

分子标记在大豆种质和分离群体中对 SMV 抗性基因的选择效果研究

刘士超,任 锐,王丽群,王 涛,落金艳,郑欢芳,智海剑,李 凯

(南京农业大学 大豆研究所/农业部大豆生物学与遗传育种重点实验室/国家大豆改良中心/作物遗传与种质创新国家重点实验室,江苏 南京 210095)

**摘 要:**大豆花叶病毒(*Soybean mosaic virus*, SMV)病是我国大豆生产上最主要的病毒病害之一。本研究用与 SMV 株系 SC15 和 SC18 抗病基因 *Rsc15* 和 *Rsc18* 紧密连锁的 5 个分子标记(Satt246、Satt286 和 Satt634、BARCSOYSSR\_02\_0667 和 Satt266)对来自国内外的 50 份大豆种质以及杂交组合“科丰 1 号 × RN-9”后代进行了针对 SC15 和 SC18 株系的抗病性评价和选择。经接种验证后结果表明:Satt\_246 和 Satt286 对抗病基因 *Rsc15* 的选择平均符合率分别为 63.89% 和 66.67%;Satt634、BARCSOYSSR\_02\_0667 和 Satt266 对 *Rsc18* 选择的平均符合率分别为 67.92%、68.09% 和 63.10%;共选出抗 SC15 的材料 34 份,抗 SC18 的材料 27 份,对 SC15 和 SC18 均抗病的材料 25 份。通过对杂交组合“科丰 1 号 × RN-9”衍生的 F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 和 F<sub>4</sub> 代分离群体进行标记选择和接种 SMV 的表型验证,发现标记 Satt\_246 和 Satt286 在 3 个分离世代对 SC15 抗性基因筛选的符合率分别为 72.13%、68.83% 和 84.25%。用与 *Rsc15* 和 *Rsc18* 连锁的 5 个分子标记,对 F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 和 F<sub>4</sub> 代分离群体进行抗性基因的选择,在 F<sub>4</sub> 代就筛选到 18 个对 SC15 和 SC18 均为抗病且标记带型完全纯合的抗病家系。本研究结果表明这些分子标记可有效用于种质资源和杂交后代群体对 SMV 抗性的选择。

**关键词:**分子标记;大豆;大豆花叶病毒;抗病基因;选择符合率

**中图分类号:**S565.1      **文献标识码:**A      **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2018.01.0014

Study on Selection of SMV Resistance Genes in Soybean Germplasms and Segregation Populations using Molecular Marker

LIU Shi-chao, REN Rui, WANG Li-qun, WANG Tao, LUO Jin-yan, ZHENG Huan-fang, ZHI Hai-jian, LI Kai  
(Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Soybean, Ministry of Agriculture/  
National Center for Soybean Improvement/National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** *Soybean mosaic virus* (SMV) is one of the most important virus diseases in soybean production in China. In this study, 50 soybean germplasms from domestic and abroad along with the F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> and F<sub>4</sub> populations from the cross of “Kefeng 1 × RN-9” were evaluated and selected for the resistance to SMV strains SC15 and SC18 using the five molecular markers (Satt246, Satt286 and Satt634, BARCSOYSSR\_02\_0667 and Satt266) tightly linking to *Rsc15* and *Rsc18*, which are soybean resistance genes to SC15 and SC18. The results in this study through phenotype confirmation revealed that the coincidental rates of selection of the molecular markers for Satt\_246 and Satt286 to the resistance of SC15 were 63.89% and 66.67%, and that of Satt634, BARCSOYSSR\_02\_0667 and Satt266 to *Rsc18* were 67.92%, 68.09% and 63.10%, respectively; 34 soybean germplasms with resistance to SC15, 27 to SC18 and 25 soybean germplasms with resistance to both SC15 and SC18 were obtained, respectively. The resistant gene of *Rsc15* was selected in the F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> and F<sub>4</sub> populations using the molecular markers. The results showed that the coincidence rates of molecular markers for Satt\_246 and Satt286 to *Rsc15* in F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> and F<sub>4</sub> populations were 72.13%, 68.83% and 84.52%, respectively. The selection of resistance genes was performed in the F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> and F<sub>4</sub> populations using the 5 molecular markers linking to *Rsc15* and *Rsc18*, and 18 homozygous lines with resistance to both SC15 and SC18 were obtained in F<sub>4</sub>. These results indicate that these molecular markers can be used effectively for the selection of resistance to SMV germplasm resources and in segregating populations.

**Keywords:** Molecular markers; Soybean; Soybean mosaic virus; Resistant genes; Coincidence rates of selection

大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]起源于中国,是世界上最重要的油脂和植物蛋白来源,也是中国的五大作物之一。大豆花叶病毒(*Soybean mosaic virus*, SMV)病广泛分布于世界各大豆产区,在我国东

收稿日期:2017-07-22  
基金项目:国家自然科学基金(31371646,31571690,31671718);中央高校基本科研业务费(Y0201600115);国家现代农业产业技术体系(CARS-04);转基因生物新品种培育科技重大专项(2016ZX08004-004);江苏省现代作物生产协同创新(JCIC-MCP)。  
第一作者简介:刘士超(1992 -),女,硕士,主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail: 2015101175@njau.edu.cn。  
通讯作者:智海剑(1957 -),男,教授,博导,主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail: zhj@njau.edu.cn;  
李凯(1979 -),男,博士,副教授,主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail: kail@njau.edu.cn。

北、黄淮、长江流域及南方大豆产区也普遍发生,引起大豆减产,造成大豆籽粒斑驳,影响大豆品质<sup>[1-3]</sup>。目前,世界范围内尚无化学药剂可有效防治 SMV,培育和推广抗病品种仍是防控该病害流行的最为经济、有效的方法。对育种材料抗性的鉴定是选择的重要依据。以往人们通常采用人工汁液摩擦接种的方法鉴定大豆对 SMV 的抗性,但该方法存在以下问题:(1)需要长期保存 SMV 株系,且掌握接种及症状识别技术;(2)单株选择时一个单株不能同时接种 2 个及以上 SMV 株系,难于鉴定对多个株系的抗性;(3)大豆适宜接种鉴定时间有限,特别是田间种植,受温度、降雨等天气影响,容易错过最佳接种时间。因此,就需要一个结果可靠、且操作简单的 SMV 抗性鉴定方法以替代或辅助接种鉴定,提高抗病育种的效率。随着多个 SMV 抗病基因的定位,有望通过与抗性基因连锁的分子标记对抗性进行间接选择。分子标记辅助选择(Molecular-Assisted Selection, MAS)相对传统抗性鉴定方法具有以下优点:(1)可同时多个 SMV 株系抗性进行选择;(2)不受鉴定时间、鉴定环境等因素的限制;(3)可在较早世代就选择出纯合型材料。以往国内已有利用分子标记对大豆抗 SMV 基因鉴定选择的探索,如滕卫丽等<sup>[4]</sup>利用与抗 SMV 相关的 SSR 标记 Satt114 和 Satt362 等对 70 份大豆种质资源进行 MAS 和表型鉴定,准确率分别为 82.4% 和 68.8%。Ma 等<sup>[5]</sup>发现单独使用标记 Satt334 和 Sct\_033 对 *Rsc12* 和 *Rsc14Q* 杂种后代群体进行分子标记辅助选择的准确率均在 85% 以上。

目前,中国将 SMV 分为 22 个株系群(SC1-SC22)<sup>[6-11]</sup>。其中,SC15 和 SC18 是中国南方及东北黑龙江大豆主产区广泛分布的 SMV 株系<sup>[10-11]</sup>,且 SC15 能侵染全部 10 个鉴别寄主,是强致病力株系。本实验室 Yang 等<sup>[12]</sup>将 RN-9 对 SC15 的抗病基因 *Rsc15* 定位于大豆 6 号染色体(C2 连锁群)两个 SSR 标记 Sat\_246 和 Satt286 之间。Li 等<sup>[13]</sup>将“科丰 1 号”对 SC18 的抗病基因 *Rsc18* 定位在大豆 2 号染色体(D1b 连锁群)2 个 SSR 标记 BARCSOYSSR\_02\_0667 和 BARCSOYSSR\_02\_0770 之间约为 87 kb 区段内,且该标记与多个 SMV 抗病基因 *Rsc7*、*Rsc8*、*Rsc9*、*Rsc10* 和 *Rsc13* 等连锁<sup>[14-18]</sup>。本研究旨在利用本实验室已获得的分子标记,对 50 份种质资源以及“科丰 1 号×RN-9”组合的 F<sub>2</sub>~F<sub>4</sub> 各世代材料针对

SMV 株系 SC15 和 SC18 的抗性基因进行分子标记鉴定;并同时 50 份大豆种质和杂交分离群体两类材料接种 SMV 株系 SC15 和 SC18 进行表型鉴定,比较两种鉴定方法结果的符合程度,以明确这些分子标记在育种材料抗性鉴定中的利用价值,筛选出对 SC15 和 SC18 的抗性材料和评价分子标记在 MAS 中的作用,为建立抗 SMV 的 MAS 育种体系提供技术支持。

## 1 材料方法

### 1.1 材料

本研究共收集了 50 份来自中国 17 个省市和国外的大豆品种(系),主要是如“蚂蚁蛋”、“黔西七月豆”和“邳县茶豆”等我国地方品种以及新育成品种。2014 年利用抗 SC18 株系的“科丰 1 号”和抗 SC15 株系的“RN-9”配制杂交组合“科丰 1 号×RN-9”,获得 F<sub>1</sub> 代,冬季在海南加代共获得 240 株 F<sub>2</sub>; 2015 年夏部分 F<sub>2</sub> 自交得到 120 个 F<sub>2:3</sub> 家系;2016 年夏在南京试验基地,从部分 F<sub>2:3</sub> 选择出可能同时含有 2 个抗病基因的长势良好的 F<sub>3</sub> 代单株 98 株,自交获得 98 个 F<sub>3:4</sub> 家系。试验所用 SMV 株系在感病品种“南农 1138-2”上繁殖保存。以上材料均由南京农业大学国家大豆改良中心提供。

### 1.2 接种鉴定

亲本(科丰 1 号、南农 1138-2、RN-9 和 7605)、50 份种质材料及分离群体各世代(F<sub>2</sub>、F<sub>2:3</sub> 和 F<sub>3:4</sub> 代)材料均盆栽于南京农业大学牌楼试验站防虫网室内,当真叶完全展开时亲本、种质及 F<sub>3:4</sub> 代摩擦接种 SMV 株系 SC15 及 SC18, F<sub>2</sub> 和 F<sub>2:3</sub> 代擦接种 SC15。接种后 10 d 调查第一出复叶发病情况,直至 30 d 连续观察调查第二、三出复叶症状。根据 SMV 在单株上的症状反应分为抗病(无症状)和感病(系统花叶、系统坏死、皱缩、卷曲等症状)。对初次鉴定表现无症状的品种进行重复鉴定,以保证试验的可靠性。以南农 1138-2 作为对照品种,接种后定期喷药防蚜虫。

### 1.3 分子标记带型分析

用 CTAB 法提取种质及杂交后代群体材料的基因组 DNA。选取与 *Rsc15*<sup>[12]</sup> 和 *Rsc18*<sup>[13]</sup> 紧密连锁的分子标记(表 1),对亲本材料、50 份种质材料、杂交后代群体各世代(F<sub>2</sub>、F<sub>2:3</sub> 和 F<sub>3:4</sub>) 材料进行 PCR 扩增和凝胶电泳检测。

表 1 用于 SMV 抗性选择的分子标记 <sup>[12-13]</sup>			
Table 1 Markers <sup>[12-13]</sup> tightly linked to SMV resistance genes using for MAS			
标记 Marker	抗病基因 Resistance gene	遗传距离 Genetic distance/cM	染色体(连锁群) Chromosome (Linkage group)
Sat_246	Rsc15	9.2	6 (C2)
Satt286		6.5	
Satt634		22.1	
BARCSOYSSR_02_0667	Rsc18	0.8	2 (D1b)
Satt266		12.1	

将带型按亲本类型归类,与抗病亲本 1 相同赋值为 1,与感病亲本相同赋值为 2,与杂交种 F<sub>1</sub>带型相同的赋值为 3,其它带型均赋值为 4。结合带型与表型结果,基因型为 1 型且表型为抗病,或基因型为 2 型且表型为感病的种质判定为标记符合抗病性。分子标记选择符合率计算方法如下:

抗病选择符合率(%) =  $\frac{\text{表型为全抗或抗病分离且带型为 1 型和 3 型的材料数目}}{\text{带型为 1 型和 3 型的材料数目}} \times 100\%$

感病选择符合率(%) =  $\frac{\text{表现感病且带型为 2 型的材料数目}}{\text{带型为 2 型的材料数目}} \times 100\%$

1.4 数据分析

数据采用 Join map 4.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 利用分子标记评价大豆种质资源对 SC15 和 SC18 株系的抗病性

为探究分子标记在种质资源对 SMV 抗病性评价中的效率,拓宽 SMV 抗病育种的种质资源,选取与 Rsc15 和 Rsc18 紧密连锁的分子标记对 50 份大豆种质提取 DNA 进行 PCR 扩增和凝胶电泳检测。结果显示,Sat\_246、Satt286、Satt634、BARCSOYSSR\_02\_0667 和 Satt266 分别鉴定出 35、22、31、35 和 41 份种质与抗病亲本(1 型)和感病亲本(2 型)有相同的特征谱带(图 1)。

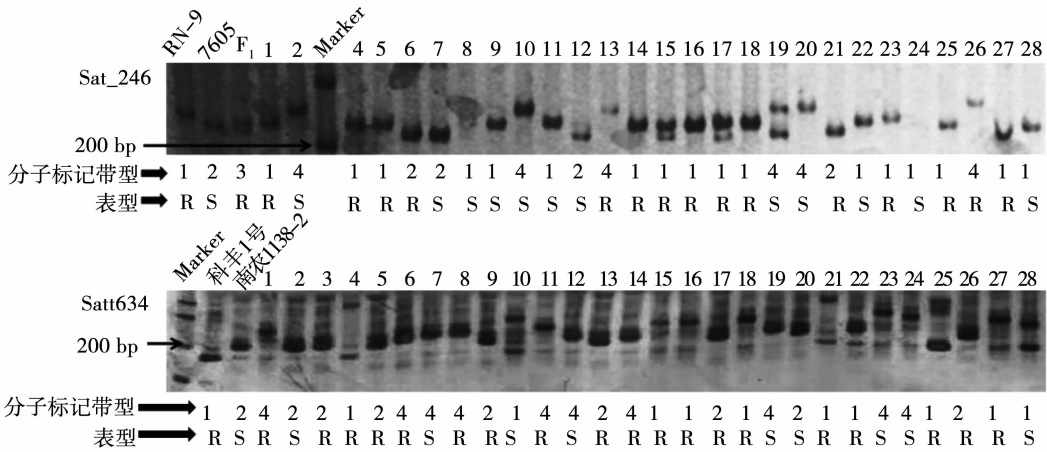


图 1 标记 Sat\_246 和 Satt634 在部分种质材料上的聚丙烯酰胺凝胶电泳图  
Fig. 1 Polyacrylamide gel electrophoresis of Sat\_246 and Satt634 in partial soybean germplasms

将 50 份种质资源分成两份,分别接种 SC15 和 SC18,进行表型鉴定。其中对 SC15 表现抗病的材料 34 份,对 SC18 表现抗病的材料 27 份,对 SMV 株系 SC15 和 SC18 都表现抗病的的有辽豆 15、邳县茶豆等 25 份材料,约占总收集大豆品种的 50.0%;对

SC15、SC18 分别表现感病的品种为 16 和 23 份,对 SMV 株系 SC15 和 SC18 都表现感病的品种有蚂蚁蛋和黔西七月豆等 14 份材料,约占总收集大豆品种的 28.0%(表 2)。

表 2 分子标记评价大豆种质资源对 SC15 和 SC18 株系的抗病性

Table 2 Screening of germplasms with strong resistance to SMV strains SC15 and SC18

序号 Code	品种 Genotypes	来源地 Origins	抗性表型 Phenotype		分子标记带型 Molecular marker genotype				
			SC15	SC18	Sat_246	Satt286	Satt634	BARCSOYS SR_02_0667	Satt266
1	青酥 5 号	江苏	R	R	1 *	2	4	1 *	1 *
2	赣豆 5 号	江西	S	S	4	4	2 *	4	4
3	邯豆 5 号	河北	R	S	0	0	2 *	1	1
4	吉林 30	吉林	R	R	1 *	1 *	1 *	1 *	1 *
5	PI96983	引进	R	R	1 *	1 *	2	2	2
6	湘春 24	湖南	R	R	2	4	4	4	2
7	中豆 28	北京	S	S	2 *	4	4	4	2 *
8	徐豆 1 号	江苏	R	R	1 *	1 *	4	2	2
9	铁丰 31	辽宁	R	S	1 *	4	2 *	4	4
10	齐黄 10 号	山东	S	S	4	4	1	2 *	2 *
11	滇豆 7 号	云南	S	R	1	1	4	1 *	2
12	铁引 1 号	辽宁	S	S	2 *	2 *	4	1	1
13	川豆 14 号	四川	R	R	4	4	1 *	1 *	4
14	圣苏 001	江苏	R	S	1 *	1 *	4	1	2 *
15	滇豆 9 号	云南	R	R	1 *	4	1 *	4	1 *
16	浙鲜豆 8 号	浙江	R	R	1 *	4	2	1 *	1 *
17	晋大 53	山西	R	R	1 *	1 *	1 *	4	2
18	浙农 6 号	浙江	R	R	1 *	1 *	4	4	1 *
19	湘春豆 26	湖南	S	S	4	4	2 *	4	2 *
20	天隆 1 号	湖北	S	S	4	4	4	2 *	1
21	鲁豆 4 号	山东	R	R	2	4	1 *	1 *	1 *
22	冀豆 1 号	河北	R	R	1 *	4	1 *	1 *	1 *
23	射阳小粒青	江苏	R	S	1 *	1 *	4	2 *	2 *
24	黔西七月豆	贵州	S	S	1	4	4	2 *	2 *
25	易县黑豆	河北	R	R	1 *	1 *	1 *	1 *	1 *
26	苏灰黄	江苏	R	R	4	2	2	2	2
27	太湖春早	浙江	R	R	1 *	1 *	1 *	1 *	1 *
28	淮阴秋黑豆	江苏	S	S	1	4	1	4	4
29	Ogden	引进	R	S	4	4	4	4	4
30	蚂蚁蛋	陕西	S	S	2 *	2 *	2 *	2 *	2 *
31	晋遗 51	山西	R	R	4	1 *	1 *	1 *	1 *
32	Peking	河北	R	R	1 *	1 *	1 *	1 *	1 *
33	汾豆 56	山西	R	S	4	4	2 *	2 *	2 *
34	PI96983	引进	R	R	1 *	4	4	4	1 *
35	中黄 39	北京	S	S	2 *	4	1	1	4
36	安顺白角豆	贵州	S	S	1	1	4	4	4
37	皖 82-178	安徽	R	R	1 *	4	4	2	2
38	辽豆 15	辽宁	R	R	2	4	1 *	1 *	1 *
39	中品 662	北京	S	S	4	4	1	2 *	1
40	文丰 5 号	山东	R	R	2	1 *	4	4	1 *

续表 2

序号 Code	品种 Genotypes	来源地 Origins	抗性表型 Phenotype		分子标记带型 Molecular marker genotype				
			SC15	SC18	Sat_246	Satt286	Satt634	BARCSOYS SR_02_0667	Satt266
41	华夏 1 号	福建	S	S	1	4	2 *	4	4
42	赣豆 1 号	江西	R	S	4	1 *	2 *	2 *	2 *
43	南农 87-23-1	江苏	S	R	4	4	2	2	2
44	南农 87-23-2	江苏	R	R	4	4	4	1 *	1 *
45	通山薄皮黄豆甲	湖北	R	S	4	4	2 *	2 *	2 *
46	矮秆黄	安徽	R	R	1 *	1 *	2	4	2
47	Williams82	引进	S	S	1	1	2 *	1	1
48	大白麻	山西	R	S	1 *	2 *	4	2 *	1
49	邳县茶豆	江苏	R	R	1 *	4	4	2	4
50	泉豆 5 号	福建	R	R	1 *	4	2	1 *	2

R:抗病;S:感病;\* :带型与表型一致;1:抗病基因型;2:感病基因型;4:其它基因型;0:无带型。  
R:Resistant;S:Susceptible;\* :Genotypes in line with the phenotypes;1:Resistant genotype;2:Susceptible genotype;4:Other genotypes;0:No band.

统计带型与表型结果显示:分子标记 Sat\_246、Satt286、Satt634、BARCSOYSSR\_02\_0667 和 Satt266 分别鉴定出 21、15、11、14 和 16 份基因型 1 型且表型为抗病的大豆种质,分子标记抗病符合率分别为 77.78%、83.33%、73.33%、73.68% 和 76.19%,平均为 76.86%;5 个标记的标记抗病性符合率分别为 63.89%、66.67%、67.92%、68.09%、63.10%;Sat\_246 和 Satt286 对 SC15 抗病性筛选的平均抗病性符合率为 65.28%,Satt634、BARCSOYSSR\_02\_0667 和 Satt266 对 SC18 抗病性筛选的平均抗病性符合率为 66.37%。说明这些分子标记均可用于种质资源对 SC15 和 SC18 抗病性的选择(表 3)。

表 3 种质材料接种 SC15 和 SC18 的表型与标记选择符合率  
Table 3 Coincidental rate between genotyping and phenotyping in germplasms to SC15 and SC18

标记 Marker	带型 Genotype	总数 Total	表型 Phenotype		选择符合率 Coincidental rate of phenotype and genotypes/%	标记的平均符合率 Coincidental rate of markers /%	抗病基因的 平均符合率 Average coincidental rate of markers/%
			R	S			
Sat_246	1	27	21	6	77.78	63.89	65.28
	2	8	4	4	50.00		
Satt286	1	18	15	3	83.33	66.67	
	2	4	2	2	50.00		
Satt634	1	15	11	4	73.33	67.92	66.37
	2	16	10	6	62.50		
BARCSOYSSR_02_0667	1	19	14	5	73.68	68.09	
	2	16	10	6	62.50		
Satt266	1	21	16	5	76.19	63.10	
	2	20	10	10	50.00		

R:抗病;S:感病;1:抗病基因型;2:感病基因型。  
R:Resistant;S:Susceptible;1:Resistance genotype;2:Susceptible genotype.

2.2 大豆杂交后代群体各世代对 SC15 抗病性的选择效果

为了探究分子标记在大豆杂交后代群体各世代中对强毒株系 SC15 抗病性的选择效率,随机选取 135 个 F<sub>2</sub> 单株接种 SC15 进行表型鉴定和标记选

择,其中在标记 Sat\_246 上具有抗病基因型(1 或 3 带型)的单株为 93 个,其中表型是抗病和感病的单株分别为 82 和 11 株,抗病选择符合率为 88.17%;具有感病基因型(2 带型)的单株为 38 个,其中表型是抗病和感病的单株均为 19 株,感病选择符合效率

为 50.00%。则标记 Sat\_246 的平均符合率为 69.09%。同理,标记 Satt286 对抗病和感病的选择符合率分别为 92.22% 和 58.14%,平均为 75.18%。标记 Sat\_246 和 Satt286 在 F<sub>2</sub> 代的选择符合率平均为 72.13% (表 4)。

120 个 F<sub>2:3</sub> 家系,接种 SC15 进行表型鉴定和带型分析。其中在 Sat\_246 具有 1 带型的家系为 68 个,其中表型是抗病(抗病和分离)家系和感病家系分别为 58 和 10 个,抗病选择效率为 85.29%;具有

3 带型的家系为 30 个,其中表型是抗病和感病的家系分别为 29 和 1 个,抗病选择符合率为 96.67%;具有 2 带型的家系为 22 个,其中表型是抗病和感病的家系分别为 15 和 7 个,感病选择符合率为 31.82%。则 Sat\_246 的标记平均符合率为 71.26%。同理,标记 Satt286 的标记选择符合率为 66.40%。标记 Sat\_246 和 Satt286 在 F<sub>2:3</sub> 代选择符合率为 68.83% (表 4)。

表 4 “科丰 1 号 × RN-9”各世代群体接种 SC15 表型与标记选择符合率

Table 4 Coincidental rate between genotyping and phenotyping inoculated with SC15 in progenies from ‘Kefeng 1 × RN-9’														
群体/世代 Population /progeny	总株数 Total	标记 Marker	带型 Genotype	总数 Total	表型 Phenotype		选择符合率 Coincidental rate /%	标记的平均符合率 Coincidental rate of markers/%	世代选择符合率 Coincidental rate of markers in progeny/%					
					R + Seg	S								
F <sub>2</sub>	135	Sat_246	1 + 3	93	82	11	88.17	69.09	72.13					
			2	38	19	19	50.00							
	Satt286	1 + 3	90	83	7	92.22	75.18							
			2	43	18	25	58.14							
			F <sub>3</sub>	120	Sat_246	1	68			58	10	85.29	71.26	68.83
						3	30			29	1	96.67		
2	22	15				7	31.82							
Satt286	1	55			47	8	85.45	66.40						
	3	34			31	3	91.18							
	2	31			24	7	22.58							
F <sub>4</sub>	98	Sat_246	1	84	84	0	100.00	83.33	84.52					
			3	6	6	0	100.00							
			2	8	4	4	50.00							
		Satt286	1	82	82	0	100.00			85.71				
			3	8	8	0	100.00							
			2	7	3	4	57.14							

R:抗病;Seg:分离(抗和感);S:感病;1:抗病基因型;2:感病基因型;3:杂合基因型。  
R:Resistant;Seg:Segregating(R and S);S:Susceptible;1:Resistant genotype;2:Susceptible genotype;3:Heterozygous genotype.

从 120 个 F<sub>2:3</sub> 家系中筛选到 34 个抗病家系,选择出 98 个 F<sub>3</sub> 代单株(表 4),自交收获 98 个 F<sub>3:4</sub> 家系,接种 SC15 进行表型鉴定和带型分析。Satt246 和 Satt286 对 SC15 抗病选择符合率均为 100%,感病选择符合率分别为 50.00% 和 51.74%,标记的平均符合率分别为 83.33% 和 85.71%,世代选择符合率为 84.52% (表 4)。

综上所述:分子标记 Satt246 和 Satt286 在 F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 和 F<sub>4</sub> 代对 SC15 的抗病选择符合率均在 85% 以上,世代选择符合率分别为 72.13%、68.83% 和 84.52%,说明分子标记可用于 SMV 抗性的选择。因而本研究利用分子标记在杂交后代群体中对 SC15 和 SC18 的抗性基因进行了如下选择。

### 2.3 分子标记对 SC15 和 SC18 的抗性基因的选择

为了获得同时含有 *Rsc15* 和 *Rsc18* 的纯合家系,选择与 *Rsc15* 和 *Rsc18* 连锁的 5 个分子标记(表 1),对“科丰 1 号 × RN-9”衍生的 F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 和 F<sub>4</sub> 代群体中对 SC15 和 SC18 的抗性基因进行分子标记选择。结果显示:240 株 F<sub>2</sub> 单株中共有 120 个单株同时含有 *Rsc15* 和 *Rsc18*(在多数标记上同时具有 1 型或 3 型);部分 F<sub>2</sub> 单株衍生的 120 个 F<sub>2:3</sub> 家系中共筛选到 34 个可能同时含有 *Rsc15* 和 *Rsc18*;把 F<sub>2:3</sub> 家系衍生的 98 个 F<sub>3:4</sub> 家系均分成两组,分别接种 SC15 和 SC18 进行表型鉴定,其中对两个株系具有抗性的家系分别为 94 和 95 个;最终选择到 18 个对 SC15 和 SC18 均表现抗病并同时所有标记上具有 1 带型

的 F<sub>3:4</sub> 家系(表 5)。以上结果表明,利用 MAS 可同 代获得纯合兼抗多个株系的材料。  
时对多个 SMV 株系的抗性进行选择,并可在较早世

表 5 分离群体中抗 SC15 和 SC18 的大豆家系  
Table 5 F<sub>4</sub> lines resistant to SC15 and SC18 from ‘Kefeng 1 × RN-9’

家系 Lines	分子标记带型 Genotype					抗性表型 Phenotype			
	Sat_246	Satt286	Satt634	Satt266	BARCSOYSSR_02_0667	SC15	发病率 Incidence rates	SC18	发病率 Incidence rates
F <sub>3:4</sub> -6	1	1	1	1	1	R	0/21	R	0/19
F <sub>3:4</sub> -15	1	1	1	1	1	R	0/14	R	0/25
F <sub>3:4</sub> -31	1	1	1	1	1	R	0/13	R	0/15
F <sub>3:4</sub> -35	1	1	1	1	1	R	0/13	R	0/20
F <sub>3:4</sub> -36	1	1	1	1	1	R	0/15	R	0/11
F <sub>3:4</sub> -41	1	1	1	1	1	R	0/11	R	0/18
F <sub>3:4</sub> -43	1	1	1	1	1	R	0/19	R	0/7
F <sub>3:4</sub> -52	1	1	1	1	1	R	0/18	R	0/20
F <sub>3:4</sub> -54	1	1	1	1	1	R	0/11	R	0/17
F <sub>3:4</sub> -59	1	1	1	1	1	R	0/14	R	0/10
F <sub>3:4</sub> -63	1	1	1	1	1	R	0/16	R	0/18
F <sub>3:4</sub> -67	1	1	1	1	1	R	0/15	R	0/11
F <sub>3:4</sub> -68	1	1	1	1	1	R	0/14	R	0/15
F <sub>3:4</sub> -72	1	1	1	1	1	R	0/17	R	0/21
F <sub>3:4</sub> -77	1	1	1	1	1	R	0/16	R	0/15
F <sub>3:4</sub> -82	1	1	1	1	1	R	0/19	R	0/12
F <sub>3:4</sub> -93	1	1	1	1	1	R	0/28	R	0/15
F <sub>3:4</sub> -96	1	1	1	1	1	R	0/18	R	0/15

1:抗病基因型;R:抗病。  
1:Resistant genotype;R:Resistant.

3 结论与讨论

本研究收集了来自中国 17 个省市和国外的 50 份大豆种质资源。表型鉴定结果表明,对 SC15 和 SC18 均表现抗性的有“辽豆 15”“邳县茶豆”等 25 份材料。分子标记 Sat\_246 和 Satt286 对 SC15 抗性选择的平均准确率为 65.28%;分子标记 Satt634、BARCSOYSSR\_02\_0667 和 Satt266 对 SC18 抗性的平均选择准确率为 66.37%(表 3)。其中 BARC-SOYSSR\_02\_0667 的标记的平均符合率最高,可能与标记和抗病基因之间的遗传距离有关,遗传距离越近,分子标记与抗性基因之间的交换的几率越低,选择效率越高。本研究结果与滕卫丽等<sup>[4]</sup>对 70 份大豆种质资源进行 MAS 和表型鉴定的准确率(82.4%和 68.8%)都较高的结果相符,说明这些分子标记均可用于种质资源对 SC15 和 SC18 抗性的选择。50 份大豆种质的分子标记带型多数与抗、感亲本带型一致,少数表型其它带型,说明可能存在不同于 *Rsc15* 和 *Rsc18* 的抗病基因。即种质资源的

抗病位点可能存在多样性。  
本研究对杂交组合“科丰 1 号 × RN-9”衍生的分离群体进行分子标记抗病性选择。分子标记对 *Rsc15* 选择效率在 85.29% 以上,与 Ma 等<sup>[5]</sup>对杂交后代群体分子标记筛选准确率(85% 以上)基本相当。其中 F<sub>3</sub>代(68.83%)和 F<sub>2</sub>代(72.13%)的标记平均选择符合率均低于 F<sub>4</sub>代(84.52%)(表 3),但导致各世代选择符合率不一致的原因尚需进一步研究。利用分子标记对抗病基因 *Rsc15* 和 *Rsc18* 在杂交后代群体中进行了 3 个世代的选择,就得到 18 个对 2 个株系均表现抗病且在标记上完全纯合的 F<sub>3:4</sub> 家系。以上结果表明利用本研究选择的分子标记可用于杂交后代群体对 SMV 抗病性的鉴定,可以替代或辅助表型鉴定。  
综上所述,本研究选择的与 *Rsc15* 和 *Rsc18* 紧密连锁的分子标记 Sat\_246, Satt286, Satt634, BARC-SOYSSR\_02\_0667 和 Satt266 可有效用于种质资源和杂交后代群体对 SMV 抗病性的鉴定,基本可以替代或辅助表型选择。鉴定得到的 25 份对 SC15 和

SC18 均表现抗性的大豆品种,拓宽了 SMV 抗病育种的种质资源。可在较早世代从分离群体材料中选择到纯合的家系。本研究将为大豆对 SMV 的抗病性评价提供技术支持,为培育对 SMV 抗谱广、抗性持久的优质大豆品系提供育种材料。

参考文献

[1] Ross J P. Effect of aphid-transmitted Soybean mosaic virus on yields of closely related resistant and susceptible soybean lines [J]. Crop Science, 1977, 17(6): 869-872.

[2] Liao L, Chen P, Buss G R, et al. Inheritance and allelism of resistance to Soybean mosaic virus in Zao18 soybean from China [J]. Journal of Heredity, 2002, 93(6): 447-452.

[3] Wrather J A, Anderson T R, Arsyad D M, et al. Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing countries in 1998 [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2001, 23 ( 2 ): 115-121.

[4] 滕卫丽,李文滨,韩英鹏,等. 大豆种质对 SMV 抗性鉴定的 SSR 辅助选择[J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(2): 224-228. (Teng W L, Li W B, Han Y P, et al. Identification of the SMV resistance assessment and assisted selection SSR markers in soybean[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2008, 30(2): 224-228. )

[5] Ma Y. Molecular mapping and marker assisted selection of soybean mosaic virus resistance gene *RSC12* in soybean [J]. Legume Genomics & Genetics, 2010, 1(8): 1-6.

[6] 王修强,盖钧镒,濮祖芹. 黄淮和长江中下游地区大豆花叶病毒株系鉴定与分布[J]. 大豆科学, 2003, 22(2): 102-107. (Wang X Q, Gai J Y, Pu Z Q. Classification and distribution of strain groups of soybean mosaic virus in middle and lower Huang-Huai and Changjiang valleys [J]. Soybean Sciences, 2003, 22 (2): 102-107. )

[7] 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. (Wang Y W, Zhi H J, Guo D Q, et al. Classification and distribution of strain groups of soybean mosaic virus in northern china spring planting soybean region [J] Soybean Sciences, 2005, 24 (4): 263-268. )

[8] Guo D Q, Zhi H J, Wang Y W, et al. Identification and distribution of soybean mosaic virus strains in Middle and Northern Huang Huai Region of China[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2005. 27(2): 64-68.

[9] 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:南京农业大学, 2003. (Zhan Y. Biological detection and strain identification of soybean mosaic virus as well as mapping resistance gene of soybeans in Huang-Huai region [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2003. )

[10] Li K, Yang Q H, Zhi H J, et al. Identification and distribution of Soybean mosaic virus strains in Southern China[J]. Plant Disease, 2010, 94(3): 351-357.

[11] Kai L I, Xia Y, Wang D, et al. Analysis of dynamic change of soybean mosaic virus strains in Heilongjiang province of China [J]. Teor. Veroyatn. Primen, 2006(3): 589-600.

[12] Yang Q H, Gai J Y. Identification, inheritance and gene mapping of resistance to a virulent Soybean mosaic virus strain SC15 in soybean [J]. Plant Breeding, 2011, 130(2): 128-132.

[13] Li K, Ren R, Adhimoolam K, et al. Genetic analysis and identification of two soybean mosaic virus resistance genes in soybean [*Glycine max*(L.) Merr] [J]. Plant Breeding, 2015, 134(6): 684-695.

[14] Yan H, Wang H, Cheng H, et al. Detection and fine-mapping of SC7 resistance genes via linkage and association analysis in soybean [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2015, 57(8): 722-729.

[15] Wang D, Ying M, Yang Y, et al. Fine mapping and analyses of *RSC8* resistance candidate genes to soybean mosaic virus in soybean [M]. Theoretical and Applied Genetics, 2011, 122(3): 555-565.

[16] 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. (Wang Y J. DongFang Y, Wang X Q, et al. Mapping of five genes resistant to SMV strains in soybean [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2004, 31(1): 87-90. )

[17] 李春燕,杨永庆,王大刚,等. 大豆对 SMV 株系 SC10 的抗性遗传及抗病基因的定位研究[J]. 中国农业科学, 2012, 45 (21): 4335-4342. (Li C Y, Yang Y Q, Wang D G, et al. Studies on mapping and inheritance of resistance genes to SMV strain SC10 in soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45 (21): 4335-4342. )

[18] 郭东全,王延伟,智海剑,等. 大豆对 SMV SC-13 株系群的抗性遗传及基因定位的研究[J]. 大豆科学, 2007, 26(1): 21-24. (Guo D Q, Wang Y W, Zhi H J, et al. Inheritance and gene mapping of resistance to SMV strain group SC-13 in soybean [J]. Soybean Sciences, 2007, 26(1): 21-24. )