

菜豆抗锈育种的抗源筛选和 抗病基因分析*

岳彬 白沙丽

(天津市蔬菜研究所, 天津)

摘 要

通过对国内外引进的162个品种的田间自然发病调查和苗期接种鉴定, 筛选出抗病型品种37个, 中抗型21个, 中感型60个, 感病型44个。抗锈型品种中大多数是从国外引进且多属于矮生类型, 其中少数矮生品种可直接用于生产, 其余品种虽园艺性状不佳, 但仍可作为蔓生菜豆育种的抗源亲本。

抗病基因分析结果表明, 抗锈性受一对基因控制且为显性。 F_2 代抗与感分离, 经 χ^2 测定完全符合3:1比例。

本文对抗锈育种目标、苗期接种鉴定方法及用纯系小种作基因分析等进行了讨论。

关键词 菜豆锈病 抗病基因

菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 做为主要豆类蔬菜, 在我国大城市郊区和广大农村广泛栽培。菜豆嫩荚和种子含有丰富的蛋白质, 多种氨基酸和维生素, 除供鲜食外, 国内外做为速冻蔬菜得到了迅速发展, 对解决淡季市场供应及出口换汇具有重要作用。

锈病是菜豆叶部的主要病害, 在世界各地菜豆产区均严重发生, 给生产造成巨大损失。菜豆锈病是由 *Uromyces phaseoli* 引起的, 其致病性存在高度的变异性, 世界各国大约已鉴定出150多个生理小种, 而抗锈育种仍是有效的防病措施。^{[1][4]}

我们从国内外广泛搜集品种资源, 采用国际上通用的鉴定方法^[3], 进行抗源筛选, 并对抗病基因进行遗传分析, 以期达到提高育种效果的目的。

材料与方 法

一、供试材料

抗源筛选: 由美国农业部 J. R. Stavelly 提供一套国际公认的锈菌生理小种鉴别品种, 共19个, 从香港费理摩斯种子子公司引进品种5个, 从吉林省蔬菜研究所等单位引进品种121个, 以及我所自己育成的品种和品系17个, 共有参试材料162个。

* 本研究得到沈阳农学院植保系朱有缸先生大力支持和帮助, 在此表示感谢。李亚萍、徐晨英同志参加了此项研究工作。

抗病基因分析: 以‘80—2×30—7’组合的 F_2 代及其亲本为试材。80—2品种是从‘天津黄粒弯子×湖南红花早’杂交组合中选出, 是一个感锈亲本品种。30—7是从“加拿大×五台山七寸莲”杂交组合中选出的抗锈品系, 其抗锈基因来源于矮生品种“加拿大”。

二、试验方法

抗源筛选: 在1985—1986年秋季田间进行自然发病鉴定, 在1986年9—11月间又进行温室苗期接种鉴定。根据品种感病程度, 将参试材料分为以下四种类型: 抗病型(1—2级)、中抗型(3级)、中感型(4级)、感病型(5—6级)。

抗病基因分析: 以“80—2×30—7”组合 F_2 代和亲本为研究材料, 在温室中进行苗期接种鉴定, 重复一次。

接种方法: 本试验使用上口口径20厘米的花盆, 在温室中播种育苗, 每盆10株。播种7—9天后, 在幼苗第一片对生单叶刚展平时进行人工苗期接种。锈菌夏孢子来自本所试验田。采集病叶后用自来水充分冲洗, 将老化夏孢子洗掉, 然后将病叶放进塑料袋中密封保湿, 置室温下48小时, 用新产生的夏孢子配制孢子悬浮液。孢子悬浮液是用自来水加入0.1%吐温20(Tween 20)制成, 含夏孢子为20 000个/ml。用毛笔沾孢子悬浮液在对生单叶上正反两面涂沫, 使整个叶面湿润。接种后把花盆置于低畦(低于地面30厘米)中, 外面用超薄膜做成小拱棚严密覆盖, 覆盖后于畦中充分灌水, 保湿24小时后去掉薄膜。下午4点钟前后接种, 夜温保持15—20°C, 日温保持25—27°C。接种后14天, 取病叶刷去夏孢子, 调查病斑等级。

病斑分级标准: 采用国际统一规定分级标准^[2], 分成6级:

1级为免疫, 没有可见症状。

2级为有坏死斑, 不形成孢子堆。

2⁻ = 坏死斑直径小于300 μm 。

2⁺ = 坏死斑直径在300—1 000 μm 。

2⁺⁺ = 坏死斑直径在1 000—3 000 μm 。

2⁺⁺⁺ = 坏死斑直径大于3 000 μm 。

3级为有孢子堆形成, 直径小于300 μm 。

4级为有孢子堆形成, 直径在300—500 μm 。

5级为有孢子堆形成, 直径在500—800 μm 。

6级为有孢子堆形成, 直径大于800 μm 。

在叶片上同时出现几种病斑等级时, 如实记载, 按优势病斑顺序排列。病斑大小, 在借助手持扩大镜下, 使用专用的 Bean rust grading scale 卡片对照度量。

试验结果

一、抗源筛选

从国内外引进和我所新育成品种162个材料, 经田间和苗期接种鉴定, 测试其对锈病的反应。试验结果:

抗病型(R)品种有37个, 它们是: 2号(C. S. W 643)、4号(K. W 765)、5号

(K. W 780), 8号 (Early Gallatin), 9号 (Redlands Pioneer), 10号 (Ecuador 299), 11号 (Mexico 235), 12号 (Mexico 309), 13号 (Brown Beauty), 16号 (NEP—2), 17号 (Aurora), 30—1—3—2, 30—3—3—3, 30—3—4—10, 30—2—4, 30—3—2—3, 30—1—1—14, 30—3—4—7, 30—7—20, 30—7—18, 30—7—29, 30—1—1—10, 30—7—25, 30—7—15, 雪尼尔, 79—92, 加拿大, Topcrop, 口イセル卡绿15, 五月绿2号, 嫩湖, 79—6, B. B. L 274, 供给者, 12号玉豆, 农安三号。其中除我们育成的30—1—3—2等12品系外, 国内地方品种只有农安三号和12号玉豆, 其他品种均属国外引进, 而且大部分是矮生品种。

中抗型 (MR) 品种有21个, 它们是: 双青, 紫豆, 红花皮, 大红袍, 花皮豆, 罗马菜豆, 家雀蛋, 架豆, 66—13, 嫩荚, 79—88, Epoch, 武汉矮生, 尼克斯, 79—118, 科威特, 7号 (Golden Gate Wax) 14号 (Olathe), 15号 (A×S37), 18号 (51051), 19号 (C. N. C)。

中感型 (MS) 品种有60个, 它们是: 宝鸡架豆, 45—5, 应县架豆, 西安中架, 7812—1, 7812, 浙江四季豆, 黑龙江油豆, 紫荚菜豆, 黄荚菜豆, 芸豆44, 芸豆75, 老来少81, 老来少85, 老来少芸豆, 九粒红芸豆, 大芸豆, 双季芸豆, 大扁白架豆, 黑粒架芸豆, 月梅豆, 秋不老芸豆, 老来少47, 青芸豆48, 舒兰油豆, 大马掌70, 绿架豆, 通化架豆, 范家紫花皮, 大花皮, 油豆, 大家雀蛋, 万昌豆, 宽心红, 九台一尺青, 自来油, 大青条, 懒老婆乐, 大红袍389, 31号架豆92, 冀芸一号, 紫豆角, 老来少96, 西宁菜豆, 南宁架豆, 日本金豆, 兰湖, 79—2—10, 79—61, 老来少106, 二季豆, 河南肉豆, 满架联, 29—2—7—6—1, 29—2—7—4—1, 29—2—7—3—1, 29—2—7—10—1, 秋芸豆, 1号 (U. S. 3), 秋抗6号

感病型 (S) 品种有44个, 它们是: 8026—2, 半夏芸豆, 爬架菜豆, 支架菜豆, 老来少梅豆, 四季芸豆, 青羊角, 德惠架豆, 草原架豆, 黄家雀蛋, 老来少97, 青芸豆45, 双青一号玉豆, 稻池灰粒, 四季豆, 群英, 天津黄粒弯子, 锦州双季豆, 70—4—8—1, 白花杨行, 白羊角, 湖南红花早, 五台山七寸莲, 绿光棍, 一挂鞭, 大白皮, 金大粒, 大马掌20 31号架豆29, 花皮脸, 623 (芸丰), 南京白粒, 75—67, 青岛架豆, 大挽袖, 天木一号, 长沙矮生, 黑法兰, 春丰2号, 春丰4号, 秋抗19号, 3号 (Pinto 650), 6号 (K. W. 814), 软荚。

二、抗病基因分析

根据清沢茂久介绍的抗病基因分析方法, 用 F_2 代及亲本两次进行苗期接种鉴定, 结果如表1和表2。根据 F_1 代田间抗锈性鉴定, 抗病性完全与抗病亲本30—7相似, 又根据 F_2 代抗病株与感病株分离比例来看, 抗病性是完全显性。两次接种鉴定结果完全一致, χ^2 测定完全符合3:1的分离比例。可见抗锈性是受一对等位基因控制, 属于简单遗传方式。

表 1

抗锈遗传基因分析

	抗锈病程度									
	1	2	2 ⁺	2 ⁺⁺	2 ⁺⁺⁺	3	4	5	6	
P ₁ (30- 7)		1	12	6						
P ₂ (80- 2)						2	10	13	1	
F ₂ 观察值 (o)			18	22			5	8	1	
理论值 (c)			40(R)					14 (S)		
			40.5					13.5		
c -o			0.5					-0.5		
(c -o) ²			0.25					0.25		
(c -o) ² / c			0.0015					0.0046		
$\chi^2 = \sum \frac{(c -o)^2}{c}$								0.0061		

自由度 = 2 - 1 时, $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$, $\chi^2_c = 0.0061 < \chi^2_{0.05,1}$ P 值 = 90~95% > 5%

表 2

抗锈遗传基因分析

	抗锈病程度							
	1	2	2 ⁺	2 ⁺⁺ 、2 ⁺⁺⁺	3	4	5	6
P ₁ (30-7)		5	22	9				
P ₂ (80-2)						18	8	1
观察值 (o)		2	27	22	3		10	9
F ₂ 理论值 (c)			54 (R)				19 (S)	
			54.75				18.25	
c-o			0.75				-0.75	
(c-o) ²			0.5625				0.5625	
(c-o) ² /c			0.0102				0.0308	
$\chi^2 = \sum \frac{(c-o)^2}{c}$							0.0410	

自由度 = 1 时, $\chi^2_{0.05,1} = 3.841$, $\chi^2_c = 0.041 < \chi^2_{0.05,1}$ P 值 = 80~90% > 5%.

讨 论

菜豆抗锈育种的首要问题,是寻找对当地存在的锈菌生理小种具有免疫性,或者是具有广谱性的抗源亲本。这种抗源亲本不易在当地找到,因为某些品种长期在当地栽培,锈菌易产生适应品种的变异(即不断出现新的致病小种),所以,抗病基因的来源一般只能从生态差异较大的外地或外国引种材料中筛选。由于品种容易丧失抗病性,不同地区常常存在不同生理小种,而且同一地区又往往存在两个以上的生理小种。因此,菜豆育种是一项经常性的工作,各地区应根据当地现有的生理小种,并以抗多个生理小种为育种目标。

锈病苗期接种是抗源筛选、生理小种鉴定、杂交后代材料早期世代抗性鉴定的快速有效方法。抗病性主要依据病斑大小来决定,病斑大小又往往受单位叶面积病斑密度的影响,病斑密度大则病斑变小,密度小则病斑变大。病斑密度又常常受孢子悬浮液浓度、接种量及温湿度条件的影响。所以必须按照既定浓度定量接种,还要严格控制温湿度条件。单叶与复叶病斑反应是否一致,尚无定论,就我们所见无大差异,但生理小种鉴定须以单叶为准。

对抗锈遗传进行基因分析,很多研究者认为是受寡基因控制,也有人认为是受显性单基因控制。根据我们试验结果证明,抗锈性是受一对显性基因控制,抗病性为显性, F_2 代抗与感以3:1之比进行分离。

我们用 F_2 代及其亲本两次苗期接种试验,结果均表现出抗病亲本及 F_2 代抗病单株,在同一叶片上同时出现4—5级病斑,而感病亲本及 F_2 代感病单株上则不能出现2级病斑。这说明抗病亲本及 F_2 代抗病单株只抗某一个生理小种,不抗另一个生理小种。因此,在进行基因分析时,应进行单孢分离,使其生理小种纯化,使用单一菌株进行接种,接种叶片病斑等级才能趋于一致(病斑达到一、二个等级)。

参 考 文 献

- [1] 叶忠川: 菜豆抗锈病筛选及锈菌生理小种, 《中华农业研究》, 32 (5), 1983, 258—268
- [2] Stavelly, J. R., Freytag, G. F., Steadman, J. R. and Schwartz, H. F.: The 1983 Bean Rust Workshop, Annual Report Bean Improvement Coop. 1983 (26), 4—6
- [3] Stavelly, J. R.: A rapid technique for inoculation of phaseolus with multiple pathotypes of *Uromyces phaseoli*. phytopathology. 1983 (73), 676—679
- [4] Stavelly, J. R.: Pathogenic specialization in *Uromyces phaseoli* in the United States and rust resistance in beans. Plant Disease. 1984 (68), 95—99

ANALYSIS ON THE RESISTANT SOURCE SCREENING AND THE RESISTANT GENE OF THE RUST RESISTANT BREEDING IN THE COMMON BEAN

Yue bin Bai Sha li

(Tianjin Municipal Vegetable Institute, Tianjin)

ABSTRACT

By investigating the incidence of diseases and identifying the rust of seedling inoculation, for 162 varieties introduced at home and abroad, 37 disease-resistant varieties were screened. There are 21 middling resistant forms, 66 middling infection forms and 44 infected forms among them. Many of the rust resistant varieties are introduced from abroad and belong to dwarf form, a few of them could be used for production, the rest could be used for the antigenic parent of the trailing common bean breeding, though their horticulture character is not well.

The results show that the rust resistant character is controlled by a pair of gene and is dominant. The separation of the resistant and infected-disease varieties in F_2 conforms to the ratio 3 : 1 completely, according to the χ^2 statistics.

This paper also discusses the aim of the rust resistant breeding, identifying method of seedling stage inoculation and gene analyses by using pure strain.

Key words: Bean rust disease; Rust resistant gene