

麦草畏室内生物测定方法建立及大豆对麦草畏耐受性分析

洪慧龙^{1,2}, 郭兵福², 任洪雷¹, 金龙国², 陶波¹, 邱丽娟²

(¹东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030; ²中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081)

摘要:室内生物测定是植物对除草剂等化学物质耐受性鉴定的一种常用筛选方法,已广泛应用于大豆、稗草、棉花等植物对草甘膦、氯嘧磺隆等除草剂的耐受性研究,但麦草畏的室内生物测定方法和大豆对麦草畏耐受性相关研究尚未见报道。本研究以麦草畏对催芽大豆下胚轴伸长抑制率为评价指标,结合回归方程曲线分析和抑制中浓度分析,建立了大豆对麦草畏耐受性室内生物测定方法,确定以 300 $\mu\text{g/L}$ 麦草畏筛选浓度作为大豆室内生物测定临界筛选浓度。利用该方法对 35 份源自微核心种质的大豆品种进行鉴定,结果表明,随麦草畏浓度增加,不同品种对麦草畏的耐受性存在显著差异,大豆品种对麦草畏的耐受性降低,从中筛选出对麦草畏耐受性较高的大黄豆-1 和什祁螺绿豆。本研究结果为培育抗麦草畏品种的亲本选配以及后代选择提供了理论依据、材料和技术支撑。

关键词:大豆;麦草畏;生物测定;耐受性分析

Establishment of an Indoor-Dicamba Bioassay and Tolerance Analysis of Soybean

HONG Hui-long^{1,2}, GUO Bing-fu^{1,2}, REN Hong-lei¹, JIN Long-guo², TAO Bo¹, QIU Li-juan²

(¹College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030; ²National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Bioassay is a traditional and classical method for analyzing the herbicides tolerance variation in plants, which has been widely adopted in determining the tolerance of crops, e. g. soybean, barnyard grass and cotton, to herbicides, such as glyphosate and chlorimuron-ethyl. However, the dicamba bioassay method and the tolerance variation of dicamba in different soybean cultivars remained uncharacterized. In this study, inhibition rate of hypocotyl elongation was used as the major index to evaluate the phenotypic variance of germinated soybean treated with dicamba. The dicamba bioassay was established by using 300 $\mu\text{g/L}$ dicamba as threshold of screening concentration, and combining with the regression equation analysis and median inhibitory concentration (IC₅₀) analysis. This method was used to identify 35 soybean varieties derived from micro-core germplasm, namely Dahuangdou-1 and Shifangluosidou, showed relatively higher tolerance to dicamba. Our study provided reference and theoretical basis for the cultivation of dicamba-resistant transgenic soybean receptor using transgenic technique and traditional crossing breeding or the selection of recurrent parent, and as well as the quick phenotypic determination of transgenic soybean with resistance to dicamba.

Key words: soybean; dicamba; biological assay; tolerance analysis

收稿日期: 2016-06-03 修回日期: 2016-10-16 网络出版日期: 2017-02-17

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170217.1016.002.html>

基金项目: 抗除草剂转基因大豆新品种培育重大专项(2014ZX08004001-001, 2016ZX08004001-001)

第一作者研究方向为耐除草剂基因发掘与抗除草剂作物生物学研究。E-mail: 15011290378@163.com; 郭兵福为共同第一作者

通信作者: 邱丽娟, 研究方向为大豆基因资源发掘。E-mail: qulijuan@caas.cn

陶波, 研究方向为抗除草剂作物及农药微生物降解。E-mail: botaol@163.com

农田杂草是困扰农业生产发展,阻碍农作物产量、品质提高的重要因素。农田杂草的高效防除是确保农作物高产稳产的关键因素之一^[1]。除草剂的使用大幅度地提高了农田杂草的防治效率,有利于农作物高产稳产^[2]。然而,由于过度依赖和长期使用氯嘧磺隆、甲磺隆等残留严重的化学除草剂,导致了农田土壤环境恶化和抗性杂草等问题越来越突出^[3-4]。麦草畏(Dicamba)是苯甲酸系列激素类除草剂,具有低残留、内吸传导和旱地选择等特性;茎叶喷施后导致阔叶植物激素代谢紊乱从而引发致植株死亡,且杀草谱广,对近百种一年生和两年生杂草和100余种多年生阔叶杂草均具有灭生性;因此,田间施用麦草畏后不易产生抗性杂草,对土壤环境影响较小^[5-8]。

麦草畏因其对阔叶植物的灭生性,在我国多应用于禾本科作物如小麦、玉米等田间杂草防除,在大豆中的应用和研究较少。近年来,随着抗草甘膦转基因大豆的种植,草甘膦抗性杂草不断出现,如加拿大飞蓬等,孟山都公司通过连续多年的实验证明激素类除草剂麦草畏的应用可有效防除加拿大飞蓬等抗性杂草的产生^[9-10]。与草甘膦相比,麦草畏具有田间施用量少、成本低等优点。孟山都公司已从嗜麦芽假单胞菌中克隆了麦草畏抗性基因DMO(麦草畏单加氧酶基因),通过转基因技术成功培育的转基因抗麦草畏转基因大豆和棉花新品种,已成功实现商业化推广^[11-17],在欧盟、日本、韩国、菲律宾、墨西哥、澳大利亚、新西兰等国家和地区均获得进口批准^[18]。我国虽是大豆的起源国,但也是世界上最大的大豆进口国,单2015年,我国大豆进口总量已占全球大豆进口总量的64%,其中90%以上的进口大豆为抗草甘膦转基因大豆^[19]。随着转基因大豆的更新换代,在我国逐年递增的进口转基因大豆中,抗麦草畏转基因大豆的比重也将逐年递增。迄今为止,孟山都公司加速研发的抗麦草畏转基因大豆、棉花已成功在美国、加拿大等国家实现商业化推广,因此,为保障粮食安全,抢占农业科技的制高点,我国启动和实施的转基因生物新品种培育重大专项将抗除草剂转基因大豆新品种培育列为重要研究内容。利用抗草甘膦EPSPS基因培育新品种研究表明杂交后代对草甘膦的耐受水平与其亲本材料对草甘膦的耐受性水平相关^[20-22]。因此,发掘对除草剂耐受性较高的种质对促进抗除草剂转基因大豆的研发具有重要的意义。

本研究以麦草畏对大豆下胚轴伸长的抑制率为

评价指标,比较不同大豆品种对麦草畏的耐受反应,旨在建立大豆对麦草畏耐受性快速鉴定的室内生物测定方法,明确大豆品种对麦草畏耐受性差异,为抗麦草畏转基因大豆的受体或轮回亲本的选配和抗麦草畏转基因大豆表型的快速测定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物材料和除草剂

本研究共选用源自大豆微核心种质的35份品种用于试验,供试的35份受体品种中含有地方品种31份,选育品种4份(表1)。试验所用的除草剂为48%麦草畏水剂,由江苏长青农化股份有限公司赵世君老师提供。

1.2 试验方法

参照张庆贺^[23]介绍的抗草甘膦转基因大豆生物测定方法,将饱满无病斑的大豆种子先用自来水冲洗15 min后用70%乙醇消毒30 s,再用0.1% HgCl₂消毒15 min后无菌水冲洗3次,大豆种子先置于25℃无菌水中浸泡6 h,再于28℃的恒温培养箱中催芽24 h备用。在直径12 cm的无菌培养皿中平铺一张无菌滤纸,加入8 mL麦草畏稀释液,选取催芽后芽长一致的大豆种子10颗均匀摆放于无菌培养皿中,上覆一层滤纸保湿,置于28℃恒温恒湿培养箱中培养。以无菌水为对照,麦草畏处理设置7个浓度,分别是50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L、300 μg/L、400 μg/L、500 μg/L、600 μg/L和700 μg/L,每个处理设置3次重复。

1.3 表型调查与数据分析

用麦草畏处理72 h,测量萌发大豆种子下胚轴的长度,以无菌水处理材料的下胚轴长度为对照,计算麦草畏对下胚轴伸长抑制率。

利用Excel和SPSS18.0软件对获得的数据进行分析同时将下胚轴长抑制率转换成几率值(Y),药剂浓度转换成对数值(X),计算抑制率回归方程(LD_p曲线)和抑制中浓度(IC₅₀)。

2 结果与分析

2.1 大豆对麦草畏生物测定临界耐受浓度的筛选

室内生物测定一般在植物组织或器官水平上,以根长、鲜重、株高等参数为指标,分析相关参数变化趋势与处理化学药剂的相关性,其中用于室内生物测定的参数又以根长和鲜重为主^[24],本研究在前期评价了麦草畏处理剂量与大豆下胚轴长和鲜重抑制率的相关性,其中下胚轴伸长抑制率与处理剂量

表 1 参试大豆品种的统一编号、名称、来源地及类型

Table 1 Uniform code, name, origin and types of tested soybean varieties

序号 No.	统一编号 Uniform code	品种名称 Name of accessions	来源地 Originate location	生态区 Eco-region of varieties	类型 Types	粒色 Seed-coat colour
1	ZDD01629	白脐大豌豆	河北	北方	地方品种	黄
2	ZDD07623	吉林茶里花	吉林	北方	地方品种	双色
3	ZDD00310	庆安黑豆	黑龙江	北方	地方品种	黑
4	ZDD03533	柘城小红豆	河南	黄淮海	地方品种	褐
5	ZDD20532	小颗黄豆	湖北	南方	地方品种	黄
6	ZDD18835	猫眼豆	河北	黄淮海	地方品种	双色
7	ZDD08728	白露豆	山西	北方	地方品种	黄
8	ZDD12908	邛崃西江黑豆	四川	南方	地方品种	黑
9	ZDD03540	博爱红皮皂角籽	河南	黄淮海	地方品种	褐
10	ZDD16675	大白毛豆	广东	南方	地方品种	黄
11	ZDD00932	大黑脐	辽宁	北方	地方品种	黄
12	ZDD15357	大黄豆-1	贵州	南方	地方品种	黄
13	ZDD14409	大黄珠	江西	南方	地方品种	黄
14	ZDD06375	大青仁	福建	南方	选育品种	黑
15	ZDD06851	东农 36 号	黑龙江	北方	选育品种	黄
16	ZDD02990	二粒黑豆	山东	黄淮海	地方品种	黑
17	ZDD00326	方正秣食豆	黑龙江	北方	地方品种	黑
18	ZDD14252	丰城早乌豆	江西	南方	地方品种	黑
19	ZDD11226	灌云海白花	江苏	黄淮海	地方品种	黄
20	ZDD18558	花黑虎	河北	黄淮海	地方品种	黄
21	ZDD03776	淮阴春豆	江苏	黄淮海	地方品种	黄
22	ZDD18632	冀豆 7 号	河北	黄淮海	选育品种	黄
23	ZDD10615	老鼠皮	陕西	黄淮海	地方品种	黄
24	ZDD00059	牡丰 1 号	黑龙江	北方	选育品种	黄
25	ZDD21030	彭山黄壳子-3	四川	南方	地方品种	黄
26	ZDD19144	气死洼	山东	黄淮海	地方品种	黄
27	ZDD12453	渠县八月黄	四川	南方	地方品种	黄
28	ZDD06377	厦门藤仔豆	福建	南方	地方品种	褐
29	ZDD11951	扇子白黄豆	湖北	南方	地方品种	黄
30	ZDD12836	什邡螺丝豆	四川	南方	地方品种	双色
31	ZDD004620	泰兴牛毛黄乙	江苏	南方	地方品种	黄
32	ZDD14228	五月黄	江西	南方	地方品种	黄
33	ZDD12635	资中六月早	四川	南方	地方品种	黄
34	ZDD17767	小粒秣食豆	黑龙江	北方	地方品种	褐
35	ZDD14505	宜章六月黄	湖南	南方	地方品种	黄

的相关系数为 0.9638, 而鲜重抑制率为 0.8694, 因此本研究选用下胚轴长抑制率作为评价指标, 用于后续试验。

以下胚轴伸长抑制率为评价指标, 比较了不同浓度麦草畏处理对白脐大豌豆等 8 份大豆下胚轴伸长的抑制效果。结果表明, 麦草畏对大豆下胚轴伸长的抑制效果与麦草畏使用剂量呈正相关, 处理浓度越高, 麦草畏对下胚轴伸长的抑制效果越明显, 但不同大豆品种间下胚轴受抑制的程度存在显著差异

(图 1)。当处理浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时, 白脐大豌豆、庆安黑豆、柘城小红豆和小颗黄豆 4 个品种的下胚轴伸长抑制率较对照 (50 $\mu\text{g}/\text{L}$) 没有显著差异, 而当处理浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时, 除白脐大豌豆外, 其余 7 个品种较对照均差异极显著 ($P < 0.01$)。而当处理浓度高于 (或等于) 300 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时, 供试 8 个品种的下胚轴伸长抑制率较对照均极显著下降 ($P < 0.01$)。表明 300 $\mu\text{g}/\text{L}$ 可作为麦草畏生测时的临界筛选浓度用于大豆对麦草畏的耐受性分析 (表 2)。



浓度(µg/L) Concentration

图 1 大豆对不同剂量麦草畏的耐受性

Fig. 1 Phenotypes of soybean after treated with different concentrations of Dicamba

表 2 8 种不同麦草畏浓度处理下不同大豆品种下胚轴伸长抑制率的差异显著性分析

Table 2 Inhibition rate significance analysis of soybean accessions after treated with eight different dicamba

序号 No.	品种名称 Name	浓度(µg/L) Concentration							
		50	100	200	300	400	500	600	700
1	白脐大豌豆	0.11 ± 0.07	0.12 ± 0.07	0.21 ± 0.03	0.42 ± 0.04**	0.51 ± 0.12**	0.63 ± 0.09**	0.61 ± 0.08**	0.69 ± 0.03**
2	吉林茶里花	0.14 ± 0.04	0.29 ± 0.07*	0.42 ± 0.12**	0.49 ± 0.09**	0.55 ± 0.13**	0.60 ± 0.09**	0.65 ± 0.09**b	0.70 ± 0.05**
3	庆安黑豆	0.10 ± 0.13	0.16 ± 0.13	0.58 ± 0.01**b	0.65 ± 0.05**b	0.68 ± 0.06**a	0.81 ± 0.01**b	0.85 ± 0.01**	0.87 ± 0.01**b
4	柘城小红豆	0.17 ± 0.07	0.34 ± 0.14b	0.45 ± 0.23**a	0.67 ± 0.07**b	0.73 ± 0.05**b	0.78 ± 0.05**b	0.81 ± 0.07**	0.84 ± 0.06**b
5	小颖黄豆	0.33 ± 0.06b	0.37 ± 0.07b	0.53 ± 0.08**b	0.63 ± 0.04**b	0.64 ± 0.05**	0.66 ± 0.03**	0.73 ± 0.02**	0.76 ± 0.02**
6	猫眼豆	0.10 ± 0.02	0.27 ± 0.02**	0.39 ± 0.06**	0.52 ± 0.05**	0.63 ± 0.06**	0.67 ± 0.05**	0.69 ± 0.06**	0.76 ± 0.05**
7	白露豆	0.22 ± 0.07	0.43 ± 0.09**b	0.48 ± 0.07**b	0.62 ± 0.08**b	0.68 ± 0.07**a	0.72 ± 0.04**a	0.73 ± 0.04**	0.75 ± 0.04**
8	珙峰西江黑豆	0.08 ± 0.09	0.23 ± 0.02**	0.30 ± 0.06**	0.54 ± 0.03**a	0.61 ± 0.01**	0.71 ± 0.01**	0.74 ± 0.02**a	0.79 ± 0.02**a

*、** 分别表示较 50µg/L 的麦草畏处理差异达 0.05 和 0.01 显著水平; a、b 分别表示较白脐大豌豆差异达 0.05 和 0.01 显著水平。下同

* and ** means compared to treated with 50µg/L dicamba, significant difference at the 0.05 and 0.01 levels, respectively, a and b means compared to Baiqidawandou, significant difference at the 0.05 and 0.01 levels, respectively. The same as below

不同品种对同一剂量麦草畏的耐受性也存在基因型差异。当处理浓度分别为 100、200 和 300 $\mu\text{g/L}$ 麦草畏处理时,较其他几个品种,白脐大豌豆下胚轴伸长抑制率最小,表明在 100 ~ 300 $\mu\text{g/L}$ 麦草畏处理剂量下,8 个品种中以白脐大豌豆对麦草畏的耐受性最强。在这个剂量处理下,以白脐大豌豆为对照,吉林茶里花、猫眼豆的下胚轴伸长抑制率较对照均略有升高但差异不显著,而小颖黄豆和白露豆在 3 个剂量处理下的下胚轴伸长抑制率较对照均极显著升高;表明吉林茶里花、猫眼豆较对照白脐大豌豆对麦草畏更为敏感但差异不显著,8 个材料中又以小颖黄豆和白露豆对麦草畏尤为敏感。本研究还发现,庆安黑豆用 50 ~ 100 $\mu\text{g/L}$ 的麦草畏处理时,较其他 7 个品种抑制率相对较小,说明对该剂量的麦草畏处理具有较强的耐受性,但当处理剂量上升至 200 $\mu\text{g/L}$ 时,下胚轴伸长抑制率明显高于其他 7 个品种,表现为最敏感,说明不同大豆品种对麦草畏的耐受性在临界值附近的反应存在差异。

2.2 大豆对麦草畏耐受性室内生物测定方法的建立

以白脐大豌豆等 8 份材料为受试品种,在 8 个不同浓度的麦草畏处理后测定下胚轴伸长抑制率并建立了回归方程(LD_p曲线)。结果表明,麦草畏处理浓度与供试大豆品种下胚轴伸长的抑制率呈正相关,除白脐大豌豆(0.9365)外其他品种相关系数均 > 0.95,表明本研究建立的麦草畏室内生物测定方法可有效反映不同大豆品种对麦草畏的耐受性差异(表 3),并可应用于大豆品种资源对麦草畏耐受性鉴定。

表 3 不同剂量麦草畏对下胚轴伸长抑制率的相关性分析
Table 3 Correlation analysis between concentrations of Dicamba and inhibition rate of hypocotyl elongation

序号 No.	品种名称 Name	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient
1	白脐大豌豆	$y = 0.7058x + 0.7656$	0.9365
2	吉林茶里花	$y = 0.5099x + 2.2260$	0.9941 **
3	庆安黑豆	$y = 0.9287x + 0.0600$	0.9722 *
4	柘城小红豆	$y = 0.7423x + 1.1727$	0.9932 **
5	小颖黄豆	$y = 0.4466x + 2.7230$	0.9698 *
6	猫眼豆	$y = 0.7192x + 0.9633$	0.9916 **
7	白露豆	$y = 0.5432x + 2.1757$	0.9788 *
8	邛崃西江黑豆	$y = 0.7874x + 0.5976$	0.9616 *

根据抑制率回归方程,计算了 8 个品种 $Y = 5$ 时的抑制中浓度(IC₅₀),发现白脐大豌豆的抑制中浓度最高为 403.2 $\mu\text{g/L}$,猫眼豆、邛崃西江黑豆和吉林茶里花次之,小颖黄豆最低为 163.78 $\mu\text{g/L}$ 。这表明白脐大豌豆对麦草畏的耐受性最高,猫眼豆、邛崃西江黑豆和吉林茶里花次之,小颖黄豆最低(图 2),该结果与方差分析的结果相吻合,进一步验证了本研究建立的麦草畏耐受性室内生物测定方法的可行性。

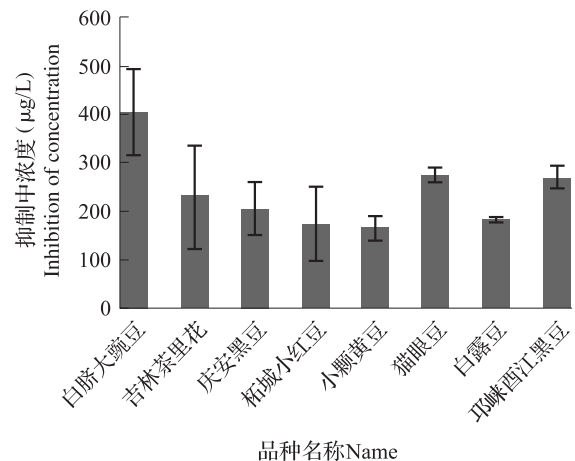


图 2 不同大豆品种对麦草畏的抑制中浓度比较

Fig. 2 Comparative analysis of IC₅₀ in different soybean accessions

2.3 不同大豆品种对麦草畏的耐受性差异分析及优异种质发掘

用 300 $\mu\text{g/L}$ 麦草畏为筛选浓度,以小颖黄豆、吉林茶里花和白脐大豌豆为对照,鉴定了 27 份源自微核心种质的大豆品种对麦草畏的耐受性的反应。在这 27 份材料中,平均下胚轴伸长抑制率为 58.13%,但不同品种对麦草畏耐受性差异显著,供试的 27 份材料中有 74% 的品种(20 份)下胚轴抑制率高于 50%,尤以二粒黑豆和泰兴牛毛黄乙 2 份品种对麦草畏最敏感,下胚轴抑制率均超过 80%,而优于对照白脐大豌豆的大黄豆-1 和什邡螺丝豆这 2 份品种的下胚轴抑制率均低于 30%,表现出较强的耐受性(表 4)。

3 讨论

室内生物测定是利用生物体在适宜浓度范围内,随着使用剂量的增加对化学物质的反应的规律性和可重复性,研究生物体在生长、形态等方面对化学物质反应的方法^[24-26],在植物对除草剂、农药的抗药性等研究领域广泛应用。室内生物测定通常是

表4 不同大豆种质对麦草畏耐受性比较及差异显著性分析

Table 4 The tolerance comparative analysis of dicamba in different soybean accessions

序号 No.	品种名称 Name	抑制率平均数(%) Inhibition ratio average	标准差 Standard deviation	与对照差异显著性(P) Significance test compared with controls		
				小颖黄豆	吉林茶里花	白脐大豌豆
1	白脐大豌豆	42	4	0.108	0.108	—
2	吉林茶里花	54	7.21	1	—	0
3	小颖黄豆	63	4.36	—	1	0.136
4	博爱红皮皂角籽	58	3.61	0	0	0.034
5	大白毛豆	53	1.73	0.368	0.368	0.005
6	大黑脐	72	1.73	0.075	0.075	0.051
7	大黄豆-1	34	2.65	0.108	0.108	0
8	大黄珠	67.7	7.37	0	0	0.152
9	大青仁	62.7	10.97	0.401	0.401	0
10	东农36号	53.7	3.51	0.952	0.952	0
11	二粒黑豆	84	3.61	0.096	0.096	0.039
12	方正秣食豆	67.7	8.74	0	0	0
13	丰城早乌豆	50.7	4.04	0.401	0.401	0
14	灌云海白花	59.7	4.93	0.029	0.029	0.121
15	花黑虎	77.7	2.31	0.548	0.548	0.002
16	淮阴春豆	72.7	2.89	0.01	0.01	0
17	冀豆7号	67	0	0.085	0.085	0
18	老鼠皮	47.7	4.04	0.471	0.471	0
19	牡丰1号	46.3	11.93	0.007	0.007	0.308
20	彭山黄壳子-3	50.3	8.02	0.004	0.004	0.435
21	气死洼	48.3	9.45	0.025	0.025	0.136
22	渠县八月黄	49.7	17.1	0.01	0.01	0.255
23	厦门藤仔豆	57	3	0.019	0.019	0.17
24	扇子白黄豆	54.7	1.16	0.281	0.281	0.009
25	什邡螺丝豆	36	0	0.136	0.136	0.025
26	泰兴牛毛黄乙	89.7	0.58	0	0	0.281
27	五月黄	43.3	10.02	0	0	0
28	资中六月早	52.7	13.8	0.001	0.001	0.81
29	小粒秣食豆	66.3	3.22	0.066	0.066	0.058
30	宜章六月黄	62.3	3.06	0.548	0.548	0

以植株地上部分的鲜重、干重,芽鞘、茎叶、幼根的长度,种子的萌发率以及植株的形态变化等作为测定指标研究不同作物或植物对除草剂等化学物质的药害反应。前人以稗草为受体,利用生物测定方法明确了稗草对二苯醚类、二硝基苯胺类、酰胺类、氨基甲酸酯类、有机磷类、均三氮氮类、有机杂环类等除草剂的药害反应,利用室内生物测定方法明确了小麦、大豆、玉米等不同作物对磺酰脲类除草剂的敏感性^[27-31]。李脉泉等^[22]和郭兵福等^[32]、B. F. Guo等^[33]建立了大豆对百草枯、草丁膦和草甘膦的耐受性快速鉴定方法,并成功应用于抗除草剂转基因大豆植株表型筛选研究,但室内生物测定方法在大豆品种对麦草畏耐受性差异

研究方面仍未见报道。

利用我国丰富的大豆种质资源,结合表型和分子标记评价构建的大豆微核心种质,具有代表性强、遗传多样性丰富、对重要性状相关资源筛选具有实用价值等优点^[34-36],已广泛用于大豆种质资源评价和鉴定、基因发掘、分子育种与种质创新等研究,如对菌核病及草甘膦除草剂等耐逆相关研究^[22,36-37]。因此,选用微核心种质为受试材料研究大豆对麦草畏耐受性具有代表性。本研究建立的麦草畏室内生物测定方法是以催芽萌发的种子为受体,提高了被处理材料的均一性;不同品种间的实验均设无菌水为空白对照,同时以下胚轴伸长抑制率代替下胚轴长度进行统计分析,下胚轴伸长抑制率是通过与空

白对照比较获得的,因此利用下胚轴伸长抑制率作为参数比较不同材料间的耐受性差异,可降低人为或环境误差特别是基因型差异对实验结果的影响。鉴定结果可直接应用于耐受性比较,为耐麦草畏优异种质资源的发掘创造了条件。

在生物测定研究中,回归方程统计分析和抑制中浓度(IC_{50})分析是两个常用的技术手段,回归方程常用于验证建立的室内生物测定方法的可行性,而抑制中浓度则常用于比较受体植物对除草剂等化学物质的耐受性^[27,38]。本研究利用回归方程对抑制率进行统计分析,结果表明抑制率与麦草畏处理浓度呈显著正相关,且以抑制率为指标分析获得的不同品种的耐受性差异与抑制中浓度为指标分析获得的结果相吻合,并且相关系数均大于 0.9 以上,说明新建立的麦草畏室内生物测定方法的准确性和可行性。同时本研究利用该方法明确了 35 份大豆品种对麦草畏的耐受性差异,并从地方品种中鉴定出 2 份对麦草畏耐受性较高的大豆品种,这些结果为抗麦草畏转基因大豆新品种培育的受体、或轮回亲本选择、以及抗麦草畏转基因大豆表型快速测定,提供了材料和方法支撑。

参考文献

- [1] 郭振升. 农田杂草的危害及防除[J]. 河南农业,2003(9):32
- [2] 邱龙,马崇烈,刘博林,等. 耐除草剂转基因作物研究现状及发展前景[J]. 中国农业科学,2012,45(12):2357-2363
- [3] Bhowmik P C. Herbicide resistance: a global concern [J]. Med Fac Landbouww, Univ Gent,2012,65(2a):19-27
- [4] 张朝贤,倪汉文,魏守辉,等. 杂草抗药性研究进展[J]. 中国农业科学,2009,42(4):1274-1289
- [5] 谭海军,田琳. 麦草畏的开发及应用进展综述[J]. 农药研究与应用,2010(6):5-9
- [6] 田琳,谭海军. 麦草畏的生产及发展概述[J]. 世界农药,2010(6):18-20
- [7] 杨永年,陈水锦,翟为雷,等. 除草剂麦草畏毒性研究简报[J]. 农药,1984(5):51-52
- [8] Wang X, Li B, Herman P L, et al. A three-component enzyme system catalyzes the O-demethylation of the herbicide dicamba in *Pseudomonas maltophilia* DI-6 [J]. Appl Environ Microb, 1997, 63(4):1623-1626
- [9] 巩元勇,郭书巧,束红梅,等. 抗草甘膦杂草的抗性机理研究进展[J]. 杂草科学,2012,30(3):9-13
- [10] 余露. 耐麦草畏大豆或能解决加拿大草甘膦抗性杂草问题[J]. 农药市场信息,2015(2):51
- [11] Yao L, Jia X J, Zhao J D, et al. Degradation of the herbicide dicamba by two sphingomonads via different O-demethylation mechanisms [J]. Int Biodeter Biodegr, 2015, 104:324-332
- [12] Forgarty A M, Tuovinen O H. Microbiological degradation of the herbicide dicamba [J]. J Ind Microbiol Biot, 1995, 14(5):365-370
- [13] Herman P L, Mark B, Sarbani C, et al. A three-component dicamba O-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6; gene isolation, characterization, and heterologous expression [J]. J Biol Chem, 2005, 280(26):24759-24767
- [14] Krueger J P, Butz R G, Cork D J. Use of dicamba-degrading microorganisms to protect dicamba susceptible plant species [J]. J Agr Food Chem, 1991, 39(5):1000-1003
- [15] Krueger J P, Butz R G, Atallah Y H, et al. Isolation and identification of microorganisms for the degradation of dicamba [J]. J Agr Food Chem, 1989, 37(2):534-538
- [16] Sarbani C, Mark B, Herman P L, et al. A three-component dicamba O-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6; purification and characterization [J]. Arch Biochem Biophys, 2005, 437(1):20-28
- [17] Broadhurst N A, Montgomery M L, Freed V H, et al. Metabolism of 2-methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid (dicamba) by wheat and bluegrass plants [J]. J Agr Food Chem, 1966, 14(6):585-588
- [18] 郑庆伟. 新型抗麦草畏性大豆获得欧盟进口批准[J]. 农药市场信息,2015,(12):49
- [19] Clive J. 2015 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势 [J]. 中国生物工程杂志,2016,36(4):1-11
- [20] Hartman G L, West E D, Herman T K. Crops that feed the World 2. Soybean-worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests [J]. Food Secur, 2011, 3(1):5-17
- [21] Behrens M R, Mutlu N, Chakraborty S, et al. Dicamba resistance: enlarging and preserving biotechnology-based weed management strategies [J]. Science, 2007, 316(5828):1185-1192
- [22] 李脉泉,化宿南,郭兵福,等. 大豆微核心种质对草甘膦的耐受性鉴定[J]. 植物遗传资源学报,2015,16(5):940-946
- [23] 张庆贺. 抗草甘膦转基因大豆生物测定方法的研究[J]. 作物杂志,2010(3):20-23
- [24] 宋小玲,马波,皇甫超河,等. 除草剂生物测定方法[J]. 杂草科学,2004(3):1-5
- [25] Arber W, Illmensee K, Peacock W J, et al. Genetic manipulation: Impact on man and society [M]. New York: Cambridge University Press, 1984
- [26] Frankel O H, Brown A H D. Current plant genetic resources—a critical appraisal [C]//Genetics, new frontiers: proceedings of the Xv International Congress of Genetics/Editors, V. I. Chopra. 1984
- [27] 吴声敢,王强,赵学平,等. 稗草对 8 种除草剂的生物测定方法和敏感性研究[J]. 浙江农业科学,2006(4):437-440
- [28] 曹堃程. 一种快速灵敏的除草剂生物测定方法[J]. 杂草学报,1992(2):16-22
- [29] 吴长兴,孙枫. 几种除草剂的生物测定及复配效应研究[J]. 浙江农业学报,2000,12(6):374-377
- [30] Tao B, Su S Q. Tolerance of maize (*Zea mays* L.) to chlorsulfuron [J]. J North Agr Uni, 1999, 2:89-93
- [31] 陶波,刘金字. 农作物对磺酰脲类除草剂耐性的研究[J]. 东北农业大学学报,1995(2):105-110
- [32] 郭兵福,蒋凌霄,李脉泉,等. 不同大豆品种对触杀型除草剂的耐受性[J]. 中国油料作物学报,2012,34(5):551-555
- [33] Guo B F, Guo Y, Hong H L, et al. Co-expression of *G2-EPSPS* and glyphosate acetyltransferase *GAT* genes conferring high tolerance to glyphosate in soybean [J]. Front Plant Sci, 2015, 6:847
- [34] Qiu L J, Li Y H, Guan R X, et al. Establishment, representative testing and research progress of soybean core collection and mini core collection [J]. Acta Agr Sinica, 2009, 35(4):571-579
- [35] 宋喜娥,李英慧,常汝镇,等. 中国栽培大豆(*Glycine max* (L.) Merr.) 微核心种质的群体结构与遗传多样性[J]. 中国农业科学,2010,43(11):2209-2219
- [36] Qiu L J, Xing L L, Guo Y, et al. A platform for soybean molecular breeding: the utilization of core collections for food security [J]. Plant Mol Biol, 2013, 83(1-2):41-50
- [37] 韩粉霞,韩广振,孙君明,等. 44 份大豆微核心种质抗菌核病鉴定与评价[J]. 作物学报,2013,39(10):1783-1790
- [38] 陈涛,梁友,罗彦平,等. 6 种土壤处理除草剂对稗草的生物测定及其敏感性研究[J]. 新疆农业科学,2013,50(4):662-666