

袁星星,陈 新,崔晓艳,等. 抗绿豆象小豆筛选与应用研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):79-80.

# 抗绿豆象小豆筛选与应用研究

袁星星,陈 新,崔晓艳,陈华涛,顾和平,张红梅

(江苏省农业科学院蔬菜研究所,江苏南京 210014)

**摘要:**绿豆象是小豆的主要仓储害虫之一,对小豆生产和贮藏影响很大。筛选抗绿豆象种质资源是抗绿豆象小豆新品种选育的基础。本研究对 120 份小豆和 20 份饭豆资源进行抗绿豆象筛选鉴定,得到了抗绿豆象饭豆资源 1 份(Tr001)和抗绿豆象小豆资源 4 份(泰抗 1 号、泰抗 2 号、泰抗 3 号、泰抗 4 号)。将筛选得到的抗绿豆象饭豆资源与不抗绿豆象小豆 Y001 进行杂交和回交,获得了对绿豆象具有抗性的小豆新株系。

**关键词:**小豆;品种;抗豆象;饭豆

**中图分类号:**S521.034 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)06-0079-02

绿豆象(*Callosobruchus clanensis* L.)是小豆、绿豆、豇豆等食用豆类重要的仓库害虫,在任何种植和贮藏小豆的地方均可发生。在我国,绿豆象一般每年可发生 5~8 代,南方可达 12 代。绿豆象的初侵染在田间发生,成虫在嫩豆莢上产卵,卵羽化成幼虫后穿过豆莢蛀入种子内部取食,并随小豆收获而带入仓库内继续危害,成虫羽化后引起第二次侵染。在一个生活周期内,因绿豆象的危害可损失产量 30%~56%,如再次侵染危害更重,甚至整仓小豆被损。

收稿日期:2012-11-22

基金项目:国家现代农业产业技术体系专项(编号:CARS-09);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(11)1029]。

作者简介:袁星星(1984—),女,江苏东台人,硕士,主要从事豆类作物的遗传育种研究。E-mail:yxx@jaas.ac.cn。

3 号的营养生长进行研究,结果表明,稀释 500 倍液处理下的玉米植株高度、单株叶面积均大于对照处理;在玉米大喇叭口期前,稀释 1 000 倍液处理下的单株生物量和根系干重均大于对照处理;4 叶期稀释 500、1 000 倍液处理下的玉米苗净同化率均大于对照处理;稀释 500 倍液处理下的叶绿素 a+b 含量大于对照处理,而稀释 1 500 倍液处理下的根系活力均大于其他处理。因此,施用适宜稀释浓度的松土保水剂可以有效地提高玉米植株高度、单株叶面积、单株生物量、根系干重、苗期净同化率、叶绿素含量和根系活力等指标性状,这与前人的研究结果相一致。另外,本研究还得出对于松土保水剂适宜的浓度为稀释 500~1 000 倍,适当高浓度的松土保水剂能促进植株地上部分生长和提高叶绿素含量,而较低浓度的松土保水剂能促进地下部分生长和提高根系活力。

## 参考文献:

- [1] 黄占斌,朱元骏,李茂松,等. 保水剂聚丙烯酸钠不同施用方法对玉米生长和水分利用效率的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2004,35(5):576-579.
- [2] 李青丰,房丽宁,徐 军,等. 吸水剂对促进种子萌发作用的置疑[J]. 干旱地区农业研究,1996,14(4):56-60.
- [3] 童 彦,潘玉君,朱海燕. 农业干旱灾害影响粮食产能安全的机理分析——以云南省为例[J]. 江苏农业科学,2011,39(2):

国内外的专家试图通过各种方法来获得抗绿豆象小豆新品种。泰国农业大学的 Somta 等<sup>[1]</sup>利用栽培饭豆[*V. umbellata* (Thunb.) Ohwi & Ohashi] 与野生小豆[*V. nakashimae* (Ohwi) Ohwi & Ohashi] 杂交 F<sub>2</sub> 代作图群体,对不同生长发育时期的绿豆象和四纹豆象进行 QTL 动态检测和遗传效应分析,把 101 个 SSR 标记和 74 个 RFLP 标记定位在 11 个连锁群上,并同时构建了 2 个作图群体。有关小豆抗绿豆象转基因研究方面,美国加州大学的 Chen 等<sup>[2]</sup>从亚洲蔬菜研究与发展中心的绿豆品种 Vc6089A 中克隆出 1 个抗绿豆象基因 *VrDI*,并利用农杆菌介导法转入到当地栽培小豆中并得到了成功表达,同时发现该基因对小豆的某些真菌病害具有一定的抗性。Keito 等<sup>[3]</sup>对从普通菜豆中克隆出的  $\alpha$ -淀粉酶抑制剂-2 基因进行研究,发现该基因对墨西哥象甲有一定抗性,通过农杆菌介导法把该基因导入小豆品种 6054 中并进

520-522.

- [4] 郝建军,康宗利,于 洋,等. 植物生理学实验技术[M]. 北京:化学工业出版社,2006:68-70.
- [5] 李海金,刘恩科,张冬梅,等. 保水剂对旱地玉米产量性状及产量的影响[J]. 山西农业科学,2011,39(8):812-813,819.
- [6] 窦金刚,孙云云,高玉山,等. 风沙瘠薄农田玉米保水剂施用效应的研究[J]. 吉林农业科学,2011,36(6):22-25.
- [7] 刘小三,叶 川,黄欠如,等. 丘陵红壤旱地稻草覆盖与保水剂对秋糯玉米生长及产量的效应[J]. 江西农业学报,2011,23(9):109-111.
- [8] 吴艳艳,何雪丹,秦忠明. 不同类型保水剂对玉米产量性状和产量的影响[J]. 现代农业科技,2012(12):25,30.
- [9] 王洪君,陈宝玉,梁炬赫,等. 保水剂吸水特性及对玉米苗期生长的影响[J]. 玉米科学,2011,19(5):96-99.
- [10] 宋影亮,金忠华,黄宇祥. 保水剂与尿素的互作效应对玉米生长发育影响的研究[J]. 辽宁农业科学,2010(3):16-21.
- [11] 赵玉坤,武继承. 不同用量保水剂对玉米苗期生理生态特性的影响[J]. 河南农业科学,2010(6):31-34.
- [12] 宋 红. 抗旱保水剂对促进玉米生长生理特性的试验研究[J]. 科技情报开发与经济,2009(20):146-148.
- [13] 王以兵,丁 林,张新民. 免储水灌注水播种条件下保水剂使用对玉米生长发育的影响[J]. 水土保持通报,2010,30(4):152-156.

行过量表达,得到了 34 株功能稳定表达的转基因植株。Matusim 等把 *EHA105* 抗绿豆象基因(来源于普通菜豆)和标记基因一起导入到栽培小豆日本北海道小豆中,通过对后代进行标记检测得到 31 个成功转基因植株<sup>[4]</sup>。

虽然国内外对小豆及其近缘种饭豆进行了多方面的抗绿豆象研究,但相关研究多集中于分子机理及遗传研究,目前仍然没有抗绿豆象小豆品种选育成功的报道。而抗绿豆象资源的获得是抗绿豆象小豆新品种选育的基础,因此我们进行了小豆和饭豆抗绿豆象资源的筛选及应用研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

来自国内外 120 份小豆资源和 20 份饭豆资源。

### 1.2 鉴定方法

2012 年 6 月在江苏省农业科学院蔬菜研究所采用室内人工接虫鉴定,各鉴定材料取 50 粒种子,分别放入直径 6 cm 和高 1 cm 的小盒中,不加盖。小盒放入大塑料盒内(长 66 cm、宽 44 cm、高 18 cm),盒上覆盖二层黑布,置于养虫架上。每个大塑料盒内放入 400~500 对羽化 1~3 d 的绿豆象成虫,平均每份鉴定材料 8 对,使其在各材料上随机产卵。至感虫对照材料每粒种子着卵量达 5 粒以上时,将鉴定材料取出,除去所有成虫。接虫 40~45 d 后,调查每份材料的虫害级别。

### 1.3 调查记载标准及抗性评价

根据籽粒受害率划分虫害级别。籽粒受害率指被豆象危害籽粒数占鉴定籽粒总数的百分率。根据虫害级别评价食用豆对绿豆象抗性:1 级(高抗):籽粒受害率 < 10.0%;3 级(抗):籽粒受害率 10.1%~35.0%;5 级(中抗):籽粒受害率 35.1%~65.0%;7 级(感):籽粒受害率 65.1%~90.0%;9 级(高感):籽粒受害率 > 90.0%。

### 1.4 抗绿豆象小豆新种质的创制

本试验于 2011—2012 年在江苏省农业科学院蔬菜研究所试验地内进行。利用抗绿豆象饭豆(父本)与小豆(母本)配制杂交组合,获得杂交  $F_1$  代种子。把收获的杂交后代种子在海南进行冬季加代,在田间进行抗绿豆象的初步鉴定,同时进行室内人工接种鉴定。通过综合选择方法筛选出高抗绿豆象的单株留至下季备用。

## 2 结果

### 2.1 饭豆抗绿豆象的筛选鉴定

筛选获得抗绿豆象饭豆资源 1 份(Tr001),籽粒受害率为 8%,达到高抗。其余 19 份饭豆资源表现为感虫或高感,其中 12 份表现为感虫,籽粒受害率在 69.9%到 87.6%之间,其他 7 份表现为高感,籽粒受害率为 91.3%到 97.6%之间。

### 2.2 小豆抗绿豆象筛选鉴定

筛选获得泰抗 1 号、泰抗 2 号、泰抗 3 号和泰抗 4 号 4 个高抗绿豆象小豆资源,这 4 份资源在室内人工接种鉴定时籽粒受害率介于 6.8%到 9.3%之间,均小于 10%,达到高抗。筛选获得 su0024 等 2 个抗性资源,籽粒受害率分别为 18.7%和 29.5%。筛选获得 Liaozi032 等 15 个中抗资源,籽粒受害

率介于 36.1%~62.8%。

### 2.3 抗绿豆象资源的利用

由于 4 个抗绿豆象小豆资源粒色普遍表现为灰色,田间生长表现为半蔓生,百粒重小,生育期长,作为育种亲本需要改良的农艺性状较多,育种周期长。故本试验选取百粒重达到 12 g 的抗绿豆象饭豆资源 Tr001 进行了育种利用。2011 年 6 月,将抗绿豆象饭豆资源 Tr001 与不抗绿豆象小豆 Y001 进行杂交,当代获得 282 个豆荚,对获得的豆荚分别种植于海南基地,对收获的种子进行抗性鉴定,得到对绿豆象抗性较好的株系 6 个。2012 年 6 月,对获得的 6 个株系进行田间种植,通过农艺性状鉴定和对收获后的株系的种子的抗性检测,目前已经初步得到种间杂交的 12~6 株系在抗性与农艺性状方面均接近小豆品种,该株系对绿豆象抗性为 1 级,百粒重 15 g,种子颜色为暗红色。

## 3 讨论

我国是小豆的原产国和世界上最大的小豆生产国,拥有丰富的小豆种质资源,这是小豆新品种选育和种质创新的基础,也是今后扩大小豆生产的根本。

研究小豆抗绿豆象具有较高的经济效益与社会意义。抗绿豆象小豆新品种与不抗绿豆象小豆品种相比,可减少田间防止绿豆象的农药以及种子储藏期间熏蒸磷化铝的用量,降低小豆生产和贮藏成本,降低农药残留,对环境友好。本试验筛选获得了 1 份抗绿豆象饭豆资源和 4 份抗绿豆象小豆资源。本试验中使用抗绿豆象饭豆资源与普通小豆进行种间杂交而不直接使用抗绿豆象小豆与普通小豆进行杂交,主要原因是抗绿豆象小豆百粒重只有普通小豆的 30%,且种皮为灰色,而一次改良百粒重和种皮颜色所需育种周期长,加之目前选择标记缺乏,因此会更加延长育种时间。

由于饭豆与小豆染色体数量一致,且杂交后容易得到后代种子,且抗绿豆象饭豆资源的种子百粒重与常规小豆相比差异不大,因此本试验选用抗绿豆象饭豆与普通小豆进行杂交。

### 参考文献:

- [1] Somta P, Kaga A, Xin Chen, et al. Development of an interspecific *Vigna* linkage map between *Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi and Ohashi and *V. nakashimae* (Ohwi) Ohwi and Ohashi and its use in analysis of bruchid resistance and comparative genomics [J]. Plant Breeding, 2006, 125: 77~84.
- [2] Chen G H, Hsu M P, Tan C H, et al. Cloning and characterization of a plant defensin VrD1 from azuki bean [J]. J Agr Food Chem, 2005, 53: 982~988.
- [3] Keito N, Masayoshi T, Shigeru U, et al. Assessment of the importance of  $\alpha$ -amylase inhibitor-2 in bruchid resistance of wild common bean [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114 (4): 755~764.
- [4] Mutasim M, Khalafalla H A, El-Shemy R S, et al. Recovery of herbicide-resistant azuki bean [*Vigna angularis* (Wild.), Ohwi & Ohashi] plants via *Agrobacterium*-mediated transformation [J]. African Journal of Biotechnology, 2005, 4 (1): 61~67.