

## 野生大豆 (*Glycine soja*) 抗锈鉴定

单志慧, 单连民, 王贤智, 邱德珍, 张晓娟, 蔡淑平, 吴学军, 周新安

(中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉 430062)

**摘 要:**大豆锈病近年来已发展成为影响大豆生产的世界性病害。筛选抗锈资源是开展抗病育种的基础, 从野生大豆中发掘抗锈资源有利于拓宽抗锈育种的遗传基础。采用离体叶片定量接种方法对 513 份野生大豆 (*Glycine soja*) 进行抗锈鉴定, 得到抗病资源 1 份, 其余均为感病资源。

**关键词:**野生大豆; 大豆锈病; 抗性鉴定

**中图分类号:**S565.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2008)05-0888-03

## Evaluation of resistance to *Phakopsora pachyrhizi* in *Glycine soja*

SHAN Zhi-hui, SHAN Lian-min, WANG Xian-zhi, QIU De-zhen, ZHANG Xiao-juan, CAI Shu-ping, WU Xue-jun, ZHOU Xin-an

(Oil Crops Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, Hubei, China)

**Abstract:** Soybean rust has become one of major diseases in world soybean production. The rust resistance screening in soybean accessions is the foundation for soybean breeding. The utility of resistant gene in wild species *Glycine soja* is favorable to broaden the genetic background for breeding. The detached-leave quantity inoculation method was used in this study to screening rust resistance in 513 *Glycine soja* accessions, 1 resistant accession was identified and the others were susceptible.

**Key words:** *Glycine soja*; Soybean rust; Resistance evaluation

由豆薯层锈菌 (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) 引起的大豆锈病曾经是热带、亚热带地区大豆生产的主要病害, 近 10 年来流行于非洲、美洲, 成为世界性病害<sup>[1-2]</sup>。21 世纪初, 大豆锈病的流行每年给生产大国巴西造成的经济损失高达 10~20 亿美元, 成为影响大豆生产的重要因素之一。据美国农部估计, 一旦锈病在美国流行, 每年造成的经济损失将在 10~20 亿美元之间。因此, 防治锈病成为保证大豆安全生产的重要任务之一。

大豆锈病是气传病害, 很难用化学防治和生物防治等手段根除, 利用抗病品种是防治该病最为理经济有效的途径。抗锈资源的获得是抗病育种的物质基础。自 20 世纪 70 年代起, 我国近万份栽培大豆资源进行了抗锈鉴定, 没有发现免疫资源, 只得到 83 份抗锈资源, 多为晚熟的秋大豆类型<sup>[3-4]</sup>。一年生野生大豆 (*Glycine soja*) 是大豆的近缘祖先, 也是大豆的重要遗传资源, 从我国野生大豆资源中已经

筛选到稳定且免疫的抗包囊线虫、抗疫霉根腐、抗灰斑病、对花叶病毒病免疫、抗蚜虫和耐旱等优异群体<sup>[5]</sup>。国外有报道多年生野生大豆 *Glycine argyrea*<sup>[6]</sup>、*Glycine latifolia*、*Glycine latifolia*、*Glycine microphylla*、*Glycine canescens*<sup>[7-9]</sup>、*Glycine clandestine*<sup>[6,9]</sup>、*Glycine tabacina*<sup>[9-10]</sup>、*Glycine wightii*<sup>[10]</sup> 和 *Glycine tomentella*<sup>[9-11]</sup> 中具有较丰富的抗锈基因, 发掘一年生野生大豆中的抗锈资源有利于拓宽大豆抗锈育种的遗传基础。研究对近年来本所保存的 513 份野生大豆进行抗锈鉴定, 以期发现新的抗锈资源。

### 1 材料与方法

#### 1.1 大豆材料

野生大豆资源 513 份。感病品种油春 02-6 为对照。

#### 1.2 病原菌

来自福建三明病区, 经单孢子分离后获得的

收稿日期: 2008-11-02

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划资助项目 (2006BAD13B05-8)。

作者简介: 单志慧 (1964-), 女, 副研究员, 研究方向为大豆育种研究。

通讯作者: 周新安, 研究员。E-mail: xazhou@public.wh.hb.cn。

单孢株系 SS4。

1.3 试验方法

野生豆种子萌发后置于 1/2MS 培养液中培养<sup>[12]</sup>,每 7 d 换一次水,24℃,2000 lux 16/8 h 光周期培养,待 2~3 片复叶完全展开后,取第 2、3 片复叶,带叶柄。每个植株取 1 片复叶,每个品种随机取 3 个植株的叶片。叶片洗净后,浸于 0.1% 吐温溶液中去掉叶面表面张力,然后将叶片叶背朝上,平铺于直径为 15 cm 培养皿中,皿中放置 1 层滤纸,湿度以没有积水为宜,每皿放 5~6 枚叶片。

用含 0.1% 吐温的蒸馏水将锈菌夏孢子制成  $10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$  悬浮液,用涡旋器将孢子混匀,镜检确认孢子分散均匀后才可用于接种。用移液器吸取孢子悬浮液接种于待鉴定的叶片上,每个叶片接种 2~4 个点,每点接种量为 1  $\mu\text{L}$ 。接种后,将培养皿盖好,保持黑暗 24 h,而后移至光照培养箱,24℃,2 000 lux,12/12h 光周期,95% RH,保持良好通风,二周后检

查发病情况。

根据病斑密度、病斑类型对叶片的抗病性进行分类,病斑类型按谈宇俊等方法<sup>[13]</sup>进行。对有抗病表现者进行 2 次以上的重复鉴定。

2 结果与分析

鉴定叶片在接种后 4~7 d 出现侵染病斑,14 d 后孢子堆破裂散出新鲜孢子。其中 502 份接种后叶片上 50% 以上的孢子堆破裂,并散出大量孢子,表现为感病症状;11 份叶片上 50% 以下的孢子堆破裂,表现出抗病症状。对这 11 份资源重复鉴定后,10 份资源表现为感病,仅 ZYD4660 仍表现抗病,其接种部位形成黑色枯斑,未见明显孢子堆形成(图 1A,B)。将锈菌浓度调整至  $10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,继续对 ZYD4660 的进行接种鉴定,仅少量枯斑形成孢子堆,约 4% 的孢子堆破裂,散出少量孢子。

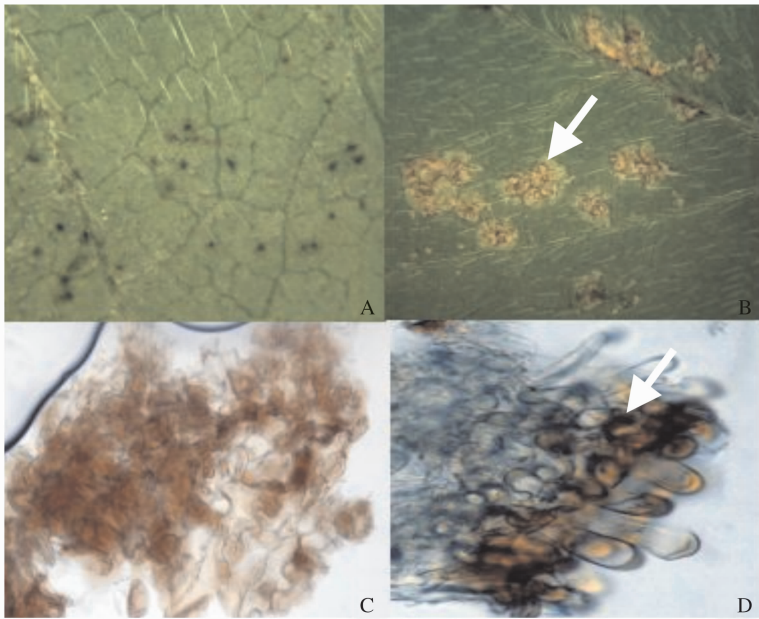


图 1 豆薯层锈菌在 ZYD4660 (A) 和感病对照 (B) 叶片形成的病斑(10X); ZYD4660 (C) 和感病对照 (D) 病斑的显微结构(400X). 箭头所示为夏孢子堆及其结构

Fig. 1 The infect spots on ZYD4660 (A) and susceptible CK (B) after inoculation of *Phakopsora pachyrhizi*; The microstructure of infect spot on ZYD4660 (C) and susceptible CK (D) leaves. The arrow indicated uredia and its micro-structure

将 ZYD4660 和感病资源叶片的病斑组织切下压片镜检,结果表明:在 ZYD4660 中,病斑部位仅见已成熟的夏孢子,未见各个发育阶段的夏孢子以及向外扩展的菌丝,病斑周围的叶片组织结构清晰,未

受到明显伤害;而在感病品种中,可见向外延伸的菌丝,孢子堆中可见到处于各个发育阶段的夏孢子,病斑周围的组织界限比较模糊(图 1C,D)。结合谈宇俊等抗性分类标准<sup>[13]</sup>,确定 ZYD4660 为抗病资源,

其余均为感病资源。

### 3 讨论

一年生野生大豆是栽培大豆的近缘祖先,其染色体数目与栽培大豆相同( $2n = 40$ ),可以相互杂交,因此利用一年生野生大豆开展抗锈育种,比其它多年生野生大豆更具优势。一年生野生大豆中抗锈鉴定还未见报道,研究共鉴定野生大豆资源 513 份,仅得到 1 份抗病资源,占鉴定总数的 0.19%,抗锈资源的丰富程度远远低于抗孢囊线虫<sup>[14]</sup>、抗疫霉根腐<sup>[15-16]</sup>、抗花叶病毒<sup>[17]</sup>等抗性资源。我国现有野生大豆资源 7600 多份,本次鉴定的总数仅是国内野生大豆资源中一小部分,抗锈基因在野生大豆的分布情况还有待进一步的研究。

结果表明:大豆锈菌能够侵染 ZYD4660 叶片,但不能繁殖扩散,由此可初步推断 ZYD4660 的抗病机制在于其抵抗病菌扩展。ZYD4660 是否具有不同于已知 4 个抗锈基因的新位点,其抗锈基因是否为一个新基因,还有待继续研究。

由于豆薯层锈菌的专性寄生性,大豆抗锈鉴定一直采用田间鉴定和活体接种鉴定,这种方法对季节和环境的依赖程度高,试验误差较大。研究采用的离体叶片定量接种鉴定方法,保证了试验过程中接种材料、接种强度、发病条件的均一性,降低了环境误差,保证了试验结果的准确性,有利于大规模开展鉴定。

### 参考文献

- [1] Kitani K, Inoue Y, Natsume T. Studies on the soybean rust and its control measure [G]. Bulletin of the Shikoku Agricultural Experiment Station, 1960, 5: 319-358.
- [2] Yorinori J T, Paiva W M, Frederick R D, et al. Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003 [J]. Plant Disease, 2005, 89: 675-677.
- [3] 谈宇俊, 单志慧, 沈明珍, 等. 中国大豆种质资源抗大豆锈病鉴定 [J]. 大豆科学, 1997, 16(3): 205-209. (Tan Y J, Shan Z H, Shen M Z, et al. Evaluation of rust resistance in soybean germplasms in China [J]. Soybean Science, 1997, 16(3): 205-209.)
- [4] 单志慧, 谈宇俊, 沈明珍. 中国大豆种质资源抗大豆锈病鉴定 [J]. 中国油料作物学报, 2000, 4: 62-63. (Shan Z H, Tan Y J, Shen M Z. Evaluation of soybean germplasm for rust resistance in China [J]. The Chinese Journal of Oil Crops Sciences, 2000, 4: 62-63.)
- [5] 庄炳昌. 中国野生大豆研究二十年 [J]. 吉林农业科学, 1999, 24(5): 3-10. (Zhuang B C, Twenty years study of wild soybean in China [J]. Jilin Agriculture Science, 1999, 24(5): 3-10.)
- [6] Hartman G L, Wang T C, Hymowitz T. Sources of resistance to soybean rust in perennial *Glycine* species [J]. Plant Disease, 1992, 76(4): 396-399.
- [7] Buredon J J. Phenotypic and genetic patterns of resistance to the pathogen *Phakopsora pachyrhizi* in populations of *Glycine canescens* [J]. Oecologia, 1987, 73(2): 257-267.
- [8] Burdon J J. Major genes resistance to *Phakopsora pachyrhizi* in *Glycine canescens*, a wild relative of soybean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1988, 75(6): 923-928.
- [9] Marshall D R, Brou P. The wild relatives of crop plants indigenous of Australia and their use in plant breeding [J]. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, 1981, 47: 149-154.
- [10] Singh K P, Thapliyal P N. Some studies on the soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* [J]. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 1977, 7(1): 27-31.
- [11] Schoen D J, Burdon J J, Brown A H D. Resistance of *Glycine tomentella* to soybean leaf rust *Phakopsora pachyrhizi* and relation to ploidy level and geographic distribution [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1992, 83: 827-832.
- [12] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture [J]. Physiologia Plantarum, 1962, 15: 473-497.
- [13] 谈宇俊, 孙永亮. 大豆锈病的鉴定技术 [J]. 中国油料, 1989, 1: 65-67. (Tan Y J, Sun Y L. Identification detached leaf technique for study soybean rust disease [J]. The Oil Crops in China, 1989, 1: 65-67.)
- [14] 姚振挺, 林红. 野生大豆种质抗 SCN 和 SMV 鉴定研究 [J]. 作物品种资源, 1994, 4: 37-39. (Yao Z C, Lin H. The study of resistance to SCN and SMV in wild soybean [J]. China Seeds, 1994, 4: 37-39.)
- [15] 靳立梅, 徐鹏飞, 吴俊江, 等. 野生大豆种质资源对大豆疫霉根腐病抗性评价 [J]. 大豆科学, 2007, 26(3): 300-304. (Jin L M, Xu P F, Wu J J, et al. Identification the resistance of wild soybean germplasm to *Phytophthora sojae* [J]. Soybean Science, 2007, 26(3): 300-304.)
- [16] 霍云龙, 朱振东, 李向华, 等. 抗大豆疫霉根腐病野生大豆资源的初步筛选 [J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(2): 182-185. (Huo Y L, Zhu Z D, Li X H, et al. Preliminary screening for phytophthora root rot resistance in wild soybean [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(2): 182-185.)
- [17] 孙永吉, 刘玉芝, 胡吉成, 等. 野生大豆抗花叶病毒病研究 [J]. 大豆科学, 1991, 10(3): 212-216. (Sun Y J, Liu Y Z, Hu J C. A study on resistance of the wild soybeans to soybean mosaic virus (SMV) [J]. Soybean Science, 1991, 10(3): 212-216.)