

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01844

大豆品种豫豆 25 抗疫霉根腐病基因的鉴定

范爱颖^{1,2} 王晓鸣¹ 方小平² 武小菲¹ 朱振东^{1,*}

¹ 中国农业科学院作物科学研究所, 农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081; ² 中国农业科学院油料作物研究所, 湖北武汉 430062

摘要: 大豆疫霉根腐病是大豆破坏性病害之一。防治该病的最有效方法是利用抗病品种。迄今, 已在大豆基因组的 9 个座位鉴定了 15 个抗大豆疫霉根腐病基因, 但是只有少数基因如 *Rps1c*、*Rps1k* 抗性在我国是有效的。因此, 必需发掘新的抗疫霉根腐病基因, 以满足抗病育种的需求。豫豆 25 具有对大豆疫霉菌的广谱抗性, 是目前筛选出的最优的抗源。以豫豆 25 为抗病亲本分别与豫豆 21 和早熟 18 杂交构建 F_{2:3} 家系群体。两个群体的抗性遗传分析表明, 豫豆 25 对疫霉根腐病的抗性由一个显性单基因控制, 暂定名为 *RpsYD25*。用 SSR 标记分析两个群体, *RpsYD25* 均被定位于大豆分子遗传图谱 N 连锁群上。由于 *Rps1* 座位已作图在 N 连锁群, 选择 *Rps1k* 基因中的一些 SSR 设计引物, 检测 *RpsYD25* 与 *Rps1* 座位的遗传关系。结果表明, 一个 SSR 标记 Rps1k6 与 *RpsYD25* 连锁, 二者之间的遗传距离为 19.4 cM。因此, 推测 *RpsYD25* 可能是 *Rps1* 座位的一个新等位基因, 也可能是一个新的抗病基因。

关键词: 大豆; 疫霉根腐病; 大豆疫霉菌; 抗病基因; SSR 标记

Molecular Identification of *Phytophthora* Resistance Gene in Soybean Cultivar Yudou 25

FAN Ai-Ying^{1,2}, WANG Xiao-Ming¹, FANG Xiao-Ping², WU Xiao-Fei¹, and ZHU Zhen-Dong^{1,*}

¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Key Facility for Crop Genetic Resources and Improvement, Beijing 100081, China; ² Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China

Abstract: *Phytophthora* root rot, caused by *Phytophthora sojae*, is a destructive disease on soybean. Use of resistant soybean cultivars is the most economical and effective method for controlling the disease. Up to now, nine loci for the resistance with 15 genes have been identified in soybean. However, only a few genes, such as *Rps1c* and *Rps1k*, were effectively resistant to populations of *P. sojae* in China, so mining new resistance genes is necessary greatly for the disease control. Soybean cv. Yudou 25 has broad spectrum resistance to *P. sojae*, and is an elite resistance source for *Phytophthora* root rot of soybean. To effectively utilize the cultivar in resistance breeding, in the present study, we identified and tagged the *Phytophthora* resistance gene in the cultivar by using SSR markers and bulked segregation analysis (BSA). Two F_{2:3} populations were developed for resistance genetic analysis and resistance gene mapping. Using hypocotyls inoculation technique at the seedling stage in the glasshouse, the reaction to *P. sojae* isolate PSMC1 (virulence type 1b, 1d, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7) in 82 and 98 F_{2:3} families derived from two crosses of Yudou 21×Yudou 25 and Zaoshu 18×Yudou 25, respectively, were identified. The segregation ratio in both populations fit into 1:2:1 for homozygous resistant, segregating and homozygous susceptible, showing that the cultivar resistance to *Phytophthora* root rot is controlled by a dominant single gene, with the temporary name of *RpsYD25*. On the basis of linkage analysis with SSR markers, *RpsYD25* was located on soybean molecular linkage group (MLG) N in both populations. Five SSR markers were associated with *RpsYD25* in an order of Sat_208-Satt530-*RpsYD25*-Sat_084-Satt125-Sat_236 in F_{2:3} population from the cross of Yudou 21×Yudou 25, *RpsYD25* was flanked by Satt530 and Sat_084 with a distance of 6.3 and 7.7 cM, respectively. Five SSR markers were linked to *RpsYD25* in an order of Satt125-*RpsYD25*-Sat_275-Sat_266-Satt660-GMABAB in F_{2:3} population from the cross of Zaoshu 18×Yudou 25, *RpsYD25* was flanked by Satt125 and Sat_275 with a distance of 7.9 and 7.8 cM, respectively. Because *RpsYD25* was mapped on MLG N near to *Rps1* locus, the genetic relationship of *RpsYD25* and *Rps1* was detected by using the selected SSR markers contained in the *Rps1k* allele sequence. A SSR marker Rps1k6 in *Rps1k* allele was found to be linked to *RpsYD25* with a genetic distance of 19.4 cM in F_{2:3} population from the crosses Yudou 21×Yudou 25. Therefore, the *Phytophthora*

本研究由国家公益性行业(农业)科研专项(3-20), “十一五”国家科技支撑计划(2006BAD08A08, 2006BAD08A15), 中国农业科学院作物科学研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(082060302-06)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 朱振东, E-mail: zhuzd115@caas.net.cn

第一作者联系方式: E-mail: fan_aiying1205@163.com

Received(收稿日期): 2009-02-08; Accepted(接受日期): 2009-05-31.

resistance gene *RpsYD25* in cv. Yudou 25 might be a novel allele at *Rps1* locus, or a novel gene.

Keywords: *Glycine max*; *Phytophthora* root rot; *Phytophthora sojae*; Resistance gene; SSR marker

大豆在农业生产中占有重要的地位。近年来,由大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)引起的疫霉根腐病在大豆主产区黑龙江省危害日益突出,对该省大豆生产构成严重威胁^[1-2]。此外,大豆疫霉根腐病在我国其他大豆主要产区也有危害的报道,在局部地区造成较大产量损失^[3-5]。防治大豆疫霉根腐病最有效的方法是种植抗病品种^[6-7]。大豆疫霉根腐病在我国发生的历史较短,抗病育种工作也刚刚起步。而国外已经鉴定的 14 个抗大豆疫霉根腐病基因,除 *Rps1c* 和 *Rps1k* 外,都不能有效抵御我国病区大豆疫霉菌种群^[4,8]。迄今,我国已筛选出大量抗疫霉根腐病大豆品种和资源^[7-10],其中一些抗病品种在大豆疫霉根腐病控制中发挥了重要作用,如 2002—2003 年在黑龙江省三江平原大豆疫霉根腐病重病区推广种植以绥农 10 号为主的抗病品种,有效控制了病害的发生(国家“十五”科技攻关项目“大豆重大病虫害可持续控制技术”成果)。然而,大豆疫霉菌具有高度的变异性,大豆品种的抗性容易被克服^[6]。自 1989 年大豆疫霉菌在东北地区首次报道以来其毒力构成已经变得十分复杂^[2,4,11]。加之东北地区特别是黑龙江省大豆品种对疫霉根腐病的抗性相对较弱,因此必须从其他地区引进有效抗源以应对大豆疫霉菌毒力变异^[8,10]。

豫豆 25 是当前黄淮地区广泛栽培的优良大豆品种。该品种由河南省农业科学院 1987 年选育而成,具有蛋白质、脂肪、异黄酮含量高,高产和抗花叶病毒病、紫斑病、炭疽病、抗倒伏等特点,且遗传基础广泛,适应性强^[12]。陈晓玲等^[8]研究表明,豫豆 25 对大豆疫霉菌具有广谱抗性,推测其可能含有新的抗大豆疫霉根腐病基因。本研究对豫豆 25 抗大豆疫霉根腐病基因进行鉴定和作图,以期为该品种的有效利用和抗性基因分子辅助选择育种奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

大豆品种豫豆 25 和豫豆 21 由河南省农业科学院粮油作物研究所提供,早熟 18 由中国农业科学院作物科学所提供。抗大豆疫霉根腐病单基因品种(系) Harlon (*Rps1a*)、Harosoy13XX (*Rps1b*)、Williams79 (*Rps1c*)、PI103091 (*Rps1d*)、Williams82 (*Rps1k*)、

L76-1988 (*Rps2*)、L83-570 (*Rps3a*)、PRX146-36 (*Rps3b*)、PRX145-48 (*Rps3c*)、L85-2352 (*Rps4*)、L85-3059 (*Rps5*)、Harosoy62XX (*Rps6*)、Harosoy (*Rps7*)和 Williams (*rps*)由美国俄亥俄州立大学提供,本研究组繁殖保存。以豫豆 25(P_1)作父本、豫豆 21(P_2)和早熟 18 (P_3)作母本,两个杂交组合 F_1 代自交产生 F_2 代, F_2 代自交产生的 $F_{2:3}$ 家系作为抗性遗传分析和抗病基因鉴定及作图群体。

大豆疫霉菌菌株 PSMC1 由本实验室提供,该菌株的毒力型为 1b、1d、3a、3b、3c、4、5、6 和 7。菌株保存于稀释 V8 汁琼脂培养基,试验前转入含 1%琼脂的胡萝卜培养基平板,在 25℃ 黑暗条件下培养 8~10 d 用于接种。菌株的毒力及用于抗性鉴定的有效性,用苗期下胚轴创伤接种 13 个鉴别品种(系)和豫豆 25、豫豆 21、早熟 18、Williams 进行检测。

1.2 抗病性鉴定

分别选择两个杂交组合的一个 $F_{2:3}$ 代家系群体进行抗性遗传分析和抗病基因作图。采用苗期下胚轴创伤接种方法^[8],每个家系鉴定 10~30 个单株对 PSMC1 反应,参照 Gordon 等^[13]方法评价抗性。接种 6~7 d 后调查植株死亡率,植株死亡率在 0~20% 的为纯合抗病家系,21%~79% 的为抗性分离家系,80%~100% 的为感病家系。

1.3 基因组 DNA 提取和抗感池构建

参照改良的 SDS 法提取大豆基因组 DNA^[14]。每个 $F_{2:3}$ 代家系分别取 10~20 个单株单叶样品,等量混合提取 DNA。按 Michelmores 等^[15]方法构建用于分离群体分组分析(bulk segregant analysis, BSA)的抗、感池。根据抗病性鉴定结果,取 5 个纯合抗病家系等量 DNA 混合建立抗池,取 5 个感病家系 DNA 等量混合建立感池。

1.4 SSR 标记分析

大豆 SSR 引物序列来源于网站 <http://bldg6.arsusda.gov/cregan/soymap.htm>。参照 Demirbas 等^[16]程序略作修改,PCR 体系 20 μ L,含 2 ng μ L⁻¹ 基因组 DNA,10 \times buffer 2 μ L,0.15 μ mol 引物对,4 种 dNTPs 各 150 μ mol L⁻¹,0.5 U *Taq* DNA 聚合酶。扩增程序为 94℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 25 s,47℃ 复性 25 s,72℃ 延伸 30 s,从变性开始循环 30 次;68℃ 延伸 10 min。扩增产物经 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,硝酸银染色后观察记录。

首先在大豆基因组均匀选取 SSR 引物进行豫豆 25 和豫豆 21 之间的多态性标记筛选,再用豫豆 25 和豫豆 21 之间具有多态性的标记筛选抗池和感池。对抗池和感池间具有多态性的标记用 82 个豫豆 21×豫豆 25 组合衍生的 $F_{2:3}$ 代家系基因组 DNA 进行 PCR 扩增。98 个早熟 18×豫豆 25 组合衍生的 $F_{2:3}$ 代家系作为抗病基因作图的验证群体检验豫豆 21×豫豆 25 组合衍生群体抗病基因定位的准确性。在 $F_{2:3}$ 家系中,与豫豆 25 基因型相同的 SSR 标记记为 AA,与豫豆 21 或早熟 18 基因型相同的 SSR 标记记为 BB,杂合基因型记为 AB。

1.5 数据分析

对 $F_{2:3}$ 代家系抗性分离比及 SSR 标记在 $F_{2:3}$ 代家系中的分离模式进行 χ^2 测验。用 Mapmaker 3.0b 软件分析 SSR 标记与抗病基因的连锁关系^[17]。将重组率用 Kosambi^[18]作图方程转换成遗传距离。似然率的十进制对数(LOD)被用作连锁可靠性的检测尺度,如果标记的 LOD 阈值小于或等于 3.0 被认为连锁。

2 结果与分析

2.1 抗病性鉴定

构建作图群体的亲本豫豆 25、豫豆 21 和早熟 18 对大豆疫霉菌 PSMC1 菌株的反应表现型与期望的一致,豫豆 25 抗 PSMC1 菌株,豫豆 21 和早熟 18 对 PSMC1 菌株感病。大豆疫霉菌毒力鉴别品种(系)对 PSMC1 菌株的反应也与期望的一致(数据未显示)^[8]。82 个豫豆 21×豫豆 25 组合衍生的 $F_{2:3}$ 代家系对 PSMC1 菌株的抗性鉴定结果表明,23 个家系为纯合抗病,38 个家系为杂合型,21 个家系为感病,经 χ^2 测验分离比符合期望的 1:2:1;在 98 个早熟 18×豫豆 25 组合衍生的 $F_{2:3}$ 代家系中,对 PSMC1 菌株表现为纯合抗病、杂合和感病的分别有 29、51 和 18 个家系,符合期望的 1:2:1 的分离比例。表明

豫豆 25 对大豆疫霉菌的抗性由一个显性单基因控制。暂将该基因命名为 *RpsYD25*(表 1)。

2.2 与抗病基因 *RpsYD25* 连锁的 SSR 标记鉴定及作图

在大豆分子连锁图谱上随机选择 650 个 SSR 标记筛选豫豆 25 和豫豆 21 之间的多态性标记,发现有 132 个标记具有多态性。将这 132 个标记用于抗池和感池间多态性标记筛选,其中有 7 个标记产生多态性,它们可能与抗病基因连锁。进一步用 82 个豫豆 21×豫豆 25 组合衍生的 $F_{2:3}$ 代家系对这 7 个标记进行与抗病基因的连锁验证,结果表明来源于大豆分子遗传图谱 N 连锁群上的 5 个标记 Sat_208、Satt530、Sat_084、Satt125、Sat_236 与 *RpsYD25* 连锁。这些标记在群体中均呈 1:2:1 分布,为共显性标记(表 2)。

用 Mapmaker 3.0b 软件构建一个 *RpsYD25* 和 5 个连锁 SSR 标记的遗传连锁图(图 1)。在该连锁图上,标记 Satt530 和 Sat_084 位于抗病基因 *RpsYD25* 的两侧,与基因的遗传距离分别为 6.3 cM 和 7.7 cM。

进一步用与 *RpsYD25* 连锁的 5 个 SSR 标记及其在 MLG N 连锁群上相邻的部分其他 SSR 标记对 98 个早熟 18×豫豆 25 杂交组合衍生的 $F_{2:3}$ 家系进行基因型鉴定。连锁分析表明 Satt125、Sat_275、Sat_266、Satt660、GMABAB 等 5 个 SSR 标记与 *RpsYD25* 连锁。这 5 个 SSR 标记在分离群体中呈 1:2:1 分布,为共显性标记(表 3)。用 Mapmaker 3.0b 软件构建抗病基因 *RpsYD25* 及其连锁分子标记的连锁图谱(图 1)。在连锁图上,*RpsYD25* 位于标记 Satt125 和 Sat_275 之间,与这两个标记的遗传距离分别为 7.9 cM 和 7.8 cM。标记 Sat_266、Satt660 和 GMABAB 位于标记 Sat_275 一侧。标记 Satt530、Sat_084、Sat_236 在早熟 18 和豫豆 25 间不存在多态性,没能作图。

表 1 豫豆 21×豫豆 25 和早熟 18×豫豆 25 杂交组合衍生的 $F_{2:3}$ 家系群体对大豆疫霉菌抗性的遗传分离

Table 1 Genetic segregation of resistance to *Phytophthora sojae* in the $F_{2:3}$ families derived from the crosses of Yudou 21×Yudou 25 and Zaoshu 18×Yudou 25

品种和组合 Cultivar and cross	世代 Generation	数量 Amount	观察值 Observed number			期望比 Expected ratio	χ^2
			纯合抗病 R	分离 Rs	纯合感病 S		
豫豆 25 Yudou 25	P ₁	30	30	—	0	—	—
豫豆 21 Yudou 21	P ₂	30	0	—	30	—	—
早熟 18 Zaoshu 18	P ₃	30	0	—	30	—	—
Yudou 21×Yudou 25	$F_{2:3}$	82	23	38	21	1:2:1	0.54
Zaoshu 18×Yudou 25	$F_{2:3}$	98	29	51	18	1:2:1	2.62

R: 纯合抗性; Rs: 分离; S: 纯合感病。

R: homozygous resistant; Rs: segregating; S: homozygous susceptible.

表 2 基因 *RpsYD25* 及其连锁的 SSR 标记在豫豆 21 与豫豆 25 衍生的 $F_{2:3}$ 家系群体中的分离
 Table 2 Segregation of the gene *RpsYD25* and linked SSR markers in $F_{2:3}$ families from Yudou 21 × Yudou 25

基因标记 Gene/marker	株数 No. of $F_{2:3}$ plants	观察值 Observed number			期望比 Expected ratio	χ^2	P
		AA	AB	BB			
<i>RpsYD25</i>	82	23	38	21	1:2:1	0.54	0.75–0.90
Sat_208	82	18	38	24	1:2:1	1.40	0.25–0.50
Satt530	82	15	39	27	1:2:1	3.63	0.10–0.25
Sat_084	82	21	39	22	1:2:1	0.65	0.50–0.75
Satt125	82	17	37	27	1:2:1	3.04	0.10–0.25
Sat_236	82	19	42	20	1:2:1	0.58	0.50–0.75

AA: 豫豆 25 的表现型或基因型; AB: 杂合基因型; BB: 豫豆 21 表现型或基因型。

AA: phenotype or genotype of Yudou 25; AB: heterozygous genotype; BB: phenotype or genotype of Yudou 21.

表 3 基因 *RpsYD25* 及其连锁的 SSR 标记在早熟 18 与豫豆 25 衍生的 $F_{2:3}$ 家系群体中的分离
 Table 3 Segregation of the gene *RpsYD25* and linked SSR markers in $F_{2:3}$ families from Zaoshu 18 × Yudou 25

基因标记 Gene/marker	株数 No. of $F_{2:3}$ plants	观察值 Observed number			期望比 Expected ratio	χ^2	P
		AA	AB	BB			
<i>RpsYD25</i>	98	29	51	18	1:2:1	2.62	0.25–0.50
Satt125	98	25	54	19	1:2:1	1.76	0.25–0.50
Sat_275	98	25	53	20	1:2:1	0.86	0.50–0.75
Sat_266	98	20	57	21	1:2:1	2.63	0.25–0.50
Satt660	98	26	51	21	1:2:1	0.67	0.50–0.75
GMABAB	98	22	54	22	1:2:1	1.02	0.50–0.75

缩写同表 2。Abbreviations as in Table 2.

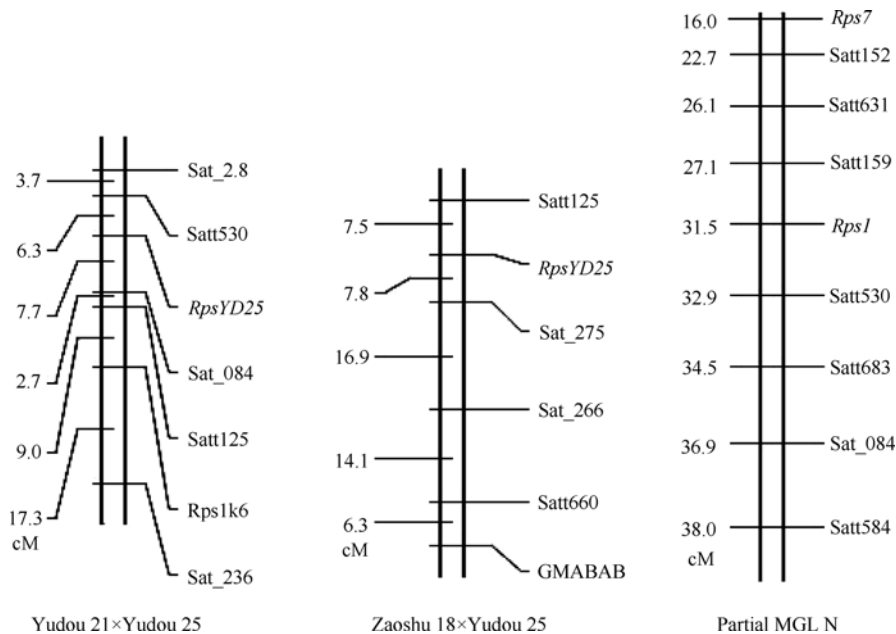


图 1 大豆 N 分子连锁群上抗疫霉根腐病基因 *RpsYD25* 及其连锁的 SSR 标记遗传连锁图
 Fig. 1 Genetic linkage map of *Phytophthora* resistance gene *RpsYD25* and the linked SSR markers on MLG L of soybean

3 讨论

3.1 豫豆 25 对大豆疫霉菌的抗性遗传及抗病基因定位

大豆对大豆疫霉菌存在两种类型的抗性, 一种

为由显性单基因控制的质量抗性, 符合典型的基因对基因关系; 一类为多个基因控制的数量抗性, 称之为部分抗性或耐病性。1957 年 Bernard 等^[19]首次分析大豆对疫霉根腐病的抗性遗传, 证明了大豆对疫霉根腐病的抗性遗传是受显性单基因控制, 并鉴

定了第一个抗疫霉根腐病基因 *Rps1*。迄今,已在大豆中鉴定了15个抗疫霉病基因(*Rps1*~*Rps8*, *RpsYB30*)。此外,几个抗大豆疫霉根腐病 QTL 也被鉴定。陈晓玲等^[8]研究表明,豫豆25对大豆疫霉菌具有广谱抗性,推测可能含有新的抗大豆疫霉根腐病基因。本研究表明豫豆25对大豆疫霉菌的抗性由一个显性单基因控制,并将该基因暂定名为 *RpsYD25*。利用 SSR 标记分析两个作图群体均将 *RpsYD25* 定位于大豆分子连锁图谱的 MLG N 连锁群。

被作图的 SSR 标记在早熟 18×豫豆25 衍生群体构建的遗传连锁图上的顺序与 Song 等^[20]整合的大豆遗传连锁图谱上的完全一致,而在由豫豆21×豫豆25 衍生群体构建的遗传连锁图上 SSR 标记的顺序与 Song 等^[20]、Cregan 等^[21]、Sandhu 等^[22]、Sugimoto 等^[23]和 Weng 等^[24]整合的大豆遗传连锁图谱上的稍有差异,仅标记 Sat_208 的位置有所改变。然而,两个作图群体构建的 *RpsYD25* 及其连锁的 SSR 标记遗传连锁图之间存在一定的差异。由于亲本间多态性标记的差异,只有一个 SSR 标记 Satt125 同时被作在两个遗传连锁图上,且该标记在连锁图上的位置与 *RpsYD25* 的遗传距离存在差异。由于作图群体的不同,不是所有已开发的标记都能被作图,而被作图的标记在连锁图上的位置及标记间的距离可能会存在差异,这些差异在以往的研究中均能看到。

用连锁的分子标记进行辅助选择,标记的可靠性和有效性是获得成功的重要因素。一般认为用单个分子标记进行分子辅助选择时,标记与目的基因的连锁距离不应超过 5 cM; 用与目的基因连锁的两个侧翼标记进行选择,准确性将极大地提高^[25]。在本研究豫豆21×豫豆25 衍生的作图群体中, *RpsYD25* 被定位在标记 Satt530 和 Sat_084 之间,与两个标记的遗传距离分别为 6.3 cM 和 7.7 cM。在理论上,用这两个标记单独进行基因鉴定的准确率分别为 93.7%和 92.3%,同时用两个标记进行基因型鉴定准确率可以提高到 99.03%,可以满足分子辅助选择的要求。但是,两个作图群体获得的与 *RpsYD25* 连锁的 SSR 标记各不相同,进行辅助选择时标记的有效性将受到限制。因此,为了有效利用 *RpsYD25*, 还必需开发新的紧密连锁标记。

3.2 基因 *RpsYD25* 与 *Rps1*、*Rps7* 的关系

迄今,已有 6 个大豆抗疫霉根腐病基因定位在大豆分子遗传连锁群 N 连锁群上,即 *Rps1* 座位的 *Rps1a*、*Rps1b*、*Rps1c*、*Rps1d*、*Rps1k* 和 *Rps7*。它

们都已获得连锁的分子标记^[16,22-24,26-27]。在 Weng 等^[24]构建的遗传连锁图上 *Rps1a* 定位在 SSR 标记 Satt159 和 Satt009 之间,距离分别为 0.7 cM 和 3.2 cM, *Rps7* 位于 Satt009 一侧,与其遗传距离为 10.6 cM。在 Gordon 等^[13]整合的遗传连锁图上, *Rps1* 位于 SSR 标记 Satt159 和 Satt530 之间,距离分别为 4.4 cM 和 1.4 cM, *Rps7* 位于标记 Satt159 一侧,与之相距 11.1 cM。最近, Sugimoto 等^[23]鉴定了与 *Rps1d* 连锁的 SSR 标记, Satt152 和 Sat_186 在其两侧,遗传距离分别为 11.5 cM 和 5.7 cM。本研究应用两个作图群体都将豫豆25 抗疫霉根腐病基因 *RpsYD25* 作图在 MLG N 连锁群,在已作图的与 *Rps1* 和 *Rps7* 连锁 SSR 标记中,有两个 SSR 标记 Satt530 和 Satt125 被分别作图在 1 个或 2 个 *RpsYD25* 遗传连锁图上。在 Weng 等^[24]的遗传连锁图上, Satt125 与 *Rps1a* 和 *Rps7* 的作图顺序为 *Rps1a*-*Rps7*-Satt125, 遗传距离分别为 32.9 cM 和 19.1 cM, 本研究中 Satt125 与 *RpsYD25* 在两个图上的顺序分别 *RpsYD25*-Satt125 和 Satt125-*RpsYD25*, 遗传距离分别为 10.4 cM 和 7.9 cM, 与 *Rps1a* 和 *Rps7* 的推测距离分别为 22.5 cM 和 11.2 cM, 或 40.8 cM 和 27 cM。在由豫豆21×豫豆25 衍生群体构建的遗传连锁图上, *RpsYD25* 与 Satt530 作图顺序为 Satt530-*RpsYD25*, 连锁距离为 6.3 cM, 而在 Gordon 等^[13]整合的遗传连锁图上, *Rps1* 和 *Rps7* 与 Satt530 的作图顺序为 *Rps7*-*Rps1*- Satt530, 遗传距离分别为 1.4 cM 和 16.9 cM, 因此 *RpsYD25* 与 *Rps1* 和 *Rps7* 的推测距离分别为 7.7 cM 和 23.1 cM。

最近, Gao 等^[28]克隆了大豆抗疫霉根腐病基因 *Rps1k*。该基因(EU450800)序列全长 184 111 bp, 含有大量的 SSR。我们选择 *Rps1k* 基因中的一些 SSRs 设计引物,扩增 Williams、Williams82、豫豆25、豫豆21 和早熟 18 基因组 DNA, 希望获得与 *Rps1k* 共分离的 SSR 标记或与 *RpsYD25* 连锁的 *Rps1k* 基因标记。结果表明,一对引物在豫豆21 和豫豆25 间产生多态性,该标记定名为 Rps1k6(包含基因序列中 64 809~65 145 区段 337 bp)。用 Rps1k6 检测 82 个豫豆21×豫豆25 衍生的 F_{2:3} 家系的基因型,连锁分析表明该标记与 *RpsYD25* 连锁。将 Rps1k6 与 *RpsYD25* 及其他连锁 SSR 标记作图, Rps1k6 作图在 Sat_084 一侧,与 *RpsYD25* 的遗传距离为 19.4 cM(图 1)。

综合以上分析和研究结果, *RpsYD25* 与 *Rps1* 连锁,但是否为 *Rps1* 座位上的一个新等位基因,还是一个新的基因还需要进一步研究。

4 结论

大豆品种豫豆 25 对大豆疫霉菌的抗性是由一个显性单基因控制, 该基因被定名为 *RpsYD25*, 定位在大豆分子遗传图谱 N 连锁群 SSR 标记 att530 和 Sat_084 之间, 与两个标记的遗传距离分别为 6.3 cM 和 7.7 cM。豫豆 25 是迄今国内筛选出的对大豆疫霉根腐病抗性最好的大豆品种之一, *RpsYD25* 基因的鉴定与作图将为该品种抗性的利用提供便利。

References

- [1] Han X-Z(韩晓增), He Z-H(何志鸿), Zhang Z-M(张增敏). Methods for controlling major diseases and pests in soybean. *Soybean Bull* (大豆通报), 1998, (6): 5-6 (in Chinese)
- [2] Ma S-M(马淑梅), Ma C-Y(马成云), Yao W-Q(姚文秋). The investigation on the region harmed by soybean *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* Kuan & Erwin and the research of pathogenicity diversity. *Agric Technol* (农业与技术), 2007, 27(2): 41-44 (in Chinese with English abstract)
- [3] Chen Q-H(陈庆河), Weng Q-Y(翁启勇), Wang Y-C(王源超), Zheng X-B(郑小波). Identification and sequencing of ribosomal DNA-ITS of *Phytophthora sojae* in Fujian. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 2004, 34(2): 112-116 (in Chinese with English abstract)
- [4] Zhu Z-D(朱振东), Wang H-B(王化波), Wang X-M(王晓鸣), Chang R-Z(常汝镇), Wu X-F(武小菲). Distribution and virulence diversity of *Phytophthora sojae* in China. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2003, 36(7): 793-799 (in Chinese with English abstract)
- [5] Wang H(王华), Li G-Y(李国英), Zhan Y(战勇), Wang P(王朴), Zhang P(张萍). Identification of *Phytophthora* root rot of soybean in Xinjiang. *Xinjiang Agric Sci* (新疆农业科学), 2006, 43(2): 106-108 (in Chinese with English abstract)
- [6] Schmitthenner A F. Problems and progress in control of *Phytophthora* root rot of soybean. *Plant Dis*, 1985, 69: 362-368
- [7] Zhu Z-D(朱振东), Wang X-M(王晓鸣), Chang R-Z(常汝镇), Ma S-M(马淑梅), Wu X-F(武小菲), Tian Y-L(田玉兰). Identification of races of *Phytophthora sojae* and reaction of soybean germplasm resources in Heilongjiang province. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2000, 33(1): 62-67 (in Chinese with English abstract)
- [8] Chen X-L(陈晓玲), Zhu Z-D(朱振东), Wang X-M(王晓鸣), Xiao Y-N(肖炎农), Wu X-F(武小菲). Postulation of *Phytophthora* resistance genes in soybean cultivars or lines. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2008, 41(4): 1227-1234 (in Chinese with English abstract)
- [9] Zhu Z-D(朱振东), Huo Y-L(霍云龙), Wang X-M(王晓鸣), Huang J-B(黄俊斌), Wu X-F(武小菲). Screening for resistance sources to *Phytophthora* root rot in soybean. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2006, 7(1): 24-30 (in Chinese with English abstract)
- [10] Wang X-M(王晓鸣), Zhu Z-D(朱振东), Wang H-B(王化波), Wu X-F(武小菲), Tian Y-L(田玉兰). The resistance of soybean germplasm to *Phytophthora* root rot. *J Plant Genetic Resour* (植物遗传资源学报), 2001, 2(2): 22-26 (in Chinese with English abstract)
- [11] Zhang S-Z(张淑珍), Wu J-J(吴俊江), Xu P-F(徐鹏飞), Li W-B(李文滨), Zuo Y-H(左豫虎), Qiu L-J(邱丽娟), Chang R-Z(常汝镇), Chen C(陈晨), Wang J-S(王金生), Yu A-L(于安亮), Jin L-M(靳立梅). Identification of virulence *Phytophthora sojae* in Heilongjiang province and the first report on race 15 in China. *Chinese J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 2008, 30: 229-234 (in Chinese with English abstract)
- [12] Li W-D(李卫东), Liang H-Z(梁慧珍), Lu W-G(卢为国), Xu J-J(许景菊). Several trait analysis of genetic background and yield of soybean Yudou 25. *Seed* (种子), 1999, (4): 78-79 (in Chinese)
- [13] Gordon S G, St Martin S K, Dorrance A E. *Rps8* maps to a resistance gene rich region on soybean molecular linkage group F. *Crop Sci*, 2006, 46: 168-173
- [14] Sharp P J, Kreis M, Shewry P R, Gale M. Location of β -amylase sequence in wheat and its relatives. *Theor Appl Genet*, 1988, 75: 289-290
- [15] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 9828-9832
- [16] Demirbas A, Rector B G, Lohnes D G, Fioritto R J, Graef G L, Cregan P B, Shoemaker R C, Specht E. Simple sequence repeat markers linked to the soybean *Rps* genes for *Phytophthora* resistance. *Crop Sci*, 2001, 41: 1220-1227
- [17] Lander E S, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly M J, Lincoln S E, Newburg L. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1987, 1: 174-181
- [18] Kosambi D D. The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen*, 1944, 12: 172-175
- [19] Bernard R L, Smith P E, Kaufmann M J, Schmitthenner A F. Inheritance of resistance to *Phytophthora* root and stem rot in the soybean. *Agron J*, 1957, 49: 391
- [20] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, Lark K G, Concibido V C, Delannay X, Specht J E, Cregan P B. A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 122-128
- [21] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, Shoemaker R C, Lark K G, Kahler A L, Kaya N, VanToai T T, Lohnes D G, Chung J, Specht J E. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. *Crop Sci*, 1999, 39: 1464-1490
- [22] Sandhu D, Schalllock K G, Rivera-Velez N, Lundeen P, Cianzio S, Bhattacharyya M K. Soybean *Phytophthora* resistance gene *Rps8* maps closely to the *Rps3* region. *J Hered*, 2005, 96: 536-541
- [23] Sugimoto T, Yoshida S, Watanabe K, Aino M, Kanto T, Maehawa

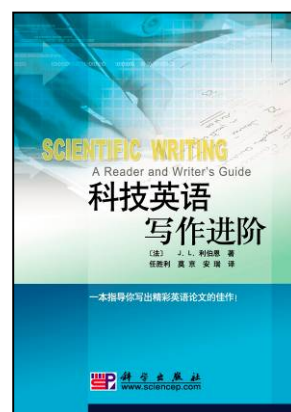
- K, Irie K. Identification of SSR markers linked to the *Phytophthora* resistance gene *Rps1-d* in soybean. *Plant Breed*, 2008, 127: 154–159
- [24] Weng C, Yu K, Anderson T R, Poysa V. Mapping genes conferring resistance to *Phytophthora* root rot of soybean, *Rps1a* and *Rps7*. *J Hered*, 2001, 92: 442–446
- [25] Bertrand C Y C, Mackill D J. Marker-assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2008, 363: 557–572
- [26] Bhattacharyya M K, Narayanan N N, Gao H, Santra D K, Salimath S S, Kasuga T, Liu Y, Espinosa B, Ellison L, Marek L, Shoemaker R, Gijzen M, Buzzell R I. Identification of a large cluster of coiled coil-nucleotide binding site-leucine rich repeat-type genes from the *Rps1k* region containing *Phytophthora* resistance genes in soybean. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 75–86
- [27] Kasuga T, Salimath S S, Shi J, Gijzen M, Buzzell R I, Bhattacharyya M K. High resolution genetic and physical mapping of molecular markers linked to the *Phytophthora* resistance gene *Rps1-k* in soybean. *Mol Plant Microbe Interact*, 1997, 10: 1035–1044
- [28] Gao H, Bhattacharyya M. The soybean *Phytophthora* resistance locus *Rps1-k* encompasses coiled coil-nucleotide binding-leucine rich repeat-like genes and repetitive sequences. *BMC Plant Biol*, 2008, 8: 29

科学出版社生物分社新书推介

《科技英语写作进阶》

[法] J. L. 利伯恩 著 任胜利 莫京 安瑞 译
978-7-03-024928-9 ¥35.00 2009年7月 出版

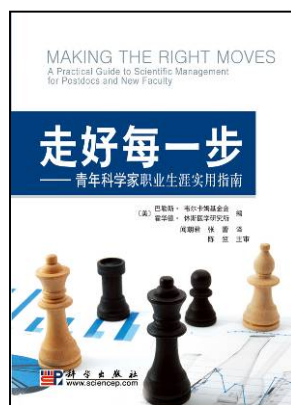
本书从方便读者阅读、满足读者期望的角度出发，阐述了英语科技论文的写作技巧。作者首先结合自己长期从事英文科技写作培训的实践，从语法、逻辑、知识衔接等方面分析了如何确保读者阅读所需要的时间、记忆和精力最小化，同时保持阅读的注意力和动机最大化。在此基础上，作者从论文题名、摘要、标题/次级标题、引言、图表、结论等方面详细阐述了科技论文写作的技巧与诀窍。本书的特色是实例丰富，深入浅出，适合非英语母语的科研人员进行科技写作时参考。



《走好每一步》——青年科学家职业生涯实用指南

[美] 巴勒斯·韦尔卡姆基金会 霍华德·休斯医学研究所 编
闻朝君 张蕾 译 陈竺 主审
978-7-03-025017-9 ¥36.00 2009年7月 出版

科学事业生涯处于起步阶段的青年生物医学科学家可能面临诸多挑战，需要同时做好研究、教学、管理以及临床工作等多方面的工作。本书针对这些挑战，根据美国众多知名大学教授的亲身经验，在应聘求职、时间管理、实验室管理、申请基金、发表论文等多方面给青年科学家提出了实用的建议和方法，指导他们如何走好自己科学生涯的每一步，从而获得事业的成功。本书是生物医学领域青年科学家职业生涯的实用指南，适合科研院所及高校相关专业的教学科研人员、研究生以及本科生参考阅读。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址：北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编：100717

联系人：周文字 李韶文 联系电话：010-64031535, 64000849

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>，欢迎致电索要书目