

# 鹰嘴豆种质资源对 *Ascochyta rabiei* 的抗性评价及遗传多态性分析

马丽娟<sup>1</sup>, 张巨松<sup>1</sup>, 李利民<sup>2</sup>, 陈晓露<sup>1</sup>, 曾繁明<sup>3</sup>, 杨忠芳<sup>3</sup>, 羌松<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052; <sup>2</sup> 新疆农业科学院品种资源研究所, 乌鲁木齐 830091; <sup>3</sup> 木垒县农业技术推广站, 831900)

**摘要:**以 25 份鹰嘴豆品种(系)为试验材料,通过叶面喷雾的方式进行 *Ascochyta rabiei* 菌悬液室内人工接种,评价不同鹰嘴豆种质资源的抗病性;同时利用 RAPD 方法进行基因型鉴定,采用 NTSYSpc 2.10t 软件对分子标记结果进行遗传相似性的统计分析,并建立各品系间的亲缘关系聚类图,探讨不同鹰嘴豆品系对 *A. rabiei* 抗性 with 遗传多态性间的关系。室内和田间鹰嘴豆抗 *A. rabiei* 鉴定结果表明:在 25 份鹰嘴豆供试种质中,系选 03 和 216 均表现出稳定抗性;北园春表现出稳定中抗。通过 RAPD 多态性引物对 25 份供试种质进行 PCR 扩增,共获得 129 个扩增条带,其中多态性条带 67 条,多态性比例达 51.94%,遗传相似系数为 0.3731~0.9254。结合抗病性和遗传多态性,经方差分析表明,本研究的鹰嘴豆品种(系)对 *A. rabiei* 的抗性强弱与其遗传相似性之间无显著相关性。

**关键词:**鹰嘴豆;鹰嘴豆壳二孢叶枯病菌;抗性评价;遗传多态性

## Resistance Evaluation and Genetic Diversity Analysis of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) to *Ascochyta rabiei*

MA Li-juan<sup>1</sup>, ZHANG Ju-song<sup>1</sup>, LI Li-min<sup>2</sup>, CHEN Xiao-lu<sup>1</sup>, ZENG Fan-ming<sup>3</sup>, YANG Zhong-fang<sup>3</sup>, QIANG Song<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052; <sup>2</sup> Institute of Variety Resources, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091; <sup>3</sup> Agricultural Technology Extension Center of Mulei County, 831900)

**Abstract:** The study aimed to evaluate the *Ascochyta* blight resistance of 25 chickpea varieties (lines) through artificial inoculation by *Ascochyta rabiei* spore suspension both in lab and outdoors. At the same time, the genotype of these chickpea varieties (lines) were identified by RAPD amplification and the genetic relationship among these chickpea varieties (lines) were analyzed by NTSYSpc 2.10t software. Results of resistance identification showed that 'xixuan 03' and '216' had a stable R level of resistance and 'beiyuanchun' had a MR level of resistance to *Ascochyta* blight respectively. In genetic relationship analysis by RAPD amplification, 129 DNA bands were amplified from these 25 chickpea varieties (lines) in total, 67 of these 129 bands were polymorphic, and the ratio of polymorphic fragments was about 51.94%. Genetic similarity coefficient among these 25 chickpea varieties (lines) were 0.3731-0.9254. Combined with disease resistance identification results and genetic polymorphism analysis, there were no significant relevance between the resistance to *Ascochyta* blight and the genetic relationship of these tested chickpea varieties (lines) by analysis of variance.

**Key words:** Chickpea; *Ascochyta rabiei*; resistance evaluation; genetic diversity

鹰嘴豆的学名 *Cicer arietinum* L., 为豆科草本植物。起源于亚洲西部和近东地区<sup>[1]</sup>, 是世界上栽培

面积较大的豆类植物, 约 1000 万 hm<sup>2</sup>, 其中印度和巴基斯坦两国的种植面积占全世界的 80% 以上, 中

收稿日期: 2013-02-25 修回日期: 2013-04-08 网络出版日期: 2013-10-22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20131022.1545.022.html>

基金项目: 新疆维吾尔自治区高等学校科研计划项目(XJEDU2010125)

第一作者研究方向为植物抗病性研究。E-mail: malijuan1987224@163.com

通信作者: 羌松, 研究方向为作物病害控制。E-mail: qse26@163.com

国甘肃、青海、新疆、陕西、山西、河北、山东、河南、台湾、内蒙古等地有引种栽培<sup>[2]</sup>。由于地理上的长期隔离,种内已产生许多形态变异。根据这些变异,通常将鹰嘴豆分为2大类型:Kabuli型和Desi型。Kabuli型种子较大,圆粒,多为乳白色或浅褐色;Desi型种子较小,皱粒,多为褐色或深褐色<sup>[3]</sup>。随着鹰嘴豆种植面积的扩增,相应的病害也加速传播。*Ascochyta rabiei*为鹰嘴豆壳二孢叶枯病(*Ascochyta blight*)的致病菌,属于半知菌亚门,球壳孢目,壳二孢属真菌,通过土壤、种子、病残体传播病害<sup>[4]</sup>,在低温高湿条件下,随土壤、气流传播,侵染力极强。1911年在巴基斯坦被首次发现,1930年F. Labrousse<sup>[5]</sup>将该病原描述为*Phyllosticta rabiei*,1931年又更名为*A. rabiei*<sup>[6]</sup>,鹰嘴豆及其他鹰嘴豆属是鹰嘴豆壳二孢叶枯病病原菌(*A. rabiei*)的唯一寄主<sup>[7]</sup>。该病害的危害性很大,条件适宜时,即使种植抗病品种,鹰嘴豆壳二孢叶枯病也造成超过70%的产量损失<sup>[8-10]</sup>。在鹰嘴豆的重要种植区巴基斯坦,年受害面积高达25%~50%。1936年在保加利亚造成年产量损失20%~50%,部分田块产量损失达100%。2007年在新疆北部的鹰嘴豆主栽区昌吉州木垒县、奇台县等地暴发,产量损失率为40%~50%<sup>[11]</sup>,因其引起典型的深褐色叶斑症状,当时被称为鹰嘴豆褐斑病<sup>[12]</sup>。2011年,J. Y. Bai等<sup>[13]</sup>首次报道了*A. rabiei*在中国的发现,病原菌以分生孢子器和分生孢子的形式在病残体上越冬,或通过种子带菌进行远距离传播,目前该病害已成为制约新疆鹰嘴豆规模化发展的重要因素之一<sup>[4,14]</sup>。选育和推广抗病品种是防治鹰嘴豆壳二孢叶枯病的有效方法<sup>[15-16]</sup>。鹰嘴豆不同种质间的抗病性差异,为鹰嘴豆抗壳二孢叶枯病材料的遗传改良提供了可能。目前国内关于鹰嘴豆种质资源抗*A. rabiei*的研究未见报道。

RAPD(randomly amplified polymorphic DNA)即随机扩增多态DNA标记,是由J. G. Willems等<sup>[17]</sup>于1990年创建的一项DNA多态性检测技术。目前,该技术广泛用于植物品种鉴定、遗传多样性分析及分子进化研究中<sup>[18-19]</sup>。2011年,涂敏等<sup>[20]</sup>采用分子标记技术,对160个水稻品种的遗传多样性指数与其稻瘟病抗性进行Pearson相关性检验,结果表明水稻品种的群体遗传多样性与群体对稻瘟病的抗性水平呈显著正相关关系。但利用品种间遗传多样性差异并不能完全区分抗性品种,如2012年李雪霞等<sup>[21]</sup>对不同抗性香蕉品种遗传多样性的研究表明,不同香蕉品种对枯萎病的抗性强弱与其遗传相似性

之间无明确相关性。本研究对25个鹰嘴豆品种(系)进行病原菌*A. rabiei*的室内外人工接种试验,鉴定不同鹰嘴豆种质资源的抗病性差异,同时,以RAPD标记对鹰嘴豆品种(系)的基因型进行初步分析,在获得抗壳二孢叶枯病鹰嘴豆材料的基础上,了解鹰嘴豆资源抗*A. rabiei*与其遗传多态性之间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验选用25份鹰嘴豆品种(系),部分由新疆农科院品种资源所提供,其他于农资市场、木垒县等地收集获得(表1)。鹰嘴豆壳二孢叶枯病病原菌由本实验室分离保存。

### 1.2 方法

**1.2.1 病原菌制备** 将鹰嘴豆壳二孢叶枯病病原菌接种到鹰嘴豆煎汁PDA平板上,置26℃温箱中培养15d,加适量无菌水洗脱分生孢子,经血球计数板计数浓度约为 $1 \times 10^6$ 个/mL孢子悬浮液待用。

**1.2.2 病原菌接种及抗病性鉴定方法** 病原菌接种及抗病性鉴定分室内、田间2个阶段进行。室内将鹰嘴豆种子用0.1%升汞消毒10min,流水冲洗30min,用40~50℃温水浸种6h后,于28~30℃恒温箱内催芽,出芽后播种在装有灭菌土壤的花盆中,3次重复,每重复10株,设不接种为对照。出苗7d后,用浓度为 $1 \times 10^6$ 个/mL孢子悬浮液于叶片正反面均匀喷雾接种,保持室温为 $20 \pm 4$ ℃,湿度为70%~80%。接种第15天进行发病情况调查,统计病斑等级,计算病情指数。田间将鹰嘴豆品系种子(消毒后)种植于新疆木垒县,按照随机区组种植,播种深度1~2cm,行株距40cm×20cm,每小区40~50粒种子,3次重复,同时设立对照组,常规管理。先后于出苗后27d、50d时,用浓度为 $1 \times 10^6$ 个/mL孢子悬浮液于叶片正反面均匀喷雾接种,接种区设置在下风口,同时接种时将对照区与接种区用纸板隔开,防止雾滴漂移。于第2次接种后40d进行发病情况调查,统计病斑等级,分析其抗病性。

根据S. Pande等<sup>[22]</sup>的分级标准,将鹰嘴豆壳二孢叶枯病病情指数分为9级。1级:无病斑;2级:植株仅表现轻微受损,病斑发生于茎秆顶端;3级:病斑扩散为5mm大小,茎秆顶端出现萎蔫、下垂现象;4级:整株出现病斑,且明显由茎秆顶端向下移;5级:整株出现病斑,开始出现脱、落叶,部分折断,分枝轻微干枯;6级:整株出现病斑,分枝普遍干枯,

表 1 供试材料

Table 1 The information of tested chickpea varieties (lines)

品系名称/代码 Name/Code	来源 Source	类型 Biotype	室内 Lab.		田间 Field	
			病情指数	抗病性	病情指数	抗病性
			Disease score	Disease resistance	Disease score	Disease resistance
木垒	农资市场	Desi	9.00	HS	4.20	MR
叙利亚	农资市场	Kabuli	7.00	S	2.99	R
北园春	农资市场	Desi	3.33	MR	5.00	MR
阿克苏	农资市场	Kabuli	6.22	S	5.00	MR
阿瓦提 2 号	农资市场	Kabuli	5.44	S	5.00	MR
美国一号 7	农资市场	Kabuli	7.11	HS	3.79	MR
乌什	农资市场	Kabuli	7.66	HS	3.79	MR
系选 03	木垒县品系	Desi	1.97	R	2.99	R
200	新疆农科院	Kabuli	6.66	S	2.99	R
216	新疆农科院	Kabuli	2.02	R	2.99	R
221	新疆农科院	Kabuli	5.66	S	7.14	HS
223	新疆农科院	Kabuli	5.00	MR	7.61	HS
224	新疆农科院	Kabuli	1.60	R	5.00	MR
159	新疆农科院	Kabuli	7.08	HS	4.59	MR
185	新疆农科院	Desi	7.34	HS	9.00	HS
165	新疆农科院	Kabuli	9.00	HS	8.07	HS
169 品	新疆农科院	Desi	4.14	MR	7.00	S
170	新疆农科院	Desi	6.61	S	5.79	S
171	新疆农科院	Kabuli	6.55	S	5.79	S
177	新疆农科院	Kabuli	6.22	S	7.59	HS
178	新疆农科院	Kabuli	7.22	HS	4.20	MR
196	新疆农科院	Desi	6.44	S	8.26	HS
88-1	农资市场	Desi	6.47	S	3.79	MR
4400	木垒县品系	Kabuli	5.84	S	5.00	MR
4533	木垒县品系	Kabuli	4.88	MR	2.99	R

部分植株折断、死亡;7 级:整株出现病斑,大部分分枝干枯,部分植株折断,25%的植株死亡;8 级:整株出现病斑,大部分分枝干枯,部分植株折断,50%的植株死亡;9 级:整株出现病斑,大部分分枝干枯,部分植株折断,100%的植株死亡。参考董星光等<sup>[23]</sup>方法,根据上述病情指数将抗性等级分为以下 5 级,1:免疫(I);1.1~3:抗性(R);3.1~5:中抗(MR);5.1~7:敏感(S);7.1~9:高感(HS)。

**1.2.3 鹰嘴豆总 DNA 提取及 RAPD 扩增** 鹰嘴豆 DNA 提取采用改良的 CTAB 法<sup>[24]</sup>。15 条 RAPD 引物由北京六合华大基因科技股份有限公司合成, DNA 提取及 PCR 相关试剂由天根生物工程有限公司提供,PCR 仪为 Biometra PCR 扩增仪。PCR 反应体系:0.5  $\mu\text{L}$  10  $\times$  Buffer、0.5  $\mu\text{L}$  dNTP (10 mmol/L each)、2.0  $\mu\text{L}$  DNA 模板(10 ng/ $\mu\text{L}$ )、1.0  $\mu\text{L}$  引物

(20  $\mu\text{mol/L}$ )、0.5  $\mu\text{L}$  *Taq* DNA 聚合酶, ddH<sub>2</sub>O 补足至 25  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应程序:B5~X8 引物(表 2):95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min;(94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min;38  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min)6 个循环;(94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min;36  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min)30 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min;4  $^{\circ}\text{C}$  保温。1/4~1/70 引物:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min,(94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min;37  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 2 min)40 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min;4  $^{\circ}\text{C}$  保温。PCR 产物于 8% 聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳,银染成像。

### 1.3 数据分析

对凝胶图像采用 0-1 系统记录扩增谱带位置,有带记为 1、无带记为 0,依扩增片段的大小顺序,将所有引物扩增结果构建(0,1)矩阵数据。计算分析 15 条引物对 25 个鹰嘴豆制品系产生的多态性条带数及多态性比率,使用 Popgene 32 软件计算位点  $N$ 。

(有效等位基因数)、 $H$ (基因多样性)、 $I$ (信息指数)等指数。运用 NTSYSpc 2.10t 软件,根据(0,1)矩阵数据计算遗传相似性系数,用 UPGMA 方法进行聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 鹰嘴豆资源对 *A. rabiei* 的抗性鉴定

室内鹰嘴豆资源的抗性鉴定(表1)结果表明:系选 03、216、224 等 3 份资源表现为抗病,占供试资源的 12%;北园春、223、169 品、4533 等 4 份资源表现为中抗,占供试资源的 16%;叙利亚、阿克苏、阿瓦提 2 号等 11 份资源表现为感病,占供试资源的 44%;木垒、美国一号 7、乌什等 7 份资源表现为高感,占供试资源的 28%。田间综合条件下的抗性鉴定结果与室内接种结果并不完全一致,叙利亚、系选 03、200、216 和 4533 等 5 份资源表现为抗性,占供试资源的 20%;木垒、北园春、阿克苏、阿瓦提 2 号等 11 份资源表现为中抗,占供试资源的 44%;169 品、170、171 等 3 份资源表现为敏感,占供试资源的 12%;221、223、185、165 等 6 份资源表现为高感,占

供试资源的 24%。通过室内和田间鹰嘴豆抗 *A. rabiei* 鉴定结果综合分析表明,在 25 份鹰嘴豆供试资源中,系选 03、216 表现稳定抗病;北园春表现稳定中抗;170、171 表现稳定敏感;185、165 表现稳定高感病。

### 2.2 遗传多态性分析

用 15 个多态性引物完成鹰嘴豆基因组 DNA 的 PCR 扩增(表 2),共获得 129 个扩增条带,平均每条引物产生 8.571 条;其中多态性条带共有 67 条,多态性比例为 51.94%,相似系数变化范围在 0.3731 ~ 0.9254,平均为 0.6484。引物 X8、1/34、1/70 扩增条带较多,分别获得 14、13、13 条。引物 E8 和 1/28 扩增片段多态性比率最高,为 100%。引物 1/34 扩增片段多态性比率最低,为 23.08%。引物多态性信息含量变幅 23.08% ~ 100%,平均为 55.623%。其  $N_e$ (有效等位基因数)、Nei's 基因多样性、Shannon's 信息指数分别为 1.5555、0.3172、0.4765,反映了鹰嘴豆种质具有较高的多样性,遗传多样性较丰富。

### 2.3 鹰嘴豆遗传相似性及聚类分析

对扩增结果运用 NTSYSpc 2.10t 软件建立遗传

表 2 引物序列及扩增产物片段大小

Table 2 Primer sequences and amplification fragments size

引物序号 Primer ID	碱基序列(5'-3') Primer sequence	退火 温度(°C) Temperature	扩增条带数 No. of amplified fragments	多态性条带数 No. of polymorphic fragments	扩增片段 大小(kb) Amplified fragments size	多态性 比率(%) Ratio of polymorphic fragments	有效等位 基因数( $N_e$ ) Effective number of alleles	基因 多样性( $H$ ) Nei's gene diversity	信息指数( $I$ ) Shannon's information index
B5	GGGCCACTCA	34	9	7	0.10 ~ 1.00	77.78	1.6335	0.3608	0.5331
B6	GGCTCATGTG	32	5	2	0.10 ~ 0.75	40.00	1.9004	0.4726	0.6653
E8	GGGGTGACGA	34	6	6	0.01 ~ 0.10	100.00	1.8097	0.4259	0.6080
E10	AGCCAGCGAA	32	5	2	0.50 ~ 2.00	40.00	1.9348	0.4828	0.6758
F7	ACGGGCCAGT	34	12	4	0.10 ~ 0.50	33.33	1.3453	0.2058	0.3290
G7	CAGTGCTGTG	32	2	1	0.75 ~ 1.00	50.00	1.9415	0.4849	0.6780
X8	GACGCCACAC	34	14	4	0.25 ~ 0.75	28.57	1.3753	0.2330	0.3765
1/4	CCTGGGTTC	34	8	4	0.50 ~ 0.75	50.00	1.6401	0.3540	0.5192
1/19	GCCCGGTTTA	32	7	5	0.25 ~ 1.00	71.43	1.5600	0.3239	0.4882
1/23	CCCGCCTTCC	36	8	5	0.10 ~ 0.75	62.50	1.2364	0.1807	0.3132
1/28	CCGGCCCTTAA	32	7	7	0.25 ~ 1.00	100.00	1.2374	0.1693	0.2903
1/29	CCGGCCCTTAC	34	9	5	0.25 ~ 0.50	55.56	1.1071	0.0944	0.1920
1/30	CCGGCCCTTAG	34	11	7	0.10 ~ 1.00	63.64	1.7047	0.3854	0.5598
1/34	CCGGCCCCAA	36	13	3	0.25 ~ 1.00	23.08	1.3735	0.2632	0.4281
1/70	GGGCACGCGA	36	13	5	0.10 ~ 0.50	38.46	1.5335	0.3213	0.4903
合计 Total			129	67	0.01 ~ 2.00				
平均 Average			8.571	4.285	0.134	55.623	1.5555	0.3172	0.4765

相似矩阵,用 UPGMA 聚类分析方法构建亲缘关系树状图(图 1)。结果表明,25 份鹰嘴豆品种(系)在相似系数为 0.57 处聚为 2 大类,第 I 类包含 22 份,第 II 类包含 3 份。第 I 类又被分为 4 个小群组,群组 I-1 包含 9 份;群组 I-2 包含 9 份;群组 I-3 包含 185、4400 共 2 份;群组 I-4 包含北园春、171。第 II 类被分为 2 个小群组,群组 II-1 仅包含 165;群组 II-2 包含叙利亚、159。25 份鹰嘴豆资源相似性系数分布在 0.3731~0.9254 之间,平均为 0.6484。其中木垒和 159 之间的遗传相似系数最低,为 0.3731,二者的亲缘关系最远;系选 03 和 223 的遗传相似系数最高,为 0.9254,说明二者亲缘关系最近,遗传背景相似,遗传变异较小。整体来看,本研究采用的鹰嘴豆资源间的遗传多样性存在较大的变异。

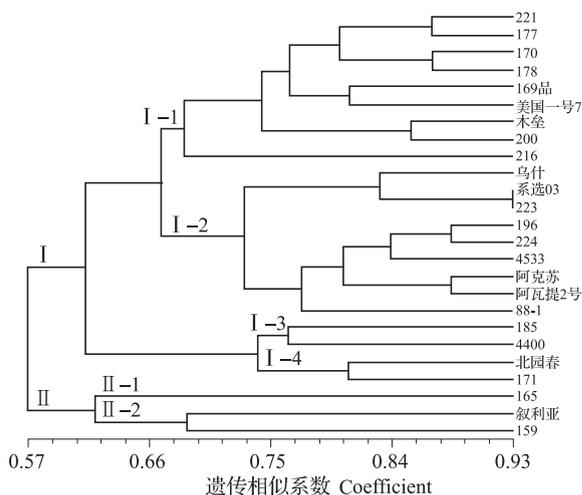


图 1 供试鹰嘴豆资源聚类图

Fig. 1 Dendrogram of tested chickpea varieties (lines)

群组 I-1 中 9 份鹰嘴豆的主要特点是种质类型主要以 Kabuli 为主,其中 2 份来源于农资市场,另外 7 份来源于新疆农科院品种资源所,平均病情指数为 6.07;群组 I-2 中 9 份鹰嘴豆的主要特点是种质类型以 Kabuli 为主,其中 4 份来源于农资市场,3 份来源于新疆农科院品种资源所,2 份来源于木垒县,平均病情指数为 5.08;群组 I-3 的 2 份资源主要特点是种质类型 Kabuli 和 Desi 各 50%,分别来源于新疆农科院品种资源所和木垒县,平均病情指数为 6.59;群组 I-4 的 2 份资源主要特点是种质类型 Kabuli 和 Desi 各 50%,分别来源于农资市场和新疆农科院品种资源所,平均病情指数为 4.94;群组 II-1 的 1 份资源属于种质类型 Kabuli,来源于新疆农科院品种资源所,病情指数为 9.00;群组

II-2 的 2 份资源主要特点是种质类型全为 Kabuli,分别来源于农资市场和新疆农科院品种资源所,平均病情指数为 7.04。

### 3 讨论

鹰嘴豆壳二孢叶枯病为一种真菌性病害,主要影响鹰嘴豆植株地上部分的生长发育,具体危害表现为降低鹰嘴豆子粒的产量和品质。该病病原菌主要通过种子、土壤传播,也可随气流传播,是典型的土传病害,尚无有效的防治农药<sup>[25]</sup>。目前,在环境友好的前提下,防治鹰嘴豆壳二孢叶枯病最经济有效的方法是选育抗病品种<sup>[11]</sup>。本研究通过对 25 份鹰嘴豆资源在田间和室内抗 *A. rabiei* 的鉴定结果表明,其病情指数介于 1.60~9.00,资源间差异较大,其中抗病的(病情指数 $\leq 3.00$ )占供试资源的 8%。其中,系选 03、216,在室内、田间抗病性都表现为抗性。通过 RAPD 遗传多样性分析,二者间的遗传相似系数为 0.4925,遗传差异较为丰富,说明这 2 份材料壳二孢叶枯病抗性的遗传机理可能存在一定的差异,需要通过构建杂交群体,进行全基因组扫描来进行验证。二者可以作为抗病种质资源用于今后鹰嘴豆抗 *A. rabiei* 品种的遗传改良。

本研究中的 25 份鹰嘴豆资源包括系选 03、4400、4533 等新疆主要的栽培品种;木垒、叙利亚、北园春、阿克苏、阿瓦提 2 号、美国一号 7、乌什、88-1 等新疆地方品种;200、216、221、223 是新疆农科院品种资源所搜集的鹰嘴豆材料,在品种资源库中即为代码标记,其种质资源的来源已不清楚,故继续沿用该代码系统。通过 RAPD 技术对供试材料进行遗传相似性分析,相似系数在 0.3731~0.9254 之间,供试鹰嘴豆资源具有较丰富的遗传多态性。但在 25 份鹰嘴豆资源中,仅有 3 份材料在室内、田间条件下均表现为中抗及以上特性;其余供试资源对鹰嘴豆壳二孢叶枯病菌都表现敏感或高感,这说明我国目前较为缺乏抗 *A. rabiei* 的鹰嘴豆种质资源。木垒、美国一号 7、乌什、159 和 178 品系室内接种表现高感,但田间表现中抗,可能与室内外生长发育差异以及对田间综合条件的适应性不同有关。

方差分析表明,25 份鹰嘴豆资源的壳二孢叶枯病抗性和遗传多态性水平之间无显著相关性。由聚类图可看出,系选 03 与乌什遗传相似度很高,遗传相似系数为 0.8657,但抗性鉴定表明,系选 03 为抗性,乌什为高感;171 与北园春的遗传相似度也很

高,遗传相似系数为 0.8060,但抗性鉴定结果表明,171 表现敏感,北园春表现中抗。导致这一结果的原因主要有:RAPD 标记是显性标记,对于研究材料基因型中的杂合子和显性纯合子无法直接区分<sup>[26-27]</sup>,而植物对于真菌病原物的抗性多为多基因控制<sup>[28]</sup>;同时适用于鹰嘴豆的多态性 RAPD 标记的数量也较少,导致遗传多态性数据与抗病性鉴定数据间无显著相关性;另外,不同鹰嘴豆品种对于 *A. rabiei* 的抗性表型受到环境条件的影响也非常大<sup>[29-30]</sup>,部分抗性品种在低温、潮湿的环境条件下也会发生严重的鹰嘴豆壳二孢叶枯病<sup>[21]</sup>,因此对于遗传背景差异较小的鹰嘴豆材料,仅通过 RAPD 标记获得的遗传多态性分析结果还不足以解释基因型与 *A. rabiei* 抗性的相互关系。鹰嘴豆基因组的测序信息近日才完成,今后针对鹰嘴豆壳二孢叶枯病抗性遗传机理方面的研究需要结合基因组信息,综合采用多种分子标记或者研究方法,如 IS-SR 或者 RNA 差显等技术,尽可能的从基因组或者表达组的层面对鹰嘴豆的 *A. rabiei* 抗性进行系统研究。

#### 参考文献

- [1] Singh K B. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. *Field Crops Res*, 1997, 53(1-3): 161-170
- [2] 包兴国,杨蕊菊,舒秋萍. 鹰嘴豆的综合开发与利用[J]. *草业科学*, 2006, 23(10): 34-37
- [3] Singh U, Kherdekar M, Jambunathan R. Studies on desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. The levels of amylase inhibitors, levels of oligosaccharides and *in vitro* starch digestibility [J]. *J Food Sci*, 1982, 47(2): 510-512
- [4] 陈大江. 鹰嘴豆褐斑病的发生及综合防治[J]. *现代农业科技*, 2008(10): 86
- [5] Labrousse F. Anthracnose of the chickpea (*Cicer arietinum*) [J]. *Revue de Pathologie Pathologie Vegetale ed d' Entomologie Agricole de France*, 1930, 27: 174-177
- [6] Labrousse F. Anthracnose of chickpea [J]. *Revue de Pathologie Vegetale et d'Entomologie Agricole de France*, 1931, 28: 226-231
- [7] Khan M S A, Ramsey M D, Corbière R, et al. Ascochyta blight of chickpea in Australia identification pathogenicity and mating type [J]. *Plant Pathol*, 1999, 48(2): 230-234
- [8] 陈垣,朱蕾,郭凤霞,等. 甘肃渭源蒙古黄芪根腐病原菌的分离与鉴定[J]. *植物病理学报*, 2011, 41(4): 428-431
- [9] Galdames R, Mera M. First report of ascochyta blight of chickpea caused by *Ascochyta rabiei* in Chile [J]. *Plant Dis*, 2003, 87(5): 603
- [10] Kaiser W J, Kaiser F W C. First report of Ascochyta blight of chickpea in Latin America [J]. *Plant Dis*, 2000, 84: 102
- [11] 马德成,魏建华,曾凡明,等. 新疆鹰嘴豆褐斑病的发生[J]. *植物检疫*, 2008, 22(4): 245-246
- [12] 于江南,陈燕,曾黎明,等. 鹰嘴豆主要病虫害发生概况及综合防治技术[J]. *新疆农业科学*, 2006, 43(3): 241-243
- [13] Bai J Y, Wang D Y, Li H J, et al. First report of *Ascochyta rabiei* causing Ascochyta blight of *cicer arietinum* in China [J]. *J Plant Pathol*, 2011, 93(4S): 63-89
- [14] 叶梅,马德成,魏建华,等. 新疆鹰嘴豆褐斑病发生初报[J]. *新疆农业科技*, 2008(2): 43-44
- [15] 陈明丽,王兰芬,赵晓彦,等. 普通菜豆基因组学及抗炭疽病遗传研究进展[J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(6): 941-947
- [16] Shahid A A, Husnain T, Riazuddin S. Ascochyta blight of chickpea production of phytotoxins and disease management [J]. *Biotechnol Adv*, 2008, 26(6): 511-515
- [17] Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(22): 6531-6535
- [18] 胡裕清,赵树进. RAPD 技术及其在植物研究中的应用 [J]. *生物技术通报*, 2010(5): 74-77
- [19] 冯敏,刘延琳. RAPD 在酵母分类鉴定与育种研究中的应用 [J]. *食品科学*, 2012, 33(19): 267-270
- [20] 涂敏,王云月,卢宝荣,等. 云南省水稻品种稻瘟病抗性差异与遗传多样性相关研究 [J]. *湖北农业科学*, 2011, 50(6): 1149-1152
- [21] 李雪霞,彭铁成,徐芳,等. 不同抗性香蕉品种遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. *广东农业科学*, 2012(9): 6-8
- [22] Pande S, Siddique K H M, Kishore G K, et al. Ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review of biology, pathogenicity and disease management [J]. *Aust J Agric Res*, 2005, 56: 317-332
- [23] 董星光,田路明,曹玉芬. 梨种质资源对黑星病抗性评价 [J]. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(4): 571-576
- [24] 石庆华,姚正培,张桦,等. 4 种提取鹰嘴豆基因组 DNA 方法的比较 [J]. *新疆农业大学学报*, 2009(1): 64-67
- [25] Singh S K, Ambardar V K. Management of Ascochyta blight in chickpea [J]. *Indian Phytopathol*, 2012, 48(3): 358-359
- [26] Smith J J, Scott-Craig J S, Leadbetter J R, et al. Characterization of random amplified DNA (RAPD) products from *Xanthomonas campestris* and some comments on the use of RAPD products in phylogenetic analysis [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 1994, 3: 135-143
- [27] 宋婉,续九如. 果树种质资源鉴定及 DNA 指纹图谱应用研究进展 [J]. *北京林业大学学报*, 2000, 22(1): 76-80
- [28] 尹小燕,王庆华,杨继良,等. 玉米大斑病抗性基因 *Ht2* 的精细定位 [J]. *科学通报*, 2002, 47(23): 1811-1814
- [29] Bretag T W, MacLeod W J, Kimber R B E, et al. Management of ascochyta blight in chickpeas in Australia [J]. *Australas Plant Pathol*, 2008, 37: 486-497
- [30] Gan Y T, Siddique K H M, MacLeod W J, et al. Management options for minimizing the damage by ascochyta blight (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. *Field Crops Res*, 2006, 97(2-3): 121-134