

大豆胞囊线虫病抗性基因相关分子标记对杂交后代抗性的鉴定效率

马岩松^{1,2}, 刘鑫磊¹, 栾晓燕¹, 王家军¹, 李进荣¹, 于佰双¹, 邱丽娟²

(1. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 中国农业科学院 作物科学研究所, 北京 100081)

摘要:大豆胞囊线虫病的鉴定受条件和方法的制约, 一直是大豆抗病资源筛选和抗病品种选育的限制因素之一, 与抗病基因紧密连锁的分子标记的发现, 为抗病鉴定提供了高效而准确的鉴定方法。以抗大豆胞囊线虫病不同世代的育种分离群体为材料, 采用人工接种鉴定和抗病基因型鉴定相结合的方法, 探讨了标记基因型在不同分离世代的鉴定效率。结果表明: 随着分离群体世代的增加, 抗病个体在分离群体中所占比例呈上升趋势, 分离世代的卡方测验表明抗病性由 2 个隐性基因控制; 基于抗病基因 *Rhg1* 开发的 Indel 标记 *rhg1-I4* 和 *SCN_Res Bridge* 对表型的检测效率达到 88.89%, 显著高于 *Satt309* (50.00%); 随着育种群体世代的增加, 标记检测效率有所提高。不同标记组合并没有提高标记的检测效率。结果证明基于抗病基因序列开发的功能性标记在大豆抗胞囊线虫病育种中有广泛的应用前景。

关键词:大豆胞囊线虫病; 抗性鉴定; 基因型; 检测效率

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2013)06-0173-06

Identification Efficiency about Resistance to Soybean Cyst Nematode with Relative Molecular Markers in Hybrid Progeny

MA Yan-song^{1,2}, LIU Xin-lei¹, LUAN Xiao-yan¹, WANG Jia-jun¹, LI Jin-rong¹, YU Bai-shuang¹, QIU Li-juan²

(1. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The restriction of identification condition and method is one of the important limiting factors for SCN germplasm screening and breeding. Using molecular marker closely linked with resistant gene is an efficient and accurate method to identify the resistance to SCN. In this study, we adopted several generation of segregation populations derived from hybridization between SCN resistant and susceptible parents to evaluate the identification efficiency of molecular markers. The ratio of individuals resistant to SCN in segregation population enhanced with the generation increasing. Chi-test showed the resistance to SCN was controlled by two recessive genes in segregation population. The detection efficiency of two Indel markers based on *Rhg1* sequence, *rhg1-I4* and *SCN_Res Bridge*, was 88.89%, and higher than that of *Satt309* (50.00%). With the increasing of breeding generation, the molecular markers detecting efficiency improved. The combination between different markers didn't add more accuracy. We could anticipate that the markers designed by resistant sequence were new pathway to accelerate the SCN resistance breeding.

Key words: Soybean cyst nematode; Resistant identification; Genotype; Detection efficiency

大豆胞囊线虫病 (soybean cyst nematode, SCN) 是一种世界范围内的大豆病害。仅在美国, 每年由于大豆胞囊线虫病危害造成的经济损失就超过十亿美元; 在中国, 大豆胞囊线虫病造成减产 5%~10%, 严重的地块可达 30%, 甚至绝产^[1]。Wrather 等^[2]研究表明, 2006 年由于大豆胞囊线虫病造成包括中国在内的 8 个世界大豆主产国减产 719 万 t。培育抗病品种是防治大豆胞囊线虫病经济有效的途径。我国是大豆的起源地, 丰富的大豆资源为大豆胞囊线虫病抗病育种提供了广泛的抗源选择。大豆胞囊线虫病抗病性的鉴定无论是对大豆资源的

筛选、鉴定还是抗病育种分离群体后代的鉴定选择, 都是非常重要的。目前对于大豆胞囊线虫病的抗病性鉴定主要有人工接种和病圃自然发病两种方法。病圃自然发病鉴定方法受田间环境条件影响较大, 年际间差异明显, 适合高世代抗病品系的多年产量比较试验; 人工接种鉴定可控因素较多, 鉴定结果相对准确, 适用于抗病资源和育种分离群体低世代鉴定。根据操作过程的不同, 人工接种鉴定又分为塑料钵柱法和酸性品红染色法^[3]。

分子标记技术的发展为抗大豆胞囊线虫病鉴定提供了新的途径。邱丽娟等^[4]利用单核苷酸多

收稿日期: 2013-09-26

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (C201020); 哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目 (2011RFXYN034); 国家“十二五”科技支撑计划 (2011BAD35B06); 黑龙江省农业科技创新工程 (2012ZD003)。

第一作者简介: 马岩松 (1977-), 男, 在读博士, 农艺师, 主要从事大豆分子标记辅助选择育种研究。E-mail: mys771007@hotmail.com。

通讯作者: 栾晓燕 (1964-), 女, 研究员, 主要从事大豆抗病育种工作。E-mail: luanxiaoyan1201@163.com。

态性(SNP)标记对中美大豆资源的抗病基因型进行分析,推测在大豆抗SCN种质中以 $rhg1$ 和 $Rhg4$ 这两个基因协同作用表现出的抗性占多数;李英慧等^[5]利用基于抗病候选基因的SNP多态性,分析了我国野生大豆和栽培大豆的抗病基因的多态性。随着大豆基因组测序数据的发布,针对抗病基因开发功能性标记使得直接针对基因的选择成为可能,南海洋等^[6]针对抗病基因 $rhg1$ 开发了Indel标记,对抗病资源检出效率达到88.2%。

本研究利用抗大豆胞囊线虫病杂交组合分离群体不同世代进行人工接种鉴定,分析抗病性在育种群体中传递效率;同时利用与抗病基因相关的标记鉴定分离群体不同世代的抗病基因型,比较利用分子标记在分离群体不同世代的鉴定效率,以期为分子标记辅助鉴定大豆胞囊线虫抗病性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 抗病杂交组合选配

以兼抗大豆胞囊线虫1,3,4和5号生理小种的灰布支黑豆为抗病基因来源,以高产大豆品种黑农33为受体亲本,2010年配制杂交组合,同年南繁获得 F_1 代。2011年在黑龙江省农业科学院大豆研究所试验地种植 F_2 分离群体,随机选取300株挂牌并取样,同时调查农艺性状并单株收获。

1.2 大豆胞囊线虫病鉴定

2012年在黑龙江省农业科学院盆栽场种植 F_3 株行。试验病土取自哈尔滨市道里区长岭湖大豆地(原试验病圃)。每100g土壤含胞囊数40~50个。经鉴定,大豆胞囊线虫病3号生理小种为优势小种。病土充分混合后装入直径为15cm的花盆,每盆留苗5株,出苗后30~40d调查每株根系胞囊

表1 大豆胞囊线虫病抗病鉴定标准

Table 1 Identification standard of resistance to soybean cyst nematode

级别 Grade	平均胞囊数 Mean No. of cyst per plant	抗性级别 Level of resistance
0	0	免疫(IM)
1	0.1~3.0	高抗(HR)
3	3.1~10.0	中抗(MR)
5	10.1~30.0	感(S)
7	≥ 30.1	高感(HS)

数。株行内连续鉴定10株,取平均值为该行抗病等级分级标准。大豆对胞囊线虫病的抗性分级标准采用国家标准:GB/T19557.4-2004(表1)。

随机选取30个 F_{2-3} 株行,鉴定后移栽,成熟时单株收获,共获得68个 F_4 单株,2013年盆栽种植 F_4 单株,每盆鉴定5株根部胞囊数,取平均值作为该 F_4 单株的抗病性表型。

1.3 样品DNA提取及抗病基因型分析

分别在 F_2 和 F_4 世代取新鲜叶片,冷冻保存。利用Ferment公司的基因组DNA提取试剂盒提取样品基因组DNA,经分光光度计检测 OD_{260}/OD_{280} ,调整到适合浓度备用。分别选择Cregan等^[7]1999年发表的与 $rhg1$ 抗病基因连锁的SSR标记Satt309、Cook等^[8]2012年开发的与 $rhg1$ 抗病基因连锁的 $rhg1-14$ 和SCN_Res Bridge标记、Liu等^[9]2012年发表的与抗病基因SHMT连锁的Sat_162标记,对分离群体进行基因分型分析。PCR程序:95℃,5min;95℃,30s,47℃,30s,72℃,30s,35个循环;72℃,10min。扩增产物利用6%的变性聚丙烯酰胺电泳分离,银染显色观察结果。

1.4 数据分析

利用SPSS 18.0和Excel 2007进行数据处理及统计分析。

2 结果与分析

2.1 抗病性鉴定结果比较

2.1.1 F_{2-3} 抗病性分离 人工接种鉴定结果表明,亲本黑农33高度感病,而灰布支黑豆表现为免疫,亲本的抗病性差异显著,表明本研究材料基础可靠。265个 F_{2-3} 株行经人工接种鉴定,抗病株行15个,占全部株行的5.66%,感病株行250个,占全部株行的94.34%。经卡方测验($\chi^2_{0.05,1} = 3.84 > \chi^2 = 0.0727$),符合15:1分离比例,表明黑农33与灰布支黑豆杂交后代对胞囊线虫的抗性由2个隐性基因控制。 F_{2-3} 分离群体胞囊数描述性分析见表2。在全部265个株行中,平均胞囊数变幅为2.20~150.90;株行内标准差变幅为1.814~23.669,变异系数变幅为6.91%~109.07%,偏度变幅为-1.436~1.955,峰度变幅为-2.628~4.784。 F_{2-3} 分离群体株行间胞囊数平均值为33.36个,标准差为26.7926。偏度和峰度分别为2.077和4.810。可见,抗病分离群体 F_{2-3} 世代株行间变异大于株行内变异。分离群体胞囊数分布偏向于高于平均数(33.36),并且分布较集中(图1)。

表 1 F_{2:3}分离群体株胞囊数描述性分析

Table 1 Descriptive analysis about number of cyst in F_{2:3} segregation population

	平均数 ± 标准误 Mean ± SD	标准差 Standard deviation	变异系数 CV/%	偏度 ± 标准误 Skewness ± SD	峰度 ± 标准误 Kurtosis ± SD
F _{2:3} 株行内 In same F _{2:3} line					
最小值 Minmum	2.20 ± 0.573	1.814	6.91	-1.436 ± 0.687	-2.628 ± 2.000
最大值 Maxmun	150.90 ± 5.575	23.669	109.07	1.955 ± 0.687	4.784 ± 1.334
F _{2:3} 株行间 Among F _{2:3} lines	33.36 ± 1.646	26.7926	80.31	2.077 ± 0.150	4.810 ± 0.298

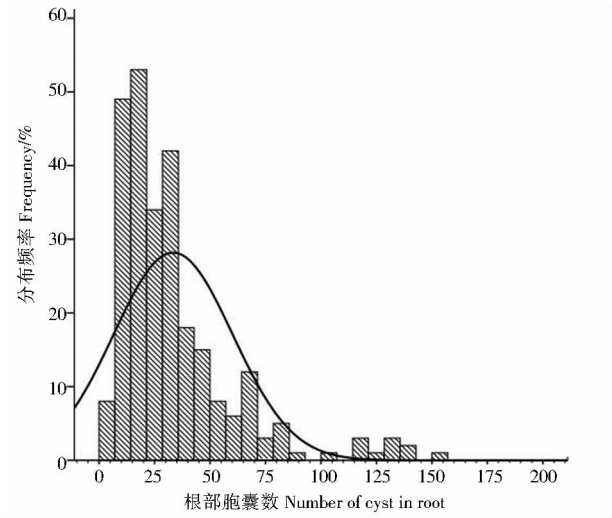


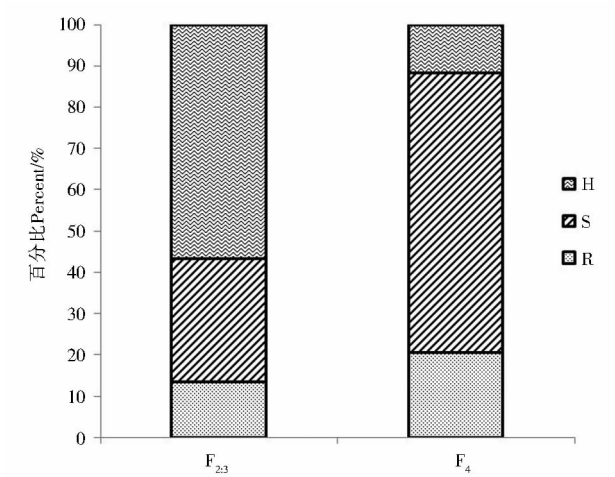
图 1 不同 F_{2:3} 家系间根部胞囊数分布频率

Fig.1 Frequency distribution of cyst number among different F_{2:3} lines

2.1.2 F_{2:3}与 F₄代抗性比较 比较 2 年重复鉴定的结果发现,在 30 个 F_{2:3}株系中有抗病株行 4 个(13.33%),感病株行 9 个(30.00%),表现抗感分离的株行 17 个(56.67%);由其衍生出的 68 个 F₄单株中抗病单株 14 个(20.59%),感病单株 46 个(67.65%),杂合单株 8 个(11.76%)。可见随着世代的增加,杂合个体在分离群体中所占比率迅速降低,纯合感病与杂合感病比例均有增加,并以感病个体增加明显(图 2)。

2.2 不同位点的基因型鉴定比较

2.2.1 rhg1 位点检测 利用克隆的 rhg1 基因开发的功能分子标记 rhg1-I4 和连锁标记 Satt309 对不同世代分离群体进行抗病基因型检测,在 F₄世代增加抗病基因功能标记 SCN_Res Bridge 对分离群体的基

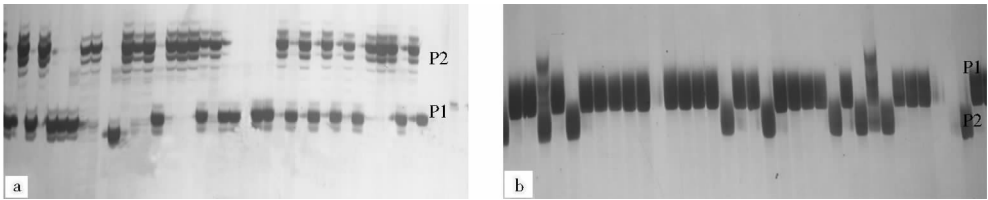


H:杂合;S:感病;R:抗病。
H: Heterozygous; S: Susceptible; R: Resistant.

图 2 不同世代间抗感材料所占百分比

Fig.2 Resistant and susceptible percentage of different generations

因型进行检测。结果 Satt309, rhg1-I4 和 SCN_Res Bridge 标记在抗病杂交组合的两个亲本间均表现出多态性(图 3),可以用于分离群体基因型鉴定。在 F₂分离群体中鉴定了 191 份个体基因型,其中 Satt309 抗病基因型 88 个,感病基因型 62 个,杂合基因型 38 个,缺失数据 3 个;rhg1-I4 抗病基因型 82 个,感病基因型 97 个,杂合基因型 5 个,缺失数据 5 个。在 F₄分离群体中鉴定了 82 份个体基因型,其中 Satt309 抗病基因型 44 个,感病基因型 15 个,杂合基因型 18 个,缺失数据 5 个;rhg1-I4 抗病基因型 55 个,感病基因型 18 个,杂合基因型 6 个,缺失数据 3 个;SCN_Res Bridge 抗病基因型 58 个,感病基因型 24 个。



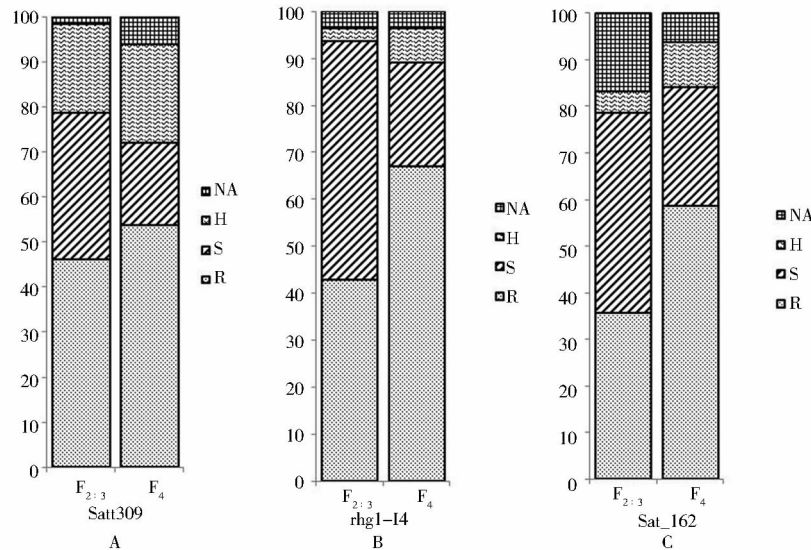
P₁为抗病亲本;P₂为感病亲本。
P₁ means resistant parent; P₂ means susceptible parent.

图 3 亲本及部分 F₂个体 Satt309(a) 和 Sat_162(b) 电泳结果

Fig.3 Electrical result of Satt309(a) and Sat_162(b) in parents and F₂ separated population

2.2.2 *Rhg4* 位点检测 利用与 *Rhg4* 位点连锁的标记 Sat_162 对不同分离世代进行抗病基因型检测。亲本在 Sat_162 上表现出多态性(图3)。在 $F_{2:3}$ 分离群体中 Sat_162 抗病基因型 68 个,感病基因型 82 个,杂合基因型 9 个,缺失数据 32 个;在 F_4 分离群体中抗病基因型 48 个,感病基因型 21 个,杂合基因型 8 个,缺失数据 5 个。

与抗病基因相关标记的基因型在不同分离世代所占的比例见图4。经过选择,随着世代的增加,抗病基因型个体在分离群体中所占比例有增大的趋势,说明基于表型鉴定的选择方法能有效地对分离群体抗病基因型进行选择。杂合基因型所占比例增加,推测是由于人为选择因素造成不同世代间群体结构的偏差。



H: 杂合; S: 感病; R: 抗病; NA: 缺失。

H: Heterozygous; S: Susceptible; R: Resistant; NA: Not available.

图4 抗性相关标记基因型在不同世代中比例

Fig.4 Distribution ratio of different genotype relative to resistance between different generations

2.2.3 不同标记间关联性分析 利用 SPSS 18.0 分析不同标记间关联性,由表2可知,Satt309在 $F_{2:3}$ 分离世代与 rhg1-I4 和 Sat_162 显著相关,在 F_4 分离世代中与 Sat_162 的关联性消失,与 rhg1-I4 和 SCN_Res Bridge 的关联性依旧保持在显著水平;rhg1-I4 在 $F_{2:3}$ 分离世代与 Satt309 显著相关,与 Sat_162 不具有相关性,在 F_4 分离世代则表现出与 Satt309, Sat_162 和 SCN_Res Bridge 均具有相关性;Sat_162 在 $F_{2:3}$ 分离世代与 Satt309 显著相关,与 rhg1-I4 没有相关性,在 F_4 分离世代则表现出相反的结果,即与

Satt309 相关性丧失,与 rhg1-I4 表现极显著相关;SCN_Res Bridge 在 F_4 分离群体中,与 Satt309、rhg1-I4 和 Sat_162 均表现出相关性。

Satt309, rhg1-I4 和 SCN_Res Bridge 均是抗病基因 *rhg1* 紧密连锁的标记,在不同分离世代间关联性均达到极显著水平;Sat_162 在不同分离世代间与 Satt309 和 rhg1-I4 的关联性表现不同,这可能是由于不同世代抗病基因间分离造成的。

2.3 分子标记选择效率比较

2.3.1 单标记的选择效率 利用与大豆胞囊线虫病抗病基因 *rhg1* 和 *Rhg4* 相关的分子标记,对有表型鉴定数据的不同世代分离群体进行基因型鉴定,分析单标记对抗病性的选择效率。由表3可知,在 $F_{2:3}$ 分离群体中单标记对抗病性的选择效率最高的为 Satt309 和 rhg1-I4 (85.71%),Sat_162 对抗病性的选择效率最低(42.86%);在 F_4 分离群体中选择效率最高的为 rhg1-I4 和 SCN_Res Bridge (88.89%),Satt309 对抗病性的选择效率最低(50.00%)。rhg1-I4 是基于抗病基因序列开发的功能性标记,所以在两个世代的分离群体中对抗病性的选择效率均最高,Satt309 是与抗病基因连锁的 SSR 标记,在低世代时选择效率较高,随着世代的增加,基因与标记的重组造成了选择效率的降低。

表2 不同标记在不同世代间的 χ^2 值

Table 2 χ^2 value of different markers in different generations

	Satt309	rhg1-I4	Sat_162	SCN_Res Bridge
Satt309	—	37.3489 **	4.1361	19.2143 **
rhg1-I4	29.5087 **	—	29.0241 **	40.8508 **
Sat_162	19.9939 **	1.4039	—	8.6400 *

$\chi^2_{0.05,2} = 5.99$, $\chi^2_{0.01,2} = 9.21$; * 表示 0.05 水平差异; ** 表示 0.01 水平差异。左下部为 $F_{2:3}$ 分离群体 χ^2 值,右上部为 F_4 分离群体 χ^2 值。

* means significant difference at 0.05 level; ** means significant difference at 0.01 level. Left lower group means χ^2 in $F_{2:3}$, upper right means χ^2 in F_4 .

表 3 不同世代单标记基因型对表型选择效率
Table 3 Selective efficiency with single marker in different generations(%)

世代 Generation	Satt309		Sat_162		rhg1-I4		SCN_Res Bridge	
	R	S	R	S	R	S	R	S
F _{2:3}	85.71	31.48	42.86	44.44	85.71	51.85	—	—
F ₄	50.00	19.67	55.56	29.51	88.89	27.87	88.89	31.15

2.3.2 多标记的选择效率 不同标记间组合对 F_{2:3} 株系抗病性选择效率见表 4。结果表明,Satt309 和 rhg1-I4 组合对 F_{2:3} 分离群体抗病性选择效率最高(60.00%);Sat_162 与 Satt309 组合对抗病性选择效率最低(20.00%)。尽管 Satt309 单标记对抗病性的选择效率最高,但是由于 Satt309 与 rhg1-I4 和 Sat_162 存在关联性,造成了多标记组合对抗病性选择效率的降低。

不同标记间组合对 F₄ 抗病性选择效率见表 4。结果表明,rhg1-I4 与 SCN_Res Bridge 标记组合对 F₄

群体抗病性选择效率最高(88.89%);rhg1-I4 与 Sat_162 组合,SCN_Res Bridge 与 Sat_162 组合对 F₄ 群体抗病性选择效率为 61.11%;Satt309 与 Sat_162 组合对 F₄ 分离群体抗病性的选择效率最低,为 27.78%。rhg1-I4 和 SCN_Res Bridge 均是基于抗病基因序列开发的功能性标记,可以直接针对抗病基因进行选择,所以其组合在抗病分离群体选择效率高,Satt309 和 Sat_162 分别与抗病基因 *rhg1* 和 *Rhg4* 紧密连锁的 SSR 标记,两者组合对分离群体抗病性选择效率大幅度降低。

表 4 不同世代标记组合对表型选择效率
Table 4 Selective efficiency with combinative markers in different generations(%)

标记 Marker	Satt309		Sat_162		rhg1-I4		SCN_Res Bridge	
	R	S	R	S	R	S	R	S
Satt309	—	—	27.78	3.28	50.00	16.39	44.44	14.75
Sat_162	20.00	17.32	—	—	61.11	11.48	61.11	9.84
rhg1-I4	60.00	32.28	20.00	29.92	—	—	88.89	24.59

左下部为 F_{2:3} 株系表型选择效率;右上部为 F₄ 表型选择效率。
Left lower group mean selective efficiency in F_{2:3};upper right group mean selective efficiency in F₄.

3 讨 论

3.1 大豆胞囊线虫抗病性在不同世代间遗传研究

李莹等^[10]以灰布支黑豆和应县小黑豆为抗病基因来源,利用完全双列杂交配制 12 个组合,对大豆胞囊线虫病 4 号生理小种抗性遗传进行研究,结果表明上述两个抗源品种的抗病性受 1 对显性基因和 2 对重叠的隐性基因控制。王衍侗等^[11]提出灰布支黑豆对大豆胞囊线虫 14 号生理小种的抗性由 3 对基因控制、1 对隐性基因对 2 对显性基因的上位和 2 对显性基因互补作用的遗传假设,并在 F₃ 代确认了上述假设的正确性。宋书宏等^[12]利用辽豆 10 号(感病)和北京小黑豆(抗病)进行有性杂交,对其后代的遗传分析表明在辽豆 10 号的遗传背景下,北京小黑豆对 3 号小种的抗性是由 1 个显性基因和 2 个隐性基因控制的。

本研究利用对大豆胞囊线虫病具有广谱抗性的灰布支黑豆作为抗原,以在生产上广泛应用的高产但感大豆胞囊线虫病的大豆品种黑农 33 为受体亲本,配置杂交组合,利用东北大豆产区优势小种 SCN3,采用盆栽鉴定的方法连续两年鉴定了不同

世代分离群体的抗病性,并利用与抗病基因 *rhg1* 和 *Rhg4* 紧密连锁的 SSR 标记和基于抗病基因序列开发的 Indel 标记对不同世代分离群体的抗病基因型进行跟踪分析。

抗病性遗传分析表明,在黑农 33 背景下,灰布支黑豆的抗病性受 2 对隐性基因控制,F_{2:3} 家系分离比符合 15:1。当以根部胞囊数量为考察标准时,F_{2:3} 株行间变异高于株行内变异,株行间胞囊数量分布较集中并且趋向于感病类型。当以抗病性等级为考察标准时,抗病个体所占比例由 F_{2:3} 的 35.29% 降低到 F₄ 的 23.38%。这可能是由于在加代过程中,抗病基因拷贝数的变化引起的。与抗病表型相反的是抗病基因型在 F₄ 分离群体中所占比例较 F_{2:3} 世代均有所增加,可能是因为人工选择对基因型分布频率的影响。

3.2 不同类型标记对不同世代分离群体大豆胞囊线虫抗病性的检测效率

王文辉等^[13]用 Satt309 分析了包括灰布支黑豆在内的中国大豆抗胞囊线虫病种质的 *rhg1* 位点的等位变异发现,72.27% 的抗病种质,87.69% 的双抗种质和 100% 的三抗种质都具有 128 和 134 bp 的等位变异。南海洋等^[6]分析了 8 个大豆种质抗大豆

胞囊线虫病抗病基因 *rhg1* 的序列,利用开发的 Indel 标记 *rhg1*-I4 对 33 份大豆资源进行了基因型分析,结果发现 *rhg1*-I4 对抗病资源检测效率为 88.2%,对感病资源的检出效率为 100%,该标记的 288 和 294 bp 等位变异为抗病相关等位变异,269 和 272 bp 等位变异为感病相关等位变异,并可以通过 PAGE 胶区分不同基因型。SCN_Res Bridge 为 Cook 等^[8]基于抗病基因 *rhg1* 序列开发的 Indel 标记,用以区分抗感材料中单拷贝及多拷贝,在抗病材料 Fayette、Hartwig 和 Newton 中均有 400 bp 的扩增产物,而在感病材料 Williams82、Essex、Thorne 和 Sturdy 中则没有扩增产物。Liu 等^[9]的研究证实,编码丝氨酸羟甲基转移酶的基因决定了大豆胞囊线虫病 4 号生理小种的抗病性,而 Sat_162 标记与抗病基因 SHMT 紧密连锁。

本研究探讨了 Satt309、*rhg1*-I4、SCN_Res Bridge 和 Sat_162 这 4 个标记在育种分离群体中不同世代间对抗病性的选择效率。结果发现,利用单标记对育种分离群体抗病性选择效率最高的是 *rhg1*-I4 和 SCN_Res Bridge,均为 88.89%,选择效率最低的是 Sat_162(42.86%)。推测原因可能是因为分离群体中主要抗性基因为 *rhg1*。*rhg1* 抗病基因的不同标记间组合对抗病性选择效率相比单标记有下降趋势,只有 *rhg1*-I4 和 SCN_Res Bridge 组合对抗病性选择效率依然保持在 88.89%;Satt309 和 *rhg1*-I4 组合后对抗病性选择效率降低到 50.00%,Satt309 与 SCN_Res Bridge 组合后对抗病性选择效率降低到 44.44%,这说明基于抗病基因序列设计的标记的选择效率高与抗病基因连锁的 SSR 标记的选择效率。

无论是单标记还是标记组合,基于候选基因的 Indel 标记对表型的检测效率均高于与抗病基因连锁的 SSR 标记,不同标记之间的组合并没有显著地提高对表型的检测效率。随着世代的增加,基于候选基因的标记检测效率有所提高,而 Satt309 的检测效率下降。这是由于该标记与抗病基因存在一定遗传距离,随着分离世代的增加,两者的连锁关系被打破而造成检测效率下降。

参考文献

- [1] 许艳丽,王丽芳,战丽莉.大豆胞囊线虫病研究进展(续一)[J].大豆科技,2010(1):21-24. (Xu Y L, Wang L F, Zhan L L. Research progress on soybean cyst nematode (Part I) [J]. Soybean Science & Technology, 2010(1): 21-24.)
- [2] Wrather A, Shannon G, Balardin R, et al. Effect of diseases on soybean yield in the top eight producing countries in 2006 [J]. Plant Management Network, doi:10.1094/PHP-2010-0125-01-RS.
- [3] 高源,常玮,韩英鹏,等.2种大豆胞囊线虫鉴定方法比较及分析[J].大豆科学,2012,31(2):274-277. (Gao Y, Chang W, Han Y P, et al. Comparisons and analysis on the two methods of evaluating resistance to soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 2012, 31(2): 274-277.)
- [4] 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, Chang 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.)
- [5] 李英慧,袁翠平,张辰,等.基于大豆胞囊线虫病抗性候选基因的 SNP 位点遗传变异分析[J].遗传,2009(12):91-96. (Li Y H, Yuan C P, Zhang C, et al. Genetic variation of SNP loci based on candidate gene for resistance to soybean cyst nematode [J]. Hereditas, 2009(12): 91-96.)
- [6] 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.)
- [7] Cregan P B, Mudge J, Fickus E W, et al. Two simple sequence repeat markers to select for soybean cyst nematode resistance conditioned by the *rhg1* locus [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99: 811-818.
- [8] Cook D E, Lee T G, Guo X, et al. Copy number variation of multiple genes at *rhg1* mediates nematode resistance in soybean [J]. Science, 2012, 338: 1206-1209.
- [9] Liu S, Kandath P K, Warren S D, et al. A soybean cyst nematode resistance gene points to a new mechanism of plant resistance to pathogens [J]. Nature, 2012, 492: 256-260.
- [10] 李莹,李原萍,张昕艳,等.大豆品种对胞囊线虫 4 号生理小种抗性的遗传研究[J].大豆科学,1996,15(3):191-196. (Li Y, Li Y P, Zhang X Y, et al. A genetic study on resistance of soybean to cyst nematode physiological race No. 4 [J]. Soybean Science, 1996, 15(3): 191-196.)
- [11] 王衍侗,彭德良,陈受宜.灰不支黑豆对大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*)14号小种的抗性遗传[J].遗传学报,2000,27(2):146-150. (Wang Y T, Peng D L, Chen S Y. Inheritance of resistance to *Heterodera glycines* race 14 in Huibuzhi black bean [J]. Acta Genetica Sinica, 2000, 27(2): 146-150.)
- [12] 宋书宏,苏黎,蔺瑞明,等.大豆抗胞囊线虫病新品种选育及遗传机制研究[J].中国油料作物学报,2000,22(1):73-75. (Song S H, Su L, Lin R M, et al. Development and genetic analysis of new variety with resistance to soybean cyst nematode [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2000, 22(1): 73-75.)
- [13] 王文辉,邱丽娟,常汝镇,等.中国大豆种质抗 SCN 基因 *rhg1* 位点 SSR 标记等位变异特点分析[J].大豆科学,2003,22(4):246-250. (Wang W H, Qiu L J, Chang R Z, et al. Characteristics of alleles at Satt309 locus associated with *rhg1* gene resistant to SCN of Chinese soybean germplasm [J]. Soybean Science, 2003, 22(4): 246-250.)