

大豆胞囊线虫生理小种及其 SSR 标记研究进展

刘冰,李肖白,马兰,陈井生,于吉东,潘红丽,张俊杰

(黑龙江省农业科学院 大庆分院,黑龙江 大庆 163316)

摘要:大豆胞囊线虫病(*Heterodera glycines* Ichinohe)是世界上大豆生产的毁灭性病害之一。胞囊线虫本身具有异质性存在生理分化,因此该病极难控制;选育抗病品种是控制该病害最有效的措施,而 SSR 标记是分子辅助选育抗胞囊线虫新品种选育和抗性鉴定的重要手段之一。通过概述大豆胞囊线虫各生理小种在我国分布情况、变化趋势,简要介绍了 SSR 的原理和方法,及其 SSR 标记对大豆抗胞囊线虫病的研究进展。

关键词:大豆胞囊线虫病;生理小种;SSR 标记

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)08-0139-03

大豆胞囊线虫病(SCN)是大豆生产中的主要病害之一,目前已经在世界上数十个大豆生产国发现了此病。生物学研究表明:该病具有分布广、危害重、传播途径多等特点,其形成的胞囊具有极强的生活力和广泛的适应性,直接危害大豆生产。大豆对胞囊线虫病的抗性受数量性状控制,采用传统育种手段进行抗病研究周期长、进度慢^[1]。近年来,分子生物学的发展为大豆抗胞囊线虫研究开辟了新途径。

1 对大豆胞囊线虫生理小种的研究

由于致病能力的不同,大豆胞囊线虫存在多个生理小种。大豆胞囊线虫生理小种是由美国的 Golden 等^[2]于 1970 年首次提出的,他根据大豆胞囊线虫在 5 个鉴别寄主(Lee68, Peking, Pickett, PI88788, PI90763)上繁殖能力的不同,首先鉴定出 1 号、2 号、3 号和 4 号生理小种。1988 年,美国 Riggs 和 Schmitt 在此基础上,对各生理小种进行了划分,分为 16 个生理小种^[3]。目前,除 11 号、12 号、13 号小种外,其它生理小种均已发现。在我国,刘维志等于 1984 年首先在东北地区发现 1 号和 3 号小种^[4]。随后,陈品三等于 1987 年在山东半岛的胶县、潍坊市和河南开封发现了 7 号小种^[5]。刘汉起等对黑龙江省 65 个市、县生理小种鉴定,明确黑龙江省以 3 号小种为优势小种,同时存在 6 号、7 号小种,辽宁则以 1 号和 3 号小种为主,山东主要有 1、2、4 号小种,黄淮海其它地区以 4 号小种为优势小种,同时存在 1 号、2 号、5 号、7 号小种^[6]。马书君 1996 年对黑

龙江省发病严重的安达地区进行小种动态监测,指出安达地区仍以 3 号生理小种为优势小种,在连年种植抗病品种的选择压力下,又增加了 1 号小种^[7]。李云辉等于 1998 年对安达地区生理小种重新鉴定,指出安达地区已经从原来的 3 号优势小种变异为 3 号和 14 号生理小种并存,在我国首次报道 14 号生理小种^[8]。

近年来,由于选取的发病地块不同,采用鉴定方法不一致,胞囊线虫生理小种的鉴定结果存在差异。2001 年陈品三等针对发病较为严重的黑龙江省安达和绥化地区以及山东省的东营和胶州地区生理小种检测,安达地区由原来的 3 号小种演化为 1 号和 3 号小种;绥化地区由原来的 3 号小种演化为 1 号、3 号、6 号小种;东营地区由原来的 5 号小种演化为 1 号和 5 号小种;胶州地区由原来的 7 号小种演化为 1 号小种^[9]。2009 年于佰双等在盆栽条件下,强迫 3 号小种在抗病品种上选择 10 代,鉴定小种类型,通过在抗线 1 号、2 号、3 号、4 号、5 号选择,演化为 6 号小种;在灰皮支上选择,演化为 10 号小种;在 Peking 选择,演化为 14 号小种;在哈尔滨小黑豆选择,演化为 15 号小种^[10]。

2 SSR 标记在大豆抗胞囊线虫病中的应用

SSR(Single sequence repeats),又被称为微卫星 DNA、短串联重复或简单重复序列,是在 PCR 基础上发展起来的第二代分子标记技术,以一类 1~6 个核苷酸为重复单位组成的长达几十个核苷酸的串联序列。SSR 标记多态性高、重复性好、操作简单,且均匀、随即、广泛地分布于大豆基因组中,是目前大豆研究中应用最为广泛、最为重要的分子标记。据报道,大豆上现已定名的

收稿日期:2011-04-01

第一作者简介:刘冰(1983-),男,黑龙江省绥化市人,学士,研究实习生,从事大豆遗传育种研究。E-mail:Luibing528@163.com。

SSR 标记共有 900 多个,其中约有 450 个已经定位于大豆连锁群上^[11]。

胞囊线虫病的抗性是大豆中第一个应用分子标记进行选择的性状^[12]。SSR 分子标记子可用于大豆胞囊线虫不同生理小种抗性基因的定位。寻找与大豆胞囊线虫抗性基因紧密连锁的 SSR 分子标记,多采用 BSA 法(Bulked Segregates Analys,分离群体分组分析法)。具体方法是将 F₂ 群体根据目标基因分为两大类群(抗病和感病),每个群体的目的基因的表型是一致的(抗病群体和感病群体),所以扩增出的片段在 2 个群体间是不同的,群体内个体之间扩增出相同的扩增产物即是 SSR 标记。

Mudge 等^[13]首先报道了在连锁群 G 主效 SCN 抗性位点 rhg1 两端的分子标记 Satt038 和 Satt130。

方宣钧等^[9]利用高抗 SCN 品种应县小黑豆和感病品种晋豆 23 杂交,以 F₂ 群体为材料,用 BSA 法进行 SSR 标记,在分子连锁群 G 上的 rhg1 基因组区域筛选出 Satt038 标记,与抗胞囊线虫 4 号生理小种基因连锁。蒙析等^[14]利用 SSR 分子标记,获得了 8 个与 4 号生理小种抗性基因相关的标记: Satt038、Satt309、Satt610、Sat141、Satt187、Satt315、Satt632 和 Sat_162。其中的 Satt610 和 Sat_162 标记可用于抗病性状的辅助鉴定。

这些都与 Mudge 等人的研究结果相同。另外,卢为国等在 H 和 L 连锁群上也发现了抗 4 号生理小种的 QTL^[15],并将抗 1 号生理小种的基因定位于 G 和 D2 连锁群上。

王惠等^[16]用抗病小粒黑豆和感病辽豆 10 杂交,筛选出 Satt187 与 3 号生理小种抗性基因紧密连锁。杨柳等^[17]利用高感品种合丰 25 和抗病品种抗线 2 号进行,通过对杂交 F₂ 群体的研究,对 3 号生理小种的抗性进行标记,标记区间 Satt163-Satt309 与 Satt309 的遗传距离是 7.2 cm。

目前关于大豆 SCN 抗性的 SSR 标记报道有很多,但由于使用的亲本遗传背景不一致,针对生理小种类型不同,所得标记位点也不尽相同。较公认的观点是:抗性基因与定位在连锁群 G 上的 Rhg1 和连锁群 A2 上的 Rhg4 有关^[18],其中 rhg1 控制着与抗性相关的 50% 以上的变化^[12]。与 rhg1 紧密连锁的 Satt309 已应用于标记辅助选择^[16]。此外,Satt610、Satt038、Satt130 等标记可用于大豆胞囊线虫抗病性状的辅助鉴定。

3 讨论

应用抗线虫品种是防治大豆胞囊线虫病最经济有效的措施^[8],而应用抗病品种的前提是明确生理小种类型。目前,各生理小种在我国的分布比较分散,已发现的小种有 1、2、3、4、5、6、7 和 14 号 8 个小种^[2]。在全国范围内,3 号和 4 号小种的发生最为普遍,表明我国大豆胞囊线虫生理小种的分化以稳为主,稳中有变。近年来,大豆品种推广速度的加快,导致大豆病害生理小种和病毒株系变化加快。因此,掌握优势生理小种类型及其变化趋势,对指导抗大豆胞囊线虫病育种,减轻病害造成的损失具有重要意义。

应用 SSR 标记的多态性可以用于大豆种质的鉴别,区分不同大豆品种对胞囊线虫病的抗性。在进行抗胞囊线虫育种时为保证结果的准确性和可靠性需将分子标记与传统鉴别寄主鉴定方法相结合。通过 SSR 标记获得与抗病基因连锁的标记结果已经开始应用于育种实践,直接指导品种选育和抗病性鉴定工作,已经得到了与大豆胞囊线虫病、3 号及 4 号生理小种抗性基因紧密连锁的标记。利用已得到的标记结果,直接鉴定大豆种质资源抗病性、抗原筛选、辅助杂交组合后代材料的选择,缩短育种进程,提高育种效率,在大豆抗胞囊线虫育种工作中表现出其独特的优越性。随着更多的与大豆胞囊线虫抗性基因紧密连锁的 SSR 标记的出现,为今后开展抗病基因定位克隆提供了保证,对于进一步加速获取抗性基因的进程具有重要的意义。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 陈井生,李肖白,李泽宇,等.大豆胞囊线虫生理分化与致病性变异研究进展[J].中国农学通报,2010,26(12):261-265.
- [3] Riggs R D, Schmitt D P. Complete characterization of the scheme for *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 1988, 20(3):392-395.
- [4] 刘维志,刘晔,陈品三.东北地区部分市县大豆胞囊线虫生理小种的鉴定结果初报[J].沈阳农业大学学报,1984(2):75-78.
- [5] 陈品三,张东生,陈森玉.大豆胞囊线虫 7 号生理小种的研究初报[J].中国农业科学,1987,20(2):94.
- [6] 刘汉起,商绍刚,甄鸿杰.黑龙江省大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*)生理小种分布的研究[J].大豆科学,1995,14(4):330-332.
- [7] 马书君.黑龙江省安达地区大豆胞囊线虫生理小种动态监测[J].大豆科学,1996,15(3):254-257.
- [8] 李云辉,李肖白,田中艳,等.连续种植大豆抗胞囊线虫品种

- 胁迫线虫生理小种变异研究[J]. 大豆科学, 1998, 17(4): 370-372.
- [9] 陈品三, 齐军山, 王寿华, 等. 我国大豆胞囊线虫生理小种分化动态的鉴定和检测研究[J]. 植物病理学报, 2001, 31(4): 336-341.
- [10] Yu B S, Duan Y X, Wang J J. Selection of virulent phenotypes from an original race 3 population of *Heterodera Glycines* by resistant cultivars[J]. 大豆科学, 2009, 28(3): 491-494.
- [11] 方宣钧, 王敬强, 宛煜嵩, 等. 我国“应县小黑豆”对 SCN4 号生理小种抗性的 SSR 及 ISSR 分子标记研究进展[J]. 农学生物技术学报, 2002, 20(1): 81-85.
- [12] Concilio V C, Lange D. A, Denny, R, et al. Genome mapping of soybean cyst nematode resistance genes in eking, PI90763 and PI88788 Using DNA markers[J]. Crop Sci., 1997, 37: 258-264.
- [13] Mudge J, Cregan P B, Kenworthy J P, et al. Two microsatellite markers that flank the major soybean cyst nematode resistance locus[J]. Crop Sci., 1997, 37(5): 1611-1615.
- [14] 蒙析, 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): 6-12.
- [15] 卢为国, 盖钧镒, 郑永战, 等. 大豆遗传图谱的构建和抗胞囊线虫的 QTL 分析[J]. 作物学报, 2006, 32(9): 1272-1297.
- [16] 王惠, 于佰双, 段玉玺, 等. 大豆胞囊线虫抗性基因的 SSR 研究[J]. 大豆科学, 2007, 26(2): 204-212.
- [17] 杨柳, 师臣, 田中艳, 等. 大豆胞囊线虫病 3 号生理小种抗性 QTL 定位的研究[J]. 大豆科学, 2010, 29(2): 215-217.
- [18] 王惠, 邱丽娟, 陈立杰. SSR 标记技术及其在大豆抗胞囊线虫研究中的应用[J]. 杂粮作物, 2004, 24(4): 230-232.

Progress Research of Races of Soybean Cyst Nematode and Its SSR Market

LIU Bing, LI Xiao-bai, MA Lan, CHEN Jing-sheng, YU Ji-dong, PAN Hong-li, ZHANG Jun-jie
(Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing, Heilongjiang 163316)

Abstract: The soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) is a serious pest on soybean cropping around the world. The disease is extremely difficult to control. One of the best control measures is to select new resistant soybean varieties to SCN. SSR molecular marker is one of key methods to breed new varieties and identify the resistance. This paper summarized SCN distribution and pathogenicity differentiation in China. The principal and method of SSR marker were introduced. It also discussed the development of SSR molecular marker on resistant soybean to SCN.

Key words: *Heterodera glycines*; race; SSR molecular marker

中国农业发展银行 2011 年已发放夏粮收购贷款 319.3 亿元

中国农业发展银行(简称农发行)2011 年 7 月 27 日发布的数据显示,截至 7 月 20 日,农发行已发放贷款 319.3 亿元,支持收购小麦 155.45 亿 kg。

农发行有关部门负责人介绍说,今年夏粮收购主体趋于理性,没有出现去年新粮上市的抢购现象。而小麦最低收购价预案目前没有启动,夏粮收购信贷投放呈现出市场化收购占主导的显著特征。

这位负责人说,农发行积极支持市场化粮食收购弥补了最低收购价预案不能启动的市场空白,有效解决了农民卖粮问题。

数据显示,截至 2011 年 7 月 20 日,农发行累计发放市场化收购贷款 255.1 亿元,同比增加 115.6 亿元,支持企业收购小麦 123.2 亿 kg,占收购总量的 79%,同比多收 58.85 亿 kg,增幅为 91%。

农发行预计,目前小麦收购价格基本稳定,各类收购主体收购意愿比较积极,可以满足农民售粮需要,总体上不会出现“卖粮难”问题,且今年小麦最低收购价预案启动的可能性不大。

另据了解,2011 年,农发行加大了对中储粮企业轮换收购的信贷支持力度,加大了轮换贷款的支持范围。截至 7 月 10 日,农发行累计发放中央和地方储备小麦轮换贷款 48.6 亿元,同比多放 29.5 亿元。