

# 豇豆抗锈病全基因组关联分析

吴健<sup>1,2</sup>, 汪宝根<sup>2</sup>, 陈小央<sup>3</sup>, 吴晓花<sup>2</sup>, 李潇<sup>1,2</sup>, 韩磊<sup>1,2</sup>, 汪颖<sup>2</sup>, 王尖<sup>2</sup>, 鲁忠富<sup>2</sup>,  
杨易<sup>4</sup>, 张艳<sup>4</sup>, 李国景<sup>2</sup>, 吴新义<sup>2,5</sup>

(<sup>1</sup>浙江农林大学园艺科学学院, 杭州 311300; <sup>2</sup>浙江省农业科学院蔬菜研究所/农业农村部南方豆类蔬菜种质创新与分子育种重点实验室(部省共建), 杭州 310021; <sup>3</sup>浙江省种子管理总站, 杭州 310020; <sup>4</sup>广东省农业科学院蔬菜研究所, 广州 510640; <sup>5</sup>浙江省农业科学院部省共建农产品质量安全危害因子与风险防控国家重点实验室, 杭州 310021)

**摘要:** 豇豆是世界范围内重要的豆类作物, 在我国既是重要的杂粮作物, 也是传统的豆类蔬菜作物。锈病是豇豆生产上三大主要病害之一, 选育抗锈病品种是防治锈病最经济有效的策略, 筛选抗锈病种质、解析其遗传基础是抗锈病育种的关键和前提。本研究对215份豇豆地方品种进行抗锈病精准鉴定, 筛选出40份抗锈病种质。利用重测序技术鉴定了215份种质的基因型, 获得3880169个高质量SNPs和469398个高质量InDels。群体结构分析将之分为4个亚群, 亚群分类与荚长、荚型高度相关。采用全基因组关联分析, 鉴定出10个与锈病抗性显著相关的基因组区段, 分布在7条染色体上。单倍型分析显示各峰值SNP的不同等位变异与锈病抗性高度相关, 且随着有利等位变异的聚合, 群体内抗病材料的比例显著升高。本研究鉴定出10个可能的抗锈病候选基因, 包括含BTB/POZ结构域蛋白基因、LRR受体类丝氨酸/苏氨酸激酶基因、乙烯反应转录因子、交替氧化酶基因等。本研究为豇豆抗锈病分子育种提供了理论指导和基因资源。

**关键词:** 豇豆; 锈病; 关联分析; 重测序

## Genome Wide Association Study of Rust Resistance in Cowpea

WU Jian<sup>1,2</sup>, WANG Baogen<sup>2</sup>, CHEN Xiaoyang<sup>3</sup>, WU Xiaohua<sup>2</sup>, LI Xiao<sup>1,2</sup>, HAN Lei<sup>1,2</sup>, WANG Ying<sup>2</sup>,  
WANG Jian<sup>2</sup>, LU Zhongfu<sup>2</sup>, YANG Yi<sup>4</sup>, ZHANG Yan<sup>4</sup>, LI Guojing<sup>2</sup>, WU Xinyi<sup>2,5</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300; <sup>2</sup>Institute of Vegetable, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Vegetable Legumes Germplasm Enhancement and Molecular Breeding in Southern China (Co-construction by Ministry and Province), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Hangzhou 310021; <sup>3</sup>General Station for Seed Administration of Zhejiang Province, Hangzhou 310020; <sup>4</sup>Institute of Vegetable, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640; <sup>5</sup>State Key Laboratory for Managing Biotic and Chemical Threats to the Quality and Safety of Agro-products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

**Abstract:** Cowpea is one of the most important legume crops worldwide, serving not only as an important coarse cereal but also as a traditional vegetable in China. Rust is one of the three major diseases in cowpea, and developing rust resistance cultivars is the most cost-effective strategy in disease control. Exploring the resistant germplasm and elucidating the genetic basis of rust resistance is the key and prerequisite for cowpea rust resistance breeding. In the current study, 215 cowpea landraces were examined for rust resistance and 40 accessions showing resistance to rust were identified. Through resequencing the 215 accessions, 3880169 high-quality SNPs and 469398 high-quality InDels were found. These accessions were divided into four subgroups

收稿日期: 2024-02-17 网络出版日期: 2024-09-19

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240217002>

第一作者研究方向为豇豆遗传育种, E-mail: 17767083109@163.com

通信作者: 吴新义, 研究方向为豇豆基因组学与分子育种, E-mail: wuxinyi@zaas.ac.cn

**基金项目:** 2022-2024年浙江省农作物种质资源精准鉴定评价任务(2023R23T60D01, 2022R23T60D04); 国家自然科学基金(32172568); 浙江省农业新品种选育重大科技专项(2021C02065-6-3); 山东省重点研发计划(2023LZGCQY012)

**Foundation projects:** 2022-2024 Crop Germplasm Identification Project in Zhejiang Province (2023R23T60D01, 2022R23T60D04); National Natural Science Foundation of China (32172568), Major Science and Technology Project of Plant Breeding in Zhejiang Province (2021C02065-6-3); Key R&D Program of Shandong Province (2023LZGCQY012)

through population structural analysis, and the subgroup division was highly related to pod length and pod type. Total of 10 genomic regions, which significantly associated with rust resistance and distributed on seven chromosomes, were detected by GWAS. Haplotype analysis based on the associated SNPs showed that their alleles were highly correlated to rust resistance. The ratio of resistance accessions increased significantly, when pyramiding increasing number of favored alleles. Ten candidate genes were identified, including *BTB/POZ* domain-containing protein, *LRR* receptor-like serine/threonine-protein kinase, ethylene-responsive transcription factor and alternative oxidase genes. These results will provide the theoretical guidance and gene resources for molecular breeding of rust resistance in cowpea.

**Key words:** cowpea; rust; association study; re-sequencing

豇豆是世界范围内重要的豆科作物, 隶属豆科 (*Fabaceae*) 菜豆族 (*Trib. Phaseoleae* DC.) 豇豆属 (*Vigna Savi*), 起源于非洲, 在非洲和亚洲地区分别被驯化出普通豇豆和长豇豆两个栽培亚种<sup>[1]</sup>。普通豇豆耐旱、耐贫瘠、环境适应性强, 籽粒富含蛋白质, 是非洲撒哈拉地区发展中国家的主要粮食作物, 全球年种植面积约1500万公顷, 总产量约890万吨; 长豇豆嫩荚营养丰富, 位列亚洲十大蔬菜作物, 我国年种植面积约50万公顷, 占世界种植总面积五分之一<sup>[2-3]</sup>。

锈病是豇豆生产上的三大主要病害之一。该病由豇豆属单胞锈菌 (*Uromyces vignae* Barcl) 引起, 最早于1891年在印度被发现<sup>[4]</sup>, 目前已传播至全球各豇豆产区。锈病主要通过空气传播, 夏孢子以吸器侵入植株叶面细胞, 产生大量菌丝并在叶面上积累孢子, 孢子随风扩散, 在短时间内造成锈病大面积流行, 严重时可造成60%以上的产量和经济损失<sup>[5]</sup>。16~22℃的温度以及较高的湿度是锈病生长的最适环境<sup>[6]</sup>。豇豆感染锈病后, 叶面上产生的孢子会破坏和减少宿主的光合表面积, 干扰健康绿色部分的光合活性<sup>[7]</sup>, 同时消耗寄主叶片的光合产物, 导致寄主植株过早落叶和死亡<sup>[8-9]</sup>。

传统的遗传分析显示豇豆抗锈病遗传模式复杂, 如张衍荣等<sup>[10]</sup>发现抗病品种白荚和紫荚对锈菌的抗性各受1个显性基因控制; Chen等<sup>[11]</sup>研究发现抗病品种Dixie Cream对锈菌小种 *American race 1* 的抗性受2个显性基因控制, 而Ryerson等<sup>[12]</sup>的研究发现抗病品种Calico Crowder中至少存在3个基因对

*American race 1* 产生抗性, 包括2个显性基因和1个隐性基因; Uma等<sup>[13]</sup>的研究表明抗病地方品种IC202778的抗性可能受分布于不同位点的多基因控制。

尽管已经发现多个抗锈病种质, 但目前定位的抗锈病基因还很有限。Wu等<sup>[14]</sup>利用QTL扫描的方法从抗病种质南辰豆角中检测到3个抗锈病的QTL, 并将其中1个主效QTL *Ruv2* 精细定位至2号染色体上0.45 cM的遗传距离内<sup>[15]</sup>。Fiscus等<sup>[16]</sup>采用关联分析的方法在普通豇豆种质中鉴定出15个抗锈病显著相关的基因组区段。截止目前, 尚未有豇豆抗锈病基因被克隆的报道。

培育抗病品种是防治锈病最经济有效的方法, 挖掘抗锈病基因、解析抗锈病遗传基础是豇豆抗锈病育种的前提和关键。豇豆在我国栽培历史悠久, 目前全国已经收集国内外豇豆种质3000多份, 但大部分种质的锈病抗性尚未得到系统鉴定。浙江省种子管理总站历年来收集到215份豇豆种质, 本研究拟对其进行抗锈病精准鉴定, 并利用全基因组关联分析挖掘控制锈病抗性的基因组区段/位点, 解析豇豆抗锈病遗传基础, 为豇豆抗锈病分子育种提供基因资源和理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究使用材料为2004-2018年间从浙江省不同地区收集到的215份豇豆地方种质(表1), 包括139份软荚类型长豇豆和76份硬荚类型普通豇豆。

表1 215份豇豆地方种质资源基本信息表

Table 1 General information of 215 cowpea landraces

编号 Code	种质名称 Germplasm names	收集地点 Collection locations	类型 Type	荚型 Pod type	荚长(cm) Pod length	锈病 Rust
1	八月节	杭州淳安县	长豇豆	软荚	19.5	感病
2	红豇豆	杭州建德市	长豇豆	软荚	41.3	感病
3	乌豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	28.0	感病

表 1 (续)

编号 Code	种质名称 Germplasm names	收集地点 Collection locations	类型 Type	荚型 Pod type	荚长(cm) Pod length	锈病 Rust
4	八月豇	宁波宁海县	长豇豆	软荚	21.2	抗病
5	八月更	宁波宁海县	长豇豆	软荚	38.7	感病
6	泥鳅龙豇	浙江省	长豇豆	软荚	26.0	感病
7	摘豇豆	宁波奉化区	普通豇豆	硬荚	13.5	感病
8	迟羹豆	宁波奉化区	长豇豆	软荚	22.1	感病
9	迟梗豆	宁波奉化区	长豇豆	软荚	29.7	抗病
10	红摘豇	宁波奉化区	普通豇豆	硬荚	12.7	抗病
11	摘豇豆	宁波奉化区	普通豇豆	硬荚	15.8	感病
12	八月豇	温州苍南县	长豇豆	软荚	46.0	感病
13	八月豇	温州苍南县	长豇豆	软荚	19.3	感病
14	八月豇豆	金华武义县	长豇豆	软荚	21.7	感病
15	万豇	金华武义县	普通豇豆	硬荚	13.3	抗病
16	豇豆	金华武义县	长豇豆	软荚	63.8	感病
17	寒露豇	金华武义县	长豇豆	软荚	25.8	感病
18	白豇豆	金华武义县	普通豇豆	硬荚	15.3	抗病
19	红豇豆	金华武义县	普通豇豆	硬荚	19.7	感病
20	黑豇豆	金华武义县	长豇豆	软荚	58.3	感病
21	八月豇	金华武义县	长豇豆	软荚	31.0	感病
22	白豇豆	金华武义县	长豇豆	软荚	38.7	感病
23	红八月豇	金华武义县	长豇豆	软荚	17.0	感病
24	八月豇	丽水景宁县	普通豇豆	硬荚	19.2	抗病
25	豇豆	丽水景宁县	长豇豆	软荚	31.2	感病
26	长豇豆	丽水景宁县	长豇豆	软荚	23.5	感病
27	八月豇	丽水景宁县	长豇豆	软荚	23.5	感病
28	豇豆	丽水景宁县	长豇豆	软荚	25.1	抗病
29	八月豇	丽水庆元县	长豇豆	软荚	22.2	感病
30	八月豇	丽水庆元县	长豇豆	软荚	25.3	感病
31	长豇豆	丽水庆元县	长豇豆	软荚	58.2	感病
32	八月豇	衢州开化县	长豇豆	软荚	36.2	感病
33	豇豆	衢州开化县	长豇豆	软荚	35.5	感病
34	豇豆	衢州开化县	长豇豆	软荚	32.2	抗病
35	豇豆	金华磐安县	普通豇豆	硬荚	16.1	抗病
36	八月豇(黑)	金华磐安县	长豇豆	软荚	24.8	感病
37	八月豇(红)	金华磐安县	长豇豆	软荚	21.7	感病
38	红豇豆	宁波奉化区	长豇豆	软荚	39.7	感病
39	八月更(白皮)	台州仙居县	长豇豆	软荚	25.1	感病
40	八月更(花皮)	台州仙居县	长豇豆	软荚	31.3	感病
41	八月更(红皮)	台州仙居县	长豇豆	软荚	31.5	感病
42	泥鳅豇	杭州临安区	长豇豆	软荚	16.8	感病

表 1 (续)

编号 Code	种质名称 Germplasm names	收集地点 Collection locations	类型 Type	荚型 Pod type	荚长(cm) Pod length	锈病 Rust
43	长豇豆	杭州临安区	长豇豆	软荚	51.8	感病
44	花豇豆	温州瑞安市	长豇豆	软荚	41.2	感病
45	八月豇	温州瑞安市	长豇豆	软荚	20.7	感病
46	紫豇豆	嘉兴嘉善县	长豇豆	软荚	20.3	感病
47	绿豇豆	嘉兴嘉善县	长豇豆	软荚	56.2	抗病
48	八月豇	嘉兴嘉善县	长豇豆	软荚	22.8	感病
49	八月豇	嘉兴嘉善县	长豇豆	软荚	67.3	感病
50	八月豇	台州黄岩区	长豇豆	软荚	25.7	感病
51	乌豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	19.5	感病
52	乌豇豆	杭州建德市	普通豇豆	硬荚	11.2	抗病
53	八月豇	杭州建德市	长豇豆	软荚	23.8	感病
54	八月豆	温州瓯海区	长豇豆	软荚	17.3	感病
55	八月豇	温州永嘉县	长豇豆	软荚	21.5	感病
56	豇豆	温州平阳县	长豇豆	软荚	18.5	感病
57	豇豆	温州平阳县	长豇豆	软荚	19.8	感病
58	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	20.2	感病
59	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	23.0	感病
60	八月花豇	温州文成县	长豇豆	软荚	26.5	感病
61	八月豇	温州泰顺县	长豇豆	软荚	28.7	感病
62	八月缸豆	温州瑞安市	长豇豆	软荚	26.8	感病
63	长豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	69.3	感病
64	豇豆	湖州吴兴区	长豇豆	软荚	47.3	感病
65	迟豇豆	绍兴新昌县	长豇豆	软荚	27.5	感病
66	本地豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	69.2	感病
67	土乌豇	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	18.1	感病
68	青八月荚	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	22.7	感病
69	红八月荚	金华浦江县	长豇豆	软荚	21.3	感病
70	野豇豆	金华义乌市	普通豇豆	硬荚	9.8	感病
71	乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	18.1	感病
72	八月豇	衢州常山县	长豇豆	软荚	19.8	感病
73	红饭干豆	衢州江山县	长豇豆	软荚	26.7	感病
74	冷豇豆	衢州江山县	长豇豆	软荚	19.7	感病
75	八月梗	台州黄岩区	长豇豆	软荚	17.2	感病
76	秋豇豆(白玉占)	台州三门县	长豇豆	软荚	27.2	感病
77	红豇(秋红豇)	台州三门县	长豇豆	软荚	27.3	感病
78	秋青豇(泥鳅豇)	台州三门县	长豇豆	软荚	19.7	感病
79	红细豆	台州三门县	普通豇豆	硬荚	19.5	感病
80	八月豇	台州天台县	长豇豆	软荚	24.5	感病
81	八月豇	丽水莲都区	长豇豆	软荚	35.7	感病

表 1 ( 续 )

编号 Code	种质名称 Germplasm names	收集地点 Collection locations	类型 Type	荚型 Pod type	荚长(cm) Pod length	锈病 Rust
82	八月豇(白皮黑籽)	丽水青田县	长豇豆	软荚	23.5	感病
83	红豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	19.7	感病
84	冬豇豆(红)	丽水松阳区	长豇豆	软荚	25.7	感病
85	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	19.5	感病
86	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	15.5	抗病
87	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	15.8	抗病
88	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	15.3	抗病
89	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	17.5	感病
90	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	14.5	抗病
91	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	12.1	感病
92	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	17.1	抗病
93	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	20.2	抗病
94	豇豆	浙江省	普通豇豆	硬荚	30.1	抗病
95	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	20.3	抗病
96	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	78.2	感病
97	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	43.2	感病
98	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	77.0	感病
99	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	46.7	感病
100	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	73.0	感病
101	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	73.0	感病
102	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	41.7	抗病
103	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	80.2	感病
104	豇豆	浙江省	长豇豆	软荚	72.8	感病
105	乌豇豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	15.8	感病
106	白乌豇	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	15.5	抗病
107	红豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	16.5	感病
108	珠豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	16.6	抗病
109	泥鳅荚	金华浦江县	长豇豆	软荚	24.6	感病
110	八月白豇	温州文成县	普通豇豆	硬荚	22.3	抗病
111	宁波绿带豆	宁波江北区	长豇豆	软荚	75.7	感病
112	八月豇	温州泰顺县	长豇豆	软荚	21.2	感病
113	八月红豇	温州文成县	长豇豆	软荚	32.8	感病
114	饭豇	金华兰溪市	普通豇豆	硬荚	21.2	感病
115	八月白豇	温州文成县	长豇豆	软荚	27.3	感病
116	八月白豇	温州文成县	长豇豆	软荚	23.5	感病
117	八月红豇	温州文成县	长豇豆	软荚	49.2	感病
118	八月豇	温州文成县	长豇豆	软荚	36.0	感病
119	乌豇豆	温州永嘉县	长豇豆	软荚	57.5	感病
120	泥鳅豇	杭州临安区	长豇豆	软荚	35.5	感病

表 1 (续)

编号 Code	种质名称 Germplasm names	收集地点 Collection locations	类型 Type	荚型 Pod type	荚长(cm) Pod length	锈病 Rust
121	矮脚短荚红豆	绍兴诸暨市	普通豇豆	硬荚	21.0	感病
122	八月花豇	温州文成县	长豇豆	软荚	24.8	抗病
123	花更	台州仙居县	长豇豆	软荚	26.6	感病
124	鳗更	台州仙居县	长豇豆	软荚	26.5	感病
125	红皮八月豇	台州仙居县	长豇豆	软荚	26.3	感病
126	乌豇豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	16.8	感病
127	白乌豇	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	18.6	感病
128	红豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	18.5	感病
129	珠豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	18.2	抗病
130	乌豇	金华磐安县	普通豇豆	硬荚	22.7	感病
131	珠豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	18.2	抗病
132	红咀燕	杭州淳安县	长豇豆	软荚	66.5	感病
133	乌豇豆(小)	绍兴上虞区	普通豇豆	硬荚	20.8	感病
134	乌豇豆(大)	绍兴上虞区	普通豇豆	硬荚	20.0	感病
135	乌豇豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	20.2	感病
136	一点红	台州仙居县	长豇豆	软荚	30.5	感病
137	冬豇	丽水青田县	长豇豆	软荚	26.1	抗病
138	宁波绿带	宁波江北区	长豇豆	软荚	71.5	感病
139	秋豇	台州温岭市	普通豇豆	硬荚	19.5	感病
140	黑豇豆	台州温岭市	普通豇豆	硬荚	22.2	感病
141	斑豇豆	丽水松阳县	长豇豆	软荚	30.3	感病
142	十月豇(红)	丽水松阳县	长豇豆	软荚	27.2	抗病
143	泥鳅豇	杭州临安区	长豇豆	软荚	32.8	感病
144	八月红豇	温州文成县	长豇豆	软荚	22.0	感病
145	八月豇(红)	丽水遂昌县	长豇豆	软荚	26.7	感病
146	乌豇豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	21.5	感病
147	珠豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	18.0	抗病
148	八月白豇	温州文成县	长豇豆	软荚	24.7	抗病
149	八月豇(白2)	丽水遂昌县	长豇豆	软荚	24.8	感病
150	白八月豇(1)	丽水遂昌县	长豇豆	软荚	27.2	感病
151	白乌豇	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	18.9	感病
152	缸豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	14.7	抗病
153	箬横长豇豆	台州温岭市	长豇豆	软荚	55.8	感病
154	庵东乌豇豆	宁波慈溪市	普通豇豆	硬荚	19.3	感病
155	松门豇豆	台州温岭市	普通豇豆	硬荚	22.7	感病
156	秋豇豆	金华永康市	普通豇豆	硬荚	18.5	感病
157	豇豆	金华永康市	普通豇豆	硬荚	21.5	感病
158	八月豇(菡湖)	宁波奉化区	长豇豆	软荚	58.2	感病
159	八月豇(宁海)	宁波宁海县	长豇豆	软荚	64.5	感病

表 1 ( 续 )

编号 Code	种质名称 Germplasm names	收集地点 Collection locations	类型 Type	荚型 Pod type	荚长(cm) Pod length	锈病 Rust
160	矮脚短荚豇豆	绍兴诸暨市	长豇豆	软荚	64.8	感病
161	野生豇豆	杭州萧山区	普通豇豆	硬荚	22.5	感病
162	红咀燕 16	温州泰顺县	长豇豆	软荚	51.7	感病
163	红咀燕 23	衢州常山县	长豇豆	软荚	54.0	感病
164	红咀燕 158	杭州淳安县	长豇豆	软荚	61.2	感病
165	红咀燕 185	杭州临安区	长豇豆	软荚	46.8	感病
166	红咀燕 197-1	温州文成县	长豇豆	软荚	61.8	感病
167	红咀燕 197-2	杭州市	长豇豆	软荚	46.7	感病
168	红咀燕 676	衢州常山县	长豇豆	软荚	40.8	感病
169	红咀燕 1128	台州三门县	长豇豆	软荚	51.5	感病
170	乌豇(磐安)	金华磐安县	普通豇豆	硬荚	20.5	感病
171	泥鳅荚(浦江)	金华浦江县	长豇豆	软荚	23.9	感病
172	红豆(浦江)	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	17.2	感病
173	黑赤豆	金华浦江县	普通豇豆	硬荚	10.8	感病
174	八月豇(泰顺)	温州泰顺县	长豇豆	软荚	27.5	感病
175	花更	台州仙居县	长豇豆	软荚	41.0	感病
176	鳊更	台州仙居县	长豇豆	软荚	25.7	感病
177	红皮八月豇	台州仙居县	长豇豆	软荚	35.3	感病
178	乌豇豆(永嘉)	温州永嘉县	长豇豆	软荚	52.2	感病
179	九月乌豇	温州文成县	长豇豆	软荚	35.1	感病
180	一点红	台州仙居县	长豇豆	软荚	25.0	感病
181	秋豇(平湖)	嘉兴平湖市	长豇豆	软荚	59.5	感病
182	红咀燕	杭州临安区	长豇豆	软荚	48.3	感病
183	特长豇豆	杭州萧山区	长豇豆	软荚	69.0	感病
184	泥鳅豇	杭州萧山区	长豇豆	软荚	38.2	感病
185	长豇豆-带豆	宁波奉化区	长豇豆	软荚	76.8	感病
186	余姚长豇豆	宁波余姚市	长豇豆	软荚	59.7	感病
187	临山长豇豆	宁波余姚市	长豇豆	软荚	66.0	感病
188	镇海豇豆	宁波镇海区	长豇豆	软荚	50.0	感病
189	梗豆	台州临海市	长豇豆	软荚	62.0	感病
190	庵东乌豇豆	宁波慈溪市	长豇豆	软荚	67.5	感病
191	地豇豆	绍兴上虞区	长豇豆	软荚	62.3	感病
192	塔山红豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.3	抗病
193	郭宅乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	27.8	感病
194	沈坎头红豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.0	抗病
195	郭宅大粒红豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.5	抗病
196	东江红豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.8	抗病
197	樟村乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	13.0	感病
198	天法红豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.6	抗病

表1(续)

编号 Code	种质名称 Germplasm names	收集地点 Collection locations	类型 Type	荚型 Pod type	荚长(cm) Pod length	锈病 Rust
199	斯村乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	15.0	感病
200	塔山乌豇豆-1	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	18.5	感病
201	塔山乌豇豆-2	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	19.2	感病
202	塔山白豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	19.0	感病
203	上山红豇豆1	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	20.9	抗病
204	上山乌豇豆2	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	19.7	感病
205	胡村乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	18.3	感病
206	天秀乌豇豆1	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	19.3	感病
207	天秀乌豇豆2	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	18.5	感病
208	三联红豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.8	抗病
209	三单乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	16.7	感病
210	后山坞红豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.9	抗病
211	塔山乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	17.5	感病
212	佐村乌豇豆	金华东阳市	普通豇豆	硬荚	20.0	感病
213	左库红豇豆	丽水缙云县	普通豇豆	硬荚	21.1	抗病
214	泥鳅豇	杭州富阳区	长豇豆	软荚	25.1	感病
215	乌豇豆	杭州桐庐县	长豇豆	软荚	20.8	感病

## 1.2 抗锈病表型鉴定

采用Wu等<sup>[15]</sup>离体鉴定技术对215份种质进行抗锈病精准鉴定。接种用孢子为*Auv-HZ*小种,从杭州地区分离纯化得到。首先从杭州地区采集带有典型锈病症状的新鲜叶片,用ddH<sub>2</sub>O将孢子清洗后稀释至约每毫升1个孢子浓度制成孢子悬浮液,接种在感病品种之豇282叶片上,置于湿润滤纸上在人工气候室培养,设置条件为24℃光照12h,20℃黑暗12h。接种7~10d后,当叶片上出现明显孢子堆时,用牙签挑取孢子转移至新鲜叶片上继续培养;如此反复操作,经过3代以上的分离,获得纯化的锈病生理小种。该锈病小种一直保存在新鲜叶片上备用。

215份种质种子在穴盘上播种,每份材料种植10棵苗,生长2周后取幼嫩的真叶进行锈病接种鉴定,每份种质取10片干净的叶片放置于垫有两层湿润滤纸的培养皿(直径15cm)内。接种前先对锈病孢子进行扩繁,收集孢子后稀释成每毫升含有10<sup>5</sup>个孢子的悬浮液。每片叶子接种20μL单胞锈菌悬液,放置于人工气候室内培养,与上述条件一致。接种14d后,对叶片症状进行调查并拍照保存,参照Wu等<sup>[15]</sup>标准进行抗感分级调查,其中叶片无症

状或有孢子斑点但不散发孢子粉的为抗病类型,接种叶片上出现孢子堆且散发孢子的为感病类型。为确保实验准确性,所有材料第一次鉴定后,选取抗病种质进行第二次重复鉴定。

## 1.3 DNA提取和重测序

每份材料取生长3周的幼苗嫩叶,采用CTAB法提取基因组DNA,使用TruSeq® Nano DNA文库制备试剂盒(Illumina Scientific Co., Ltd, 上海)构建测序文库。取至少1μg DNA,使用Covaris M220超声仪(Covaris, LLC, Woburn)进行随机打碎,随后对片段进行末端修复,添加接头,然后在2%的琼脂糖胶上电泳,分离回收插入长度为400~500bp的目标片段进行纯化和PCR富集,使用TBS380 Picogreen仪器(Turner Biosystems, Sunnyvale)进行文库质量检查,最后利用BGISEQ-500平台(华大基因,深圳)进行测序。

获得测序数据后,先去除低质量序列(Phred quality score of < 30),随后用BWA软件(<http://bio-bwa.sourceforge.net/>)将高质量序列(Clean reads)(数据存储于NGDC project accession: CNP0005603)与豇豆参考基因组G98(<http://210.22.121.250:8888/abgd/homePage>)进行比对,再使用SAMtools软件将



比对完的文件转换为 BAM 文件,最后使用 GATK UnifiedGenotyper 函数将有效的 BAM 文件用于 SNP calling 和 InDel calling (<http://www.broadinstitute.org/gatk/>)。采用最小等位基因频率(MAF, minor allele frequency) > 0.05, 缺失率 < 0.2 的标准过滤 SNP 和 InDel, 获得的高质量 SNP 和 InDel 用于后续 GWAS 分析。

#### 1.4 群体结构分析

主成分分析采用 EIGENSOFT (v. 7.2.1) 软件 (<https://anaconda.org/bioconda/eigensoft>), 系统进化树分析采用 MEGA 7 软件 (<https://www.megasoftware.net/>), 群体结构分析采用 admixture (v. 1.23) 软件 (<http://dalexander.github.io/admixture/>)。

#### 1.5 关联分析

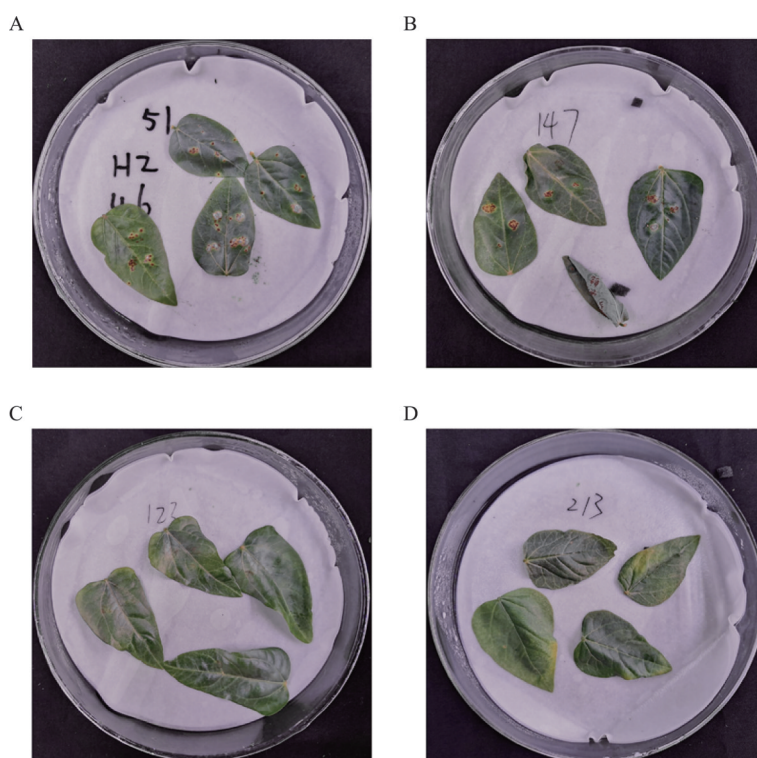
抗锈病关联分析使用 GEMMA (v.0.94.1) 软件 (<https://github.com/genetics-statistics/GEMMA/releases>), 采用高效混合模型 EMMAX (Efficient mixed model association expedited) 程序并考虑群体结构。显著性阈值采用 Bonferroni 校正, 即计算  $P = 0.05/\text{标记总个数}$ , 小于该  $P$  值的即为与性状显著相关的 SNP。采用 PopLDdecay (v. 3.27) 软件 (<https://github.com/>

BGI-shenzhen/PopLDdecay) 计算成对 SNPs 之间的连锁不平衡衰减距离, 设置参数为“-MaxDist 500 -MAF 0.05 -Miss 0.2”。位于同一个连锁不平衡衰减距离内的所有显著性 SNP 视为一个与目标性状相关的基因组区段或信号。根据群体的连锁不平衡衰减距离, 显著位点上下游衰减距离范围内的基因均为该信号的候选基因。锈病表型及单倍型相关数据分析采用 Original 9.0 软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 215 份种质抗锈病表现

通过室内离体抗锈病鉴定 (图 1), 本研究从 215 份种质中筛选到 40 份抗锈病种质 (表 1, 图 1、图 2), 叶片清爽, 无孢子散发。抗病种质中, 30% (12 份) 为软荚类型长豇豆, 其嫩荚长为 15.5~56.2 cm, 只有两份种质 (编号为 47、102) 的荚长超过 40 cm, 可以直接用于育种中间材料; 70% (28 份) 为硬荚类型 (图 2B), 说明普通豇豆中保存着较多的抗锈病基因, 未来长豇豆抗锈病育种可以从普通豇豆中引入优异抗病基因。

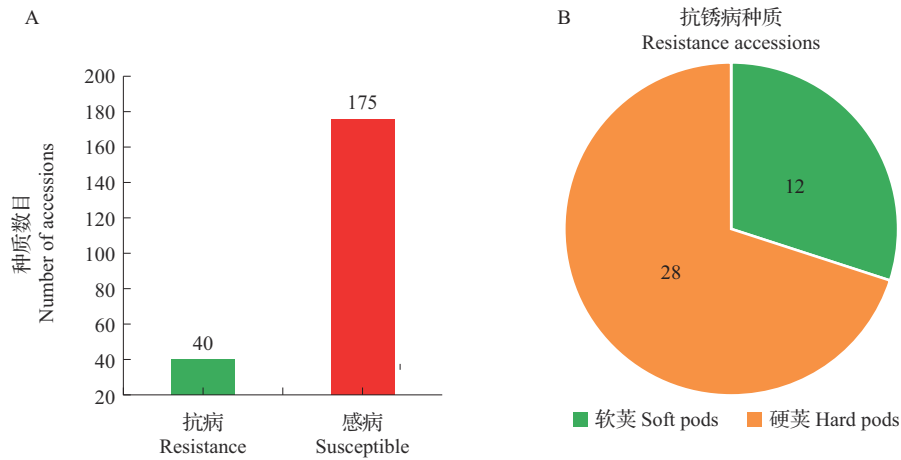


A, B 为典型感病表型; C, D 为典型抗病表型

A, B: The typical susceptible phenotype; C, D: The typical resistant phenotype

图 1 锈病离体鉴定代表性照片

Fig. 1 The representative photos of detached leaf assay for rust resistance



A: 抗病种质和感病种质个数统计; B: 不同豆类类型中抗病种质分布数目

A: The statistics of rust resistance and susceptible accessions; B: The number of the rust resistance accessions among different pod type cowpea

图2 抗锈病鉴定结果统计

Fig. 2 Statistics on the identification results of rust resistance

## 2.2 基因型鉴定结果

通过对215份种质进行基因组重测序,共产生5851.7 Gb的原始数据,去除接头序列和低质量序列后,生成5805.9 Gb的高质量序列,平均测序深度为43.03 $\times$ 。通过比对G98基因组,发现不同材料的比对率在98.5%~99.9%之间。通过对215份种质进行基因型鉴定,共鉴定出15507986个SNPs和4280901个InDels,按照豇豆基因组大小为620 Mb进行计算,基因组上SNPs分布密度为25.0个/kb,InDels分布密度为6.90个/kb。根据最小等位基因频率大于0.05、缺失率小于0.2的标准过滤后,最终获得3880169个高质量SNPs和469398个高质量InDels。

## 2.3 群体结构分析结果

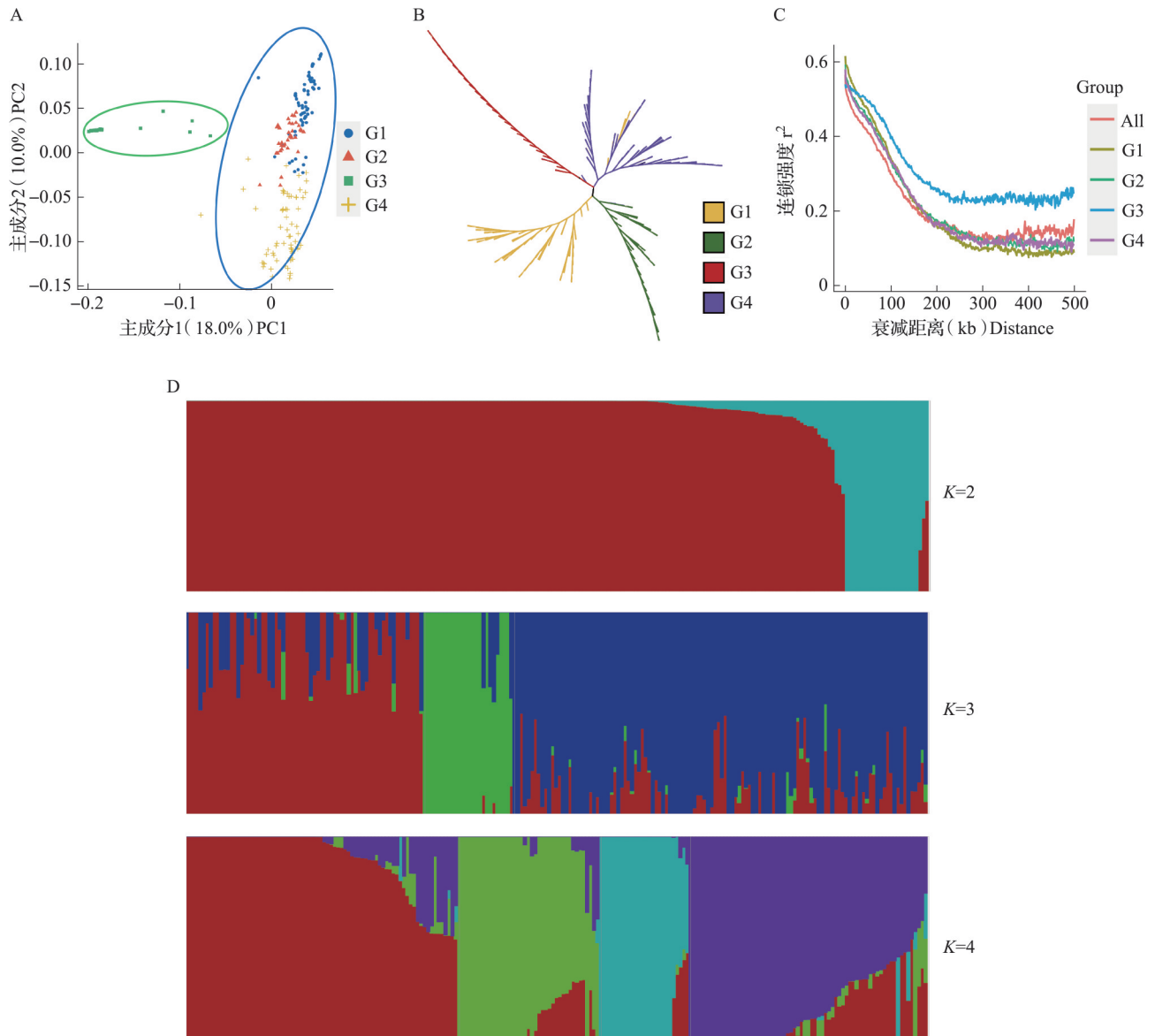
主成分分析显示215份种质大致分为2个类群,类群I包含26份种质,其中21份为硬荚种质,5份为软荚种质,类群I种质的荚长均较短,平均荚长为17.97 cm;类群II包含189份种质,其中134份种质为软荚种质,其荚长变异幅度为15.5~80.2 cm,55份为硬荚种质,荚长较短,平均荚长只有19.04 cm(图3A)。群体结构分析和系统进化树分析进一步将这些种质分为4个亚群(G1~G4),其中亚群I(G1)含有79份种质,平均荚长为47.1 cm,大部分(94.9%)为软荚类型;亚群II(G2)含有41份种质,平均荚长为19.32 cm,其中38份为硬荚种质;亚群III(G3)含有26份种质,和G2一致,以硬荚为主(21份),荚长较短,平均荚长为17.97 cm;亚群IV(G4)含有69份种质,平均荚长为24.03 cm,81.1%为软荚种质(图3B、D)。综上,软荚类型的长豇豆种质,荚长较长的划分为G1,荚长较短的划分为G4,

而硬荚类型的普通豇豆,大部分划分为G2和G3,群体结构与荚长、荚型高度一致。连锁不平衡衰减距离分析显示,G1到G4的衰减距离分别为115.5 kb、112.5 kb、185.5 kb、122.5 kb,群体水平上平均衰减距离为108.5 kb(图3C)。

## 2.4 锈病抗性全基因组关联分析

利用过滤后的3880169个高质量SNPs对锈病抗性进行全基因组关联分析,采用Bonferroni校正,以 $P$ 值小于 $1.29 \times 10^{-8}$ [ $0.05/\text{总标记个数}(3880169)$ ]为显著性阈值,同时结合群体水平上连锁不平衡衰减距离,将位于108.5 kb范围内的所有显著性位点作为一个GWAS信号,共鉴定出10个与锈病抗性显著相关的基因组区段,分别位于第1、2、3、4、9、10、11号染色体上(表2,图4)。

根据峰值SNP在群体中的基因型数据,进一步分析了不同位点的单倍型效应(图5)。在10个位点上,携带有利等位变异HapII的种质中抗病材料比例从79%~100%不等,远大于不携带有利等位变异HapI的种质中抗病材料比例。除CR4.1外,其余9个位点上均出现即使携带有利等位变异,依然有部分种质表现感病的现象,说明豇豆抗锈病遗传基础复杂。单个材料携带有利等位变异的数目从0到10个不等,其中有180份材料携带有利等位变异数目为0,有1份材料(编号为18)含有所有的有利等位变异。随着携带有利等位变异数目的增多,该类型内抗病种质的比例也逐渐增多(图6),说明聚合较多的有利等位变异,可以增加种质抗锈病能力。



A: 主成分分析,绿色圆圈代表类群I,蓝色圆圈代表类群II,G1~G4为划分的4个亚群; B: 系统进化树分析; C: 连锁不平衡分析; D: 群体结构分析,K=4时,红色、绿色、蓝色和紫色部分分别代表G1、G2、G3、G4亚群

A: The principal component analysis, the green circle represents Cluster I, and the blue circle represents Cluster II, G1~G4 are the corresponding 4 subpopulations; B: Phylogenetic tree analysis; C: LD decay analysis; D: Population structure analysis, at K=4, the red part, green part, blue part and purple part represents the G1, G2, G3 and G4 subpopulation, respectively

图3 215份种质的群体结构和遗传多样性分析

Fig. 3 Population structure and genomic diversity of 215 accessions

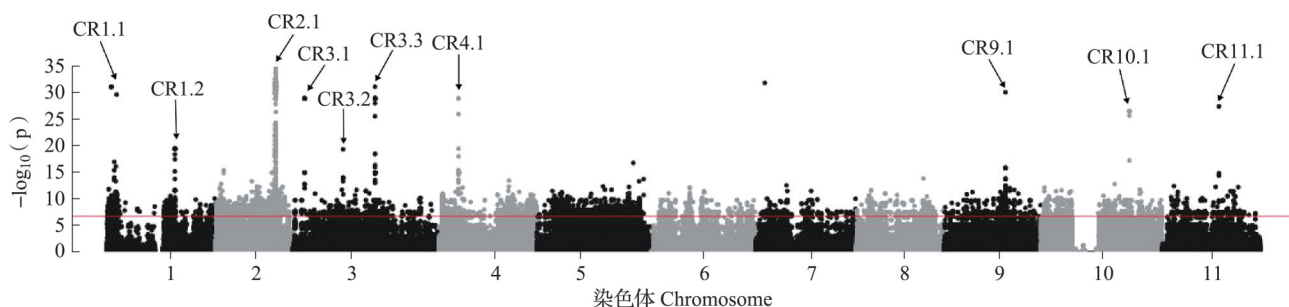
表2 与锈病抗性显著相关的基因组区段信息

Table2 The information for the genomic regions significantly associated with rust resistance

GWAS 信号 GWAS signals	染色体 Chromosomes	区段(bp) Interval	峰值 SNP 位置(bp) Peak SNP position	峰值 SNP-log10(p) Peak SNP LOD	有利等位变异 Favored allele	非有利等位变异 Non-favorable alleles
CR1.1	1	2074002~2175114	2128528	31.21	A	G
CR1.2	1	33216937~33258523	33220385	19.44	G	A
CR2.1	2	29269121~29368973	29319104	34.70	C	T
CR3.1	3	5760989~5761591	5760989	28.99	R	G
CR3.2	3	24605693~24646820	24605830	19.33	T	C

表 2 (续)

GWAS 信号 GWAS signals	染色体 Chromosomes	区段(bp) Interval	峰值SNP位置(bp) Peak SNP position	峰值SNP-log10(p) Peak SNP LOD	有利等位变异 Favored allele	非有利等位变异 Non-favorable alleles
CR3.3	3	40126199~40204886	40166606	28.99	T	C
CR4.1	4	9651930~9655112	9651959	28.99	C	T
CR9.1	9	29733528~29759624	29752656	30.15	A	G
CR10.1	10	43061070~43155660	43106420	26.57	G	T
CR11.1	11	28064818~28074977	28065211	27.48	R	G



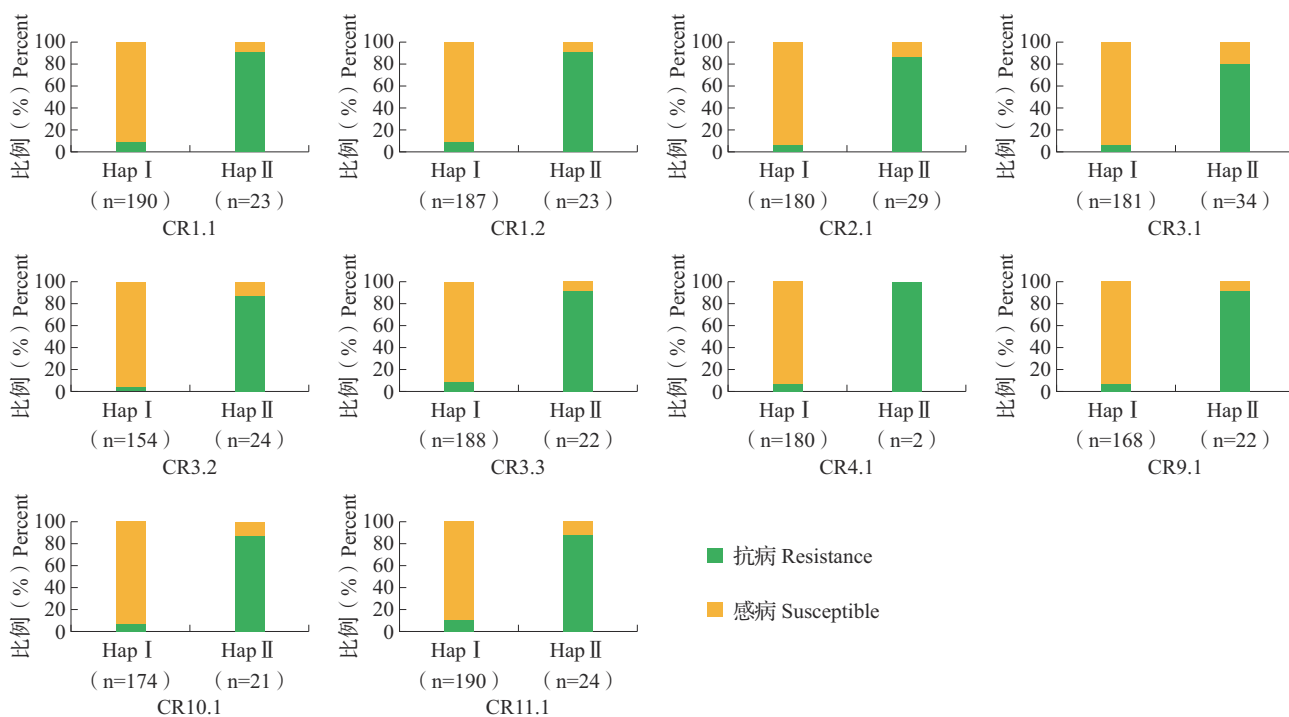
染色体 Chromosome

红色线为显著性阈值

The red line in the map indicated the significant threshold

图 4 锈病抗性关联分析的曼哈顿图

Fig. 4 Manhattan plot for the GWAS results of rust resistance



n 代表携带该单倍型的种质个数

n indicates the number of the accessions harboring this haplotype

图 5 不同位点上单倍型效应分析

Fig. 5 Haplotype effect analysis on the different significant loci

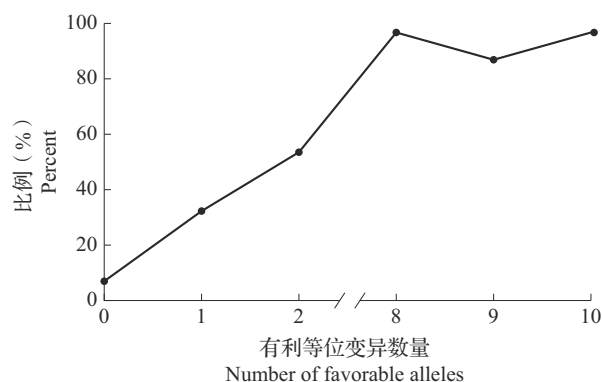


图6 有利等位变异数量与该类型中抗病材料比例的相关性

Fig. 6 The correlation between the number of the favorable alleles pyramided and the corresponding proportion of the resistant accessions

## 2.5 抗锈病候选基因分析

根据G98参考基因组的注释信息,选择108.5 kb作为群体连锁不平衡衰减距离,将GWAS信号上下游108.5 kb范围内的预测基因均作为该信号的候选基因,针对10个GWAS信号共鉴定出221个候选基因。进一步根据基因注释信息,结合文献检索,有

10个基因可能作为抗锈病候选基因(表3),其中CR1.1和CR11.1的候选基因为未知蛋白基因,其他候选基因包括抗病蛋白基因、LRR受体激酶基因、乙烯反应转录因子、交替氧化酶基因等,为抗锈病基因克隆提供了线索。

表3 候选基因信息

Table 3 The candidate genes for the GWAS signals

GWAS 信号 GWAS signal	候选基因 Candidate gene	起始(bp) Start	结束(bp) End	注释信息 Annotation information
CR1.1	<i>VuG9801G002000</i>	2126041	2126381	未知蛋白 PHAVU_005G017300g
CR1.2	<i>VuG9801G009930</i>	33241170	33244258	BTB/POZ 和 MATH 结构域相关蛋白
CR2.1	<i>VuG9802G011980</i>	29318334	29320764	交替氧化酶
CR3.1	<i>VuG9803G006780</i>	5769598	5770643	乙烯响应转录因子 ABR1
CR3.2	<i>VuG9803G019070</i>	24683002	24686137	LRR 受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Atlg51810
CR3.3	<i>VuG9803G022870</i>	40119055	40125300	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 PP2A-2 催化亚基
CR4.1	<i>VuG9804G007820</i>	9621410	9623804	内切-1,3(4)- $\beta$ -葡聚糖酶 ARB_01444
CR9.1	<i>VuG9809G014060</i>	29849443	29855335	运输蛋白颗粒复合物亚基 2
CR10.1	<i>VuG9810G011300</i>	43092541	43098589	抗病蛋白 At3g14460
CR11.1	<i>VuG9811G009710</i>	28058558	28059304	未知蛋白 DEO72_LG3g1050

## 3 讨论

发掘具备特异抗病、抗虫、抗逆能力的作物种质资源并培育资源高效的新品种,可以大幅减少农药、水肥使用量,促进农业健康发展<sup>[17]</sup>。如美国利用来自中国的抗赤霉病种质资源苏麦3号培育出抗赤霉病品种,基本解决了小麦赤霉病的危害<sup>[18]</sup>;利用大豆地方品种北京小黑豆(含抗性基因 *rhg1* 和 *Rhg4*),培育出系列抗胞囊线虫病品种,挽救了美国大豆生产<sup>[19]</sup>,成为种质资源高效利用的成功案例。

本研究对215份来自浙江省的豇豆地方种质进行抗锈病精准鉴定,筛选出40份具有免疫水平的抗病种质,为豇豆抗锈病育种提供了宝贵的抗源材料。在这些抗病种质中,普通豇豆种质所占比例(70%)远大于长豇豆种质(30%),这与豇豆传播、驯化的进程密切相关,即豇豆从干旱的非洲传播至气候较为湿润的亚洲时,由于环境适应性逐步丢失了部分抗病、抗逆性<sup>[20-22]</sup>。

随着多个高质量豇豆基因组的组装完成<sup>[22-24]</sup>,豇豆研究也进入了后基因组时代,利用GWAS等技

术快速解析重要性状遗传基础成为现实。本研究利用重测序技术鉴定了215份豇豆地方种质的基因型,结合其抗锈病表型,鉴定出10个与豇豆抗锈病显著相关的基因组区段,在全基因组水平上揭示了浙江地方豇豆种质抗锈病遗传基础。通过比较基因组学分析,发现本研究鉴定出的10个抗锈病基因组区段与Fiscus等<sup>[16]</sup>报道的15个抗锈病相关基因组区段无共线性关系。Fiscus等<sup>[16]</sup>的研究使用的主要是来自非洲地区的普通豇豆种质,基因型鉴定使用含51128个SNP的Illumina Cowpea iSelect Consortium Array芯片<sup>[25]</sup>,与重测序相比标记密度较低,这两方面差异可能是导致两个独立研究未出现共定位QTL的主要原因。这也说明豇豆抗锈病遗传基础非常复杂,而本研究中鉴定出的抗锈病基因可能为新的抗病基因。进一步分析发现,CR2.1(Chr.2: 29269121~29368973)与已知的抗锈病主效QTL *Ruv2*(Chr.2: 28998379~29186058)距离只有83.063 kb,位于同一个LD衰减模块内,因此,二者可能为同一个QTL。单倍型效应分析显示10个抗锈病相关峰值SNP的不同等位变异与抗感表型高度相关,且随着有利等位变异的聚合,群体中抗病比例显著提高,这与Wu等<sup>[20]</sup>豇豆抗枯萎病的研究结果一致,说明利用分子标记聚合多个抗锈病基因,是未来抗锈病育种的主要方向。

目前在作物上已经克隆了数十个抗锈病基因,大部分为典型的R基因,如木豆上的*CcRpp1*<sup>[26]</sup>,小麦上的*Sr33*<sup>[27]</sup>、*Sr35*<sup>[28]</sup>、*Sr50*<sup>[29]</sup>等,这类基因可以对特定的或多个锈菌生理小种提供抗性;还有一些提供非小种专化抗性(Non-race-specific resistance)的基因,如大麦中编码受体激酶类似蛋白的*Rpg1*<sup>[30]</sup>,小麦中编码预测ABC转运蛋白的*Lr34*和己糖转运蛋白的*Lr67*<sup>[31-32]</sup>,这类基因在生产上可以对几乎所有锈菌生理小种提供持久稳定的抗性。本研究所鉴定出的抗锈病候选基因,几乎没有典型的含NBS-LRR结构域的R基因。如CR1.2的候选基因*VuG9801G009930*编码一个含BTB/POZ和MATH结构域的蛋白,这类基因在本氏烟草中可以引起超敏反应、启动效应子激发的免疫反应和基础防卫反应<sup>[33]</sup>。CR2.1的候选基因*VuG9802G011980*编码一个交替氧化酶蛋白基因*AOX*,*AOX*能够间接控制过氧化氢、超氧化物、一氧化氮等重要信号分子的合成,因此它有助于应激信号传导,在植物应对生物和非生物胁迫时起着重要作用<sup>[34]</sup>。CR3.1的候选基因*VuG9803G006780*编码一个乙烯反应转录因子,

这类转录因子在植物发育和胁迫反应中扮演着重要角色,可以调控细胞程序性死亡,启动植物抗病能力<sup>[35]</sup>。CR3.2的候选基因*VuG9803G019070*编码一个LRR受体类似的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,这类激酶通过丝氨酸/苏氨酸磷酸化调节细胞间信号转导,在植物抗病反应和发育过程中具有重要功能<sup>[36]</sup>。CR3.3的候选基因*VuG9803G022870*编码一个丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶*PP2A-2*催化亚基,通过调节信号转导参与植物对病原菌的防卫反应<sup>[37]</sup>。CR4.1的候选基因*VuG9804G007820*编码一个内β-1,3-葡聚糖酶,通过释放植物防御反应的诱导因子,参与植物抗病反应<sup>[38]</sup>。CR9.1的候选基因*VuG9809G014060*编码一个运输蛋白质颗粒复合物亚基蛋白,这类基因调节植物内膜内的囊泡运输,参与病原菌识别、信号转导、活性氧生成等,是植物免疫反应的先决条件<sup>[39]</sup>。从上述候选基因功能注释信息来看,本研究鉴定出的抗锈病候选基因可能大都参与基础免疫反应,对锈病具有广谱、持久的抗性。因此,本研究为我国豇豆抗锈病育种提供了丰富的抗源材料,也为抗锈病分子育种提供强有力的遗传工具和理论指导,为豇豆育种和产业的绿色发展奠定了坚实基础。

#### 参考文献

- [1] Herniter I A, Muñoz-Amatriain M, Close T J. Genetic, textual, and archeological evidence of the historical global spread of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Legume Science*, 2020, 2: 57
- [2] 中华人民共和国农业农村部. 2006年全国各地蔬菜播种面积和产量. *中国蔬菜*, 2008(1): 65  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. The vegetables sowing areas and yield across the country in 2006. *China Vegetables*, 2008(1): 65
- [3] 中华人民共和国农业农村部. 2005年全国各地蔬菜播种面积和产量. *中国蔬菜*, 2007(1): 40-41  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. The vegetables sowing areas and yield across the country in 2005. *China Vegetables*, 2007(1): 40-41
- [4] Barclay A. Additional *Uredineae* from the neighbourhood of Simla. *Journal of the Asiatic Society of Bengal*, 1891, 60: 211-230
- [5] Tagoe S M A, Mensah T A, Asare A T. Effect of rust (*Uromyces Phaseoli* Var. *Vignae*) infection on photosynthetic efficiency, growth and yield potentials of cowpea (*Vigna Unguiculata* L. Walp) in an open field system. *Global Journal of Science Frontier Research*, 2020, 20(2): 49-61
- [6] 陈伟达, 刘琴, 陈禅友. 豇豆锈病研究进展. *江汉大学学报: 自然科学版*, 2016, 44(6): 509-513

- Chen W D, Liu Q, Chen C Y. Current status of cowpea rust research. *Journal of Jiangnan University: Natural Science Edition*, 2016, 44(6): 509-513
- [7] Agrios G. *Plant pathology*. 5nd edn. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004: 1-922
- [8] Deshpande S, Patil B R, Salimath P. Evaluation of native and collected germplasm for earliness seed traits and resistance to rust, cmv and leaf spot in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 2010, 1: 384-392
- [9] Leonard K J, Szabo L J. Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis*. *Molecular Plant Pathology*, 2005, 6: 99-111
- [10] 张衍荣, 方木王, 黄健坤. 长豇豆锈病抗性遗传研究. *中国蔬菜*, 1997(6): 10-12  
Zhang Y R, Fang M W, Huang J K. Study on inheritance of resistance to rust in yardlongbean. *China Vegetables*, 1997 (6): 10-12
- [11] Chen C Y, Heath M C. Inheritance of resistance to *Uromyces vignae* in cowpea and the correlation between resistance and sensitivity to a cultivar-specific elicitor of necrosis. *Phytopathology*, 1993, 83(2): 223-230
- [12] Ryerson D E, Heath M C. Inheritance of resistance to the cowpea rust fungus in cowpea cultivar Calico Crowder. *Canadian Journal Plant Pathology*, 1996, 18(4): 384-391
- [13] Uma M S, Hegde N, Hittalmani S. Identification of SSR marker associated with rust resistance in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) using bulk segregant analysis. *Legume Research*, 2016, 39(1): 39-42
- [14] Wu X Y, Wang B G, Wu X H, Lu Z F, Li G J, Xu P. SNP marker-based genetic mapping of rust resistance gene in the vegetable cowpea landrace ZN016. *Legume Research*, 2018, 41(2): 222-225
- [15] Wu X Y, Li G J, Wang B G, Hu Y W, Wu X H, Wang Y, Lu Z F, Xu P. Fine mapping *Ruv2*, a new rust resistance gene in cowpea (*Vigna unguiculata*), to a 193-kb region enriched with NBS-type genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131(12): 2709-2718
- [16] Fiscus C J, Herniter I A, Tchamba M, Paliwal R, Muñoz-Amatriáin M, Roberts P A, Abberton M, Alaba O, Close T J, Oyatomi O. The pattern of genetic variability in a core collection of 2021 cowpea accessions. *G3*, 2024, 14 (6) : jkae071
- [17] 刘旭, 黎裕, 李立会, 贾继增. 作物种质资源学理论框架与发展战略. *植物资源遗传学报*, 2023, 24(1): 1-10  
Liu X, Li Y, Li L H, Jia J Z. Theoretical framework and development strategy for the science of crop germplasm resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24(1): 1-10
- [18] Ma Z, Xie Q, Li G, Jia H, Zhou J, Kong Z, Li N, Yuan Y. Germplasms, genetics and genomics for better control of disastrous wheat *Fusarium* head blight. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(5): 1541-1568
- [19] Mitchum M G. Soybean resistance to the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*: An update. *Phytopathology*, 2016, 106: 1444-1445
- [20] Wu X Y, Wu X H, Xu P, Wang B G, Lu Z F, Li G J. Association mapping for fusarium wilt resistance in Chinese asparagus bean germplasm. *Plant Genome*, 2015, 8 (2) : eplantgenome.2014.11.0082.
- [21] Heng T, Kaga A, Chen X, Somta P. Two tightly linked genes coding for NAD-dependent malic enzyme and dynamin-related protein are associated with resistance to *Cercospora* leaf spot disease in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(2): 395-407
- [22] Pan L, Liu M, Kang Y, Mei X, Hu G, Bao C, Zheng Y, Zhao H, Chen C, Wang N. Comprehensive genomic analyses of *Vigna unguiculata* provide insights into population differentiation and the genetic basis of key agricultural traits. *Plant Biotechnol Journal*, 2023, 21(7): 1426-1439
- [23] Lonardi S, Muñoz-Amatriáin M, Liang Q, Shu S, Wanamaker S I, Lo S, Tanskanen J, Schulman A H, Zhu T, Luo M C, Alhakami H, Ounit R, Hasan A M, Verdier J, Roberts P A, Santos J R P, Ndeve A, Doležel J, Vrána J, Hokin S A, Farmer A D, Cannon S B, Close T J. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *The Plant Journal*, 2019, 98(5): 767-782
- [24] Yang Y, Wu Z, Wu Z, Li T, Shen Z, Zhou X, Wu X, Li G, Zhang Y. A near-complete assembly of asparagus bean provides insights into anthocyanin accumulation in pods. *Plant Biotechnol Journal*, 2023, 21(12): 2473-2489
- [25] Muñoz-Amatriáin M, Mirebrahim H, Xu P, Wanamaker S I, Luo M, Alhakami H, Alpert M, Atokple I, Batienco B J, Boukar O, Bozdag S, Cisse N, Drabo I, Ehlers J D, Farmer A, Fatokun C, Gu Y Q, Guo Y N, Huynh B L, Jackson S A, Kusi F, Lawley C T, Lucas M R, Ma Y, Timko M P, Wu J, You F, Barkley N A, Roberts P A, Lonardi S, Close T J. Genome resources for climate-resilient cowpea, an essential crop for food security. *The Plant Journal*, 2017, 89(5): 1042-1054
- [26] Kawashima C G, Guimarães G A, Nogueira S R, MacLean D, Cook D R, Steuernagel B, Baek J, Bouyioukos C, Melo Bdo V, Tristão G, de Oliveira J C, Rauscher G, Mittal S, Panichelli L, Bacot K, Johnson E, Iyer G, Tabor G, Wulff B B, Ward E, Rairdan G J, Broglie K E, Wu G, van Esse H P, Jones J D, Brommonschenkel S H. A pigeonpea gene confers resistance to Asian soybean rust in soybean. *Nature Biotechnology*, 2016, 34(6): 661-665
- [27] Periyannan S, Moore J, Ayliffe M, Bansal U, Wang X, Huang L, Deal K, Luo M, Kong X, Bariana H, Mago R, McIntosh R, Dodds P, Dvorak J, Lagudah E. The gene *Sr33*, an ortholog of barley *Mla* genes, encodes resistance to wheat stem rust race *Ug99*. *Science*, 2013, 341(6147): 786-788
- [28] Sainetnac C, Zhang W, Salcedo A, Rouse M N, Trick H N,

- Akhunov E, Dubcovsky J. Identification of wheat gene *Sr35* that confers resistance to *Ug99* stem rust race group. *Science*, 2013, 341(6147): 783-786
- [29] Mago R, Zhang P, Vautrin S, Šimková H, Bansal U, Luo M C, Rouse M, Karaoglu H, Periyannan S, Kolmer J, Jin Y, Ayliffe M A, Bariana H, Park R F, McIntosh R, Doležel J, Bergès H, Spielmeier W, Lagudah E S, Ellis J G, Dodds P N. The wheat *Sr50* gene reveals rich diversity at a cereal disease resistance locus. *Nature Plants*, 2015, 1: 15186
- [30] Brueggeman R, Rostoks N, Kudrna D, Kilian A, Han F, Chen J, Druka A, Steffenson B, Kleinhofs A. The barley stem rust-resistance gene *Rpg1* is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(14): 9328-9333
- [31] Krattinger S G, Lagudah E S, Spielmeier W, Singh R P, Huerta-Espino J, McFadden H, Bossolini E, Selter L L, Keller B. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science*, 2009, 323(5919): 1360-1363
- [32] Moore J W, Herrera-Foessel S, Lan C, Schnippenkoetter W, Ayliffe M, Huerta-Espino J, Lillemo M, Viccars L, Milne R, Periyannan S, Kong X, Spielmeier W, Talbot M, Bariana H, Patrick J W, Dodds P, Singh R, Lagudah E. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat. *Nature Genetics*, 2015, 47(12): 1494-1498
- [33] Zhao M, Ge Y, Xu Z, Ouyang X, Jia Y, Liu J, Zhang M, An Y. A *BTB/POZ* domain-containing protein negatively regulates plant immunity in *Nicotiana benthamiana*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2022, 600: 54-59
- [34] Saha B, Borovskii G, Panda S K. Alternative oxidase and plant stress tolerance. *Plant Signaling & Behavior*, 2016, 11(12): e1256530
- [35] Licausi F, Ohme-Takagi M, Perata P. APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors: Mediators of stress responses and developmental programs. *New Phytologist*, 2013, 199: 639-649
- [36] Lease K A, Lau N Y, Schuster R A, Torii K U, Walker J C. Receptor serine/threonine protein kinases in signalling: Analysis of the erecta receptor-like kinase of *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 2001, 151(1): 133-143
- [37] Du Y, Shi Y, Yang J, Chen X, Xue M, Zhou W, Peng Y L. A serine/threonine-protein phosphatase *PP2A* catalytic subunit is essential for asexual development and plant infection in *Magnaporthe oryzae*. *Current Genetics*, 2013, 59(1-2): 33-41
- [38] Bishop J G, Ripoll D R, Bashir S, Damasceno C M, Seeds J D, Rose J K. Selection on glycine beta-1, 3-endoglucanase genes differentially inhibited by a *Phytophthora glukanase* inhibitor protein. *Genetics*, 2005, 169(2): 1009-1019
- [39] Ruano G, Scheuring D. Plant cells under attack: Unconventional endomembrane trafficking during plant defense. *Plants (Basel)*, 2020, 9(3): 389