

大豆花叶病毒成株抗性及种粒抗性的鉴定

宋英培,高 乐,刘志涛,李 凯,沈颖超,仲勇坤,智海剑

(南京农业大学 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:通过接种我国黄淮海及长江流域大豆产区流行株系 SC3 和 SC7,对 50 份大豆品种(系)进行了成株抗性及种粒抗性(包括种粒斑驳抗性及种传抗性)鉴定。结果表明:仅有 2 份大豆品种(SD1112 和驻豆 11)对 SC3 和 SC7 株系表现抗病。对 SC3 和 SC7 具有种粒斑驳抗性的材料分别为 4 和 3 份,接种两个株系后的大豆品种(系)的平均斑驳率分别为 44.98% 和 49.42%,其中 A3、SD1112 和 SD1108 对 SC3 和 SC7 株系均具有种粒斑驳抗性。所选大豆品种(系)对 SC3 和 SC7 株系的平均种传率分别为 1.47% 和 1.22%,对上述两个株系具有种传抗性的大豆品种(系)分别为 19 和 29 份。本研究首次鉴定了大豆品种对 SC3 和 SC7 株系的种粒抗性,为 SMV 种粒抗性育种工作拓展了种质抗源。
关键词:大豆;大豆花叶病毒;种粒斑驳;种传
中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.06.1015

Evaluation of Adult Resistance and Soybean Seed Resistance to Soybean Mosaic Virus

SONG Ying-pei,GAO Le,LIU Zhi-tao,LI Kai,SHEN Ying-chao,ZHONG Yong-kun,ZHI Hai-jian
(National Center for Soybean Improvement of Nanjing Agricultural University/National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, China)

Abstract: Soybean mosaic virus (SMV) is the most important diseases causing soybean yield loss and seed quality deterioration. Adult resistance and seed resistance were evaluated among 50 soybean cultivars in a net room with aphid-free inoculated with 2 prevalent SMV strains, SC3 and SC7 which were the most prevalent SMV strains of HuangHuaiHai and Yangtze valleys. Results showed that only two soybean cultivars, SD1112 and Zhudou 11, were resistant to SC3 and SC7 strains. Four and three soybean cultivars were resistant to seed coat mottling to SC3 and SC7 respectively. The average seed coat mottling incidences of SC3 and SC7 were 44.98% and 49.42%. Three soybean cv. A3, SD1112 and SD1108, were resistant to seed coat mottling for both SMV strains. 19 and 29 soybean cultivars were seed transmission resistant to SC3 and SC7 separately. 11 soybean cv. D09, Daoqiu 1 and Wuqing 1, et al, were seed transmission resistant to both two strains. The average seed transmission incidences of two strains were 1.47% and 1.22% respectively for SC3 and SC7. This is the first report of evaluating resistance to seed coat mottling and seed transmission of SC3 and SC7 strains which was available for breeding and genetic research.
Keywords: Soybean;Soybean mosaic virus (SMV);Seed coat mottling;Seed transmission

大豆花叶病毒病(SMV)广泛分布于世界各大豆产区,严重危害大豆的产量和品质。SMV 流行年份可造成大豆减产 35% ~ 50%^[1],严重时导致绝产。SMV 可引发大豆叶片产生花叶和坏死的症状,并伴有褐斑粒的产生^[2]。此外,SMV 还能够通过大豆种子进行纵向传播,作为次年病害流行的初侵染来源。

大豆对 SMV 的抗性包括成株抗性和种粒抗性,后者又包括种粒斑驳抗性和种传抗性。近年来,国内外研究人员在大豆抗病品种筛选^[3-4]及成株抗性遗传机制^[5-9]上做了大量工作。在种粒抗性的研究方面,李文福等^[10-11]通过接种 SMV 东北 1 号株系筛选出 45 个具有种粒斑驳抗性的大豆品种,并将种粒斑驳抗性基因定位于大豆染色体组的 F 连锁群上;大豆品种对 SMV 的种传率为 0 ~ 40%^[12-14],控制种传的基因定位到 C1 和 C2 连锁群^[15]。对全国大豆

花叶病毒样本的划分和鉴定表明 SC3 和 SC7 株系是我国黄淮海和长江流域大豆主产区的 SMV 流行株系^[16-17],常年造成该区域大豆产量及品质的降低,并且在种粒抗性研究方面尚属空白。因此,本研究选取 50 份大豆品种(系),V3 期接种 SC3 和 SC7 株系,对大豆成株抗性及种粒抗性(包括种粒斑驳抗性和种传抗性)进行鉴定,筛选出具有良好种粒抗性的大豆种质,为 SMV 抗病育种工作拓展了种质资源。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于南京农业大学试验站网室内进行,供试 SMV 株系为 SC3 和 SC7,供试材料为我国 16 个省(市)选育的 50 份大豆品种(系)。试验材料分别于 2012 和 2013 年夏播种于网室内,每个材料播种 2

收稿日期:2015-04-30
基金项目:国家自然科学基金(31171574,31371646);国家现代农业产业技术体系(CARS-004);转基因专项(2008ZX08004-004);江苏省现代作物生产协同创新中心项目。
第一作者简介:宋英培(1985-),女,博士,主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail: jiatai_105@163.com。
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

行,在第三片复叶(V3)展平后分别人工摩擦接种上述两个株系,第四片复叶展平后进行复接,选用感病大豆品种南农 1138-2 作为对照。网室内定期喷药杀灭蚜虫,以防止蚜虫传毒造成 SMV 株系交叉侵染。大豆收获后,分别测定种粒斑驳率及种传率。

1.2 症状调查

病情分级标准参照 Zhi 等^[18]的方法。发病后每周调查新生叶片症状,连续 4 次鉴定,以病情指数平均值来表征成株抗性。

病情指数 = $\frac{\sum(\text{各级株数} \times \text{相应级数})}{\text{调查总株数} \times 4} \times 100\%$

根据病情指数按 6 级标准对大豆品种(系)进行抗性分类。高抗:无可见系统症状,病情指数为 0;抗病:病情指数为 1% ~ 20%;中抗:病情指数为 21% ~ 35%;中感:病情指数为 36% ~ 50%;感病:病情指数为 51% ~ 70%;高感:病情指数大于 70%。

1.3 斑驳率及种传率测定

收获感病植株种子,每个品种随机选取至少

200 粒测定种粒斑驳率。种粒斑驳抗性鉴定标准参照胡国华等^[19]的鉴定标准:肉眼难以察觉到种皮斑驳的为抗病类型,其余为感病类型。将收获的种子盆栽于网室内,统计出苗数和发病苗数,利用双抗体夹心酶联免疫吸附法(DAS-ELISA)对疑似 SMV 感病植株进行鉴定,统计种传率。

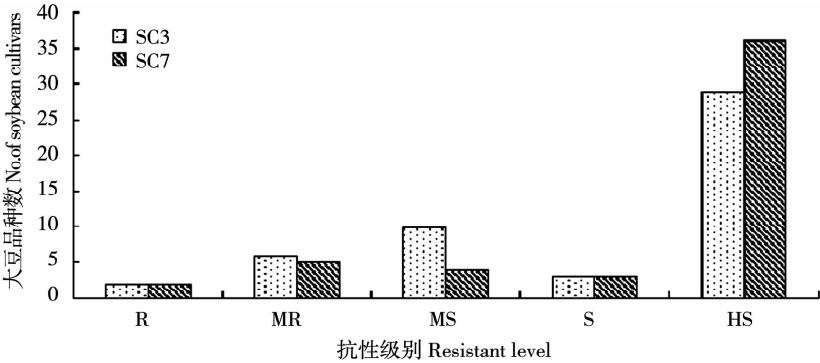
1.4 数据分析

利用 SAS 9.2 统计软件对数据进行相关性和显著性分析。

2 结果与分析

2.1 大豆品种对 SMV 成株抗性的鉴定

50 份大豆品种(系)2012 年和 2013 年 V3 期接种 SC3 和 SC7 后的平均病情指数、斑驳率及种传率见表 1。所有大豆品种(系)接种 SMV 后均呈现出不同类型的抗感反应类型,仅有 2 份大豆品种(SD1112 和驻豆 11)对 SC3 和 SC7 两个株系均表现抗病,而高感的品种分别高达 58% 和 72%(图 1)。



HR:高抗;R:抗病;MR:中抗;MS:中感;S:感病;HS:高感。

HR:High resistance; R:Resistance; MR:Moderate resistance; MS:Moderate susceptibility; S:Susceptibility; HS:High susceptibility.

图 1 大豆接种 SMV 后的成株抗性反应分布

Fig. 1 Resistance distribution of 50 soybean cultivars after SMV infection

2.2 大豆品种对 SMV 种粒斑驳抗性的鉴定

接种 SC3 株系后,大豆种粒斑驳率的变化范围为 0 ~ 98.67%,平均斑驳率为 44.98%(表 1),斑驳率较高的(≥40%)占 64%(图 2);接种 SC7 株系

时,种粒斑驳率的变化范围为 0 ~ 97.22%,平均为 49.42%(表 1),接种 SC7 后斑驳率较高的品种占 68%(图 2)。T 检测表明,上述不同 SMV 株系引发的种粒斑驳率具有显著差异(P<0.05)。

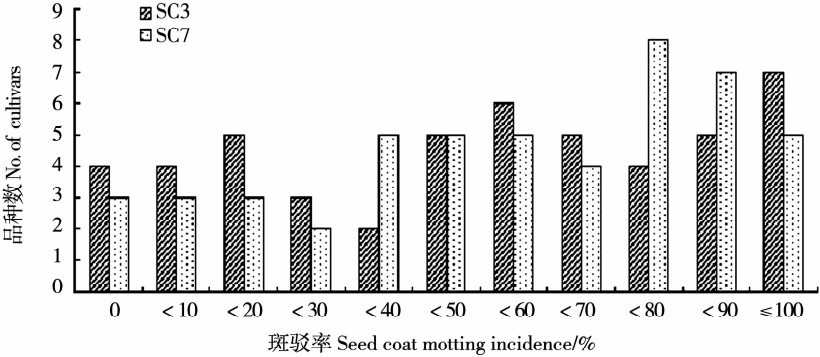


图 2 大豆品种斑驳率分布

Fig. 2 Distribution of seed coat mottling incidences

表 1 大豆感染 SMV 后的病情指数、斑驳率及后代种传率

Table 1 Disease index,seed coat mottling incidences and seed transmitted incidences of soybean cultivars infected with SMV (%)

品种 Cultivars	SC3			SC7			品种 Cultivars	SC3			SC7		
	DI	SCMI	STI	DI	SCMI	STI		DI	SCMI	STI	DI	SCMI	STI
99-6	45	74. 18	0	65	66. 67	4. 48	SD1103	82	60. 34	1. 82	82	6. 786	0
DCK	75	74. 07	1. 91	70	70. 12	4. 81	D09	69	43. 48	0	72	56. 00	0
南圣 Z322 Nansheng Z322	46	97. 84	2. 94	72	90	0	中豆 8 号 Zhongdou 8	78	64. 43	3. 42	75	78. 38	2. 78
中黄 46 Zhonghuang 46	39	37. 50	1. 35	75	19. 08	2. 94	迁豆 1 号 Qiantou 1	75	53. 50	1. 02	78	89. 07	2. 63
D08	72	82. 91	1. 35	78	64. 29	0	D03	46	93. 48	0. 42	73	53. 85	6. 94
郑 7016 Zheng 7016	75	82. 13	0	74	80. 43	1. 82	道秋 1 号 Daoqiu 1	45	7. 84	0	74	31. 08	0
绿宝珠 Lyubaozhu	49	90. 57	1. 92	69	82. 81	0	武青 1 号 Wuqing 1	81	16. 67	0	48	44. 00	0
D01	79	87. 65	3. 51	80	66. 67	0	AGS292	44	71. 27	0. 93	79	88. 89	0
郑豆 04024 Zhengdou 04024	72	50. 55	1. 54	77	54. 55	0	青酥 5 号 Qingsu 5	28	64. 90	0	73	77. 78	0
南农 J001 Nannong J001	74	98. 67	0	78	77. 78	1. 72	贡豆 723-2 Gongdou 723-2	74	44. 92	1. 83	78	70. 40	1. 98
K 丰 75-3 Kfeng 75-3	28	3. 13	0	28	6. 52	3. 03	滇仓 2 号 Diancang 2	48	87. 30	1. 17	80	95. 00	0
南农 J005 Nannong J005	79	73. 53	0	78	92. 86	5. 45	滇 86-5 Dian 86-5	45	85. 04	1. 08	46	70. 51	0
濮豆 1802 Pudou 1802	79	52. 38	0	75	43. 55	0	湘春豆 26 Xiangchundou 26	80	55. 19	0. 53	81	92. 40	1. 07
农丰 12 Nongfeng 12	78	14. 57	0	50	23. 33	0	中作 06-887 Zhongzuo 06-887	78	37. 77	0. 35	80	49. 74	1. 36
许豆 6 号 Xudou 6	81	40. 75	1. 38	75	26. 43	0	中品 03-5027 Zhongpin 03-5027	23	92. 14	0. 93	27	57. 04	0
华严 2 号 Huayan 2	74	40. 23	1. 32	76	71. 08	0	中作 07-754 Zhongzuo 07-754	76	48. 84	0	79	47. 52	0. 35
99-10	67	56. 67	0	77	62. 50	4. 44	SD1117	68	3. 70	13. 68	75	18. 03	0
SD1112	4	0	4. 26	6	0	0	SD1113	81	23. 18	0. 51	81	42. 73	1. 64
豫豆 22 Yudou 22	78	6. 83	5. 00	45	15. 18	4. 69	鄂豆 010 Edou 010	76	52. 03	4. 18	78	38. 54	1. 23
驻豆 11 Zhudou 11	14	20. 22	0. 64	8	1. 07	5. 08	南农 307-1 Nannong 307-1	22	17. 65	0	21	34. 37	0
临豆 10 Lindou 10	80	15. 83	6. 45	77	33. 33	0	鄂豆 012 Edou 012	74	61. 87	0. 0247	78	52. 17	0
A1	45	18. 75	0	78	35. 56	0	A3	73	0	0	77	0	0
SD1108	26	0	0. 77	24	0	0	A4	75	0	0	78	84. 01	0
SD1106	75	24. 56	0	73	97. 22	1. 41	K070-2	78	68. 95	6. 16	79	76. 99	1. 54
周 01015-1 Zhou 01015-1	81	93. 03	0	81	86. 67	0	中黄 39 Zhonghuang 39	26	93. 10	0. 86	21	96. 39	0

DI:病情指数;SCMI:斑驳率;STI:种传率。
DI:Disease index; SCMI: Seed coat mottling incidence; STI:Seed transmitted incidence.

不同大豆品种(系)间种粒斑驳率变化较大,部分大豆品种接种 SC3 和 SC7 后种粒斑驳率较高,如中黄 39 种粒斑驳率为 93.10% 和 96.39%;部分大豆品种接种后则表现出较低的斑驳率,如 K 丰 75-3 种粒斑驳率仅为 3.13% 和 6.52%;部分大豆品种接种两个株系后种粒斑驳率处于中等水平,如濮豆 1802、郑豆 04024、99-10 等种粒斑驳率在 40% 左右。此外,还有个别大豆品种接种两个株系后呈现的种粒斑驳率差异较大,如 A4 接种 SC3 后种粒斑驳率为 0,而接种 SC7 后种粒斑驳率为 84.01% (表 1)。

对 SC3 株系具有种粒斑驳抗性的大豆品种为 A3、SD1112、SD1108 和 A4;对 SC7 株系有种粒斑驳抗性的为 A3、SD1112 和 SD1108。其中,A3、SD1112 和 SD1108 对上述两个株系均具有种粒斑驳抗性(表 1)。

大豆植株感染 SMV 后的病情指数和斑驳率的相关性分析显示:接种 SC3 后植株病情指数与斑驳率不相关,相关系数 $r = 0.063$, $P > 0.05$;接种 SC7 后病情指数与种粒斑驳率极显著相关,相关系数为 0.417 , $P < 0.01$ (表 2)。因此大豆感染 SMV 后病情指数与斑驳率是否相关与株系有关,与廖林等^[21]结果一致。

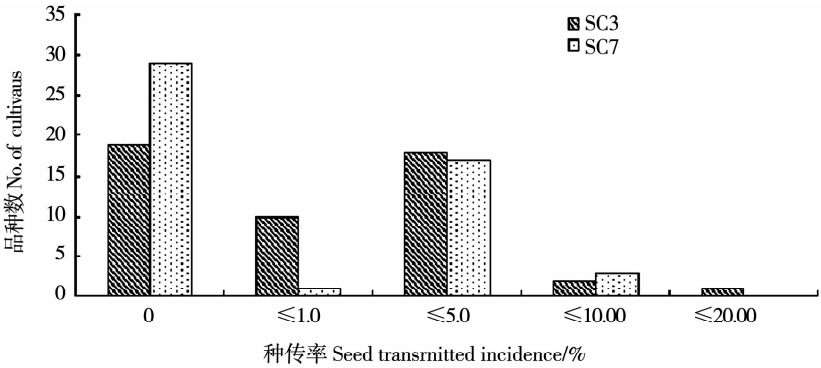


图3 50份大豆品种种传率分析

Fig. 3 Analysis of seed transmitted incidences of 50 cultivars

同时,研究发现部分大豆品种虽然拥有较高的种皮斑驳率,但其种传率为 0,如濮豆 1802、周 01015-2 等;而一些大豆品种在感染 SC3 后的种传率较高,但其种皮斑驳率为 0,如 SD1102 的种传率为 4.26%,而其种皮斑驳率为 0 (表 1)。这些现象表明种皮斑驳与 SMV 种传没有对应关系,种皮斑驳并不是病毒种传的标志。

3 结论与讨论

大豆接种 SMV 后斑驳率的鉴定结果表明,同一个品种接种不同 SMV 株系,在斑驳率大小上有一定差异,同时方差分析显示接种不同株系对斑驳率有显著影响。据报道,SMV 所引发的大豆种皮斑驳现

表 2 病情指数与斑驳率的相关系数
Table 2 The relative value between disease index and seed coat mottling incidence

株系 Strains	病情指数 DI/%	斑驳率 Seed coat mottling incidence/%	相关系数 r	概率值 P value
SC3	61.20	44.98	0.063	$P > 0.05$
SC7	66.04	49.42	0.417	$P < 0.01$

2.3 大豆品种(系)种传率的鉴定

将收获的感病植株种粒播种于网室内,鉴定幼苗的发病情况来调查 SMV 种传率(表 1),结果表明:部分大豆品种(系)可以同时种传两个株系,如 DCK、D03 等;部分大豆品种(系)只能传播一个株系,如 99-6、滇沧 2 号等。对 SC3 株系的种传率为 0 ~ 13.68%;对 SC7 株系的种传率为 0 ~ 6.94% (表 1)。本研究的大部分大豆品种(系)对 SC3 和 SC7 株系的平均种传率较低,分别为 1.47% 和 1.22%,差异不显著。接种 SC3 和 SC7 后具有种传抗性的大豆品种(系)分别占 38% 和 58% 份,其中 D09、道秋 1 号、武青 1 号等 11 份大豆品种对两个 SMV 株系均具有种传抗性(表 1,图 3)。

象与大豆查尔酮合酶基因(*CHS*)的沉默有关^[21],因此同一大豆品种以及品种间斑驳率的差异可能是品种和株系交互后致使 *CHS* 基因沉默效率不同导致的。本研究所选取的 50 份大豆品种(系)在接种 SC3 和 SC7 株系后产生了不同程度的种皮斑驳情况,有的大豆品种具有种皮斑驳抗性,有的则表现出极高的种皮斑驳率。其中,A3、SD1112 和 SD1108 对 SC3 和 SC7 均具有种粒斑驳抗性,但对 SMV 的成株抗性表现出较大差异,分别为高感、中抗和抗病,这 3 份大豆品种是否具有广谱种粒斑驳抗性仍需进一步研究。

目前,至少有 231 种病毒可以通过种子纵向传播,其中 13% 属于马铃薯 Y 病毒属(*Potyvi-*

dae)^[22]。作为马铃薯 Y 病毒属重要成员之一,SMV 也可以通过种子传播。Bowers 报道大豆品种平均种传率为 7.23%^[12],本研究中所选取的大豆品种(系)接种 SC3 和 SC7 后平均种传率较低,推测可能是本研究中所应用的品种都是近些年选育的新品种,在大豆育种过程中,淘汰了抗性差的材料,累积了较多抗病基因的原因。本研究中 11 份大豆品种 D09、道秋 1 号和武青 1 号等可以作为种传抗性的种质资源,同时 A3、SD1112 和 SD1108 品种对 SC3 和 SC7 株系不仅具有种粒斑驳抗性,还具有种传抗性,这些大豆品种(系)可以作为研究 SMV 种粒抗性遗传机制的候选材料。

参考文献

[1] Ross J P. Pathogenic variation among isolates of soybean mosaic virus [J]. *Phytopathology*, 1969, 59: 829-832.

[2] Kennedy B W, Cooper R L. Association of virus infection with mottling of soybean seed coats [J]. *Phytopathology*, 1967, 57 (1): 35-37.

[3] 李凯,刘志涛,李海潮,等. 国家大豆区域试验品种对 SMV 和 SCN 的抗性分析[J]. *大豆科学*, 2013, 32 (5): 670-675. (Li K, Liu Z T, Li H C, et al. Resistance to soybean mosaic virus and soybean cyst nematode of soybean cultivars from China national soybean uniform trials [J]. *Soybean Science*, 2013, 32 (5): 670-675.)

[4] 陈文杰,梁江,钟开珍,等. 大豆抗花叶病毒材料初步筛选及评价[J]. *大豆科学*, 2012, 31 (4): 617-620. (Chen W J, Liang J, Zhong K Z, et al. Preliminary selection and evaluation for *Glycine max* resistant to soybean mosaic virus [J]. *Soybean Science*, 2012, 31 (4): 617-620.)

[5] Buzzell R I, Tu J C. Inheritance of a soybean stem-tip necrosis reaction to soybean mosaic virus [J]. *Journal of Heredity*, 1989, 80: 400-401.

[6] Kiihl R A A, Hartwig E E. Inheritance of reaction to soybean mosaic virus in soybean [J]. *Crop Science*, 1979, 19: 372-375.

[7] Ma G, Chen P, Buss G R, et al. Genetic characteristics of two genes for resistance to soybean mosaic virus in PI 486355 soybean [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 91: 907-914.

[8] Yang Y Q, Zheng G J, Han L, et al. Genetic analysis and mapping of genes for resistance to multiple strains of soybean mosaic virus in a single resistant soybean accession PI 96983 [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126 (7): 1783-1791.

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

[10] 李文福,朱晓双,王晓锋,等. 大豆种质对 SMV 成株和种粒斑驳抗性的 SSR 标记辅助鉴定[J]. *植物遗传资源学报*, 2010, 11 (2): 239-243. (Li W F, Zhu X S, Wang X F, et al. Identification of the SMV adult plant and seed coat mottling resistance in soybean germplasms using SSR markers [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11 (2): 239-243.)

[11] 李文福,刘春燕,高运来,等. 大豆种粒斑驳抗性的遗传分析及基因定位[J]. *作物学报*, 2008, 34 (9): 1544-1548. (Li W F, Liu C Y, Gao Y L, et al. Genetic analysis and mapping of resistance gene to seed coat mottle in soybean [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34 (9): 1544-1548.)

[12] 李默然,耿迎春. 筛选大豆花叶病毒种传率低品种的研究[J]. *大豆科学*, 1986, 3: 245-248. (Li M R, Geng Y C. Studies on screening of soybean varieties with low seed transmission percentage of soybean mosaic virus [J]. *Soybean Science*, 1986, 3: 245-248.)

[13] 郭东全. 黄淮中北部大豆花叶病毒的株系鉴定及大豆抗性的遗传研究[D]. 南京:南京农业大学,2005. (Guo D Q. Strain identification of soybean mosaic virus in the northern Huang-Huai Region and studies on inheritance of resistance to SMV in soybean [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2005.)

[14] 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.

[15] Zhi H J, Gai J Y. Performance germplasm evaluation of quantitative resistance to soybean mosaic virus in soybean [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2004, 3 (4): 247-253.

[16] 胡国华,高凤兰,吴宗璞. 抗大豆种粒斑驳连锁遗传的研究[J]. *作物学报*, 1996, 23 (5): 555-559. (Hu G H, Gao F L, Wu Z P. Studies for linkage genetic of resistance to seedcoat mottling on soybean [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1996, 23 (5): 555-559.)

[17] Senda M, Masuta C, Ohnishi S, et al. Patterning of virus-infected *Glycine max* seed coat is associated with suppression of endogenous silencing of chalcone synthase genes [J]. *The Plant Cell Online*, 2004, 16 (4): 807-818.

[18] Sastry K S. Seed-borne plant virus diseases [J]. Springer, New Delhi, 2013: 10-30.

[19] Bowers G R, Goodman R M. Strain specificity of soybean mosaic virus seed transmission in soybean [J]. *Crop Science*, 1991, 31 (5): 1171-1174.

[20] 廖林,王金陵. 影响大豆褐斑率的若干因素[J]. *中国油料*, 1990 (3): 71-73. (Liao L, Wang J L. The factors related with seed coat mottling incidence [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 1990 (3): 71-73.)

[21] Domier L L, Steinlage T A, Hobbs H A, et al. Similarities in seed and aphid transmission among soybean mosaic virus isolates [J]. *Plant Disease*, 2007, 91 (5): 546-550.

[22] Matthews R E F, Hull R. Matthews' plant virology [M]. USA: Gulf Professional Publishing, 2002.