

基于 SSR 标记分析大豆疫霉根腐病抗源的遗传多样性

王 帅^{1,2}, 张子戌^{1,2}, 齐广勋¹, 王英男¹, 赵洪锐¹, 刘晓冬¹, 袁翠平¹, 王玉民¹, 朴世领²

(¹ 吉林省农业科学院, 长春 130033; ² 延边大学农学院, 吉林延吉 133002)

摘要: 丰富的遗传多样性可为大豆育种提供宽阔的遗传基础, 本研究基于 35 对 SSR 标记, 对 60 份东北地区大豆疫霉根腐病抗性品种进行了遗传多样性分析, 共检测到 189 个等位基因, 平均每个位点等位变异数 5.4 个, 多态性信息含量指数 (PIC) 为 0.1550~0.8195, 平均为 0.6636; 遗传相似系数的变异范围为 0.31~0.74。利用 5 对高多态性 SSR 引物构建了 60 份抗性材料的指纹图谱, 这 5 对 SSR 引物构建的指纹图谱可以将 60 份疫霉根腐病抗性材料逐一区分开。采用 NTSYS2.10 基于遗传距离的聚类分析, 将 60 份抗性材料分为 7 个类群, 其中 78.33% 的抗性品种 (系) 的遗传相似系数在 0.45~0.74 间, 表明遗传差异相对较窄, 品种间遗传多样性水平较低。聚类分析与群体遗传结构分析结果有部分重合, 均反映出不同地区的抗性材料间存在一定的渗透和交流。

关键词: 大豆; 遗传多样性; 大豆疫霉根腐病; SSR

Genetic Diversity of Resistance to Phytophthora Root Rot Based on SSR Markers

WANG Shuai^{1,2}, ZHANG Zi-xu^{1,2}, QI Guang-xun¹, WANG Ying-nan¹, ZHAO Hong-kun¹, LIU Xiao-dong¹,
YUAN Cui-ping¹, WANG Yu-min¹, PIAO Shi-ling²

(¹ Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; ² College of Agronomy, Yanbian University, Jilin Yanji 133002)

Abstract: The abundant genetic diversity provides a broad genetic basis for soybean breeding. Based on 35 pairs of SSR markers, the genetic diversity of 60 soybeans being resistant to Phytophthora root rot in Northeast China was analyzed. A total of 189 alleles were detected, with an average of 5.4 alleles per locus. The polymorphism information content index (PIC) was variable from 0.1550 to 0.8195 with an average of 0.6636. The genetic similarity coefficient varies from 0.31 to 0.74. The fingerprint map of 60 resistant varieties was constructed using 5 pairs of highly polymorphic SSR primers. The fingerprints can distinguish 60 resistant materials of Phytophthora sojae root rot one by one. Using NTSYS2.10 clustering analysis based on genetic distance, sixty resistant genotypes were divided into 7 groups, of which 78.33% of resistant varieties (lines) had a similarity coefficient between 0.45 and 0.74. That indicated a relatively narrow genetic difference among these resistance-conferring genotypes. The results of cluster analysis and population genetic structure analysis partially overlap, suggesting the existence of multiple penetration and communication events between resistant materials in different regions.

Key words: soybean; genetic diversity; Phytophthora root rot; SSR

收稿日期: 2019-06-11 修回日期: 2019-06-27 网络出版日期: 2019-07-25

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190611004>

第一作者研究方向为大豆分子遗传育种, E-mail: 15036284007@163.com

通信作者: 王玉民, 研究方向为大豆种质资源研究, E-mail: wangym@cjaas.com

朴世领, 研究方向为作物生理生化和分子育种研究, E-mail: pslpjj@ybu.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0100201); 吉林省农业科技创新工程人才基金项目 (C92070403); 吉林省农业科技创新工程重大项目 (CXGC2017ZD014)

Foundation project: National Key Research and Development Program (2016YFD0100201), Jilin Agricultural Science and Technology Innovation Engineering Talent Fund Project (C92070403), Jilin Province Agricultural Science and Technology Innovation Project Major Project (CXGC2017ZD014)

大豆疫霉根腐病自 1948 年发现后很快成为世界性的病害^[1], 每年因其毁灭性的危害给全世界造成数以亿计的损失。目前该病已传播到世界各大豆产区, 成为严重影响大豆生产的主要病害之一。大豆疫霉根腐病在我国有逐渐加重趋势^[2-4], 最有效预防大豆疫霉根腐病的方法是利用抗病品种, 由于新的疫霉菌小种不断出现, 抗病品种一般只能有效利用 8~10 年^[5-9], 我国虽然有着丰富的抗源, 但大豆疫霉根腐病抗源之间的遗传多样性研究很少, 品种间的遗传距离不明确, 优良的抗性亲本不能有效地被挖掘利用。因此, 研究大豆疫霉根腐病抗源之间的遗传多样性, 拓宽大豆疫霉根腐病抗性品种遗传基础, 对育种亲本抗源的选择具有很大的意义。

SSR 标记因具有多态性丰富、呈共显性等优点^[10-12], 被用作研究大豆遗传多样性的分子标记之一。Kumar 等^[13]通过建立的 9 个核心 SSR 引物能够区分出 6 份印度大豆品种的遗传距离, 并明确了品种间的遗传相似性; 赵洪锟等^[14]采用 SSR 分子标记技术对我国不同纬度的野生大豆和栽培大豆各 22 份进行了多样性分析, 发现野生大豆具有更宽阔的遗传基础; 杜青等^[15]用 50 对 SSR 引物对 166 份大豆疫霉根腐病抗性品种(系)进行遗传多样性分析, 发现国内各个地方的抗源间遗传多样性存在着差别, 总体南方抗性材料的遗传相似性低于北方。东北地区是中国大豆的主要产区之一, 有着丰富的大豆疫霉根腐病抗性资源, 但目前还未见对东北地区的抗性材料群体间的遗传多样性进行系统的分析评价的报道。

本试验基于 35 对 SSR 引物对东北地区 60 份大豆疫霉根腐病抗性品种进行遗传多样性分析, 期望明确各个品种间的遗传多样性, 减少大豆疫霉根腐病抗性育种中亲本遗传背景相似的干扰, 为抗病品种挖掘和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料来源于东北三省及北京地区, 基于本课题组前期从 350 份品(系)中鉴定筛选出的 60 份对大豆疫霉根腐病 1 号生理小种具有抗性的品种(系)(抗病信息详见 <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190611004>, 附表 1), 包括黑龙江省 13 份(来自 9 个县、市及研究所), 吉林省 36 份(来自 19 个县、市及研究所), 辽宁省 10 份(来自 7 个县、市及

研究所), 北京 1 份(来自中国科学院遗传与发育生物学研究所)。大豆疫霉根腐病抗性鉴定采用下胚轴创伤接种法^[8], 于 2018 年 5 月在吉林省农业科学院公主岭院区试验基地完成, 接种 6 d 后进行病情调查, 死亡植株率在 30% 以下的为抗病(R)。试验材料由吉林省农业科学院大豆研究所野生大豆资源研究与利用课题组提供, 品种名称、编号、产地来源和保存单位见表 1。

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 选取籽粒饱满的种子于 2018 年 11 月种在育苗盘中, 培养箱内(25℃, 光照 8 h, 黑暗 8 h)培养至长出 2 片复叶时, 采用相同位置的鲜嫩叶片按照 CTAB 法提取 DNA, 用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测提取的 DNA 质量, 用 NanoDrop 2000c 检测 DNA 质量及浓度, 用 TE 稀释到 60 ng/μL 左右, 放于 -20℃ 备用。

1.2.2 引物合成及筛选 从本课题组已筛选的 63 对具有多态性的大豆特异性 SSR 引物中, 选取分布于大豆 20 个连锁群上的 SSR 核心标记 35 对(表 2), 在 SoyBase 数据库(<http://www.soybase.org/>)查看引物信息, 由吉林省库美生物科技有限公司合成。

1.2.3 PCR 扩增及毛细管电泳 采用 10 μL 反应体系, 其中: 1.5 μL 模板 DNA, 0.5 μL Forward Primer, 0.5 μL Reverse Primer, 5 μL 2 × TransTaq-TPCR SuperMix, ddH₂O 补足。PCR 反应程序为 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 51℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 循环 34 次; 72℃ 延伸 10 min, 冰箱内 4℃ 保存待用。PCR 产物吸至新的 96 孔板中后, 用 QIAxcel ADvanced 仪器检测。

1.3 数据分析

每个引物为一个位点, 在相同的迁移率位置上记为“1”, 表示存在此位点的等位变异, “0”表示此位点无等位变异, 建立 60 份材料“0, 1”数据库。在 Excel 中建立样本标记的“0, 1”数据矩阵, 构建 35 对 SSR 引物的 PCR 扩增结果数据库。按照公式 $I = -\sum P_i \ln P_i$ 计算 Shannon-Weaver 多样性指数^[16], 其中 P_i 为第 i 个等位变异的频率。每对引物的多态性信息指数(PIC)计算公式为 $PIC = 1 - \sum P_i^2$, P_i 表示群体中含有第 i 个等位变异的比率^[17]。利用软件 NTSYS-2.10, 计算品种间遗传距离, 采用非加权类平均法(UPGMA)对 60 份抗性资源进行聚类分析, 采用 Structure 2.3.4 分析 60 份抗性材料群体遗传结构并估计最佳组群数 K 值。

表 1 60 份大豆疫霉根腐病抗性品种名称及来源
Table 1 Name and origin of 60 varieties resistant to phytophthora sojae root rot

编号 No.	名称 Name	来源 Origin	保存单位 Save unit	编号 No.	名称 Name	来源 Origin	保存单位 Save unit
1	吉林 2 号	吉林省农科院有性杂交育成	吉林省农科院	31	小金黄	吉林九台	吉林省农科院
2	铁丰 19	铁岭地区农科所杂交育成	铁岭地区农科所	32	蓑衣领	吉林怀德	吉林省农科院
3	宁安小黑脐	黑龙江宁安	黑龙江省农科院	33	东丰嘟噜豆	吉林东丰	吉林省农科院
4	蛟河小黑豆	吉林蛟河	吉林省农科院	34	嘟噜豆	吉林抚松	吉林省农科院
5	安图黑大豆	吉林安图	吉林省农科院	35	铁荚四粒黄	吉林东丰	吉林省农科院
6	铁丰 22 号	铁岭市农科所有性杂交育成	铁岭市农科所	36	崩皮	吉林德惠	吉林省农科院
7	铁丰 25	铁岭市农科所有性杂交育成	铁岭市农科所	37	珲春豆	吉林珲春	吉林省农科院
8	铁荚金黄豆	辽宁昌图	铁岭市农科所	38	白花烛	吉林东辽	吉林省农科院
9	里外青	辽宁铁岭	铁岭市农科所	39	扁大粒	吉林辽源	吉林省农科院
10	高丽黄	辽宁凤城	丹东市农科所	40	褐脐丰地	吉林省农科院(育成)	吉林省农科院
11	诱变 30	中国科学院有性杂交育成	中国农科院	41	褐毛	吉林集安	吉林省农科院
12	绥农 7 号	绥化农科所有性杂交育成	黑龙江农科院	42	一窝两	吉林敦化	吉林省农科院
13	吉林 21 号	吉林省农科院有性杂交育成	吉林省农科院	43	铁丰 19	铁岭农科所杂交育成	铁岭地区农科所
14	九农 21	吉林市农科院有性杂交育成	吉林市农科院	44	铁荚青	辽宁盖平	丹东市农科所
15	辽豆 11	辽宁省农科院有性杂交育成	辽宁省农科院	45	玉石豆	辽宁兴城	铁岭地区农科所
16	绥农 1 号	绥化地区农科所杂交育成	绥化农科所	46	合丰 26 号	合江地区农科所杂交育	合江地区农科所
17	元宝金	解放前留下	合江地区农科所	47	东农 36 号	东北农学院杂交育成	东北农学院
18	安达 37-1	黑龙江安达	黑龙江农科院	48	四粒黄	黑龙江龙江	黑龙江省农科院
19	保险豆	黑龙江安达	黑龙江省农科院	49	茶色豆 B	黑龙江	黑龙江省农科院
20	克山大金黄	黑龙江克山	黑龙江省农科院	50	吉林 20 号	吉林省农科院杂交育成	吉林省农科院
21	关石锁大豆	黑龙江克山	黑龙江省农科院	51	延农 2 号	延边农科所有性杂交育成	吉林省农科院
22	大白果	黑龙江东宁	牡丹江农科所	52	延农 5 号	延边农科所有性杂交育成	吉林省农科院
23	吉林 3 号	吉林省农科院有性杂交育成	吉林省农科院	53	金元 30 号	吉林吉林(育成)	吉林省农科院
24	吉林 5 号	吉林省农科院有性杂交育成	吉林省农科院	54	蛟河天鹅蛋	吉林蛟河	吉林省农科院
25	吉林 6 号	吉林省农科院有性杂交育成	吉林省农科院	55	汪清神仙洞	吉林汪清	吉林省农科院
26	九农 4 号	吉林市农科所有性杂交育成	吉林省农科院	56	汪清牛食豆	吉林汪清	吉林省农科院
27	公交 5601-1	吉林省农科院(杂交品系)	吉林省农科院	57	怀德四粒黄	吉林怀德	吉林省农科院
28	公交 6005-2	吉林省农科院(杂交品系)	吉林省农科院	58	桦甸黄宝珠	吉林桦甸	吉林省农科院
29	大粒黄	吉林怀德	吉林省农科院	59	桦甸白花生	吉林桦甸	吉林省农科院
30	大粒黄	吉林梨树	吉林省农科院	60	和龙油太	吉林和龙	吉林省农科院

2 结果与分析

2.1 SSR 标记多态性分析

利用 35 对 SSR 引物分别对 60 份抗大豆疫霉根腐病大豆品(系)进行 PCR 扩增,毛细管电泳检验的结果显示,35 对 SSR 引物都具有稳定的多态性(表 2),共检测到 189 个等位基因,每对 SSR 引物出现的等位基因位点数目有所差异,在 3~10 个之间变化,其中位于连锁群 A1 上的引物 satt300

检测到的等位基因变异最多(10 个),satt267(连锁群 D1 上)、satt309(连锁群 G)、satt352(连锁群 G)、satt390(连锁群 A2)检测到的等位变异最少(3 个),平均每个位点等位变异数 5.4 个。各位点 Shannon's 多样性指数为 0.3285~1.9575,均值为 1.3243。多态性信息含量指数(PIC)为 0.1550~0.8195,平均为 0.6636,88.57% 的 PIC>0.5,表明本研究选取的 35 对引物具有很高的多态性,满足本次试验要求。

表 2 供试材料 SSR 电泳等位基因和多态信息含量指数

Table 2 SSR electrophoretic alleles and polymorphic information content indices

引物 Primers	连锁群 Linkage group	等位基因数 Number of alleles	PIC 值 PIC value	多样性指数 Diversity index	引物 Primers	连锁群 Linkage group	等位基因数 Number of alleles	PIC 值 PICvalue	多样性指数 Diversity index
satt300	A1	10	0.8195	1.9575	satt130	G	6	0.6967	1.4207
satt390	A2	3	0.1550	0.3285	satt309	G	3	0.4918	0.7974
satt429	A2	7	0.7102	1.4911	satt352	G	3	0.4461	0.7920
satt197	B1	5	0.6779	1.2994	satt434	H	7	0.7373	1.5737
satt453	B1	4	0.7317	1.3445	satt442	H	5	0.6925	1.3568
satt168	B2	5	0.6870	1.3128	satt571	I	4	0.5322	0.9307
satt577	B2	4	0.6183	1.1441	satt431	J	6	0.6689	1.3590
satt180	C1	6	0.7530	1.5544	satt242	K	4	0.5084	0.9737
satt281	C2	8	0.7264	1.6007	satt588	K	6	0.6515	1.2696
satt286	C2	4	0.6833	1.1933	satt373	L	6	0.6843	1.4393
satt307	C2	5	0.6920	1.3203	satt462	L	4	0.6811	1.2185
satt184	D1a	7	0.7595	1.6051	satt308	M	5	0.7871	1.5768
satt267	D1a	3	0.4547	0.7945	satt022	N	4	0.6363	1.1437
satt005	D1b	6	0.7995	1.6785	satt530	N	4	0.5729	1.0034
satt226	D2	8	0.7728	1.6789	satt173	O	6	0.6488	1.3318
satt146	F	7	0.7669	1.6366	satt243	O	6	0.8023	1.6956
satt334	F	5	0.5765	1.1167	satt345	O	6	0.8105	1.7222
satt586	F	7	0.7924	1.6890					

2.2 构建大豆疫霉根腐病抗性品种的指纹图谱

选择多态性信息含量高且带型清晰的 SSR 引物,记录迁移位置,用 1、0 表示各个迁移等位基因位点的有无,经过筛选确定 60 份大豆疫霉根腐病抗性品种的指纹图谱。如表 3 所示,利用 satt226、satt586、satt243、satt345 和 satt300 等 5 对 SSR 引物组合可区分 60 份抗性材料,其中引物 satt300 可区分出 11 份抗性材料,satt300 和 satt345 组合后可区分出 27 份抗性材料,satt300、satt345 和 satt243

组合后可区分出 48 份抗性材料,satt300、satt345、satt243 和 satt586 组合后可区分出 52 份抗性材料。5 对 SSR 引物共扩增出 37 个有效多态性片段,每对引物的多态性片段数在 6~10 之间变化,平均每对引物产生 7.4 个等位基因位点。根据这 5 对 SSR 引物扩增产生的特异性条带组合构成的 DNA 指纹图谱,可将 60 份大豆疫霉根腐病抗性材料一一区分出来,从而更精确快速地对抗性材料群体单一品种的真实性进行鉴定。

表 3 利用 5 对引物构建的 60 份抗性材料的 SSR 指纹图谱
Table 3 SSR fingerprints of 60 resistant materials constructed with 5 pairs of primers

引物名称 Primer name						引物名称 Primer name					
编号 No.	satt300	satt345	satt243	satt586	satt226	编号 No.	satt300	satt345	satt243	satt586	satt226
1	1000000100	100000	111000	1000000	11000000	31	0010010000	100000	011000	0100100	10000000
2	1000000100	100000	101100	0100000	01100000	32	0010000100	000010	111000	0100000	01000000
3	1000000100	010000	111000	0011000	11000000	33	0010000100	000001	000100	0100000	01000000
4	1000000100	001000	110100	0100000	00110000	34	0010000100	000001	100100	0010000	00010000
5	1000000011	000100	010100	0100000	10000000	35	0010000100	100000	000011	1000000	11000000
6	1000000010	000010	000110	0001000	10000000	36	0010000000	001000	100100	0000010	00000100
7	1000000010	000001	100100	0010000	10000000	37	0010000000	001000	100100	0000100	10000000
8	1000000010	000010	111000	0000100	10000000	38	0010000000	000001	000100	0010000	01100000
9	1000000010	000100	000110	0100000	10000000	39	0010000000	001000	101100	0000100	10000000
10	1000000000	001000	111000	0000100	00100000	40	0010000000	000010	010100	0010000	00110000
11	1000000000	100000	101100	0000010	01000000	41	0010000000	010000	000100	0010000	00100010
12	1000000000	100000	110000	0100000	00001000	42	0010000000	001000	010000	0000001	00100000
13	1000000000	001000	000110	0000100	00001000	43	0001000000	000001	010000	0100000	10000000
14	1000000000	001000	100100	0000100	10000000	44	0000101000	000001	000100	0001000	10000000
15	1000000000	000001	110000	0100000	11000000	45	0000100000	000001	011000	0100000	00001000
16	1000000000	001000	110000	0010000	10000000	46	0000011000	010000	100100	0000100	00010000
17	1000000000	000001	110000	0000100	10000000	47	0000010000	000010	100100	0000100	01000000
18	1000000000	000001	110000	0010000	10000000	48	0000000101	000001	000011	0100000	00000101
19	1000000000	000010	110000	0010000	10000000	49	0000000011	001000	000011	0001000	00100000
20	1000000000	100000	001100	0010000	10010000	50	0000000011	001000	100100	0001000	00100000
21	1000000000	000101	001100	0000100	10010000	51	0000000010	100000	100100	0100000	00100000
22	1000000000	010000	010001	0000100	01000000	52	0000000010	000010	100100	0001000	00100000
23	1000000000	100000	010011	0001000	11000000	53	0000000001	010000	100100	0000100	11000000
24	1000000000	000001	000011	0100000	01000000	54	0000000001	001000	011001	0000001	00000001
25	1000000000	000100	000100	0001000	01000000	55	0000000001	000001	100100	0010000	00000010
26	1000000000	000100	000100	0001000	10010000	56	0000000001	000001	100100	0000100	00010000
27	1000000000	010000	110001	0100000	11000000	57	0000000001	001000	000011	0001000	10000000
28	0101000000	001000	010001	0000100	00100000	58	0000000001	001000	110000	0010000	00010000
29	0100100000	010000	010110	0010000	01000000	59	0000000001	010000	000011	0100000	01000000
30	0100000000	100000	011000	0000100	01100000	60	0000000001	010000	110000	1000000	01000000

2.3 聚类分析

利用 35 对 SSR 引物所检测出的 189 个多态性位点,计算并建立遗传距离矩阵,进行 UPGMA 聚类分析,获取聚类树状图(图 1)。由图可以看到遗传相似系数的变异范围为 0.31~0.74,在遗传相似系数为 0.373 处,60 份大豆疫霉根腐病抗性材料可分为 7 个类群,其中第 I 类群只有品种东农 36 号,第 II 类群只有吉林 6 号,第 III 类群

有诱变 30,第 IV 类群有茶色豆 B、怀德四粒黄、蛟河天鹅蛋和一窝两等 4 份,第 V 类群只有里外青,第 VI 类群有桦甸白花豆、铁荚四粒黄和吉林 3 号等 3 份,第 VII 类群为余下的 49 份,占全部抗性材料的 81.67%。表明类群 I~VI 的 11 份大豆疫霉根腐病抗性资源与其他资源遗传关系相对较远,可作为培育新品种或者品种改良时的原材料。

在遗传相似系数为 0.446 处,第Ⅶ类群又可以划分成 6 个亚群,亚群 1 包含品种保险豆、崩皮和高丽黄;亚群 2 包含克山大金黄、关石锁大豆和元宝金;亚群 3 包含了 9 份材料,其中吉林省 6 份、辽宁 3 份;亚群 4 包含绥农 1 号和绥农 7 号,均来自黑龙江省;亚群 5 包含了 4 份吉林省品种、1 份黑龙江品种;亚群 6 包含的抗性品种最多,有 27 份(吉林省

18 份、辽宁省 5 份、黑龙江省 4 份),为全部抗性材料的 45%,其中吉林省 18 份,占本次试验中吉林省全部抗性材料的 50%,占亚群 6 的 66.67%。6 个亚群中大多数来自相同省份或地区的抗性材料又会聚成各亚群的小类,每个亚群中又混着其他省或者地区的抗性材料,表明不同地方的抗性品种在基因水平上存在着相互渗透融合,各个品种(系)遗传基础相近。

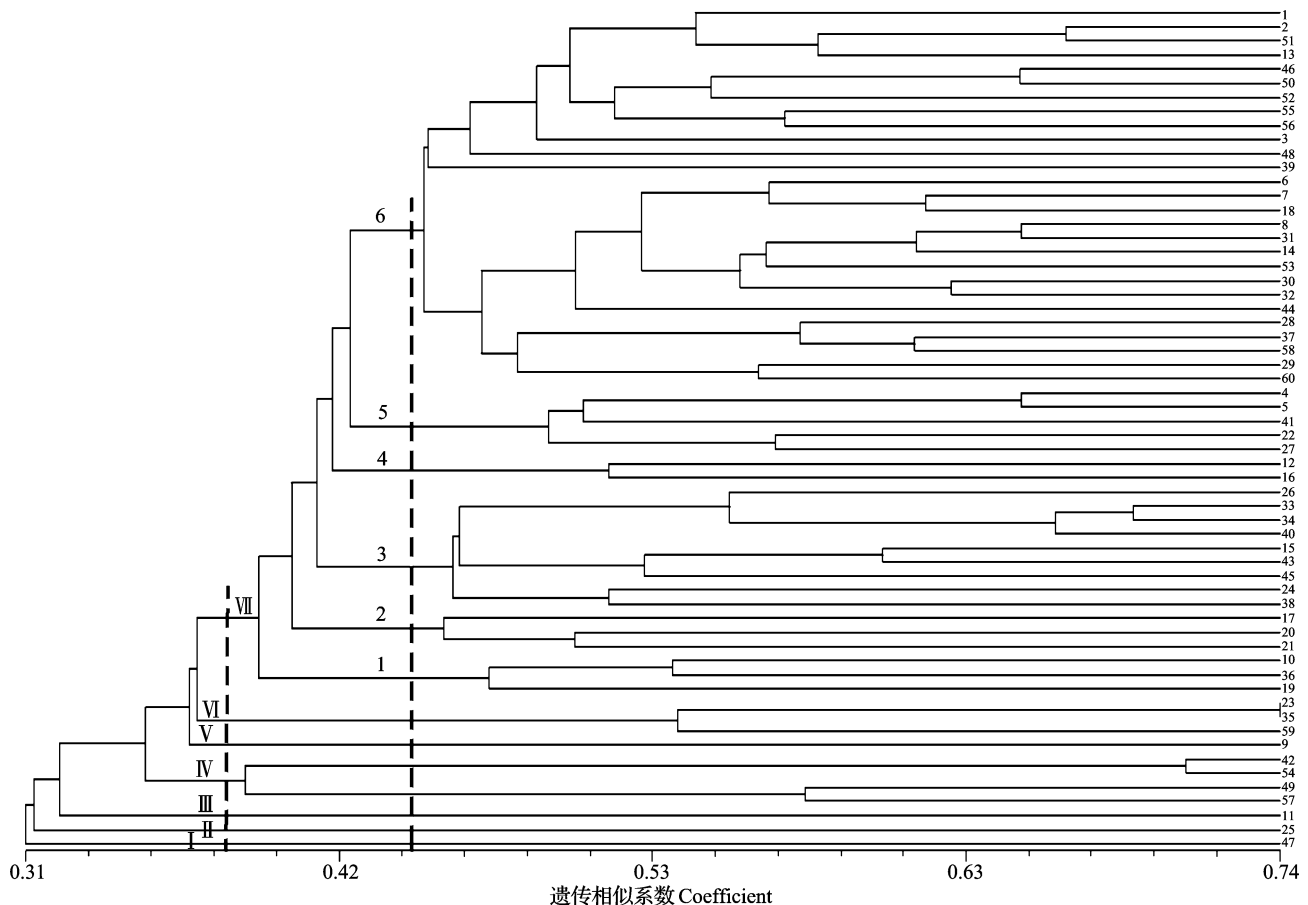


图 1 60 份抗性材料的 SSR 聚类图

Fig.1 SSR cluster diagram of 60 resistant materials

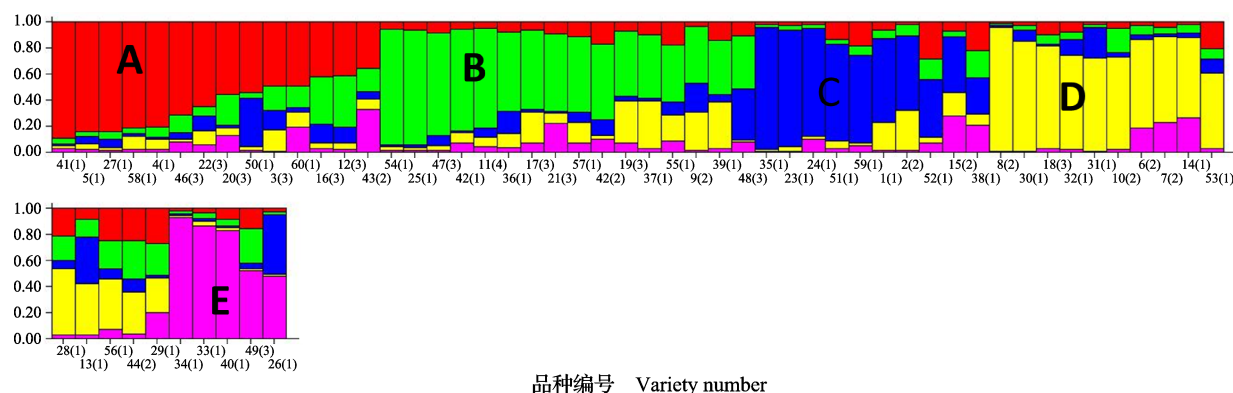
2.4 群体遗传结构分析

用 Structure2.3.4 对 60 份抗性材料进行群体遗传结构分析(图 2)发现, $K=5$ 时,等位变异频率特征数出现明显峰值,可将这 60 份材料划分成 5 个类群。类群 A 有 14 份,类群 B 有 16 份,类群 C 有 10 份,类群 D 有 14 份,类群 E 有 6 份,其中类群 B 包含了 UPGMA 聚类分析中的第Ⅰ至第Ⅵ类群,以及亚群 2,类群 A 为亚群 5 和 6 的组合,类群 D 为亚群 6 的部分,类群 E 为亚群 3 的大部分。各个类群中都含有吉林、辽宁、和黑龙江等三省的抗性材料,表明抗性材料间存在一定的渗透和交流。

3 讨论

3.1 大豆疫霉根腐病抗源资源遗传多样性分析

大豆疫霉根腐病在我国有逐年增加的趋势,如何利用和发掘抗病品种来减少大豆疫霉根腐病造成的损害,越来越受到育种科研者的关注。随着现代生物技术在育种上的运用,大豆疫霉根腐病抗性品种选育得到了突破性的进展,选育的优良新品种往往在一个地方大范围的推广并代替地方小种,但随着时间的推移,新疫霉小种的出现会使抗性品种丢失抗性,因此,不断更新扩大大豆疫霉根腐病的抗性品种极其重要,研究大豆疫霉根腐病抗源资源遗传多



1 ~ 60 编号与表 1 编号相对应,括号内 1 代表吉林省品种,2 代表辽宁省品种,3 代表哈尔滨市品种,4 代表其他省品种

Numbers 1-60 in the figure correspond to Numbers in Table 1. In brackets, 1 represents varieties of Jilin province,

2 represents varieties of Liaoning province, 3 represents varieties of Harbin province, and 4 represents varieties of other provinces

图 2 60 份抗性材料的群体遗传结构图

Fig.2 Population genetic structure of 60 resistant genotypes

样性,能够充分利用了解已有抗性资源,同时拓宽遗传基础,减少相同遗传背景的干扰,从而为杂交育种和分子育种亲本选配提供指导。本研究从 350 余份栽培大豆品种中鉴定出的 60 份抗性材料,品种(系)间的相似系数在 0.31~0.74 之间,其中有 78.33% 的抗性品种(系)的相似系数在 0.45~0.74 间,81.67% 品种(系)划分在第Ⅶ类群中,表明遗传差异相对较窄,品种间遗传多样性水平较低,在今后的育种选材中要注意避免遗传多样性低的亲本组合。

我国是大豆的起源地,拥有丰富的抗性资源^[18-20],已有研究表明,我国南部和中部地区对大豆疫霉根腐病抗性的种质资源中,河南、安徽、江苏、浙江和山东等 5 个省中的抗性种质资源最为丰富^[21-22];长江以北,可分为长江流域资源、黄淮流域和东北地区三大种质资源,其中抗性最高的为长江流域资源,抗性最差的为东北地区的种质^[23];杜青等^[15]研究表明,抗疫霉根腐病大豆品种(系)的遗传多样性与抗疫霉根腐病大豆资源的抗性多样性有关联,不同区域间的抗性品种也存在着差异,总体上我国中部及南方抗性品种的遗传多样性较高,东北地区较低,与我国大豆疫霉根腐病抗性资源的多样性分布相一致^[24-25]。本研究中,40% 抗性品种(系)为杂交育成品种,育种亲本通常是从具有优良性状的品种(系)中选取,抗性材料间的基因渗透和交流不可避免,这也可能是东北地区大豆疫霉根腐病抗性品种的遗传多样性整体偏低的原因之一。

3.2 大豆疫霉根腐病抗源资源的利用

遗传多样性是反映物种多样性的核心指标,遗传多样性的下降是大豆育种难以取得突破性进展的重要原因之一,狭窄的亲本遗传基础也使得抗性育

种的可选择性降低,本试验中第Ⅰ类群的东农 36 号是 20 世纪 90 年代王金陵教授培育而成的优良品种,遗传多样性明显高于其他类群,第Ⅱ类群的吉林 6 号是由吉林省农科院通过有性杂交育成,含有野生大豆血缘,第Ⅲ类群、第Ⅳ类群、第Ⅴ类群和第Ⅵ类群的 9 份抗性材料,都来自各个地区的地方品种,遗传多样性也要高于第Ⅶ类群,因此挖掘利用早期品种、利用野生大豆和挑选地方优良品种都可在一定程度上拓宽遗传基础,对育种研究具有极大指导意义。本研究中 81.67% 品种(系)划分在第Ⅶ类群中,品种(系)间遗传多样性水平较低,遗传差异相对较窄,亚群Ⅵ中品种(系)间相似系数达到 0.53~0.74,品种(系)遗传基础相近,在抗病育种亲本选择中要注意减少此类群间选择,避免遗传多样性下降和相同遗传背景的干扰,合理利用早期育成品种,同时注重野生大豆资源和挑选地方优良品种。

参考文献

- [1] Hsu S C, Lockwood J L. Biological control of phytophthora root rot of soybean by *Hyphochytrium catenoides* in greenhouse tests. *Journal of Phytopathology*, 2010, 109 (2): 139-146
- [2] Chang K F, Wang S F, Ahmed H U, Zhou Q, Strelkov S E, Conner R L, Turnbull G D. First report of *Phytophthora sojae* causing root rot in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] in Alberta, Canada. *Crop Protection*, 2017, 91: 49-56
- [3] Wu M, Li B, Liu P, Weng Q, Zhan J, Chen Q. Genetic analysis of *Phytophthora sojae* populations in Fujian, China. *Plant Pathology*, 2017, 66 (7): 1182-1190
- [4] Tang Q H, Gao F, Li G Y, Wang H, Zheng X B, Wang Y C. First report of root rot caused by *Phytophthora sansomeana* on soybean in China. *Plant Disease*, 2010, 94 (3): 378
- [5] Rivera-Vargas L I, Schmitthenner A F, Graham T L. Soybean flavonoid effects on and metabolism by *Phytophthora sojae*. *Phytochemistry*, 1993, 32 (4): 851-857

- [6] Tyler B M. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 8(1): 1-8
- [7] 夏长剑, 张吉清, 王晓鸣, 刘章雄, 朱振东. 引自美国的大豆资源抗疫霉根腐病基因分析. *作物学报*, 2011, 37(7): 1167-1174
Xia C J, Zhang J Q, Wang X M, Liu Z X, Zhu Z D. Genetic analysis of resistance to *Phytophthora* root rot in soybean resources from the United States. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(7): 1167-1174
- [8] 范爱颖, 王晓鸣, 方小平, 武小菲, 朱振东. 大豆品种豫豆 25 抗疫霉根腐病基因的鉴定. *作物学报*, 2009, 35(10): 1844-1850
Fan A Y, Wang X M, Fang X P, Wu X F, Zhu Z D. Identification of *Phytophthora* root rot resistance gene of soybean variety Yudou 25. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(10): 1844-1850
- [9] Schmitthenner A F, Hobe M, Bhat R G. *Phytophthora sojae* races in Ohio over a 10-year interval. *Plant Disease*, 1994, 78(3): 269-276
- [10] Manifesto M M, Schlatter A R, Hopp H E. Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. *Crop Science*, 2001, 41(3): 682-690
- [11] Hu X Y, Wang J F, Lu P, Zhang H S. Assessment of genetic diversity in broomcorn millet(*Panicum miliaceum* L.) using SSR markers. *Journal of Genetics & Genomics*, 2009, 36(8): 491-500
- [12] Yang T, Fang L, Zhang X Y, Hu J G, Bao S Y, Hao J J, Li L He Y H, Jiang J Y, Wang F, Tian S F, Zong X X. High-throughput development of SSR markers from Pea(*Pisum sativum* L.) based on next generations sequencing of a purified chinese commercial variety. *PloS One*, 2015, 10(10): e0139775
- [13] Kumar V, Rani A, Jha P, Rawal R, Husain S. Molecular identification of dominant cultivars of soybean using simple sequence repeat markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences India*, 2015, 40(3): 1-7
- [14] 赵洪锬, 王玉民, 李启云, 张明, 庄炳昌. 中国不同纬度野生大豆和栽培大豆 SSR 分析. *大豆科学*, 2001, 20(3): 172-176
Zhao H K, Wang Y M, Li Q Y, Zhang M, Zhuang B C. SSR Analysis of wild soybean and cultivated soybeans in different latitudes in china. *Soybean Science*, 2001, 20(3): 172-176
- [15] 杜青, 朱振东, 肖炎农, 王晓鸣, 武小菲. 用 SSR 标记分析抗疫霉根腐病大豆品种(系) 的遗传多样性. *植物遗传资源学报*, 2007(3): 253-260
Du Q, Zhu Z D, Xiao Y N, Wang X M, Wu X F. Analysis of genetic diversity of soybean varieties(lines) resistant to *Phytophthora* root rot by SSR markers. *Chinese Journal of Plant Genetic Resources*, 2007(3): 253-260
- [16] Burnham K D, Francis D M, Dorrance A E, Fioritto R J, Martin S K. Genetic diversity patterns among phytophthora resistant soybean plant introductions based on SSR markers. *Crop Science*, 2002, 42(2): 338
- [17] Anderson A J, Churchill G A, Autrique J E, Tanksley S D, Sorrells M E. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, 1993, 36(1): 181-186
- [18] 孙石, 赵晋铭, 武晓玲, 郭娜, 王源超, 唐卿华, 盖钧镒, 邢邯. 大豆品种 RGA 分析与疫霉根腐病抗性鉴定. *作物学报*, 2008, 34(10): 1704-1711
Sun S, Zhao J M, Wu X L, Guo N, Wang C Y, Tang Q H, Gan J Y, Xing W. RGA analysis of Soybean varieties and identification of *Phytophthora* root rot resistance. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(10): 1704-1711
- [19] Cheng Y B, Ma Q B, Mu Y H, Tan Z Y, Wu H, Nian H. Resistance evaluation of soybean varieties to phytophthora root rot in South China. *Journal of South China Agricultural University*, 2015, 36(4): 69-75
- [20] Kyle D E, Nickell C D, Nelson R L, Pedersen W L. Response of soybean accessions from provinces in Southern China to *Phytophthora sojae*. *Plant Disease*, 2007, 82(5): 555-559
- [21] 王晓鸣, 朱振东, 王化波, 武小菲. 中国大豆疫霉根腐病和大豆种质抗病性研究. *植物病理学报*, 2001, 31(4): 324-329
Wang X M, Zhu Z D, Wang H B, Wu X F. Study on the resistance of *Phytophthora sojae* root rot and soybean germplasm in China. *Chinese Journal of Plant Pathology*, 2001, 31(4): 324-329
- [22] 朱振东, 王化波, 王晓鸣, 武小菲. 黑龙江省主要栽培大豆品种(系) 对大豆疫霉根腐病的多抗性评价. *植物遗传资源学报*, 2004, 5(1): 22-25
Zhu Z D, Wang H B, Wang X M, Wu X F. Evaluation of multi-resistance of main cultivated soybean varieties(lines) in Heilongjiang province to *Phytophthora* root rot disease. *Chinese Journal of Plant Genetic Resources*, 2004, 5(1): 22-25
- [23] 武晓玲. 大豆疫霉根腐病抗性评价、基因定位及抗性相关基因的筛选. 南京: 南京农业大学, 2009: 39-44
Wu X L. Resistance evaluation, gene mapping and screening of resistance-related genes in *Phytophthora* root rot. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009: 39-44
- [24] 代瑞平, 刘海. 大豆疫霉根腐病研究进展. *大豆科技*, 2011(1): 20-22
Dai R P, Liu H. Research progress of *Phytophthora* root rot in soybean. *Soybean Science and Technology*, 2011(1): 20-22
- [25] 王晓鸣, 朱振东, 王化波, 武小菲, 田玉兰. 大豆种质对疫霉根腐病抗性特点研究. *植物遗传资源学报*, 2001, 2(2): 22-49
Wang X M, Zhu Z D, Wang H B, Wu X F, Tian Y L. Study on resistance characteristics of soybean germplasm to *Phytophthora* root rot disease. *Chinese Journal of Plant Genetic Resources*, 2001, 2(2): 22-49