趋严重。综述大豆抗菌核病遗传育种领域的相关研究,即抗性鉴定方法、抗病种质资源、抗性遗传与 QTL 和抗性基因工程等 4 方面的研究进展,并提出了目前大豆抗菌核病遗传育种研究存在的关键性问题及可能的解决方法。

关键词:大豆菌核病; 鉴定方法; 遗传; QTL 定位; 基因工程

中图分类号:S435.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2008)06-1053-05

Progress on Resistance to *Sclerotinia Sclerotiorum* in Soybean

DONG Zhi-min¹, WANG Shu-ming¹, LIU Yu-zhi¹, LIU Jia¹, YI Zhi-gang¹, ZHU Xiao-hai²

(¹Soybean Centre, Jilin Academy of Agricultural Science, Changchun 130033; ²Jilin Chemical Group Pesticide & Chemical Co., Ltd, Jilin 132021, Jilin, China)

Abstract: *Sclerotinia sclerotiorum* is the second main disease reducing yield of soybean. In recent decades, it harmed severely in China, especially in Heilongjiang and Jilin province. In the paper, the relative research progress on resistance inheritance and breeding to *Sclerotinia sclerotiorum* of soybean were summarized, including the resistance evaluation methods, resistance germplasms, resistance inheritance, QTL and gene engineering. The main factors hindering the resistance breeding of *Sclerotinia sclerotiorum* and its possible solving methods were also prospected.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean; Evaluation method; Inheritance; QTL; Gene engineering

大豆菌核病是一世界性病害,除大豆胞囊线虫病外,它是导致大豆严重减产的第一大病害。近十几年来,大豆菌核病发生频繁,病害日趋加重。在国外大豆菌核病主要分布在美国、加拿大、阿根廷、匈牙利、日本和印度等国^[1-2],在国内分布于华北、华东、西南、东北等大豆产区,以东北发病最频繁、最重^[3]。在东北的黑龙江省,进入 80 年代后发病率由 1983 年 5% 左右上升到 1997 年的 20%~30%,严重地块高达 50% 以上,甚至绝产^[4]。据黑龙江省农科院植保所调查,1986 年黑龙江省发病面积 14.7 万 hm²,减产 0.76 亿 kg,减收 0.55 亿元;1997 年发病面积 20 万 hm²,减产大豆 1.03 亿 kg,减收 0.75 亿元^[5]。在东北的吉林省,2002 年和 2004 年,其东部山区大面积发生病害,发病面积达 70% 以上。由此让人们警觉,大豆菌核病将会有继续扩大蔓延、加重危害的趋势,如不及时采取有效措施防治,将严重威胁大豆生产。

针对这一迅速发展起来的危害极大的病害,国内外在遗传育种方面已初步开展研究,包括抗性鉴定方法、抗性资源的筛选、抗性遗传和 QTL 定位等相关研究工作。

1 大豆菌核病抗性鉴定方法

筛选抗菌核病的大豆资源,尤其是筛选适于各种研究要求的抗病材料的鉴定方法,是开展大豆抗菌核病遗传育种的基础工作。目前报道的研究方法很多,大体分为离体组织菌丝块接种、活体菌丝块接种、菌液接种法和草酸反应等四类,不同的方法在接种时期,接种工作量和鉴定结果上皆具有其优缺点,适于不同的研究需要。

1.1 离体组织菌丝块接种

常用的离体组织为大豆完全展开的幼嫩叶片或茎段。离体叶接种是将离体叶片的叶柄保湿,将菌

丝块接种于最大叶中部中脉边的叶肉上,菌丝贴向叶面,根据病斑大小和扩展速度统计病害程度^[6]。离体茎接种是从大豆幼苗第一个3出复叶节开始向上取10 cm,两端缠湿棉球,然后将直径3.0 mm的PDA菌丝圆片置于大豆茎中间,使菌丝面与大豆茎接触,室温下用透明塑料袋封闭保湿。发病严重度以大豆茎受菌丝侵染长度计算^[7]。

其中,离体叶不破坏供试材料整体,对于较珍贵或种子量少的材料非常适合,该方法适于各种生长期的鉴定,简单易行,但由于每次试验的材料份数不能太多,因此适于单株选择,不适群体鉴定^[8]。离体茎接种适于生长前期对幼嫩的离体茎进行鉴定,该方法工作量较大,所用的控制环境面积很大,并且要对离体茎严格地控制好湿度,才能保证鉴定结果的重演性。因而在大量的抗病鉴定中很少采用该方法。

1.2 活体植株菌丝块接种

根据接种部位的不同,有子叶接种、苗期叶片接种^[7],叶柄剪切接种法^[9]。将0.6 cm直径,0.2 mm厚的菌丝块接种于子叶中部伤口或叶片中脉或剪切的叶柄面朝向接种部位,保湿培养;三者皆可通过植株萎蔫情况评价感病程度。

该类方法试验周期短,方法易于掌握,不受自然环境干扰,适于大批量的供试材料,如种质资源,育种低世代材料,初级抗(耐)病材料等初级鉴定,也适于高级鉴定。但供试材料病情一般很高,对寄主有破坏作用,供试寄主植株通常无再利用价值,一些低抗(耐)材料在鉴定中将被淘汰,高感和中感材料可能差别较小。几种方法中,叶柄剪切法鉴定结果重演性最好。目前在美国已被作为菌核病抗性鉴定鉴定方法研究的标准方法或对照方法^[10]。

1.3 菌液接种法

该类方法是用液体马铃薯培养基扩繁菌丝块,将OD₆₀₀为1.5~2.0的菌液以每株5 mm均匀喷雾于V3期叶片(喷雾法)或以每株1mL的量滴在V3期植株茎尖生长点上(滴定法),调查接种后3~14 d内每天的植株萎蔫数目,以AUWPC值来评价病害程度。最简便评价方法是直接计算2周后死亡植株数,统计死亡率^[10]。

该类方法鉴定处于植株生长前期,接种过程最为简便,快速;成本最低,其中菌液喷雾法需要的菌液较多但接种快速方便,其成本相当于叶柄前切法或离体茎法的1/3,菌液滴定法的成本相当于叶柄

前切法或离体茎法的1/10;调查病害程度最容易,鉴定结果较好,非常适于大量材料的抗性评价,尤其适于在大量资源中筛选耐病材料,不能明确划分感病级别。

1.4 草酸反应

草酸毒素是核盘菌的次生代谢物,在该菌的致病机理中起着决定性作用,寄主对草酸的抗性决定着它对病原的抗性。草酸反应鉴定主要包括浸根、浸离体叶或茎。其方法是用40 nm的草酸浸泡水培的大豆植株或生长一致的离体叶片或茎段,其中,侵根和离体叶通过调查和统计萎蔫情况来评价抗性^[11],浸茎法通过草酸溶液的变色和测量茎的变色程度来评价^[7]。

显著特点是简单、省力、容易控制发病环境条件,可随意调整草酸浓度,这是菌体接种所不及的。该类方法实验过程简便和周期短,节省时间,且所需空间很小,适于大规模品种群体的抗性鉴定和筛选,尤其是草酸浸茎法大量试验证明该方法是一种快捷且准确性较高的鉴定方法^[7]。

2 大豆抗菌核病种质资源

选择抗病品种是防治大豆菌核病最经济有效的措施。但是,由于该病菌寄主范围广,寄生性弱,致病性强,目前仅发现感病相对轻的或避病资源,尚没有发现免疫或完全抗性抗病品种。

对于避病型而言,田间观察发现,早熟品种感病的几率小,晚熟品种感病的几率大,因晚熟品种植株比较茂盛、密闭环境好,不利于通风透湿,造成菌核病加重。株型紧凑株型紧凑、尖叶或叶片上举、通风透光性能好,株高、分枝、叶形、株型等^[12]。对于耐病型,即部分抗性而言,目前美国对大豆抗菌核病人工接种鉴定的研究较多,主要采用离体叶片法、叶柄剪切法和菌液喷雾法等,已鉴定 NKS 19-90、Asgrow A2506、Colfax、Corsoy、Vinton 81、PI 391589B、FC 030233、PI 089001、PI 153259、PI 437764、PI 548404、PI 548312、A X N-1-55、Hodgson 和 Hodgson78 等10余份部分抗性种质^[6,10,13-14],还有加拿大的 maple arrow 是世界公认的遗传耐病种质^[7]。我国在该方面的研究很少,苗保河对一些东北推广品种抗性采用菌核包埋法进行全生育期鉴定,发现抗性相对好的材料多为紫花^[3],Grau 等^[15]在鉴定中也有此发现,但是否紫花与抗菌核病基因连锁,还没有相关的科学论证。在田间自然发病的条件下,我国还发现

了一些感病程度相对低的栽培品种,黑龙江省品种垦农 4 号、合丰 40、垦农 5 号、合丰 39,垦农 18,合丰 25 和合丰 35,田间感病指数小于 18%^[12],但这些品种具有的抗性是耐病或避病还是基因抗病还不明确。

3 抗性遗传与 QTL 定位

尽管没有发现对大豆菌核病原免疫的材料,但大豆品种资源的抗性变异还广泛存在的^[15-16],因此 Kim 等^[17]和 Guo 等^[18]利用部分抗性种质进行了遗传分析,研究发现部分抗性表现为复杂的数量性状遗传,由多个隐性基因控制的,可能存在加性效应,其遗传力在 0.3~0.71 间,平均为 0.59。可见,大豆对菌核病的部分抗性是可以进行后代选择的。而且 Kim 等^[17]和 Venancio 等^[6]还进一步发现抗/感组合后代群体的平均感病指数显著高于感病亲本或显著低于抗病亲本。这是一种超亲现象的表现,前者后代个体聚合了感病亲本和部分抗性亲本的抗性不利基因,证明了抗性亲本的部分抗性;后者现象的出现理论上推测聚合了亲本的抗性有利基因,这说明感病亲本也具有抗性有利位点。

Kim 等^[17]对田间抗性进行了 QTL 定位和与农艺性状的相关分析,研究发现与抗性有关的的农艺性状,即株高,倒伏,花期、成熟期和产量的遗传力远远高于感病指数的;抗性基因定位研究在 M,K,C2 连锁群上发现 3 个显著的 QTL 位点,共与 10 个 maker 连锁。其中位于 M 连锁群上抗性位点是通过控制花期和产量,位于 C2 连锁群上抗性位点是通过控制倒伏、株高和产量,它们都是间接影响感病程度的。只有 K 连锁群上的两个抗性位点 OW13₉₀₀和 BARC-satt46 可能控制生理抗性的。

Venancio 等^[6]和 Guo 等^[18]对生理抗性进行了 QTL 定位,在 7 个遗传群体中,共发现 38 个显著抗性标记,有 9 个抗性标记(Satt424,Satt233,Satt147,Satt114,Satt191,Satt245,Satt481,Satt243,Satt109)在 2 个以上抗性群体中被定位,其中 Satt233 在两个不同抗性鉴定方法的不同遗传群体中被定位到,Satt109 在 3 个遗传群体中被定位到。而且这些标记分布在 A1、A2、D1a、D1b、D2、E、F、G、I、K、L、M、N、O 14 连锁群上,大部分成簇集中在 A2、E、F、O 连锁群体上,在抗病连锁群 A2、F、G、N、O 上的标记也主要分布在抗病基因簇区域。

表 1 大豆抗菌核病遗传标记
Table 1 The marker of resistance to soybean *Sclerotinia sclerotiorum*

连锁群 Link group	标记 Marker	位置 Position	群体数 Population number	连锁群 Link group	标记 Marker	位置 Position	群体数 Populatio nnumber
A1	Satt545		1	F	Satt149	18.13	1
A2	Satt424		2	F	AW186493	21.04	1
A2	Satt233	100.09	2	F	Satt114		2
A2	Satt327	109.83	1	G	Satt394		1
A2	Satt329	110.94	1	I	Satt191		2
A2	Satt209	128.44	1	I	Satt419	21.90	1
D1a	Satt147		2	K	Satt628	49.59	1
D1b	Satt129		1	K	Satt273		1
D2	Satt459		1	L	Satt143		1
E	Satt256		1	L	AW508274	38.83	1
E	Satt411	12.92	1	M	Satt245	53.54	2
E	Satt212	32.27	1	N	Satt481		2
E	Satt606	39.77	1	O	Satt153	118.14	1
E	Satt699	41.24	1	O	Satt009		1
E	Satt706	43.36	1	O	Satt478		1
E	Satt491	43.64	1	O	Satt477		1
E	Satt185	44.76	1	O	Satt123		1
E	Satt483	44.98	1	O	Satt243		2
E	Satt263	45.40	1	O	Satt109		3

4 抗菌核病基因工程

已知几丁质是许多真菌细胞壁的构成成份,而几丁质酶基因可以催化其水解,从而抑制病菌的生

长繁殖,所以人们试图将几丁质酶基因转入油菜品种中来达到抗病的目的。这一基因已被 Oppenheim^[19]和 Grison^[20]分别成功地转到油菜和冬油菜中。

草酸一直被公认为菌核菌的主要致病物质^[21]，具有降解草酸功能的基因 oxalate oxidase、oxalate decarboxylase、Hydrogen Peroxid 对菌核病抗性较好。目前在小麦，大麦中已分离出 oxalate oxidase 基因^[22-23]，转 oxalate oxidase 基因的油菜^[24]、大豆^[25]西红柿^[26]已表现出显著的抗性。另外，在致病过程中，植物局部应答主要通过氧爆产生有毒物质抑制病菌的进一步发展，同时诱导过敏防御反应，使细胞发生程序性死亡，使真菌隔离正常细胞外，阻止其侵染，因此一些能够产生大量活性氧的防卫基因也有可能起到不同程度的抗性作用，加之，cAMP 是产生菌核的分子信号^[27-28]，而 PAK 与 cAMP 结合，可促使靶蛋白磷酸化从而控制菌核发育相关基因的表达^[29-30]。

5 问题与展望

大豆抗菌核病遗传育种相关基础研究还比较薄弱，而抗性资源是阻碍其相关研究的主要问题。目前世界上还未发现一份免疫的材料，仅有十余份部分抗性资源，我国甚至还没确定出一份抗性种质，由此，抗性遗传等相关的研究也受到很大影响。可见，目前要展开抗菌核病育种研究的关键问题就是发掘和创造更丰富的抗性种质资源。

准确、快速、便捷的抗菌核病鉴定方法是发掘和创造抗性资源的基础。在众多的鉴定方法中，菌液喷雾成本低，接种时间短，鉴定简便而且位于植株生长初期，非常适于大量资源的初步筛选。但由于该方法感病程度高，要注意适当的菌液接种浓度；叶柄剪切法接种工作量大但鉴定结果最为准确，非常适于少量材料的高级鉴定；草酸反应是直接利用菌核病原菌致病主要致病化学物质创造胁迫环境，诱导病害。该方法从另一层面进行准确鉴定，是病原菌接种的有效验证，对于遗传育种工作者来讲，更是一种可省去病原菌纯化、培养和繁殖复杂过程的便捷鉴定方法。菌液喷雾法，叶柄剪切法和草酸反应三者结合有望形成一快速、便捷和准确的抗性鉴定体系，为种质资源的发掘提供有效的抗性鉴定工具。

另外，虽然大豆抗菌核病遗传研究还很初步，但抗性是由多基因控制的复杂数量遗传这一基本规律是公认的。因此简单的利用分子标记鉴定与选育抗性种质，和利用基因工程方法将抗性基因从一个品种转到另一个品种还不可能。而利用目前已发现的遗传稳定的 QTL 连锁标记（Satt109，Satt233，

Satt424，Satt233 等）构建不同的近等基因系群体，实现抗性位点聚合，或通过转基因的手段将抗菌核病主要相关基因（几丁质酶，oxalate oxidase，PAK 等）转移到大豆资源中，将可能成为目前创造抗菌核病新种质的主要可行手段。

参考文献

[1] Hoffman D D, Hartman G L, Mueller D S. Yield and seed quality of soybean cultivars infected with *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Plant Disease, 1998, 82: 826-829.

[2] Ploper L D. Management of economically important diseases of soybean in Argentina. World soybean research conference VI [C]. Chicago, USA: University of Illinois Press, 1999, 269-280.

[3] 苗保河. 大豆品种资源抗菌核病鉴定[J]. 中国油料, 1994, 3 (16): 67-68. (Miao B H. Resistance identification to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean [J]. Oil Crops of China, 1994, 3 (16): 67-68.)

[4] 赵丹, 许艳丽, 李春杰. 大豆菌核病的识别与综合防治[J]. 大豆通报, 2006 (3): 15-16. (Zhao D, Xu Y L, Li C J. Identification and integrated managements for soybean *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Soybean Bulletin, 2006 (3): 15-16.)

[5] 董全中. 大豆菌核病的发生规律及综合防治[J]. 大豆通报, 2003 (3): 13. (Dong Q Z. Happen and prevention of soybean *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Soybean Bulletin, 2003 (3): 13.)

[6] Venancio S, Arahana, George L, Gracif, Kent M, Eskridge, et al. Identification of QTL for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean [J]. Crop Science, 2001, 41: 180-188.

[7] 孙明明, 韩英鹏, 李文滨, 等. 大豆菌核病鉴定方法比较与分析[J]. 大豆科学, 2007, 5: 728-731. (Sun M M, Han Y P, Li W B, et al. Comparisons and analyses on the methods of evaluation tolerance to soybean white mould [J]. Soybean Science, 2007, 5: 728-731.

[8] 余琦, 周必文. 油菜抗菌核病常规鉴定方法[J]. 中国油料, 1994, 4 (增刊): 80-83. (Yu Q, Zhou B W. Resistance identification method to soybean *Sclerotinia sclerotirum* [J]. Oil Crops of China [J]. 1994, 4 (Supplement): 80-83.

[9] Del Rio L E, Kurtzweil N C, Grau C R. Petiole inoculation as a tool to screen soybean germplasm for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Phytopathology (Supplement): 2001, 91: 176-179.

[10] Chen Y, Wang D. Two Convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Plant Disease, 2005, 12: 1268-1272.

[11] 刘胜毅, 周必文. 油菜抗菌核病草酸鉴定方法[J]. 中国油料, 1994, 4 (增刊): 75-77. (Liu S Y, Zhou B W. Oxalic acid identification of resistance to soybean *Sclerotinia sclerotiorum*. [J]. Oil Crops of China, 1994, 4 (Supplement): 75-77.

[12] 孙玉龙. 拜泉县大豆菌核病大面积发生规律的探讨[J]. 农民致富之友, 2007, 5: 16. (Sun Y L. Happen on soybean *Sclerotinia sclerotiorum* on Baiquan country [J]. Peasant Friend, 2007, 5: 16.)

[13] Diers B W, Kopisch-Obuch F J, Wang D C, et al. Registration of

- AxN-1-55 soybean germplasm with partial resistance to sclerotinia stem rot[J]. Crop Science, 2006, 46: 1403-1404.
- [14] Wang D, Diers B W, Boyse J. Registration of Skylla' soybean[J]. Crop Science, 2006, 46: 974-975.
- [15] Grau C R, Radke V L, Gillespie F L. Resistance of soybean cultivar to *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Plant Disease, 1982, 66: 506-508.
- [16] Boland G J, Hall R. Evaluation soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field conditions[J]. Plant Disease, 1987, 10: 934-936.
- [17] Kim H S, Diers B W. Inheritance of partial resistance to *Sclerotinia* stem rot in soybean [J]. Crop Science, 2000, 40: 55-61.
- [18] Guo X M, Wang D C, Anne E D, et al. Genetic mapping of QTL underlying partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean PI 391589A and PI 391589B [J]. Crop Science, 2008, 48: 1129-1139.
- [19] Oppenheim A B. Cloned chitinases in fungal plant pathogen control strategies[J]. Trends in Biotechnology, 1992, 57(2): 60-71.
- [20] Grison R. Field tolerance to fungal pathogens of brassicanapus constitutively expressing chimeric chitinase gene[J]. Nature Biotechnology, 1996, 14(5): 643-646.
- [21] Cessna S G, Sears V E, Dickman M B, et al. Oxalic Acid, A pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant stephen [J]. Plant Cell, 2000, 12(11): 2191-2200.
- [22] Lane B G. Oxalate oxidase and differentiating surface structure in wheat: germins[J]. Biochemistry Journal, 2000, 349: 309-321.
- [23] Zhang Z, Collinge D B, Thordal-Christensen H. Germinlikeoxalate oxidase, a H_2O_2 producing enzyme, accumulates in barley attacked by the powdery mildewfungus [J]. Plant Journal, 1995, 8(1): 139-145.
- [24] 董祥柏. 葡萄糖氧化酶基因和草酸氧化酶基因在甘蓝型油菜中的表达研究[D]. 北京: 中国农业科学研究院, 2004. (Dong X B. Expression of glucose oxidase gene and oxalate oxidase gene in oilseed rape (*Brassica Napus* L.) [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2004.)
- [25] Donaldson P A, Erson T, Lane B G, et al. Soybean plants expressing an active oligomeric oxalate oxidase from the wheat gf-2. 8 (germin) gene are resistant to the oxalate secreting pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Plant Pathology, 2007, 20(11): 1384-1395.
- [26] Walz A, Zingen-Sell I, Loeffler M, et al. Expression of an oxalate oxidase gene in tomato and severity of disease caused by *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Plant Pathology, 2008, 57: 453-458.
- [27] 周乐聪. 油菜菌核病流行与防治的研究概况[J]. 中国油料, 1994, (增刊): 101-108. (Zhou L C. Research on epidemic and prevention of oil *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Oil Crops of China, 1994, 4(Supplement): 101-108.)
- [28] 余琦. 甘蓝型油菜性状与抗菌核病的关系[J]. 中国油料, 1994, 4(增刊): 73-74. (Yu Q. The relation of character and resistance to white mould in *Brassica napus*[J]. Oil Crops of China, 1994, 4(supplement): 73-74.)
- [29] Chen C, Harel A, Gorovoits R, et al. MAPK regulation of sclerotial development in *Sclerotinia sclerotiorum* is linked with pH and cAMP sensing[J]. Molecular Plant Microbe Interact, 2004, 17: 404-413.
- [30] Rollins J A, Dickman M B. Increase in endogenous and exogenous-cycli cAMP levels inhibits sclerotial[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64: 2539-2544.
- (上接第 1052 页)
- [7] 李里特, 刘志胜. 加工条件对豆腐凝胶物性品质的影响[J]. 食品科学, 2000, 21(5): 26-29. (Li L T, Liu Z S. Effects of processing conditions on tofu-gel physical qualities[J]. Food Science, 2000, 21(5): 26-29.)
- [8] 孙哲浩, 彭娟, 徐建祥, 等. 凝固条件对豆腐品质的影响[J]. 食品科学, 1999, 20(9): 37-39. (Sun Z H, Peng J, XU J X, et al. Effects of coagulation conditions on tofu quality[J]. Food Science, 1999, 20(9): 37-39.)
- [9] 张明晶, 巍益民. 加工条件对豆腐产量和品质的影响[J]. 大豆科学, 2003, 22(4): 227-229. (Zhang M J, Wei Y M. Effects of processing condition on the yied and quality of tofu[J]. Soybean Science, 2003, 22(4): 227-229.)
- [10] 张明晶, 巍益民, 张波, 等. 加工条件对豆腐质量特性的影响[J]. 大豆科学, 2006, 25(4): 395-398. (Zhang M J, Wei Y M, Zhang B, et al. Effects of processing condition on the quality of tofu-gel[J]. Soybean Science, 2006, 25(4): 395-398.)
- [11] 李里特, 汪立君, 李再贵, 等. 大豆蛋白热变性程度对豆腐品质的影响[J]. 中国粮油学报, 2002, 17(1): 1-4. (Li L T, Wang L J, Li Z G, et al. Effects of heat denaturation of soybean protein on tofu-gel[J]. Chinese Cereals and Oils Association, 2002, 17(1): 1-4.)
- [12] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 117-121. (Wang Q D, Yang J. Foods experimental design and statistical analysis[M]. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 2003: 117-121.)
- [13] 郭爱民. 灰色系统理论和方法在食品科学中的应用[J]. 食品科学, 1994, 172(4): 3-6. (Guo A M. The application of grey system theory and method in food science[J]. Food Science, 1994, 172(4): 3-6.)
- [14] 傅立. 灰色系统理论及其应用[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1992: 296-311. (Fu L. Grey system theory and application [M]. Beijing: Science and Technology Literature Press, 1992: 296-311.)