

## 大豆胞囊线虫 (SCN) 抗病候选基因研究进展

魏利<sup>1,2</sup>, 李英慧<sup>2</sup>, 邱丽娟<sup>2</sup>

(1. 南昌大学 生命科学与食品工程学院, 江西 南昌 330031; 2. 中国农业科学院 作物科学研究所, 农业部作物种质资源利用重点开放实验室, 北京 100081)

**摘 要:**大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines*, Soybean cyst nematode, SCN) 是严重危害世界大豆生产的害虫, 大豆对胞囊线虫的抗性由多个基因控制, 发掘和利用抗病基因对于 SCN 抗病品种的选育至关重要。该文对包括基于 QTL 定位获得的 *rhg1* 和 *Rhg4* 抗性位点、基于比较基因组获得的线虫抗性基因 *Hs1<sup>pro-1</sup>* 同系物类的 *GmHs1<sup>pro-1</sup>* 和基于基因芯片获得的 SCN 抗病候选基因的研究进行综述, 以期为 SCN 的抗病分子育种研究提供参考。

**关键词:**大豆胞囊线虫 (SCN); 植物抗病基因; SCN 抗病候选基因; 表达模式

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841 (2010) 06-1059-06

## Progress of Soybean Cyst Nematode (SCN) Resistant Candidate Gene

WEI Li<sup>1,2</sup>, LI Ying-hui<sup>2</sup>, QIU Li-juan<sup>2</sup>

(1. College of Life Sciences and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, Jiangxi; 2. National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/Key Laboratory of Germplasm & Biotechnology, Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** Soybean cyst nematode (SCN) is a pest which damaged the production of world soybean seriously. The resistance of soybean cyst nematode was controlled by multiple genes. It is very important for exploring and applying disease-resistant genes to the SCN disease-resistant cultivar. This paper summarized genes of *rhg1* and *Rhg4* resistant loci using QTL location, *GmHs1<sup>pro-1</sup>* of homologues of *Hs1<sup>pro-1</sup>* which is a nematode resistance gene using comparative genomic, and some SCN resistant candidate genes which were based on microarray. And provided a theoretical basis for genetics and breeding of resistance.

**Key words:** Soybean cyst nematode (SCN); Plant disease resistance genes; SCN resistant candidate genes; Expression patterns

大豆胞囊线虫病 (*Heterodera glycines*, Soybean cyst nematode, SCN) 又叫黄萎病, 俗称“火龙秧子”。在世界上许多大豆主产国如美国、巴西、阿根廷和中国都有发生<sup>[1]</sup>, 大豆胞囊线虫的病害一般造成大豆减产 10% ~ 20%, 严重时减产 70% ~ 90%, 甚至造成绝产<sup>[2]</sup>。多年来, 人们在实践中发现, 轮作换茬、合理施肥和灌溉<sup>[3]</sup>对 SCN 可以起到一定的防治作用, 另外, 药剂<sup>[4]</sup>、生物防治<sup>[5]</sup>等措施方面也起到了一定程度的防治效果, 但是种植抗性品种<sup>[6]</sup>被认为是最为经济和有效且对环境最为友好的防治方法<sup>[7]</sup>。国家区域试验也将参试品种的抗 SCN 鉴定列为一项评价指标。因此, 鉴定新型的抗病种质并发掘抗性基因是最为有效和切实可行的方法, 是拓宽抗病遗传基础最有力的保障, 也是当前研究 SCN 抗性的重点之一<sup>[8]</sup>。

植物抗病基因 (Resistance genes, R 基因) 在植

物基因组中占有很大的比例, 大约占总基因数的 1% ~ 2%<sup>[9]</sup>。植物在与其病原体之间的不断斗争中生存, 并且已经开发了一系列的防御机制, 以抵御病原体对自己的攻击, 其中, 以其与传染因子之间的“基因对基因” (gene for gene) 这种生化机制最为先进<sup>[10]</sup>。“基因对基因”机制是在一些简单 (如物理或化学屏障策略) 防御失败后启动的一种较为高级的防御机制。植物抗病基因 (R 基因) 在认识特异病原体无毒蛋白 (AVR) 基因表达方面发挥着关键的作用<sup>[11]</sup>。R 基因根据其所存在的具体功能域分为 5 种不同的种类<sup>[12,13]</sup>: NBS-LRR (Nucleotide-binding site and leucine-rich-repeat, 核苷酸结合位点和富亮氨酸重复蛋白) 类型植物抗病基因家族、RLK (Receptor-like Kinases, 类受体激酶) 类型基因、RLP (Receptor-like Transmembrane Proteins, 类受体跨膜蛋白) 类型基因、STK (Serine-threonine kinase, 丝

收稿日期: 2010-09-15

基金项目: 国家高技术发展计划 (863 计划) 资助项目 (2006AA100104, 2006AA10Z164, 2006AA10A111)。

第一作者简介: 魏利 (1985-), 女, 硕士, 主要研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail: weililirch@163.com。

通讯作者: 邱丽娟, 研究员, 博士生导师。E-mail: qiu\_lijuan@263.net。

氨酸/苏氨酸激酶)类型基因、少数不属于以上4类的其它类型的植物抗病基因。

与大豆抗病相关的基因已被公布于大豆基因组数据库(SGDB)中(<http://sgdb.genomics.org.cn/sgdb/gene/dr/search.jsp?topic=DR-DB&page=4&ids=dr-search-result>),共预测到438个相关抗病基因(R基因)的信息,其中包括 non-TIR-NBS-LRR 类、LRR 类受体激酶类、UMN 大豆 BAC 文库类(UMN Soybean BAC Library)、LRR 激酶蛋白类、NBS-LRR 类和从抗病基因同源片段(RGA)获得的 BAC 亚克隆序列类共5类与大豆相关的 R 基因。

目前,已采用 QTL 定位、比较基因组学和基因芯片3种方法获得了一些可能与 SCN 抗性相关的候选基因,现对这些已获得的基因进行综述。

## 1 基于 QTL 定位获得的抗病候选基因

Concibido 等通过对 1992 年到 2003 年大豆抗病遗传及分子标记研究,共筛选到与 SCN 相关的 QTL 有 60 多个,这些 QTL 分别位于 A1、A2、B1、B2、C1、C2、D1a、D2、E、F、G、H、I、J、L、M 和 N 连锁群上。其中,G 连锁群上发现有 4 个抗 SCN 的 QTL 位点,B1、C2 和 D2 连锁群上有 3 个抗 SCN 的 QTL 位点,A1、B2、D1a、E 和 M 连锁群上有 2 个抗 SCN 的 QTL 位点,其它连锁群上也发现了 1 个抗 SCN 的 QTL 位点<sup>[14]</sup>。

经典遗传分析表明,大豆胞囊线虫的抗性是受多个位点控制的数量性状,已鉴定出 5 个抗性位点,分别是 *rhg1*、*rhg2*、*rhg3*、*Rhg4* 及 *cqSCN-003*<sup>[15]</sup>。对 SCN 的抗性遗传最早在 Peking 中被报道,有 3 个隐性基因(*rhg1-rhg3*)被首先确定。随后在 Peking 中又鉴定出一个显性抗性基因 *Rhg4*,与控制有色种皮的 *i* 位点连锁<sup>[16]</sup>,*cqSCN-003* 是 Glover 等在抗性材料 Bell 中新发现的抗性位点<sup>[15]</sup>。其中,*rhg1* 和 *Rhg4* 是编码蛋白激酶的基因,是抗性种质的主要抗性基因<sup>[17]</sup>。

### 1.1 *rhg1*

*rhg1* 位点是 Concibido 等于 1994 年发现的抗性 QTL<sup>[18]</sup>,该位点与 RFLP 标记 K069 紧密连锁,而近等基因系的研究发现 K069 位于 G 连锁群(18 号染色体)上,与抗病基因紧密连锁<sup>[19]</sup>。随后发现许多与 K069 连锁的分子标记都定位于 G 连锁群(18 号染色体)的该区段,与早期的经典遗传分析相结合,将该 QTL 位点命名为 *rhg1*,该位点是大豆胞囊线虫病最重要的抗性位点<sup>[20]</sup>,为许多交叉基因型提供对 SCN 主要部分的抗性<sup>[21]</sup>,其不但控制着与大豆抗胞

囊线虫 3 号生理小种相关的 50% 以上的变化,并且对其它几种 SCN 生理小种也具有部分抗性。拥有 *rhg1* 抗性位点被认为是培育抗大豆胞囊线虫病品种的必要条件。对 *rhg1* 基因的 DNA 序列预测显示,共编码 855 个氨基酸,包括 N 端的信号肽、LRR 重复区、跨膜结构域和激酶结构域。其中信号肽的作用是引导 *rhg1* 前体蛋白定位在细胞膜上,前体蛋白通过自我催化作用或蛋白酶作用将其切除,加工成成熟蛋白;LRR 重复是右手  $\beta-\beta-\alpha$  超螺旋的结构,与菜豆的  $\beta-\alpha-\alpha$  多聚半乳糖醛酶抑制蛋白(PGIP)的同源性非常高,猜测其可能具有识别病原体的作用<sup>[22]</sup>,而蛋白激酶比较保守。*rhg1* 位点可能与其附近位点 4 个基因协同作用,*rhg1* 基因编码的蛋白为类受体激酶,另外 4 个基因分别编码漆酶(laccase)、Na/H 逆转运子和 2 个未知蛋白。

大豆基因组被认为是一个二倍化四倍体的产物,因此对 *rhg1* 位点的详细分子分析要求鉴定旁系同源体和同线基因簇,以 BAC73P06 开发的探针分析,NILs 核心区的 3 个连锁基因所形成抗病等位基因在不失去抗性的前提下不能被重组所分开<sup>[25]</sup>。重组事件显示 *rhg1* 位点位于 TMD1 和 Satt309 之间,相关区域长为 42 kb,包括基因编码的类受体激酶、1 个类漆酶激酶蛋白和 1 个类蛋白转运蛋白<sup>[22]</sup>,表明这 3 个基因有可能对 SCN 均具有抗性作用。

*rhg1* 基因沉默使抗病品系的胞囊数增加<sup>[26]</sup>,表明抗性候选基因 *rhg1* 具有对 SCN 的抗病作用。除此之外,Ruben 等通过测序,获得了 112 份抗病种质(PI 系列)和 34 份衍生品种 *rhg1* 的 DNA 序列,发现了 9 种单倍型,其中 4 种为抗病单倍型。他们还发现了 2 个重要的突变 A47V 和 H297N,推测可能改变了前体蛋白的传导和(或)蛋白的功能。*rhg1* 位点之间的相互作用是普遍现象,并没有一个单一的基因可以提供完全的抗性,与抗性相关的一系列基因都位于 *rhg1* 位点内<sup>[22]</sup>,这些基因被显示与连锁群 B1 上的另一个基因组具有合成同源性<sup>[27]</sup>。

Li 等对 6 个抗病和 2 个感病基因型 *rhg1* 序列进行分析鉴定出 37 个 SNP,其中,11 个发生在编码区,这 11 个中的 7 个 SNP 能够导致基因氨基酸序列的改变,2 个 SNP(689C > A and 757C > T)形成了一个与 SCN 抗性相关的 haplotype (689C-757C)。这个定位于抗性候选基因 *rhg1* 序列的新的特异等位 PCR 标记与微卫星标记 BACR-Satt309 结合将显著提高 SCN 抗病品种分子标记辅助鉴定水平<sup>[28]</sup>。南海等根据 *rhg1* 序列插入/删除(Insert/Delete,

InDel)位点,开发了3个InDel标记,关联分析表明 *rhg1-I4* 为抗性相关标记,此标记的288 bp和294 bp等位变异为抗病相关等位变异。这个标记与Sat309配合鉴定可以提高SCN抗病资源的检测效率<sup>[29]</sup>。

从上述分析可以看出,*rhg1*位点对SCN的抗性作用是显而易见的,但这个抗性候选基因究竟是类受体激酶还是其它相关功能基因,尚未见转基因大豆验证报道。

### 1.2 *Rhg4*

*Rhg4*位点位于A2连锁群(8号染色体)上,其对SCN3号生理小种和一些SCN14号生理小种有共同的抗性作用,但其对SCN2号生理小种没有抗性作用<sup>[21]</sup>。*Rhg4*在结构上与*rhg1*相似,也含有LRR重复、跨膜结构域和丝氨酸-苏氨酸激酶。它编码894个氨基酸,但与*rhg1*的同源性却比较低,Meksem等将分离到的*Rhg4*转化到感病材料中,发现转*Rhg4*基因的材料表现为抗病<sup>[26]</sup>,表明该基因具有抗病作用。对从*Rhg4*纯化获得的LRR蛋白的二级结构预测,发现其可能具有一个 $\alpha$ - $\beta$ 折叠,为马蹄式结构<sup>[27]</sup>。Jamai等利用Tilling技术对*Rhg4*进行功能分析,在LRR-激酶结构域发现了一个终止突变,并定位在距*Rhg4*1.5 cM处<sup>[30]</sup>。迄今为止,发现的重组事件显示*Rhg4*位点位于A2D8和BLT65之间,该区域长为142 kb,包括基因编码的一个类受体激酶、一个类枯草杆菌蛋白和一个类蛋白转运蛋白<sup>[31]</sup>,其中,*Rhg4*编码的蛋白是类受体激酶,属于R基因之一。

## 2 基于比较基因组获得的抗病候选基因

### *GmHs1<sup>pro-1</sup>*

*Hs1<sup>pro-1</sup>*基因是从野生甜菜中克隆,并通过转基因甜菜试验证明该基因具有抗线虫的作用。*Hs1<sup>pro-1</sup>*与*rhg1*和*Rhg4*不同,其具有抗病机制的特殊结构*Hs1<sup>pro-1</sup>*\_N和*Hs1<sup>pro-1</sup>*\_C<sup>[32]</sup>。大豆*Hs1*基因类似物是由Ishihara等从抗SCN病的品种Forrest和对SCN感病的品种Essex中克隆,并且被定位在分布有大量大豆胞囊线虫抗性位点的C2连锁群(2号染色体)上<sup>[33]</sup>;Hauge等也在大豆中获得了*Hs1<sup>pro-1</sup>*类抗SCN病的抗性候选基因,并且还申请了专利<sup>[34]</sup>;Yuan等根据甜菜*Hs1<sup>pro-1</sup>*基因克隆出大豆完整的1447 bp的不含内含子的*Hs1<sup>pro-1</sup>*同系物*GmHs1<sup>pro-1</sup>*基因序列<sup>[35]</sup>。*Hs1<sup>pro-1</sup>*基因编码的蛋白包含一个亮氨酸富集区和一个转膜区,但是发现该蛋白不属于植物抗性基因的NBS-LRR类或其它已经存在的R蛋

白,认为它可能是一个完全新的R基因之一<sup>[36]</sup>。虽然Tim等研究发现*Hs1<sup>pro-1</sup>*基因上游3802 bp的启动子区在-355到+247之间存在线虫摄氏位点必需的顺式元件,而上游元件位于基因高表达所必需的-1199到-705区域<sup>[37]</sup>;Michael等也报道转基因试验证明携带有外源*Hs1<sup>pro-1</sup>*基因编码区的大豆T1代比野生型提高了70%的抗性<sup>[38]</sup>。这些研究表明该基因是对SCN起抗性作用的基因之一。

## 3 基于芯片杂交鉴定出的抗病候选基因

Ithal和Klink等对SCN3侵染后的大豆均进行了microarray分析<sup>[39-40]</sup>。Ithal等在35611个大豆转录本中鉴定出429个在SCN侵染和未侵染根部组织中存在表达差异的基因,这些基因主要分为6大类:基础新陈代谢、酚类化合物、木质素和类黄酮的生物合成、胁迫和防御反应、细胞壁修饰、细胞信号和转录调控。另在7431个大豆胞囊线虫转录本中鉴定出1850个在线虫寄生和发育的不同阶段表达显著不同的基因<sup>[39]</sup>。Klink等对37744个大豆转录本进行的microarray分析鉴定发现,在大豆胞囊线虫非竞争性(Incompatible,I)群体中有339个受诱导表达和740个受抑制表达的基因;在大豆胞囊线虫非竞争性(Compatible,C)群体中有181个受诱导表达和491个在Compatible中受抑制表达的基因。其中在I和C中共有62个基因的表达相同,包括编码PR10、过氧化物酶、苯基苯乙烯酮合成酶、WRKY转录因子和细胞色素P450的基因<sup>[40]</sup>。但是,应用转录本分析未发现线虫与大豆间关键的互作,因此这些高量表达的基因中具体哪些对SCN具有抗性,还需要进一步的研究验证。

作者对重复出现于上述不同芯片研究中的4个基因BQ080041、U03860、AI759701和BU551112进行研究,发现BQ080041是与胰蛋白酶抑制剂相关的基因;U03860和AI759701基因是与大豆延展素相关的基因;BU551112则是与泛素结合酶相关的基因<sup>[41]</sup>。其中,BQ080041基因定位于J连锁群(16号染色体);AI759701基因定位于B1连锁群(11号染色体);U03860和BU551112基因均定位于D1a连锁群(1号染色体)。而J、B1和D1a这3个连锁群上均被发现有抗SCN的QTL位点<sup>[21]</sup>。

杨少旭等在大豆接种大豆胞囊线虫3号生理小种(SCN3)后对胰蛋白酶抑制剂的活性进行测定,结果发现,大豆接种SCN3后大豆胰蛋白酶抑制剂(STI)表达量明显高于未接种的品种,表明大豆胰蛋白酶抑制剂参与抗病过程<sup>[42]</sup>;据报道,在低

pH 值条件下,延展素蛋白可以引起细胞壁松弛并导致细胞扩张,而且延展素是不可逆转的影响细胞的大小和形状<sup>[43]</sup>,在单子叶、双子叶植物和悬浮培养细胞中均发现延展素的活性<sup>[44,45]</sup>;在蛋白质降解过程中共有3种关键性的酶参与多泛素化的过程,这3种酶分别是泛素活化酶 E1 (Ubiquitin Activating Enzyme)、泛素结合酶 E2 (Ubiquitin Conjugating Enzyme) 和泛素连接酶 E3 (Ubiquitin-Protein Ligase)。它们的作用机制在于首先 E1 活化单个游离的泛素,然后 E1 将活化的泛素递交给 E2,最后由 E3 募集特异的底物和 E2,并介导泛素从 E2 转移到靶蛋白<sup>[46]</sup>,从而降解靶蛋白。

#### 4 抗病候选基因的表达模式

作者对包括上述3类(QTL定位的抗性位点 *rhg1* 和 *Rhg4*、线虫抗性基因 *Hs1<sup>pro-1</sup>* 同系物类的 *Gm-Hs1<sup>pro-1</sup>* 以及基因芯片表达类的基因 BQ080041、U03860、AI759701 和 BU551112) 共7个抗大豆胞囊线虫候选基因进行了实时荧光定量 PCR 方面的表达分析,研究发现,7个抗 SCN 候选基因的表达在 SCN 4 处理的材料中有3种不同的表达模式:对 SCN 4 的抗性与其表达水平相关的基因;对 SCN 4 的抗性与其表达时间相关的基因;对大豆胞囊线虫 4 号生理小种 (SCN 4) 的抗性与其表达无关的基因。其中, *GmHs1<sup>pro-1</sup>*、U03860 和 AI759701 3 个基因对 SCN 4 的抗性均与其表达水平相关,不同抗感品种 3 个基因的表达模式相似,但表达量存在差异,对这3个基因进行的相对定量表达的研究发现抗感品种(系)接种 SCN 4 后 3 个基因的相对表达量均出现明显的上调,其最高上调表达量分别为对照样品的 13.4、40.6 和 30.8 倍,且感病品种接种 SCN 4 后 3 个基因的表达量均高于抗病品系,表明 *Gm-Hs1<sup>pro-1</sup>*、U03860 和 AI759701 对 SCN 4 的抗性均与其表达水平高低相关;*rhg1* 和 BQ080041 对 SCN 4 的抗性与其表达时间相关,3 个大豆品种(系)受 SCN 4 侵染后 *rhg1* 和 BQ080041 2 个基因均被诱导上调表达,但出现的时间存在差异。感病对照品种 Lee 相对表达量出现上调表达较早(*rhg1* 为接种后的 1 d, BQ080041 为 2 d);抗病品系中品 03-5373 相对表达量出现上调表达较晚(*rhg1* 为接种后的 3 d, BQ080041 为 6 d);而中感品种中黄 13 相对表达量出现上调的时间点介于抗、感品种(系)之间(*rhg1* 为接种后的 2 d, BQ080041 为 3 d),表明 *rhg1* 和 BQ080041 基因对 SCN 4 具有抗性作用,且其对 SCN 4 的抗性与其表达时间相关;*Rhg4* 和

BU551112 对 SCN 4 的抗性与其表达无关,抗感品种(系)受 SCN 4 侵染后各时间点抗性候选基因 *Rhg4* 和胰蛋白酶抑制剂相关基因 BQ080041 的表达量变化均不大,没有发现这2个基因受明显上调表达的时期出现,推测 *Rhg4* 和 BU551112 基因的表达可能与大豆对 SCN 4 的抗性无关<sup>[41]</sup>。除以上3种表达模式外,是否还存在其它基因的表达模式有待进一步的研究验证。

#### 5 讨论

大豆 SCN 抗性基因定位的分子标记包括 RFLP (restriction fragment length polymorphism)、RAPD (random amplified polymorphic DNA)、AFLP (amplified fragment length polymorphism)、MAS (molecular marker-assisted selection)、SSR (simple sequence repeat)、SNP (single nucleotide polymorphisms) 和 InDel 标记等。至今,在大豆除 Dlb + w 和 O 以外的 18 个连锁群上已鉴定出与抗 SCN 1、3、5 和 14 号生理小种相关的分子标记,然而,可利用的标记却很少,远远不能满足分子标记辅助选择育种的要求,即使是选择效率最高和应用最广泛的 SSR 标记 Satt309,由于不同的基因型在 Satt309 位点的等位变异相同,也不能区分大豆品种 Lee 和 SCN 抗源 P188788 或 P1209332 杂交的后代<sup>[29]</sup>。

SCN 被划分为多个不同的生理小种,各生理小种分布的区域及致病性各不相同,国外关于大豆对 SCN 生理小种 1 号、2 号、3 号、5 号、6 号和 14 号抗性的遗传和定位研究较多,其中,3 号生理小种抗源的遗传和定位研究较多,因此,关于它的研究报道也较多<sup>[47]</sup>。但是,有关 SCN 4 号生理小种 (SCN 4) 的研究极少,国外也未见报道。中国以 SCN 1、SCN 3 和 SCN 4 号生理小种分布较广,其中以 SCN 4 号生理小种致病性最强<sup>[48]</sup>。

近年来,对大豆的需求日益增加,促使大豆种植面积的不断扩大。虽然,大豆 R 基因的数量和种类众多 (<http://sgdb.genomics.org.cn/sgdb/gene/dr/search.jsp?topic=DR-DB&page=4&ids=dr-search-result>),但是发现与 SCN 抗病候选基因还较少,由于大豆在遗传转化及再生比较困难,所以这些已获得的抗 SCN 候选基因的转基因研究进展较慢。近年来,大豆遗传转化取得了较大的进展<sup>[49]</sup>,但除 *Hs1<sup>pro-1</sup>* 基因外,其余抗病候选基因均未经转基因试验进行验证。

魏利等<sup>[41]</sup>从 Ithal<sup>[39]</sup> 和 Klink<sup>[40]</sup> 等的芯片试验结果中筛选到了 10 个 SCN 抗性候选基因,目前已

对其中 4 个基因进行了 real-time PCR 的定量表达,并将这 4 个基因的表达特征与 QTL 定位之间的关系进行了分析,发现接种 SCN 4 后,3 个高表达基因的 QTL 位点附近均有 SCN 抗性位点存在,而 1 个非高表达基因的 QTL 位点附近无 SCN 抗性位点。因此,反向遗传学获得的与 SCN 抗性可能相关的基因通过正向遗传学方法均得到了验证。另外,对其余 6 个 SCN 抗性候选基因 CF806263(位于 10 号染色体、O 连锁群)、BM091956(位于 6 号染色体、C2 连锁群)、BQ628525(位于 5 号染色体、A1 连锁群)、AW307476(位于 15 号染色体、E 连锁群)、BI972758(位于 2 号染色体、D1b 连锁群)和 CK605838(位于 15 号染色体、E 连锁群)进行 QTL 定位分析,发现位于 C2 连锁群上的 BM091956、E 连锁群上的 AW307476 和 CK605838 QTL 位点附近有 SCN 抗性位点;位于 A1 连锁群上的 BQ628525 QTL 位点附近目前尚未发现 QTL 位点;由于 O 和 D1b 连锁群上目前尚未发现 SCN 抗性相关的 QTL,因此,分别定位于这 2 个连锁群上的 CF806263 和 BI972758 基因位点的附近也未发现 SCN 抗性相关的 QTL 位点。这些发现为以后的抗性基因研究提供了理论基础,具有一定的参考价值。

## 参考文献

- [1] Wrather J A, Koenning S R. Estimates of disease effects on soybean yields in the United States 2003-2005 [J]. *Journal of Nematology*, 2006, 38: 173-180.
- [2] 孙漫红, 刘杏忠, 缪作清. 大豆胞囊线虫病生物防治研究进展[J]. *中国生物防治*, 2000, 16(3): 136-141. (Sun M H, Liu X Z, Miao Z Q. Progress in biological control of soybean cyst nematode [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2000, 16(3): 136-141.)
- [3] Gregory R N. Corn rotations curb soybean cyst nematodes [J]. *Agricultural Research*, 2002, 50(11): 23.
- [4] 杨春梅, 毛德喜. 特丁磷用于防治大豆胞囊线虫效果试验[J]. *农业与技术*, 2005, 25(4): 135-136. (Yang C M, Mao D X. The effect test of phosphorodithioic acid used for controlling soybean cyst nematode [J]. *Agriculture and Technology*, 2005, 25(4): 135-136.)
- [5] 潘凤娟, 许艳丽, 孙玉秋, 等. 我国大豆胞囊线虫生防真菌研究现状[J]. *大豆通报*, 2006(4): 5-7. (Pan F J, Xu Y L, Sun Y Q, et al. Research of bio-control of fungi in soybean cyst nematode in China [J]. *Soybean Bulletin*, 2006(4): 5-7.)
- [6] Niblack T L. Management of soybean cyst nematode with cultural practices[C]. *National Soybean Cyst Nematode Conference*, Orlando, Florida, 1999.
- [7] 杜志强, 田中艳, 高国金, 等. 黑龙江省抗大豆胞囊线虫品种的应用及存在的问题[J]. *黑龙江农业科学*, 2006(3): 32-34. (Du Z Q, Tian Z Y, Gao G J, et al. The applications and problems of soybean cyst nematode resistant varieties in province of Heilongjiang [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2006(3): 32-34.)
- [8] Winter S M J, Shelp B J, Anderson T R, et al. QTL associated with horizontal resistance to soybean cyst nematode in *Glycine soja* PI464925B [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 114: 461-472.
- [9] Meyers B C, Kozik A, Griego A, et al. Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 809-834.
- [10] Flor H H. Current status of the gene-for-gene concept [J]. *Annual Review of phytopathology*, 1971, 9: 275-296.
- [11] Ellis J, Dodds P, Pryor T. The generation of plant disease resistance gene specificities [J]. *Trends in Plant Science*, 2000, 5: 373-379.
- [12] Bent A F. Plant disease resistance genes: function meets structure [J]. *Plant Cell*, 1996, 8: 1757-1771.
- [13] Van O G, van den Burg H A, Cornelissen B J, et al. Structure and function of resistance proteins in solanaceous plants [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2007, 45: 43-72.
- [14] Concibido V C, Diers B W, Arelli P R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean [J]. *Crop Science*, 2004, 44: 1121-1131.
- [15] Glover, K D, Wang, D, Arelli, P R, et al. Near isogenic lines confirm a soybean cyst nematode resistance gene from PI 88788 on linkage group J [J]. *Crop Science*, 2004, 44: 936-941.
- [16] Matson A L, Williams L F. Evidence of a fourth gene for resistance to the soybean cyst nematode [J]. *Crop Science*, 1965, 5: 477.
- [17] 邱丽娟, 常汝镇, 王文辉, 等. 大豆抗胞囊线虫病种质 rhg1 和 Rhg4 位点的单核苷酸多态性(SNPs) [J]. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(2): 89-93. (Qiu L J, Chan R Z, Wang W H, et al. Single nucleotide polymorphism (SNPs) at both loci of rhg1 and rhg4 in soybean resistant germplasm [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2003, 4(2): 89-93.)
- [18] Concibido V C, Denny R L, Boutin S R, et al. DNA marker analysis of loci underlying resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) [J]. *Crop Science*, 1994, 34: 240-246.
- [19] Boutin S, Ansari H, Concibido V C, et al. RFLP analysis of cyst nematode resistance in soybeans [J]. *Soybean Genetic Newsletter*, 1992, 19: 123-127.
- [20] Iqbal M J, Ahsan R, Afzal A J, et al. Multigeneic QTL: the lacase encoded within the soybean Rfs2/rhg1 locus inferred to underlie part of the dual resistance to cyst nematode and sudden death syndrome. *Plant Genomics* [J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2009, 11: 11-19.
- [21] Concibido V C, Diers B W, Arelli P R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean [J]. *Crop Science*, 2004, 44: 1121-1131.
- [22] Ruben E, Jama A, Afzal J, et al. Genomic analysis of the rhg1 locus: candidate genes that underlie soybean resistance to the cyst nematode [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2006, 276:

- 503-516.
- [23] Shiu S H, Karlowski W M, Pan R, et al. Comparative analysis of the Receptor-like kinase family in *Arabidopsis* and rice [J]. *Plant Cell*, 2004, 16 (5): 1220-1234.
- [24] Hubbard S R, Miller W T. Receptor tyrosine kinases: mechanisms of activation and signaling[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2007, 19(2): 117-123.
- [25] Afzal A J, Srour A, Saini N, et al. The multigeneic *rhg1* Locus: a model for the effects on root development, nematode resistance and recombination suppression [M]. *Nature Preceding*, 2008.
- [26] Meksem K, Jamaï A, Ruben E, et al. QTLs for resistance to soybean cyst nematode: An *Xa21* like gene family that requires possible dimerization for signal transduction [C]. *Plant & Animal Genomes XIII Conference*, San Diego, CA, 2005, W310.
- [27] Afzal A J, Natarajan A, Saini N, et al. The Nematode Resistance Allele at the *rhg1* Locus Alters the Proteome and Primary Metabolism of Soybean Roots [J]. *Plant Physiology Preview*, 2009, 151:1264-1280.
- [28] Li Y H, Zhang C, Gao Z S, et al. Development of SNP markers and haplotype analysis of the candidate gene for *rhg1*, which confers resistance to soybean cyst nematode in soybean[J]. *Molecular Breeding*, 2009, 24:63-76.
- [29] 南海洋, 李英慧, 常汝镇, 等. 基于大豆胞囊线虫病抗性候选基因 *rhg1* 的 InDel 标记开发与鉴定[J]. *作物学报*, 2009, 35(7):1236-1243. (Nan H Y, Li Y H, Chang R Z, et al. Development and identification of indel markers based on *rhg1* gene for resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(7):1236-1243. )
- [30] Jamaï A, Liu S M, Liu X H, et al. Molecular and functional analysis of the *Rhg4* locus conferring resistance to the soybean cyst nematode [C]. *Plant & Animal Genomes XIV Conference*, San Diego, CA, 2007: 781.
- [31] Campbell N, Warner A L, Lightfoot D A, et al. Duplication of a chromosomal region from linkage group A2 involved in cyst nematode resistance in soybean [J]. *Molecular and General Genetics*, 2009.
- [32] Cai D G, Kleine M, Kifle S, et al. Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet [J]. *Science*, 1997, 275: 832-834.
- [33] Ishihara H, Jamaï A, Bensmail I, et al. Candidate gene approach: cloning disease resistance genes to the soybean cyst nematode resistance [C]. *Plant & Animal Genomes IX Conference*, San Diego, CA, 2003: 93.
- [34] Hauge B M, Wang M L, Parsons J D, et al. inventors; Monsanto Company, assignee. Nucleic acid molecules and other molecules associated with soybean cyst nematode resistance [P]. U. S. Patent Application Publication, 2001, No. 20030005491.
- [35] Yuan C P, Zhou G A, Li Y H, et al. Cloning and sequence diversity analysis of *GmHs1<sup>pro-1</sup>* in Chinese domesticated and wild soybeans [J]. *Molecular Breeding*, 2008, 22: 593-602.
- [36] Jung C, Cai D G, Kleine M. Engineering nematode resistance in crop species [J]. *Trends in Plant Science*, 1998, 3: 266-271.
- [37] Thureau T, Kifle S, Jung C, et al. The promoter of the nematode resistance gene *Hs1<sup>pro-1</sup>* activates a nematode-responsive and feeding site-specific gene expression in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52: 643-660.
- [38] McLean M D, Hoover G J, Bancroft B, et al. Identification of the full-length *Hs1<sup>pro-1</sup>* coding sequence and preliminary evaluation of soybean cyst nematode resistance in soybean transformed with *Hs1<sup>pro-1</sup>* cDNA [J]. *Canadian Journal of Botany*, 2007, 85:437-441.
- [39] Ithal N, Recknor J, Nettleton D, et al. Parallel genome-wide expression profiling of host and pathogen during soybean cyst nematode infection of soybean [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2007, 20(3): 293-305.
- [40] Klink V P, Overall C C, Alkharouf N W, et al. A time-course comparative microarray analysis of an incompatible and compatible response by *Glycine max* (soybean) to *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode) infection [J]. *Planta*, 2007, 226:1423-1447.
- [41] 魏利. 大豆胞囊线虫 (SCN) 抗性候选基因表达特征的研究 [D]. 南昌:南昌大学, 2010. (Wei L. Expressing characteristics of resistant candidate genes to soybean cyst nematode (SCN) [D]. Nanchang: Nanchang University, 2010. )
- [42] 杨少旭, 段玉玺, 陈立杰, 等. 大豆胰蛋白酶抑制剂与大豆抗大豆胞囊线虫的关系[J]. *大豆科学*, 2008, 27(3):487-489, 495. (Yang S X, Duan Y X, Chen L J, et al. Relationship of soybean trypsin inhibitor and soybean resistance to soybean cyst nematode [J]. *Soybean Science*, 2008, 27(3):487-489,495. )
- [43] Cosgrove D J. Cell wall loosening by expansins [J]. *Plant Physiology*, 1998, 118: 333-339.
- [44] Link B M, Cosgrove D J. Acid-growth response and  $\alpha$ -expansins in suspension cultures of bright yellow 2 tobaccos [J]. *Plant Physiology*, 1998, 118: 907-916.
- [45] Cosgrove D J. New genes and new biological roles for expansions [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, 3: 73-78.
- [46] 杨娜, 侯巧明, 南洁等. 泛素连接酶的结构与功能研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2008, 35(1): 14-20. (Yang N, Hou Q M, Nan J, et al. Progress in structure and function of Ubiquitin ligase [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2008, 35(1): 14-20. )
- [47] 卢为国, 盖钧镱. 大豆对胞囊线虫抗性遗传与分子标记研究进展[J]. *大豆科学*, 2004, 23(1): 59-64. (Lu W G, Gai J Y. Progress in resistant genetic and molecular markers of Soybean cyst nematode [J]. *Soybean Science*, 2004, 23(1): 59-64. )
- [48] 宛煜嵩, 王珍. 中国大豆胞囊线虫抗性研究进展[J]. *分子植物育种*, 2004, 2 (5): 609-619. (Wan Y S, W Z. Progress in resistance of soybean cyst nematode in China [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2004, 2 (5): 609-619. )
- [49] 刘海坤, 卫志明. 大豆遗传转化研究进展[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2005, 31 (2): 126-134. (Liu H K, Wei Z M. Recent advances in soybean genetic transformation [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31 (2): 126 - 134. )