

美国大豆育种研究进展^{*}

刘章雄 邱丽娟 关荣霞 常汝镇

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

NEW ADVANCES IN THE STUDY SOYBEAN BREEDING OF U. S. A.

Liu Zhangxiong Qiu Lijuan Guan Rongxia Chang Ruzhen

(*Institute of Crop Science, CAAS, Beijing 100081*)

摘要 2002 年 9 月 18—20 日, 全美大豆育种工作会议(National Soybean Breeder Workshop Meeting)在圣路易斯举行。本着互通信息、交流经验、促进合作与防止重复研究的目的, 会议总结和讨论了全美大豆育种领域的近况及存在问题, 并针对普遍关心和关键性的问题作专题报告。下面仅就会议的主要议题和最新研究进展作简要介绍。

关键词 大豆; 育种; 进展

中图分类号 S 565. 1 文献标识码 A 文章编号 1000—9841(2004)02—0123—07

1 栽培、育种及遗传

1.1 栽培研究

施氮肥可以增加晚播品种的产量, 尤其是无限结荚习性类型品种增产效果更加显著, 但生长习性与氮肥施用量之间却没有互作关系。正在鉴定种植期相适应的氮肥施用范围以及不同品种在营养生长期对氮肥施用量的需求。研究发现长营养生长期性状(long—juvenile trait)可延长生长发育时间而增加大豆产量。

1.2 育种研究

在高产环境下, 培育有限结荚习性半矮秆品种, 可以克服高秆易倒伏的缺点。第一个选育出的有限半矮秆类型材料为 Elf, 其亲本组合为 Williams × Ransom。有限半矮秆材料结合了南方有限型的 dt1 基因和北方无限结荚习性的 el 基因, 改变了用北方的高产无限结荚大豆与南方的有限结荚习性大豆杂交培育半矮秆资源的状况。近年来, 大多数的品种多为优良的半矮秆品种。在某些低产地区, 需高大的植株以提高大豆产量, 第一个耐瘠薄品种

是 Stressland。为适应精细农业的要求, 将半矮秆品种种植于高产田块, 而将植株高较高且具有抗旱性品种种植于低产田块以增加大豆产量。

除 dt1 基因外, 将 dtlt (高 dt1 基因)基因转入 Hobbit, Ripley 和 Sprite 中, 研究高度对有限生长习性品种的影响。

Cooper 经过 16 年的观察比较, 5 月的平均气温和产量的相关系数为 38.8%, 显示有一个光温作用, 高温促使大豆提前两周开花进入生殖生长, 结果显示, 如果能培育在平常气候下早开花的品种, 就会有增产的潜力。

大豆品种 Clifford 抗 SMV, 产量较高, 为了增加上位性基因和 Clifford 配合力的群体频率, 改善 Clifford 的配合力水平, 设计了一个轮回半姊妹选择试验。选用一群体, 灰色茸毛, 可以分离出雄性不育, 品种 Clifford 作为测验系。在轮回杂交中, Clifford 和群体相间种植, 成熟时, 收获雄性不育株上的种子, 种子在温室加代, 灰毛植株和棕毛植株分别收获。在第二年夏天, 从棕毛的 Clifford 衍生得到的半姊妹用作产量测试, 余下的灰毛种子依据

^{*} 收稿日期: 2003—12—09

作者简介: 刘章雄(1973—), 男, 助研, 植物遗传育种专业, 研究方向大豆资源及种质创新。

产量作选择。下个季节,被选的种子相间种植,这个实验需二年才能完成一个周期。

利用 Allard 高级回交及分子标记方法,鉴定来源于供体亲本的基因渗入片段是否可以改良轮回亲本的产量,并分析 Allard 回交法的潜力。这是基于以下的假设:一些有益基因落后于等位基因的累积,造成进化驯化瓶颈;早期植物育种家对原始株系的有限选择至今仍是当代品种的基因基础。将优良的栽培品种 Dunbar 作为轮回亲本,野生大豆 *G. soja* (PI326582A) 作为供体亲本, F_1 与 Dunbar 连续回交得到 300 个 BC_2F_1 植株自交,并从中随机收获 4 个 BC_2F_2 植株,通过单株传法至 BC_2F_4 。4 个后代品系只收获一个,并得到这个品系的 296 个 BC_2F_4 衍生的 F_5 品系用于产量试验。

哪种杂交方式选择价值大? 杂交中是否产生了正向基因渗入分离? 大豆育种家对 *G. max* \times *G. soja* 杂交组合的 BC_2F_4 品系选择价值大,还是对优良南方亲本与优良北方亲本杂交的 BC_1 选择或只对 F_1 进行选择价值大? 证据似乎表明:有益的基因存在于优良的种质亲本中,但并不是优良的南方和北方种质群所共有。尽管在这种杂交方式中亲本间相关系数仍然为 0.25,因此,将 II 熟期组的 Dunbar 与 V 熟期组的 Hutcheson (dt1E) 杂交, Dunbar 和 Hutcheson 具有共同的系谱成分(Dunbar 为 25% 的 Essex, Hutcheson 为 50% 的 Essex)。 F_1 与 Dunbar 回交得到 500 个 BC_1 种子。 BC_1F_1 植株自交并随机收获两个 BC_1F_2 植株(选择目标是似 Dunbar 的无限结荚习性—Dt1 和成熟期—e 表现型),按上述的方法加代至 BC_1F_4 。最后,两个品系的后代随机收获一个,得到 296 个由 500 个 BC_1F_4 衍生的 F_5 品系,表现为无限结荚类型并与 Dunbar 的成熟期相近。来年将进行两点、两处理(灌溉和人工降雨)、单行区、两次重复的产量测试,标记分析正在进行。

通过品种系谱的方法,分析现有的育种材料中是否有足够的遗传背景以供长时间的品种产量改良,以避免不必要的杂交消耗。利用外来种质杂交后代数据分析外来基因是否可以显著改善现有的育种群体。

1.3 遗传研究

种皮色素 I 位点和 Rhg4 位点紧密相连。种皮的结构及其构成与种子的贮藏、发芽及抗病性有很大的关系,大多数的指纹图谱显示,球蛋白 G、A、A 亚基、凝集素和胰蛋白酶抑制剂在黄、黑种皮两

类群中均含量很高。

控制花颜色的基因未知,推测受单一基因控制,将培育近等基因系作遗传学研究。

对 *G. soja* 中 F_2 的叶形数据进行了分析,研究显示,除了 Ln 之外,还有两个位点控制着野生大豆叶形的变化,与 *G. max* 相比, *soja* 的叶形长宽比较大。*G. soja*、*G. max* 和半野生大豆相比较,无论是以表型还是分子标记为分析基础,均可将它们分为三个连续的群。半野生大豆可能是 *G. soja* 和 *G. max* 的杂交后代,它们可能为不同的基因库,建立核心种质时应予考虑。利用不同叶形的 *G. soja* 和 Clark 及窄叶片的近等基因系杂交,同时,在 *G. soja* 中不同的个体之间杂交,得到的 F_3 植株将种于防虫网中,使叶形全部表达。

密毛性状和基因 Pd1、Pd2 有关,两个基因呈加性效应, Pd1 和 Pd2 同时存在可以产生超浓密茸毛。密毛和超浓密毛可以防止蚜虫传播 SMV。在 Clark, Harosoy 的近等基因系中,密毛的品系植株高,易倒伏且产量较低,在超密毛中更加明显。超密毛类型的植株具有小的有皱折的叶片,将超密毛特性转入大豆品种已到第 3 个回交世代,叶片的皱折度已降低,产量与正常的大豆品种相同。研究表明,产量并不与叶片的皱缩度相关,超密毛的类型仍然易倒伏,将继续改善密毛品系并评价对 SMV 防治的影响。

在 *G. soja* 之间,植株生育前期生长速度差异较大,由快 \times 慢生长型所得的 F_1 植株,其生长速度与较快生长的亲本相一致,将从 F_2 中选择生长较快的植株种入防虫网中,以确认是否有主效基因。

Bernard 已培育了 60 个未知熟期的 Clark BC_5 系和少量的 Harosoy 的 BC_5 系,并正寻找在 Urbana, Ottawa 不同纬度不同光照周期表现不同植株,以研究和确认一个调控开花及生育期的基因。

2 生理抗性

2.1 耐旱育种生理

Jackson 大豆在干旱条件下有很强的固氮能力,研究表明, Jackson 具有较大的茎节且茎尖中含有较低的酰胺,这些都和干旱条件下氮的固定以及耐旱相关。构建 Jackson \times KS4895 近等基因系及重组近交系,以研究茎节的大小、酰胺的积累及植株持续固氮的能力。低酰胺和高酰胺的四个近等基因系以及茎节大小不同的 6 个近等基因系在

灌溉和干旱条件下产量以及耐旱的评价, 同样的一套近等基因系在温室种植以测量茎节的大小以及酰胺的含量和积累的情况。将 PI471938、PI416937、PI506675、PI227557、PI507039、Jackson、NTCPR94—5157 和 N92—SH—447 的抗旱源转入适当品种中, 培育早熟品种及利用超早熟耕作系统躲避旱情。

研究发现在干旱及盐胁迫条件下可以积累 TRG (trigonelline, 一种低分子量的有机物), TRG 和正常细胞的代谢相适应, 在组织培养中可以稳定酶的作用, 干旱条件下 TRG 的积累预示着细胞对干旱的适应。在干旱及灌溉条件下, 调查农艺性状及不同时期大豆叶片的 TRG 含量, 研究显示, 缺水时, 大多数的 TRG 含量升高, 而 RWC 在不同的环境下的含量却无太大的变化。在 R1—R4 生长期, TRG 的含量呈上升的趋势, 而在结荚和鼓粒期则下降。确认已定位的 TRG 含量 QTL 位点, 此位点似位于产量性状 QTL 位点区域, 将进行精细作图分析^[1]。

对于水涝, 利用 Archer 作为抗源, 培育自交系和近等基因系以供作图。

2.2 抗缺铁、锰及除草剂

对 1402 份资源在缺铁地点筛选抗性资源。

rhizobial 所导致的失绿症状, 是因为在感病植株荚内所产生的 phytotoxin rhizobitoxine 的化学物质, 使上部新生的叶片变黄或变白, 研究显示, 有两个位点和缺绿反应相关, 将创建 F₂ 群体定位与缺绿相关的分子标记。

筛选对锰缺失抗性品种, 验证由 Kilo 及 Light-foot 所确定的 QTL 位点。

对大豆抗除草剂品种施草甘膦对 SDS (猝倒病) 的影响进行了评估。从 II—VI 熟期组中每个生育期内选两个品种, 其中有抗 SDS 的, 有的不抗。实验均按裂区设计 (split-plot design), 品种为主区, 草甘膦处理为亚区, 分喷除草剂和不喷两种处理。根部用镰刀菌接种, 检测侵染严重度 (%) 和菌落形成单位 (CFU/g), 叶片严重度用病情指数表示 (%), 进行方差和平均值比较。结果显示: 根部受镰刀菌侵染的程度以及后形成叶片的枯萎在处理和不处理均一致。品种间差异显著 (0.05 的置信区间), SDS 抗性品种比 SDS 敏感品种表现受侵染以及叶片枯萎程度轻。因此, SDS 抗性品种 Roundup 可以成功地在镰刀菌感染地块种植和生长。

筛选抗除草剂材料, 现有的抗除草剂大豆材料有 Resnik、Sulfonylurea。

3 抗病虫害

3.1 抗蚜虫

在阿肯色州, 还没筛选到较抗蚜虫的抗源, 但 V—VI 熟期组较 III—IV 熟期组表现为好, 这可能是因为较晚熟品种害虫数增加的原因。喷施 “Karate” 可以减少 V—VI 熟期组品种由于蚜虫所带来的损害。

3.2 抗线虫

对亲本 Manokin, Fowle, TN5—95, Ky91—1352, S95—1908, Hartwig, PI567516C, Anand, J98—32, DT96—6840, MD94—5396 的杂交后代进行了线虫抗性及产量性状评价。培育了两个新的抗线材料, 大豆材料 S96—2692 抗孢囊线虫 1、2、3、5、14 号生理小种, 南方根结线虫病及肾形线虫, 中抗 SDS, 对茎溃疡病和花叶病毒表现为感病。S97—1688 具有较高的产量潜力且对 SCN 的 1、2、3、5、14 生理小种具有抗性, 可能对 4、6、9、12 号小种也具有抗性, 但未被检验。

利用 NIRS (Near Infrared Spectroscopy) 鉴定大豆的碾碎种子和组织对 SCN 的抗性, 以建立标准去筛选抗 SCN 种质。碾碎种子的光谱可以揭示抗和不抗 SCN 的不同区域, 从标准统计结果中可以得到标准等式。然而, 还没有一个标准等式可以预知杂合体对 SCN 的抗性。应用不同大豆组织, 检验 NIRS 鉴别 SCN 抗性植株的能力。如果病菌存在而 NIRS 可以检测得到, 通过可见光谱分析可以将抗感材料分离出来。

研究 SCN 抗性的多样性和 *G. max* × *G. soja* 的抗性遗传规律及其永久抗性。PI468916 属 *G. soja*, 对 1 号小种的雌性指数 (female index) 为 31% (中度敏感), 对 2 号小种为 17% (中度抗), 对 3 号小种为 8% (抗), 对 5 号小种为 5% (抗), 对 14 号小种为 18% (中等)。PI468918 品系对 3 号小种表现抗性, 其雌性指数为 7%^[2]。

对材料 PI89772 作 SCN 抗性 (对线虫的多个生理小种抵抗) 的 QTL 定位, 在 D1 和 D2 连锁群上发现了两个抗性新位点。G 连锁群与对多个线虫群的抗性有关而 B1 和三个生理小种有关。研究显示: 后代在连锁群 A 上缺少 Rhg4 时, 对多个 SCN 群体具有 PI89772 类型的抗性。同样, 对 14

号小种的 PI438489B 类型抗性在后代可以恢复,而且没有连锁群 A1 和 G。

试图确定材料 PIs507354、467312、5675163 的抗线新基因,这些抗性基因较独特,与 Peking, PI437654, PI88788 的抗性资源无关。对一些独特抗线资源如 Soja, Perennials 进行抗性遗传研究。

对根节线虫病,发现 Manekin 和 Accomac 及 Dillion 是较好的抗源。

3.3 抗其它病虫害

克隆对疫霉菌具有抗性的基因 Rps1-k, Rps4, Rps6。Rps1-k 基因于过去二十年在美国的中北部得到广泛的应用。研究显示,可能有更多的抗性基因位于 Rps1-k 位点上,一些 Rps1-k 的候选基因已被克隆并转移入植株中,评价这些转基因植株(品系)将加深对 Rps1-k 基因的了解。图谱显示 Rps4, Rps6 紧密连锁,分析 Rps4/6 复合基因位点的相似抗性基因序列,表明此序列很不稳定,具有 5% 的突变率,正在发展 Rps 基因的分子标记体系,以找到 Rps1, Rps4, Rps6 的分子标记。

筛选了抗 aerial blight 品种资源, Hutcheson 和 Holladay 均表现为感,而 P9594 和 P9492 表现为抗,在 R3 时期喷施 Quadris 杀菌剂可以有效的控制病害。

对核盘酸茎腐病进行了研究。

研究基因的功能冗余,将可能发现发育与胁迫间的交流。在物理定位大豆根结线虫抗性区域之后,又在该区域定位了几个受胁迫调节的发育基因,这显示着该区域对病原迅速反应具有重要作用。分离并研究了一个受体蛋白激酶 RLK (GmRLK1, GmRLK2, GmRLK3) 小家族对细胞质受体激酶区域的表达及基因组结构。结果表明:尽管它们序列相似但表达有差异, GmRLK4 在根部表达,在叶片和芽顶部没有检测到转录物,该基因序列与 PvRK20-1 (菜豆中发现的一个受体蛋白激酶) 相似, PvRK20-1 的表达受发育、伤诱导以及病菌侵染调节。这说明植物受体蛋白激酶在个体发育和对各种环境胁迫的反应(包括脱水、冷胁迫、氧胁迫以及病菌侵染)中具有非常重要的作用。

4 分子生物学

4.1 大豆产量性状基因定位

大豆产量与季节的水量呈线性关系,随基因型的不同而线性产量响应的斜率不同。影响不同斜

率线性关系的 QTL 位点与产量潜力相关的 QTL 位点是同一位点。对水反应高度相关(斜率较深)的基因型品种,在水份缺乏时其产量下降,但仍比斜率较浅的品种产量高。

在产量 QTL 上,研究了控制形态性状、生长发育、病害流行学、种子含量组成的 QTL。重点是在自然状况下,作图群体的产量 QTL 检测,及这些 QTL 的亲本等位基因(A 和 B)与已知经典性状位点的关系。在 QTL 方面,是否产量 QTL 是一个基因多向性的人工臆品,它在 CTL 的覆盖之下,且其表型效应并没有在作图群体上标定出来,或者即使标定出来但 QTL 和 CTL 占据了相同的位置。研究表明,很多产量 QTL 和 CTL 是不可分开的,这说明当选择高产的 QTL 时将会有很大的 CTL 表型反应。如果新发现的高产性状 QTL,在已被利用的种质资源中缺乏或者出现的频率较少,那么这种资源就值得努力挖掘研究。从已有作物优良种质的 SNP 单倍体类型基因表达序列报道(如玉米),发现在每个位点主要为两个等位基因,有时为 3 个,但很少有 4 个或更多。如果大豆也是这样,那么育种家就能将好的位点集中于越来越多的座位上以改善作物的产量。

以野生大豆引进材料作为供体亲本, IA2008 为回交亲本创造回交群体以作产量性状的 QTL 定位。大多数表现正向效应的位点来源于 IA2008,当阈值降低时,一些来源于 PI 中表现为正效应的 QTL 位点也被定位,将用其它群体对这些 QTL 位点作验证。

利用栽培大豆优良品系×外引品系杂交群体进行产量性状及其它农艺性状的 QTL 定位。对该群体在多个环境评价分析表明,覆盖了 14 个连锁群的 24 个 SSR 标记在所有的环境中均与产量性状显著相关。在 14 个连锁区域中,有 7 个来自外引种质,增产幅度为 47—114.2 kg/hm²,可解释表型变异的 10%—38%,有 3 个区域和花期、成熟期、株高及倒伏无关。

建立推广品种和商用品种(均抗 SCN)的 SSR 分子图谱。用构建的 SSR 通过 DNA 指纹图谱技术对这些品种作聚类分析。

4.2 抗病虫性状基因定位

从 *G. soja* 中定位两个抗 SCN 的 QTL 位点,这些 QTL 位点已在回交群体中被确认,将这些 QTL 回交导入 *G. max* 中,现已获得 BC4F₂ 后代,将 Ted Hymowitz 的 *G. tomentella* 可育区域也导

入上述 *G. max* 中, 研究表明, 一些抗 SCN 位点来源于 *G. tomentella* 区域。将对这些抗性位点作遗传特性研究。

对抗 SCN、SDS、干旱、锰毒及植物激素含量和 TRG 含量进行 QTL 定位, 每个性状定位了 4—6 个位点。已创造 *G. max* × PIs 群体以研究抗褐茎病和疫霉菌的新基因。

采用 F₅ 自交衍生的 RIL 群体进行 RIL 和 NIL 基因型的 DNA 标记图谱比较, 以期发现新的位点。NILs 可以从 F₅ 衍生的 RIL 产生, 或者通过与 BC₆F₂ 回交产生, NILs 在研究中非常重要。除 SSD 方法中的 F₄ 代, RILs 均可按行加代。在 F_{5:7} 代以后, NILs 可以在任何时候从 RILs 的个体中选择产生, 两者 DNA 标记完全一致。随着 QTL 组群的定位, 计划用分子标记辅助选择, 及基因组学方法分离有关产量、水分胁迫抗性以及植物雌性激素含量的基因。通过在大豆基因组物理图谱上基因跳跃的方法, 将获得接近目标基因和 QTL 的新标记。采用微卫星标记、SCAR 标记, 并发展使之适合 Taqman, 以用于标记辅助育种。由于两个遗传测定群体的真实性就已足够, 所以并不需要特殊的统计设计。无论时间或空间的隔离, 如 RIL 为阳性、NIL 不是, 这样的结果是假阳性。而 NIL 为阳性、RIL 不是, 则表明为上位性。同时进行 RIL 和 NIL 分析这一方法, 似乎可以有效检测 QTL, 而不需要不同环境大的 RIL 群体。QTL 假阳性的问题, 通过 NIL 可以快速而简便地排除^[3-7]。QTL 的高效性和科学价值将在今后的基因组学研究中深入分析。将构建精细标记物理图谱并对含有基因的区域进行测序, NIL 将用于受位点控制的基因表达的研究, 位点内的基因将通过生物信息学来鉴定。

4.3 其它基因定位研究进展

研究发明了一种方法可以快速、简易地获得重组近交系的等值线, 以解决数量遗传性状的数量位点。研究表明: 在 QTL 分离时, 那些由基因来源的标记与性状非常一致, 但那些即使是在很小范围 (>100 Kbp) 被替换的标记则不能完全解释遗传方差。G 连锁群定位有很多 QTL 位点, 如抗白粉病的 2 个 QTL、缺铁失绿症, 高秆(倒伏)的各 1 个 QTL、玉米螟抗性位点、白粉病抗性位点及 Mi 抗性位点, 将对富含抗性位点的区域进行测序。

我们是选择了连锁还是重组, 即是否比正常高或低的重组事件导致了渐渗分离的发生? 通过

QTL 以及从 Williams × Essex 杂交组合所选育的品种发生的重组数的研究, 将比较由 W 该组合衍生的 200 个 F₄ 随机品系的平均重组数。对这些品种作 RFLP 标记比较, 表明确有差异。将利用约 180 个 SSR 标记分析其中重组数。从两个群体(一个优良品系 × 优良品系和一个优良品系 × PI 组合)中获得了 75 个随机品系, 对这些品系进行了产量测试并采用标记分析法计算了重组数。该群体实验与上述实验将相互补充。

以韩国品系及品种作为供体, 品种 Zane 作为受体培育了 4 个 BC₂ 系, 这几个 BC₂ 系产量如 Zane, 但含有两个从韩国来的标记区域, 希望利用 Zane × A 和 ZaneBC₂ × A (其中 A 为几个有代表性的品种), 并应用标记标定起源于韩国品种而非 A 来源的产量基因, 以确定这些基因是否和现行品种资源的基因不同。

5 品质

5.1 油份含量的研究

在油份改良方面, 要求棕榈酸低于 4%, 亚麻酸低于 4%, 油酸处于中等水平 (50%—55%)。Burton 正研究中等含量油酸的遗传, 其在品质育种上取得了很大的研究进展, 所用亲本有含有低棕榈酸的 N95—2575, 低亚麻酸的 N85—2176 和中等含量油酸的 N98—4445A, 目前已培育了低亚麻酸含量的品系 Soyola, 含有 4% 的棕榈酸和亚麻酸的品系 Satellite, 蛋白质含量为 45% 的 Prolina, 所选育的低棕榈酸和亚麻酸含量的品种在产量上较其它品种低 13%—15%, 而高蛋白质的品种较其它品种产量高 5%—10%。Buss 正将低棕榈酸和低亚麻酸品质回交入 Hutcheson 和 Clifford 中。Anand 则致力于研究不同资源的油份组成的遗传特征, 所培育的品系 S97—1688 含有 44.5% 的蛋白质且抗孢囊线虫病, 一些低亚麻酸品系, 产量已与对照相当。

5.2 蛋白质含量的研究

一些研究者致力于提高蛋白含量和改善蛋白品质, 如 Krishnan 正研究提高含硫氨基酸蛋白质的含量, 而 Shannon 等致力于提高蛋白质含量及品种的产量, 所用的亲本有 Haroviton, AC onrei, AC 756, Enrei, Norin—1, Ox744, 已鉴定出一个蛋白含量达 53%—54% 的品系, 并获得三个大粒高蛋白品系 AC Hime, AC Vin—Pro 和 AC X790P。

Burton 配制杂交组合 Brim \times PI416937, 后代衍生品系经过两轮的轮回限制指数选择, 增加了产量及蛋白质和油分的含量。Nelson 等试图研究对蛋白亚基含量加以改变是否可以显著提高氨基酸的含量。一些研究者在培育高蛋白低植酸品种。

以品种 Harovinton 为背景, 运用 α -亚基缺失 [β -conglycinin, 7s 亚基的组成部份] 材料 Keburi, α 和 β 亚基含量较低的秣食豆公 503 以及可分离出缺失大豆球蛋白 (11s) Group I, Group II a 和 Group II b 亚基的群体创造含有不同蛋白亚基的材料, 这些材料蛋白质含量均较高, 但具有不同蛋白亚基组成成份。运用 Phastsystem mini-gel 电泳系统分析分离群体的蛋白质组成, 并使之量化。同样, 运用 SNP 分子标记系统鉴定缺失 A4 的品系。

将从事叶片角度、叶形、及植株伸展结构对氮的积累, 蛋白质含量及单位面积内生物量积累影响的研究。在提高品种蛋白质脂肪含量及质量的前提下, 同时增强品种的抗病及抗逆能力, 如抗 SCN、疫霉病、抗除草剂等。例如培育的品系 S97-1688, 产量和 Hutcheson 相当, 蛋白含量为 44.5% 并抗 SCN 1, 2, 3, 5, 14 号生理小种。

已构建 Haroviton \times PI468916 的 F_2 重组近交系群体及高蛋白 \times 低蛋白的 F_2 重组近交系群体, 试图寻找与蛋白含量相关的位点或座位。

从 7 个高蛋白为亲本的杂交组合中, 选择了几个高蛋白和低蛋白含量的材料, 以期寻找高蛋白含量之下不同的基因背景。从 F_5 品系的 2000 个数据中, 蛋白含量变化范围从 1%—9%, 显示了在高蛋白含量的材料之中, 存在着基因型的不同。利用三个高蛋白材料 (HHP, Sioux, PI82.278) 来源的 F3BC2 完成了 SSR 分子图谱的构建。

继续研究从野生大豆定位的一个 QTL 位点, 此位点与蛋白质含量的增加相关, 且在不同背景的回交群体中都发现了这个 QTL 位点, 将精细定位此位点, 并试图打破它和低产的连锁关系。已发现, 在一个群体中, 此种连锁已被打破, 研究发现, 此 QTL 位点和一紫花突变连锁 (此紫花基因和高蛋白含量相关), 试图确定这两个基因是否对蛋白含量有上位性作用。

探索廉价高效可靠的分析糖份, 氨基酸及蛋白亚基组成的方法。培育脂肪氧化酶缺失品种。

5.3 特用食品大豆研究

培育大粒鲜食豆类型, 要求株型好, 食味好, 百粒重在 30g 以上。做豆腐的大豆百粒重在 20g 以

上, 黄色种皮, 高糖, 脐黄或淡黄色。培育小粒豆类型做生产, 农艺性状要求: 黄色种皮, 淡脐, 无杂色, 圆或椭圆粒, 低钙, 高糖, 煮后软, 表皮光滑无裂痕, 粒形整齐, 百粒重为 7—9g。大量使用日本品种如 Fukuyutaka, Ayahikari, Hourei, Tachiyutaka, Yunzuru 和 Tousan 作为亲本以改善种子的大小、形状、外观、持水力、蛋白质及糖份水平。发现了小粒与产量基因的连锁关系。将小粒性状转入 Clark 的 BC5 中, 将 Rokusun 的大粒性状转入 Clark 和 Harosoy 中, 以确定所涉及的基因。

发明了一个制豆奶及豆腐的可靠方法, 以确定终产品的产量、营养含量、硬度及质地, 从而评价多年多点对种子成份含量的稳定性及对豆腐产量及质量的影响, 并评价品种 7s 和 11s 亚基对豆腐质量的影响。研究显示, 基因型对豆腐的影响大于地点对豆腐的影响, 而年份对豆腐的影响同样显著。逐步回归分析表明, 蛋白质含量是豆奶产量及干物质的主要决定性因素, 而豆奶产量也和豆腐产量紧密相关。当以石膏作为凝固剂时, 11s 亚基与豆腐的硬度及坚韧度密切相关, 而 7s 亚基和豆腐的质地紧密相关^[8]。

将研究单缺失的、双缺的 [11s 亚基 7s α_2] 及少数三缺材料对豆腐的影响。已培育一套品系, 它们只含有单个蛋白质亚基, 将作为一种有用的工具研究单一蛋白亚基的功能。

5.4 大豆糖份研究

研究增加鲜食大豆的糖份含量, 亲本是来自日本 PI87013 和 PI243545, 它们均具有较高糖份含量且遗传率高, 但农艺性状需改进。已培育一品系 MFL552, 大粒, 含有 9% 的蔗糖 (相比 Hutcheson 为 7%)。

构建 MFL552 \times PI407162 重组近交系群体, 分析蔗糖、棉子糖和水苏四糖的含量, 7 个连锁群的 58 个标记用来定位和糖份相关的 QTL 位点。研究表明, 4 个标记和蔗糖含量相关, 其中两个可以解释变异的 10% 以上, 两个标记和棉子糖相关, 一个和水苏四糖相关。

Buss 利用 *G. max* \times *G. soja* 杂交组合近等基因系, 从事糖份的 QTL 定位研究。Krishnan 已经分离出一些和硫代谢有关的 cDNA 片断, 这些克隆正被特征化, 将通过基因操作改变一些与硫代谢有关酶的表达。

5.5 大豆其它品质性状的研究

研究种质异黄酮的含量范围及其质量, 并通过

作图方法寻找控制异黄酮含量及质量位点, 已发现品种间异黄酮含量及质量的遗传差异, 并从温度及湿度两种因素研究对异黄酮水平的影响。Lightfoot 正在研究一些杂交组合, 其亲本为一些重组自交系, 它们均具有高的异黄酮含量, 但在有用基因的来源和数目上有差别, 通过基因重组, 使后代携带有任何一个亲本的有利基因, 收获 33 个 F₁, 将通过一粒传法加代至 F₄, F₄ 将进行有利基因的鉴定并分析异黄酮的含量。正研究评价基因的稳定性及环境因素对异黄酮和皂角苷含量的影响。

Schapaugh 等试图通过转基因方法创造磷脂酶活性 Phospholipase D activity 较低和 phosphatidic 含量较低的材料。

研究大豆种子生育酚含量水平及降低肌醇六磷酸含量。

参考文献

1 Chao Y, Lightfoot D. A., Wood A. J. Survey of Trigonelline concentrations in salt-stressed leaves of cultivated *Glycine max* [J] .

Phytochemistry. 1999, 52: 1235—1238.

2 Wang, D., P. R. Arelli, R. C. Shoemaker, B. W. Diers. Loci underlying resistance to Race3 of soybean Cyst nematode in *Glycine soja* plant introduction 468916 [J] . Theor. Appl. Genet. 2001, 103: 561—566.

3 Doubles T. W., Suttner, R. J., Chang, S. J. C., et al. Qualitative inheritance of quantitative loci [J] . Soybean Genetics Newsletter . 1997, 24: 139—141.

4 Meksem K., Zhang H. B., Lightfoot D. A. Two transformation ready large insert clone libraries for soybean: Physical mapping of resistance to Soybean Cyst Nematode and Sudden Death Syndrome [J] . Theor. Appl. Genet. 2000, 101: 747—755.

5 Meksem K., Ruben E., Hyten D., et al. Conversion of AFLP bands to high-throughput DNA markers [J] . Mol Gen Genomics . 2001, 265: 207—214.

6 Lightfoot DA. Genomics approaches to the isolation of disease resistance QTL [J] . Agbiotech Net. 2001, 3: 1—4.

7 Yuan, Z., Njiti V., Meksem K., et al. Identification of yield loci in soybean populations that segregate for disease resistance [J] . Crop Science. 2002, 42(1): 271—277.

8 Mullin, W. J., J. A. Fregeau-Reid, M. Butler, et al. An Interlaboratory test of a procedure to assess soybean quality for soymilk and tofu production [J] . Food Research International. 2001, 34: 669—677.