

# 大豆对 SMV 株系 SC-11 的抗性遗传及抗病基因的等位性研究<sup>\*</sup>

李海朝 智海剑 白 丽 杨 华 马 莹 刘 宁 王大刚

(作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京农业大学大豆研究所,  
国家大豆改良中心, 南京 210095)

**摘要** 利用对我国北方大豆产区流行株系 SC-11 表现抗病的材料科丰1号、邳县茶豆、大白麻、齐黄22、诱变30、PI96983、Kwanggyo 和感病材料南农1138-2、南农18-6 配制的抗感和抗抗杂交组合, 研究了对 SC-11 的抗性遗传以及不同材料的抗病基因间的等位性关系。结果表明, 科丰1号、邳县茶豆、大白麻、PI96983、Kwanggyo、齐黄22、诱变30 与感病品种杂交的  $F_1$  表现抗病,  $F_2$  呈3抗:1感分离比例,  $F_2$  3家系呈1抗:2感分离:1感病的分离比率, 证明它们对 SC-11 的抗性由单显性基因控制。PI96983×Kwanggyo 和齐黄22×诱变30 杂交后的  $F_2$  群体未发现抗感分离, 表明 PI96983 与 Kwanggyo 以及齐黄22与诱变30 对 SC-11 的抗性基因是等位或紧密连锁的。大白麻与科丰1号、邳县茶豆、诱变30, 科丰1号与 Kwanggyo, PI96983 与邳县茶豆杂交的  $F_2$  呈15抗:1感的比例分离, 初步表明大白麻与科丰1号、邳县茶豆、诱变30, 科丰1号与 Kwanggyo, PI96983 与邳县茶豆所携带的抗 SC-11 的基因是不等位的, 而且2个抗性基因独立遗传。

**关键词** 大豆; 大豆花叶病毒; 抗性遗传; 等位性

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2006)04-0365-04

大豆花叶病毒(soybean mosaic virus, SMV)是一种世界性大豆病害, 尤其在亚洲发生较重, 严重影响大豆的产量和品质。

大豆花叶病毒存在明显的株系分化, 最近, 郭东全等<sup>[1]</sup>和王延伟等<sup>[2]</sup>分别对黄淮和东北地区的 SMV 株系进行了鉴定, 发现 SC-11 是黄淮中北部地区的流行株系, 在东北地区也有一定的分布。

国内外许多学者对大豆花叶病毒的抗性遗传进行了研究, 多数研究认为大豆对 SMV 的抗侵染由一对显性基因控制<sup>[3~8]</sup>。美国确定了3个抗性基因, 其中由 PI96983 携带的 Rsv1 抗美国 G1-G4 株系, 有9个不同品种携带它的等位基因<sup>[9]</sup>; R抗 G5-G7 株系, 有两个品种携带它的等位基因<sup>[10]</sup>; Rsv4 抗 G1-G7 株系<sup>[11]</sup>。由此可以看出, 对 SMV 同一株系存在不同位点的抗性基因, 同一抗性基因也可以抗不同的株系。但国内迄今没有类似的研究报道。

如果所有的育成品种都具有相同的抗侵染基

因, 由于株系的变异, 一旦出现可以克服该抗性基因的株系, 所有品种都将丧失抗性, 极易发生病毒病的大面积流行。因此开展对抗性基因的等位性测验, 寻求不同的抗性基因, 拓宽抗病育种的抗性种质, 通过不同抗性基因的合理分布以及将多个抗病基因聚于一体可以克服由于大豆抗性基因狭窄所带来的遗传脆弱性, 降低 SMV 流行的风险。

SC-11 是新鉴定的黄淮中北部地区的 SMV 流行株系, 对其抗性的研究还未见报道。本研究目的是明确大豆对 SC-11 株系的抗性遗传方式, 研究不同抗性材料的抗性基因间的等位关系, 为抗病育种亲本选配和后代选择提供理论指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

\* 收稿日期: 2006-02-09

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

作者简介: 李海朝(1979-), 男, 硕士研究生, 研究方向为大豆抗病遗传与分子标记。

通讯作者: 智海剑, Tel: 025-84396463, E-mail: zhj@njau.edu.cn

2004 年夏在南京农业大学江浦实验站利用抗性材料 PI96983、Kwanggyo、大白麻、科丰 1 号、邳县茶豆和感病材料南农 1138-2 以及南农 18-6 配制抗×感和抗×抗杂交组合。同年冬 F<sub>1</sub> 在海南加代得 F<sub>2</sub> 种子。2005 年夏在江浦实验站播种 F<sub>2</sub> 得 F<sub>2:3</sub> 种子。大豆花叶病毒株系 SC-11 由郭东全等<sup>[1]</sup> 分离鉴定,在南农 1138-2 上繁殖保存。

1.2 试验方法

在防虫网室内种植 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 和 F<sub>2:3</sub>。当

第一对真叶完全展开时,按常规摩擦接种方法接种。取南农 1138-2 上症状典型的叶片加入 0.1M、pH7.5 的磷酸缓冲液(约每 1g 新鲜叶片加 5mL 缓冲液)再加少许金刚砂在研钵中研成匀浆,然后用毛刷将匀浆涂到第一对展开的真叶上,然后用自来水冲洗。第一对复叶展开时重复接种一次。一周后开始调查发病情况,每三天调查一次,直至接种后一个月。凡是上位叶有花叶症状反应的均视为感病。对各组合分离世代的调查结果做  $\chi^2$  适合性测验。

表 1 抗感杂交组合各世代对 SC-11 的抗性反应

Table 1 Segregation reactions of the F<sub>2</sub> population and F<sub>2:3</sub> lines from resistant (R)× susceptible(S) crosses to SC-11

亲本或后代 Cross or parent	株数 No. of plants				$\chi^2$	p
	总株数 Total	抗 R	分离 Seg	感 S		
PI96983(P <sub>1</sub> )	20	20		0		
PI96983× 南农 1138-2(F <sub>1</sub> )	6	6		0		
PI96983× 南农 1138-2(F <sub>2</sub> )	158	121		37	0.14(3 : 1)	0.75 ~ 0.50
PI96983× 南农 1138-2(F <sub>2:3</sub> )	102	26	56	20	1.69(1 : 2 : 1)	0.50 ~ 0.25
南农 1138-2(P <sub>2</sub> )	20	0		20		
大白麻(P <sub>1</sub> )	20	20		0		
大白麻× 南农 1138-2(F <sub>1</sub> )	12	12		0		
大白麻× 南农 1138-2(F <sub>2</sub> )	117	83		34	0.82(3 : 1)	0.50 ~ 0.25
大白麻× 南农 1138-2(F <sub>2:3</sub> )	141	45	68	28	4.28(1 : 2 : 1)	0.25 ~ 0.10
南农 1138-2(P <sub>2</sub> )	25	0		25		
南农 18-6(P <sub>1</sub> )	20	0		20		
南农 18-6× Kwanggyo (F <sub>1</sub> )	8	8		0		
南农 18-6× Kwanggyo(F <sub>2</sub> )	199	154		45	0.48(3 : 1)	0.50 ~ 0.25
南农 18-6× 南农 1138-2(F <sub>2:3</sub> )	219	63	105	51	1.68(1 : 2 : 1)	0.50 ~ 0.25
Kwanggyo(P <sub>2</sub> )	30	30		0		
科丰 1 号(P <sub>1</sub> )	25	25		0		
科丰 1 号× 南农 1138-2(F <sub>1</sub> )	15	15		0		
科丰 1 号× 南农 1138-2(F <sub>2</sub> )	213	163		50	0.19(3 : 1)	0.75 ~ 0.50
科丰 1 号× 南农 1138-2(F <sub>2:3</sub> )	173	48	93	32	3.94(1 : 2 : 1)	0.25 ~ 0.10
南农 18-6× 邳县茶豆(F <sub>1</sub> )	7	7		0		
南农 18-6× 邳县茶豆(F <sub>2</sub> )	235	166		69	2.16(3 : 1)	0.25 ~ 0.10
邳县茶豆(P <sub>2</sub> )	20	20		0		
齐黄 22(P <sub>1</sub> )	20	20		0		
齐黄 22× 南农 1138-2(F <sub>1</sub> )	10	10		0		
齐黄 22× 南农 1138-2(F <sub>2</sub> )	161	126		35	0.75(3 : 1)	0.75 ~ 0.50
诱变 30(P <sub>1</sub> )	25	25		0		
诱变 30× 南农 1138-2(F <sub>1</sub> )	11	11		0		
诱变 30× 南农 1138-2(F <sub>2</sub> )	175	132		43	0.002(3 : 1)	0.95 ~ 0.90

注: R 代表抗病, S 代表感病, Seg 代表分离家系  
R represents resistant, S represents susceptible, Seg segregation lines

2 结果与分析

2.1 抗性鉴定与遗传分析

7 个杂交组合后代调查结果以及卡方适合性测验结果见表 1, PI96983× 南农 1138-2, 大白麻× 南农 1138-2, 南农 18-6× Kwanggyo, 科丰 1 号× 南农

1138-2 和南农 18-6× 邳县茶豆 5 个组合的 F<sub>1</sub> 均表现抗病, F<sub>2</sub> 分离结果经卡方测验均符合 3 抗 : 1 感分离比例, F<sub>2:3</sub> 家系符合 1 抗 : 2 分离 : 1 感的分离比例, 结果证实 PI96983、大白麻、Kwanggyo、科丰 1 号、邳县茶豆均各有一个基因控制对 SC-11 株系的抗性, 且抗病表现为显性。

2.2 等位性分析

表 2 显示, 齐黄 22× 诱变 30、PI96983×

Kwanggyo 的 F<sub>1</sub> 表现抗病、F<sub>2</sub> 均未发现感病株, 表明诱变 30 与齐黄 22、PI96983 与 Kwanggyo 所携带的对 SC-11 的抗病基因是等位的或紧密连锁的, 因为两个亲本所携带的抗性基因如果不同但紧密连锁, 感病基因型由于频率极低, 在一般的小群体中很难出现, 所以结果与单基因分离结果相同, 因此, 本实验认为诱变 30 与齐黄 22、PI96983 与 Kwanggyo 所携带的对 SC-11 的抗病基因是等位的, 但不完全

表 2 抗抗杂交组合 F<sub>2</sub> 对 SC-11 的反应

Table 2 Segregation reactions of the F<sub>2</sub> population from R×R crosses to strain SC-11

杂交组合 Cross	株数 No. of plants			感 S	x <sup>2</sup> (15 : 1)	P
	总株数 Total	抗 R	分离 Seg			
PI96983×Kwanggyo	193	193	0			
大白麻×科丰 1 号(F <sub>2</sub> ) Dabaima×Kefengyi1(F <sub>2</sub> )	131	118	13	2.42	0.25~0.10	
科丰 1 号×Kwanggyo(F <sub>2</sub> ) Kefengyi1×Kwanggyo(F <sub>2</sub> )	164	150	14	1.10	0.75~0.50	
PI96983×邳县茶豆(F <sub>2</sub> ) PI96983×Pixianchadou (F <sub>2</sub> )	98	88	10	1.98	0.50~0.25	
大白麻×邳县茶豆(F <sub>2</sub> ) Dabaima×Pixianchadou (F <sub>2</sub> )	225	208	17	0.13	0.75~0.50	
齐黄 22×诱变 30(F <sub>2</sub> ) Qihuang22×Youbian30(F <sub>2</sub> )	97	97	0			
大白麻×诱变 30 (F <sub>2</sub> ) Dabaima×诱变 30 (F <sub>2</sub> )	193	174	19	3.66	0.10~0.05	

注: R 代表抗病, S 代表感病, R represents resistant, S represents susceptible.

3 讨论

南农 18-6×Kwanggyo 及其亲本接种 SC-11 约 40 天后, 30 株 Kwanggyo 中有两株产生顶端坏死, 8 株 F<sub>1</sub> 有 3 株产生顶端坏死, F<sub>2</sub> 代的症状反应分为 4 部分: (1) 无症状; (2) 中下部叶片产生圆形坏死斑, 而上部叶片无任何症状; (3) 顶端坏死; (4) 皱缩花叶。如采用 Chen 等<sup>[5]</sup>、郑翠明等<sup>[15]</sup> 的划分方法, 将坏死看作抗病, F<sub>2</sub> 呈 3 抗(R+N):1 感(S)的分离比例。大白麻×南农 1138-2 组合接种 SC-11 后, F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 在苗期均无坏死株出现, 在成株期(约接种后 40 天)F<sub>1</sub> 代 12 株中有 7 株中下部叶片产生圆形坏死斑、部分 F<sub>2</sub> 在苗期抗病(无系统花叶症状)的植株中下部叶片产生圆形坏死斑。研究中也发现相同环境条件下坏死出现的早晚有差异。无论在抗抗组合还是在抗感组合 F<sub>2</sub> 接种一个月后均出现不同数量的坏死株, 坏死株均来自于苗期的抗病株。

在研究中发现, 齐黄 1 号和齐黄 22 与南农 1138-2 杂交的 F<sub>2</sub> 群体接种 SC-14 株系后, 苗期 F<sub>2</sub> 呈 3R : 1S 分离, 而在成株期呈 1R : 2N : 1S 的分离比例, 紧密连锁的共显性的 SSR 标记表明, 产生坏死反应的 F<sub>2</sub> 植株都是杂合体(结果另文发表)。

综合上述结果, 本研究认为坏死的出现可能与发育阶段有关。Chen 等<sup>[5-7]</sup> 的研究也发现 F<sub>2</sub> 呈 3 (R+N) : 1S 的分离比率, 与本研究的结果一致。

排除 2 个紧密连锁基因的可能。大白麻×科丰 1 号、大白麻×邳县茶豆、大白麻×诱变 30、PI96983 ×邳县茶豆、科丰 1 号×Kwanggyo 的 F<sub>2</sub> 呈 15R : 1S 的分离比例, 表明科丰 1 号与邳县茶豆、大白麻与诱变 30、大白麻与邳县茶豆、PI96983 与邳县茶豆、Kwanggyo 与科丰 1 号各携带一个抗 SC-11 株系的基因, 且在不同位点, 分离结果的测验也显示 2 个基因独立遗传。

而严隽析等<sup>[3]</sup> 和张玉东等<sup>[4]</sup> 的研究却发现 F<sub>2</sub> 呈 3R : 1S 分离, 没有坏死株出现, 他们研究时只调查到接种后 2~3 周, 如果调查时间延长, 或许会发现坏死个体。

国内外不同的研究者对于坏死反应在抗感归属上持有不同的观点, 国外多数研究者将坏死归为抗病, 从病理角度上, 坏死是一种过敏性反应。但国内多数研究者认为, 坏死导致严重的产量损失, 甚至颗粒无收, 从应用角度考虑, 坏死应属感病。分子遗传学研究表明: 在番茄细菌性斑点病抗性基因 Pro 编码的 R 蛋白与病原物的无毒基因蛋白在细胞内直接相互作用, 导致过敏性反应发生<sup>[14]</sup>。从分子上证实坏死是抗病的表现。大豆花叶病毒在大豆上产生的坏死反应的遗传机制和分子机制是否与此相同需要进一步研究。本研究倾向于在抗性遗传研究时把坏死归为抗病, 国外 Chen 等<sup>[5]</sup> 以及国内郑翠明等<sup>[15]</sup>、廖林等<sup>[16]</sup> 均持有类似观点。

Chen 等<sup>[5]</sup> 在对大豆花叶病毒病在大豆上的症状反应的遗传研究时发现: 1. 在纯合情况下控制对特定病毒株系表现坏死反应的等位基因对控制相同株系表现抗性 or 感病的等位基因呈显性; 2. 在纯合情况下对某一病毒株系表现出抗病的等位基因, 当其处于杂合体时表现坏死反应。Zheng 等<sup>[13]</sup> 研究了坏死反应与温度的关系, 表明坏死反应与温度有关。Ma 等<sup>[13]</sup> 研究表明, 坏死反应与发育阶段有关, 同时也认为坏死反应是基因型与环境互作的结果。

由此可见, 坏死反应可能是大豆花叶病毒株系、品种基因型、环境以及发育阶段互作的结果。

## 参 考 文 献

- 1 郭东全, 智海剑, 王延伟, 等. 黄淮中北部地区大豆花叶病毒株系的鉴定与分布[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(4): 64—68.
- 2 王延伟, 智海剑, 郭东全, 等. 中国北方春大豆区大豆花叶病毒株系的鉴定与分布[J]. 大豆科学, 2005, 24(4): 263—268.
- 3 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.
- 4 张玉东, 盖钧铭, 马育华. 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.
- 5 Chen P, Buss GR, Roane CW, et al. Inheritance in soybean of resistant and necrotic reaction to soybean mosaic virus strains [J]. Crop Sci., 1994, 34: 414—422.
- 6 Chen P, Buss GR, Gunduz I, et al. A valuable gene in Suwen97 soybean for resistance to soybean mosaic virus [J]. Crop Sci., 2002, 42: 333—337.
- 7 Chen P, Buss GR, Gunduz I, et al. Tilin SA inheritance and allelism of Raniden soybean for resistance to soybean mosaic virus [J]. J Hered., 2001, 92: 51—55.
- 8 向远道, 盖钧铭, 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, 15(3): 213—220.
- 9 Yu YG, Saghai-Marouf MA, Buss GR, et al. RFLP and micro-satellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance [J]. Phytopathology, 1994, 84(1): 60—64.
- 10 Jeong SC, Kristipati S, Hayes AJ, et al. Genetic and sequence analysis of markers tightly linked to the soybean mosaic virus resistance gene, R<sub>3</sub> [J]. Crop Sci., 2002, 42(1): 265—270.
- 11 Hayes AJ, Ma G, Buss GR, et al. Molecular marker mapping of Rsv4, a gene conferring resistance to all known strains of soybean mosaic virus [J]. Crop Sci., 2000, 40(5): 1434—1437.
- 12 Zheng C, Chen P, Gergenich R. Effect of temperature on the expression of necrosis in soybean infected with soybean mosaic virus [J]. Crop Sci., 2005, 45: 916—922.
- 13 Ma G., Chen P, Buss GR and Tolin SA. Genetic study of a lethal necrosis to soybean mosaic virus in PI507389 soybean [J]. J Hered., 2003, 94: 205—211.
- 14 葛辛. 高级植物分子生物学[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004.
- 15 郑翠明, 常汝镇, 邱丽娟. 大豆对 SMV<sub>3</sub> 号株系抗性遗传分析及抗病基因 RAPD 标记研究[J]. 中国农业科学, 2001, 34(1): 1—4.
- 16 廖林, 刘玉芝, 孙大敏, 等. 大豆花叶病毒的抗性遗传—几个引用抗源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.

## STUDIES ON INHERITANCE AND ALLELISM OF RESISTANCE GENES TO SMV STRAIN SC-11 IN SOYBEAN

Li Haichao Zhi Haijian\* Bai Li Yang Hua Ma Ying Liu Ning Wang Dagang

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

**Abstract** Seven soybean (*Glycine max* (L) Merr) cultivars with resistance to SMV strain SC-11, Kefeng1, Pixianchadou, Dabaima, Qihuang22, Youbian30, PI96983 and Kwanggyo was crossed respectively with a susceptible (S) cultivar (Nannong 1138-2 or Nannong18-6) to determine the inheritance of their resistance (R) reaction to SC-11. Each R parents were also crossed with each other to test the allelism of the resistance genes. The results showed that a dominant gene controlled the resistance to SC-11 in each of Kefeng1, Pixianchadou, Dabaima, Qihuang22, Youbian30, PI96983 and Kwanggyo respectively. The absence of S segregation in F<sub>2</sub> populations of the crosses PI96983×Kwanggyo and Qihuang22×Youbian30, indicated that the single dominant gene in them were alleles at a common locus or very closely linked. Segregation in the F<sub>2</sub> populations from Dabaima×Kefeng1, Kefeng1×Kwanggyo, PI96983×Pixianchadou, Dabaima×Pixianchadou, Dabaima×Youbian30 was consistent with a ratio of 15R : 1S. It was inferred that the resistance genes between Dabaima and Kefeng1, Pixianchadou, Youbian30; between Kefeng1 and Kwanggyo; between PI96983 and Pixianchadou were not at same locus.

**Key words** Soybean; Soybean mosaic virus (SMV); Inheritance of resistance; Allelism