

# 相对抗性指数在大豆种质资源 抗菌核病鉴定中的应用

顾 鑫

(农业部佳木斯作物有害生物科学观测实验站/黑龙江省农业科学院 佳木斯分院,黑龙江 佳木斯 154007)

**摘要:**为了客观反映大豆种质资源对菌核病的抗病水平,排除环境、土壤、年份、生态区和接种方法等因素的影响,采用相对抗病指数作为抗病指标,于2011年在黑龙江省农业科学院佳木斯分院的盆栽场及病圃内进行了大豆种质资源抗菌核病的鉴定。结果表明:筛选出抗病品种2份,占试验材料的3.2%;中抗品种1份占所鉴定材料的1.61%,低抗品种29份占所鉴定材料的46.77%,低感品种20份占所鉴定材料的32.26%,中感品种6份占所鉴定材料9.68%,高感品种4份占所鉴定材料的6.45%。试验结果为大豆菌核病抗原大规模准确筛选奠定了基础。

**关键词:**大豆菌核病;抗病鉴定;相对抗性指数

**中图分类号:**S435.651

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2013)12-0001-04

大豆菌核病[*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary]是一种危害严重、分布广泛的世界性病害<sup>[1-2]</sup>,在黑龙江省大豆产区发病最为频繁且最为严重<sup>[3]</sup>。防治大豆菌核病的根本方法就是抗病育种,准确、大量筛选出抗、耐菌核病的大豆资源成为生产上亟需解决的问题。国外许多研究人员已经对不同的大豆种质资源开展了大豆菌核病的抗性研究,结果表明,大豆种质资源对菌核病的抗病性是存在差异的,说明在遗传上对菌核病存在着抗性差异,这为大豆菌核病的抗病育种选育工作提供了理论依据<sup>[4-7]</sup>。国内也有很多研究人员对大豆菌核病的接种方法进行了研究和改良<sup>[8]</sup>。田间鉴定方法与室内鉴定方法均有各自的优缺点<sup>[9]</sup>,采用相对抗性指数可以将两种方法相融合,既可解决不同接种技术、不同接种环境以及不同接种时期所带来的影响,同时也使抗病资源的鉴定更加准确、可比性高,评价结果客观反映抗性水平。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间与地点

2011年在黑龙江省农业科学院佳木斯分院病圃和盆栽场进行试验。

### 1.2 材料

试验鉴定用的大豆种质材料62份(见表1),由黑龙江种子管理局提供。试验将感病品种绥农14作为对照CK,将绥农14与其它所需鉴定的材料放在同一环境下,采用同一方法进行接种。以排除环境条件对鉴定结果的影响,可以较为客观地反映出大豆种质资源的抗病性情况,有效地提高了抗病鉴定结果的准确性和可靠性。

### 1.3 方法

**1.3.1 菌丝体培养方法** 将采回的菌种用菌丝尖端分离法分离,并在PDA上4℃条件下进行培养;接种试验前,将所有的菌丝培养物从储备阶段转接到新的PDA平板上,在(20±2)℃下将其活化。从活化的正在生长的菌丝边缘挑起菌丝块放置在接种平板上,接种平板在(20±2)℃黑暗条件下培养24h后进行抗病接种。然后将菌核与高粱粒培养基混合。

**1.3.2 大豆菌核病发病初期接种方法** 5月18日将试验用种质种入盆栽盆中,每个品种种2盆,每盆种12粒种子,当植株生长到第3片复叶时,留生长一致的10株大豆苗。将菌核与高粱粒培养基一并施入盆栽表土层中,浇水后进行扣棚保湿7d,调查其抗病性。对照品种采用感病品种绥农14<sup>[10]</sup>。

**1.3.3 大豆菌核病生育期接种方法** 5月8日大田播种时,将每个大豆品种种3垄,每垄3m

收稿日期:2013-08-03

基金项目:公益性行业(农业)科研专项资助项目(201103016-03A2);黑龙江省农业科技创新工程重点资助项目

作者简介:顾鑫(1980-),男,四川省铜梁县人,硕士,助理研究员,从事大豆病害研究。E-mail:guxin1111@163.com。

长,随机排列将菌核撒于土壤中与 3 cm 表土层均匀混合。从植株生长期达到 R<sub>1</sub> 期时开始进行喷灌保湿,直至全部植株均开花为止。

1.3.4 调查方法 分级标准<sup>[11]</sup> 具体为,1 级:全株无症状或茎上有微小点状病斑,植株生长正常;3 级:前期叶腋处及侧枝轻度感病,后期主茎上病斑长度小于 3 cm,瘿荚率低于 10%;5 级:前期主茎及侧枝均生有菌丝并呈水浸状腐烂,后期主茎上病斑长度 3~6 cm,病斑处苍白,瘿荚率为 10%~30%;7 级:前期主茎和侧枝均生长大量菌丝,呈严重水浸状腐烂,后期病斑处苍白,主茎内外密生菌核,病斑长度 6~15 cm,瘿荚率为 30%~50%;9 级:前期严重感病,基本上达到枯死程度,后期主茎上病斑超过 15 cm,病茎内外密生菌核,瘿荚率达 50%以上。

1.3.5 数据处理与分析 为了使两种接种鉴定方法的试验结果能进行相互比较,以鉴定同一大豆材料在不同接种鉴定方法中的相对抗病性,将各试验的结果均进行了统一计算转化,所用公式<sup>[12]</sup> 为:相对抗性指数(RI) =  $\ln \frac{P_i}{1-P_i} - \ln \frac{P_k}{1-P_k}$ ,采用逻辑斯蒂公式的转换形式,把抗病资源的发病严重度指数线性化,从而使不同抗病鉴定方法的试验结果间能够进行直接比较。 $P_i$  为供试材料的发病严重度, $P_k$  为对照材料的发病严重度,RI 为相对抗性指数。

该试验采用的抗感评价标准是 HR(高抗): $RI < -1.5$ ;MR(中抗): $RI < -1.0$ ;LR(低抗): $RI < 0$ ;LS(低感): $RI > 0$ ;MS(中感): $RI > 1.0$ ;HS(高感): $RI > 1.5$ <sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

通过调查发病严重度计算出 RI 值,RI 值在衡量品种抗病性中是常用的指标,它与抗病性呈负相关,当供试品种严重度与 CK 相等时, $RI = 0$ ;品种与 CK 相比抗病时  $RI < 0$ ;品种与 CK 相比感病时  $RI > 0$ 。在不同接种鉴定方法中,由于接种的时期、接种菌量、接种方法及接种生态区环境因子等因素的影响,同一鉴定材料的发病程度会有所不同,因而很难进行比较。采用 RI 值转化后,不同试验结果的 RI 值,随发病程度呈线性变化,因此可以使各试验结果进行平行比较。室内盆栽鉴定与室外田间鉴定的 RI 值进行相关性分析,得出  $r = 0.62$ 。经检验在 0.01 水平下差异显著,因此认为两种方法有较好的符合性。如果两种方法的抗性结果不一致,抗性水平评价选择以抗性低的为准,以便筛选出抗性较高的品种。由表 1 可知,鉴定的 62 份材料中,高抗品种 2 份,占所鉴定材料的 3.20%,中抗品种 1 份,占所鉴定材料的 1.61%,低抗品种 29 份,占所鉴定材料的 46.77%,低感品种 18 份,占所鉴定材料的 32.26%,中感品种 9 份,占所鉴定材料 9.68%,高感品种 4 份占所鉴定材料的 6.45%。

表 1 大豆种质资源 2 种接种方法的 RI 值比较

Table 1 Comparison of RI value by two kinds of inoculation methods of soybean germplasm resources

种质资源 Germplasm resources	室内 RI 值 Indoor RI	田间 RI 值 Field RI	抗性水平 Resistance level	种质资源 Germplasm resources	室内 RI 值 Indoor RI	田间 RI 值 Field RI	抗性水平 Resistance level
九三 03-102 Jiusan03-102	1.45	1.33	MS	垦 03-1074 Ken03-1074	1.30	2.00	HS
九三 04-68 Jiusan04-68	0.20	0.10	LS	垦 02-383 Ken02-383	-2.71	-1.50	MR
九三 02-59 Jiusan02-59	-0.79	-4.50	LR	垦 05-3762 Ken05-3762	-0.79	-0.30	LR
九三 05-21 Jiusan05-21	0.30	0.10	LS	垦 03-958 Ken03-958	-2.26	-2.10	HR
九三 03-54 Jiusan03-54	-0.32	-1.50	LR	垦 04-9638 Ken04-9638	-0.36	0.51	LS
九三 02-22 Jiusan02-22	2.42	0.50	LS	垦 04-8579 Ken04-8579	1.80	1.30	HS
垦 04-8918 Ken04-8918	-0.19	-0.10	LR	垦 04-9900 Ken04-9900	2.33	1.05	HS
垦 01-6047 Ken01-6047	-0.84	-2.50	LR	垦 05-3002 Ken05-3002	-0.88	-0.45	LR

续表 1  
Continuing Table 1

种质资源 Germplasm resources	室内 <i>RI</i> 值 Indoor <i>RI</i>	田间 <i>RI</i> 值 Field <i>RI</i>	抗性水平 Resistance level	种质资源 Germplasm resources	室内 <i>RI</i> 值 Indoor <i>RI</i>	田间 <i>RI</i> 值 Field <i>RI</i>	抗性水平 Resistance level
垦 04-9703 Ken04-9703	−0.20	−0.10	LR	菁 04-2 Jing04-2	−0.05	−0.23	LR
垦 05-3782 Ken05-3782	−0.67	0.30	LS	菁 05-3 Jing05-3	−0.60	−0.56	LR
垦 03-956 Ken03-956	0.15	0.20	LS	哈交 06-9067 Hajiao06-9067	−0.39	−0.24	LR
垦 04-9109 Ken04-9109	−0.61	−1.60	LR	哈交 06-9073 Hajiao06-9073	1.34	1.02	MS
垦 05-3658 Ken05-3658	−0.70	−0.25	LR	哈交 01-5314 Hajiao01-5314	−0.12	−0.56	LR
垦 99-5070 Ken99-5070	−1.56	−2.15	HR	菽锦 05-9265 Shujin05-9265	0.38	0.28	LS
垦 03-710 Ken03-710	1.22	0.56	MS	菽锦 03-5519 Shujin03-5519	−0.90	−0.10	LR
华疆 3344 Huajiang3344	−0.27	−0.12	LR	菽锦 06-9161 Shujin06-9161	−1.56	−1.02	LR
华疆 3187 Huajiang3187	−0.91	−0.63	LR	菽锦 06-9006 Shujin06-9006	1.96	0.20	MS
华疆 3053 Huajiang3053	−0.50	−3.50	LR	哈交 05-9388 Hajiao05-9388	−0.34	−0.23	LR
华疆 965 Huajiang965	1.36	0.25	MS	哈交 06-9033 Hajiao06-9033	−0.01	−0.12	LR
华疆 4404 Huajiang4404	−0.47	−0.30	LR	哈 sh8074 Hash8074	1.89	0.25	MS
华疆 1718 Huajiang1718	0.34	0.25	LS	菽锦 05-9171 Shujin05-9171	−0.59	−0.23	LR
华疆 3391 Huajiang3391	0.27	0.10	LS	哈交 02-8025 Hajiao02-8025	−0.57	−0.32	LR
华疆 4403 Huajiang4403	−0.08	−0.11	LR	哈 sh8084 Hash8084	0.13	1.20	MS
华疆 0419 Huajiang0419	−0.72	0.19	LS	哈交 05-8559 Hajiao05-8559	−0.70	−0.30	LR
华疆 1716 Huajiang1716	1.05	2.50	HS	菽锦 sh8063 Shujinsh8063	−0.20	−0.12	LR
华疆 2409 Huajiang2409	0.17	0.56	LS	菽锦 05-9411 Shujin05-9411	0.26	1.20	MS
北育 5326 Beiyu5326	−0.21	−1.20	LR	菽锦 05-9436 Shujin05-9436	0.51	0.50	LS
北育 1041 Beiyu1041	1.16	0.25	LS	菽锦 05-9238 Shujin05-9238	0.27	0.23	LS
北育 0652 Beiyu0652	1.67	0.56	MS	菽锦 05-9351 Shujin05-9351	−0.51	−1.00	LR
北育 3283 Beiyu3283	0.04	−1.20	LS	哈交 05-9415 Hajiao05-9415	−2.26	−1.25	LR
华疆 3151 Huajiang3151	−0.76	0.48	LS	绥农 14 Suinong14	0.73	0.19	LS
华疆 1015 Huajiang1015	0.07	0.25	LS				

3 结论与讨论

为了使抗病鉴定结果更加准确且便于比较,试验加入了对照品种绥农 14。鉴定出 2 份高抗品种,占所鉴定材料的 3.2%,筛选出的高抗资源较少,这与国内外的研究结果相一致<sup>[12]</sup>。中抗品种 1 份,占所鉴定材料的 1.61%,低抗品种 29

份,占所鉴定材料的 46.77%,低感品种 20 份,占所鉴定材料的 32.26%,中感品种 6 份,占所鉴定材料 9.68%,高感品种 4 份,占所鉴定材料的 6.45%。通过相关性分析证明,室内接种方法与田间接种方法显著相关,说明两种方法的鉴定结果高度一致,同时可以避免各自的缺点,两种方法

同时使用为大规模种质筛选奠定了基础。有些品种的室内鉴定 *RI* 值与田间有所不同,这可能是由于有些品种苗期的抗病性没有生育期的强,另外与菌核病的发病程度、茎秆的强度及枝叶的茂盛程度等大豆生态特征也有很大的关系<sup>[13]</sup>。以往进行大豆菌核病抗源筛选时,常以发病的病情指数作为指标,采用绝对标准对大豆的抗病性进行分级,但由于各大豆生态区自然条件差异较大、接种方法、接种菌量、病圃内病菌量的大小、栽培管理条件不同等因素导致同一份大豆资源在不同生态区表现的抗病差异较大。采用相对抗性指数进行鉴定,各种方法的比较可以排除这些因素的干扰。地区间及年份间鉴定结果的重复性好,可以正确评价大豆的抗感情况,能够真实地反映出大豆抗、感病的本质,从而有效提高大豆抗病鉴定的准确性<sup>[14]</sup>。试验所采用的接种方法也有其缺点,应避免排除因接种方法带来的误差。

#### 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.
- [4] Boland G J, Hall R. Growth room evaluation of soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Canadian Journal Plant Science, 1986, 66: 559-564.
- [5] Boland G J, Hall R. Evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* under field condition[J]. Plant Disease, 1987, 71: 934-936.
- [6] Chun D, Kao L B, Lockwood J L, Isleib T G. Laboratory and field assessment of resistance in soybean to stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Plant Disease, 1987, 71: 811-815.
- [7] Cline M N, Jacobsen B J. Methods for evaluating soybean cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Plant Disease, 1983, 67: 784-786.
- [8] 孙明明, 韩英鹏, 陈浩, 等. 大豆菌核病鉴定方法比较及分析[J]. 大豆科学, 2007, 26(5): 728-731.
- [9] 韩广振, 韩芬霞, 孙君明, 等. 大豆菌核病田间快速接种鉴定方法研究[J]. 中国农业科学, 2010(6): 1282-1287.
- [10] 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.
- [11] 丁俊杰. 通径分析在大豆菌核病流行中的应用[J]. 大豆科学, 2012, 31(2): 13-15.
- [12] 矫洪双, 程志明, 许修宏, 等. 大豆对菌核病室内抗性鉴定方法研究[J]. 大豆科学, 1996, 15(4): 295-301.
- [13] 吴征彬, 郭介华, 冯纯大, 等. 棉花对枯、黄萎病的抗性研究[J]. 华中农业大学学报, 1998, 17(1): 1-5.
- [14] 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.

## Application of Relative Resistances Index in Resistance Identification of *Sclerotinia sclerotiorum* of Soybean Germplasm Resources

GU Xin

(Ministry of Agriculture Harmful Biology of Crop Scientific Monitoring Station, Jiamusi Experiment Station/Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

**Abstract:** In order to objectively reflect the resistance of *Sclerotinia sclerotiorum* soybean germplasm, excluding the influence of environment, soil, years, regions, inoculation methods and other factors, the resistance of *Sclerotinia sclerotiorum* was identified in the pot farm and nursery in Jiamusi branch of Heilongjiang academy of agricultural sciences in 2011. The results showed that: 2 high-resistant varieties were screened out accounting for 3.2% of the test materials, 1 moderately resistant varieties accounted for 1.61% of the identified materials, 29 low-resistant varieties accounted for 46.77%, 20 low-susceptible varieties accounted for 32.26%, 6 susceptible varieties accounted for 9.68%, 4 high-susceptible varieties accounted for 6.45% of the identified materials. The results laid a foundation for resistance screen of soybean *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Key words:** soybean *sclerotinia sclerotiorum*; disease identification; relative resistance index