

# 大豆花叶病毒病种粒斑驳抗性基因定位

韩英鹏 赵雪 高赛男 李海燕 李文滨

(东北农业大学 大豆生物学教育部重点实验室/农业部北方大豆生物学与遗传育种区域重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:**大豆种粒斑驳严重影响大豆商品性,选育抗病品种可有效控制大豆种粒斑驳。利用抗源东农93-046与品1246所衍生的 $F_{8,9}$ 代群体,对其进行种粒斑驳鉴定,同时利用分子标记对其抗性基因进行初步分析。结果表明:以斑驳率5%为界限划分抗感株系, $F_{8,9}$ 代抗病株系数与感病株系数基本符合1:1的比例,这表明东农93-046的种粒斑驳抗性受一对等位基因控制。根据前人构建的一个包括13个分子标记F连锁群的遗传连锁图谱,结合单标记和复合区间作图法将东农93-046抗性基因位点定位于SSR分子标记Satt114附近。

**关键词:**大豆;花叶病毒病;抗性基因定位;分子辅助选择;种粒斑驳

**中图分类号:** S511 **文献标识码:** A **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.04.0696

## Mapping of Gene with Resistance to Seed Coat Mottle in Soybean

HAN Ying-peng, ZHAO Xue, GAO Sai-nan, LI Hai-yan, LI Wen-bin

(Northeast Agricultural University, Chinese Education Ministry's Key Laboratory of Soybean Biology/ Key Laboratory of Northeastern Soybean Biology and Breeding (Genetics) of Chinese Agriculture Ministry, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Soybean seed coat mottle seriously affects on soybean commodity. The selection of resistant varieties could efficiently control this disease. The aim of this study is to map the resistant gene of resistance cultivar Dongnong 93-046 through a  $F_{8,9}$  populations from a cross between Dongnong 93-046 and Pin 1246. The results showed the ratio (resistance line number: susceptible line number) was 1:1 in the  $F_{8,9}$  generation, which suggested that the resistance of Donong 93-046 was controlled by a pair of alleles. A total of 13 SSR markers in linkage group F were used to construct a genetic map. Resistance gene of Dongnong 93-046 was located near the SSR marker Satt114 through single marker analysis and composite interval analysis. It offered a good foundation for molecular marker assisted selection.

**Keywords:** Soybean; Soybean mosaic virus; Mapping of resistance gene; Molecular assistant selection; Seed coat mottle

大豆花叶病毒病(soybean mosaic virus, SMV)是大豆主要病害之一,严重影响大豆的产量和品质;尤其是大豆种粒感染SMV后产生褐斑粒,严重影响大豆商品性,而选育抗性品种是控制大豆种粒斑驳的有效措施之一。

目前国内外对大豆种粒斑驳的抗性遗传规律已进行了初步分析。胡国华等<sup>[1]</sup>研究结果表明抗种粒斑驳基因为显性,抗性基因可以从1对到3对,其遗传方式不仅存在单基因遗传,还存在互补与累加的遗传方式。陈怡等<sup>[2]</sup>指出 Merit 对 SMV N1 和 N3 株系种粒斑驳的抗性分别受 2 对隐性和 2 对显性基因控制。而 Cooper<sup>[3]</sup>研究指出美国品种 Merit 的种粒斑驳抗性是由 1 个主基因控制的,表现为单基因显性遗传。这种差别主要是由于各研究者所用的抗源或株系不同。

国内外对大豆种粒斑驳的抗性基因定位则报

道较少。李文福等<sup>[4]</sup>对东农 8143 的抗种粒斑驳基因进行分析,结果表明该抗源受 1 对显性基因控制并将其初步定位于 F 连锁群(13 号染色体) SSR 标记 Sat\_317 附近。本研究拟利用 SSR 分子标记对东农 93-046 的种粒斑驳抗性基因进行定位分析并获得相应的分子标记用于分子辅助育种。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

抗源东农 93-046 对种粒斑驳具有较强的抗性,品 1246 对种粒斑驳表现为高感,二者杂交所衍生的  $F_{8,9}$  代群体,材料均来自于东北农业大学大豆研究所。

#### 1.2 方法

1.2.1 田间种植 将亲本及  $F_{8,9}$  代群体材料种植于东北农业大学香坊实验实习基地,随机区组试验

收稿日期:2016-04-15

基金项目:黑龙江省普通高等院校新世纪优秀人才培养计划(1253-NCET-005)。

第一作者简介:韩英鹏(1978-),男,教授,博导,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: hyp234286@aliyun.com。

通讯作者:李文滨(1958-),男,教授,博导,主要从事大豆遗传育种研究和分子生物技术研究。E-mail: wenbinli@yahoo.com。

设计,行长 3 m,行距 0.6 m,株距 0.05 m,3 次重复,采用常规管理。

1.2.2 表现型鉴定 采用摩擦接种法对每个家系接种 10 株,3 次重复;按照滕卫丽<sup>[5]</sup>提出的种粒斑驳鉴定方法进行鉴定,即抗病(无斑驳),中抗(斑驳粒率为 1%~5%),感病(斑驳粒率大于 5%)。

1.2.3 基因型鉴定 群体基因型分析及 SSR 电泳过程,按照卢双勇等<sup>[6]</sup>提出的方法操作。

### 1.3 数据分析

图谱构建采用 Mapmaker/EXP V3.0 b<sup>[7]</sup> 软件构建,抗性基因定位方法参照前人方法<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 作图群体后代家系种粒斑驳的表型鉴定

通过田间接种鉴定,对群体后代家系的种子进

行斑驳率的统计,按照滕卫丽<sup>[5]</sup>的鉴定标准,以斑驳率 5% 为界限划分抗感株系,抗病株系数与感病株系数基本符合 1:1 的比例。说明东农 93-046 对 SMV N1 株系的斑驳抗性表现为质量性状,受 1 对等位基因控制。N1 为大豆花叶病毒中的弱毒株系,弱毒株系一般会引起较高比率的籽粒斑驳,如图 1 所示,群体后代家系中籽粒斑驳率高于 50%。

### 2.2 作图群体遗传图谱的构建

前人研究结果表明东北抗源的抗种粒斑驳基因分布在 F 连锁群上。赵雪<sup>[8]</sup>利用东农 93-046 × 品 1246 组合后代群体,针对 F 连锁群进行遗传连锁图谱的构建了一个包括 13 个 SSR 标记的遗传连锁图谱,该连锁群全长 117.5 cM,标记平均距离为 9.00 cM。本研究将利用此遗传连锁图谱进行抗种粒斑驳基因位点定位。

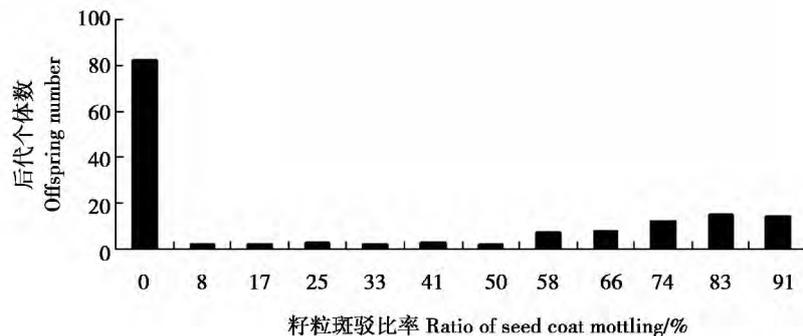


图 1 作图群体后代株系对 SMV N1 株系的籽粒斑驳抗性表现

Fig. 1 Seed coat mottling resistance of mapping populations to SMV N1 strains

### 2.3 单标记法定位 N1 株系种粒斑驳抗性基因位点

后代群体种粒斑驳抗性分为 3 类:抗病(无斑驳),中抗(斑驳粒率为 1%~5%),感病(斑驳粒率大于 5%),分别赋值 2、1、0。利用单标记分析和复合区间作图两种方法对作图群体进行斑驳抗性进行基因定位。单标记分析结果如表 1 所示,东农 93-046 × 品 1246 对 N1 株系的籽粒斑驳抗性获得连

锁标记,即 Satt362、Satt114 和 Satt334,遗传贡献率分别为 12.84%、39.74% 和 17.76%。

### 2.4 复合区间作图法定位 N1 株系种粒斑驳抗性基因位点

利用复合区间作图法对抗病基因进行初步定位,结果如表 2 所示,东农 93-046 × 品 1246 对 N1 株系的籽粒斑驳抗性位点位于 Satt362 和 Satt114 之间,遗传贡献率为 83.56%。

表 1 单标记分析法定位 SMV 抗性基因位点

Table 1 Markers linked with SMV resistant genetic loci mapped by single marker analysis

SMV 株系 SMV strain	标记 Marker	遗传距离 Position/cM	LOD 值 LOD value	贡献率 $R^2$ /%
N1	Satt362	81.1	3.93	12.84
	Satt114	62.0	16.55	39.74
	Satt334	76.4	7.16	17.76

表2 复合区间作图法定位 SMV 抗性基因位点  
Table 2 SMV resistant genetic loci mapped by composite interval mapping

SMV 株系 SMV strain	QTL	左标记 Left marker	右标记 Right marker	LOD 值 LOD value	贡献率 $R^2 / \%$
N1	Rsgn1-2	Satt362	Satt114	28.34	83.56

### 3 结论与讨论

表型数据的精准程度和划分标准对基因定位准确性的影响很大,尤其是质量性状。Cooper<sup>[3]</sup>首次根据斑驳粒率将种粒斑驳分为无斑驳、轻微斑驳(以上为抗病类型)、严重斑驳(为感病类型)3个鉴定类型,但实际操作过程中可操作性极差。吴宗璞等<sup>[9]</sup>提出将种粒斑驳分为种皮无斑驳;斑驳轻微,色淡,覆盖面积不超过5%,即抗病类型;而斑驳轻,覆盖面积约在5%~25%;斑驳重,色较深,覆盖面积26%~50%;斑驳严重,色深,覆盖面积占50%以上,即感病类型。首次将种粒斑驳划分提出了量化指标,并同时考察斑驳粒率和斑驳面积两个参数,从生产应用角度出发对大豆品种的斑驳分类有实际意义,然而遗传研究中斑驳覆盖面积难以直接测定。滕卫丽<sup>[5]</sup>提出了用于遗传分析的籽粒斑驳抗性划分方法,即无斑驳类型为抗病,斑驳粒率为1%~5%的株系为中抗,斑驳粒率大于5%的划分为感病品种。本研究利用此方法进行抗种粒斑驳的基因定位工作。

目前大豆花叶病毒病成株抗性共发现3个抗性基因位点,其分别位于13号染色体(LG F)、2号染色体(LG B2)和4号染色体(LG D1b)上<sup>[10-11]</sup>,而关于大豆种粒斑驳抗性基因位点却鲜见报道。本研究将东农93-046抗种粒斑驳基因定位F连锁群分子标记Satt114附近,而李文福等<sup>[4]</sup>利用另外一个群体也将种粒斑驳抗性基因定位于同一个连锁群。

### 参考文献

- [1] 胡国华,吴宗璞,高凤兰. 大豆抗种粒斑驳基因效应的研究[J]. 遗传学报,1995,22(2):133-141. (Hu G H, Wu Z P, Gao F L. Inheritance analysis of seed coat mottle in soybean[J]. Journal of Genetics and Genomics, 1995, 22(2): 133-141.)
- [2] 陈怡. 大豆对两个大豆花叶病毒株系抗性的遗传研究[J]. 黑龙江农业科学,1991(5):21-24. (Chen Y. Inheritance analysis of two soybean mosaic virus strain[J]. Heilongjiang Agricultural Science, 1991(5): 21-24.)
- [3] Cooper R L. A major gene for resistance to seed coat mottling in soybean[J]. Crop Science, 1966, 6(3): 290-292.
- [4] 李文福,刘纯燕,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]. Crop Journal, 2008, 34(9): 1544-1548.)
- [5] 滕卫丽. 大豆抗花叶病遗传、细胞超微结构分析及基因定位[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2006. (Teng W L. Inheritance of resistance to SMV cellular ultrastructure analysis and resistance gene mapping in soybean[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2006.)
- [6] 卢双勇,滕卫丽,韩英鹏,等. 大豆抗花叶病毒及耐疫霉根腐病的SSR分析[J]. 大豆科学,2008,27(5):746-750. (Lu S Y, Teng W L, Han Y P, et al. SSR analysis of soybean mosaic virus and phytophthora root rot[J]. Soybean Science, 2008, 27(5): 746-750.)
- [7] Lander E S, Green P, Abrahamson J. MapMaker: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural population[J]. Genomics, 1987, 1: 174-181.
- [8] 赵雪. 大豆抗花叶病基因精细定位及候选基因挖掘[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2012. (Zhao X. Fine mapping and candidate gene mining of the soybean mosaic virus resistance gene[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012.)
- [9] 吴宗璞,钟兆西,高凤兰,等. 大豆品种对SMV不同毒株抗性反应与种粒斑驳关系的研究[J]. 大豆科学,1986,5(2):153-160. Wu Z P, Zhong Z X, Gao F L, et al. Varietal resistance of soybeans to different isolates of SMV and in relationship to seed mottling[J]. Soybean Science, 1986, 5(2): 153-160.
- [10] Buss G R, Ma G, Chen P, et al. Registration of V94-5152 soybean germplasm resistance to soybean mosaic virus potyvirus[J]. Crop Science, 1997, 37: 1987-1988.
- [11] Kiihl R, Hartwig E. Heritance of reaction to soybean mosaic virus in soybean[J]. Crop Science, 1979, 19: 372-375.