

# 利用分子标记评价大豆种质的研究进展<sup>\*</sup>

邱丽娟 常汝镇 许占友 李向华 孙建英  
刘立宏 郭 蓓 郑翠明 韩春雨

(中国农业科学院作物品种资源研究所,大豆分子生物学实验室,北京 100081)

## 摘 要

中国农业科学院品种资源研究所大豆分子生物学实验室“九五”期间承担了大豆重要基因的分子标记和利用生物技术创造农作物特异新种质等国家科技攻关项目。经过三年的研究,已完成大豆耐盐性基因的分子标记,并申请了国家专利。在抗大豆花叶病毒病(SMV)基因标记、大豆遗传多样性评价、分子标记辅助育种和种质创新等方面也取得重要进展。

**关键词** 大豆;分子标记;遗传多样性

“九五”开始中国农科院品资所组建了大豆分子生物学实验室,本实验室属品资所的农业部作物种质资源与生物技术重点开放试验室的组成部分。研究内容包括大豆优良种质评价、利用与创新,利用生物技术创造农作物特异新种质,以及分子标记在鉴定种质资源和辅助育种中的应用等。

现将有关研究进展按(1)大豆重要基因的分子标记;(2)大豆种质遗传多样性的分子标记评价;(3)分子标记辅助大豆育种三个方面简述如下。

### 1 大豆重要基因的分子标记

包括大豆耐盐性基因、大豆花叶病毒病抗性基因、和大豆质核互作雄性不育恢复基因的分子标记研究,目的在于建立起一套快速、准确、高效的筛选方法,实现对这些基因的分子标记辅助育种。

1.1 大豆耐盐基因分子标记:全球气候变暖,海平面上升使土壤盐渍化日趋严重,加之可耕地面积在逐年减少,开发和利用盐碱地具有重要意义。利用 BSA (Bulk Segregation Analysis)法鉴定出一个多态性引物,在耐盐和盐敏感材料中都扩增出 PCR产物。经分离后代初步鉴定为共显性。与耐盐、盐敏感基因共分离的 PCR标记 (Guo et al., 1998)。通过对三个不同组合“文丰 7 $\times$  Union”,“锦豆 33 $\times$  Hark”和“铁丰 8 $\times$  早熟 6”F<sub>2</sub>代分析,该标记与耐盐基因的遗传距离为 0-2.5cM。用大豆耐盐基因分子标记分析大豆品种资源,符

<sup>\*</sup> 收稿日期 1999-03-11  
Received on March 11, 1999

合田间耐盐性鉴定结果,证明获得的标记可用于大豆品种资源耐盐鉴定和育种后代的分子标记辅助选择(郭蓓等,1999)。从而,用室内鉴定代替了田间鉴定,使大豆耐盐性鉴定具有不受环境条件和植物发育时期的影响,且不需要重复,能进行大批量筛选的优点。由于是共显性标记,在育种后代中可区分纯合与杂合个体。因此,大豆耐盐基因标记及该标记获得的方法与应用已申请国家专利(邱丽娟等,1998)。

1.2 抗大豆花叶病毒病基因分子标记:大豆花叶病毒病(Soybean Mosaic Virus SMV)是我国大豆生产的主要病害。在东北大豆主产区,3号株系致病力强,抗源少,一旦流行将严重影响大豆生产。对“95-5383(抗SMV)×HB-1(感SMV)” $F_2$ 分离个体人工接种东北3号株系,根据鉴定结果选取抗、感单株分别提取基因组DNA并等量混合。用BSA法筛选出一个与抗SMV基因有关的分子标记,(Zeng等,1999)经 $F_2$ 群体分析,该共显性标记与抗SMV基因和感SMV基因紧密连锁。

1.3 大豆质核互作雄性不育恢复基因的分子标记: Xu等阐述了大豆质核互作雄性不育的“三系”培育过程,分析了大豆质核互作雄性不育系的不育基因遗传规律(Xu et al. 1999a)。用2个不育系和5个恢复系的核基因组DNA为模板,从60对SSR核心引物中筛选出3对多态性SSR引物。这3对引物在两个不育系,5个恢复系之间扩增出特异产物,表明这3个SSR标记是与恢复基因有关的3个等位位点(许占友等,1999)。

## 2 大豆种质遗传多样性的分子标记评价

2.1 用RAPD标记评价中美大豆种质:为探索利用美国大豆种质拓宽中国大豆品种的遗传基础,在系谱分析的基础上开展了中美大豆种质遗传多样性比较研究。实验共选用57个中国大豆的祖先亲本及衍生亲本(提供约80%育成品种遗传物质)和18个美国大豆种质(提供了美国85%育成品种的遗传物质)。通过RAPD分析,51个随机引物在75个大豆种质中共扩增出可分辨PCR产物246个。经聚类分析发现:(A)中国种质与美国种质分聚在不同类别;(B)两国内的南北方种质分聚不同亚类。明显的地理差异为从美国引种和利用中国不同地区大豆品种拓宽现有育成品种的遗传基础提供了理论依据(邱丽娟等,1998)。

2.2 用RAPD和SSR标记评价中国大豆特异种质:根据“七五”、“八五”大豆种质评价结果,选择耐旱性、耐冷性、耐盐性、抗大豆孢囊线虫3号小种(SCN3)、抗SCN4、抗SMV、抗锈病、粗蛋白含量、百粒重等9个不同性状,从中国大豆品种资源中选择两极材料各4-10份共90份,用1份野生大豆作对照。完成了91份种质的12个SSR引物和57个随机引物分析。平均每个SSR引物可扩增6个等位位点,SSR分析结果聚类表明,野生大豆不同于其它90份栽培大豆种质分离在各组之外(Xu et al., 1999b)。90份栽培大豆种质聚为7组。在57个随机引物中,有1个随机引物在91份种质中都扩增出特异带,可用于绘制大豆品种资源的指纹图谱。

2.3 用RAPD标记评价中国大豆主产区种质: Chen等(1998)从中国的三个大豆主产区依不同地理条件选取有代表性的40份栽培大豆,进行RAPD标记分析。用31个随机引物扩增出241个标记带,其中125个具有多态性。聚类分析表明,RAPD多态性结果与实际地理环境造成的多态性结果基本一致,并且能很好的重复,可以有效的反映我国大豆的遗传多态性。

### 3 分子标记在大豆育种中的应用

3.1 用分子标记分析育成品系: 三个种间杂交育成的品系 8702- 2- 4, 8702- 2- 8, 8650- 1- 4都是从组合“(固新野生大豆× 承豆 1号)× 通交 81- 1543”中选育出来的, 共筛选了 79个引物, 其中 15个引物在亲本间具有多态性共扩增 117个位点。通过对亲本及后代品系基因组 DNA的 RAPD位点分析, 探讨后代 DNA的来源。野生大豆特异位点明显多于栽培大豆, 证明了野生大豆遗传基础比较丰富, 用其拓宽栽培大豆遗传基础是可行的, 在 F<sub>1</sub>代用通交 81- 1543回交比 F<sub>2</sub>代回交, 能较多地保持野生大豆的遗传物质。后代中使亲本的弱带增强出现亲本没有的位点可能是产生超亲遗传或杂种优势的证据。RAPD分析结果与后代的选育过程比较吻合 (Zeng et al., 1999)。

3.2 利用分子标记加速培育大豆种子脂肪氧化酶缺失近等基因系: 近等基因系是进行遗传分析、基因分子标记和克隆、改良品种的理想试验材料。大豆籽粒中的脂肪氧化酶 (LOX)是抗营养因子, 加工中多采用加热或微波处理的方法去除, 但是耗资费力。因此, 培育种子缺失 LOX大豆不仅具有理论价值, 而且具有经济效益。我所引进了 LOX缺失体的近等基因系, 试种结果表明, 美国的 Century近等基系仍在继续分离, 对 SMV感病, 表现为花叶、综和农艺性状差、产量较低; 而日本的 Suzuyutaka近等基因系亦对 SMV感病, 多表现为顶芽枯死, 严重时绝产。通过选用黄淮地区早熟、抗病、高产和优质夏大豆品种鲁豆 4号作为 LOX缺失体的受体进行转育, 韩春雨正在对鉴定出的 LOX缺失个体进行分子标记辅助选择, 旨在使回交次数从常规育种方法所用的六次缩短至三到四次, 从而为分子标记辅助育种和种质创新提供理论依据, 并创造出我国无豆腥味的优良大豆种质。

### 参 考 文 献

- [1] 许占友等, 1999, 大豆“三系”的选育及恢复基因的 SSR遗传定位, 中国农业科学, 32(2)
- [2] 邱丽娟等, 1996, 利用 RAPD标记鉴定大豆种质, 作物学报, 23(4): 408- 417
- [3] 邱丽娟等, 1998, 大豆耐盐分子标记的获得方法和应用, 国家专利, 专利申请号 98111783 X
- [4] Guo. Pei et al., 1998, A RAPD marker tightly linked to the salt tolerant gene in soybean. Soybean Genetic Newsletter. V25 18- 19
- [5] Xu Zhanyou, et al., 1999a, Development of Soybean "three lines" and tagging the restorer genes using SSR markers. Proceedings of World Soybean Research Conference VI 429
- [6] Xu Zhanyou, et al., 1999b, Using SSR markers to evaluate genetic diversity of soybean in China. Proceedings of World Soybean Research Conference VI
- [7] Zeng et al., 1999a, Tagging resistant gene to soybean mosaic virus by molecular markers in Soybean, Accepted by World Soybean Research Conference VI 432- 433
- [8] Zheng Cuiming et al., 1996b, Genetic variation of three progenies from the same cross by RAPD markers. Proceedings of World Soybean Conference VI. 456

## ADVANCES IN EVALUATION OF SOYBEAN GERMPLASM BY USING MOLECULAR MARKERS

Qiu Lijuan Chang Ruzhen Xu Zhanyou Li Xianghua Sun Janying  
Chen Yiwu Liu Lihong Cuo pei Zeng Cuiming Han Chunyu

*(Soybean Molecular Biology Laboratory of Institute of Crop  
Germplasm Resources, CAAS, Beijing 100081)*

### Abstract

Soybean Molecular Biology Laboratory at Institute of Crop Germplasm Resources CAAS, has been carrying on several research projects including the molecular tagging important genes, genetic diversity of germplasm and markers assisted selection in soybean during the ninth- five- year. So far, the PCR marker has been identified to be associated with salt tolerant gene in soybean, which was applied for patent in China. The important progress also has been made in identification of molecular markers associated with SMV resistant gene, evaluation genetic diversity for soybean germplasm, application of molecular markers in soybean breeding and generating novel germplasms.

**Key words** Soybean; Molecular markers; Genetic diversity