

# 大豆表达序列标记 ( EST) 研究进展<sup>\*</sup>

许占友 常汝镇 邱丽娟 李向华

(中国农业科学院作物品种资源研究所, 100081 北京)

## ADVANCES OF SOYBEAN EXPRESSED SEQUENCE TAGS

Xu Zhanyou Chang Ruzhen Qiu Lijuan Li Xianghua

(*Institute of Crop Germplasm Resources, CAAS, Beijing 100081*)

大豆基因组含有  $1.3 \times 10^9$ bp 的核苷酸, 贮藏着调控大豆的发芽、生长、开花、结荚、衰老以及死亡的所有遗传信息。测定大豆基因组序列对于揭示大豆的遗传变异、发育和分化的奥秘, 阐明大豆抗病、抗虫、抗逆、高产和高品质的 DNA 结构及调控机理, 并依此确定培育产量高、品质好、抗病虫和适应性广的超级大豆新品种, 开发有利于人类身心健康和对人类疾病可以食疗的基因工程大豆副产品, 均有着十分重大的意义。自从 1989 年美国启动人类基因组计划以来, 国际社会迅速响应并开展了这一宏伟的生命科学工程。科学家们在酝酿、实施人基因组计划的初始就面临着两派不同的意见, 一派主张直接测定人基因组的全部序列, 另一派主张优先测定具有编码信息的基因序列即 cDNA 序列——这就是所谓的 cDNA 计划。后者认为 cDNA 仅占整个基因组的 3% - 5%, 测序速度快、费用低、效益高。两派互不相让, 结果基因组和 cDNA 测序同时展开, 二者相互促进。广义的 cDNA 计划包括基因表达序列的鉴定、全长 cDNA 的克隆与测序、基因的染色体定位、基因的功能分析等; 狭义的 cDNA 计划是指大规模地测定从 cDNA 文库中挑选出的克隆的 5'、3' 端序列, 这就是 EST 计划。EST (Expressed Sequence Tags) 是长约 300-400 个核苷酸并可用于染色体定位的基因表达的双链 DNA 序列片段。EST 的标记过程是, 首先回收细胞中的 mRNA, 把 mRNA 反转录成 cDNA, 并把反转录的 cDNA 克隆到质粒或噬菌体等克隆载体上, 构建该物种某一发育阶段的 cDNA 文库, 然后大规模、随机地挑选 cDNA 文库中的克隆或通过某种方法筛选 cDNA 中的某些克隆, 最后对 cDNA 克隆的 5' 及 3' 进行测序, 进而得到一个 EST。由于绝大多数的 mRNA 3' 端含 poly(A), cDNA 3' 端定向克隆和定向测序便成为 EST 的首选方法。大豆基因组计划截止于 1999 年 6 月, 还没有落实。但大豆 EST 计划在人类基因组计划运行 10 年后, 才于 1998 年 3 月正式启动。本文着重介绍大豆 EST 计划的内容、组织、最新发展以及 EST 的应用。

\* 收稿日期 1999-06-28  
Received on June 28, 1999

1 大豆 EST计划及其主要内容

大豆 EST计划是在美国国家自然科学基金 (National Science Foundation, NSF)资助下, 经美国大豆科学家、大豆种植者经几次会议商议于 1998年 3月启动的。在这次会议上初步决定,由 Randy Shoemaker实验室、Lila Vodkin实验室和 Paul Keim实验室负责大豆 cDNA文库的构建; David Smoller实验室负责菌落的培养、繁殖、分发、挑选 cDNA克隆和对菌落的排序,确保是整个 cDNA文库的全部菌落;华盛顿大学负责 cDNA的测序、序列分析、DNA与氨基酸及多肽间的对应关系,并负责建立大豆 EST数据库,向公众开放。

大豆 EST计划的目的是克隆并解码 300,000个基因,全世界的科学家都可以通过 Internet查阅与其相关的 Database。大豆 EST计划的目标如下:

- a 组建一个大豆 EST科研协作组,利用世界大豆遗传资源,改善和提高大豆产业。
- b 构建具有实验室特点的分子标记的大豆不同发育时期和植株不同部位的 cDNA文库,筛选 300,000个与经济性状有关的 EST。
- c 利用 cDNA文库,筛选更多的基因序列,构建大豆的 EST图谱,与大豆基因组计划形成优势互补。
- d 开发一种与常规 EST方法不同的鉴定新基因的新方法。
- e 开发一套计算机软件,利用该软件可以对 EST的 Database进行查寻、分类、利用 EST数据。
- f 以最早的时间,使实验结果以最快的方式向感兴趣的研究人员传送 (研究小组拥有产权)。

表 1 大豆 EST计划协作组的科学家 (investigators)  
Table 1 Soybean EST project principal investigators

姓名 NAME	职务 TITLE	单位 WORK POSITION	电子信箱 E- MAIL
Randy Shoemaker	遗传学家	依阿华州立大学,农学系	rcsshoe@ iastate. edu
Paul S. Keim	系主任	北亚利桑那大学,生物系	kein@ nauvax. ucc- nau. edu
Lila Vodkin	教授	伊利诺大学,作物科学系	lv- odkin@ uiuc. edu
Robert Waterston	主任	华盛顿大学医学院基因组测序中心	mmarra@ alu- wustl. edu
Marco Marra	副主任	华盛顿大学医学院基因组测序中心	mmarra@ alu. wustl. edu
David Smoller	主任	密苏里圣路易斯城基因组系统	dave@ genom esystems. com
Ernest Retzel	院长	明尼苏达大学,计算机与生物信息学院	ernes@ lenti. med. umn. edu

2 大豆 EST计划研究进展

1998年 3月 1日至 1999年 2月 28日为 EST计划启动的第一年,预期目标是 cDNA文库的构建和大豆 EST数据库 Database程序的编写。

EST计划的第一年是构建足够的高质量 cDNA文库。三个实验室分别负责三个方面的 cDNA文库的构建。在文库构建的过程中将每一个 cDNA克隆上插入具有实验室特点的分子标记,为以后克隆的鉴定打下基础。Keim 实验室负责根部和与根部环境相关 (SCN 感染、根瘤等)的 cDNA文库构建; Vodkin 实验室负责种子、种皮、荚部分的 cDNA文库构建; Randy Shoemaker 实验室负责其它地上部分,包括叶片、茎、花等的 cDNA文

库的构建 目前这些 cDNA文库构建已经完成 ,并交于 David Smoller实验室 ,由该实验室负责把所有的 cDNA文库中的克隆复制 ,一份交核苷酸测序中心 ,一份交原 cDNA文库构建单位 ,剩余部分贮藏于 Smoller实验室 ,以备其他需要的科学家索要

华盛顿大学负责把从 Smoller实验室送来的 cDNA克隆进行测序、计算机程序设计、DNA核苷酸序列分析、去除被污染的序列,把剩余的序列进行注解、排序,然后贮存于 Database内。华盛顿大学 EST计算机程序软件包开发已完成,正处于试运行阶段,已有 1473 个 cDNA序列输入该 EST数据库。按原计划到 1999年 3月 31日有 10,000 个 cDNA序列收藏于该 EST的 Database内,然后以每年 10,000的 cDNA序列递增。Retzel博士全面负责 DNA序列分析。已构建的大豆 cDNA文库总结表 2

表 2 已构建的 cDNA文库所用的品种、植株部位及克隆的长度情况表

Table 2 A summary of the cDNA libraries already developed

文库材料来源 Library Source	大豆品种名 Cultivar Soybean	每个克隆的碱基数 DNA per Clone
茎尖 Shoot tips	Williams	1100碱基对
茎尖 Shoot tips	Williams 82	1100碱基对
2- 3周全茎 Whole stems (2- 3 wk old)	Willaims	800碱基对
2- 3周全茎 Whole stems (2- 3 wk old)	Williams 82	800碱基对
2- 3周全株 Whole plant (2- 3 wk old)	Williams	1050碱基对
2- 3周的叶片 Leaf (2- 3 wk old)	Williams 82	900碱基对
叶芽 Vegetative buds (adult)	Williams 82	800碱基对
花芽 Flower buds (adult)	Williams 82	800碱基对
成熟的花 Mature flowers	Williams 82	800碱基对
幼苗期全根 Whole root (seedling)	Williams	800碱基对
子叶 Cotyledons (mid- maturity)	Williams	680碱基对
种皮 Seed coat (mid- maturity)	Williams	500- 1500碱基对
成熟的根 Mature root	Williams	640碱基对
苗期根 Seedling root (with nutrients)	Williams	500碱基对
根瘤 Nodules	Williams	650- 700碱基对
无根瘤的根 Denodulated roots	Williams	600碱基对

3 EST的应用

3.1 构建染色体 EST图谱

EST计划的最终目标是获得基因组中编码序列区的核苷酸全序列图。从遗传学的发展过程来看,图谱的绘制由浅入深的经过了遗传图谱、物理图谱、EST图谱和核苷酸序列图谱。经过对 F<sub>2</sub>代、F<sub>3</sub>代以及系谱的分析构建遗传图谱。由于遗传图谱的构建需要与农艺性状或目的基因相连锁,因此遗传图谱的密度最低。通过对染色体进行限制性内切酶酶切来拼接染色体的片段的一级结构,从而构建染色体的物理图谱。由于限制性内切酶的种类较多,因此物理图谱的密度要比遗传图谱的密度高。通过建立 cDNA文库,然后对

cDNA文库中的克隆进行序列分析,建立 EST标记。另外,在染色体物理图谱的构建过程中需要单拷贝序列界标,即 STS(Site specific tag sequence)。大多数基因是单拷贝的,而3'端 EST又是基因特异的,保守性较低,所以用 3' EST完全可以充当 STS界标,这样把大量的 EST标记加入物理图中,构建了 EST图谱。通过 Internet 查阅 World Wide Web 上的动物、植物的 EST 数据库,综合分析已有的遗传图谱、物理图谱、EST图谱、基因的蛋白和核苷酸序列等研究成果,为基因的定位克隆等研究奠定基础。

### 3.2 基因的定位克隆 (Gene Positional Cloning)

早在 EST计划之前,科学家们已开始对一些较大的基因组片段进行了一些系统测序,然后利用 BLAST FASTA GRAIL等软件鉴定其中的表达序列。然而鉴定克隆序列功能的时间往往比测定序列的时间长的多。另外在 DNA分子标记中 AFLP RAPD SSR 等标记与目标基因间的连锁值的大小,所用的分子标记是否处于目标基因的编码区内,这些未知因素都将导致克隆基因的失败。而以 EST为重要来源的染色体物理图谱进一步方便了对抗病虫基因的连锁分析,可将抗病虫基因确定在更狭小的范围的染色体区段,缩小抗病虫基因的筛选范围。同时,EST标记,是功能序列区的标记,处于目标基因的范围内,而且是目标基因的外显子区,即编码区。因而 EST标记是与目标基因共分离的,以这样的标记进行定位克隆将大大提高克隆基因的效率(见图 1)。

据估计,大豆基因组约表达 300,000个基因,大豆 EST计划是建立 300,000个 EST,如果 EST计划成功的话,那将意味着每一个基因都将有一个 EST标记。如果再考虑私人公司未公开的 EST数据,则一个基因将有数个 EST标记。可以设想,到那时克隆基因的工作将是一件普通的研究

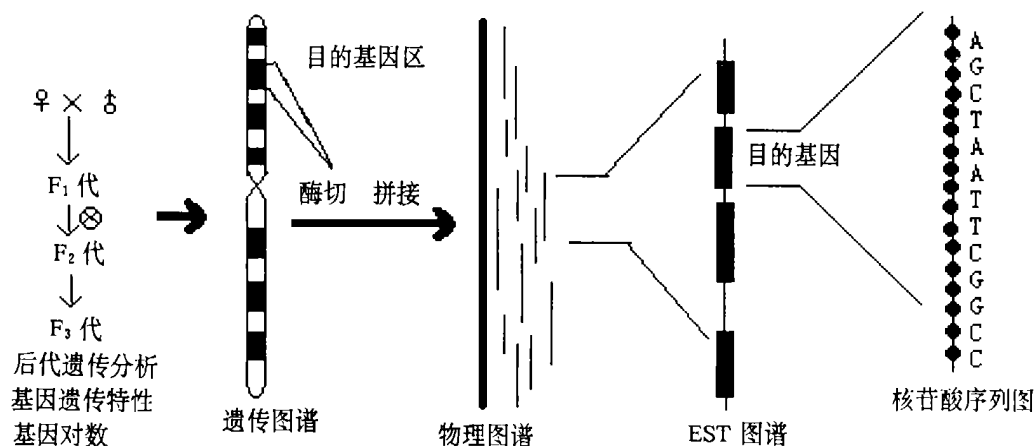


图 1 定位克隆的流程图

Fig. 1 The flowchart of steps in positional cloning

EST数据分析将部分取代 cDNA 的筛选、基因组表达序列的鉴定等烦琐的实验室操作,提高研究工作效率。随着人类、动物、植物 EST 数据库的增长和完善,将获得一大批具有开放阅读框架(ORF)的 cDNA 序列。EST 数据在如何将基因组中的 3%~5% 的表达序列与其余的非表达序列区分开的研究中大有用武之地。尽管已经发展了 GRAIL、FRAME-RESEARCH 等分析软件及 Exon Trapping 等实验方法鉴定基因组的表达序

列,但都不如 EST分析快速准确

现有的蛋白质数据库的资料表明,大多数蛋白质含有已知的古老保守区 ( Ancient Conserved Region, ACR),大约 20- 50% 的新基因也含有 ACR序列。同时植物抗病虫基因序列的比较发现,基因结构中含有保守的抗性基因框架区 ( Resistance Gene Analogue, RGA),因此完全有可能根据基因家族的保守序列,利用 EST数据构建抗性基因的初步结构,通过与基因文库的克隆序列比较,研究基因转录后的编辑和剪接过程,同时开辟一条快速挖掘新基因的方法

3.3 大豆生长发育的时空调节与基因表达的差异

基因的时空选择表达或差异表达是大豆的发育、分化、开花、结荚、死亡等现象的分子生物学基础。基因在不同组织、细胞的差异表达能为基因的功能分析提供有益的线索。经典的差减杂交、cDNA代表差异分析、mRNA的差异显示 ( Difference Display, DD)等技术在鉴定差异表达基因上各有其独到之处,但由于其效率和规律,却不能胜任对大豆 300, 000个基因表达的全面分析。

表 3 国际上著名的表达序列标记 ( ESTs数据库的统一资源网址 ( URLs)

Table 3 Several famous uniform resources locators ( U RLs) for expressed sequence tags ( ESTs) on the world wide web ( W WW)			
主页名称 Page name	网址 Uniform resource locators ( U RL)	备注 Comments	
美国生物技术信息中心 ( NCBI)	http //w w w. ncbi. nlm. nih. gov	全部,美国	
华盛顿大学 Meck EST计划	http //g enome. wustl. edu/est/estm pg. html	全部,美国	
TIGH人基因索引 ( HGI)	http //w w w. tigh. org/tdb/hgih gi. html	人,美国	
农业基因组住处中心 ( AGIC)	http //probe. nalusda. gov: 8000 /index. html	植物、动物,美国	
植物基因组信息中心 ( PGDIC)	http //w w w. nal- usda. gov /pgdic	植物,美国	
拟南芥菜数据库 ( AtDB)	http //g enome- w w w. stanford. edu	拟南芥菜,美国	
日本基因组计划 ( RGP)	http //w w w. staff. or. jp	水稻,日本	
MAFF DNA库	http //bank. dna. affrc. go. jp	水稻,日本	
韩国水稻基因组计划	http //bio server. myongji. ac. kr	水稻,韩国	
玉米 EST计划	http //w w w. agron. missouri. edu/EST. html	玉米,美国	
大豆 EST计划	http //129. 186. 26. 94 /soybeanest. html	大豆,美国	

EST计划为全面研究基因差异表达提供了理论和方法。从一个未经标准化处理的 cDNA文库随机挑选克隆大规模测序的结果可以看出,一种组织或细胞中哪些基因表达,各基因表达的丰度高低是不一样的。从表达丰度的高低可以推测那一个或那一些基因正处于活跃表达时期,那一些基因正处于休眠状态。比较大豆植株不同发育时期和每一个发育时期植株的不同组织或器官 cDNA文库 EST的信息,可以绘出大豆基因在时间和空间基因表达的发育顺序谱。因为一个基因表达的丰度越高,它被随机挑选而被测序的次数也就越多,而比较众多的 cDNA文库的 EST数据可以推测一个基因在不同组织或细胞的表达丰度的差异。

EST计划的飞速发展导致了 cDNA微点阵杂交 ( Microarray)、寡核苷酸微点阵杂

交、基因表达的系列分析 ( Serial Analysis of Gene Expression, SAGE)等新兴技术的问世,这些技术均能胜任大规模、快速的基因差异表达的扫描分析,可为功能分析提供有益的线索,被誉为后基因组计划的一项重大技术。

### 3.4 EST数据库

世界上几个经济大国的几十个著名实验室先后开展了大规模的 EST 测序,各个 EST 测序中心将获得的成千上万条 cDNA 序列进行系统处理,去除 rRNA、tRNA 和线粒体、叶绿体等非核 mRNA 的序列,去除重复测的序列和长度小于 100 个核苷酸及碱基不确定的百分率大于 5% 的质量较差的序列,剩余约 70% 的 cDNA 的序列输入 EST 数据库。EST 数据库大都已进入 Internet 网络。不过由于知识产权和专利问题,国际上还没有一个专门机构和一个专门的 EST 数据库。并且有一些数据库为私人机构所有,它对外不公开,只有签署了许可合同才能够使用。下面是作者在撰写该文过程中经常使用的网页,现汇集于表 3。

表 4 NCBI 基因库 dbEST 中已注册的前 20 种生物的 EST 数目和排序 (截止到 1999 年 6 月 4 日)  
Table 4 Order and numbers of the EST registered in NCBI Genbank dbEST ( by June 4, 1999)

排序 Order	物种名 Species name	EST 数目 No. of the EST
1	人 Homo sapiens (human)	1, 407, 592
2	小鼠 Mus musculus+ domesticus (mouse)	522, 954
3	鼠 Rattus sp. (rat)	118, 239
4	果蝇 Drosophila melanogaster (fruit fly)	83, 197
5	线虫 Caenorhabditis elegans (nematode)	72, 567
6	水稻 Oryza sativa (rice)	41, 373
7	拟南芥 Arabidopsis thaliana (thale cress)	37745
8	斑马鱼 Danio rerio (zebrafish)	24567
9	线虫 Brugia malayi (parasitic nematode)	17064
10	二胚虫 Dictyostelium discoideum	15199
11	玉米 Zea mays (maize)	14885
12	翅孢霉 Emericella nidulans	12998
13	弓浆虫 Toxoplasma gondii	10741
14	链孢霉 Neurospora crassa	10229
15	番茄 Lycopersicon esculentum (tomato)	9088
16	锥虫 Trypanosoma cruzi	8548
17	大豆 Glycine max (soybean)	8236
18	分裂酵母 Schizosaccharomyces pombe (fission yeast)	8118
19	血吸虫 Schistosoma mansoni (blood fluke)	8081
20	肠扭转虫 Onchocerca volvulus	7942

这里着重介绍 dbEST 数据库,它是美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 的 EST 数据库,是 Genbank 的一个分支,始建于

1992年,其数据起初来源于研究论文和一些小规模的个人测定的 cDNA 克隆的序列,在刚开始的两年中 EST 序列数目增长较慢,华盛顿大学 EST 工程于 1994 启动后,1995 年向 EST 数据库 (EST DATAbase, dbEST) 输送了第一批数据,随后 dbEST 的数据以指数级增长,输送第一批数据后的两年,于 1997 年 5 月 16 日,收集了 1,024,937 条 EST,至两年后的 1999 年 6 月 4 日已增加到 2,501,345 条 EST 其中,大豆 EST 只有 8236 条,在 dbEST 数据库中排第 17 可见大豆的 EST 研究还刚刚起步。统计见表 4

#### 4 EST 研究遇到的问题

##### 4.1 mRNA 3 端结构特性

成熟的 mRNA 两端都有特殊结构,即 3 端有 Poly(A),5 端有帽子“Cap”结构。根据这一结构,在测定 cDNA 克隆 3 端时,以 Poly(T) 进行定位测序。但实验结果证明,基因转录本 mRNA 的 3 端隐藏着多变的调控因子。23% 的 mRNA 其 3 端有不同的剪接方式 (Fields, et al., 1996; Hately, et al., 1998) 近 10% 的 mRNA 端含有重复序列 (Makalowski, et al., 1996),以 Oligo(dT) 为引物构建定向 cDNA 克隆时,约 2.3% 的 cDNA 是从 mRNA 内部引发合成的,约 5% 的 cDNA 5 端实际对应 mRNA 的 3 端。一步法 EST 测序的精确度为 97%,虽然足以保证 mRNA 类别的鉴定,但会给 EST 的蛋白质序列分析带来混乱。

##### 4.2 mRNA 的丰度问题

由于 EST 测序挑选的是随机 cDNA 克隆,因此高度表达的基因因其 mRNA 的丰度较高而反复测序。例如,人的骨骼肌 cDNA 文库,4000 多个 EST 中有一半来自 10 个最丰富的转录本 (Lanfranchi, et al., 1996)。相反,一些丰度较低的基因 (1/10,000~30,000),须测定上万个 cDNA 克隆才可能有机会被挑选出测序。因此,易遗漏较多的表达序列,更为严重的是重复测序造成人力和资金的巨大浪费。

##### 4.3 cDNA 文库中的克隆挑选问题

不同的研究机构对同一物种进行 EST 测序时,如何避免重复测序的问题。随着 EST 测序数目的增多,重复测序的序列也较大幅度的增加。1993 年,测定的 cDNA 克隆总数仅有 4000 多条时,重复测序所占的比率仅为 33%,但到 1995 年被测序的克隆总数增加到 25000 时,重复测序的比率增加到 58% (Yamamoto, et al., 1997),而且这还是日本一个国家的数据,多个国家对同一个物种进行 EST 测序,其重复测序的比例将会比这还高。如对水稻 EST 的测序,美国、日本、韩国和中国分别启动了 EST 计划。因此,如何提高国际上 EST 计划的工作效率,协调好科学家间的分工,也是一个急需解决的问题。

#### 5 中国大豆科学家面临机遇和挑战

EST 标记是一个克隆、测序、挖掘新基因的研究过程。在 EST 计划刚刚启动之时,由于其蕴涵着巨大的市场潜力,一些财团纷纷投资 EST 计划,使之染上了浓厚的商业色彩。因此,EST 计划必然涉及知识产权保护问题。新基因技术、转基因新品种、以及利用转基因技术生产的基因工程产品均能带来巨大的商业利润。因此,专利的申请正逐年加速增长。1980 年全世界仅公布 3 例基因专利,而 1995 年则公布了 435 例。正是处在这种争夺世界基因资源的大战时,美国国家健康研究所 (National Institute of Health, NIH) 于 1991 年为 Venter 实验室测定的 1200 多条 EST 申请专利权。全世界的科学家为之哗然,

并由此引起了基因专利问题的大讨论。由于这些 EST 绝大多数并没有确定其功能和用途,NIH 的申请终被搁浅。但是,与 EST 有关的基因专利申请远未就此而结束,大量的私人研究机构的 EST 仍在等待时机,同时投入更多的人力和物力研究其结构和功能,以求再度申请专利。如果这些 EST 获得专利保护,势必造成争夺 EST 资源的再度激化,各个研究单位间互相保密,研究成果各自为政,最终阻碍 EST 计划的全球研究进程。

大豆 (*Glycine max*) 是起源于中国的重要粮食和油料作物,在我国已有 5000 年的栽培历史。并先后传播到世界上其它国家。大豆资源是中国的宝贵财富,是中国经济在二十一世纪持续发展的基础保障,中国政府对此也非常重视,为此科学技术部成立国家重大基础研究项目“973”,拨专款建立我国大豆核心种质。这对我国大豆科学家是一次发挥聪明才智,充分利用大豆遗传资源,挖掘我国大豆生产潜力,迎头赶上世界发达国家水平的一次机遇。同时我国大豆科学家又面临着一次严峻的挑战,美国于 1998 年 3 月启动大豆 EST 计划,大量构建 cDNA 文库,对文库中的每一个克隆都插入具有美国实验室特点的分子标记,并开始大量测 cDNA 文库中的克隆,然后对 EST 序列的结构和功能进行研究,最后申请国际专利。试想,大豆的总基因数目为 300,000 个,若按着美国 EST 计划,其最终的目标便是得到 300,000 个 EST,分析其序列,研究其功能。并对 300,000 个 EST 中的大多数与经济性状有关的 EST 申请国际专利,到那时,中国用自己的大豆基因组上的某一个基因片段,还需要首先看一看,是否侵犯了美国的专利权(这也许会有一些不合理的因素)。那么中国的大豆科学家,如何来面对这次挑战,利用这次机会发展我国大豆分子生物学研究,作者的建议是,与美国科学家合作,共同研究,成果共享,利用美国已有的 cDNA 文库,尽早开展我国的 EST 计划,将重点放在我国特有基因的 EST 研究上,赶上或超过世界先进水平。

## 参 考 文 献

- 1 Adams MD, et al., Complementary DNA sequencing expressed sequence tags and human genome project. Science, 1991, 252: 1651- 1656
- 2 Adams MD, et al., Sequence identification of 2375 human brain genes. Nature, 1992, 355: 632- 634
- 3 Hatey F, et al., Expressed sequence tags for genes: a review. Genet. Sel. Evol. 1998, 30: 521- 541
- 4 Herman H, et al., An inventory of 1152 expressed sequence tags obtained by partial sequencing of cDNAs from *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal, 1993, 4(6): 1051- 1061
- 5 Hong Guofan. The Chinese rice genome research program. Rice Genome, 1992, 1(2): 13
- 6 Hughes CA, et al., Molecular cloning and expression of two cDNAs encoding asparagine synthase in soybean. Plant Molecular Biology, 1997, 33: 301- 311
- 7 Liu J, et al., Evaluation of expressed sequence tags, and express levels of mRNAs. Plant Molecular Biology, 1995, 29: 685- 689
- 8 Newman T, et al., Genes galore: a summary of methods for accessing results from large-scale partial sequencing of anonymous arabidopsis cDNA clones. Plant Physiology, 1994, 106: 1241- 1255
- 9 Sasaki T, et al., The Japanese rice genome research program. Genome Research, 1996, 6: 661- 666
- 10 Sasaki T, et al., Toward cataloguing all rice genes: large-scale sequencing of randomly chosen rice cDNAs from a callus cDNA library. The Plant Journal, 1994, 6(4): 615- 624
- 11 Schuler GD, et al., A gene map of the human genome. Science, 1996, 274(25): 540- 546



12 Uchimiya HK, et al. , Random sequencing of cDNA libraies reveals a variety of expressed genes in cultured cells of rice. Plant Journal, 1992, 2 1005– 1009

13 Yamamoto K, et al. , Large– scale EST sequencing in rice. Plant Molecular Biology, 1997, 35 135– 144

# 大豆新品种合丰 35号 1999年度荣获国家奖

由郭泰、刘忠堂研究员主持育成的大豆新品种合丰 35号 1999年度荣获国家科技进步二等奖,该成果是黑龙江省农科院合江农科所迄今为止由自己独立完成的一次最高奖励,也是黑龙江省 1999年度获得的唯一的一项国家科技进步奖。该品种的育成为黑龙江省和我国的大豆育种增添了光辉的一页,标志着黑龙江省大豆育种水平又上了一个新的台阶。

合丰 35号大豆是黑龙江省农科院合江农科所 1984年以合交 8009– 1612[(黑河 54× 阿姆索伊× 黑河 54)]为母本,与绥 81– 272为父本有性杂交育成的优良品种。1994年经黑龙江省农作物品种审定委员会审定推广,1997年经内蒙古自治区农作物品种审定委员会认定推广,1998年经全国农作物品种委员会审定确定在全国适应区内推广。

合丰 35号为亚有限结荚习性,主茎发达,植株较高大繁茂,秆强、节间短、有分枝、结荚密,三、四粒荚多,叶披针形,茸毛灰白色,花紫色,荚熟褐色,籽粒圆形,种皮黄色,有光泽,种脐黄色,百粒重 20– 22g左右,蛋白质含量 42. 22%,脂肪含量 19. 16%,生育日数 115– 118天,活动积温 2358. 4℃,为中熟偏早的品种。

合丰 35号高产稳产,增产显著。1988– 1990年三年所内鉴定试验和异地鉴定试验平均亩产 153. 7kg,较对照品种合丰 25号增产 15. 3%; 1991– 1992年全省二年 12点区域试验平均亩产为 152 1kg,较对照品种合丰 25号增产 12. 5%; 1993年全省 5点生产试验平均亩产 151. 5kg,较对照品种合丰 25号增产 14. 2%; 在小区试验中较美国品种威莱姆斯增产 16. 4%,较日本品种十胜秋田增产 27. 1%。

合丰 35号在内蒙古自治区呼盟地区阿荣旗 1992– 1994年全旗三年 10点区域试验平均亩产 177. 1kg,较对照品种合丰 25号增产 13. 4%; 1994年全旗 3点生产试验平均亩产 150. 3kg,较对照品种合丰 25号增产 14. 8%。

合丰 35号在吉林省 1995– 1996年试验平均亩产 164. 7kg,较对照品种合丰 25号增产 13. 4%。

合丰 35号在大面积生产上种植,一般亩产 160– 200kg,最高亩产可达 329. 8kg,1995年佳南实验农场良种场 1500亩合丰 35号生产田亩产达 245. 7kg,建三江农场管理局 37. 5万亩合丰 35号平均亩产 186kg 在高产栽培中,黑龙江省农科院合江农科所 1993年 1. 5亩合丰 35号高产攻关田亩产 272. 1kg,桦川县中伏乡七星村科技攻关户鲁以川 1996年种植 15亩合丰 35号亩产 329. 8kg 生产结果表明,合丰 35号无论在小面积攻关中还是大面积生产中均可获得很高的产量。

合丰 35号目前已在黑龙江、内蒙古自治区、吉林等省(区)的适宜区内大面积种植,并扩大到河北、辽宁、新疆、安徽、云南、浙江、江苏、甘肃等全国十个省(区)种植,均表现出高产稳产。

合丰 35号推广后,由于具有优质、高产稳产、适应性广等突出优点,所以深受生产欢迎,种植范围和面积迅速扩大。1994– 1999年六年累计推广面积为 3401. 9万亩,共增产大豆 5. 9亿 kg,获纯社会效益 13. 3亿元,年最大种植面积 850. 0万亩,是黑龙江省和我国目前年种植面积最大的品种;同时由于合丰 35号虫食率低,品质优良,可以显著地提高商品等级,也可以产生很大的社会效益和经济效益。

郭泰 刘忠堂  
(黑龙江省农科院合江农科所)