

野生大豆叶片形态结构与抗病毒病关系的研究

史凤玉¹,朱英波¹,李海潮²,李桂兰¹,乔亚科¹,杨晴¹

(¹河北科技师范学院农学系,河北昌黎 066600;²南京农业大学大豆研究所,江苏南京 210095)

摘要:大豆花叶病毒病(Soybean mosaic virus disease, SMV)是大豆生产的主要病害之一,应用抗病品种是控制该病最经济有效的方法。野生大豆抗SMV机制的探讨是大豆抗病育种的重要基础。通过人工接种和田间自然发病鉴定方法,对来源于河北东部沿海地区的129份野生大豆材料进行抗SMV鉴定及叶片形态结构的比较。结果表明,2.3%的材料抗大豆花叶病毒病,14.7%的材料表现为中抗,26.4%的材料表现为中间反应类型;不同抗感野生大豆材料的叶片蜡质含量及茸毛密度存在明显差异,相关分析表明蜡质含量与野生大豆对病毒病的抗性呈显著正相关。因此,叶片蜡质含量可作为野生大豆材料病毒病抗性鉴定的参考指标。

关键词:野生大豆;病毒病;形态结构;抗性

Relationships between SMV Resistance and Morphological Structures in Wild Soybean

SHI Feng-yu¹, ZHU Ying-bo¹, LI Hai-chao², LI Gui-lan¹, QIAO Ya-ke¹, and YANG Qing¹

(¹Department of Agronomy, Hebei Normal University of Science and Technology, Changli 066600, Hebei; ²Soybean Research Institute, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

Abstract: Soybean mosaic virus disease (SMV) is one of the most important diseases of soybean. Growing resistant cultivars has proved to be an economical and effective approach to control this disease. Resistant mechanism of wild soybean to SMV is principal for soybean resistant-disease breeding. Resistance of 129 wild soybean materials from the eastern coastal region of Hebei province were identified through artificial inoculation test in pots and natural infection test in field. Among the materials tested, 2.3% wild soybean materials were resistant, 14.7% wild soybean materials were mid-resistant, and 26.4% of them were intermediate. There were obvious differences in wax content and hair density of these materials with different resistance levels, and the wax content of wild soybean was correlated with its resistance of SMV significantly. Therefore, wax content could be used as one of indexes for identification of wild soybean resistant to SMV.

Key words: Wild soybean; Soybean mosaic virus disease; Morphological structure; Resistance

大豆花叶病毒病(Soybean mosaic virus disease, SMV)是我国各大豆产区重要的常发病害,该病发病快,危害大,严重影响大豆的产量和品质(郑翠明等,2000)。推广和利用抗大豆花叶病毒品种是控制其危害最经济有效的手段(张伟等,2003;智海剑等,2005)。野生大豆和栽培大豆病毒病的病原是相同的(胡吉成和谢淑仪,1984),且野生大豆作为栽培大豆的近缘种,具有丰富的抗病基因及优良的可遗传的有利性状,研究表明利用野生和半野生大豆创造新的种质资源,拓宽大豆育种的遗传基础是

有效的(杨光宇,1997)。因此,对于野生大豆种质材料的收集、繁育(乔亚科等,2003;贾振伟和赵志强,2006)和抗性鉴定(霍云龙等,2005;杨雪峰等,2005)引起研究者广泛的关注,但有关野生大豆植株的形态结构与抗病毒病的关系未见报道。

笔者于2004~2006年对来源于河北东部沿海地区的129份野生大豆材料进行抗大豆花叶病毒病鉴定,并选取11个不同抗感野生大豆材料,对其叶片的茸毛密度、气孔数量、蜡质含量及比叶重进行了比较,以期能为抗病鉴定提供新的参考指标。

收稿日期(Received):2007-08-14;接受日期(Accepted):2007-12-15

基金项目:河北省自然科学基金项目(C2006000559);河北省科技厅项目(042201113);河北省科技领军人才项目(06547005D-3)

作者简介:史凤玉(1972-),女,讲师,主要从事植物病理学研究。E-mail:fyshi1972@126.com

通讯作者(Corresponding author):乔亚科,教授。Tel:0335-2039379;Fax:0335-2039379;E-mail:qiaoyake@sohu.com

1 材料和方法

1.1 供试材料

选用的 129 份野生大豆材料(由河北科技师范学院野生大豆遗传资源课题组提供),来源于冀东沿海地区,感病品种为栽培大豆合丰 25。

1.2 田间自然诱发大豆病毒病抗性鉴定

田间自然诱发是在鉴定圃中进行,种植诱发行,不防蚜虫,自然发病,交叉感染。田间小区行长 2 m,3 行区,顺序排列。待普遍发病、病情稳定、病害特征明显后,对各供试野生大豆材料进行发病级别调查。

1.3 盆栽接种鉴定

每份野生大豆材料选健粒 15 粒分别播种在装有灭菌土壤、直径 15 cm、高 13 cm 的花盆中,温度控制在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,7 d 后每份材料留 10 株大小一致的苗。当野生大豆第一片复叶展开时,采用常规毛刷人工摩擦接种。毒源来自河北科技师范学院植物保护研究室,接种前采取感病品种合丰 25 病株上典型皱缩症状或泡状突起的病叶、捣碎、过滤后用 1% K_2HPO_4 缓冲液将病叶液稀释 20 倍,加入 5% 的石英

砂。接种发病后定期调查发病级别,记录症状和变化过程。

1.4 病害调查标准及抗性评价标准

参照 Zhi 等 (2004) 病情分级标准:

0 级:免疫、无症状或仅在接种叶上出现局部枯斑;

1 级:轻花叶;

2 级:黄斑花叶、叶片轻度皱缩;

3 级:重花叶、叶片皱缩卷曲;

4 级:叶片严重皱缩且植株矮化。

品种抗性评价标准:病情指数 0~15 为抗;16~30 为中抗;31~50 为中间型;51~100 均为感病。

1.4 叶片形态结构观测方法

参照李海英等 (2001;2002) 的方法,选取 11 种抗性不同的野生大豆材料,详见表 1,于 2006 年室内播种于装有灭菌土壤的花盆中,每盆 15 粒,温度控制在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,7 d 后每份材料留 10 株大小一致的苗。待第 4 片复叶完全展开后,进行植株形态结构观测。

表 1 部分野生大豆抗性鉴定结果

Table 1 Results of resistance test of some wild soybean materials to mosaic virus

材料 Material	来源 Sources	抗感类型 Disease reaction type	病情指数 Disease index/%
1 编 0554	Bian 0554 昌黎 Changli	抗 R	12.5
2 编 0526	Bian 0526 滦南 Luannan	抗 R	0.0
3 编 0508	Bian 0508 滦南 Luannan	中抗 MR	25.0
4 编 0570	Bian 0570 黄金海岸 Huangjinhaian	中抗 MR	25.0
5 永 02	Yong 02 黄金海岸 Huangjinhaian	中间型 I	31.3
6 编 0567	Bian 0567 黄金海岸 Huangjinhaian	感 S	100.0
7 永 30	Yong 30 昌黎 Changli	感 S	81.3
8 永 07	Yong 07 昌黎 Changli	感 S	93.8
9 编 0564	Bian 0564 黄金海岸 Huangjinhaian	感 S	100.0
10 永 15	Yong 15 丰南 Fengnan	感 S	100.0
11 永 12	Yong 12 昌黎 Changli	感 S	93.8

R = Resistant, MR = Mid-resistant, I = Intermediate, S = Susceptible

1.4.1 叶片气孔、茸毛的观察 取各供试野生大豆材料的同一部位的叶片 10 个,分别采用水合氯醛法和火棉胶法测定叶片气孔和茸毛数目,每份材料重复 3 次,取平均值。

1.4.2 比叶重的测定 用叶面积仪测量野生大豆鲜叶面积后,把叶片放在恒温箱中干燥,待彻底干燥后取出测干叶重,每份材料重复 100 次,取平均值,计算单位面积干叶重,即比叶重(mg cm^{-2})。

1.4.3 蜡质含量的测定 每份野生大豆材料的

鲜叶片称重后,剪碎,放入 40 mL 的氯仿中浸泡 1 min,把溶液过滤到已知重量的烧杯中,在通风柜中使氯仿挥发完毕,再次称重,减去烧杯重量,可换算出蜡质含量 mg g^{-1} (鲜叶重),每份材料重复 100 次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 抗性鉴定结果

通过室内接种和连续 3 年的田间自然发病,对

129份野生大豆材料进行了抗病毒病鉴定和筛选。129份材料对大豆花叶病毒的反应统计结果为：连续3年均表现抗病的材料有3份：编0554、编0526和编0553，病情指数为0~12.5，占供试材料的2.3%；表现中抗的材料有19份，病情指数为18.8~25.0，占供试材料的14.7%；表现中间型的材料有34份，病情指数为31.3~50.0，占供试材料的26.4%；其余73份材料均表现为感病，病级为4级，病情指数为56.3~100.0，占供试材料的56.6%，抗感频率分布呈偏正态分布。

2.2 不同抗感材料蜡质含量与抗性的相关性

通过对供试野生大豆材料的叶片蜡质含量测定，结果表明：叶片蜡质含量表现为抗病材料高于感病材料。抗病材料的叶片蜡质含量为20.75~27.49 mg g⁻¹；中抗材料的叶片蜡质含量为12.04~17.56 mg g⁻¹；中间型材料的叶片蜡质含量为14.4 mg g⁻¹；感病材料的叶片蜡质含量为1.81~5.61 mg g⁻¹。相关分析表明，叶片中蜡质含量和病毒病的病情指数呈极显著负相关（图1），相关系数为-0.928。这表明叶片的蜡质含量与野生大豆材料对病毒病的抗性呈显著正相关。

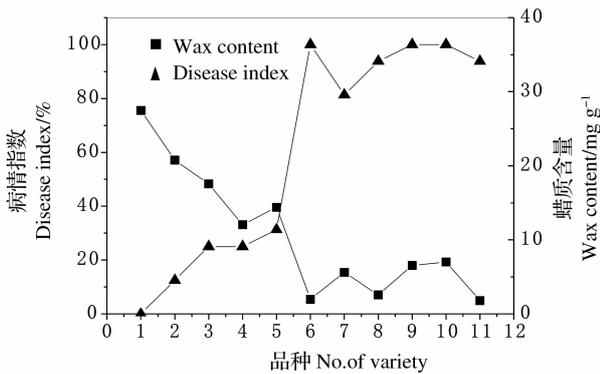


图1 不同抗感材料蜡质含量与抗性的关系
Fig. 1 Relationships between wax content and material resistance

2.3 不同抗感材料比叶重与抗性的相关性

通过对野生大豆比叶重测定，结果表明，不同抗感水平野生大豆材料的比叶重没有明显的差异。抗病材料的比叶重为17.92~22.31 mg cm⁻²；中抗材料的比叶重为17.2~20.9 mg cm⁻²；中间型材料的比叶重22.31 mg cm⁻²；感病材料的比叶重为15.1~32.73 mg cm⁻²。相关分析表明，比叶重和病毒病的病情指数的相关性不显著（图2），相关系数仅为0.365，表明比叶重与病毒病的抗性关系不大。

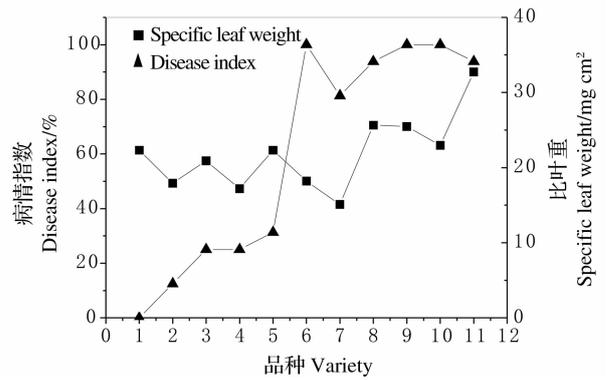


图2 不同抗感材料比叶重与抗性的关系
Fig. 2 Relationships between specific leaf weight and material resistance

表2 不同抗病材料叶片气孔和茸毛密度
Table 2 Stomatal and hair density in wild soybean leaves of resistant materials

材料 Material	叶片气孔密度 Stomatal density of leaf/number mm ⁻²		叶片茸毛密度 Hair density of leaf /number mm ⁻²	
	叶正面 Right side	叶背面 Back side	叶正面 Right side	叶背面 Back side
	编0526 Bian 0526	105	138	6
编0554 Bian 0554	112	195	5	6
编0508 Bian 0508	121	216	5	5
编0570 Bian 0570	120	261	4	7
永02 Yong 02	102	129	2	5

表3 不同感病材料叶片气孔和茸毛密度
Table 3 Stomatal and hair density in wild soybean leaves of susceptible materials

材料 Material	叶片气孔密度 Stomatal density of leaf/number mm ⁻²		叶片茸毛密度 Hair density of leaf /number mm ⁻²	
	叶正面 Right side	叶背面 Back side	叶正面 Right side	叶背面 Back side
	编0567 Bian 0567	97	174	3
永30 Yong 30	119	210	2	3
永07 Yong 07	108	178	3	4
编0564 Bian 0564	125	217	5	5
永15 Yong 15	103	170	2	2
永12 Yong 12	110	195	2	3

2.4 不同抗感材料叶片气孔密度及茸毛密度与抗性的关系

从表2、3可知，表现抗病野生大豆材料的叶片正面及背面气孔密度分别平均为112个 mm⁻²和187个 mm⁻²，而感病材料的叶片正面及背面气孔密度分别平均为110个 mm⁻²和190个 mm⁻²。从平均值来看，不同抗感野生大豆材料的叶片气孔密度呈现相同规律，叶片正面气孔密度明显少于背面气

孔密度。同时,不同抗感材料叶片气孔密度没有显著差异。叶片正面及背面茸毛密度存在着明显差异,抗病材料的叶片正面及背面茸毛密度分别平均为 4 个 mm^{-2} 和 6 个 mm^{-2} ,而感病材料的叶片正面及背面茸毛密度分别平均为 3 个 mm^{-2} 和 4 个 mm^{-2} ,感病材料明显少于抗病材料。

3 讨论

通过对不同抗感野生大豆材料的叶片形态结构的观察,发现不同抗感野生大豆材料的比叶重及气孔密度没有明显的差异,但抗感野生大豆材料的叶片蜡质含量存在明显差异,相关分析表明叶片蜡质含量与抗性存在明显相关性。蚜虫传毒是田间自然条件下大豆花叶病毒(SMV)的主要传播方式(梅丽艳,1997),抗病品种的叶片蜡质含量高于感病品种,表明野生大豆叶片本身具有的蜡质层给蚜虫的取食造成困难,可以作为抵抗蚜虫侵染及减少传毒机率的结构屏障。另外,抗病材料叶片正面及背面茸毛密度也明显高于感病材料,茸毛密度能够影响蚜虫的着落及取食,成为减少蚜虫传毒的另一结构屏障。因而,叶片蜡质含量及茸毛密度可以作为野生大豆抗性鉴定的参考指标。

Steinkamp 等(1979)的研究表明寄主表面蜡质层和叶毛能够影响病原物的侵染;Reyes 等(2005)对不同郁金香品种对灰霉病的抗性研究表明,蜡质的差异影响着郁金香对灰霉病的抗性,而且发现感病品种表面蜡质含量明显低于抗病品种;李海英等(2002)在大豆抗灰斑病的叶组织结构研究中发现抗病品种的叶片蜡质含量高于感病品种,因此认为大豆叶片本身具有的蜡质层,可以作为衡量品种抗感性的指标。这些表明蜡质层是大豆叶片抵抗和延迟病原物侵染的结构屏障。本研究也发现野生大豆抗病毒病材料具有这一特点,但这些材料是否兼抗灰斑病等病害还有待于进一步研究。

在野生大豆病毒病的研究中,对于叶片形态结构和抗病毒病的关系可以为今后抗病毒病理论的建立提供很好的理论依据。然而在今后野生大豆病毒病的抗性机制研究中,还需从叶片组织超微结构及生化指标等方面进一步研究。

4 结论

对来源于冀东沿海地区 129 份野生大豆材料进行抗 SMV 鉴定,从中筛选出 3 份抗病毒病的材料编

0554、编 0526 和编 0553。随后,通过不同抗感野生大豆材料叶片形态结构的比较,发现不同抗感野生大豆材料的叶片蜡质含量及茸毛密度存在明显差异,相关分析也表明蜡质含量与野生大豆对病毒病的抗性呈显著正相关。因而叶片蜡质含量可作为野生大豆材料抗 SMV 鉴定的参考指标。

致谢: 特别感谢路常宽博士在试验过程中给予的指导和帮助。

References

- Hu J C, and Xie S Y. 1984. Preliminary identification of wild soybean (*Glycine soja*) virus diseases. *Acta Phytopathologica Sinica*, 14(2): 122-123(胡吉成,谢淑仪. 1984. 野生大豆病毒病的初步鉴定. 植物病理学报, 14(2): 122-123)
- Huo Y L, Zhu Z D, Li X H, Huang J B, and Wu X F. 2005. Preliminary screening for phytophthora root rot resistance in wild soybean. *Journal of Plant Genetic Resources*, 6(2): 182-185 (霍云龙,朱振东,李向华,黄俊斌,武小菲. 2005. 抗大豆疫霉根腐病野生大豆资源的初步筛选. 植物遗传资源学报, 6(2): 182-185)
- Jia Z W, and Zhao Z Q. 2006. Effect of temperature on germination of wild soybean. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities*, 21(4): 408-410(贾振伟,赵志强. 2006. 温度对野生大豆种子萌发的影响. 内蒙古民族大学学报, 21(4): 408-410)
- Li H Y, Ni H T, and Yang Q K. 2001. Study on stomatal and hair density in soybean leaves of resistant and susceptible cultivars of *Cercospora sojina hara*. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 23(3): 52-53(李海英,倪红涛,杨庆凯. 2001. 大豆叶片结构与灰斑病抗性的研究 I 大豆叶片气孔密度、茸毛密度与灰斑病抗性的关系. 中国油料作物学报, 23(3): 52-53)
- Li H Y, Liu Y G, and Yang Q K. 2002. Studies on the structural resistance to *Cercospora sojina hara* in soybean leaves. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 24(2): 58-60(李海英,刘亚光,杨庆凯. 2002. 大豆叶片结构与灰斑病抗性的研究 II 大豆叶片组织结构与灰斑病抗性的关系. 中国油料作物学报, 24(2): 58-60)
- Mei L Y. 1997. Study on viruliferous seeds of soybean mosaic virus and its detection methods. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 3: 17-19(梅丽艳. 1997. 大豆花叶病毒种子带毒及其检测技术研究. 黑龙江农业科学, 3: 17-19)
- Qiao Y K, Li G L, Wang W P, Gao S G, and Bi Y J. 2003. Effect of different treatment methods and storage period on the germination of wild soybean. *Seed*, (3): 33-34(乔亚科,李桂兰,王文颇,高书国,毕艳娟. 2003. 不同处理方法和贮藏时间对野生大豆种子萌发的影响. 种子, (3): 33-34)
- Reyes A. L, Prins T P, van Empel J P, and van Tuyl J M. 2005. Differences in epicuticular wax layer in tulip can influence resistance to *Botrytis tulipae*. *Acta Horticulturae*, 673(2): 457-461.
- Steinkamp M P, Martin S S, Hoefert L L, and Ruppel E G. 1979. Ultrastructure of lesions produced by *Cercospora beticola* in leaves of *Beta vulgaris*. *Physiological Plant Pathology*, 15: 13-26. (下转 60 页)

- 颖. 2004. 水分胁迫对不同抗旱类型冬小麦幼苗叶绿素荧光参数的影响. 西北植物学报, 24(5): 812-816)
- Zhao H J, Zou Q, and Yu Z W. 2000. Chlorophyll fluorescence analysis technique and its application to photosynthesis of plant. Journal of Henan Agricultural University, 34(3): 248-251 (赵会杰, 邹琦, 于振文. 2000. 叶绿素荧光分析技术及其在植物光合机理研究中的应用. 河南农业大学学报, 34(3): 248-251)
- Zhang H Y, Jiao B C, and Li G Q. 2005. Study on selecting targets in drought-resistant breeding of soybean. Soybean Science, 24(3): 183-188 (张海燕, 焦碧娟, 李贵全. 2005. 大豆抗旱性鉴定指标评价的研究. 大豆科学, 24(3): 183-188)
- Zhang Q Y, Li F D, Gao K C, Liu M Y, and Ou G Q. 2005. Effect of water stress on the photosynthetic capabilities and yield of winter wheat. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 25(6): 1184-1190 (张秋英, 李发东, 高克昌, 刘孟雨, 欧国强. 2005. 水分胁迫对冬小麦光合特性及产量的影响. 西北植物学报, 25(6): 1184-1190)
- Zhang S R. 1999. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance. Chinese Bulletin of Botany, 16(4): 444-448 (张守仁. 1999. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. 植物学通报, 16(4): 444-448)
-
- (上接 55 页)
- Yang G Y. 1997. Advance of study on usage of wild and semi-wild soybean in soybean breeding in the northeast of China. Soybean Science, 16(3): 259-263 (杨光宇. 1997. 东北地区野生、半野生大豆在大豆育种中利用研究进展. 大豆科学, 16(3): 259-263)
- Yang X F, Qi N, Lin H, Liu G Y, and Li B Y. 2005. Identification and screening of resistant *Cercospora sojina* hara in wild soybean and inter-spaces hybridization generation. Heilongjiang Agricultural Sciences, (3): 17-19 (杨雪峰, 齐宁, 林红, 刘广阳, 李宝英. 2005. 野生大豆及种间杂交后代抗灰斑病鉴定筛选. 黑龙江农业科学, (3): 17-19)
- Zhang W, Song S Y, Jin Q M, Guo W G, Sha H L, Li H, and Kang L S. 2004. Identification of new soybean variety (line) resistant to SMV and selection of disease-resistant sources in Jilin province. Journal of Jilin Agricultural University, 26(4): 371-374, 377 (张伟, 宋淑云, 晋齐鸣, 郭文广, 沙洪林, 李红, 康岭生. 2004. 吉林省大豆新品种(系)抗大豆花叶病毒病鉴定及抗源筛选. 吉林农业大学学报, 26(4): 371-374, 377)
- Zheng C M, Chang R Z, and Qiu L J. 2000. Progress on the disease of soybean Mosaic Virus. Acta Phytopathologica Sinica, 30(2): 97-105 (郑翠明, 常汝镇, 邱丽娟. 2000. 大豆花叶病毒病研究进展. 植物病理学报, 30(2): 97-105)
- Zhi H J, Gai J Y, Chen Y Z, Liao Q, Guo D Q, Wang Y W, Li K, and Li H C. 2005. Evaluation of resistance to SMV of the entries in the national uniform soybean tests (2002-2004). Soybean Science, 24(3): 189-193 (智海剑, 盖钧镒, 陈应志, 廖琴, 郭东全, 王延伟, 李凯, 李海潮. 2005. 2002-2004 年国家大豆区试品种对大豆花叶病毒抗性的评价. 大豆科学, 24(3): 189-193)
- Zhi H J, and Gai J Y. 2004. Performances and germplasm evaluation of quantitative resistance to soybean mosaic virus in soybeans. Agricultural Science in China, 3(4): 247-257