



# 大豆抗胞囊线虫 4 号生理小种 SSR 标记筛选及优异种质鉴定

张海平, 陈妍, 闫凯

(山西省农业科学院 农作物品种资源研究所/农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室/杂粮种质资源发掘与遗传改良山西省重点实验室, 山西 太原 030031)

**摘要:**大豆抗胞囊线虫的表型鉴定工作量较大, 鉴定结果易受环境影响, 是抗源筛选和抗病品种选育的限制因素之一。不受时间、环境限制的分子标记鉴定为抗病鉴定提供了一种高效快捷准确简单的鉴定方法。为筛选可用于抗大豆胞囊线虫 4 号生理小种分子标记引物, 本研究采用基因型鉴定和人工接种鉴定相结合的方法鉴定 193 份大豆资源的大豆胞囊线虫抗性。以部分高抗大豆资源和高感资源为材料, 对 1 000 对 SSR 引物进行初筛, 用初筛获得的引物扩增 193 份抗、感大豆资源, 筛选抗胞囊线虫 4 号生理小种 (SCN 4) SSR 标记引物, 用于大豆抗胞囊线虫 4 号生理小种分子标记辅助鉴定。结果表明: 筛选出 4 个与大豆胞囊线虫 4 号生理小种相关的 SSR 标记, 分别为 Satt400、Satt680、Satt533 和 Satt504。Satt400、Satt680、Satt533 和 Satt504 对感病资源的检出率均为 100%, 对抗病资源的检出率分别为 70.58%、63.15%、92.3% 和 57.14%。结合人工接种鉴定结果显示, 4 个标记组合鉴定可提高对胞囊线虫 4 号生理小种抗性的选择效率, 达 100%。经人工接种鉴定, 从 193 份资源中筛选出 12 份抗病资源, 其中 10 份资源为高抗, 2 份资源为中抗。这 12 份抗源的 4 个 SSR 标记带型均为抗病带型, 其余感病和高感资源的 4 个 SSR 标记带型则至少有一个为感病带型。因此, 利用分子标记评价抗感特性的标准为被 1 个或 1 个以上的感病带型检出的资源为感病资源, 当 4 个标记均为抗病带型, 该资源为抗病资源。利用该引物组合对山西省种质库提供的 100 份资源进行鉴定。筛选出 4 份抗源, 人工接种鉴定结果表明, 黑豆、小颖黑和晋 1265 (茶) 3 份资源抗性级别为高抗, 大黑豆抗性级别为中抗。因此, 该引物组合可有效辅助鉴定大豆对胞囊线虫 4 号生理小种的抗性。

**关键词:**大豆; 大豆胞囊线虫; 4 号生理小种; SSR 标记; 抗病鉴定

## Selection of SSR Markers for SCN4 Resistance and Identification of Excellent Resistant Germplasm

ZHANG Hai-ping, CHEN Yan, YAN Kai

(Institute of Crop Germplasm Resources of Shanxi Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture / Shanxi Key Laboratory of Genetic Resources and Genetic Improvement, Taiyuan 030031, China)

**Abstract:** The workload of phenotype identification of soybean resistance to cyst nematode is large, and the identification results are easily affected by the environment, which is one of the limiting factors for resistance source selection and resistance variety selection. Molecular marker identification without time and environment constraints provides an efficient, rapid, accurate and simple method of disease resistance identification. In order to screen molecular markers for distinguishing resistant resources from susceptible resources, identified the resistance to soybean cyst nematode of 193 soybean resource, part of the resistant resources and the high susceptible resources were genotyped by 1 000 SSR markers and 7 SSR markers that can distinguish SCN4 resistance sources from susceptible sources were found. Then, 193 soybean resources were genotyped by the 7 SSR markers. The results showed that 4 markers, Satt400, Satt680, Satt533 and Satt504, were selected. The selection efficiency of susceptible resources with Satt400, Satt680, Satt533 and Satt504 was all 100%. The selection efficiency of resistant resources with Satt400, Satt680, Satt533 and Satt504 was 70.58%, 63.15%, 92.3% and 57.14% respectively. The combination of 4 markers could add the selection efficiency to resistant resources, and the selection efficiency was up to 100%. Combined with artificial inoculation identification, 12 of the 193 soybean resources were identified as resistant resources. These 12 resistant resources were all detected with resistant alleles at four loci and other resources were detected with at least one susceptible allele of the four loci. Therefore, the resources were considered as resistant resources which were all detected with resistant alleles of the four loci and the resources were considered as susceptible resources which were detected with at least one susceptible allele of the four loci. 100 resources from Shanxi crop gene bank were genotyped by the 4 markers. Four resources, Heidou, Xiaokehei, Jin1265 and Daheidou, were identified as resistant resources. Then, the resistance to SCN4 of the 4 resources was identified by artificial inoculation. The results showed that the resistance of Heidou, Xiaokehei and Jin1265 were high, and the resistance of Daheidou was middle. It is considered that the combined markers could be used in marker-assisted selection of resistant germplasm.

**Keywords:** Soybean; Soybean Cyst Nematode; SCN4; SSR molecular marker; Resistance identification

收稿日期: 2019-08-05

基金项目: 国家重点研发计划子课题 (2016YFD0100201-26); 山西省重点研发计划项目 (201703D221004-2); 山西省农业科学院应用基础研究计划 (YGJPY1909); 山西省重点研发计划项目 (201903D211003)。

第一作者简介: 张海平 (1978-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事大豆种质资源研究。E-mail: nkyzhp@126.com。

大豆胞囊线虫( soybean cyst nematode, SCN) 病是大豆生产上毁灭性病害之一, 该病一般会造成产量损失 5% ~ 10%, 严重发生地块减产可达 30% 以上, 甚至颗粒无收, 平均每年给中国大豆生产造成 1.2 亿美元的经济损失<sup>[1-2]</sup>。中国大豆胞囊线虫有 1、2、3、4、5、6、7、14 号 8 个生理小种, 其中 4 号生理小种致病力最强, 主要分布在黄淮大豆产区<sup>[3]</sup>。

培育抗病品种是防治大豆胞囊线虫病最为经济有效的途径。但目前我国尚无可推广的抗胞囊线虫 4 号生理小种大豆品种, 除了由于 4 号生理小种致病力强, 抗源少, 且抗性机理复杂等原因外, 抗病性鉴定也影响了大豆抗病育种的进程。大豆抗胞囊线虫鉴定主要有病圃鉴定和人工接种鉴定两种方法。病圃鉴定容易受时间和环境的影响, 且年度间结果不稳定; 人工接种鉴定不受季节和环境的影响, 鉴定结果也相对准确。但这两种方法的共同缺点是周期长、过程繁琐、工作量大, 严重限制了大豆抗源的筛选和抗病品种的选育进程<sup>[4]</sup>。

利用分子标记开展标记辅助鉴定胞囊线虫抗病材料具有简便、省时、经济、准确等特点。在前人研究中, 已有与大豆胞囊线虫抗性相关的 RFLP、AFLP、RAPD、SCAR、SSR、InDel 等多个分子标记被开发并应用于分子标记辅助选择。王惠等<sup>[5]</sup>筛选到 SSR 引物 Satt187, 在抗病单株中均只检测到标记带 Satt187 (176 bp), 在感病单株中检测到有 Satt187 (176 bp) 和 Satt187 (172 bp) 两种标记带型或仅有 Satt187 (172 bp) 带型, 根据其带型可将 3 号小种抗源小粒黑豆与感病品种辽豆 10 号的抗感后代分开。*rhg1* 和 *Rhg4* 是已经克隆的大豆胞囊线虫主效基因<sup>[6-7]</sup>。其中与 *rhg1* 连锁的标记 Satt309 曾经被广泛应用于抗病鉴定。Cregan 等<sup>[8]</sup>用与 *rhg1* 共分离标记 Satt309 和 Sat\_168 区分抗感材料, 发现 Satt309 能够区分出 Peking (PI 548402)、PI 90763、PI 437654 和绝大多数的感病种质, Sat\_168 能够将 PI 88788 和 PI 209332 与美国南部的感病种质如 Essex、Lee、Bragg 区分开来, 但无法将感病品系 Hutcheson、Noir-1 与抗源 PI 88788、PI 209332 区分开, 2 个标记组合鉴定可显著提高鉴定效率。王文辉等<sup>[9]</sup>利用 Satt309 对我国 634 份大豆资源进行了鉴定, 发现利用 128 和 134 bp 等位变异对抗病资源的鉴定效率为 72.46%。张彦威等<sup>[10]</sup>研究认为 Satt309 和 Satt\_210 对胞囊线虫 1 号生理小种抗源的选择效率为 50% 和 87.5%, 这两个标记组合的鉴定效率为 100%。南海洋等<sup>[11]</sup>则是基于 *rhg1* 序列,

开发了 Indel 标记 *rhg1*-I4, 该标记的 288 bp 等位变异和 294 bp 等位变异为抗病相关等位变异, 269 bp 等位变异和 272 bp 等位变异为感病相关等位变异。此标记对抗病资源的检出效率为 88.2%, 对感病资源的检出效率为 100%。该标记与 Satt309 配合鉴定可以提高 SCN 抗病资源的检测效率。马岩松等<sup>[12]</sup>基于 *rhg1* 开发了 Indel 标记 *rhg*-I4 和 SCN\_Res Bridge, 检测灰皮支黑豆和感病品种黑农 33 构建的后代群体对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗病性, 表型检测效率达 88.89%, 高于 Satt309。Li 等<sup>[13]</sup>基于 *rhg1* 开发出单倍型标记 689C-757C, 可区分 3 号生理小种抗感资源。史学晖等<sup>[14]</sup>根据基因 *Rhg4* (*GmSHMT*) 的 SNP 开发了 CAPS 和 dCAPS 标记 Rhg4-389 和 Rhg-1165, 且单倍型 Rhg4-389-G 和 Rhg-1165-T 对 3 号生理小种抗源鉴定效率可达 94.1%。Shi 等<sup>[15]</sup>基于 *rhg1* 开发了两个 KASP 标记 GSM381 和 GSM383, 基于 *Rhg4* 序列开发了 KASP 标记 GSM191。GSM381 可筛选 *rhg1* 等位基因的 3 号生理小种抗性材料, GSM383 和 GSM191 可区分抗病资源抗型 (Peking 型和 PI88788 型)。SCN3-11 是 Li 等<sup>[16]</sup>发现的一个抗胞囊线虫 3 号生理小种 QTL, 田宇等<sup>[17]</sup>根据 SCN3-11 的 Map-5149 开发出 KASP 标记 GmSNAP11-5149, 对 3 号生理小种抗源的选择效率为 92%。上述研究表明, 无论是 SSR 标记还是 SNP 等其它类型的分子标记, 大部分是针对 3 号生理小种进行开发, 其它生理小种抗病标记开发报道鲜少。

本研究利用大豆胞囊线虫 4 号生理小种高抗和高感资源各 6 份对 1 000 对 SSR 标记进行了初筛, 筛选出的标记用于扩增 193 份抗感资源, 结合人工接种 4 号生理小种的抗性鉴定结果分析标记的选择效率, 为分子标记辅助大豆胞囊线虫 4 号生理小种抗病资源提供标记信息。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本研究以本课题组收集的来自国内外的 193 份大豆资源为试验材料, 其中国外资源 12 份, 国内资源 181 份; 其中 12 份为抗病资源, PI437654 (高抗)、赤不流黑豆 (高抗)、兴县灰皮支黑豆 (高抗)、本地黑豆 (高抗)、晋品 78 (高抗)、晋品 79 (高抗)、晋品 80 (高抗)、晋品 82 (高抗)、品豆 3 号 (高抗)、07p (高抗)、应县小黑豆 (中抗)、黑豆 (中抗)。包括小种鉴定鉴别寄主一套 [Pickett、PI548402 (Peking)、

PI88788、PI90763、Lee68]。

大豆胞囊线虫病土采自山西省农业科学院试验基地大豆胞囊线虫病圃,经多年鉴定,该线虫小种是大豆胞囊线虫 4 号生理小种。

1.2 试验设计

2017 年在山西省农业科学院试验基地温室采用人工接种鉴定法对 193 份资源进行大豆抗胞囊线虫 4 号生理小种鉴定。

以筛选出的部分高抗资源和高感资源为材料,扩增 1 000 对 SSR 引物,初筛能够区分抗、感资源的引物。用初筛引物扩增 193 份大豆资源,结合人工接种鉴定结果,筛选抗病选择效率较高的标记,用

于抗病资源筛选。

利用筛选的标记鉴定山西省种质库提供的来自于山西省中北部的 100 份大豆种质资源,对筛选到的抗病资源进行人工接种鉴定验证。

1.3 方法

1.3.1 4 号生理小种人工接种鉴定 大豆资源抗胞囊线虫鉴定试验在温室内进行,温度保持在 25 ~ 30 ℃,含水量控制在 50% ~60%。在资源鉴定的同时,种植一套小种鉴别寄主,采用 Riggs 等<sup>[18]</sup>提出的大豆胞囊线虫生理小种鉴别模式鉴定线虫小种(表 1)。

表 1 大豆胞囊线虫生理小种鉴别模式

Table 1 Race identification system of soybean cyst nematode

鉴别寄主	小种类型 Races															
Host	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Pickett	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
Peking	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+
PI88788	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
PI90763	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+

“+”表示大于等于 Lee 寄生胞囊量的 10% ;“-”表示小于 Lee 寄生胞囊量的 10% 。

‘+’ means more than or equal to 10% of SCN number of Lee; ‘-’ means less than 10% of SCN number of Lee.

将待鉴定的种质在育苗盘中育苗,将出苗后子叶展开、根系发达、健壮一致的植株移栽到装有灭菌沙土的钵钵中,每钵 2 株,每个材料 5 钵;提前在病土中种植感病品种晋豆 11,在胞囊显盛期,将根系上的胞囊冲洗下来,制备成浓度为 500 个·mL<sup>-1</sup> 的卵悬浮液。待鉴定资源在移栽后 3 d 接种卵悬浮液 5 mL;25 ~30 d 后,待感病对照白色胞囊突破根系表皮时即可调查。将待调查植株根系上的土轻轻抖掉或用水冲洗干净、晾干,统计其根上的胞囊数,计算平均胞囊数;根据病情指数(female index, FI)划分抗病等级。FI(%) = (平均胞囊数/Lee68 平均胞囊数) × 100。采用 Schmmitt 等<sup>[19]</sup>提出的分级标准对大豆资源抗、感进行评价,FI < 10 为高抗;10 ≤ FI < 30 为中抗;30 ≤ FI < 60 为中感;FI ≥ 60 为高感。

1.3.2 DNA 提取和检测 取每份资源幼苗的新鲜叶片 100 mg 于 2 mL 离心管中,放入钢珠,液氮冷冻,用高通量组织研磨仪(美国 IKA, A11)打碎叶片,按照植物基因组 DNA 提取试剂盒(天根, DP305)操作指南提取基因组 DNA,加 100 μL ddH<sub>2</sub>O 溶解,1% 琼脂糖凝胶检测 DNA 完整性,紫外分光光计(美国贝克曼, DU800)测定 DNA 浓度, -20 ℃ 冰箱中保存备用。

1.3.3 引物 根据公布的 SSR 标记信息(<http://www.soybase.org/>),在每个连锁群上均匀选择 50 对标记,共 1 000 对标记,在上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.3.4 PCR 扩增及银染 采用 10 μL 反应体系,其中:1 μL 10 × PCR Buffer (20 mmol · L<sup>-1</sup> Mg<sup>2+</sup>), 10 μmol · L<sup>-1</sup> 正、反 SSR 引物各 1 μL, 0.5 μL 2.5 mmol · L<sup>-1</sup> 的 dNTPs, 1 U Taq DNA 酶, 3 μL 10 ng · μL<sup>-1</sup> 模板 DNA, ddH<sub>2</sub>O 补足。反应程序: 94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 45 s, 72 ℃ 延伸 45 s,循环 35 次;最后 72 ℃ 延伸 10 min。PCR 产物用 8% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,银染技术检测,银染后的凝胶扫描保存。并将扩增产物送上海生工生物工程股份有限公司测序,获得片段长度。

2 结果与分析

2.1 大豆胞囊线虫生理小种鉴定

利用人工接种鉴定方法对鉴定寄主 Pickett、Peking、PI88788、PI90763 进行抗病鉴定。根据 Riggs1998 大豆胞囊线虫小种划分依据(表 1),山西省农业科学院农作物品种资源研究所大豆胞囊线虫病圃中的胞囊线虫为 4 号生理小种(表 2)。

表 2 大豆胞囊线虫生理小种鉴定结果

Table 2 Determination of physiological races of soybean cyst nematode

抗性鉴定 Determination	鉴别寄主 Host					生理小种 Race
	Pickett	Peking	PI88788	PI90763	Lee68	
胞囊数 SCN number	93. 8	86. 00	82. 33	64. 17	119	4
反应 Response	+	+	+	+		

“+”表示大于等于 Lee 寄生胞囊量的 10%。  
'+' indicate more than or equal to 10% of SCN number of Lee.

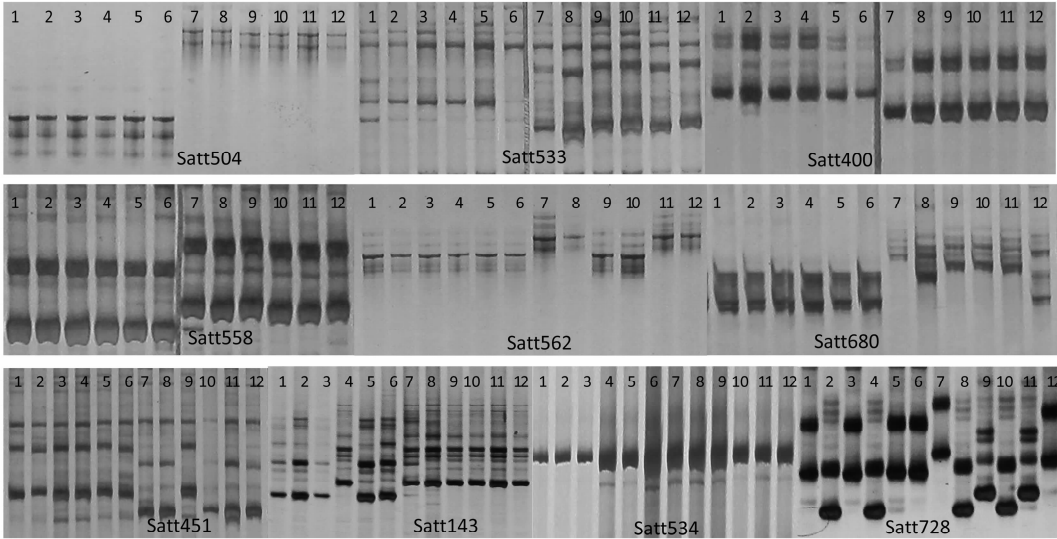
2.2 资源抗病鉴定结果

利用人工接种鉴定方法对大豆资源进行抗病鉴定。以 Lee68 作为对照,计算每份资源的 FI 值。193 份大豆资源的 FI 变化范围是 1.51 ~ 307.98。大多数资源表现为中感和高感,中感资源有 13 份,FI 值为 38.73 ~ 59.86;高感资源有 168 份,FI 值为 63.13 ~ 307.98。只有 12 份资源表现为中抗和高抗,中抗资源有 2 份,FI 值为 13.2 ~ 24.56;高抗资源有 10 份,FI 值为 1.51 ~ 7.52。抗病资源主要来源于山西省。

2.3 大豆胞囊线虫抗病标记初筛

利用 6 个高抗资源 (P1437654、赤不流黑豆、兴县灰皮支黑豆、本地黑豆、品豆 3 号、晋品 78) 和 6 个高感资源 (P190763、晋豆 11 号、Pickett、Peking、Lee68、P188788) 组成抗池和感池,筛选抗、感池间多态性引物。将 1 000 对 SSR 标记在抗、感池间进

行扩增,带型分为 5 种,第一种为抗感池间差异明显,且在各池内带型一致 (Satt504、Satt533、Satt400、Satt558);第二种为在抗感池间有明显差异,且在抗池内带型一致,在感池内带型基本一致,但有个别资源带型与抗池相同 (Satt562、Satt680、Satt451);第三种为在抗感池间有明显差异,且感池内带型一致,抗池内带型基本一致,但有个别条带带型与感池相同 (Satt143);第四种为在抗、感池间无多态性,带型完全一致 (Satt534);第五种为在抗、感池内多态性较高,在抗感池间无明显差异 (Satt728)。在标记辅助选择时,为了不遗漏抗病资源,选择第一种类型标记和第二类型为抗病标记。通过初筛,筛选出 7 对多态性好且稳定的引物,分别为 Satt504、Satt533、Satt400、Satt451、Satt558、Satt562 和 Satt680 (图 1)。



1~6:高抗资源; 7~12:高感资源。  
1-6:High resistant resources; 7-12: High susceptible resources.

图 1 分子标记初筛图

Fig. 1 Screening of molecular marker

2.4 抗病标记验证

利用初筛获得的 7 对标记扩增 193 份大豆资源,发现 Satt400、Satt680、Satt533 和 Satt504 这 4 个标记各自在抗病资源间的带型一致,且抗、感资源

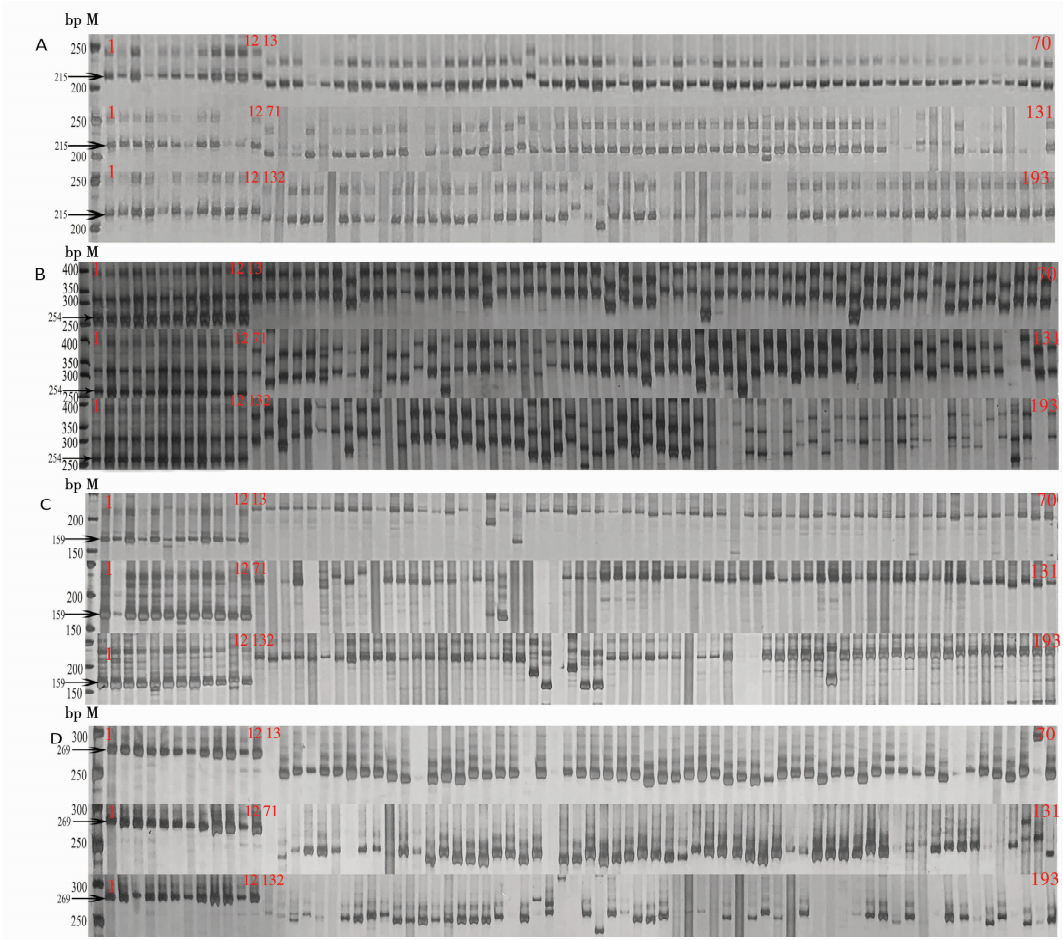
间带型差异明显,少数感病种质带型与抗病种质相同;其它 3 个标记在全部抗病资源间带型不一致,因此,选择 Satt400、Satt680、Satt533 和 Satt504 这 4 个标记作为抗病标记。

标记 Satt400 获得 2 种等位变异扩增产物(图 2A),经测序,DNA 片段长度分别为 205 和 215 bp。当 DNA 片段长度为 215 bp,代表抗病(R),当 DNA 片段长度为 205 bp,代表感病(S)。Satt400 对抗病资源的检出率为 70.58%,对感病资源的检出率为 100%。

标记 Satt680 获得 4 种等位变异扩增产物(图 2B),经测序,DNA 片段长度分别为 254 和 304,310,315 bp。当 DNA 片段长度为 254 bp,代表抗病(R),其余 DNA 片段长度代表感病(S)。Satt680 对抗病资源的检出率为 63.15%,对感病资源的检出率为 100%。

标记 Satt504 获得 5 种等位变异扩增产物(图 2C),当 DNA 片段长度为 159 bp,代表抗病(R);其余 DNA 片段长度代表感病(S)。Satt504 对抗病资源的检出率为 57.14%,对感病资源的检出率为 100%。

标记 Satt533 获得 4 种等位变异扩增产物(图 2D),测序结果表明,DNA 主带片段长度分别为 269,256,260,246 bp。当 DNA 主带片段长度为 269 bp,代表抗病(R),其余长度带型代表感病(S)。Satt533 对抗病资源的检出率为 92.3%,对感病资源的检出率为 100%。



1 ~ 12:抗病资源;13 - 193:感病资源;A ~ D:分别为 Satt400、Satt680、Satt504、Satt533 在抗、感资源中的多态性。  
1-12: Resistant resources; 13-193: Susceptible resources; A-D: Polymorphism of Satt400, Satt680, Satt504 and Satt533 in 193 soybean resources respectively.

图 2 Satt400、Satt680、Satt504 和 Satt533 在抗、感资源中的多态性

Fig. 2 Polymorphism of Satt400,Satt680,Satt504 and Satt533 in 193 soybean resources

上述 4 个标记对感病资源的检出率均达 100%,但对抗病资源的检出率各不相同,最高为 92.3 %。人工接种鉴定结果表明,193 份大豆资源中有 12 份资源抗大豆胞囊线虫 4 号生理小种。结合分子标记结果(表 3),发现 4 个标记在感病资源的带型中至少有 1 个或 1 个以上为感病带型,在抗

病资源中的带型。因此,利用这 4 个标记鉴定抗感资源的标准为,被 1 个或 1 个以上的感病带型检出的资源均为感病资源,当 4 个标记均为抗病带型则为抗病资源。以此为选择标准,12 个抗病资源均被检测出来,4 个标记组合起来的鉴定效率为 100% (表 3)。

表 3 193 份大豆种质资源抗大豆胞囊线虫 4 号生理小种鉴定结果

Table 3 The SCN4 resistance of 193 soybean resources

序号 Code	材料 Germplasm	抗性 Resistance	Satt400	Satt504	Satt533	Satt680	序号 Code	材料 Germplasm	抗性 Resistance	Satt400	Satt504	Satt533	Satt680
1	品豆 3 号	高抗	R	R	R	R	40	科豆 31	高感	S	S	S	S
2	07p	高抗	R	R	R	R	41	淮豆 31	高感	S	S	S	S
3	应县小黑豆	中抗	R	R	R	R	42	中黄 320	高感	S	S	S	S
4	PI437654	高抗	R	R	R	R	43	商豆 6 号	高感	S	S	S	S
5	赤不流黑豆	高抗	R	R	R	R	44	商豆 14	高感	S	S	S	S
6	兴县灰皮支黑豆	高抗	R	R	R	R	45	周豆 17	高感	S	S	S	S
7	黑豆	中抗	R	R	R	R	46	辽豆 26	高感	S	S	S	R
8	晋品 78	高抗	R	R	R	R	47	辽豆 30	高感	S	S	S	S
9	晋品 79	高抗	R	R	R	R	48	辽豆 24	高感	S	S	S	S
10	晋品 80	高抗	R	R	R	R	49	Z13 – 2135 – 3	高感	S	S	S	S
11	晋品 82	高抗	R	R	R	R	50	小粒青豆	高感	S	S	S	S
12	本地黑豆	高抗	R	R	R	R	51	小黄豆	高感	S	S	S	S
13	晋遗 30	高感	–	S	–	S	52	四角齐黑豆	高感	S	S	S	S
14	晋豆 39	中感	S	S	S	S	53	八月忙	高感	S	S	S	S
15	中品 661	高感	S	S	S	S	54	天隆一号	高感	S	S	S	S
16	齐黄 35	高感	S	S	S	S	55	豫豆 11	高感	S	S	S	S
17	齐黄 39	高感	S	S	S	S	56	乐亭小黑豆	高感	S	S	S	S
18	齐黄 42	高感	S	S	S	S	57	Nathan	高感	S	S	S	R
19	中黄 68	高感	S	S	S	S	58	淮阴青大豆	高感	S	S	S	S
20	安豆 1498	高感	S	S	S	S	59	黑豆	高感	S	S	S	S
21	Z11 – 211 – 1	高感	S	–	S	S	60	平顶黄黑豆	高感	S	S	S	S
22	Z11 – 256	高感	S	S	S	S	61	徐豆 23	中感	S	S	S	S
23	晋遗 35	高感	S	S	S	S	62	6221 – 15	高感	S	S	S	S
24	中黄 79	高感	S	S	–	S	63	Athow	高感	S	S	S	S
25	中 17	高感	S	S	S	S	64	皖豆 33	高感	S	–	S	S
26	晋豆 47	高感	S	S	S	S	65	Z11 – 78 – 1	高感	S	S	S	S
27	晋豆 7 号	高感	S	S	S	S	66	大黑豆	高感	S	S	S	S
28	晋遗 52	高感	S	S	S	S	67	泗豆 288	感	S	S	S	S
29	晋科 2 号	高感	S	S	S	S	68	Benning	高感	S	S	S	S
30	垒垒豆	高感	S	S	S	S	69	7537 – 1	高感	S	S	S	S
31	中黄 13	高感	S	S	S	S	70	郸县红毛油	高感	S	S	S	S
32	大黑豆(2)	高感	R	R	–	S	71	商丘大籽黑豆	感	S	S	S	S
33	TN1	高感	S	S	S	S	72	晋豆 11	高感	S	S	–	S
34	汾豆 92	高感	S	S	–	S	73	Pickett	高感	–	–	S	S
35	齐黄 36	高感	S	S	S	S	74	Peking	高感	S	S	S	S
36	冀豆 17	高感	S	S	S	S	75	Lee68	高感	S	S	S	S
37	晋大 78	高感	S	S	S	S	76	PI88788	高感	S	–	S	S
38	郑 15254	高感	S	S	S	S	77	PI90763	高感	S	S	S	S
39	石 773	高感	S	S	S	R	78	PI209332	高感	S	S	–	S

续表 3

序号	材料	抗性	Satt400	Satt504	Satt533	Satt680	序号	材料	抗性	Satt400	Satt504	Satt533	Satt680
Code	Germplasm	Resistance					Code	Germplasm	Resistance				
79	PI89772	高感	S	S	S	S	119	垦鉴豆 4 号	高感	S	S	–	S
80	PI548316	高感	S	S	S	S	120	垦农 11	高感	S	S	S	S
81	郑 95701	高感	S	–	–	S	121	龙小粒豆	高感	–	S	S	S
82	郑 9805	高感	S	S	S	S	122	绥农 17	高感	R	S	S	S
83	晋品 42	高感	–	S	S	S	123	延农 11	高感	R	S	S	S
84	邯豆 5 号	高感	S	S	S	S	124	延农 8 号	高感	–	S	S	S
85	中黄 37	高感	S	S	S	S	125	吉育 47	高感	S	S	S	S
86	晋早 16	高感	S	S	S	R	126	吉育 53	高感	S	S	S	S
87	7203 – 3	高感	–	S	S	S	127	平安豆 7 号	高感	S	S	S	S
88	晋豆 19	高感	S	S	S	S	128	开育 11	高感	S	S	S	R
89	Hobbit 87	高感	S	S	S	S	129	晋豆 24	高感	S	S	S	S
90	晋豆 28	高感	S	R	S	S	130	鲁黄 1 号	高感	–	R	S	S
91	晋豆 27	高感	R	R	S	S	131	富豆 16	高感	S	S	S	S
92	晋豆 20	高感	S	–	S	S	132	圣豆 9 号	高感	S	–	S	S
93	中作 966	高感	S	–	–	S	133	郑 7051	高感	S	S	S	S
94	晋遗 36	高感	S	–	S	S	134	晋品 15	高感	S	R	S	S
95	邯豆 3 号	高感	S	–	S	S	135	立地豆 1 号	中感	S	R	S	S
96	沧豆 10 号	高感	S	S	S	S	136	郑 1311	中感	S	S	S	S
97	中作 J1053	高感	S	S	S	S	137	周豆 23	高感	–	S	S	S
98	中黄 17	高感	S	S	S	S	138	郑 D045	中感	–	S	S	S
99	AMSOY	高感	S	S	S	S	139	濮豆 206	高感	S	S	S	S
100	中作 J1018	高感	S	S	S	S	140	汾豆 78	高感	–	S	S	S
101	荷豆 18	高感	S	S	S	S	141	汾豆 93	高感	–	S	S	S
102	山宁 15	高感	S	S	S	S	142	汾绿肥豆 2 号	高感	S	S	S	S
103	秦豆 13	高感	S	S	S	S	143	吉育 105	高感	S	S	S	S
104	科新 3 号	高感	S	S	S	S	144	黑河 44	高感	S	S	S	S
105	遗 75 – 14	高感	S	S	S	R	145	黑科 56	高感	S	S	S	S
106	中黄 48	高感	S	S	S	S	146	吉育 108	中感	S	S	S	S
107	黄大粒	高感	S	S	S	S	147	吉育 101	高感	S	S	S	S
108	晋豆 26	高感	S	S	S	R	148	克 c14 – 752	高感	S	S	S	S
109	长农 18	高感	S	S	S	S	149	克 09 – 95	高感	–	S	S	S
110	早熟 18	高感	S	S	S	S	150	1474	中感	S	S	S	S
111	晋豆 15	高感	S	S	S	S	151	1618	高感	S	S	–	S
112	东农 57	高感	S	S	S	S	152	2020	高感	S	S	S	S
113	绥无腥豆 2 号	高感	S	S	S	S	153	BB52	高感	S	S	R	S
114	吉豆 4 号	高感	S	S	S	S	154	ZYD02356	中感	S	R	S	S
115	航丰 2 号	高感	S	S	S	S	155	ZYD03174	中感	S	–	S	S
116	开豆 16	高感	S	S	S	S	156	ZYD00599	高感	S	S	–	S
117	沈农 9 号	高感	S	S	S	S	157	ZYD06143	高感	R	R	S	S
118	登科 1 号	高感	S	S	S	S	158	ZYD01639	中感	S	R	–	S



续表 3

序号 Code	材料 Germplasm	抗性 Resistance	Satt400	Satt504	Satt533	Satt680
159	中黄 68	高感	-	S	S	S
160	Z11-78-1	高感	S	S	S	S
161	Z11-8-1	高感	-	S	S	S
162	Z13-633-1	高感	S	S	S	S
163	中科毛豆 2 号	中感	S	S	S	S
164	GB8836	高感	-	S	-	S
165	中品 662	高感	S	-	-	S
166	冀豆 12	高感	S	S	S	S
167	冀豆 22	高感	S	S	-	-
168	辽 051s-16-2	高感	S	S	S	-
169	南黑豆	高感	S	S	-	S
170	通春 12-4	高感	S	S	S	S
171	铁 04-022-12	高感	S	S	S	S
172	辽 04Q088-1	高感	S	S	S	S
173	成 02-5-1124	高感	S	S	-	S
174	K 丰 26-2	高感	S	S	S	-
175	水里站	高感	S	S	-	S
176	羊眼睛豆	高感	S	R	-	S

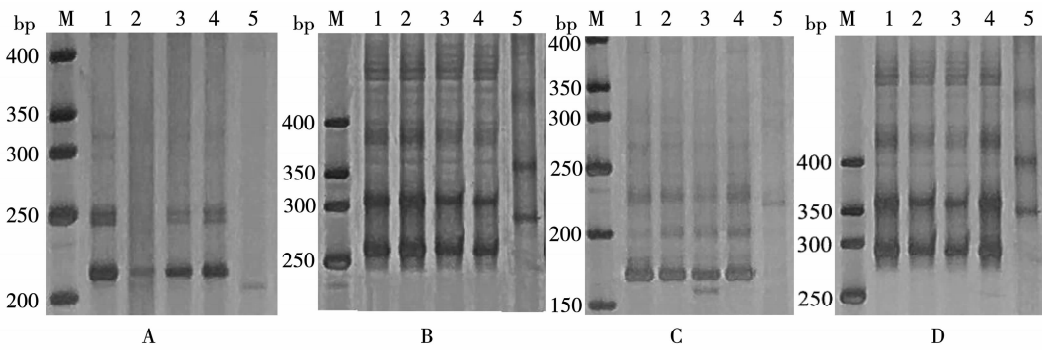
序号 Code	材料 Germplasm	抗性 Resistance	Satt400	Satt504	Satt533	Satt680
177	青皮顶香	高感	S	S	-	S
178	合引一号	高感	S	S	S	S
179	合引二号	高感	S	S	S	S
180	豫豆 12	高感	S	S	S	S
181	鲁豆 8 号	高感	S	S	S	S
182	铁秆一号	高感	S	S	S	S
183	文丰 1 号	高感	S	S	S	S
184	予豆一号	高感	S	S	-	S
185	晋豆 22	高感	S	S	S	S
186	科新 5 号	高感	S	S	S	S
187	辽豆 14	高感	S	S	S	S
188	铁丰 31	高感	S	S	S	S
189	黄矮丰	高感	S	S	S	S
190	北豆 54	高感	S	S	-	S
191	龙黄 3 号	高感	S	S	S	S
192	黑农 70	高感	S	S	S	-
193	庆豆 13	高感	S	S	S	S

R:抗病带型;S:感病带型。  
R:Resistant allele; S: Susceptible allele.

2.5 山西省大豆抗病资源鉴定

利用已筛选到的 4 个抗病标记对山西省种质库提供的来源于山西省中北部的 100 份资源进行鉴定,以 Lee68 为感病对照,发现有 4 份资源[黑豆(山西五寨)、小颖黑(山西霍县)、晋 1265(茶)(山西太原)和大黑豆(山西代县)]4 个标记的扩增结果均

为抗病带型(图 3),因此,认为这 4 份资源为大豆胞囊线虫 4 号生理小种抗病资源。将这 4 份资源进行人工接种鉴定验证,结果表明(表 4),黑豆、小颖黑和晋 1265(茶)的病情指数分别为 8.95、7.58 和 1.38,抗性级别均为高抗;大黑豆的病情指数为 13.69,抗性级别为中抗。



A ~ D:分别为 Satt400、Satt680、Satt504 和 Satt533 的扩增结果;1 ~ 5 分别为黑豆、小颖黑、晋 1265、大黑豆、Lee。  
A-D:The PCR results of Satt400、Satt680、Satt504 and Satt533, respectively;1-5:Heidou, Xiaokehei, Jin 1265, Daheidou and Lee, respectively.

图 3 4 份抗病资源的 PCR 扩增结果  
Fig.3 The PCR results of 4 resistant resources



表 4 4 份资源的人工接种大豆胞囊线虫 4 号生理小种抗病鉴定结果

Table 4 The SCN 4 resistance results of 4 resources by inoculation				
资源 Resource	黑豆 Heidou	小颍黑 Xiaokehei	晋 1265 Jin1265	大黑豆 Daheidou
病情指数 FI	8. 95	7. 58	1. 38	13. 69
抗性级别 Resistance	高抗	高抗	高抗	中抗

3 讨 论

利用分子标记辅助选择抗大豆胞囊线虫资源,尤其是利用功能标记进行资源鉴定,可提高大豆抗胞囊线虫鉴定效率。但关于 4 号生理小种的分子标记筛选报道鲜少,蒙忻等<sup>[20]</sup>在胞囊线虫 4 号生理小种抗病 QTL 定位区段附近筛选到抗病 SSR 标记 Satt610 和 Sat-162,利用该标记扩增 41 份大豆资源,发现 7 份抗源的带型一致,且明显区别于感病资源带型,但感病资源中有个别材料的带型与抗源相同,该结果没有在更多大豆抗感资源间验证。本研究将这两个标记扩增所有供试胞囊线虫 4 号生理小种抗源,发现这两个标记在所有抗源间的带型并不一致,因此,这两个标记不完全适合作为胞囊线虫 4 号生理小种抗病分子标记。本研究从1 000对 SSR 标记中筛选出 4 对标记,通过扩增 193 份大豆资源,结合人工接种鉴定结果,发现这 4 个标记可初步区分抗感资源,对抗源的检出率为 57. 14% ~ 92. 3%,将这 4 个标记组合起来应用鉴定效率可提高达 100%。利用该标记组合从山西大豆资源中鉴定出 4 份抗源。因此,该标记组合可有效鉴定大豆资源对大豆胞囊线虫 4 号生理小种的抗感特性。

选择哪种类型的标记用于标记辅助选择关系到抗病资源的检出率和后期鉴定量的多少。选择标记时首先选择在抗感池间有明显差异且在抗感池内带型基本一致的标记才有意义。此类情况有两种:第一种为抗池内带型一致,在感池内有个别资源带型与抗池相同,选择这种类型的标记,检出的感病资源全部为感病,但检出抗病资源中混有感病资源。选用这种标记将需要对检出的抗病资源进行病土鉴定或人工接种鉴定,以便区分抗感资源,其优点是能将所有抗病资源全部选择;第二种为感池内带型一致,抗池内有个别资源带型与感池相同,利用此类标记选出的抗病资源为抗病,感病

资源中混有个别抗病资源。选用这种标记,将不必要对检出的抗病资源进行重复鉴定,减少了工作量,但可能丢失抗病资源。为了不遗漏抗病资源,本研究选择第一种标记为抗病标记。

大豆胞囊线虫是受多基因调控的数量性状<sup>[21-25]</sup>,因此,即使是利用功能基因开发的标记鉴定效率也不会达到 100%。如史学晖等<sup>[14-15,17]</sup>利用功能基因 *rhg4* 和 *rhg1* 开发的分子标记对抗病资源的鉴定效率均未达到 100%。而将标记组合起来用于鉴定,可提高鉴定效率,甚至达到 100%。如张彦威等<sup>[7]</sup>、南海洋等<sup>[8]</sup>和马岩松等<sup>[9]</sup>均报道两个标记的组合鉴定效率均高于单标记效率。本研究得出的结论与前人一致,筛选出的 4 个 SSR 标记的检出效率为 57. 14% ~ 92. 3%,将标记组合起来提高了抗病鉴定效率,达 100%。在大豆百粒重分子标记筛选方面也得出了相似的结论<sup>[26]</sup>。

目前发现的调控大豆胞囊线虫的抗性 QTL 有 200 多个<sup>[17]</sup>,其中大约有 1/3 的 QTL 在 G 连锁群,在 G 连锁群上有近 60 个 QTL 集中在该连锁群遗传位置 0 ~ 10 cM (<https://www.soybase.org/>)。本研究筛选的 SSR 标记 Satt533 (G, 56. 52 cM)、Satt504 (G, 59. 83 cM) 和 Satt400 (G, 63. 28 cM) 所在处只有 1 个抗 SCN QTL (G, 56. 52 ~ 69. 87 cM),是从 PI464925B 中研究发现的,控制对大豆胞囊线虫 3 号生理小种的抗性<sup>[27]</sup>,该区域包含了本研究筛选出上述 3 个标记,且 Satt533 为该 QTL 的边界标记之一。已有的研究表明 Satt504 是控制大豆蛋白灌浆速率和开花时间 QTL 的边界标记之一<sup>[28-30]</sup>。Satt400 尚无功能研究报道。这 3 个标记是否与控制 4 号生理小种的基因紧密连锁、其所在的抗 3 号生理小种的 QTL 是否能调控 4 号生理小种的抗性,还需进一步研究。

目前在 M 连锁群上发现了 3 个与胞囊线虫抗性相关的 QTL (<https://www.soybase.org/>),分别是在 PI437654 (M, 18. 00 ~ 26. 00 cM)、PI438489B (M, 0. 96 ~ 18. 09 cM) 和 Hartwig (M, 95. 44 ~ 107. 69 cM),均为调控 3 号生理小种的抗性<sup>[31-33]</sup>。本研究筛选出的 Satt680 也在 M 连锁群上,与上述 3 个 QTL 距离较远,遗传位置为 77. 19 cM。且已有研究表明,该标记是调控大豆异黄酮、大豆硬脂酸 QTL 边界标记<sup>[34-35]</sup>,该标记是否是调控胞囊线虫 4 号生理小种基因紧密连锁或所在 QTL 是否抗 4 号生理小种,需下一步研究。

## 4 结 论

本研究以 193 份大豆抗感资源为材料,利用人工接种鉴定和分子标记鉴定相结合的方法,筛选到 4 个 SSR 标记, Satt400、Satt680、Satt533 和 Satt504,组合起来可鉴定大豆对胞囊线虫 4 号生理小种的抗性。利用该标记组合对来自于山西省的 100 份资源进行鉴定,发现 4 份抗病资源,经人工接种验证,该标记组合的鉴定效率达 100%。因此,该标记组合可用于大豆资源抗胞囊线虫 4 号生理小种的分子标记辅助选择。

## 参考文献

[1] 孙漫红, 刘杏忠, 缪作清. 大豆胞囊线虫病生物防治研究进展[J]. 中国生物防治, 2000, 16(3): 136-141. (Sun M H, Liu X Z, Miu Z Q. Biological control of soybean cyst nematode[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2000, 16(3): 136-141. )

[2] Li Y H, Qi X T, Chang R Z, et al. Evaluation and utilization of soybean germplasm for resistance to cyst nematode in China[A]. Sudaric A. Soybean-molecular aspects of breeding[C]. Croatia: InTech, 2011:373-396.

[3] 练云, 王金社, 李海潮, 等. 黄淮大豆主产区大豆胞囊线虫生理小种分布调查[J]. 作物学报, 2016, 42(10): 1479-1486. (Lian Y, Wang J S, Li H C, et al. Race distribution of soybean cyst nematode in the main soybean producing area of Huang-Huai rivers valley[J]. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(10): 1479-1486. )

[4] 邱丽娟, 常汝镇, 王文辉, 等. 大豆抗胞囊线虫病种质 *rhg1* 和 *Rhg4* 位点的单核苷酸多态性(SNPs)[J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(2): 89-93. (Qiu L J, Chang R Z, Wang W H, et al. Single nucleotide polymorphism (SNPs) at both loci of *rhg1* and *Rhg4* in soybean resistant germplasm[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2003, 4(2): 89-93. )

[5] 王惠, 于佰双, 段玉玺, 等. 大豆胞囊线虫抗性基因的 SSR 标记研究[J]. 大豆科学, 2007, 26(2): 204-212. (Wang H, Yu B S, Duan Y X, et al. A sensitive molecular marker SSR associated with resistant gene to *Heterodera Glycines*[J]. Soybean Science, 2007, 26(2): 204-212. )

[6] Cook D E, Lee T G, Guo X, et al. Copy number variation of multiple genes at *Rhg1* mediates nematode resistance in soybean[J]. Science, 2012, 338: 1206-1209.

[7] Liu S M, Kandoth P K, Warren S D E, et al. A soybean cyst nematode resistance gene points to a new mechanism of plant resistance to pathogens[J]. Nature, 2012, 492(7428): 256-260.

[8] Cregan P B, Mudge J, Fickus E W, et al. Two simple sequence repeat markers to select for soybean cyst nematode resistance conditioned by the *rhg1* locus[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99: 811-818.

[9] 王文辉, 邱丽娟, 常汝镇, 等. 中国大豆种质抗 SCN 基因

*rhg1* 位点 SSR 标记等位变异特点分析[J]. 大豆科学, 2003, 22(4): 246-250. (Wang W H, Qiu L J, Chang R Z, et al. Characteristics of alleles at Satt309 locus associated with *rhg1* gene resistant to SCN of Chinese soybean germplasm[J]. Soybean Science, 2003, 22(4): 246-250. )

[10] 张彦威, 李伟, 郭军贤, 等. 大豆种质对胞囊线虫 1 号生理小种抗性的 SSR 标记辅助鉴定[J]. 山东农业科学, 2015, 47(5): 86-88. (Zhang Y W, Li W, Guo J X, et al. SSR marker assisted identification on resistance of soybean cultivars to soybean cyst nematode race 1[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2015, 47(5): 86-88. )

[11] 南海洋, 李英慧, 常汝镇, 等. 基于大豆胞囊线虫病抗性候选基因 *rhg1* 的 InDel 标记开发与鉴定[J]. 作物学报, 2009, 35(7): 1236-1243. (Nan H Y, Li Y H, Chang R Z, et al. Development and identification of InDel markers based on *rhg1* gene for resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) [J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35(7): 1236-1243. )

[12] 马岩松, 刘鑫磊, 栾晓燕, 等. 大豆胞囊线虫病抗性基因相关分子标记对杂交后代抗性的鉴定效率[J]. 大豆科学, 2014, 33(20): 173-178. (Ma Y S, Liu X L, Luan X Y, et al. Identification efficiency about resistance to soybean cyst nematode with relative molecular markers in hybrid progeny[J]. Soybean Science, 2014, 33(20): 173-178. )

[13] Li Y H, Zhang C, Gao Z, et al. Development of SNP markers and haplotype analysis of the candidate gene for *rhg1*, which confers resistance to soybean cyst nematode in soybean[J]. Molecular Breeding, 2009, 24(1): 63-76.

[14] 史学晖, 李英慧, 于佰双, 等. 大豆胞囊线虫主效抗病基因 *Rhg4* (*GmSHMT*) 的 CAPS/dCAPS 标记开发和利用[J]. 作物学报, 2015, 41(10): 1463-1471. (Shi X H, Li Y H, Yu B S, et al. Development and utilization of CAPS/dCAPS markers based on the SNPs lying in soybean cyst nematode resistant genes *Rhg4* [J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(10): 1463-1471. )

[15] Shi Z, Liu S M, Noe J, et al. SNP identification and marker assay development for high-throughput selection of soybean cyst nematode resistance[J]. BMC Genomics, 2015, 16: 314-326.

[16] Li Y H, Shi X H, Li H H, et al. Dissecting the genetic basis of resistance to soybean cyst nematode combining linkage and association mapping[J]. The Plant Genome, 2016, 9(2). DOI:10.3835/plantgenome.2015.3804.0020.

[17] 田宇, 杨蕾, 李英慧, 等. 抗大豆胞囊线虫 *SCN3-11* 位点的 KASP 标记开发和利用[J]. 作物学报, 2018, 44(11): 1600-1611. (Tian Y, Yang L, Li Y H, et al. Development and utilization of KASP marker for *SCN3-11* locus resistant to soybean cyst nematode [J]. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(11): 1600-1611. )

[18] Riggs R D, Schmitt D P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 1988, 20(3): 392.

[19] Schmitt D P, Shannon G. Differentiating soybean responses to *Heterodera glycines* races[J]. Crop Science, 1992, 32: 275-277.

- [20] 蒙忻, 刘学义, 方宣钧. 利用大豆分子连锁图定位大豆胞囊线虫 4 号生理小种抗性 QTL [J]. 分子植物育种, 2003, 1(1): 6-21. (Meng X, Liu X Y, Fang X J. QTL mapping genes conferring resistance to race 4 of soybean cyst nematode in soybean ZDD2315 [*Glycine max* (L.) Merr.] based on public molecular genetic linkage map[J]. Molecular Plant Breeding, 2003, 1(1): 6-21. )
- [21] Anand S C, Arellin A P. Genetic analyses of soybean genotypes resistant to soybean cyst nematode race 5 [J]. Crop Science, 1989, 29(5): 1181-1184.
- [22] Concibido V C, Diers B W, Arellip R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean [J]. Crop Science, 2004, 44(4): 1121-1131.
- [23] Concibido V C, Lange D A, Denny R L. Genome mapping of soybean cyst nematode resistance genes in ‘Peking’, PI 90763 and PI 88788 using DNA markers [J]. Crop Science, 1997, 37(1): 258-264.
- [24] Vuong T D, Sleper D A, Shannon J G, et al. Novel quantitative trait loci for broad-based resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) in soybean PI 567516C [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 121(7): 1253-1266.
- [25] Masonbrink R, Maier T R, Muppirala U, et al. The genome of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) reveals complex patterns of duplications involved in the evolution of parasitism genes [J]. BMC Genomics, 2019, 20: 119.
- [26] 任海红, 刘学义, 朱保葛, 等. 大豆百粒重相关分子标记的实用性分析与验证 [J]. 分子植物育种, 2014, 12(1): 69-73. (Ren H H, Liu X Y, Zhu B G, et al. Practical analysis & verification of molecular marker of weight of 100-seed in soybean [J]. Molecular Plant Breeding, 2014, 12(1): 69-73. )
- [27] Winter S M J, Shelp B J, Anderson T R, et al. QTL associated with horizontal resistance to soybean cyst nematode in *Glycine soja* PI 464925B [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114(3): 461-472.
- [28] Jiang Z F, Han Y P, Teng W L, et al. Identification of QTL underlying the filling rate of protein at different developmental stages of soybean seed [J]. Euphytica, 2010, 175(2): 227-236.
- [29] Yamanaka N, Ninomiya S, Hoshi M, et al. An informative linkage map of soybean reveals QTLs for flowering time, leaflet morphology and regions of segregation distortion [J]. DNA Research, 2001, 2(8): 61-72.
- [30] Tasma I M, Lorenzen L L, Green D E, et al. Mapping genetic loci for flowering time, maturity, and photoperiod insensitivity in soybean [J]. Molecular Breeding, 2001, 8(1): 25-35.
- [31] Webb D M, Baltazar B M, Arelli P R, et al. Genetic mapping of soybean cyst nematode race-3 resistance loci in the soybean PI 437654 [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 91(4): 574- 81.
- [32] Abdelmajid K, Ramos L, Hyten D, et al. Quantitative trait loci (QTL) that underlie SCN resistance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] PI 438489B by Hamilton recombinant inbred line (RIL) population [J]. Atlas Journal of Plant Biology, 2014, 1(3): 29-38.
- [33] Ferreira M, Cervigni G, Ferreira A, et al. QTL for resistance to soybean cyst nematode races 3, 9, and 14 in cultivar Hartwig [J]. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 2011, 46(4): 420-428.
- [34] Li X H, Kamala S, Tian R, et al. Identification and validation of quantitative trait loci controlling seed isoflavone content across multiple environments and backgrounds in soybean [J]. Molecular Breeding, 2018, 38: 8-22.
- [35] Fan S X, Li B, Yu F K, et al. Analysis of additive and epistatic quantitative trait loci underlying fatty acid concentrations in soybean seeds across multiple environments [J]. Euphytica, 2015, 206(3): 689-700.