



鲜食大豆对 SMV 株系 SC9 的抗性遗传及等位性分析

杨清华, 傅旭军, 金杭霞, 郁晓敏, 朱丹华, 袁凤杰

(浙江省农业科学院 作物与核技术利用研究所, 浙江 杭州 310021)

摘要: 大豆花叶病毒(SMV)株系SC9是浙江省大豆产区的流行株系。利用对该株系表现抗病的鲜食大豆材料开心绿宝石、辽02-M03、23037-1、闽豆5号与感病材料浙鲜豆4号、南农1138-2、11W68配制抗感和抗抗杂交组合。通过人工摩擦接种法进行鉴定, 分析鲜食大豆抗病品种对株系SC9的抗性遗传及等位性。结果表明: 开心绿宝石、辽02-M03、23037-1、闽豆5号与感病材料杂交的F₁代均表现抗病, F₂群体表现3抗:1感的分离比例, F_{2:3}家系表现1抗:2分离:1感的分离比例, 表明4份抗源材料对SC9的抗性由单显性基因控制。抗抗组合开心绿宝石×辽02-M03的F₂群体和F_{2:3}家系全部表现抗病, 表明开心绿宝石与辽02-M03对SC9的抗性基因是等位或紧密连锁的。而抗抗组合闽豆5号×辽02-M03的F₂群体表现15抗:1感的分离比例, 表明闽豆5号与辽02-M03对SC9的抗性基因是不等位的, 而且独立遗传。

关键词: 大豆; 大豆花叶病毒; 抗性遗传; 等位性分析

Inheritance and Allelism Analysis of Resistance to Soybean Mosaic Virus Strain SC9 in Vegetable Soybean

YANG Qing-hua, FU Xu-jun, JIN Hang-xia, YU Xiao-min, ZHU Dan-hua, YUAN Feng-jie

(Institute of Crops and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou 310021, China)

Abstract: Soybean mosaic virus (SMV) strain SC9 was popular in soybean producing areas of Zhejiang province. Soybean resistant (R) cultivars Kaixinlybaoshi, Liao 02-M03, 23037-1, Mindou 5 were crossed respectively with susceptible (S) cultivars Zhexiandou 4, Nannong1138-2, 11W68 and resistant parents were also crossed with each other. Inheritance and allelism analysis of resistance to strain SC9 in vegetable soybean was carried out by using the artificial friction inoculation. All of the F₁ lines derived from the R × S cross combinations were resistant and all of the F₂ and F_{2:3} lines exhibited a segregation pattern of 3R:1S and 1R:2Seg:1S ratio, respectively. The results showed that the four soybean cultivars carried single dominant resistant gene for strain SC9, respectively. The F₂ populations and F_{2:3} lines from Kaixinlybaoshi × Liao 02-M03 were all resistant. Therefore, the resistance genes between Kaixinlybaoshi and Liao 02-M03 were allelic or closely linked. The F₂ populations from Mindou 5 × Liao 02-M03 exhibited a segregation pattern of 15R:1S. The results showed that the resistance genes between Mindou 5 × Liao 02-M03 were not at the same locus. These results are important for vegetable soybean resistance breeding programs.

Keywords: Soybean; Soybean mosaic virus; Inheritance of resistance; Allelic analysis

大豆花叶病毒(soybean mosaic virus, SMV)病是世界大豆产区的主要病害之一, 严重危害大豆的产量和品质。在多种防治SMV的方法中, 培育抗病品种是最经济、最有效、最环保的方法, 而培育抗病品种首先要了解抗性种质对SMV的抗性遗传。有关大豆对SMV抗性的遗传研究起自20世纪60年代^[1], 包括成株抗性遗传和籽粒抗性遗传, 其中, 成株抗性遗传又分为抗侵染和抗扩展。多年来, 人们习惯把对SMV的抗侵染即质量抗性简单称之为大

豆对SMV的抗性^[2]。到目前为止, 已形成了1对显性基因、1对隐性基因、2对显性互补基因、2对隐性互补基因和2对具有抑制作用的显性基因等5种不同的大豆对SMV抗侵染遗传方式。其中大量研究表明, 大豆对SMV的抗性遗传由1对显性基因控制。如大豆品种科丰1号对株系SC3^[3]、SC4^[4]、SC7^[3,5]、SC8^[4]、SC10^[6]、SC11^[7]和SC13^[8]等的抗性遗传、大白麻对株系SC4、SC8^[4]、SC10^[6]和SC11^[7]等的抗性遗传、齐黄1号对株系SC3、

收稿日期: 2018-04-24

基金项目: 国家自然科学基金(31401400); 浙江省粮食新品种选育重大科技专项(2016C02050-10); 科技部中欧政府间科技合作重点专项(2017YFE0111000)。

第一作者简介: 杨清华(1981-), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事大豆抗病育种研究。E-mail: tsingyang2009@163.com。

通讯作者: 袁凤杰(1971-), 女, 博士, 研究员, 主要从事大豆育种研究。E-mail: fjuanzh@126.com。

SC7^[3]、SC8^[4]和SC11^[9]等的抗性遗传、齐黄22号对株系SC4、SC8^[4]、SC13^[8]和SC18^[10]等的抗性遗传、晋大74和汾豆56对株系SC4、SC8^[4]和SC10^[10]的抗性遗传、RN-9对株系SC15的抗性遗传^[11]、PI96983对株系SC4、SC8^[4]和SC13^[8]等的抗性遗传、PI88788对株系G1和G7的抗性遗传^[12]均由1对显性基因控制。

浙江省作为全国鲜食大豆主要生产、冷藏和出口基地,保证当地鲜食大豆的外观品质、营养品质等尤为重要。而SMV一旦侵染鲜食大豆后,会严重影响豆荚的外观品质,从而降低了其销售和出口量。因此,在鲜食大豆抗病育种中首先要考虑新品种对SMV的抗病性。大豆花叶病毒在与大豆的长期互作过程中形成了不同株系,南京农业大学国家大豆改良中心利用一套全国统一的鉴别寄主,将我国大豆产区的SMV分离物划分为SC1~SC22共22个株系^[13~19]。其中,株系SC9是危害浙江大豆生产的流行株系,给浙江大豆生产带来了严重损失^[20]。本研究通过明确已筛选到的鲜食大豆抗性资源对SC9株系的抗性遗传方式,研究不同抗源材料对同一株系抗性基因间的等位性关系,为今后抗病育种的亲本选配和后代选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 亲本 供试亲本为杨清华等^[21]筛选到的抗大豆花叶病毒SC9株系的鲜食大豆材料开心绿宝石、辽02-M03、23037-1、闽豆5号与感病鲜食大豆材料浙鲜豆4号、南农1138-2、11W68;其中开心绿宝石品种为辽宁省开源市生产用种;辽02-M03是辽宁省农业科学院选育的鲜食大豆新品系;23037-1是浙江省农科院作物与核技术利用研究所选育的鲜食大豆中间品系;闽豆5号是由福建省农业科学院作物研究所选育的中熟菜用大豆品种。以上材料均由浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所杭州国家大豆改良分中心提供。

1.1.2 株系 试验所用大豆花叶病毒株系为SC9,由南京农业大学智海剑教授惠赠。株系SC9在鉴别寄主体系中可侵染9个鉴别寄主,仅在科丰1号上表现抗病^[16]。

1.2 试验设计

2015年8月初在浙江省农科院作物与核技术利用研究所试验田播种亲本材料,开花期配制了开心绿宝石×浙鲜豆4号、辽02-M03×11W68、23037-1×南农1138-2和闽豆5号×南农1138-2等4组抗

×感组合以及开心绿宝石×辽02-M03和闽豆5号×辽02-M03的2组抗×抗杂交组合,获得F₁代种子。2016年春,播种F₁种子,去除假杂种,自交得到F₂代。2016年夏播种部分F₂种子,单株收获,获得F_{2:3}家系。

1.3 方法

在防虫温室内盆播感病品种南农1138-2,待第一对真叶完全展开时,采用汁液摩擦接种的方法,将株系SC9接种于感病品种南农1138-2上,进行大量繁殖。等到南农1138-2发病后,在防虫温室内盆播亲本及F₁、F₂和F_{2:3}等杂交后代材料,每盆留苗8~30株。第一对真叶完全展平时接种株系SC9,待第一对复叶完全展平时再接种一次。接种后30 d内,连续观察发病情况,抗感划分标准和调查方法参照李海朝等^[7]。根据各组合F₂代和F_{2:3}家系的抗/感分离比例,采用卡方适合性检测。自由度为1,采用矫正后的卡平方检验后代抗病与感病株数的符合比例。

$$\chi^2_c = \sum [(|E_o - E| - 0.5)^2 / E]$$

其中E为理论值,E_o为实际观察值,0.5为校正常数。

1.4 数据分析

使用Excel 2003对数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 鲜食大豆抗性基因的遗传规律分析

4组抗×感杂交组合亲本及后代接种调查结果以及卡方适合性测验结果见表1。抗病亲本开心绿宝石和感病亲本浙鲜豆4号的各世代经接种鉴定后,F₁代中10株单株表现抗病;F₂群体中,227株表现抗病,85株表现感病,分离结果经卡方适合性测验符合3(抗):1(感)的分离比例;而122个F_{2:3}家系中,27个家系表现抗病,64个家系表现抗感分离,31个家系表现感病,经卡方测验分析符合1(抗):2(分离):1(感)的分离比例,由此可说明抗病亲本开心绿宝石对SMV株系SC9的抗性是由1对显性基因控制。

抗病亲本辽02-M03和感病亲本11W68的各世代经接种鉴定后,F₁代中9株单株表现无症状;F₂群体有306株表现抗病和107株表现感病,分离结果经卡方测验符合3抗:1感的分离比例;109个F_{2:3}家系中,26个家系表现抗病,53个家系表现抗感分离,30个家系表现感病,经卡方测验分析符合1抗:2分离:1感的分离比例,由此可说明抗病亲本辽02-M03有1对显性基因控制株系SC9的抗性。

抗病亲本 23037-1 和感病亲本南农 1138-2 的各世代经接种鉴定后, F_1 代中 11 株单株表现无症状, 即抗病; F_2 群体中有 198 株表现抗病和 67 株表现感病, 分离结果经卡方测验符合 3 抗:1 感的分离比例; 122 个 $F_{2:3}$ 家系中, 30 个家系表现抗病, 27 个家系表现感病, 65 个家系表现抗感分离, 经卡方测验分析符合 1 抗:2 分离:1 感的分离比例, 由此可说明抗病亲本 23037-1 有 1 对显性基因控制株系 SC9 的抗性。

抗病亲本闽豆 5 号和感病亲本南农 1138-2 的各世代经接种鉴定后, F_1 代中 8 株单株表现无症状; F_2 群体中, 189 株表现抗病, 67 株表现感病, 分离结果经卡方测验符合 3 抗:1 感的分离比例; 在 117 个 $F_{2:3}$ 家系中, 31 个家系表现抗病, 29 个家系表现感病, 57 个家系表现抗感分离, 经卡方测验分析符合 1 抗:2 分离:1 感的分离比例, 结果表明闽豆 5 号有 1 对显性基因控制株系 SC9 的抗性。

表 1 大豆品种对 SMV 株系 SC9 的抗性遗传分析

Table 1 Genetic analysis of resistance to SMV strain SC9 in soybeans

世代 Generation	株(家系)数 No. of plant (line)			总株数 Total	期望值 Expected ratio	χ^2	P
	抗 R	分离 Seg.	感 S				
开心绿宝石 Kaixinlybaoshi (P_1)	22		0	22			
F_1	10		0	10			
F_2	227		85	312	3:1	0.84	0.36
$F_{2:3}$	27	64	31	122	1:2:1	0.56	0.76
浙鲜 4 号 Zhexiadou 4 (P_2)	0		20	20			
辽 02-M03 Liao 02-M03 (P_1)	26		0	26			
F_1	9		0	9			
F_2	306		107	413	3:1	0.18	0.67
$F_{2:3}$	26	53	30	109	1:2:1	0.38	0.83
11W68 (P_2)	0		23	23			
23037-1 (P_1)	26		0	26			
F_1	11		0	11			
F_2	198		67	265	3:1	0.01	0.92
$F_{2:3}$	30	65	27	122	1:2:1	0.67	0.71
南农 1138-2 Nannong 1138-2 (P_2)	0		30	30			
闽豆 5 号 Mindou 5 (P_1)	21		0	21			
F_1	8		0	8			
F_2	189		67	256	3:1	0.19	0.67
$F_{2:3}$	31	57	29	117	1:2:1	0.15	0.93
南农 1138-2 Nannong 1138-2 (P_2)	0		22	22			

2.2 鲜食大豆抗性基因的等位性分析

2 组抗 × 抗杂交组合亲本及后代接种调查结果见表 2。抗病亲本开心绿宝石和抗病亲本辽 02-M03 的各世代经接种鉴定后, 8 株 F_1 代单株、含有 230 株单株的 F_2 群体以及 56 个家系的 $F_{2:3}$ 群体均表现抗病, 因此表明抗病亲本开心绿宝石与辽 02-M03 对 SMV 株系 SC9 的抗性基因是等位或紧密连锁的。

抗病亲本闽豆 5 号和抗病亲本辽 02-M03 的各世代经接种鉴定后, 7 株 F_1 代表现抗病; F_2 群体中有 259 株表现抗病, 15 株表现感病; 经卡方测验, 抗感比符合 15:1(2 对显性基因控制), 由此可推断, 抗病亲本闽豆 5 号与辽 02-M03 对 SMV 株系 SC9 的抗性基因是不等位的, 且独立遗传。

表2 大豆品种对SMV株系SC9的等位性分析

Table 2 Allelism analysis of resistance to SMV strain SC9 in soybeans

世代 Generation	株数或家系数 No. of plant (line)				总株数 Total	期望值 Expected ratio	χ^2_c	P				
	抗 R	分离比(15 抗:1 感) Seg. (15R:1S)		感 S								
		分离比(3 抗:1 感) Seg. (3R:1S)										
开心绿宝石 Kaixinlvbaoshi (P ₂)	23			0	23							
F ₁	8			0	8							
F ₂	230			0	230							
F _{2:3}	56			0	56							
辽02-M03 Liao 02-M03 (P ₁)	22			0	22							
闽豆5号 Mindou 5 (P ₁)	22			0	22							
F ₁	7			0	7							
F ₂	259			15	274	15:1	0.28	0.60				
F _{2:3}	46	1	11	5	63	7:4:4:1	27.87	0.00				
辽02-M03 Liao 02-M03 (P ₂)	25			0	25							

3 讨论

本研究中,供试大豆材料均盆播于防虫温室内。随着温室内温度、湿度等环境条件的变化以及发育阶段的不同,接种后大豆植株的局部叶片会有坏死反应。有研究显示,这种坏死反应是基因型与环境互作的结果,与温度和发育阶段有关^[22-23]。抗感组合23037-1×南农1138-2和闽豆5号×南农1138-2的F₁和F₂代的植株叶片在早期均未出现坏死斑,但接种后约40 d,F₁和F₂代的部分早期抗病植株中下部叶片会出现局部坏死斑。综合上述结果,本研究认为,接种后植株成株期叶片上产生的非系统性坏死斑可能与SMV株系、品种基因型、环境以及发育阶段有关。这与王大刚等^[3]和李海朝等^[7]的研究结果一致。

在研究两个抗病亲本闽豆5号和辽02-M03的抗性基因等位性时,我们发现杂交F₂群体经接种后,经卡方测验抗感分离比例符合15R:1S,而F_{2:3}家系经卡方测验后的分离比例却不符合7R:4(15R:1S):4(3R:1S):1S的理论比率。分析其原因主要可能是:一方面供试的F_{2:3}家系数量偏少;另一方面试验中F_{2:3}代每个家系接种植株也不多,仅为10~30株。综上两个原因,进而导致实际分离比率与理论比率不符。但在F_{2:3}家系中出现的11个抗感分离家系(3R:1S)以及5个纯合感病家系,足以验证F₂群体的分离结果,从而表明两个亲本携带的抗病基因是不等位的。

研究中供试的抗源材料开心绿宝石、辽02-M03、23037-1和闽豆5号都是颇具特色的鲜食大豆

品种(品系),其中开心绿宝石是在浙江省种植面积较大的品种,23037-1是浙江省农科院作物与核技术利用研究所选育的鲜食大豆中间品系,这两份大豆材料不但抗病性好,而且在农艺性状方面也表现突出,具有较大的育种价值^[21]。

4 结论

抗病材料开心绿宝石、辽02-M03、23037-1和闽豆5号对株系SC9的抗性遗传由1对显性基因控制。开心绿宝石与辽02-M03对SC9的抗性基因是等位或紧密连锁的,而闽豆5号与辽02-M03对SC9的抗性基因是不等位的,而且独立遗传。

参考文献

- [1] Koshimizu Y, Iizuka M. Studies on soybean virus diseases in Japan [J]. Bulletin of the Tohoku National Agricultural Experiment Station, 1963, 27:1-103.
- [2] 智海剑,盖钧镒.大豆花叶病毒及抗性遗传的研究进展[J].大豆科学,2006,25(2):174-180. (Zhi H J, Gai J Y. Advances the studies on soybean mosaic virus[J]. Soybean Science, 2006, 25(2):174-180.)
- [3] 王大刚,张磊,吴倩,等.大豆广谱抗源对SMV优势株系的抗性遗传和等位性分析[J].华北农学报,2016,31(增刊):135-139. (Wang D G, Zhang L, Wu Q, et al. Inheritance and allelism analysis of resistance to soybean mosaic virus predominant strains in soybean[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2016, 31(S): 135-139.)
- [4] 王大刚,马莹,刘宁,等.大豆花叶病毒(SMV)株系SC4和SC8的抗性遗传分析[J].作物学报,2012,38(2):202-209. (Wang D G, Ma Y, Liu N, et al. Inheritance of resistance to soybean mosaic virus strains SC4 and SC8 in soybean[J]. Acta Agro-

- nomica Sinica, 2012, 38(2) : 202-209.)
- [5] 战勇, 喻德跃, 陈受宜, 等. 大豆对SMV SC-7株系群的抗性遗传与基因定位[J]. 作物学报, 2006, 32(6) : 936-938. (Zhan Y, Yu D Y, Chen S Y, et al. Inheritance and gene mapping of resistance to SMV strain SC-7 in soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(6) : 936-938.)
- [6] 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.)
- [7] 李海朝, 智海剑, 白丽, 等. 大豆对SMV株系SC-11的抗性遗传及抗病基因的等位性研究[J]. 大豆科学, 2006, 25(4) : 365-368. (Li H C, Zhi H J, Bai L, et al. Studies on inheritance and allelism of resistance genes to SMV strain SC-11 in soybean [J]. Soybean Science, 2006, 25(4) : 365-368.)
- [8] 郭东全, 王延伟, 智海剑, 等. 大豆对SMV SC13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 Science, 2007, 26(1) : 21-24.)
- [9] 白丽, 李海朝, 马莹, 等. 大豆对大豆花叶病毒SC-11株系抗性的遗传及基因定位[J]. 大豆科学, 2009, 25(1) : 1-6. (Bai L, Li H C, Ma Y, et al. Inheritance and gene mapping of resistance to soybean mosaic virus strain SC-11 in soybean [J]. Soybean Science, 2009, 25(1) : 1-6.)
- [10] Li K, Ren R, Karthikeyan A, 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.
- [11] 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.
- [12] Gunduz I, Buss G R, Chen P Y, et al. Genetic and phenotypic analysis of soybean mosaic virus resistance in PI88788 soybean [J]. Phytopathology, 2004, 94 : 687-692.
- [13] 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 Science, 2003, 22(2) : 102-107.)
- [14] 杨雅麟. 长江中下游地区大豆花叶病毒(SMV)株系组成、分布及抗性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2002. (Yang Y L. Research on SMV strain, distribution and resistance of soybean mosaic virus strains in the Middle and Lower Changjiang River Valleys [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2002.)
- [15] 战勇, 智海剑, 喻德跃, 等. 黄淮地区大豆花叶病毒株系的鉴定与分布[J]. 中国农业科学, 2006, 39(10) : 2009-2015. (Zhan Y, Zhi H J, Yu D Y, et al. Identification and distribution of SMV strains in Huang-Huai Valleys [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(10) : 2009-2015.)
- [16] 郭东全, 智海剑, 王延伟, 等. 黄淮中北部大豆花叶病毒株系的鉴定与分布[J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(4) : 64-68. (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(4) : 64-68.)
- [17] 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 Science, 2005, 24(4) : 263-268.)
- [18] 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 : 351-357.
- [19] 王大刚, 田震, 李凯, 等. 鲁豫皖大豆产区大豆花叶病毒株系的鉴定及动态变化分析[J]. 大豆科学, 2013, 32(6) : 806-809. (Wang D G, Tian Z, Li K, et al. Identification and variation analysis of soybean mosaic virus strains in Shandong, Henan and Anhui provinces of China [J]. Soybean Science, 2013, 32(6) : 806-809.)
- [20] 智海剑. 大豆间作套种高产高效生产技术研究与示范[R]. 北京: 国家大豆产业技术体系工作会议, 2012. (Zhi H J. Research and demonstration of high yield and high efficiency production technology of soybean intercropping [R]. Beijing: National soybean industry technology system working conference, 2012.)
- [21] 杨清华, 董德坤, 郁晓敏, 等. 浙江省大豆花叶病毒(SMV)流行株系抗性性状的筛选及农艺形状调查[J]. 浙江农业科学, 2015, 27(4) : 527-531. (Yang Q H, Dong D K, Yu X M, et al. Screening and agronomic character investigation of resistance germplasm to the popular strains of soybean mosaic virus in Zhejiang province [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2015, 27(4) : 527-531.)
- [22] Zheng C, Chen P, Gergerich R. Effect of temperature on the expression of necrosis in soybean infected with soybean mosaic virus [J]. Crop Science, 2005, 45(3) : 916-922.
- [23] Ma G, Chen P, Buss G R, et al. Genetic study of a lethal necrosis to soybean mosaic virus in PI507389 soybean [J]. Journal of Heredity, 2003, 94(3) : 205-211.