



一种大豆皱叶症发生特性及材料症级鉴定

陈文杰¹, 陈 渊¹, 韦清源¹, 郭小红¹, 汤复跃¹, 杨 萌², 叶万典³, 梁 江¹

(1. 广西壮族自治区农业科学院 经济作物研究所, 广西 南宁 530007; 2. 广西壮族自治区农业科学院 玉米研究所, 广西 南宁 530007; 3. 贺州市农业科学院 科研科, 广西 贺州 542800)

摘 要:两广等地大豆生产上遇到一种大豆皱叶症,这种皱叶症可在该地区同一个材料上成片发生,导致单株叶面积降低,影响大豆生产。为研究这种大豆皱叶症发生特性,采用随机区组试验设计,利用皱叶症状稳定的华春 10 号和中黄 320 以及 2018-2019 年广西区试和南方区试材料,研究不同播期、不同生长时期、不同环境下的皱叶症变化,并利用皱叶指数进行皱叶症级材料鉴定。结果表明:大豆皱叶的发生受播种时期影响较小,苗期不表现皱叶,生长中期皱叶表现最为严重,后期有减轻的趋势。大豆皱叶症在不同年份年间遗传率 98.37%,不同地点间遗传率为 99.51%,皱叶指数高(高感)和不皱叶(免疫)的材料在多年间表现稳定,而皱叶指数中等的材料不同年份间变化较大。大豆皱叶症发生具有地域性,广西 8 个春大豆区试点中有 4 个点有皱叶发生,发生皱叶区域的皱叶比率有所不同,皱叶比率最高的为贺州,高感材料在发生皱叶症区域皱叶程度变化较小。2018-2019 年广西春、夏大豆区试参试材料平均皱叶比率分别为 50.00% 和 50.84%;2018-2019 年南方春、夏大豆区试大豆皱叶比率均值分别为 65.00% 和 100.00%。通过对材料皱叶指数分级,鉴定出 2 份表现稳定的高感材料华春 10 号和桂夏豆 119,以及表现免疫的桂 1603 等 7 份材料,这些材料为进一步开展大豆皱叶症研究奠定材料基础。

关键词:大豆;皱叶症;皱叶指数;发生特性;鉴定

Occurrence Characteristics and Identification of Resistant Materials for Soybean Crinkle Leaf Disease

CHEN Wen-jie¹, CHEN Yuan¹, WEI Qing-yuan¹, GUO Xiao-hong¹, TANG Fu-yue¹, YANG Meng², YE Wan-dian³, LIANG Jiang¹

(1. Cash Crops Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 2. Maize Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 3. Scientific Research Division, Hezhou Academy of Agricultural Sciences, Hezhou 542800, China)

Abstract: A soybean crinkle leaf disease (SCLD) appeared in some places such as Guangxi and Guangdong. SCLD could occur in large areas on the same material, which could decrease soybean yield seriously. In order to research on the occurrence characteristics of the SCLD, this study carried out different sowing time, different growth stage and different environments into experiments of randomized block design. Two crinkle leaf materials performed stably named Huachun 10 and Zhonghuang 320, and together with 50 soybean materials (tested in Guangxi soybean regional test and regional soybean test in south China in 2018-2019) were used in these experiments. Results showed that the occurrence of SCLD was influenced by sowing time slightly. SCLD did not appear in seeding stage, but occurred seriously in mid growth stage and tended slightly in late growth stage. The heritability of SCLD in different years were 98.37% and 99.51% in different places. High sensitive and immune materials appeared stably in different years. Middle types changed greatly and SCLD occurred regionally. The occurrence of SCLD were found in four of eight places during Guangxi soybean regional test in 2019. The crinkle leaf ratios (CLRs) were different in different places and it was the highest in Hezhou. Crinkle leaf degree of high sensitive materials changed more slightly. The average CLR of spring and summer soybean materials in Guangxi soybean regional test was 50.00% and 50.84% respectively, and it was 65.00% and 100.00% in regional soybean test in south China. Two high sensitive materials named Huachun 10 and Guixiadou 119, and seven immune materials such as Gui 1603 were identified, which could be used for further research on SCLD.

Keywords: Soybean; Crinkle leaf disease; Crinkle leaf index; Occurrence characteristics; Identification

收稿日期:2020-02-09

基金项目:广西自然科学基金(2019GXNSFAA185009,2019GXNSFBA185007);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-04-CES30);广西农业科学院团队项目(2015YT59);广西重点研发计划(桂科 AB16380097,桂科 AB18221057)。

第一作者简介:陈文杰(1982-),男,硕士,助理研究员,主要从事大豆遗传育种和耐逆境研究。E-mail: cenwenji1030@163.com。

通讯作者:梁江(1969-),男,硕士,研究员,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: liangjiang0626@163.com。

两广等地大豆生产上存在的叶片皱缩现象并非个别突变体材料导致,而是普遍存在于大豆种质之间,因其和 Soybean Mosaic Virus (SMV) 导致的叶片皱缩相似,前期多被误认为感染 SMV 所致,以致出现大豆品种花叶病接种抗性评价结果同田间抗性表现不一致现象。前期跟踪调查发现春大豆和夏大豆中均有皱叶的发生,皱叶发生叶片有效叶面积减小,对产量造成一定程度影响(数据待发表),急需对这种大豆皱叶症进一步研究。导致大豆出现皱叶的原因有多种,如病毒病^[1-3]、除草剂^[4-6]、锰毒^[7]、突变^[8-9]、昆虫等,其中病毒病是一种重要的因素^[10]。目前初步研究发现该皱叶症并非 SMV 所致,通过电镜透射也未发现病毒颗粒,初步的除草剂试验证明也并非除草剂所致,叶片皱缩类型同锰毒症状^[7]及基因突变症状均不相同^[8-10]。究竟何种原因导致该皱叶症出现目前并不清楚,也未见此类型的皱叶症相关报道。

尽管导致大豆该类型皱叶的原因还未找出,但前期观察发现皱叶症状可在同一材料的不同年份间稳定出现。尤其是在广西区试和南方国家大豆区试材料中,一些皱叶严重的材料往往3个重复间

皱叶一致性非常高,且不同年份间皱叶程度相似。为了系统研究该类型皱叶症发生的特点,本研究利用前期调查得到的皱叶差异大的材料以及2018-2019年广西大豆区试和南方大豆区试材料,依靠广西大豆品种区域试验平台,从大豆不同播期、不同生长时期、不同年份、不同地点角度调查分析不同材料大豆皱叶症的变化,旨在为进一步从遗传学和分子生物学角度解析该类型皱叶症提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

播期试验选用前期田间观察鉴定的两个皱叶症发生稳定、皱叶程度强且生育期相近的大豆材料华春10号和中黄320,两份材料分别由华南农业大学和中国农业科学院供种。

不同生长时期、年份和地点试验利用广西大豆第十三周期区试的10份春大豆材料和12份夏大豆材料以及南方大豆2018-2019年的17份春大豆材料和11份夏大豆材料,其中,华夏17号和桂夏豆119参加广西区试和南方区试,材料类型及供种单位信息详见表1。

表1 2018-2019年广西区试和南方区试参试材料信息

Table 1 The information about soybean materials of regional test of soybean in south China and Guangxi soybean test in 2018 and 2019

南方大豆区试 Regional test of soybean in south China			广西大豆区试 Guangxi soybean test		
类别 Type	品种 Variety	供种单位 Provide unit	类别 Type	品种 Variety	供种单位 Provide unit
春大豆 Spring soybean	华春7号	华南农业大学	春大豆	桂春1607	广西农业科学院
	南春豆31	南充市农业科学院	Spring soybean	桂春豆111	广西农业科学院
	华春2号	华南农业大学		桂春1号	广西农业科学院
	桂1603	广西农业科学院		华春10号	华南农业大学
	中黄306	中国农业科学院		桂春豆112	广西农业科学院
	桂1016	广西农业科学院		桂春1601	广西农业科学院
	赣豆10号	江西省农业科学院		粤春2015-2	华南农业大学
	桂1602	广西农业科学院		桂春1608	广西农业科学院
	华春11	华南农业大学		桂春豆113	广西农业科学院
	中黄302	中国农业科学院		粤春2016-2	华南农业大学
	华春15	华南农业大学	夏大豆	粤夏2016-5	华南农业大学
	桂春豆112	广西农业科学院	Summer soybean	金百夏1号	广西金百禾种业有限公司
	华春14	华南农业大学		华夏17	华南农业大学
	桂春豆111	广西农业科学院		桂夏1703	广西农业科学院

续表 1

南方大豆区试 Regional test of soybean in south China			广西大豆区试 Guangxi soybean test		
类别 Type	品种 Variety	供种单位 Provide unit	类别 Type	品种 Variety	供种单位 Provide unit
夏大豆 Summer soybean	齐黄 34	山东省农业科学院	夏大豆 Summer soybean	桂夏豆 118	广西农业科学院
	泉豆 20	泉州市农业科学院		桂夏 1702	广西农业科学院
	中黄 306	中国农业科学院		桂夏豆 117	广西农业科学院
	华夏 16	华南农业大学		桂夏 1701	广西农业科学院
	华夏 2 号	华南农业大学		金百夏 2 号	广西金百禾种业有限公司
	华夏 3 号	华南农业大学		粤夏 2016-3	华南农业大学
	桂 1505	广西农业科学院		桂夏 1 号	广西农业科学院
	华夏 9 号	华南农业大学		桂夏豆 119	广西农业科学院
	桂 1605	广西农业科学院			
	华夏 14	华南农业大学			
	华夏 17	华南农业大学			
	华夏 24	华南农业大学			
	南夏豆 35	南充市农业科学院			
	华夏 21	华南农业大学			
	南夏豆 25	南充市农业科学院			
	桂夏豆 119	广西农业科学院			

1.2 试验设计

1.2.1 播期试验 试验于 2018 年 2 - 12 月在广西农科院明阳基地进行,设 9 个播期,即 2 - 10 月每月的 15 日进行播种。小区行长 2.0 m,宽 0.8 m,穴播,行距 0.4 m,穴距 0.2 m,每穴 2 株,小区内华春 10 号和中黄 320 各播 1 行,3 次重复。前期调查发现两份材料在盛花期(R2 期)前后叶片皱缩较严重,因此分别于各播期的 R2 期调查冠层皱叶情况,并观察皱叶形态变化,用 OLYMPUS CX31 显微镜观察皱叶叶脉变化。

1.2.2 不同生长时期、年份和地点试验 不同生长时期和年份试验均在广西农科院明阳基地进行。采取随机区组试验设计,春大豆材料小区长 6.0 m,宽 2.4 m,小区内种植 6 行,种植规格同上,夏大豆行距为 0.5 m,其它规格同春大豆,3 次重复。2018 和 2019 年春大豆播种时间分别为 3 月 2 日和 2 月 26 日,夏大豆播种时间分别为 7 月 3 日和 7 月 9 日,调查 2018 年夏大豆材料不同生长时期皱叶情况,分别于出苗后的 15,30,45,60 d 调查。根据初步调查结果,发生皱叶的材料多于 R2 期前后症状最为严重,因此不同年份和多点试验皱叶症调查时间均在

材料的 R2 期。

多点试验于 2019 年 2 - 7 月在广西农科院、柳州市农科所、河池市农科所、百色市玉米研究所、贺州市农科院、靖西县农科所、贵港市良种繁育示范基地、来宾市兴宾区经作站 8 个广西春大豆生产区站点进行,2019 年播种日期分别为:2 月 28 日、3 月 14 日、3 月 13 日、3 月 8 日、3 月 4 日、3 月 16 日、3 月 13 日和 3 月 31 日。各地点均采用随机区组试验,小区规格均为:长 5.6 m、宽 2.4 m,小区种植 6 行大豆,行距 0.4 m,穴距 0.2 m,每穴 2 株,3 次重复。分别于各材料的 R2 期调查大豆皱叶情况。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 皱叶症状调查 每小区连续取样 20 株,除出苗后 15 d 的植株观测所有复叶外,其它时期均观测植株的倒 3 叶片,因目前尚未有广西的此类大豆皱叶症鉴定法的报道,因此本研究参照大豆花叶病毒抗性鉴定方法鉴定大豆皱叶症的级别^[11]。先根据大豆叶片皱缩程度将叶片分为 5 级,其中 0 级:正常,观测期冠层豆叶片无皱褶状,叶片平展;1 级:较正常,观测期冠层叶片轻微皱褶但不出现“勾手”状,叶片能平展;2 级:较敏感,观测期冠层叶片皱褶

明显,有轻微的“勾手”状;3级:敏感,观测期冠层大豆叶片皱褶严重,有明显的“勾手”状;4级:严重敏感,观测期冠层叶片皱褶十分严重,“勾手”状严重,且叶片向下弯曲已基本不能张开。

1.3.2 皱叶指数的测定 根据叶片的皱叶分级计算皱叶指数^[12-13],皱叶指数计算公式:DI(%) = $\sum \frac{x_i n_i}{4N} \times 100$,式中, x_i 表示叶片皱缩等级, n_i 表示皱缩等级相应的植株数, N 表示调查植株总数。

1.3.3 皱叶病症级别鉴定 依据皱叶指数确定大豆材料的皱叶级别,1:免疫(HR),DI=0;3:抗(R), $0 < DI \leq 30$;5:中抗(MR), $30 < DI \leq 60$;7:感(S), $60 < DI \leq 90$;9:高感(HS), < 90 。

1.3.4 皱叶比率及遗传率的测定 皱叶比率(crinkle leaf ratio)计算公式:CLR(%) = $\frac{\text{皱叶材料数}}{\text{材料总数}} \times 100$ 。

多环境遗传率计算公式: $h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \frac{\sigma_{gy}^2}{n} + \frac{\sigma_e^2}{nr}}$,其

中, h^2 表示遗传率, σ_g^2 表示基因型方差, σ_{gy}^2 表示基因型和环境互作方差, σ_e^2 表示误差方差, n 代表环境个数, r 代表重复次数^[14-15]。

1.4 数据分析

用Excel 2013进行初步的数据整理,统计分析参考《试验统计方法》^[13],利用SAS 8.0中PROCGLM程序进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 大豆皱叶症状状

发生皱叶的大豆叶片的叶脉间有明显隆起的“皱褶”,叶缘微黄且难以伸展。叶片展开过程中,起初无明显性状或者呈反“勾手”型,随着叶片伸展,叶片顶部向下弯曲,整片叶片呈“勾手”状,叶片正面沿褶皱的叶脉有“泡状”凸起(图1A、B),皱叶严重的叶片叶脉变粗且成“S”形皱褶(图1C)。叶片基部较叶片顶部症状轻。皱叶症严重的植株生长出现矮化现象。



A:皱叶症级为9时的叶片正面;B:皱叶症级为4时的叶片背面;C:皱叶叶脉变化(放大10倍);D:正常叶片。

A: The front of crinkle leaves of symptom level 9; B: The back of crinkle leaves of symptom level 4; C: The change of crinkle leaf vein(magnify 10 times); D: The normal leaves.

图1 桂夏豆119皱叶症发生时叶片形态变化

Fig.1 Morphological change of Guixiadou 119 suffering from crinkle disease

2.2 不同播期下大豆皱叶症症状严重程度比较

大豆皱叶程度随播期变化较轻微(图2),9个播种期华春10号和中黄320两个大豆材料皱叶指数为75.00%~100.00%,2、9和10月3个播期的

叶片皱叶程度较其它播期略轻。华春10号和中黄320两份材料的9个播期皱叶指数变异系数分别为12.20%和11.00%。

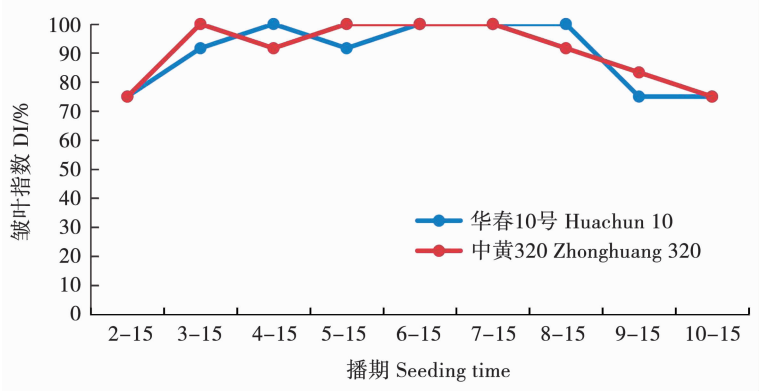


图2 不同播期华春10号和中黄320皱叶指数变化趋势

Fig. 2 The change trend of DI of Huachun 10 and Zhonghuang 320 in different sowing times

2.3 不同生长期大豆皱叶症严重程度分析

对南宁2018年广西夏大豆区试的12份参试材料和南方夏大豆区试的8份参试材料的不同生长期进行皱叶发生情况调查,方差分析表明:广西和南方夏大豆区试材料间($F=27.45, P<0.001$; $F=6.55, P=0.003$)和调查时期间($F=112.76, P<0.001$; $F=5.41, P=0.06$)均存在极显著差异。广西区试和南方区试中3个时期平均皱叶程度最严重的分别为桂夏豆119和华夏17,华夏17在广西区

试中平均皱叶程度居第二位。出苗15 d所有材料均未见皱叶发生;出苗30,45,60 d 3个出现褶皱现象时期中,出苗45 d时广西区试和南方区试夏大豆平均皱叶指数最高,60 d最低。广西区试和南方区试,不同大豆材料同调查时间的互作均不显著($F=1.11, P=0.355$; $F=1.40, P=0.197$),说明不同材料皱叶程度随时间变化趋势较为一致。皱叶发生后,广西夏大豆区试材料CLR较低,南方夏大豆区试材料CRL高(表2)。

表2 不同生长期大豆材料皱叶指数和皱叶比率变化

Table 2 The DI and CLR changes of soybean materials in different times

区试试验 Area experiment	大豆材料 Material	出苗天数 Days of emergence			
		15 d	30 d	45 d	60 d
广西区试 Guangxi soybean regional test	粤夏2016-5	0 a	66.67 ± 11.79 cd	66.67 ± 11.79 b	50.00 ± 0.00 b
	金百夏1号	0 a	16.67 ± 11.79 e	25.00 ± 0.00 d	0 e
	华夏17	0 a	83.33 ± 11.79 b	87.50 ± 10.21 ab	87.50 ± 10.21 a
	桂夏1703	0 a	41.67 ± 11.79 d	50.00 ± 0.00 c	41.67 ± 11.79 bc
	桂夏豆118	0 a	0 f	0 e	0 e
	桂夏1702	0 a	58.33 ± 11.79 d	58.33 ± 11.79 bc	33.33 ± 11.79 c
	桂夏豆117	0 a	0 f	0 e	0 e
	桂夏1701	0 a	25.00 ± 20.41 e	25.00 ± 0.00 d	16.67 ± 11.79 d
	金百夏2号	0 a	25.00 ± 0.00 e	25.00 ± 0.00 d	16.67 ± 11.79 d
	粤夏2016-3	0 a	75.00 ± 0.00 c	87.50 ± 10.21 ab	87.50 ± 10.21 a
	桂夏1号	0 a	0 f	0 e	0 e
	桂夏豆119	0 a	100.00 ± 0.00 a	95.83 ± 5.89 a	95.83 ± 5.89 a
	均值 Mean	0.00	40.97	43.40	35.76
	CLR/%	0.00	75.00	66.67	66.67

续表 2

区试试验 Area experiment	大豆材料 Material	出苗天数 Days of emergence			
		15 d	30 d	45 d	60 d
南方区试	华夏 16	0 a	41. 67 ± 11. 79 bc	66. 67 ± 11. 79 ab	33. 33 ± 11. 79 d
Regional test of soybean in southern China	华夏 2 号	0 a	33. 33 ± 11. 79 c	33. 33 ± 11. 79 d	25. 00 ± 0. 00 d
	华夏 3 号	0 a	33. 33 ± 11. 79 c	50. 00 ± 0. 00 c	50. 00 ± 0. 00 c
	桂 1505	0 a	50. 00 ± 0. 00 b	50. 00 ± 0. 00 c	16. 67 ± 11. 79 d
	华夏 9 号	0 a	79. 17 ± 5. 89 a	79. 17 ± 5. 89 a	75. 00 ± 0. 00 b
	桂 1605	0 a	58. 33 ± 11. 79 b	75. 00 ± 10. 21 ab	54. 17 ± 25. 69 bc
	华夏 14	0 a	16. 67 ± 11. 79 d	25. 00 ± 0. 00 d	16. 67 ± 11. 79 e
	华夏 17	0 a	83. 33 ± 11. 79 a	87. 50 ± 10. 21 a	87. 50 ± 10. 21 a
	均值 Mean	0 a	49. 48	58. 33	44. 79
	CLR/%	0	100. 00	100. 00	100. 00

同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。
Different lowercase in the same column represented significant difference($P < 0.05$). The same below.

2.4 不同年份大豆皱叶症发生情况

对南宁点 2018 和 2019 年两年的广西区试(春、夏)14 份参试材料和南方区试(春、夏)14 份参试材料(删除南方区试中仅有 1 年数据的材料)的皱叶发生情况进行调查,结果如表所示:春大豆皱叶症年份间及年份和材料互作均无显著差异;夏大豆年份及年份和材料间互作存在极显著差;春大豆和夏大豆的材料间均存在极显著差异。14 份春大豆皱叶症遗传率为 97.81%,14 份夏大豆皱叶症遗传率为 98.32%,春、夏大豆材料皱叶症平均遗传率为 98.37%。夏大豆材料中材料同年份间互作虽显著,但材料间均方远大于互作均方(3 835.07:345.49),表明皱叶症在年份间相对变异不大(表 3)。尤其是

皱叶程度高的华春 10 号、中黄 302,桂夏 119、华夏 17,4 份材料在两年中均表现稳定的皱叶。桂春豆 111、桂春 1608、桂春豆 113、粤春 2016-2、桂春 1603、桂夏豆 118 和桂夏豆 117,7 份大豆材料 2 年均表现正常。但如桂春 1 号、粤春 2015-2、桂夏 1703 等中间类型的材料不同年份间变化较大(表 4)。
总趋势上看,2018 年春大豆和夏大豆材料皱叶症严重程度高于 2019 年。2018 年夏大豆材料皱叶指数均值较 2019 年高 13.69,主要因为 2018 年皱叶程度较低的材料,如金百夏 1 号、桂夏 1703、桂夏 1701、金百夏 2 号、桂夏 1 号等,2019 年未表现皱叶(表 4)。

表 3 不同年份大豆材料皱叶指数联合方差分析结果
Table 3 The combined analysis variance of soybean materials planted in different years

材料类型 Material type	变异来源 Source of variation	SS	df	MS	F	P
SPS	年份 × 材料 Year × Material	3826. 26	13	294. 33	1. 12	0. 361
	年份 Year	314. 36	1	314. 36	1. 20	0. 278
	材料 Material	82427. 46	13	6340. 57	24. 18	<0. 001
SUS	年份 × 材料 Year × Material	4836. 81	14	345. 49	3. 21	0. 001
	年份 Year	3835. 07	1	3835. 07	35. 63	<0. 001
	材料 Material	109010. 42	14	7786. 46	72. 34	<0. 001

表 4 不同年份大豆材料皱叶指数和皱叶比率变化
Table 4 The changes of DI and CLR of crinkle soybean leaves in different years

春大豆 Spring soybean			夏大豆 Summer soybean		
材料 Material	年份 Year		材料 Material	年份 Year	
	2018	2019		2018	2019
桂春 1607 Guichun 1607	41.67 ±23.57 cd	25.00 ±20.41 de	粤夏 2016-5 Yuexia 2016-5	66.67 ±11.79 bc	75.00 ±17.68 bc
春豆 111 Chundou 111	0 e	0 f	金百夏 1 号 Jinbaixia 1	25.00 ±0.00 e	0 e
桂春 1 号 Guichun 1	33.33 ±11.79 cd	50.00 ±0.00 cd	华夏 17 Huaxia 17	95.83 ±5.89 a	83.33 ±5.89 b
华春 10 号 Huachun 10	100 ±0.00 a	95.83 ±5.89 a	桂夏 1703 Guixia 1703	50.00 ±0.00 d	0 e
桂春豆 112 Guichundou 112	66.67 ±11.79 bc	50.00 ±20.41 cd	桂夏豆 118 Guixiadou 118	0	0 e
桂春 1601 Guichun 1601	58.33 ±31.18 bc	58.33 ±11.79 bc	桂夏 1702 Guixia 1702	58.33 ±11.79 cd	54.17 ±5.89 c
粤春 2015-2 Yuechun 2015-2	50.00 ±20.41 bc	20.83 ±29.46 e	桂夏豆 117 Guixiadou 117	0 f	0 e
桂春 1608 Guichun 1608	0 e	0 f	桂夏 1701 Guixia 1701	25.00 ±0.00 e	0 e
桂春豆 113 Guichundou 113	0 e	0 f	金百夏 2 号 Jinbaixia 2	25.00 ±0.00 e	0 e
粤春 2016-2 Yuechun 2016-2	0 e	0 f	粤夏 2016-3 Yuexia 2016-3	87.50 ±10.21 ab	62.5 ±10.21 c
华春 2 号 Huachun 2	33.33 ±11.79 cd	58.33 ±11.79 bc	桂夏 1 号 Guixia 1	8.33 ±11.79 f	0 e
桂 1603 Gui 1603	0 e	0 f	桂夏豆 119 Guixiadou 119	95.83 ±5.89 a	100.00 ±0.00 a
中黄 306 Zhonghuang 306	16.67 ±11.79 d	0 f	华夏 3 号 Huaxia 3	50.00 ±0.00 d	33.33 ±23.57 d
中黄 302 Zhonghuang 302	83.33 ±11.79 b	70.83 ±15.59 b	华夏 9 号 Huaxia 9	79.17 ±5.89 b	66.67 ±15.59 c
均值 Mean	34.52	30.65	均值 Mean	47.62	33.93
CLR/%	64.29	57.14	CLR/%	85.71	50.00

2.5 不同地点大豆皱叶症发生情况

对 2019 年广西春大豆 8 个区试点的 10 份春大豆材料的皱叶发生情况进行调查,方差分析结果表

明:不同地点大豆皱叶程度存在极显著差异($F = 150.99, P < 0.001$),表明不同地点大豆皱叶表现不同。10 份大豆材料皱叶指数遗传率为 99.51%,

8个地点中,南宁、贺州、靖西、来宾4个地点均有皱叶情况发生。贺州点大豆材料平均皱叶程度最严重,皱叶指数平均为37.08;其次是南宁点,为30.00;而在贵港、河池、柳州、百色4个地点未见皱叶症出现。不同材料间皱叶程度存在极显著差异($F=121.09, P<0.001$),桂春豆111、桂春1608、桂春豆113和粤春2016-2在8个地点均未见皱叶症

发生,地点同材料间互作显著($F=27.34, P<0.001$),表明材料在不同环境下皱叶表现不同。桂春1号、桂春豆112、桂春1601、粤春2015-2这4个材料仅在南宁和贺州点表现皱叶,桂春1607和华春10号在南宁、贺州、靖西和来宾4个点表现皱叶,在其它4个地点表现正常,且华春10号皱叶程度最严重,皱叶指数均大于85.00(表5)。

表5 不同地点大豆材料皱叶指数变化
Table 5 The soybean DI changes of soybean materials in different places

材料 Material	南宁 Nanning	贺州 Hezhou	靖西 Jingxi	贵港 Guigang	河池 Hechi	柳州 Liuzhou	来宾 Laibin	百色 Baise
桂春1607 Guichun 1607	25.00 ± 20.41 c	79.17 ± 5.90 ab	66.67 ± 5.89 b	0 a	0 a	0 a	62.50 ± 10.21 b	0 a
桂春豆111 Guichundou 111	0 d	0 e	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
桂春1号 Guichun 1	50.00 ± 0.00 b	25.00 ± 0.00 d	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
华春10号 Huachun 10	95.83 ± 5.89 a	87.5 ± 0.00 a	87.5 ± 0.00 a	0 a	0 a	0 a	91.67 ± 5.89 a	0 a
桂春豆112 Guichundou 112	50.00 ± 20.41 bc	41.67 ± 11.79 c	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
桂春1601 Guichun 1601	58.33 ± 11.79 b	66.67 ± 15.59 bc	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
粤春2015-2 Yuechun 2015-2	20.83 ± 29.46 c	70.83 ± 5.89 ab	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
桂春1608 Guichun 1608	0 d	0 e	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
桂春豆113 Guichundou 113	0 d	0 e	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
粤春2016-2 Yuechun 2016-2	0 d	0 e	0 c	0 a	0 a	0 a	0 c	0 a
均值 Mean	30.00	37.08	15.42	0	0	0	15.41	0
CLR/%	60.00	60.00	20.00	0	0	0	10.00	0

2.6 大豆材料皱叶症级鉴定

对2018和2019年两年56份广西和南方春、夏大豆区试参试材料皱叶比率进行分析,结果如表6所示:2018和2019年广西春大豆区试参试材料CLR分别为60.00和40.00,夏大豆区试参试材料CLR分别为60.00和41.67,南方春大豆区试参试材料CLR分别为70.00和60.00,而夏大豆参试材料CLR均为100.00。

利用皱叶级别划分标准,对2018和2019年2年均数据的28份广西区试和南方区试春、夏大豆材料进行鉴定的结果如表7所示:28份大豆材料中,7份材料两年均表现免疫,分别为桂春豆111、桂春1608、桂春豆113、粤春2016-2、桂夏豆118、桂夏豆117和桂1603。感和高感级别的大豆材料共6份,占总材料的21.43%(表7)。表现出高感的材料有2份,分别为华春10号和桂夏豆119(表8)。

表 6 不同年份各供试材料的平均皱叶指数和皱叶比率

Table 6 The mean DI and CLR of materials of Guangxi soybean regional test and regional trial of soybean in southern of China in 2018 and 2019

区试试验 Area experiment	年度 Year	春大豆 Spring soybean		夏大豆 Summer soybean	
		DI	CLR/%	DI	CLR/%
广西区试 Guangxi soybean regional test	2018	35.00	60.00	44.79	60.00
	2019	30.00	40.00	31.25	41.67
	均值 Mean	32.50	50.00	38.02	50.84
南方区试 Regional test of soybean in southern China	2018	33.75	70.00	59.38	100.00
	2019	22.75	60.00	69.27	100.00
	均值 Mean	28.25	65.00	64.33	100.00

表 7 大豆材料皱叶症鉴定结果

Table 7 The crinkle leaves disease level identification result of soybean materials

年份 Year	病症级别 Crinkle leaf disease level				
	免疫 HR	抗 R	中抗 MR	感 S	高感 HS
2018	7	7	7	4	3
2019	13	2	6	5	2
平均 Mean	7	7	8	4	2

表 8 鉴定出的免疫和高感皱叶症级的大豆材料

Table 8 Immune and high sense soybean materials identified by crinkle leaf disease level

材料 Material	类型 Type	DI			病症级别 Crinkle leaf disease level
		2018	2019	均值 Mean	
桂春豆 111 Guichundou 111	春大豆	0	0	0	免疫
桂春 1608 Guichun 1608	春大豆	0	0	0	免疫
桂春豆 113 Guichundou 113	春大豆	0	0	0	免疫
粤春 2016-2 Yuechun 2016-2	春大豆	0	0	0	免疫
桂 1603 Gui 1603	夏大豆	0	0	0	免疫
桂夏豆 118 Guixiadou 118	夏大豆	0	0	0	免疫
桂夏豆 117 Guixiadou 117	夏大豆	0	0	0	免疫
华春 10 号 Huachun 10	春大豆	100.00	95.83	97.92	高感
桂夏豆 119 Guixiadou 119	夏大豆	95.83	100.00	97.92	高感

3 讨 论

3.1 广西、广东等地大豆叶片皱缩原因

大豆皱叶是叶片不正常的一种症状,导致大豆皱叶的原因有多种,生理性原因如突变^[8-9],外因如病毒病^[1-3]、除草剂^[4,6]、锰毒^[7]等,病毒病是其中重要的因素。目前能侵染大豆的病毒有 20 多种,据中国报道,发生在大豆上较严重的病毒有 SMV、黄瓜花叶病毒大豆萎缩株系、烟草坏死病毒(Tobacco necrosis satellite virus,TNSV)、烟草环斑病毒(Tobacco ring spot virus,TRSV)、扁豆花叶病毒(Bean pod mottle

virus,BpMV)等^[1],其中以 SMV 面积最广。2015 – 2018 年课题组多次在广西多地点采集类似皱叶症状的叶片,利用 ELISA 试剂盒检测,结果仅在 1 个样品中检测出大豆 SMV,但其皱叶类型与所关注的皱叶类型不同,同时对采集的一批样品进行电镜透射,结果也未发现病毒的存在,因此该皱叶症并非 SMV 等病毒所致。另外,使用不同浓度梯度除草剂对大豆进行处理,发现高浓度除草剂导致的叶片形态变化不同于广西广东等地出现的大豆叶片皱缩。据报道,锰毒导致的叶片皱缩^[16]和此次关注的叶片皱缩形态差别也较大。相同的材料在有的地区表

现皱叶,而在另一些地区表现正常(如华春10号等),因此,广西广东等地生产上出现的大豆皱叶症可能是某种外因导致的新型叶片皱缩症状。

3.2 大豆皱叶症鉴定方法选择

植物病害鉴定方法主要有田间发病鉴定法^[15,17-19]和人工接种鉴定法^[20-22]。两种方法均需知道发病诱因,通过一定的人工条件控制,使得抗病性鉴定结果更为准确。广西等地方的大豆皱叶症状在贺州等地有连片发生现象,目前利用皱叶和不皱的材料衍生的F_{2,3}分离株系以及高世代姐妹系调查了皱叶对产量性状的影响,结果表明皱叶严重时(症级为4)可导致大豆减产20%~30%(数据待发表)。但目前并未见此类似皱叶相关报告,且生产上多视为花叶病毒,为了探索何种原因导致广西等地出现的大豆皱叶症,课题组从病毒病、药害等方面进行调查研究,但依然未能找到致因。多年的广西大豆区试试验和南方大豆区试试验调查结果表明,参试材料皱叶症比率较高,尤其是2018和2019年南方夏大豆区试试验中参试的材料全部表现皱叶现象(表7),迫切需对皱叶症开展深入研究。本研究在大田条件下,通过不同播期、不同年份、不同地点调查了大豆皱叶症发生特点,发现田间皱叶症受播期影响较小,无论年份还是地点间遗传率均在97%以上,尤其是皱叶程度高的大豆材料在不同年份和一定环境区域内有较高的重复和稳定性,因此,在探寻导致大豆皱叶症原因的情况下,大田条件下筛选症级性差异材料,进而利用遗传学方法找寻皱叶症免疫基因,从而解析皱叶症致因的方法是可行的。

3.3 不同生长时期不同播期大豆皱叶症表现

从不同生长时期调查大豆皱叶程度结果来看,大豆生长前期没有皱叶症的出现,第3~4片复叶(出苗后约30 d)时开始出现症状,表现为植株冠层叶子出现轻度皱缩,开花至始荚期皱叶程度最严重,表现为植株冠层叶片严重皱缩,且植株间症状比较均一。后期(出苗后60 d)植株冠层叶片总体上有皱叶变轻的趋势,尤其花期皱叶程度轻的材料,生长后期皱叶程度变轻,甚至不出现皱叶症(如金百夏1号)。总体上表现为大豆营养生长旺盛时期皱叶程度较重。从播期结果来看,外界温度和光照时随播期变化较大,但不同播期大豆皱叶症变化不大,说明皱叶症出现受光温环境影响较小。

3.4 不同材料大豆皱叶症的表现

皱叶症感性级别为“高感”和“免疫”的材料在田间多为100%感和100%免疫,且植株病症级别一致性好,不同年份间重复性好,如华春10号和桂夏

豆119等材料。皱叶症级为“抗”和“中抗”的材料田间表现差异较大,一些材料表现重复性较好,如华春2号和桂春1号等;一些材料不同年份间表现差异较大,如金百夏1号、金百夏2号、桂夏1703、桂夏1701等,这些材料2018年有皱叶症出现,但2019年均未出现皱叶现象。还有一些材料,同一个小区内会同时出现皱叶程度差异大的现象,对皱叶症程度差异大豆材料分别取单株种植,发现株行皱叶表现同所取单株。因此若开展大豆此类皱叶症相关研究,需要选择多年鉴定皱叶表现稳定、皱叶程度一致性高的材料。

由于多种原因均可以导致大豆皱叶症出现,在不同地点观察大豆皱叶情况仅根据田间表型断定,并且近些年在广东等地也发现有类似症状的大豆皱叶症,但究竟这些地方出现的皱叶症是否是同一个原因所致目前还不清楚,还需要借助分子生物学手段对其发生机制进行阐释。

4 结 论

广西等地区发生的大豆皱叶症受播期影响较小。皱叶的材料苗期无皱叶症状,皱叶症状出现后,皱叶指数随大豆生长变化较小,以花期皱叶症表现最为严重。大豆皱叶症出现具有地域性,但皱叶症在不同地区间有着较高的遗传率,高感和免疫的材料在不同年份表现较为稳定。大豆的该类型皱叶症是在特定环境条件下可稳定遗传的性状。鉴定出桂春豆111、桂春1608等7份皱叶免疫材料,华春10号和桂夏豆119共2份皱叶高感材料。

致谢:由衷感谢南京农业大学农学院李凯教授团队以及广西农业科学植物保护研究所秦碧霞副研究员团队对本研究给予的帮助与支持!

参考文献

[1] 张明厚,吕文清,魏培文.我国大豆病毒病发生,危害情况发展趋势及其原因分析和防治建议[J].大豆科学,1986,5(11):305-314. (Zhang M H, Lyu W Q, Wei P W. The occurrence and developing tendency of soybean virus disease in China and suggestion for the disease management[J]. Soybean Science, 1986, 5(11): 305-314.)

[2] Campos R E, Bejerman N, Nome C, et al. Bean yellow mosaic virus in soybean from Argentina[J]. Journal of Phytopathology, 2013, 162: 322-325.

[3] Yang X D, Niu L, Zhang W, et al. Increased multiple virus resistance in transgenic soybean overexpressing the double-strand RNA-specific ribonuclease gene *PAC1*[J]. Transgenic Research, 2019, 28: 129-140.

[4] Kelley K B, Wax L M, Hager A G, et al. Soybean response to

plant growth regulator herbicides is affected by other post emergence herbicides[J]. Weed Science, 2005, 53: 101-112.

[5] Andrew P R, David M S, William G J. Response of Glyphosate-tolerant soybean yield components to dicamba exposure[J]. Weed Science, 2013, 61(4): 526-536.

[6] Alanna B S, Benjamin P S, Daniel B R, et al. Effect of soybean growth stage on sensitivity to sublethal rates of dicamba and 2,4-D [J]. Weed Technology, 2019, 33(4): 555-561.

[7] Elcio F S, José M K S, Amanda P P, et al. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants; Mntoxicityresponses[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 113: 6-19.

[8] 聂智星, 代金英, 吉家正, 等. 大豆叶突变体 *abl-CT* 的发掘与特性分析[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(1): 86-88. (Nie Z X, Dai J Y, Ji J Z, et al. Excavation and characteristic analysis of soybean leaf mutant *abl-CT* [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2013, 41(1): 86-88.)

[9] Song X F, Wei H C, Cheng W, et al. Development of indel markers for genetic mapping based on whole genome resequencing in soybean [J]. Genes Genomes Genetics, 2015, 5(12): 2793-2799.

[10] 王大刚, 李凯, 智海剑. 大豆抗大豆花叶病毒病基因研究进展[J]. 中国农业科学, 2018, 51(16): 3040-3059. (Wang D G, Li K, Zhi H J. Progresses of resistance on soybean mosaic virus in soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(16): 3040-3059.)

[11] 唐向民, 杨守臻, 陈怀珠, 等. 160 份广西春大豆种质对大豆花叶病毒株系 SC15 和 SC18 的抗性评价[J]. 大豆科学, 2019, 38(2): 181-188, 197. (Tang X M, Yang S Z, Chen H Z, et al. Resistance evaluation of 160 Guangxi spring-sowing soybean germplasms to soybean Mosaic Virus strains SC15 and SC18[J]. Soybean Science, 2019, 38(2): 181-188, 197.)

[12] 邱丽娟, 常汝镇. 大豆种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 76-77. (Qiu L J, Chang R Z. Descriptors and data standard for soybean (*Glycine spp.*) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 76-77.)

[13] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 248-252. (Gai J Y. Test statistical method[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 76-77.)

[14] 张英虎, 孟珊, 贺建波, 等. 大豆重组自交系群体 NJRSXG 百粒重超亲分离的遗传解析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(22): 4408-4416. (Zhang Y H, Meng S, He J B, et al. The genetic constitution of transgressive segregation of the 100-seed weight in a recombinant inbred line population NJRSXG of soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(22): 4408-4416.)

[15] Hanson C, Robinson H, Comstock R, et al. Biometrical studies of yield in segregating populations of Korean lespedeza[J]. Agronomy Journal, 1956, 48(6): 268-272.

[16] Elcio F S, José M K S, Amanda P P, et al. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants; Mn toxicity responses[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 113: 6-19.

[17] 申宏波, 文景芝, 苗兴芬, 等. 黑龙江省大豆新品系双抗大豆灰斑病、疫霉病鉴定[J]. 大豆科学, 2007(1): 107-110. (Shen H B, Wen J Z, Miao X F, et al. Identification of resisting to both *C. Sojia* and *Phytophthora* rot of new soybean lines in Heilongjiang[J]. Soybean Science, 2007(1): 107-110.)

[18] 陈文杰, 梁江, 钟开珍, 等. 大豆抗花叶病毒材料初步筛选及评价[J]. 大豆科学, 2012, 31(4): 617-620. (Chen W J, Liang J, Zhong K Z, et al. Preliminary selection and evaluation for *Glycine max* resistant to soybean mosaic virus[J]. Soybean Science, 2012, 31(4): 617-620.)

[19] 李穆, 刘念析, 岳岩磊, 等. 抗大豆白粉病南方栽培大豆种质资源的初步筛选[J]. 大豆科学, 2016, 35(2): 209-212, 221. (Li M, Liu N X, Yue Y L, et al. Preliminary screening for resistant soybean cultivars to powdery mildew in southern China[J]. Soybean Science, 2016, 35(2): 209-212, 221.)

[20] 单志慧, 刘艳, 巴红平, 等. 一个大豆锈病新抗源的筛选与鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2012, 34(2): 188-192. (Shan Z H, Liu Y, Ba H P, et al. New soybean germplasm resistance to *Phakopsora pachyrhizi* Syd[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2012, 34(2): 188-192.)

[21] 魏玮, 张艳娇, 李长育, 等. 大豆抗细菌性斑疹病抗性鉴定以及抗病相关 QTL 定位[J]. 分子植物育种, 2018, 16(18): 5978-5986. (Wei W, Zhang Y J, Li C Y, et al. Resistance identification of soybean to bacterial rashes and QTL mapping of disease resistance[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(18): 5978-5986.)

[22] 王大刚, 陈圣男, 黄志平, 等. 193 份大豆品系对 SMV 抗性鉴定与分子标记检测[J]. 分子植物育种, 2019, 17(24): 8138-8151. (Wang D G, Chen S N, Huang Z P, et al. Identification and molecular detection of soybean mosaic virus resistance of 193 soybean lines[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(24): 8138-8151.)