

大豆对 SMV SC-13 株系群的抗性遗传及基因定位的研究

郭东全,王延伟,智海剑,盖钧镒,李海朝,李 凯

(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,南京 210095)

摘要 在接种 SC-13 株系群的情况下,鉴定了科丰 1 号×南农 1138-2 的 P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_2 和 184 个重组自交家系(RIL)的抗性,结果显示,科丰 1 号(P_1)与 F_1 全部表现抗病,南农 1138-2(P_2)全部表现感病,表明抗性为显性; F_2 群体和 184 个重组自交家系出现抗感分离,卡方适合性检测表明 F_2 群体抗感分离符合 3:1 的比例,重组自交家系抗、感符合 1:1 分离比率。表明对 SC-13 株系群的抗性由一对基因控制,以 R_{sc-13} 表示。利用已建立的遗传连锁图对 R_{sc-13} 进行了连锁分析,结果将抗病基因 R_{sc-13} 定位于 N8-D1b+W 连锁群上,并与抗性基因 $Rn1$ 、 $Rn3$ 、 R_{sc-7} 连锁。

关键词 大豆;大豆花叶病毒;抗性遗传;基因定位

中图分类号 S 565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)01-0021-04

INHERITANCE AND GENE MAPPING OF RESISTANCE TO SMV STRAIN GROUP SC-13 IN SOYBEAN

GUO Dong-quan, WANG Yan-wei, ZHI Hai-jian, GAI Jun-yi, LI Hai-chao, LI Kai

(Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University/National Center for Soybean Improvement/National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement Nanjing 210095)

Abstract The P_1 , P_2 , F_1 , F_2 and 184 RILs of Kefeng No. 1×Nannong1138-2 were inoculated with the SMV strain group SC-13 to evaluate their resistance. The results showed that Kefeng No. 1 and F_1 were resistant to SC-13, Nannong 1138-2 was susceptible. F_2 segregated in a 3:1 ratio and the RILs in a 1:1 ratio, which indicated a dominant gene controlled the resistance to SC-13. Through linkage analysis, the resistance gene R_{sc-13} was mapped on the linkage group N8-D1b+W and linked with $Rn1$, $Rn3$, R_{sc-7} .

Key words Soybean; Soybean Mosaic Virus; Resistance inheritance; Gene mapping

大豆花叶病毒(Soybean Mosaic Virus, SMV)病是世界性大豆病害,严重威胁大豆的生产。智海剑等^[1]研究表明,大豆对 SMV 存在抗侵染和抗扩展两类遗传机制不同的抗性。目前对大豆抗性的研究主要集中在大豆对 SMV 的抗侵染。大豆对大豆花叶病毒病的抗性分为成株抗性、种传抗性和种粒

抗性,总称为完全抗性。深入研究大豆对 SMV 的抗性,可以更好的指导大豆抗病品种的选育,有效的防治大豆花叶病毒病的流行。各国已有多位学者采用不同抗源和病毒株系研究了大豆对 SMV 抗性的遗传,多数研究表明大豆对 SMV 的抗性遗传是由一对显性基因控制^[2~12]。但也有一些研究者得出

收稿日期:2006-04-11

基金项目:国家自然科学基金(30571176)、973 项目(2004CB117203),长江学者和创新团队发展计划

作者简介:郭东全(1979-),男,硕士,现在吉林省农业科学院工作,从事大豆遗传转化研究。

通讯作者:盖钧镒教授,中国工程院工程院院士。智海剑。Tel:025-84396463;E-mail:zhj@njau.edu.cn

了不同的结论^[13~17]。

关于抗性基因的定位, Yu等^[18]利用 PI96983 (R) × Lee68 (S)组合的 107 株 F₂ 个体以及 RFLP 和 SSR 标记将对 G1 株系的抗病基因 *Rsv1* 定位在 F 连锁群上;王永军等^[19]和战勇^[20]利用中国科学院遗传与发育生物学研究所和南京农业大学国家大豆改良中心合作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-7*、*Rsc-8* 和 *Rsc-9* 定位于 N8-D1b+W 连锁群上。郭东全等^[21]在我国黄淮地区发现了几个新的 SMV 株系群,其中 SC-13 株系群分布较广,是该地区的主要流行株系之一。本研究旨在明确广谱抗源科丰 1 号对 SC-13 株系成株抗侵染的遗传模式,并对抗性基因进行标记定位。为针对 SC-13 的大豆抗病育种以及有关抗病基因的分离和克隆提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大豆试验材料是对 SC-13 株系群表现抗侵染的科丰 1 号(P₁)和表现感病的南农 1138-2(P₂)以及由二个品种配置的杂交组合的 F₁、F₂ 和该组合 184 个重组自交系构成的群体 NJRIKYRIL。

大豆花叶病毒材料为黄淮地区 SC-13 株系群,由郭东全等^[21]分离鉴定,在感病品种南农 1138-2 上繁殖保存。

1.2 试验方法

1.2.1 材料的接种鉴定 亲本科丰 1 号(P₁)和南农 1138-2(P₂)以及二者杂交的 F₁、F₂ 和 184 个重组自交家系均在防虫温室 indoors 盆栽。供试材料第一对真叶完全展开时,取南农 1138-2 上具有典型症状的病叶加入 0.1M pH7.5 的磷酸缓冲液和 600 目金刚砂研碎,用毛刷蘸取汁液均匀摩擦接种于供试材料的真叶上,接种后立即用清水冲洗叶片上多余的汁

液。在第一对复叶展开时在其上面重复接种一次。自第一次接种后 7d 连续观察症状,并随时挂牌标记出现症状的植株,以防以后转为隐症。大约在接种后 30d,症状基本稳定,调查并汇总结果。

1.2.2 大豆对 SMV 抗感划分标准 参照濮祖芹^[22]所采用的方法,以上位叶反应为标准,凡接种后不出现症状或只在接种叶上有局部枯斑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,均为感病类型。

1.2.3 遗传分析的统计方法 分别统计各世代抗感植株数量,对各世代的抗感分离比例进行卡方适合性检测。因自由度为 1,采用矫正后的卡平方 χ^2_c 检验实际调查的抗病与感病比例与期望比例的适合性。计算公式如下:

$$\chi^2_c = \sum [(|O - E| - 0.5)^2 / E]$$

其中 E 为理论值, O 为实际观察值, 0.5 为校正常数。

1.2.4 抗性基因的定位 根据抗病性鉴定结果,参照王永军等^[19]的分析方法,将抗病基因型赋值为 1,感病基因型赋值为 2,用 Mapmaker/Exp3.0b 分析抗病位点与标记的连锁,将抗病基因定位到中国科学院遗传与发育生物学研究所与南京农业大学国家大豆改良中心合作构建的大豆遗传图谱上。

2 结果与分析

2.1 科丰 1 号及其后代对 SC-13 株系群的抗性遗传分析

科丰 1 号 × 南农 1138-2 组合的亲本及后代接种 SC-13 株系群后的鉴定结果见表 1,抗性亲本科丰 1 号表现全部抗病,感病亲本南农 1138-2 表现全感, F₁ 代接种后全部表现为抗病,与抗性亲本表现

表 1 科丰 1 号 × 南农 1138-2 组合对 SC-13 株系群的抗性分析

Table 1 The resistance evaluation of the cross from Kefeng 1 × Nannong 1138-2 to SC-13

亲本及后代 Cross or parent	株数 No. of plants			χ^2_c	概率(P)
	抗病 R	感病 S	总株数 Total		
科丰 1 号 Kefeng1	40	0	40		
南农 1138-2 Nannong1138-2	0	40	40		
科丰 1 号 × 南农 1138-2(F ₁)	24	0	24		
Kefeng1 × Nannong1138-2(F ₁)					
科丰 1 号 × 南农 1138-2(F ₂)	79	24	103	0.226 (3 : 1)	0.75~0.5
Kefeng1 × Nannong1138-2(F ₂)					
科丰 1 号 × 南农 1138-2 重组自交家系	80	104	184	2.857(1 : 1)	0.10~0.05
Kefeng1 × Nannong1138-2(RIL)					

一致,表明抗病基因为显性,感病基因为隐性。

接种 SC-13 后 F_2 代群体出现了抗感分离,其中抗性植株 79 个,感病植株 24 个,适合性检测表明 F_2 代植株的抗感分离符合 3:1 的比例,推测抗性受一对基因控制。184 个重组近交家系接种 SC-13 后,抗感分离符合一对基因 1:1 的分离比例,证实对 SC-13 的抗性是受一对基因控制。综合 F_1 、 F_2 以及 RIL 的结果可以得出,科丰 1 号对 SC-13 株系群的抗性受一对显性基因控制,这里以 R_{sc-13} 表示。

2.2 大豆对 SMV SC-13 株系群抗性基因的定位

对科丰 1 号×南农 1138-2 组合的重组自交家系 $F_{7:11}$ 的 184 个家系及亲本在接种 SC-13 株系群的情况下进行抗性鉴定,结果表明有 80 个家系与科丰 1 号的反应一致,均表现抗病,记为 1;104 个家系与南农 1138-2 的反应一致,均表现感病,记为 2。利用中国科学院遗传与发育生物学研究所与南京农业大学国家大豆改良中心合作构建的大豆遗传图谱,用 Mapmaker/Exp3.0b 进行连锁分析,将 R_{sc-13} 定位在 N8-D1b+W 连锁群上,分别与对东北 1 号和 3 号以及黄淮地区 SC-7 株系群的抗性基因 $Rn1$ 、 $Rn3$ 、 R_{sc-7} 连锁,连锁值分别为 25.0cM、14.7cM 和 18.4cM。如果只考虑这四个位点,它们的排列顺序和连锁距离为 $Rn1-10.3cM-Rn3-14.7cM-R_{sc-13}-18.4cM-R_{sc-7}$ (图 1)。

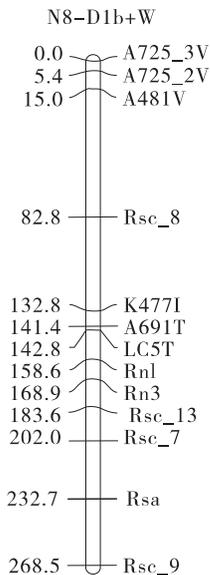


图 1 抗病基因 R_{sc-13} 的定位

Fig. 1 Mapping of the resistant gene to SMV SC-13 strain

3 讨论

同国内外大多数研究结果一样^[2~12],本研究表明大豆对 SMV SC-13 株系群的抗性由一对基因控制,且抗性基因为显性。但也有部分不同研究结果的报道,如抗性由一对基因控制,抗性基因为隐性^[13,14];抗性由两对具有抑制作用的显性基因控制^[14];抗性由两对显性互补基因控制^[15,16];抗性由两对隐性互补基因控制^[16,17]等。不同遗传方式的原因可能是各研究者使用的抗源材料不同,所针对的病毒株系不同,即便是同一份抗源材料,对不同的 SMV 株系的抗侵染,也可能会有不同的遗传方式。另外,不同的研究者所使用的抗感划分标准也有差异,因此在了解对某一株系的抗性遗传规律时,应同时注意所使用的材料和抗感划分的方法。

本研究中将科丰 1 号对 SC-13 株系群的抗性基因定位在了 N8-D1b+W 连锁群上,王永军等^[19]和战勇^[20]把 Rsa 、 R_{sc-7} 、 R_{sc-8} 、 R_{sc-9} 、 $Rn1$ 、 $Rn3$ 等也定位在 N8-D1b+W 连锁群上,国外 Hayes 等^[23]对 USDA/ISU 群体进行 RFLP 和 SSR 标记,将 $Rsv4$ 也定位在 D1b 连锁群上。由此推测大豆对大豆花叶病毒的抗性基因是成簇存在的。但在国外已经发现的 $Rsv1$ 、 $Rsv3$ 、 $Rsv4$ 等对 SMV 的抗性基因均可抗多个 SMV 株系,因此,广谱抗源科丰 1 号对多个 SMV 株系的抗性基因都位于 N8-D1b+W 连锁群上的实质究竟是一个抗性基因兼抗多个株系的,还是由于抗源中分别存在着对不同株系的抗性基因,目前的研究虽倾向于多个基因的观点,但不能完全排除一个抗性基因兼抗多个株系的可能,这个问题有待通过合理的试验设计去进一步研究。如果 1 个抗性基因具有对多个株系的抗性,则通过常规杂交育种或结合分子标记辅助选择即可培育抗多个株系的品种,如果抗性基因成簇存在,如何利用技术手段获取多个抗性基因成簇存在的 DNA 片段需要探讨。

参 考 文 献

- [1] 智海剑,盖钧镒.大豆对 SMV 数量抗性的育种[J].大豆科学,2004,(1):1-5.
- [2] Wang Y. Genetic analysis of resistance to soybean mosaic virus in four soybean cultivars from China[J]. Crop Science, 1998, 38:922~925.

- [3] Lim. S. M. Resistance to soybean mosaic virus in soybeans [J]. *Phytopathology*, 1985, 75:199—201.
- [4] Bowers G J, Goodman R M. New sources of resistance to seed transmission of soybean mosaic virus in soybeans [J]. *Crop Science*, 1992, (22): 155—156.
- [5] Buzzell R, Tu J C. Inheritance of soybean stem resistance to soybean mosaic virus [J]. *The Journal of Heredity*, 1984, 75:82.
- [6] Kiihl R A S, Hartwig E E. Inheritance of reaction to soybean mosaic virus in soybean [J]. *Crop Science*, 1979, 19: 372—375.
- [7] Gai Junyi, Hu Y Z. Inheritance of resistance of soybean to four local strains of soybean mosaic virus. *World Soybean Research Conference IV.*, 1989, 1182—1187.
- [8] 严隽析, 马育华. 大豆花叶病抗性遗传的初步研究[J]. *大豆科学*, 1985, 4(4): 249—259.
- [9] 张玉东, 盖钧镒, 马育华, 等. 大豆对两个大豆花叶病毒本地株系抗性的遗传研究[J]. *作物学报*, 1989, 15(3): 213—220.
- [10] 王修强, 盖钧镒, 喻德跃. 广谱抗源科丰1号对大豆花叶病毒强毒株系群 SC-8 抗性的遗传研究[J]. *大豆科学*, 2003, 8(3): 190—192.
- [11] 胡蕴珠, 盖钧镒, 马育华等. 大豆对两个 SMV 株系抗性的遗传研究[J]. *南京农业大学学报*, 1985, (3): 17—22.
- [12] 东方阳. 大豆对 SMV 株系抗性遗传分析和 RAPD 标记研究 [D]. *南京农业大学博士论文*, 1999.
- [13] 廖林, 刘玉芝, 孙大敏, 等. 大豆花叶病毒的抗性遗传—几个引
用抗原对东北大豆花叶病毒二号株系的抗性遗传[J]. *遗传学报*, 1994, 21(5): 403—408.
- [14] Kwon S H, Oh J H. Resistance to a necrotic strain of soybean mosaic virus in soybean. *Crop Science*, 1979, 20: 403—404.
- [15] 栾晓燕. 大豆对 SMV 3 号株系成株抗性遗传的研究[J]. *大豆科学*, 1997, 16(3): 223—226.
- [16] 陈怡. 大豆种质对 SMV1 号株系的抗性遗传[J]. *黑龙江农业科学*, 1999, (1): 4—6.
- [17] 陈怡, 栾晓燕, 黄承运, 等. 大豆对大豆花叶病毒本地株系抗性的遗传研究[J]. *作物学报*, 1990, 15(3): 213—220.
- [18] Yu Y G, Saghai Maroof M A, Buss G R, et al. RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance [J]. *Phytopathology*, 1994, 84: 60—64.
- [19] 王永军, 东方阳, 王修强, 等. 大豆 5 个花叶病毒株系抗性基因的定位[J]. *遗传学报*, 2004, 31(1): 87—90.
- [20] 战勇. 黄淮地区大豆花叶病毒的生物学检测、株系鉴定及大豆抗性的遗传与基因定位[D]. *南京农业大学硕士论文*, 2003.
- [21] 郭东全, 智海剑, 王延伟, 等. 黄淮中北部大豆花叶病毒株系的鉴定与分布[J]. *中国油料作物学报*, 2005(04): 22—26.
- [22] 濮祖芹, 曹琦, 房德纯, 等. 大豆花叶病毒的株系鉴定[J]. *植物保护学报*, 1982, 9(1): 15—19.
- [23] Hayes AJ, Ma G, Buss GR, Saghai Maroof MA. Molecular marker mapping of *Rsv4*, a gene conferring resistance to all known strains of soybean mosaic virus [J]. *Crop Science*, 2000, 40(5): 1434—1437.

欢迎订阅 2007 年《分子植物育种》

《分子植物育种》是由国家科技部和国家新闻出版署批准,由张启发院士主编。本刊"立足国内,面向国际",是一份为转基因育种、分子标记辅助育种及常规育种服务的国际化科学杂志,主要围绕水稻、小麦、玉米、油菜、大豆、棉麻、薯类、果树、蔬菜、花卉、茶叶、林草等方面,刊登分子遗传育种理论、分子育种方法、分子育种研究动态以及优良种质培育的科学论文报道,包括主编评述,研究论文,研究报告,专题介绍,新基因、新种质、新品种,新思路、新技术、新方法等栏目。本刊内容新颖、信息量大、报道及时、可读性强,为中国自然科学核心期刊。

本刊为大 16 开本,150 页,双月刊,铜版纸彩色印刷,国内外公开发行的生命科学学术期刊。国内刊号: CN46—1068/S,邮发代号: 84—23,联合征订代号: 6512。国际刊号: ISSN1672—416X,海外发行代号 1672 BM,海外发行机构: 中国图书进出口(集团)总公司出口部。每期定价 40 元,全年 240 元(含邮寄费)。可通过邮局订阅,也可直接跟编辑部联系。详情请浏览 <http://fzzw.chinajournal.net.cn> 或 <http://www.hitar.org>。

编辑部联系方式:

邮编: 570206

地址: 海南省海口市海秀中路 107 号北岸青年公寓 507 室

电话: 0898—68966415

Email: mpb@hitar.org