

# 大豆对 SMV3 号株系的抗性遗传分析 及抗病基因的 RAPD 标记研究

郑翠明, 常汝镇, 邱丽娟

(中国农业科学院作物品种资源研究所; 农业部作物种质资源与生物技术重点开放实验室, 北京 100081)

**摘要:** 利用高抗东北 SMV3 号株系的大豆品系 95-5383 与 4 个感病品种(系)HB1、铁丰 21、Amsoy、Williams 和抗病品种 PI486355 配制 5 个杂交组合, 对各组合的 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 代接种 SMV 鉴定抗性。结果表明, 95-5383 与各感病品种杂交组合的 F<sub>1</sub> 代表现为感病, F<sub>2</sub> 群体分离比例为 3 感(花叶+ 顶枯): 1 抗, 表明 95-5383 对 SMV3 号株系的抗性受一对隐性基因控制。95-5383× PI486355 的 F<sub>2</sub> 代接种后有感病植株分离, 表明二者对 SMV3 的抗性基因不等位。利用 BSA 法对 95-5383× HB1 的 F<sub>2</sub> 代进行鉴定, 筛选出 RAPD 引物 OPN11 在 95-5383 和抗池扩增出 OPN11<sub>980</sub> 片段, 在 HB1 和感池扩增出 OPN11<sub>1070</sub> 片段, 在 F<sub>1</sub> 同时扩增出 OPN11<sub>980</sub> 和 OPN11<sub>1070</sub>。用该引物分析 95-5383× HB1 的 F<sub>2</sub> 个体, 共显性的 RAPD 标记 OPN11<sub>980/1070</sub> 与 95-5383 抗病基因的遗传距离为 2.1 cM。

**关键词:** 大豆; 大豆花叶病毒; 抗性遗传; RAPD 标记

中图分类号: S565.1 文献标识码: A 文章编号: 0578-1752(2001)01-0014-05

## *Inheritance of Resistance to SMV3 and Identification of RAPD Marker Linked to the Resistance Gene in Soybean*

ZHENG Cui-ming, CHANG Ru-zhen, QIU Li-juan

(Institute of Crop Germplasm Resources, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China 100081)

**Abstract:** One SMV resistant soybean line (95-5383) was crossed with four susceptible soybean varieties/line (HB1, Tiefeng21, Amsoy, Williams) and one resistant variety PI486355. Their F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> individuals were identified for SMV resistance by inoculation with SMV3. The results showed that in the four crosses of resistant× susceptible, F<sub>1</sub> were susceptible and the ratio of F<sub>2</sub> populations was 1 resistant: 3 susceptible (mosaic and necrosis), indicating that 95-5383 carries one recessive gene that confer resistance to SMV. There is a segregation of susceptibility in F<sub>2</sub> progenies from the cross of 95-5383× PI486355, indicating that the SMV resistance genes in 95-5383 and PI486355 are located at different loci. By bulked segregant analysis (BSA) in F<sub>2</sub> populations of 95-5383× HB1, one codominant RAPD marker OPN11<sub>980/1070</sub> closely linked to SMV resistance gene amplified with RAPD primer OPN11 was identified. DNA fragment OPN11<sub>980</sub> was amplified in resistant parent 95-5383 and resistant bulk, OPN11<sub>1070</sub> was amplified in susceptible parent HB1 and susceptible bulk. OPN11<sub>980/1070</sub> was amplified in F<sub>1</sub>. Identification of the markers in F<sub>2</sub> plants showed that the codominant marker OPN11<sub>980/1070</sub> is closely linked to the SMV resistance gene in 95-5383, with genetic distance of 2.1 cM.

**Key words:** Soybean; Soybean mosaic virus; Inheritance of resistance; Codominant RAPD marker

大豆花叶病毒(SMV)病是世界性大豆病害, 造成产量损失, 籽粒品质下降。利用抗病品种是控制

收稿日期: 2000-02-01

基金项目: 国家“九五”重点科技攻关项目(96-C01-01-06); 国家“九七三”项目(G1998010203)

作者简介: 郑翠明(1972-), 女, 河北定州人, 博士, 博士论文研究课题为大豆花叶病毒抗性遗传和抗性基因分子标记的研究。联系人: 邱丽娟,

Tel: 62186624; Fax: 62186629; E-mail: qiu-lijuan@263.net

SMV 最经济而有效的措施。国外学者通过对 SMV 抗性遗传规律的研究已经命名了 3 个抗性基因位点, 其中, 大豆品种 PI96983、Ogden 分别携带  $R_{sv1}$ 、 $rsv1^{[1]}$ ; Raiden、Columbia 分别携带  $R_{sv2}$ 、 $R_{sv3}^{[2,3]}$ ; Kwanggyo、Marshall、York 分别携带一个与  $R_{sv1}$  等位的单显性抗性基因  $R_{sv1}^k$ 、 $R_{sv1}^m$ 、 $R_{sv1}^y$ 。PI486355 携带二个独立显性抗性基因, 其中一个在  $R_{sv1}$  位点<sup>[4,5]</sup>。

SMV 在我国大豆主产区东北地区普遍发生, 吕文清等<sup>[6]</sup>将东北的 SMV 毒株划分为 SMV1 号、2 号和 3 号株系群。其中 3 号株系群的致病力最强。我国学者关于不同大豆抗源对 SMV3 号株系的抗性遗传规律研究结果各异。孙志强<sup>[7]</sup>研究发现吉林 21 号对 SMV3 的抗性受一对隐性基因控制; 陈怡<sup>[8]</sup>研究表明 D82-198 携带一对显性抗性基因; 栾晓燕<sup>[9]</sup>报道哈 91R<sub>3</sub>-182、哈 91R<sub>3</sub>-301 分别携带二对互补隐性、显性抗性基因。

传统的抗性遗传研究和抗病育种需要在田间用不同的株系接种鉴定, 该过程繁琐而费时。分子生物学技术的发展使我们可以鉴定与抗病基因紧密连锁的分子标记, 进行抗性鉴定和标记辅助选择育种。Michelemore<sup>[10]</sup>创造了 BSA 法鉴定与抗病基因紧密连锁的 RAPD 标记。Yu<sup>[11]</sup>利用 PI96983×Lee 的 F<sub>2</sub> 群体鉴定出与 PI96983 的  $R_{sv}$  紧密连锁的 SSR 标记 (SOYHSP176) 和二 RFLP 标记 (PA186 和 PK644a), 遗传距离分别是 0.5、1.5、2.1 cM。张志永等<sup>[12]</sup>用科丰 1 号×南农 1138-2 的 F<sub>2</sub> 分离群体, 利用 BSA 法证明 RAPD 标记 OPAS-06<sub>1800</sub>、OPW-05<sub>660</sub> 与 Ra 基因连锁, 遗传连锁距离为 OPAS-06<sub>1800</sub>24.3cM Ra10.2cM OPW-05<sub>660</sub>。RFLP 标记 (HindIII/PK644) 与 Ra 基因连锁, 交换值为 31%±8.15%。并将 RAPD 标记 OPW-05<sub>660</sub> 转化成共显性 SCAR 标记 SCW-05<sub>660</sub>。

综上所述, 大豆抗 SMV 遗传规律因品种和株系不同而异。本研究的目的是明确中国农业科学院作物品种资源研究所新育成的高产抗病大豆品系 95-5383 对 SMV3 号株系的抗性遗传规律, 为抗病育种提供理论依据, 并鉴定与抗病基因紧密连锁的 RAPD 标记, 为分子标记辅助育种及抗病基因的克隆奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验采用中国农业科学院作物品种资源研究所新

育成的高抗 SMV 的大豆品系 95-5383 为抗性亲本, 与感病品种(系)HB1、铁丰 21、Williams、Amsoy 和抗病品种 PI486355 配制 5 个杂交组合。亲本品种对 SMV3 号株系的抗性表现见表 1。1998 年夏配制杂交组合, 1998 年冬季至 1999 年春季在温室加代得 F<sub>1</sub> 种子。1999 年春季在中国农业科学院作物品种资源研究所田间防蚜网室播种亲本及 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 代, 2000 年春季在网室播种部分 F<sub>3</sub> 代。在对生真叶期采用人工汁液摩擦法接种 SMV3, 10d 后重复接种一次。接种后 2 周开始调查症状。抗性反应划分为 3 个级别, 抗病(接种后没有症状或只在接种叶上出现局部枯斑而上位叶无症状), 顶枯(顶端生长点枯死, 植株不能继续生长和结实, 逐渐枯死); 花叶(系统花叶、皱缩、卷曲)。本研究将花叶和顶枯划分为感病。

利用分离群体组群分析法 (bulked segregant analysis, BSA 法), 从 F<sub>2</sub> 代选择 15 株感病单株和 15 株抗病单株分别提取叶片总 DNA, 将抗病、感病单株 DNA 分别以等量混合形成抗池和感池, 用 RAPD 方法筛选与 SMV 抗性基因相关的分子标记, 并通过 99 株 F<sub>2</sub> 个体计算标记与抗病基因的遗传距离。

表 1 亲本品种对 SMV3 号株系的抗性反应

Table 1 Response of parental varieties to SMV3

品种 Cultivars	对 SMV3 号株系的抗性反应 Response to SMV3	
	症状型 <sup>1)</sup>	抗性 <sup>2)</sup>
	Symptoms	Resistance
95-5383	O	R
HB1	RMC	S
铁丰 21 Tiefeng21	RMYNH	S
Williams	RMSH	S
Amsoy	RMSH	S

<sup>1)</sup> O: 无症状, R: 皱缩, M: 花叶, Y: 黄斑, C: 卷叶, SH: 矮化, N: 坏死 <sup>2)</sup> R: 抗病, S: 感病

<sup>1)</sup> O: no symptom, R: wrinkle, M: mosaic, Y: yellow blot, C: roll, SH: short, N: necrosis <sup>2)</sup> R: resistant, S: susceptible

### 1.2 毒源与接种

毒源由东北农业大学吴宗璞教授提供, 为东北 SMV3 号株系群的毒株 SMV-87-44, 保存在防蚜网室内感病品种合丰 25 上。制备接种液: 采集毒源病叶放入研钵中, 加入 0.02mol/L 的磷酸缓冲液 (pH 7.0) (10ml/g 病叶) 和 600 目的金刚砂少许, 将病叶研磨成匀浆状。用毛笔蘸取接种液沿叶脉摩擦接种在对生真叶上, 接种后立即用自来水冲洗叶片表面残渣。

### 1.3 RAPD 分析

DNA 的提取采用 CTAB 方法<sup>[13]</sup>。RAPD 引物为 Operon 公司生产的 10 碱基随机引物(OPA01-OPA20~OPZ01-OPZ20)。25 $\mu$ l 反应体系包括: 1 $\times$  PCR buffer, 2.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mmol/L dNTP, 15ng 引物, 40ng DNA, 1U Taq DNA 聚合酶。热循环条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3min; 接着 45 个循环: 94 $^{\circ}$ C 15s, 36 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 1min; 最后在 72 $^{\circ}$ C 延伸 7min; 4 $^{\circ}$ C 保存。扩增反应在 PE9600 型 PCR 仪上完成。RAPD 扩增产物在 2.0% 琼脂糖凝胶(内含 1.0 $\mu$ g/ml 溴化乙锭)上进行电泳分析, 电泳结果在紫外灯下检测并照相。

### 1.4 连锁分析

应用 Mapmaker3.0 软件计算连锁距离。临界 LOD 值为 3.0, 用 Kosambi 函数将重组率转换成图距单位厘摩(cM)。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆品系 95-5383 对 SMV3 号株系的抗性遗传

高抗 SMV 的大豆品系 95-5383 与 4 个感病品种(系)杂交组合的 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 在接种 SMV3 后的抗性反应见表 2。各抗感组合的 F<sub>1</sub> 接种后都表现为感

病, F<sub>1</sub> 植株在接种后期顶端生长点逐渐枯死, 不能结实, 表现为顶枯, 表明抗病性为隐性, 感病性为显性。各组合的 F<sub>2</sub> 群体接种后均发生抗感分离, 经  $\chi^2$  适合性测验, 各组合都符合 3 感(顶枯+花叶): 1 抗的分离比例, 说明 95-5383 对 SMV3 号株系的抗性受一对隐性基因控制。95-5383 与抗病品种 P1486355 杂交组合 F<sub>2</sub> 代有感病植株分离, 表明 95-5383 与 P1486355 的抗性基因位点不是等位的。对 95-5383 $\times$  HBI 的 22 个抗病 F<sub>2</sub> 植株的 F<sub>2-3</sub> 株系接种鉴定, 鉴定结果为整个株系行都表现抗病, 表明 F<sub>2</sub> 单株的基因型为纯合抗病。对 20 个症状为花叶的 F<sub>2</sub> 感病植株的 F<sub>2-3</sub> 株系接种鉴定, 所有株系都系统花叶, 证明 F<sub>2</sub> 基因型为纯合感病。

### 2.2 大豆品系 95-5383 对 SMV3 号株系抗性基因的分子标记

利用 BSA 法对 95-5383 $\times$  HBI 的 99 个 F<sub>2</sub> 植株进行了 RAPD 标记的鉴定, 共鉴定了 520 个 RAPD 引物, 筛选出一个 RAPD 引物 OPN11(序列为 5' TCGCCGCAA3') 在抗、感池间扩增出差异常片段。用该引物对抗病亲本 95-5383 和抗病池扩增出相同的特征片段 OPN11<sub>980</sub>(图中泳道 1, 4), 在感病亲本

表 2 95-5383 与不同品种杂交组合的 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 代接种后的分离<sup>1)</sup>

Table 2 Segregation of F<sub>2</sub> populations from the crosses of 95-5383 with different varieties after inoculated with SMV3 in the net-house

杂交组合 Crosses	组合类型 Type of crosses	F <sub>1</sub> 的 抗性 Resistance of F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub> 植株数目 Number of F <sub>2</sub> plants				$\chi^2$	
			抗病 Resistant	感病 Susceptible		总数 Total	1R: 3(M+N) $\chi^2$ 值 $\chi^2$ Value	概率 Probability
				顶枯 Top necrotic	花叶 Mosaic			
95-5383 $\times$ HBI	R $\times$ S	S	30	35	34	69	1.48	0.10~0.25
William s $\times$ 95-5383	S $\times$ R	S	15	12	20	32	1.19	0.25~0.50
95-5383 $\times$ 铁丰 21 Tiefeng21	R $\times$ S	S	7	14	15	29	0.59	0.25~0.50
95-5383 $\times$ Am soy	R $\times$ S	S	9	29	9	38	0.85	0.25~0.50
95-5383 $\times$ P1486355	R $\times$ R	R	31	5	5	10		

<sup>1)</sup>R: 抗病 Resistant, S: 感病 Susceptible, N: 顶枯 Top necrotic, M: 花叶 Mosaic

HBI 和感病池中扩增出相同的特征片段 OPN11<sub>1070</sub>(图中泳道 2, 5), F<sub>1</sub> 同时扩增出抗病亲本和感病亲本两条特征片段 OPN11<sub>980/1070</sub>(图中泳道 3)。用该引物对该组合 F<sub>2</sub> 群体的所有植株分别扩增(表 3), 共有 3 种带型, 抗病亲本带型 OPN11<sub>980</sub>(图中泳道 6~8), 感病亲本带型 OPN11<sub>1070</sub>(图中泳道 11~14) 和杂合带型 OPN11<sub>980/1070</sub>(图中泳道 9~10, 15)。在田间接种鉴定中表现为抗病的 30 个 F<sub>2</sub> 植株中, 有 28 株扩增出抗病亲本标记 OPN11<sub>980</sub>, 2 株扩增出杂合

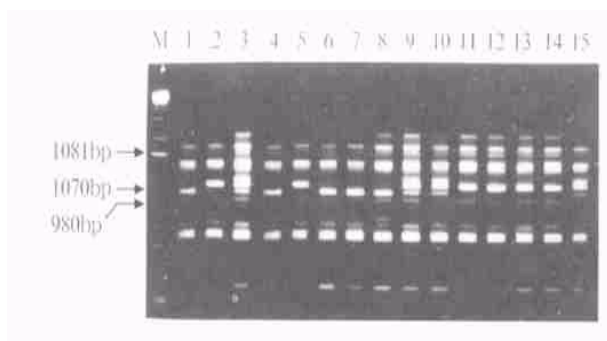
标记 OPN11<sub>980/1070</sub>。在田间接种鉴定中表现为感病(系统花叶)的 34 个 F<sub>2</sub> 植株中, 30 株扩增出感病亲本标记 OPN11<sub>1070</sub>, 4 株扩增出杂合标记 OPN11<sub>980/1070</sub>。在 35 株顶枯单株中, 34 株扩增出杂合标记 OPN11<sub>980/1070</sub>, 一株扩增出感病亲本标记 OPN11<sub>1070</sub>。应用 Mapmaker 3.0 软件, 共显性的 RAPD 标记 OPN11<sub>980/1070</sub> 与抗病基因的遗传距离为 2.1cM。OPN11 在 F<sub>1</sub> 植株和 F<sub>2</sub> 杂合个体中扩增出一条非亲本的片段, 该片段在电泳中迁移速度比

1070bp 片段略慢, 这条片段可能是异源双链核酸分子。

表 3 RAPD 标记在 95-5383 × HB1 的 F<sub>2</sub> 群体中的分离

Table 3 Segregation of RAPD markers in F<sub>2</sub> population of the cross from 95-5383 × HB1

分子标记鉴定 Molecular marker identification	F <sub>2</sub> 植株数目 Number of F <sub>2</sub> plants			
	抗病 Resistant	感病(花叶) Susceptible	顶枯 Top necrotic	总数 Total
抗病亲本纯合标记 OPN11 <sub>980</sub> Resistant parent homozygous markers OPN11 <sub>980</sub>	28	0	0	28
感病亲本纯合标记 OPN11 <sub>1070</sub> Susceptible parent homozygous markers OPN11 <sub>1070</sub>	0	30	1	31
杂合标记 OPN11 <sub>980/1070</sub> Heterozygous markers OPN11 <sub>980/1070</sub>	2	4	34	40
总数 Total	30	34	35	99



M: 1 kb Marker; 1: 95-5383; 2: HB1; 3: F<sub>1</sub>; 4: 抗池 Resistant bulk; 5: 感池 Susceptible bulk; 6~8: 抗病 F<sub>2</sub> 植株 Resistant F<sub>2</sub> plants; 9~10, 15: 顶枯单株 Necrosis plants; 11~14 感病(花叶) 植株 Susceptible(mosaic) plants

图 引物 OPN11 对 95-5383 × HB1 的亲本、F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 代基因组 DNA 的 PCR 扩增产物

Fig. PCR products amplified with OPN11 in parents, F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> plants of "95-5383 × HB1"

### 3 讨论

#### 3.1 关于顶枯抗病性划分和产生的原因

本试验各杂交组合 F<sub>2</sub> 代接种 SMV3 号株系后出现了许多顶枯植株。关于对顶枯抗病性划分一直争议较大, Buzzell<sup>[3]</sup>、Buss<sup>[14]</sup>、Bowers<sup>[15]</sup> 认为在病理学上属于过敏性抗性反应, 在遗传研究时将其划分为抗病反应。而廖林<sup>[16]</sup> 和 Lim<sup>[17]</sup> 则将顶枯症状划分为感病。我们认为顶枯对生产造成严重的损失甚至颗粒无收, 故本研究将其划分为感病。

关于顶枯产生的原因, Buss<sup>[14]</sup> 研究发现坏死反应和杂合抗性基因紧密相关。Chen 等<sup>[18]</sup> 认为坏死反应的产生有 2 种情况: 一是对某一株系在纯合状态为坏死的等位基因对于抗或感的该株系的等位基

因为显性。二是对某一株系在纯合状态为抗性的等位基因在和感病基因处在杂合状态时通常表现为坏死。本研究 95-5383 × HB1 的 F<sub>2</sub> 群体接种 SMV 后 35 株顶枯植株中有 34 株在 RAPD 标记上表现为杂合型, 与第 2 种情况相符, 因此推测多数顶枯单株在基因型上都是杂合的。由于顶枯植株不能结实, 可以将对 F<sub>2</sub> 接种改为对 F<sub>2:3</sub> 株系接种来验证顶枯植株是否为杂合。

#### 3.2 95-5383 抗性遗传规律

本研究结果表明, 95-5383 对 SMV3 号株系抗性受一对隐性基因控制, 这与孙志强<sup>[7]</sup> 研究结果一致。然而, 陈怡<sup>[8]</sup>、Chen<sup>[4]</sup>、向远道<sup>[19]</sup> 等研究结果表明, 大豆对 SMV 的抗性受一对显性基因控制。这种差别主要是由于各研究者所用的抗源或株系不同, 即抗源的遗传背景不同, 对同一株系的反应不同; 同一抗源对不同株系的抗性遗传也不同。另外, 对顶枯抗病性的不同划分也直接影响了抗性遗传规律。

本文推测顶枯单株是杂合型, 则抗病、顶枯、纯合感病的单株理论比例应该是 1: 2: 1, 但田间表现型比例却为 30: 35: 34, RAPD 标记基因型比例为 28: 40: 31。主要原因是 95-5383 × HB1 的 F<sub>2</sub> 群体是温室加代获得, 由于 F<sub>1</sub> 种子数目少, 99 株 F<sub>2</sub> 个体是由十几株 F<sub>1</sub> 种子组成, 因此结果偏离预期比例。今后可在田间繁殖 F<sub>1</sub>, 获得大量种子加以验证。另一个原因可能是环境条件的影响, Chen<sup>[4]</sup> 在实验中观察到仅有一个组合符合预期比例, 这表明, 环境对坏死反应表达有影响, 并且不同的抗病基因对坏死反应的表达也不同。

#### 3.3 与 SMV 抗性基因连锁的共显性 RAPD 标记

RAPD 标记通常是显性的, 带的缺失可能是由于引物结合位点的缺失或改变, 或在引物结合位点间有碱基插入使距离过大而不能扩增。本研究鉴定

出与 SMV 抗性基因连锁的共显性 RAPD 标记 OPN11<sub>980/1070</sub>, 在分离群体中表现为两条迁移率不同的带, 其多态性是在引物结合位点之间具有一个或多个插入或缺失片段。虽然多数 RAPD 标记是显性, 但也有共显性的 RAPD 标记报道<sup>[20]</sup>。与共显性的 RFLP 和同工酶相比, 显性遗传是 RAPD 标记的缺点。共显性的 RAPD 标记则克服了该缺点, 可以区分纯合型和杂合型, 用于 F<sub>2</sub> 群体作图以及抗病育种中标记辅助选择, 对隐性抗病基因的选择可减少回交育种的世代, 有利于基因累加。本研究发现 OPN11 在 5383× HB1 的 F<sub>1</sub> 植株及 F<sub>2</sub> 杂合标记个体中扩增出一条非亲本的片段, 该片段可能是杂合双链 DNA 分子, 由于该片段构象的变化使其在电泳中迁移率比两条亲本特征带都略慢, 在其它共显性 RAPD 标记中也发现了非亲本的杂合双链 DNA<sup>[20]</sup>。Davis 论述到“我们鉴定了几个共显性的 RAPD 标记, 这些标记的共同特点是在杂合单株中有一个非亲本的杂合双链 DNA 片段存在。”

本研究鉴定的与 SMV 抗性基因紧密连锁的共显性 RAPD 标记重复性好, 容易鉴别, 在不同实验室用不同的 PCR 程序都能扩增出来, 而且在不同年度间结果一致。不仅可用于大豆抗 SMV 分子标记辅助育种, 减少连锁累赘, 不用繁殖毒源和接种鉴定; 也可以将多个抗病基因累加到一个品种中, 这将不仅防止新的病毒株系的出现, 也增加当前品种的抗性水平。

致谢: 感谢中国科学院遗传研究所郑先武提供 Mapmaker 软件并帮助计算连锁值。

### References:

- [ 1 ] K iihl R A S, E E H artw ig. Inheritance of reaction to soybean mosaic virus in soybeans[ J]. Crop Science, 1979, 19: 372-375.
- [ 2 ] Buzzell R I, J C Tu. Inheritance of resistance to soybean mosaic virus[ J]. J. Hered. 1984, 75: 82.
- [ 3 ] Buzzell R I, Tu J C. Inheritance of a soybean stem-tip necrosis reaction to soybean mosaic virus[ J]. Journal of Heredity, 1989, 80(5): 400- 401.
- [ 4 ] Chen P, Buss G R, Roane C W, et al. Allelism among genes for resistance to soybean mosaic virus in strain-differential soybean cultivars[ J]. Crop Science, 1991, 31: 305- 309.
- [ 5 ] Chen P, Buss G R, Tolin S A. Resistance to soybean mosaic virus conferred by two independent dominant genes in PI 486355[ J]. Journal of Heredity, 1993, 84(1): 25- 28.
- [ 6 ] Lu W Q, Zhang M H, Wei P W, et al. Classification and distribution of strains of soybean mosaic virus in Northeast China[ J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1985, 15(4): 225-228. (in Chinese)  
吕文清, 张明厚, 魏培文, 等. 东北三省大豆花叶病毒 (SMV) 株系的种类与分布[ J]. 植物病理学报, 1985, 15(4): 225- 228.
- [ 7 ] Sun Z Q, Liu Y Z, Sun D M. Inheritance of resistance to SMV strain 1, 2, 3 in soybean[ J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 1990, (2): 20- 24. (in Chinese)  
孙志强, 刘玉芝, 孙大敏. 大豆对大豆花叶病毒 1, 2, 3 号株系抗性的遗传[ J]. 中国油料, 1990, (2): 20- 24.
- [ 8 ] Chen Y, Luan X Y, Gu X Z, et al. Inheritance of soybean varieties to SMV3[ J]. Heilongjiang Agricultural Science, 1990, (5): 23- 25. (in Chinese)  
陈 怡, 栾晓燕, 谷秀芝, 等. 大豆品种抗花叶病毒 3 号株系的遗传研究初报[ J]. 黑龙江农业科学, 1990, (5): 23- 25.
- [ 9 ] Luan X Y. Inheritance of soybean plant resistant to No. III strain of soybean mosaic virus[ J]. Soybean Science, 1997, 16(3): 223- 226. (in Chinese)  
栾晓燕. 大豆对 SMV3 号株系成株抗性遗传的研究[ J]. 大豆科学, 1997, 16(3): 223- 226.
- [ 10 ] Michelm ore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations [ J]. Genetics, 1991, 88: 9828- 9832.
- [ 11 ] Yu Y G, Sanghai Maroof M A, Buss G R. RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance [ J]. Phytopathology, 1993, 84: 60- 64.
- [ 12 ] Gai J Y, Zhang Z Y. RAPD and RFLP markers linked with the gene resistant to a SMV train in China[ J]. Soybean Genetic Newsletter, 1997, 24: 75- 76.
- [ 13 ] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue[ J]. Focus, 1990, 12: 13- 15.
- [ 14 ] Buss G R, Roane C W, Tolin S A, et al. Inheritance of reaction to soybean mosaic virus in two soybean cultivars [ J]. Crop Science, 1989, 29: 1439- 1441.
- [ 15 ] Bowers G R Jr, Paschal E H, et al. Inheritance of resistance to soybean mosaic virus in “Buffalo” and “HLS” soybean[ J]. Crop Sci 1992, 32: 67- 72.
- [ 16 ] Liao L, Liu Y Z, Sun D M, et al. Top necrosis symptom of soybean plants infected by Soybean mosaic virus(SMV)[ J]. Acta Agronomica Sinica, 1995, 21(6): 707 - 710. (in Chinese)  
廖 林, 刘玉芝, 孙大敏, 等. 大豆花叶病引起的大豆顶端坏死症[ J]. 作物学报, 1995, 21(6): 707- 710.
- [ 17 ] Lim S M. Resistance to soybean mosaic virus in soybeans [ J]. Phytopathology, 1985, 75: 199- 201.
- [ 18 ] Chen P, Buss G R, Roane C W, et al. Inheritance in soybean of resistant and necrotic reactions to soybean mosaic virus [ J]. Crop Sci. 1994, 34: 414- 422.
- [ 19 ] Xiang Y D, Gai J Y, Ma Y H. Resistance and inheritance of soybean to four strains of soybean mosaic virus[ J]. Acta Genetica Sinica, 1991, 18(1): 51- 58. (in Chinese)  
向远道, 盖钧镒, 马育华. 大豆对 4 个大豆花叶病毒株系的抗性及其连锁遗传研究[ J]. 遗传学报, 1991, 18(1): 51- 58.
- [ 20 ] Davis T M, Yu H, Haigis K M, et al. Template mixing: a method of enhancing detection and interpretation of codominant RAPD markers[ J]. Theor. Appl. Genet. 1995, 91: 582- 588.