

五寨黑豆对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性遗传分析

李海燕¹, 蔡德利¹, 段玉玺², 陈井生³, 李肖白³, 商莹宇¹

(1. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆, 163319; 2. 沈阳农业大学 植物保护学院/北方线虫研究所, 辽宁 沈阳, 110866; 3. 黑龙江省农业科学院 大庆分院, 黑龙江 大庆, 163316)

摘 要:大豆胞囊线虫 3 号生理小种是东北大豆产区分布最广、危害最大的生理小种, 五寨黑豆对包括大豆胞囊线虫 3 号生理小种在内的 7 个生理小种具有高抗性。以黑龙江省主栽品种合丰 35 为母本, 与五寨黑豆进行杂交, 通过鉴定 F₂、F₃ 代对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性, 研究了五寨黑豆对大豆胞囊线虫抗性遗传。结果表明: 在以合丰 35 为遗传背景下, 五寨黑豆对 SCN 3 号生理小种的抗、感分离比例符合孟德尔遗传规律中 1:3 的分离比例, 表明五寨黑豆对 SCN 3 号生理小种的抗性是由 1 对隐性基因控制。

关键词:五寨黑豆; 大豆胞囊线虫; 3 号生理小种; 抗性遗传分析

中图分类号:S565. 1 **文献标识码:**A **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2017. 01. 0012

Genetic Analysis of Resistance to Soybean Cyst Nematode (SCN) Race 3 in Soybean Germplasm Wuzhaiheidou

LI Hai-yan¹, CAI De-li¹, DUAN Yu-xi², CHEN Jing-sheng³, LI Xiao-bai³, SHANG Ying-yu¹

(1. Agricultural College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163316, China; 2. Nematology Institute of Northern China /College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 3. Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing 163316, China)

Abstract: Soybean cyst nematode (SCN) race 3 is widely distributed and severely harmed soybean yield in the main soybean producing area of northeastern of China. Wuzhaiheidou can resist 7 races containing SCN races 3. In this study, genetic resistance of soybean germplasm to SCN race 3 was studied with the populations of F₂ and F₃ lines in crosses of Hefeng 35 and Wuzhaiheidou. The results showed that the separation ratio of Wuzhaiheidou resistance to SCN race 3 was 1:3 in according with Mendel laws. It was cleared that the resistance of Wuzhaiheidou to SCN races 3 was controlled by one recessive gene.

Keywords: Wuzhaiheidou; Soybean Cyst Nematode; Race 3; Genetic analysis of resistance

大豆胞囊线虫病是由定居性内寄生线虫引起的土传毁灭性大豆病害之一^[1]。黑龙江省是中国大豆主要生产区, 近年来随着种植结构的调整, 旱田作物长时间连作, 导致此病害由西部干旱盐碱地重病区逐步蔓延到中部等以前未发生的地区, 且危害日趋加重, 严重地块减产达 30% 以上, 造成的经济损失严重。采用轮作、药剂等防治方法可以在一定程度上控制其危害, 但是选育和利用抗病品种仍然是目前防治大豆胞囊线虫的最经济有效的途径^[2]。

美国早在 1967 年前以从中国引进的 Peking 等抗病品种作抗源, 首先育成抗病品种 Pickett, 之后又先后育成 Forrest、Mack、Custter 等抗线虫品种并在生产上推广, 基本上控制了美国大豆胞囊线虫的发生与蔓延。我国抗病育种研究起步虽然较晚, 但近些年, 利用国内外抗源与当地推广品种杂交, 育成了高抗胞囊线虫病新品种抗线 1~4 号和嫩丰 15 等

新品种^[3]。利用兼抗多个胞囊线虫病生理小种的灰布支黑豆, 巨寨赤不流黑豆、应县小黑豆等抗源与生产上推广品种杂交选育的晋品 77~82 号等免疫或兼抗的黑豆新种质^[4]以及王连铮等^[5]和刘波等^[6]利用抗源材料 PI437654、灰皮支黑豆等筛选出中黄 12、中黄 13 及中黄 17、中品 03-5373 等高抗、中抗的品种和品系, 在防治大豆胞囊线虫的生产上推广应用, 取得了明显的防治效果。关于大豆对胞囊线虫抗性遗传研究, 前人针对不同的大豆胞囊线虫生理小种进行了诸多报道, Anand 等^[7]报道 PI437654 对 SCN3 的抗性由 1 对显性基因和 2 对隐性基因控制; 宋书宏等^[8]报道 Franklin 对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性由 2 对显性基因和 1 对隐性基因控制; 王衍桐等^[9]报道支持兴县灰布支黑豆对大豆胞囊线虫 14 号小种的抗性是由 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机制。但在研究 SCN 抗性

遗传过程中,由于研究者所研究的抗源材料中抗病基因的差异和感病品种遗传组成上的不同,加之所采用的抗性评价标准不尽相同,致使许多研究者得出的结论不尽相同^[10-12]。五寨黑豆是我国珍贵的抗病资源,兼抗多个大豆胞囊线虫(SCN)生理小种^[13],目前鲜有以其为抗源的研究报道。本研究以黑龙江省主要栽培品种合丰 35 为母本,研究五寨黑豆对大豆胞囊线虫的抗性遗传规律,以期为当地大豆抗胞囊线虫病育种及防治创制新抗源提供遗传学依据和亲本材料。

1 材料与方法

1.1 材料

合丰 35(感大豆胞囊线虫)由黑龙江省农业科学院合江分院(原合江农科所)提供。五寨黑豆(抗大豆囊线虫)为国家品种资源库保存的地方品种,编号 ZDD2255,由沈阳农业大学北方线虫研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 杂交群体的构建 试验于 2009 - 2011 年在黑龙江省齐齐哈尔市富裕县进行,在大豆的生长季节将合丰 35 与五寨黑豆进行杂交,获得杂交后的种子,通过冬季南繁加代和春季正常播种后获得 F₂,将 F₂播种于大豆胞囊线虫 3 号生理小种发病比较严重的黑龙江省齐齐哈尔市富裕县试验地,进行田间抗性遗传研究。同时,取同一地块病土进行盆栽试验。用于合丰 35 × 五寨黑豆杂交组合 F₂群体抗性分析的试验单株为 288 个,为了减少由于 F₂对每一个单株进行抗性鉴定很难用统计学的方法来消除试验误差的缺陷,从 F₂单株上随机取 20 粒以上的 F₃种子进行抗病性鉴定,通过对 F₃株系中的单株的抗病性取平均值作为 F₂单株的抗病性,以减少抗性鉴定中的统计误差。F₃群体共选取 86 个株系。

1.2.2 抗性鉴定 采用田间病圃自然感病和盆栽接种病土鉴定相结合的方法。抗性评价采用绝对胞囊数和胞囊指数两种分级标准。为了监测生理小种变化情况,在田间自然感病鉴定圃内和盆栽接种病土鉴定各种植一套生理小种鉴别品种:Peking、PI88788、PI90763、Pickett 和 Lee68。于显囊盛期调查其根系胞囊数,以 Golden 生理小种鉴别法^[14]确定小种类型。

病圃自然感病鉴定:病圃设在黑龙江省齐齐哈尔市富裕县 3 号生理小种严重发生的地块内,每 100 g 土中胞囊含量为随机 5 点取样平均值为 89 个,鉴定材料于 5 月 10 日单行播种,行长 5 m,垄距 65 cm,顺序排列,每隔 20 行设置感病品种 Lee68 为

对照,于第一代显囊盛期,即出苗后 35 ~ 40 d 进行调查,每个品种或品系的植株全部调查。挖根时避免损伤根系,将根系上的泥土轻轻抖掉,仔细查数根系上白色胞囊数,记录胞囊数,并计算胞囊指数。

盆栽接种病土鉴定:盆栽用土取自大田自然感病的病圃(同一田间实验地内),胞囊基数同上。5 月 11 日播种,每个品种或品系依据不同杂交群体的数量而定,每盆种 5 粒种子,出苗后 35 ~ 40 d 将盆土倒出,用清水淋洗根部,检查根上及土壤中的胞囊数,计算胞囊指数。

绝对胞囊数分级标准如下:

免疫:0 个;抗病:0.1 ~ 5.0 个;中抗:6.0 ~ 10.0 个;感病:11.0 ~ 30.0 个;高感:30 个以上。

胞囊指数分级标准如下:

$$\text{胞囊指数 (IP, \%)} = \frac{\text{供试品种的平均胞囊量}}{\text{感病对照品种的平均胞囊量}} \times 100$$

高抗:IP < 10%; 中抗:10% ≤ IP < 25%; 中感:25% ≤ IP < 50%; 高感:IP ≥ 50%。

田间试验与盆栽试验调查过程中表现高抗、高感病的植株,调查后均进行移栽,单株收获,种子用于翌年跟踪鉴定和后续试验。

1.3 数据分析

采用 Excel 2003 进行数据处理及分析。

2 结果与分析

2.1 大豆胞囊线虫生理小种的监测鉴定

田间病圃和盆栽接种大豆胞囊线虫生理小种鉴定结果见表 1。在 5 个鉴别寄主中,只有 Lee68 表现感病,其它 4 个鉴别寄主 Peking、PI88788、PI90763、Pickett 均表现抗病,依据 Golden 生理小种鉴别法可以确定,试验所在的病圃土壤中,大豆胞囊线虫为 3 号生理小种。

2.2 不同亲本对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的反应

由表 2 可以看出:田间试验和盆栽试验的数据虽有一定的差异,但不同方式的鉴定结果一致,可以确定合丰 35 对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的感染表现高度感病,五寨黑豆表现高度抗病。

2.3 F₂对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性遗传分析

2.3.1 绝对胞囊数分级抗性分析 参照刘学义等^[15]的划分方法,将胞囊数 0 ~ 5 个归为对大豆胞囊线虫 3 号生理小种表现抗性,将胞囊 6 个以上归为对大豆胞囊线虫 3 号生理小种表现敏感型,对 F₂代 288 个单株抗性分析结果。由表 3 和表 4 可见,

抗病:感病 = 68:220 = 1:3.235, $\chi^2 = 0.296 < \chi^2_{0.05,1}$ 此可以推测五寨黑豆对大豆胞囊线虫 3 号生理小种 = 3.481,说明符合孟德尔遗传规律,分离比1:3。因 的抗性是由 1 对隐性基因控制的。

表 1 病圃中大豆胞囊线虫生理小种的鉴定结果

Table 1 The identification of Soybean Cyst Nematode Races in disease soil

鉴定方法 Identification method	项目 Item	Pickett	Peking	PI88788	PI90763	Lee68
田间自然鉴定 Field natural evaluation	胞囊指数 Index of cysts	2	1.3	1.1	0.9	100
	寄生反应 Type	—	—	—	—	+
盆栽接种鉴定 Pot inoculation	胞囊指数 Index of cysts	3.6	4.9	2.3	3.4	100
	寄生反应 Type	—	—	—	—	+

+ 表示大于等于 Lee68 寄生胞囊量的 10% ; — 表示小于 Lee68 寄生胞囊量的 10% 。

+ means cyst number more than 10% on Lee68; — means cyst number less than 10% on Lee68.

表 2 不同亲本对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的反应

Table 2 The reactions of different parents to Soybean Cyst Nematode race 3

鉴定方法 Identification method	项目 Item	五寨黑豆 Wuzhaiheidou	合丰 35 Hefeng35
田间自然鉴定 Field natural evaluation	胞囊指数 Index of cysts	1.33	86.4
	寄生反应 Type	—	+
盆栽接种鉴定 Pot inoculation	胞囊指数 Index of cysts	1.75	91.6
	寄生反应 Type	—	+

表 3 合丰 35 × 五寨黑豆 F₂ 杂交群体绝对胞囊数抗性鉴定结果

Table 3 The identification results of Hefeng 35 × Wuzhaiheidou F₂ hybrid population resistance to SCN 3 absolute cysts

抗病级别 Resistance grade	0 免疫 Immune	1 抗病 R	2 中抗 MR	3 感病 S	4 高感 HS	总数 Total
统计株数 Statistical No.	0	68	32	146	42	288
百分率 Percentage/%	0	23.7	10.9	50.7	14.5	

表 4 合丰 35 × 五寨黑豆 F₂ 杂交群体胞囊数抗性鉴定结果遗传分析

Table 4 The resistance genetic analysis of Hefeng 35 × Wuzhaiheidou F₂ hybrid population to SCN 3 absolute cysts

世代 Generation	鉴定株数 Identification number		抗感比例 The proportion of R vs S	预期比例 The expected proportion	χ^2
	抗病株数 The number of R	感病株数 The number of S			
F ₂	68	220	1:3.235	1:3	0.296

2.3.2 胞囊指数分级抗性分析 采用胞囊指数抗性分级标准对 F₂ 群体的抗性鉴定结果列入表 5 和表 6。IP < 10% 归为抗性,其余归为敏感性。结果表明:抗病:感病 = 81:207 = 1:2.556,对试验材料的分离比例进行卡方测验, $\chi^2 = 1.500 < \chi^2_{0.05,1} = 3.481$,说明符合 1:3 的分离比,与采用绝对胞囊数分级结果一致,表明五寨黑豆对大豆胞囊线虫的抗性由 1 对隐性基因控制。

2.4 F₃对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性遗传分析

为了消除 F₂抗性分析统计上的误差,通过 F₃株系群体抗性的平均值对 F₂有抗性表现进行了验证,抗性分级标准也采用绝对绝对胞囊数和胞囊指数法两种(表 7)。按照绝对胞囊数分级法 F₃代抗感比为 1:2.44,对试验材料的分离比例进行卡方测验, $\chi^2 = 0.760 < \chi^2_{0.05,1} = 3.481$,按照胞囊指数 F₃抗

感比为 1:2.071,对试验材料的分离比例进行卡方测验 $\chi^2=2.620<\chi^2_{0.05,1}=3.481$,基本符合孟德尔遗传 3:5 的分离比, F_3 的验证结果与 F_2 群体遗传规律一致。

表 5 合丰 35 × 五寨黑豆 F_2 杂交群体胞囊指数分级抗性鉴定结果

Table 5 The identification results of Hefeng 35 × Wuzhaiheidou F_2 hybrid population resistance to SCN 3 cyst index					
抗病级别 Resistance grade	1 高抗 HR	2 中抗 MR	3 中感 MS	4 高感 HS	总数 Total
统计株数 Statistical No.	81	112	69	26	288
百分率 Percentage/%	28.1	38.9	23.9	9.0	

表 6 合丰 35 × 五寨黑豆 F_2 杂交群体胞囊指数分级抗性鉴定结果遗传分析

Table 6 The resistance genetic analysis of Hefeng 35 × Wuzhaiheidou F ₂ hybrid population to SCN 3 cyst index					
世代 Generation	鉴定株数 Identification number		抗感比例 The proportion of R <i>vs</i> S	预期比例 The expected proportion	χ ²
	抗病株数 The number of R	感病株数 The number of S			
F ₂	81	207	1:2.556	1:3	1.500

表 7 合丰 35 × 五寨黑豆 F_3 杂交群体抗性鉴定结果遗传分析

Table 7 The resistance genetic analysis of Hefeng 35 × Wuzhaiheidou F ₃ hybrid population					
鉴定方法 Identification method	F ₃ 鉴定株数 Identification numbers		抗感比例 The proportion of R <i>vs</i> S	预期比例 The expected proportion	χ ²
	抗病株数 The number of R	感病株数 The number of S			
绝对胞囊数分级 Absolute cysts classification	25	61	1:2.440	1:3	0.760
胞囊指数分级 Cys tindex classification	28	58	1:2.071	1:3	2.620

3 结论与讨论

大豆对胞囊线虫 3 号生理小种抗病性遗传规律的研究已有许多报道^[6,8,11,16-17]。研究表明,在不同抗源中含有不同的抗性基因,甚至同一抗源在不同的杂交组合中表现不同的抗性遗传方式。刘维志等^[10]报道小粒黑豆在与开育 10 号的杂交后代中表现为 4 对显性基因控制的遗传方式,而与铁丰 24 的后代中表现出 1 对显性和 1 对隐性基因控制的遗传方式。在本试验中,合丰 35 × 五寨黑豆组合的 F_2 群体抗感分离遗传分析和 F_3 的验证结果一致。表明五寨黑豆对大豆胞囊线虫 3 生理小种的抗性遗传符合孟德尔遗传 1:3 的分离比,其对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性是由 1 对隐性基因控制的。

大豆抗胞囊线虫的分级标准直接影响了对抗源材料的准确评价。由于 F_2 是对每一个单株的进行的抗性鉴定,因而抗性鉴定的误差很难用统计学的方法来消除。本研究中选择 86 个 F_3 株系对 F_2 的

抗性进行了验证,研究结果与王敬强等^[18]应县小黑豆对大豆胞囊线虫 4 号生理小种的抗性分析结果相一致,表明利用 F_3 株系进行大豆胞囊线虫抗性鉴定比对 F_2 单株直接进行抗性鉴定更为准确。 F_3 株系验证试验中抗、感分离比例与理论值有一定的偏差,可能与五寨黑豆抗大豆胞囊线虫的抗病基因中存在主效基因和多个辅助基因,不同抗性基因的遗传力有差异以及环境因素的影响有关。

参考文献

[1] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版,2000: 281-282. (Liu W Z. Plant nematology[M]. Beijing:China Agriculture Press,2000;281-282.)
[2] 李泽宇,李肖白,陈井生,等. 大豆品种(系)抗大豆胞囊线虫 14 号生理小种的抗性鉴定研究[J]. 大豆科学,2014,33(3): 408-410. (Li Z Y,Li X B,Chen J S,et al. Identification of soybean varieties for resistance to soybean cyst nematode races 14 [J]. Soybean Science, 2014,33(3);408-410.)
[3] 崔文馥. 我国大豆胞囊线虫抗源筛选及抗病育种研究进展

[J]. 大豆科学, 1998, 17(1): 79-81. (Cui W F. Advances in study of breeding for resistance to soybean cyst nematode of China [J]. Soybean Science, 1998, 17(1): 79-81.)

[4] 李莹, 李原平, 赵卫红, 等. 抗 SCN4 号生理小种新品系的选育 [J]. 华北农学报, 1994(2): 33-38. (Li Y, Li Y P, Zhao W H. Selective breeding of new soybean lines with resistance to race 4 of soybean cyst nematode [J]. Acta Agricultural Boreali-Sinica, 1994(2): 33-38.)

[5] 王连铮, 赵荣娟, 王岚, 等. 大豆抗胞囊线虫 4 号生理小种新品种的选育研究 [J]. 中国农业科学, 2002, 35(5): 476-481. (Wang L Z, Zhao R J, Wang L, et al. Study on soybean breeding for resistance to cyst nematode [J]. Scientia Agricultural Sinica, 2002, 35(5): 476-481.)

[6] 刘波, 李英慧, 于佰双, 等. 中品 03-5373 对大豆胞囊线虫 3 号生理小种免疫抗性的遗传解析 [J]. 作物学报, 2015, 41(1): 15-21. (Liu B, Li Y H, Yu B S, et al. Genetic analysis of immunity to soybean cyst nematode race 3 in elite line Zhongpin 03-5373 [J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(1): 15-21.)

[7] Anand S C, Myers G O. Genetic relationships between PI437654 and others sources of resistance to soybean cyst nematode races 3, 5 and 14 [J]. Soybean Genetics Newsletter, 1992, 19: 149-155.

[8] 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.)

[9] 王衍桐, 彭德良, 陈受宜. 灰布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* 14 in Huibuzhi Black Bean [J]. Acta Genetica Sinica, 2000, 27(2): 146-150.)

[10] 刘维志, 洪权春, 刘晔, 等. 中国小黑豆品种对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性遗传规律的研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 1996, 27(1): 31-34. (Liu W Z, Hong Q C, Liu Y, et al. Studies on inheritance of resistance to race 3 of the soybean cyst nematode in Chinese black soybeans [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 1996, 27(1): 31-34.)

[11] 段玉玺, 周博, 陈立杰, 等. 抗大豆胞囊线虫 3 号生理小种 (SCN3) 核心种质代表性分析 [J]. 大豆科学, 2008, 27(3): 366-372. (Duan Y X, Zhou B, Chen L J, et al. Representative analysis of the establishment of a core collection focused on race 3 of soybean cyst nematode [J]. Soybean Science, 2008, 27(3): 366-372.)

[12] 颜清上, 王连铮. “抗病值”在大豆抗胞囊线虫病遗传研究中应用的探讨 [J]. 作物学报, 2000, 26(1): 20-27. (Yan Q S, Wang L Z. Studies on inheritance of soybean resistance to race 4 of *Heterodera glycines* by using the concept of ‘resistance value’ [J]. Acta Agronomica Sinica, 2000, 26(1): 20-27.)

[13] 吴海燕. 大豆与大豆胞囊线虫相互关系研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2003: 150-153. (Wu H Y. The interaction of resistance soybean and *Heterodera glycine* [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2003: 150-153.)

[14] Golden A M, Epps J M, Riggs R D, et al. Terminology and identity of in specific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) [J]. Plant disease Reporter, 1970, 54: 544-546.

[15] 刘学义. 塑料钵柱法在大豆胞囊线虫鉴定中的应用研究 [J]. 华北农学报, 1998, 13(专刊): 92-96. (Liu X Y. Studies on the application of soybean cyst nematode identification with plastic bowl column [J]. Acta Agricultural Boreali-Sinica, 1998, 13(special issue): 92-96.)

[16] 于吉东, 陈井生, 马兰, 等. 高产抗病大豆品种抗线虫 11 号的选育 [J]. 黑龙江农业科学, 2013(2): 147-148. (Yu J D, Chen J S, Ma L, et al. Selection of soybean variety Kangxian 11 with high yield and disease resistance to *Heterodera glycines* [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2013(2): 147-148.)

[17] Rao A P. Inheritance of resistance to *Heterodera glycines* race 3 in soybean accessions [J]. Plant Diseases, 1994, 78: 890-900.

[18] 王敬强, 程大新, 宛煜嵩, 等. 应县小黑豆对大豆胞囊线虫 4 号生理小种抗性的遗传分析 [J]. 中国农学通报, 2001, 17(6): 12-15. (Wang J Q, Cheng D X, Wan Y S, et al. Genetic analyzing of resistance to race 4 of soybean cyst nematode in soybean ZDD2226 [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2001, 17(6): 12-15.)