

研究
简报

大豆对 SMV SC-7 株系群的抗性遗传与基因定位

战勇¹ 喻德跃^{1,*} 陈受宜^{2,*} 盖钧镒^{1,*}

(¹ 南京农业大学大豆研究所/国家大豆改良中心/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏南京 210095; ² 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101)

摘要: 科丰 1 号 × 南农 1138-2 的 P₁、P₂、F₁ 和 180 个重组自交家系接种 SC-7 株系群的鉴定表明, P₁ 与 F₁ 全抗, P₂ 全感, 说明抗性为显性; 重组自交家系抗、感按 1:1 分离, 说明抗性由一对基因控制。利用王永军等的遗传连锁图对 SC-7 株系群的抗性基因进行连锁分析, 将抗病基因 *Rsc-7* 定位于 N8-D1b + W 连锁群上, 并与已定位的 5 个抗性基因中的 3 个连锁, 还有一个与之相连锁的标记 LC5T, 其排列顺序和遗传距离为 *Rsa* (30.6 cM) *Rsc-7* (22.1 cM) *Rn3* (10.3 cM) *Rn1* (15.8 cM) LC5T。

关键词: 大豆; 大豆花叶病毒(SMV); SC-7 株系群; 抗性遗传; 基因定位
中图分类号: S562

Inheritance and Gene Mapping of Resistance to SMV Strain SC-7 in Soybean

ZHAN Yong¹, YU De-Yue^{1,*}, CHEN Shou-Yi^{2,*} and GAI Jun-Yi^{1,*}

(¹ Soybean Research Institute, Nanjing Agricultural University/National Center for Soybean Improvement/National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, Jiangsu; ² Institute of Genetics and Development Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: The P₁, P₂, F₁ and 180 RILs of Kefeng 1 × Nannong1138-2 were inoculated with the SMV strain SC-7 for identification of their resistance. The results showed Kefeng 1 being resistant, Nannong 1138-2 being susceptible, F₁ being resistant, and the RILs segregating in a 1:1 ratio, which indicated that a dominant gene controlled the resistance to SC-7. With linkage analysis, the resistance gene *Rsc-7* was located on the linkage group N8-D1b + W and linked with three of five resistance genes and a RFLP marker LC5T. The order and genetic distance of linked genes were *Rsa* (30.6 cM) *Rsc-7* (22.1 cM) *Rn3* (10.3 cM) *Rn1* (15.8 cM) LC5T.

Key words: Soybean; Soybean Mosaic Virus (SMV); Strain SC-7; Inheritance of resistance; Gene mapping

大豆花叶病毒(soybean mosaic virus, SMV)的抗性遗传研究自 20 世纪 70 年代开始^[1], 国内外主要有 5 种结果, 即抗性由 1 对基因控制, 抗性基因为显性^[1-9]; 抗性由 1 对基因控制, 抗性基因为隐性^[10]; 抗性由 2 对具有抑制作用的显性基因控制^[11]; 抗性由 2 对显性互补基因控制^[11-13]; 抗性由 2 对隐性互补基因控制^[12-14]。其中一对显性基因控制的结果较为普遍。抗性遗传结果不一, 与症状的抗感归属、抗源的遗传基础、株系的类型等均有关。国家大豆改良中心采用接种后上位叶系统花叶或枯斑为感病, 上位叶无症状为抗病, 获得了对国内 8 个 SMV 株系的抗性分别由一对显性基因控制的一致结果^[13, 15]。在抗性基因的定位上, Yu 等^[16]通过 PI96983 ×

Lee68 (R × S) 的 107 株 F₂ 个体, 利用 RFLP 和 SSR 标记将 G1 株系的抗病基因 *Rso* 定位在 E 连锁群上; 王永军等^[15, 17]利用已构建的大豆遗传图谱, 将抗大豆花叶病毒的基因 *Rsa*、*Rsc*、*Rn1*、*Rn3*、*Rsc-8* 和 *Rsc-9* 定位于 N8 - D1b + W 连锁群上。黄淮地区是我国大豆主要产区之一, 也是大豆花叶病毒流行区, 此区的大豆花叶病毒常引起减产 10% ~ 30%, 并使得种皮产生斑驳。SC-7 是近年新鉴定出的株系群^[7], 在黄淮地区占显著优势, 且毒力强, 属于流行的强毒株系群。本研究旨在查明广谱抗源科丰 1 号对 SC-7 的抗性遗传规律, 并利用已有的大豆遗传图谱^[15]进行抗性基因定位, 以便为抗性基因的进一步标记、分离和克隆提供参考。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170607, 30490250), 国家重点基础研究发展规划项目(973 计划)(2004CB7206), 国家高新技术研究发展计划(863 计划)(2002AA211052), 江苏省自然科学基金资助项目(BK2004100)。

本研究为南京农业大学大豆研究所与中国科学院遗传与发育生物学研究所合作项目, 两单位均为第一完成单位。

作者简介: 战勇(1972-), 男, 山东莱西县人, 助理研究员, 现在新疆农垦科学院工作, 主要从事选育种与高产栽培。

* 通讯作者(Corresponding authors): 喻德跃, 陈受宜, 盖钧镒。Tel: 025-84395405; E-mail: sri@njau.edu.cn 或 dyyu@njau.edu.cn

Received(收稿日期): 2005-05-23; Accepted(接受日期): 2005-12-15.

1 材料与与方法

1.1 供试材料

供试材料为科丰1号×南农1138-2重组自交系(RIL)群体及其亲本与杂种1代(见表1)。供试病毒为大豆花叶病毒SC-7株系群。

表1 遗传分析的亲本与后代
Table 1 The cross of Kefeng 1 × 1138-2 for segregation analyses of resistance

世代 Generation	株数或家系数 No. of plants or lines
科丰1号(P ₁)(Kefeng 1)	30
南农1138-2(P ₂)(1138-2)	30
(Kefeng 1 × 1138-2)F ₁	20
(Kefeng 1 × 1138-2)RIL	180

1.2 试验设计与方法

1.2.1 病毒的繁殖与接种鉴定 于温室内将SC-7株系群在南农1138-2上大量繁殖。亲本科丰1号(P₁)和南农1138-2(P₂)、杂种一代(F₁)和184个重组自交家系均在温室内盆栽, P₁和P₂各留苗30株, F₁留苗20株, 每个RIL家系留苗10~20株。供试豆苗第一对真叶完全展开时, 取毒源病株上(接种15~20 d)具有典型症状的病叶加pH 7.0的0.01 mol/L磷酸缓冲液, 其比例为1 g鲜叶加3~5 mL缓冲液, 在三松石牌SH-300E榨汁-搅拌器中匀浆, 再加适量600目金刚砂, 常规摩擦接种。5~6 d后在第一对复叶上重复接种1次。第一次接种后7 d观察症状, 此后每天连续调查记载, 标准为检查新生叶是否表现系统花叶或枯斑症状, 并挂牌标记出现症状的植株, 以防后来隐症的影响。2周后汇总结果。

1.2.2 大豆对SMV抗感的划分标准 参照濮祖芹^[18](1982年)、胡蕴珠^[7](1985)所采用的方法, 单株以上位叶反应为标准, 凡接种后不发病或只在接种叶上有局部枯斑出现而上位叶无症状者, 为抗病; 凡接种后上位叶出现系统花叶或系统坏死症状者, 不论轻花叶、重花叶、皱缩花叶、黄斑叶脉坏死、系统叶脉坏死、顶枯等, 均属感病类型。群体发病株率在10%以下为抗, 发病株率在10%以上为感。

1.2.3 抗性遗传分析的统计方法 若抗性由单基因控制, 理论上重组自交家系应出现1:1的抗感分离。因此卡方测验结果符合1:1, 即可说明抗性是由1对基因控制。因自由度为1, 采用矫正后的卡平方 χ^2 检验重组自交家系的抗病与感病株数是否符合1:1的比例。

$\chi^2 = \sum \{ (|E_0 - E| - 0.5)^2 / E \}$, 其中E为理论值, E₀为实际观察值, 0.5为矫正常数。

1.2.4 抗性基因的定位方法 参照王永军等^[15], 对抗病基因赋值为1, 感病基因赋值为2, 用Mapmaker/Exp 3.0b分析抗病位点与标记的连锁, 将抗病基因定位到遗传图谱上^[17]。

2 结果与分析

2.1 P₁、P₂与F₁接种SC-7后的抗感反应

抗性亲本科丰1号接种30株均未感病; 感病亲本南农

1138-2接种30株全部感病; 20株F₁代接种后全部表现抗病, 与抗性亲本表现一致(表2), 表明抗病基因为显性, 感病基因为隐性。

表2 P₁、P₂和F₁对SC-7株系群的抗性鉴定
Table 2 Test for resistance of P₁, P₂ and F₁ to SC-7

世代 Generation	抗 Resistance	感 Susceptible	总株数 Total
科丰1号 P ₁	30	0	30
南农1138-2 P ₂	0	30	30
F ₁	20	0	20

2.2 重组自交家系接种SC-7后的抗感反应

184个重组自交家系接种SC-7后, 100个表现抗病, 80个表现感病, 4个因症状不典型而未纳入统计分析(见讨论)。经 χ^2 检验(表3), 抗、感间符合1:1分离比例, 结合F₁为抗病, 因而推论抗SC-7由1对显性基因控制。

表3 科丰1号×南农1138-2的RIL群体
对SMV SC-7株系群的抗性遗传分析

Table 3 Genetic analysis of resistance to SC-7 in (Kefeng 1 × 1138-2) RIL population

项目 Item	R	S	总 Total	P	$\chi^2_{(0.05, 1)}$
实际家系数 E ₀	80	100	180		
理论家系数 E	90	90	180		
E ₀ - E	10	10			
E ₀ - E - 0.5	9.5	9.5			
χ^2	1.00	1.00	2.00	0.1 - 0.25	3.84

2.3 抗SMV株系群SC-7的基因定位

利用中国科学院遗传所和国家大豆改良中心共同构建的大豆遗传图谱^[17]进行连锁和定位分析。该图谱包含22个连锁群, 176个RFLP、74个SSR和6个形态抗性共256个标记, 总长3 050.9 cM, 与Cregan等的公共图谱相对一致。分析结果表明, 大豆花叶病毒抗性基因Rsc-7与Rsa、Rnl及Rn3连锁(表4)。Rsc-7与Rsa连锁距离为30.6 cM, LOD值为3.47; 与Rn3连锁距离为22.1 cM, LOD值为6.99; 与Rnl连锁距离为19.0 cM, LOD值为9.04。Rsc-7与Rsc-8和Rsc-9不连锁。

只考虑连锁的Rsc-7、Rsa、Rnl及Rn3这4个位点, 综合各位点间的相互关系, 其排列次序和距离为Rsa (30.6 cM) Rsc-7 (22.1 cM) Rn3 (10.3 cM) Rnl。

在256个作图标记中, 与Rsc-7连锁的RFLP标记只有LC5T, 连锁距离为29.1 cM, LOD值为3.36。同时, 此标记也与Rnl和Rn3连锁, 距离分别为15.3 cM和16.5 cM, LOD值分别为10.51和9.49(表4)。由此推论各抗性位点与LC5T的关系为Rsa (30.6 cM) Rsc-7 (22.1 cM) Rn3 (10.3 cM) Rnl (15.8 cM) LC5T。

RFLP标记LC5T和3个抗性基因Rnl、Rn3及Rsa都在N8-D1b+W连锁群上, 因此, Rsc-7基因也定位于N8-D1b+W连锁群上(图1)。

3 讨论

同国内外大多数研究结果一样^[1-9], 本研究表明抗性由

表 4 抗 SMV 基因间及其与 LCST 标记间的连锁
Table 4 Linkageship among resistance genes and LCST marker

座位 Locus	Rsc-7		LCST		Rsa		Rnl	
	LOD	距离 Distance(cM)	LOD	距离 Distance(cM)	LOD	距离 Distance(cM)	LOD	距离 Distance(cM)
LCST	3.36	29.1						
Rsa	3.47	30.6	2.57	32.4				
Rnl	9.04	19.0	10.51	15.3	6.25	23.5		
Rn3	6.99	22.1	9.49	16.5	7.38	21.5	19.10	10.3

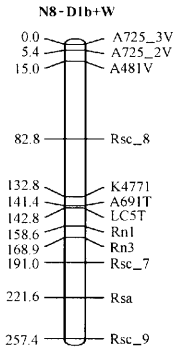


图 1 Rsc-7 在连锁群 N8-D1b+W 中的位置

Fig. 1 The location of Rsc-7 on linkage group N8-D1b+W

1 对显性基因控制。对遗传研究结果有影响的因素除了环境外,人为标准也很重要,主要涉及单株的抗感划分标准、群体的抗感划分标准以及抗感调查时期。在抗性判别上 Wang 等^[1]、Chen 等^[19]将单株抗感分为抗、花叶、坏死 3 类,统计时将坏死归为“抗”。国内研究者均认同顶枯是感病的,本研究将顶枯划为感病,而国外的研究认为是抗病表现。

在抗性基因的定位上,本试验原有 184 个家系,其中 4 个家系发病率为 10%~11%,潜育期相对较长,扩展速度较慢,从抗性角度看,这种表现属抗病的,但以发病率率在 10% 以下为抗,10% 以上为感的标准,则属感病的。虽然按感病算,卡方测验也不显著,但这种临界情况的抗感判别缺严格依据,因此去掉这 4 个,只保留 180 个家系进行遗传与定位研究。但去除和不去除两组资料结果一致,因而本文结果是可信的。

本文在定位 Rsc-7 时,发现它与其他 5 个抗性基因 Rsc-8、Rsc-9、Rnl、Rn3、Rsa 都在同一连锁群 N8-D1b+W 的一端,抗性基因有成簇分布的现象,预示着存在抗性基因整段转移的可能性,这是很值得进一步研究的。

References

[1] Wang Y. Genetic analysis of resistance to soybean mosaic virus in four soybean cultivars from China. *Crop Sci*, 1998, 38:922-925
 [2] Lim S M. Resistance to soybean mosaic virus in soybeans. *Phytopathology*, 1985, 75:199-201
 [3] Zhang Y-D (张玉东), Gai J-Y (盖钧镛), Ma Y-H (马育华). Inheritance of resistance to two local soybean mosaic virus strains S₄ and S₅ in soybeans. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1989, 15(3):213-220 (in Chinese with English abstract)
 [4] Yan J-X (严隽彬), Ma Y-H (马育华). Preliminary study on inheritance

of resistance to soybean mosaic virus in soybeans. *Soybean Sci* (大豆科学), 1985, 4(4):249-259 (in Chinese with English abstract)
 [5] Dong-Fang Y (东方阳). Genetic analysis and RAPD makers of genes resistant to SMV strains in the soybeans. PhD Dissertation of Nanjing Agricultural University, 1999 (in Chinese with English abstract)
 [6] Hu Y-Z (胡毓珠), Gai J-Y (盖钧镛), Ma Y-H (马育华), Chen Y-X (陈水萱), Fang Z-D (方中达). Inheritance of resistance to the two local SMV strains in soybeans. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 1985, (3):17-22 (in Chinese with English abstract)
 [7] Wang X-Q (王修强), Gai J-Y (盖钧镛), Pu Z-Q (濮祖芹). Classification and distribution of strain groups of soybean mosaic virus middle and lower Huang-Huai and Changjiang valleys. *Soybean Sci* (大豆科学), 2003, 22 (2):102-107 (in Chinese with English abstract)
 [8] Wang X-Q (王修强), Gai J-Y (盖钧镛), Yu D-Y (喻德跃). Inheritance of resistance to the SMV strain group SC-8 in Kefeng No.1. *Soybean Sci* (大豆科学), 2003, 8(3):190-192 (in Chinese with English abstract)
 [9] Sun Z-Q (孙志强), Liu Y-Z (刘玉芝), Sun D-M (孙大敏), Liao L (廖林). Inheritance of resistance to SMV strain 1, 2, 3 in soybeans. *Oil Crops China* (中国油料), 1990, (2):20-24 (in Chinese)
 [10] Liao L (廖林), Liu Y-Z (刘玉芝), Sun D-M (孙大敏), Zhao R-L (赵荣林), Tian P-Z (田佩占). Inheritance of soybean resistant to soybean mosaic virus—Inheritance of several resistant varieties introduced resistance to NO. II strain of SMV. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 1994, 21 (5):403-408 (in Chinese with English abstract)
 [11] Luan X-Y (栾晓燕). Inheritance of soybean plant resistant to NO. III (173) strain of soybean mosaic virus. *Soybean Sci* (大豆科学), 1997, 16(3):223-226 (in Chinese with English abstract)
 [12] Chen Y (陈怡). Inheritance of resistance to SMV strain No.1 in the soybean germplasm. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 1999, (1):4-6 (in Chinese with English abstract)
 [13] Buzzell R I, Tu J C. Inheritance of soybean resistance to soybean mosaic virus. *J Heredity*, 1984, 75:82
 [14] Chen Y (陈怡), Luan X-Y (栾晓燕), Huang C-Y (黄承运), Gu X-Z (谷秀芝), Du W-G (杜维广), Zhang G-R (张桂茹), Man W-Q (满为群), Wang B-R (王彬如). Inheritance of resistance to the two SMV strains in soybeans. *Heilongjiang Agric Sci* (黑龙江农业科学), 1991, 5:21-24 (in Chinese with English abstract)
 [15] Wang Y-J (王永军), Dong-Fang Y (东方阳), Wang X-Q (王修强), Yang Y-L (杨雅麟), Yu D-Y (喻德跃), Gai J-Y (盖钧镛), Wu X-L (吴晓雷), He C-Y (贺超英), Zhang J-S (张劲松), Chen S-Y (陈受宜). Mapping of five genes resistant to SMV strains in soybean. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2004, 31(1):87-90 (in Chinese with English abstract)
 [16] Yu Y C, Saghai Maroof M A, Buss G R, Maughan P J, Tolin S A. RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance. *Phytopathology*, 1994, 84:60-64
 [17] Wang Y-J (王永军), Wu X-L (吴晓雷), He C-Y (贺超英), Zhang J-S (张劲松), Chen S-Y (陈受宜), Gai J-Y (盖钧镛). A soybean genetic linkage map constructed after the mapping population being tested and adjusted. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36(11):1254-1260 (in Chinese with English abstract)
 [18] Pu Z-Q (濮祖芹), Cao Q (曹琦), Fang D-C (房德纯), Xue B-D (薛宝娣), Fang Z-D (方中达). Identification of strains of soybean mosaic virus. *Acta Phytophylacica Sin* (植物病理学报), 1982, 9(1):15-19 (in Chinese with English abstract)
 [19] Chen P, Buss G R, Roane C W, Tolin S A. Inheritance in soybean of resistant and necrotic reactions to soybean mosaic virus strains. *Crop Sci*, 1994, 34:414-422