

## 茎中可溶性色素水平法鉴评大豆资源对菌核病的部分抗性

厉志<sup>1</sup>, 王曙明<sup>1</sup>, 孟凡梅<sup>1</sup>, 刘佳<sup>1</sup>, 衣志刚<sup>1</sup>, 张红艳<sup>2</sup>, 董志敏<sup>1</sup>

(1. 吉林省农业科学院 大豆研究所/国家大豆工程技术研究中心, 吉林 长春 130033; 2. 辽宁省农业技术推广总站, 辽宁 沈阳 110034)

**摘要:** 为了快速、准确地筛选大豆耐菌核病候选资源, 采用茎中可溶性色素水平测定法, 评价了150份部分核心种质和国外种质及100份近15年东北育成品种的菌核病耐病性, 并通过草酸浸根产生的植株萎蔫反应, 验证了鉴定结果的准确性; 同时, 分析了花色(茎色)、叶形、生育期与耐病性的相关性。聚类分析将资源耐病性分为5个级别, 分别是高耐(3.20%)、耐(7.60%)、中感(21.60%)、感病(46.00%)和高感(21.60%), 并筛选出27份高耐病和耐病的候选资源, 其中种质材料中具有相对较多的耐病性资源。草酸浸根植株萎蔫反应与茎中可溶性色素评价结果相符。耐病强度与农艺性状相关分析表明: 叶形和生育期与耐病性不相关, 但花色(茎色)与耐病性显著相关。可见, 在反映草酸致病机制方面, 茎中可溶性色素水平测定法能够进行大豆资源菌核病耐病性鉴定和评价; 在遗传多态性丰富的大豆资源中可能会筛选到更多的耐菌核病的资源, 可能多以紫花为主。

**关键词:** 大豆; 种质资源; 菌核病部分抗性; 草酸; 茎中可溶性色素水平

中图分类号: S565.1 文献标识码: A DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.03.0481

## Soluble Pigment Level in Stems Determining Partly-Resistance to White Mold in Soybean

LI Zhi<sup>1</sup>, WANG Shu-ming<sup>1</sup>, MENG Fan-mei<sup>1</sup>, LIU Jia<sup>1</sup>, YI Zhi-gang<sup>1</sup>, ZHANG Hong-yan<sup>2</sup>, DONG Zhi-min<sup>1</sup>

(1. Soybean Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences/National Engineering Technology Research Center for Soybean, Changchun 130033, China; 2. Liaoning Agricultural Technology Extending Station, Shenyang 110034, China)

**Abstract:** In order to rapidly and conveniently screen reliable tolerance soybean germplasm, soluble pigment in stems was detected to identify the 150 soybean germplasm and 100 soybean varieties which were bred in recently 15 years. And the results were tested by wilting after plant root invaded with oxalic acid. In addition, the relativity between the leaf shape, flower color, growth days and tolerance intensity to white mold in soybean were analyzed. The identified soybean germplasm were divided into five grades by clustering analysis, including high tolerance(3.20%), tolerance(7.60%), middle susceptible(21.60%), susceptible(46%) and high susceptible(21.60%). Twenty-seven soybean germplasm were high tolerant or tolerant grades. Moreover, The result after oxalic acid invading plant root showed that the wilting intensity was corresponded with the soluble pigment level in stems. Relative analysis between tolerance intensity and agronomic trait showed, leaf shape and flower color (stem color) were not relative with tolerance intensity, otherwise, flower color(stem color) was significantly relative to tolerance intensity. Above all, the identification method of soluble pigment level in stems can well reflect oxalic acid, soybean germplasm with highly polymorphic has more potential to be tolerance to white mold in soybean, especially with purple flower.

**Keywords:** Soybean; Germplasm; Partly-resistance to white mold; Oxalic acid; Soluble pigment level in stems

大豆菌核病是核盘菌病原物, 其次生代谢物质草酸毒素具有极强的致病性, 使该病害成为世界上导致大豆严重减产的第二大病害, 仅次于胞囊线虫。在国内以东北大豆产区发病最频繁、最重<sup>[1]</sup>。近十几年来, 吉林省和黑龙江省大豆种植面积较多的地区, 在低温多雨年份, 常有较大范围的菌核病发生。而选育抗菌核病大豆品种是防治大豆菌核

病的最有效途径, 但大豆耐菌核病育种由于受到抗性种质资源匮乏的制约, 研究进展非常缓慢, 因此, 鉴定抗/耐性资源是目前研究的主要和关键内容。

大豆菌核病抗/耐性鉴定方法主要可分4类, 分别为离体组织菌丝块接种(离体叶片、叶柄和茎)<sup>[2-3]</sup>、活体菌丝块接种(麦粒叶腋和叶柄剪切)<sup>[4-5]</sup>、菌液接种法(菌丝喷雾和滴定法)<sup>[6]</sup>和草酸

收稿日期: 2015-05-12

基金项目: 农业部转基因生物新品种培育重大专项(2014ZX08004-002B-003); 吉林省科技发展计划项目(20140204019NY)。

第一作者简介: 厉志(1981-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事大豆分子育种研究。E-mail: lizhi527@126.com。

通讯作者: 董志敏(1978-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail: dongzhimin2005@126.com。

反应(侵茎、侵整株和离体叶片)<sup>[7-8]</sup>。前3类方法都受到离体、试验条件控制和生育期的限制,很难进行大规模群体的快速鉴定。而草酸反应类的鉴定方法,利用寄主对草酸的抗性来反映其对病原的抗性,鉴定过程中无需特殊环境条件,在生长前期就可鉴定,实验周期短,过程简便、快速,被认为适于大规模品种群体的抗/耐性鉴定和筛选<sup>[3]</sup>。

草酸反应的几种方法中,侵整株和离体叶片是通过草酸处理后的植株和离体叶片萎蔫程度来评价抗性,对不同材料的待检测苗的大小及均匀程度一致性要求较高<sup>[9]</sup>,萎蔫级别人为划分,具有主观性,不同批次间鉴定结果受环境湿度影响<sup>[8]</sup>,针对大规模品种群体的抗/耐性鉴定和筛选具有一定难度。而草酸处理离体茎,即茎中可溶性色素水平测定法是利用大豆菌核病致病物质草酸去侵染大豆幼茎,通过测定茎中可溶性色素值来评价抗病性。与其它两种相比,可以利用分光光度计进行量化,消除了评价萎蔫的主观误差,可以定量评价资源对草酸毒素的抵抗情况,不受环境湿度的影响,是一种简便、快速,定量评价的抗/耐性鉴定方法。该方法是 Wegulo 等<sup>[10]</sup>在利用草酸处理大豆资源实验中发现的,抗病材料的植株放入草酸溶液中,草酸溶液很快显示粉红色,由此推测茎中可溶性色素水平与菌核病抗性可能有一定关系。Wegulo 等<sup>[11]</sup>进一步研究发现,大豆茎中可溶性色素水平与大豆在田间的菌核病发生率是显著负相关。虽然目前这种可溶性色素还未被分离和鉴定,但推测这可能与花青素有关<sup>[12-13]</sup>,这种花青素是类黄酮代谢途径的产物,参与多种疾病的抗性<sup>[14]</sup>。目前, Li 等<sup>[7]</sup>利用该鉴定方法对大豆菌核病抗病基因进行了 QTL 定位。Zhao 等<sup>[15]</sup>利用该方法,通过关联分析找到了与茎中可溶性色素相关的 SNP 位点。孙鲜凤等<sup>[16]</sup>利用该鉴定方法对 95 份大豆品种(系)进行鉴定,但仅发现 4 份与 Maple Arrow 茎中可溶性色素值接近的资源,未发现比 Maple Arrow 茎中可溶性色素值更高的抗病性资源。

本研究利用茎中可溶性色素水平测定法,对大豆部分核心种质和国外种质及东北地区主栽品种进行鉴定和可能有关的农艺性状相关分析,并进行草酸侵染后萎蔫程度验证,以期获得耐菌核病较好的大豆资源,促进大豆菌核病抗性育种研究进程,同时为茎中可溶性色素水平测定法评价菌核病耐

病性的可靠性提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试种质资源材料

1.1.1 用于茎中可溶性色素水平测定的材料 100 份东北育成品种和由 150 份材料组成的部分核心种质和国外种质(以下简称种质材料)共 250 份资源用于茎中可溶性色素水平测定法评价菌核病抗病性。其中,较耐病对照种质 Maple Arrow 来自加拿大;感病对照合丰 25 由黑龙江省农业科学院佳木斯分院选育。

1.1.2 用于草酸浸根萎蔫程度验证的材料 根据茎中可溶性色素测定结果,选取茎中可溶性色素值较高的和较低的各 6 个品种进行草酸浸根验证抗病性。

### 1.2 茎中可溶性色素测定与抗病性评价

分别于 2012 年的 6 月 5 日、7 月 2 日和 2013 年 6 月 14 日在公主岭实验基地田间播种,用于茎中可溶性色素水平测定的材料,视作 3 次重复,采用随机区组设计。

在 V1 ~ V2 期,选取长势一致的 5 株大豆植株,在距离土层 0.5 cm 处剪断,剪去所有叶片,立即放入  $\varnothing 20$  mm 的装有 5 mL 草酸溶液的试管中,草酸浓度为  $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。80% 湿度,  $20^\circ\text{C}$ 、12 h 光照/12 h 黑暗的人工培养箱中处理 48 h 后,分光光度计测定试管中草酸溶液在 518 nm 处的吸光值,对照为未放置茎段的草酸溶液。Maple Arrow 和合丰 25 分别作为耐病和感病对照,初步检验测定的准确性。采用参试材料与耐病对照 Maple Arrow 吸光值的比值,即抗病性强度(tolerance intensity, TI)作为抗病性评价标准。

### 1.3 草酸浸根萎蔫程度验证

盆栽试验材料,种植于  $\varnothing 27$  cm 花盆中。待生长到 V1 ~ V2 期,随机取大小一致的 5 株测定茎中可溶性色素值;待生长到 V2 期,于傍晚,选取长势一致,株高一致的 5 株,将根冲洗干净,放入装有 20 mL 草酸浓度  $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\varnothing 20$  mm 试管中;选择 1 株,置于 20 mL 不含草酸的蒸馏水中,作为对照。材料放于  $20^\circ\text{C}$ 、12 h 光照/12 h 黑暗的环境中保湿培养。待草酸侵染 30 h,调查植株萎蔫级别。萎蔫级别划分 5 级,分别为:0 级为无萎蔫症状;1 级为 1 叶萎蔫(1 片叶是指 1 对真叶或 1 对三出复

叶); 2 级为 2 叶萎蔫; 3 级为 3 叶萎蔫; 4 级为叶柄显著萎蔫; 5 级为整株萎蔫。

#### 1.4 田间性状调查

V1 ~ V2 期调查下胚轴颜色, 简单划分为绿色和紫色; 盛花期调查花色和叶形, 分为圆叶和尖叶, 紫色和白色; 调查出苗和成熟的日期, 计算生育期。

#### 1.5 数据分析

采用 DPS 7.0 软件最长距离法对测定材料 3 个重复的平均值进行聚类分析, 根据聚类结果划分耐病级别, 确定鉴定材料耐病性。方差分析、*t* 测验和相关分析均采用 DPS 7.0 软件进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 耐病级别划分

250 份测试种质的耐病强度共聚为 5 大类(表

1) 根据耐病对照和感病对照所在的类别, 将 5 类材料划分为 5 个耐病等级(表 2)。对照 Maple Arrow 被划分到第二聚类群, 对照合丰 25 被划分到第四聚类群, 可见茎中可溶性色素水平测定方法和聚类结果能够比较准确地反映感病和耐病对照的耐病性差异。根据对照的表现, 将 5 类材料的耐病性划分为高耐(HT)、耐(T)、中感(MS)、感病(S)、高感(HS) 5 类, 分别占鉴定材料的 3.20%、7.60%、21.60%、46.00% 和 21.60%, 耐病强度范围分别为 1.144 ~ 1.422, 0.862 ~ 1.144, 0.588 ~ 0.866, 0.310 ~ 0.588 和 0.032 ~ 0.310。在鉴定材料中高耐、耐病材料仅占鉴定材料的 10.80%, 而感病和高感材料占鉴定材料的 67.6%, 可见鉴定材料大部分感病。

表 1 大豆资源聚类结果和耐病程度划分

Table 1 The cluster and tolerance grades of soybean germplasm

耐病级别 Tolerance grade	耐病强度范围 Tolerance index	大豆资源 Germplasm		育成品种 Varieties		种质材料 Germplasms	
		数量	比例	数量	比例	数量	比例
		Numbers	Percentage/%	Numbers	Percentage/%	Numbers	Percentage/%
高耐(HT)	1.144 ~ 1.422	8	3.20	1	1.00	7	5.33
耐(T)	0.862 ~ 1.144	19	7.60	5	5.00	14	8.67
中感(MS)	0.588 ~ 0.856	54	21.60	17	17.00	37	24.67
感病(S)	0.310 ~ 0.588	115	46.00	52	52.00	63	42.00
高感(HS)	0.032 ~ 0.310	54	21.60	25	25.00	29	19.33
总计 Total		250	100.00	100	100.00	150	100.00

表 2 大豆资源耐病等级

Table 2 The tolerance grades of soybean germplasm

资源名称 Resource	耐病等级 Tolerance grade								
东农 L202(C)	HT	吉科豆 5 号(B)	MS	杜纳吉卡(C)	S	吉育 71(B)	S	吉林 30(C)	HS
多马卡 托利(C)	HT	L61 - 5047(C)	MS	黑河 50(B)	S	绥农 31(B)	S	合丰 30(C)	HS
N62(C)	HT	昌吉黄豆 1 号(C)	MS	九农 28(B)	S	赤 382(C)	S	九农 31(B)	HS
紫花 2 号(C)	HT	九农 36(B)	MS	N23(C)	S	龙选 1 号(C)	S	九农 21 号(C)	HS
黑河小黄豆(C)	HT	合丰 29(C)	MS	黑农 61(B)	S	吉育 47(B)	S	吉农 15(B)	HS
Harosoy(C)	HT	L67 - 1250(C)	MS	吉育 72(B)	S	抗线虫 6 号(B)	S	北豆 20(B)	HS
绥农 15(B)	HT	垦鉴北豆 6 号(B)	MS	黑农 40(B)	S	9748 - 9750(C)	S	绥农 11(B)	HS
L72 - 1140(C)	HT	L64 - 1067(C)	MS	北见白(C)	S	绥农 1 号(C)	S	艾卡 166(C)	HS

续表 2

资源名称 Resource	耐病 等级 Tolerance grade								
Maple ridge( C)	T	北豆 9 号( B)	MS	黑农 43( B)	S	吉农 20( C)	S	合丰 58( B)	HS
合丰 35( C)	T	Vinton( C)	MS	L84 - 337( C)	S	吉农 16( B)	S	九农 33( B)	HS
N38( C)	T	吉育 70( B)	MS	Wilkin( C)	S	凤交 66 - 22( C)	S	平安豆 49( B)	HS
黑农 48( B)	T	N49( C)	MS	吉育 84( B)	S	黑农 48( B)	S	黑河 46( B)	HS
和龙油太( C)	T	吉育 65( B)	MS	黑秣食豆( C)	S	焉耆黄豆( C)	S	黑农 60( B)	HS
黑河 18( C)	T	北丰 9 号( C)	MS	合丰 51( B)	S	绥农 26( B)	S	黑农 2 号( C)	HS
赫尔松 2 号( C)	T	L72 - 1241( C)	MS	黑河 4 号( C)	S	茶秣食豆( C)	S	嫩丰 11( C)	HS
龙泉大豆( C)	T	N54( C)	MS	吉育 66( B)	S	绥农 25( B)	S	垦丰 15( B)	HS
Maple Arrow( CK)	T	垦丰 11( B)	MS	Hodgson 78( C)	S	Nattosan( C)	S	东农 57( B)	HS
绥农 14( B)	T	N21( C)	MS	合 00 - 23( C)	S	垦鉴 34( B)	S	小黄豆( C)	HS
黑河 37( B)	T	Proto( C)	MS	N09( C)	S	L67 - 1687( C)	S	黑河 19( C)	HS
蒙豆 9 号( C)	T	N35( C)	MS	L73 - 1543( C)	S	合丰 55( B)	S	合丰 24( C)	HS
东农 42( B)	T	黑农 54( B)	MS	垦鉴北豆 7( B)	S	黑农 52( B)	S	长农 16( B)	HS
Vinton ( C)	T	合 02 - 1667( C)	MS	L64 - 2489( C)	S	新大豆 1 号( C)	S	蒙豆 14( C)	HS
L67 - 225( C)	T	黄大粒( C)	MS	铁荚四粒黄( C)	S	L73 - 105( C)	S	蒙豆 12( C)	HS
L63 - 1097( C)	T	Nattawa( C)	MS	北豆 35( B)	S	合丰 25( CK)	S	黑农 62( B)	HS
L70 - 4112( C)	T	N59( C)	MS	L69 - 4428( C)	S	垦丰 17( B)	S	合 02 - 1667( C)	HS
L67 - 166( C)	T	Kato( C)	MS	绥农 24( B)	S	平安豆 16( B)	S	吉育 28( B)	HS
黑河 51( B)	T	吉育 92( B)	MS	L62 - 904( C)	S	蒙豆 26( B)	S	薄地高( C)	HS
北丰 14( C)	T	公野 04L - 141( C)	MS	吉育 69( B)	S	黄脐( C)	S	合丰 52( B)	HS
L65 - 756( C)	MS	倪丁花眉豆( C)	MS	N22( C)	S	蒙豆 30( B)	S	蒙豆 14( B)	HS
合丰 45( B)	MS	齐黄 32( C)	MS	L72D - 4045( C)	S	青豆( C)	S	金元 1 号( C)	HS
北豆 10 号( B)	MS	Magnolid( C)	MS	牡丰 1 号( C)	S	Hitatsa( C)	S	猫眼豆( C)	HS
平安豆 8 号( B)	MS	丰收 6 号( C)	S	庆安黑豆( C)	S	吉利豆 1 号( B)	S	长农 24( B)	HS
N66( C)	MS	黑河 53( B)	S	紫花 4 号( C)	S	吉育 94( B)	S	茶色豆( C)	HS
吉育 77( B)	MS	黑河 1 号( C)	S	抗线虫 7 号( B)	S	N36( C)	S	垦丰 20( B)	HS
六十天还仓( C)	MS	垦丰 14( B)	S	艾卡 166( C)	S	Wea( C)	S	北丰 11( C)	HS
L69 - 4318( C)	MS	公野 04 - L15( C)	S	油黄豆( C)	S	合丰 43( B)	S	红丰 11( C)	HS
东农 01 - 1234( C)	MS	绥 02 - 336( C)	S	铁丰 8 号( C)	S	黑农 64( B)	S	Hoyt( C)	HS
L66 - 704( C)	MS	嫩丰 15( C)	S	白城秣食豆( C)	S	东农 434( C)	S	黑农 35( C)	HS
黑农 35( B)	MS	荆山璞( C)	S	吉农 12( B)	S	黑农 58( B)	S	垦鉴豆 17( B)	HS
吉育 99( B)	MS	L59 - 731( C)	S	黑农 63( B)	S	吉农 18( B)	S	黑龙江 41( C)	HS

续表 2

资源名称 Resource	耐病 等级 Tolerance grade	资源名称 Resource	耐病 等级 Tolerance grade	资源名称 Resource	耐病 等级 Tolerance grade	资源名称 Resource	耐病 等级 Tolerance grade	资源名称 Resource	耐病 等级 Tolerance grade
L64 - 1061( C)	MS	吉育 35( B)	S	绥农 8 号( C)	S	小粒秣食豆( C)	S	合交 8 号( B)	HS
黑农 33( B)	MS	公野 03 - 5570( C)	S	元宝金( C)	S	压破车( C)	S	Nova( C)	HS
Boige du lot et geronne( C)	MS	方正秣食豆( C)	S	通农 13( B)	S	吉丰 4 号( B)	S	吉育 67( B)	HS
N13( C)	MS	吉利豆 3 号( B)	S	四粒黄( C)	S	铁 5621( C)	S	嘟噜豆( C)	HS
Weber( C)	MS	L70 - 4136( C)	S	绥农 6 号( C)	S	合丰 42( B)	S	Beeson( C)	HS
N31( C)	MS	吉育 55( B)	S	L69 - 4266( C)	S	合丰 29( C)	HS	黄宝珠( C)	HS
L67 - 234( C)	MS	吉利豆 2 号( B)	S	黑农 41( B)	S	黑农 26( B)	HS	铁荚子( C)	HS
L63 - 1397( C)	MS	N29( C)	S	龙皇 1 号( C)	S	东农 163( C)	HS	欧 25( B)	HS
黑农 42( B)	MS	吉育 86( B)	S	北豆 30( B)	S	吉育 72( B)	HS		
L68 - 758( C)	MS	黑农 49( B)	S	吉农 26( B)	S	长农 19( B)	HS		
CN 210( C)	MS	吉科豆 6 号( B)	S	牛毛黄( C)	S	吉林 20( C)	HS		

## 2.2 耐病种质资源筛选

耐病强度大于 0.862 的材料被鉴定为耐病和高耐病材料, 累计 27 份。其中与 Maple Arrow 划为一类, 与之耐病性相当的耐病材料有 19 份(表 2), 显著高于 Maple Arrow 的高耐病材料有 8 份(表 3)。

这些高耐病和耐病种质分别占鉴定材料的 3.20% 和 7.60% (表 1), 累计占 10.80%。在这 27 份资源中, 有 14 份资源的耐病强度高于对照 Maple Arrow, 这 14 份资源, 2 份来自育成品种, 12 份来自种质材料。

表 3 高耐和耐菌核病种质资源及其耐病强度

Table 3 The high tolerance and tolerance soybean germplasm and their tolerance intensity

资源名称 Resource	来源 Source	耐病强度 Tolerance index	耐病级别 Tolerance grade	资源名称 Resource	来源 Source	耐病强度 Tolerance index	耐病级别 Tolerance grade
东农 L 202	C	1.422	HT	赫尔松 2 号	C	1.027	T
多马卡·托利	C	1.421	HT	龙泉大豆	C	1.002	T
N 62	C	1.400	HT	绥农 14	B	0.991	T
紫花 2 号	C	1.317	HT	黑河 37	B	0.977	T
黑河小黄豆	C	1.308	HT	蒙豆 9 号	C	0.962	T
Harosoy	C	1.304	HT	东农 42	B	0.954	T
绥农 15	B	1.293	HT	Vinton 81	C	0.953	T
L 72-1140	C	1.183	HT	L 63-1097	C	0.936	T
Maple ridge	C	1.144	T	L 67-225	C	0.936	T
合丰 35	C	1.103	T	L 70-1112	C	0.929	T
N 38	C	1.083	T	L 67-166	C	0.889	T
黑农 48	B	1.082	T	黑河 51	B	0.876	T
和龙油太	C	1.069	T	北丰 14	C	0.862	T
黑河 18	C	1.035	T				

C: 种质材料; B: 育成品种。

C: Germplasms; B: Varieties.

### 2.3 茎中可溶性色素值与萎蔫级别

草酸浸根萎蔫程度表现为:草酸侵染 30 h 除茎中可溶性色素值较高的 6 份材料中,东农 L 202、龙泉大豆、绥农 15 和赫尔松 2 号 4 份资源萎蔫级别显著低于对照 Maple Arrow,仅有 1 份资源绥农 14 萎

蔫级别高于 Maple Arrow;而茎中可溶性色素值低的 6 份资源除吉育 94 外,萎蔫级别都显著高于 Maple Arrow(表 4)。相关分析发现,茎中色素值与萎蔫级别的相关系数为  $-0.73$ ,差异极显著。

表 4 大豆资源的茎中色素值与其萎蔫级别

Table 4 Solution pigment level in stem and wilting grade of soybean germplasm

编号 No.	抗病资源 Tolerance resource	平均 OD <sub>518</sub> Average OD <sub>518</sub>	萎蔫级别 Wilting grade	编号 No.	感病资源 Susceptible resource	平均 OD <sub>518</sub> Average OD <sub>518</sub>	萎蔫级别 Wilting grade
1	绥农 14	0.237	2.0	7	焉耆黄豆	0.064	2.2
2	东农 L 202	0.206	0.4	8	吉育 94	0.051	1.6
3	绥农 15	0.187	0.6	9	蒙豆 14	0.033	2.6
4	龙泉大豆	0.141	0.6	10	吉育 28	0.031	2.2
5	Maple Arrow	0.140	1.8	11	合丰 25	0.015	4.2
6	赫尔松 2 号	0.129	1.0	12	通农 13	0.007	3.8

### 2.4 种质资源抗病性与农艺性状相关性

2.4.1 种质资源抗病性与茎色(花色)相关性 方差分析 Z-L(紫茎-绿茎)或 Z-B(紫花-白花)的抗病相对值  $t$  测验结果表明:250 份大豆种质中,紫茎、紫花或绿茎、白花抗病强度  $t = 5.1875$ ,  $P = 0.0001$ ,差异极显著。另外,无论在全部 250 份种质材料中,还是在 150 份种质材料或 100 份育成品种中,按抗病强度由高到低排序,排在前 10% 抗病强

度高的材料中,紫茎紫花材料与绿茎白花的材料比例分别为 23:2,13:2 和 10:0,可见紫茎紫花(Z)材料数量极显著多于绿茎白花的材料;排在后 10% 抗病强度低的材料中,紫茎紫花材料与绿茎白花的材料比例分别为 8:17,6:9 和 0:10,除了种质材料组中的紫茎紫花材料比绿茎白花的材料差异不显著外,另外两组中紫茎紫花材料都显著少于绿茎白花的材料。

表 5 抗病强度高和低的 10% 资源农艺性状表现

Table 5 The agronomic characters of soybean germplasm whose disease tolerance intensity rank at top 10% or bottom 10%

材 料	L(绿茎白花)	Z(紫茎紫花)	J(尖叶)	Y(圆叶)
大豆资源 Resource(上 10%)	2	23	8	17
大豆资源 Resource(下 10%)	17	8	10	15
种质材料 Germplasms(上 10%)	2	13	7	8
种质材料 Germplasms(下 10%)	9	6	4	11
育成品种 Varieties(上 10%)	0	10	1	9
育成品种 Varieties(下 10%)	10	0	6	4

“上 10%”和“下 10%”分别指抗病强度排名前 10% 和后 10% 的材料。

Top 10% and bottom 10% mean the rank of tolerance intensity of the germplasm, respectively.

### 2.4.2 种质资源抗病性与叶形和生育期的相关性

方差分析尖叶和圆叶的抗病强度  $t$  测验结果显示  $t = 1.5212$ ,  $P = 0.1298$ ,差异不显著;在 3 组资源中(表 5),抗病强度高端(10%)材料中,尖叶与圆叶的材料比例分别为 8:17、7:8 和 1:9,圆叶的皆多于尖叶的;抗病强度低端的材料中,尖叶与圆叶的材料比例分别为 10:15、4:11 和 6:4,除育成品种

组的尖叶多于圆叶外,另外两组都是圆叶的显著多于尖叶的。

250 份种质材料与育成品种的抗病性相对值与生育天数进行相关性分析,相关系数为  $-0.21$ ,相关不显著;进一步对 150 份种质材料和 100 份育成品种的抗病性相对值与生育期进行相关性分析,相关系数分别为 0.02 和  $-0.13$ ,两者相关皆不显著。

### 3 结论与讨论

#### 3.1 茎中可溶性色素水平鉴定和评价的准确性

草酸侵染是菌核侵染的反应,菌核病侵染寄主产生大量草酸而致死寄主。这在菜豆、油菜等对菌核病的感病度与组织内草酸的分布和浓度分析中<sup>[17-48]</sup>得到了充分的证实,因此通过草酸侵染致病来反应菌核侵染致病是可靠的。本研究通过茎中色素水平测定衡量草酸侵染致病程度。并通过对茎中色素水平高的6份材料和茎中色素水平低的6份材料进行草酸浸根萎蔫程度验证,证实与茎中可溶性色素值筛选比较相符,充分说明采用茎中可溶性色素测定法评价大豆资源抗病性能较好地表现大豆受草酸侵染危害程度,对于快速简便量化地筛选抗病性候选资源具有重要价值。但这种方法毕竟仅仅是利用草酸侵染来替代真实的大豆菌核病侵染过程,还需进一步利用菌核侵染方法最终确定这些资源的抗病性。

#### 3.2 抗病性种质及其来源

茎中可溶性色素测定法筛选出19份抗病和8份高抗病种质资源,这些种质可成为大豆菌核病的候选抗病资源。但这些抗病性较好的种质主要来自种质材料,尤其是高抗病种质中8份中7份皆来自种质材料。孙鲜凤等<sup>[16]</sup>用同样的方法对一些近年来的100余份育成品系进行鉴定,并未发现比Maple Arrow抗病性好的资源,而我们却发现了14份茎中可溶性色素值高于Maple Arrow的抗病性资源,而14份材料中12份为种质材料。可见,遗传多样性丰富的种质材料多耐菌核病资源;而近十几年的育成品种,经过优×优的育种模式,在选育过程中,遗传基础越来越狭窄,丢失了优良抗菌核病基因。但绥农15和黑农48被筛选为抗病品种,充分证明并不是近期育成品种中绝对没有抗病性较好的材料,而是相对较少,这样的种质资源,由于具有良好农艺性状,将在育种中有更大的利用价值。

#### 3.3 抗病种质资源的特征特性

从资源抗性与性状关系分析来看,下胚轴颜色或花色与抗性极显著相关。紫茎或紫花材料多抗性。不仅本研究存在这一现象,Wegulo等<sup>[11]</sup>采用茎中可溶性色素法鉴定12份材料,其中茎中可溶性色素值高的6个中有4个是紫花,茎中可溶性色素值低的有4个白花。而且苗保河采用菌核包埋法模拟田间自然发病,发现抗性材料多为紫花,抗病材料仅占鉴定材料的6.6%,却占紫花材料的37%。

Grau等<sup>[19]</sup>在田间鉴定发现紫花多抗性。茎中可溶性色素与田间自然发病或盆栽包埋法分别从生化反应和自然发病发现同一规律,进一步证明花色或茎色与抗性有关。紫花或紫茎的大豆资源之所以抗病性相对较好可能与花青素有关,但哪些组分决定紫色花青素的组分还没有相关研究报道。

研究中还发现叶形和生育期与抗性无关,而Kim等<sup>[20]</sup>、Venancio等<sup>[2]</sup>和Guo等<sup>[21]</sup>对菌核病QTL定位及位点与农艺性状相关性研究发现,叶形、生育期和开花期与QTL定位相关。结论不一致的原因可能是上述3个研究采用的是叶片活体接种和菌核包埋法进行接种鉴定,这两种方法受田间温度、湿度影响较大,叶形和生育期通过影响田间光照和湿度间接影响抗性。圆叶、生育期晚的材料植株茂密,遮荫和保湿,易于病害发生;早熟、尖叶的材料反之。另外,生育期短开花期早的材料,可能通过早开花,逃避了田间的侵染,而表现抗性。这些都可能是避病表现,不是遗传抗性。

可见,一些性状可以通过避病性,而在田间表现抗性,这种避病性造成了田间抗病表现不能完全反映大豆的遗传抗性。作为大豆抗菌核病遗传育种,最重要的是解决遗传抗性问题。而茎中色素水平测定法不受环境条件、株型、生育期、开花期等影响,筛选结果完全反映遗传抗性,因此,快速、简便、可量化检测的茎中色素水平测定法作为候选耐菌核病大豆种质的初步筛选,结合田间菌核病侵染的高级筛选,可以在大量遗传多样性丰富资源中快速、高效地筛选到大豆耐菌核病遗传抗性资源,进而解决我国大豆抗菌核病种质资源匮乏问题。

#### 参考文献

- [1] 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.)
- [2] Venancio S A, George L G, James E S, et al. Identification of QTLs for resistance to *sclerotinia sclerotiorum* in soybean[J]. Crop Science, 2001, 41: 180-188.
- [3] 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, 26(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 mold[J]. Soybean Science, 2007, 26(5): 728-731.
- [4] 韩广振, 韩粉霞, 孙君明, 等. 大豆菌核病的田间快速接种鉴定方法研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(6): 1282-1287.

- ( Han G Z , Han F X , Sun J M , et al. A rapid method for evaluation of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotiorum* in the field condition [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010 , 43 ( 6 ) : 1282-1287. )
- [5] 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.
- [6] Chen Y , Wang D. Two convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Plant Disease* , 2005 , 12 : 1268-1272.
- [7] Li D M , Sun M M , Han Y P , et al. Identification of QTL underlying soluble pigment content in soybean stems related to resistance to soybean white mold ( *Sclerotinia sclerotiorum* ) [J]. *Euphytica* , 2010 , 172 : 49-57.
- [8] 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. Oxalate appraisal methods of identifying rape resistance to *S. sclerotiorum* [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences* , 1994 , 4( S ) : 75-77. )
- [9] Judith M K , James D K. An indirect test using oxalate to determine physiological resistance to white mold in common bean [J]. *Crop Science* , 2000 , 40 : 281-285.
- [10] Wegulo S N. Soybean cultivar responses to and epidemiological studies of *Sclerotinia sclerotiorum* [D]. Ames: Iowa State University , 1997.
- [11] Wegulo S N , Yang X B , Martinson C A. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environment studies [J]. *Plant Disease* , 1998 , 82 : 1264-1270.
- [12] Harborne J B. *Plant biochemistry* [M]. New York: Academic Press , 1965 : 618-640.
- [13] Hrazdina G. *The flavonoids advances in research* [M]. London: Chapman and Hall , 1982 : 135-188.
- [14] Deikman J , Hammer P E. Induction of anthocyanin accumulation by cytokines in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology* , 1995 , 108 : 47-57.
- [15] Zhao X , Han Y P , Li Y H. Loci and candidate gene identification for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean ( *Glycine max* L. Merr. ) via association and linkage maps [J]. *Plant Journal* , 2015 , 82( 2 ) : 245-255.
- [16] 孙鲜凤,滕伟丽,李冬梅,等. 大豆新品种(系)的菌核病抗病性鉴定 [J]. 大豆科学, 2011 , 30( 5 ) : 834-837. ( Sun X F , Teng W L , Li D M , et al. Identification of tolerance in soybean varieties( lines) to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Soybean Science* , 2011 , 30( 5 ) : 834-837. )
- [17] Tu J C , Clara Triz , Lee M T , et al. Oxalic acid induced cyto-logical alterations differ in beans tolerance or susceptible to white mold [J]. *New Phytologist* , 1989 , 112( 4 ) : 519-525.
- [18] 吴纯仁,刘后利. 草酸毒素在油菜抗病育种中的应用 [J]. 中国农业科学, 1991 , 24( 4 ) : 41-46. ( Wu C R , Liu H L. The role of oxalic toxin in disease resistant breeding of oilseed rape ( *Brassica Napus* ) [J]. *Scientia Agricultura Sinica* , 1991 , 24 ( 4 ) : 41-46. )
- [19] Grau C R. Resistance of soybean cultivar to *sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Plant Disease* , 1982 , 66 : 506-508.
- [20] Kim H S , Diers B W. Inheritance of partial resistance to *Sclerotinia Stem Rot* in soybean [J]. *Crop Science* , 2000 , 40 : 55-61.
- [21] 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.

## 中国农业展望报告(2016-2025)释放市场信号-大豆

### 1. 种植面积将恢复性增长

未来10年,中国大豆面积将恢复性增长,产量稳步增加,消费量平稳增长,进口量仍将保持高位,但增速明显放缓。受种植成本支撑和国产大豆品牌化发展稳步推进的影响,国产大豆走出独立行情,预计未来10年国产大豆价格将稳中有涨。

### 2. 产量稳步增加

未来10年,东北产区大豆目标价格补贴政策将进一步完善,“粮豆轮作”补贴有望试行,引导大豆种植面积合理恢复的作用将逐步发挥,再加上国产大豆深加工产业的稳步发展也将进一步提升大豆需求,预计中国大豆种植面积将恢复性增长。在优化田间管理、育种科技发展等因素推动下,大豆单产将有所提高。面积增加和单产提升将促使大豆产量稳步增加。

### 3. 消费量稳定增加

未来10年,中国大豆消费量将稳步增长。大豆压榨加工消费量有望增加。此外,对大豆蛋白、组织蛋白、大豆卵磷脂等产品的需求也将促进大豆食用深加工消费量增加。展望期间,大豆种用消费量随种植面积扩大而稳中略增,损耗量逐年增加,但保持在消费总量的1%~1.2%。未来10年中国大豆产需继续趋紧,缺口逐年小幅扩大。

### 4. 进口增速趋缓,出口平稳增长

未来10年,受产不足需和国际大豆低价优势影响,中国对国际市场大豆仍将保持较旺盛的需求,大豆进口量保持高位。但由于进口量基数大,年度进口量增速将趋缓。预计展望期内年度大豆进口增速为0.8%,远低于上个10年12.5%的年均增速。中国大豆出口将保持稳定,年度出口量20万吨左右。

节选自《中国食品报》