



多抗高产大豆新品种黑农 84 的选育研究

栾晓燕, 刘鑫磊, 薛永国, 马岩松, 王家军, 张必弦, 于佰双, 王广金

(黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 黑龙江省农业科学院大豆研究所根据育种目标构建具有大豆病毒病、灰斑病、胞囊线虫病目标基因的抗性 F_2 分离群体: 黑农 41(感 SMV3) × 哈 91R3-301(抗 SMV3)、黑农 39(感 FLS) × 东农 9674(抗 FLS)、黑农 33(感 SCN) × 灰布支黑豆(抗 SCN)。针对不同病害, 筛选与目的基因紧密连锁的 SSR 标记, 定位 QTL。利用已有标记在黑农 51 的回交转育后代群体中直接针对抗病基因进行精准选择, 聚合目标基因, 创造多抗高产大豆新品种黑农 84。凝练技术方法建立多基因聚合的大豆育种体系, 为大豆分子设计育种提供有益参考。

关键词: 分子标记; 基因聚合; 大豆品种; 黑农 84

Innovating Soybean Heinong 84 with High Quality and Multi-resistance by Molecular Marker Gene Polymerization

LUAN Xiao-yan, LIU Xin-lei, MA Yan-song, XUE Yong-guo, ZHANG Bi-xian, WANG Jia-jun, YU Bai-shuang, WANG Guang-jin

(Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: To the breeding objective, the Soybean Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences constructed F_2 isolation population with target genes of soybean virus disease, gray spot disease and cyst nematode disease: Heinong 41 (susceptible to SMV3) × Ha91R3-301 (susceptible to SMV3), Heinong 39 (susceptible to FLS), × Dongnong 9674 (resistant to SMV3), Heinong 33 (susceptible to SCN) × Black Soybean (resistant to SCN). For different diseases, we screened the SSR markers closely linked to the target gene and located the QTL. In order to create a new soybean variety Heinong 84 with multi-resistance and high yield, the target genes were aggregated by precise selection of disease-resistant genes in the backcross progeny population of Heinong 51. The technique of molecular marker gene polymerization was used to establish a polygenic soybean breeding system, which could provide a useful reference for molecular design breeding of soybean.

Keywords: Molecular marker; Gene polymerization; Soybean cultivars; Heinong 84

黑龙江是中国大豆的主产区, 大豆面积、单产虽居全国首位, 但与大豆主产国美国、巴西、阿根廷相比, 还存在着单产低、品质不佳、抗性较弱等差距^[1], 所以提高单产、品质, 提高抗性、适应性, 是满足中国食用大豆供给、提高国产大豆竞争力的重要基础。

高产、多抗、优质性状通常是多基因控制的数量性状, 应用常规育种方法将这些性状聚合在一起选育出综合性状突出的优良大豆品种十分困难^[2]。分子育种选择技术已经使得农作物育种由表现型选择向基因型选择的转变, 通过目标性状的基因型定向选择和遗传背景的检测, 可以有效的打破不良连锁, 将多个目标性状聚合在一起^[3]。随着各类紧密连锁标记的出现, 使得分子标记辅助选择育种成为可能^[3-4]。前期研究构建黑农 39(感 SMV3) × 哈 91R3-301(抗 SMV3) 的 F_2 群体 150 株, 对基因型和表型的连锁分析, 鉴定出与抗性紧密连锁的 Satt296

标记, 并利用 Satt296 标记对在 F_2 群体被鉴定为纯合感病的 19 个植株进行 SSR 基因型鉴定, 根据抗感的分离比, 初步定位了大豆 D1b 连锁群上 SMV3 抗病主基因 Rsmv3(t) 的遗传距离大约为 6.5 cM^[5]。本研究立足于抗病、高产种质资源(品种)和育种技术的创新应用, 试图解决黑龙江省大豆面临的抗性差、单产低、育种手段落后制约大豆育种和生产发展的关键问题, 采用回交高代 QTL 分析与常规育种相结合技术路线, 利用基于大豆分子遗传连锁图谱的目标区间定向选择(GITS)的分子育种方法, 对目标性状的基因型定向选择和遗传背景的检测, 来实现大豆抗病基因(SMV、FLS 和 SCN)与高产性状聚合, 创制多抗高产大豆新品种; 建立聚合多个目标性状基因分子标记辅助选择的育种体系, 为提高黑龙江省大豆抗性和单产水平, 促进大豆产业的发展提供技术支持, 也为大豆分子设计育种新方法、新体系提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

- 1.1.1 受体亲本 黑农 39:高光效、高产、高抗 SMV1^[6]。黑农 41:高产高光效^[6]。黑农 51:超高产,蛋脂双高^[7]。
- 1.1.2 供体亲本 哈 91R3-301:高抗 SMV3 号株系^[5]。东农 9674:抗灰斑病 10 个生理小种^[8]。灰布支黑豆:抗胞囊线虫所有生理小种^[9]。

1.2 选育方法

- 1.2.1 构建具有目标基因的分离群体 黑农 41 (感 SMV3) × 哈 91R3-301 (抗 SMV3)、黑农 39 (感 FLS) × 东农 9674 (抗 FLS)、黑农 33 (感 SCN) × 灰布支黑豆 (抗 SCN) 的 F₂ 群体。
- 1.2.2 SMV、FLS 和 SCN 分子标记辅助选择方法的利用 利用前期分别建立的 SMV、FLS、SCN 分子标记辅助选择体系方法,应用 SMV、FLS 的连锁 SSR

分子标记在分离群体中进行鉴定选择^[5,10];针对 SCN,利用已经建立的与 *rhg1* 相关联的 SNP 标记,在回交转育后代分离群体中进行针对抗病基因进行的精准选择^[11]。

利用分子标记辅助选择和常规育种相结合,聚合抗 SMV、FLS、SCN 目标基因,进行田间抗病性精准鉴定及产量分析,创造多抗新种质、新品种。

2 结果与分析

2.1 SMV 标记的筛选与鉴定

利用黑农 41 (感 SMV3) × 哈 91R3-301 (抗 SMV3) 的 F₁ 和对黑农 39 (感 FLS) × 东农 9674 (抗 FLS) F₁ 杂交,得到聚合的 F₁ 代,自交得到分离群体 F₂ 代 820 株,利用与 SMV3 病毒病抗性连锁的 Satt296,对其进行鉴定筛选,筛选出具有抗病毒病的植株 126 株(图 1)。

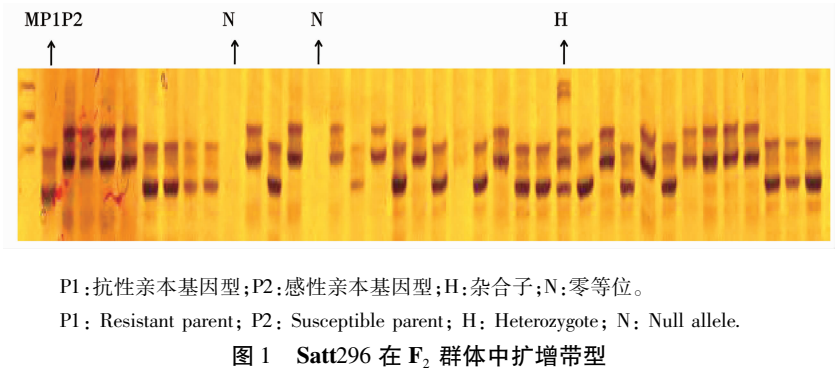


Fig. 1 Banding pattern of Satt296 marker in the F₂ population

- 2.1.1 FLS 标记选择与后代鉴定 选择与 FLS 基因连锁的 Satt396 和 Satt565 标记^[10,12],对黑农 39 (感 FLS) × 东农 9674 (抗 FLS) F₂ 分离群体中的具有 R 一致的带型的个体,表型鉴定确定 Satt396 和 Satt565 具有 80% 以上符合率。利用黑农 39 (感 FLS) × 东农 9674 (抗 FLS) F₁ 作为父本与黑农 41

(感 SMV3) × 哈 91R3-301 (抗 SMV3) F₁ 进行杂交聚合的 F₂ 800 株个体进行检测。利用上述筛选的具有 SMV 病毒抗性的 126 株,进一步进行抗 FLS 的基因型鉴定选择,鉴定出具有聚合抗性条带的植株 48 株(图 2)。

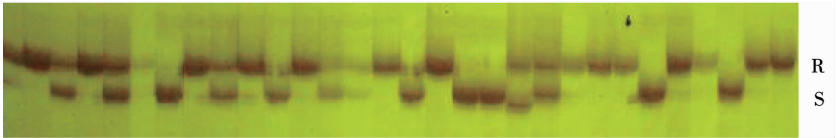


图 2 Satt296 在 SMV3 的 F₂ 群体中鉴定结果

Fig. 2 Satt296 identification in SMV3 F₂ population

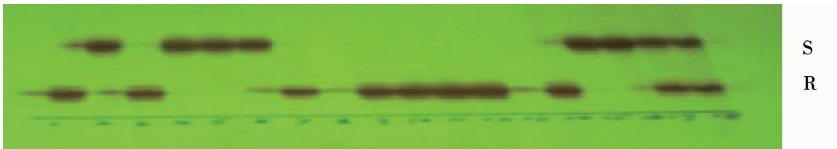


图 3 Satt565 在 FLS 的 F₂ 分离群体中基因型鉴定结果

Fig. 3 Satt565 identification in FLS F₂ population

- 2.1.2 SCN 分子鉴定与选择 构建黑农 33 (感 SCN) × 灰布支黑豆 (抗 SCN) 的 F₂ 群体 256 株、F₄

群体 250 株,利用抗病基因序列设计的 *rhg1*-I4 和 SCN_Res Bridge 标记,以及与抗性连锁的 SSR 标记

Satt309、Sat_162,对不同世代的分离群体中进行鉴定,在 $F_{2:3}$ 分离群体中单标记对 SCN 抗性的选择效率最高的为 Satt309 和 *rhg1-I4* (85.71%),在 F_4 分离群体中单标记对 SCN 抗性的选择效率最高的为 *rhg1-I4* 和 SCN_Res Bridge (88.89%),同时研究表明组合标记与单标记选择效率相当^[11]。将上述中

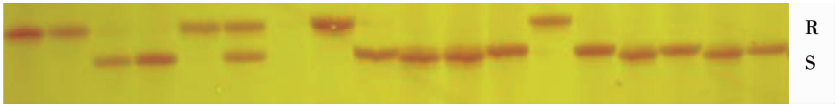


图 4 Satt309 在聚合 F_2 群体中 SCN 的鉴定结果

Fig. 4 Satt309 identification in F_2 population of SCN

2.1.3 兼抗 SMV、FLS、SCN 种质的分子鉴定结果

将筛选出的具有 3 种病害抗性植株种植 F_3 代与黑农 51 进行杂交,再回交 2 次,然后自交,在 BC_2F_2 时利用 Satt296、Satt396 和 Satt565 增加 *rhg1-I4* 和 SCN_Res Bridge 标记对 3 种抗性进行选择,中选植株进行自交加代到 BC_2F_5 ,然后再利用连锁标记对 3 种病害进行鉴定,辅助选择,对于高世代具有 3 种抗性标记的聚合植株进一步进行田间选种试验。

2.2 田间选育分析

黑农 84 是黑龙江省农业科学院大豆研究所 2007 年以黑农 51 为母本,用黑农 51 与聚合杂交 {[(黑农 41 × 哈 91R3-301) × (黑农 39 × 东农 9674)] × (黑农 33 × 灰布支黑豆)} 的中选抗病个体的杂交 F_1 为父本进行回交,当年冬南繁,后按高产多抗的育种目标,逐代对不同病害进行分子标记

选的中选的兼抗病毒病 (SMV3) 和灰斑病 (FLS) 的 48 个植株中部分植株与黑农 33(感 SCN) × 灰布支黑豆 (抗 SCN) 的 F_1 杂交,自交 F_2 代得育种群体 886 株,此时利用 *rhg1-I4* 和 SCN_Res Bridge 标记对聚合后代的 F_2 进行抗胞囊线虫进行检测,发现兼有 3 种抗性的植株 38 株 (图 4)。

辅助选择,2010 年得到多抗并高产的 F_4 个体 9 株,2011 年对 9 个株行进行病毒病、灰斑病、胞囊线虫的表型鉴定和分子鉴定,同时进行产量鉴定,决选出综合性状优良的哈 11-4142,2012 – 2013 年参加所内产量鉴定试验,2013 年参加黑龙江省第二积温带 4 区预备试验,2014 – 2015 年参加黑龙江省第二积温带南部区区域试验,2016 年参加黑龙江省第二积温带南部区生产试验,2017 年 3 月在黑龙江省审定。审定编号为黑审豆 2017005。

2.3 选育过程分析

黑农 84 的选育过程,是标记辅助基因聚合与常规育种相结合的选育过程,分子标记群体也是育种选育群体。3 种病害的分子标记均是先利用 F_2 代进行 QTL 定位与分子标记选择,然后再利用连锁的标记进行在分离群体中辅助选择 (图 5)。

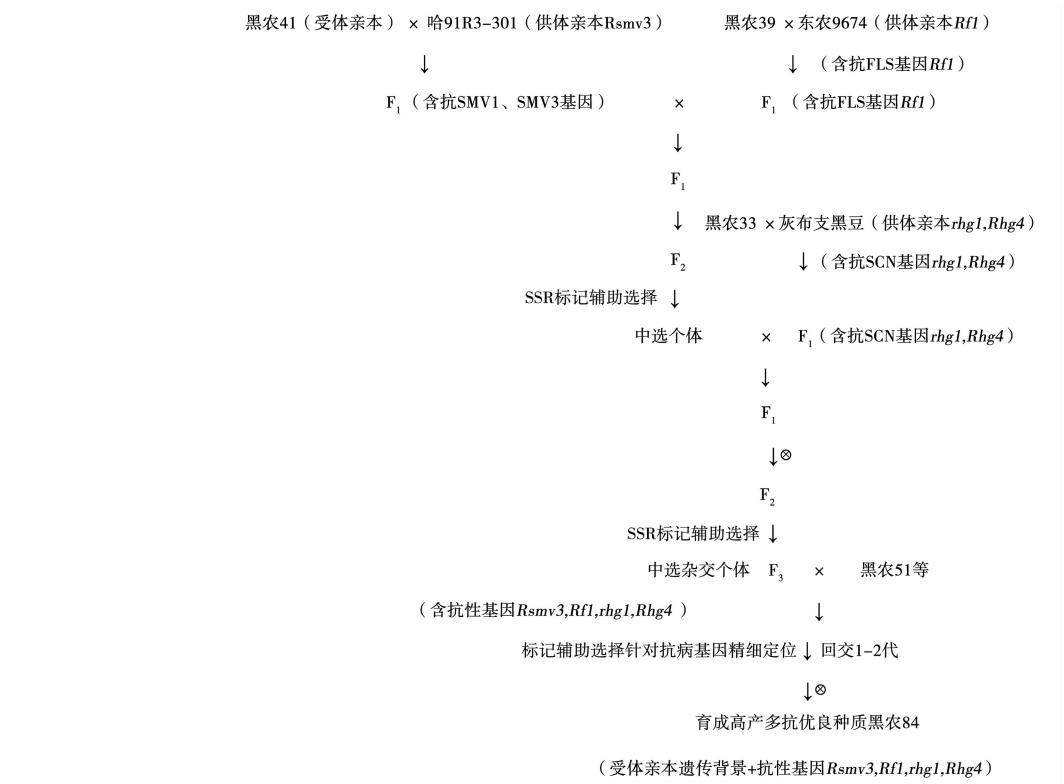


图 5 黑农 84 的培育过程

Fig. 5 Breed process of variety Heinong 84

3 结论与讨论

利用基因累加的育种方法,将 SMV、FLS、SCN 抗病基因聚合到高产优质品种中,创新出农艺性状优良的多抗、高产大豆新种质(新品种)黑农 84,其育成实现了由表现型选择向表现型和基因型选择相结合的分子选择的转变,解决了因多抗大豆种质资源缺乏而使抗病育种陷入困境的瓶颈问题,为大豆育种提供了优异基因源。

黑农 84 是利用分子生物学手段在常规育种程序中直接对与目标基因紧密连锁的分子标记的基因型进行辅助选择;并在杂交、复交、回交程序中,对多个目标基因型进行分子选择,实现基因聚合、基因渗入;通过前景选择和背景选择,获得目标基因型纯合、遗传背景一致、综合农艺性状优良的品系(品种),建立了多基因聚合分子标记辅助选择的育种体系,为大豆分子设计育种提供有益参考。

黑农 84 继承了受体亲本黑农 51 的优势,富集了国内外 40 余个资源的优异基因,其遗传基础丰富,集优质、多抗、高产于一体,作为优质高产食用大豆应用,将比受体亲本黑农 51 具有更广阔的发展前景。

参考文献

[1] 郭天宝. 中国大豆生产困境与出路研究[D]. 长春:吉林农业大学,2017. (Guo T B. Study on dilemma and way out of China's soybean production[D]. Changchun:Jilin Agricultural University, 2017.)

[2] 庞昀龙. 水稻耐盐、抗旱、高产和优质育种材料的选育及遗传剖析[D]. 北京:中国农业科学院,2017. (Peng J L. Breeding and genetic dissecting of salinity tolerance, drought tolerance, high yield and high grain quality rice materials[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.)

[3] Chu Y, Wu C L, Holbrook C C. Marker-assisted selection to pyramid nematode resistance and the high oleic trait in peanut[J]. The Plant Genome 2011, 4(2):110-117.

[4] Dokku P, Das K M, Rao G J N. Pyramiding of four resistance genes of bacterial blight in Tapaswini, an elite rice cultivar, through marker-assisted selection[J]. Euphytica, 2013, 192(1):

87-96.

[5] 栾晓燕,李宗飞,满为群,等. 与大豆 SMV3 号株系抗性相关的分子标记的鉴定[J]. 分子植物育种,2006, 4(6):841-845. (Luan X Y, Li Z F, Man W Q, Identification of molecular markers linked to resistance for SMV3 in soybean[J]. Molecular Plant Breeding, 2006, 4(6):841-845.)

[6] 杜维广,张桂茹,满为群,等. 大豆高光效品种(种质)选育及高光效育种再探讨[J]. 大豆科学, 2001, 20(2):110-115. (Du W G, Zhang G R, Man W Q, et al. Development of soybean cultivars(Germplasm) with high photosynthetic efficiency(HPE) and rediscussion of breeding for HPE[J]. Soybean Science, 2001, 20(2):110-115.)

[7] 栾晓燕,陈怡,杜维广,等. 超高产、抗病、广适应性大豆黑农 51 的选育研究[J]. 黑龙江农业科学, 2012(10):8-12. (Luan X Y, Chen Y, Du W G, et al. Breeding research of super high yield disease resistance broad adaptability soybean variety Heinong 51[J]. Heilongjiang Agriculture Science, 2012(10):8-12.)

[8] 杨庆凯,武天龙,徐淑芬,等. 大豆优异抗病种质东农 9674 [J]. 大豆科学,1996, 15(2):181-183. (Yang Q K, Wu T L, Xu S F, et al. A new soybean germplasm with high resistance to two diseases[J]. Soybean Science, 1996, 15(2): 181-183.)

[9] 王衍桐,彭德良,陈受宜. 灰布支黑豆对大豆孢囊线虫(*Heterodera glycines*)14 号小种的抗性遗传[J]. 遗传学报,2000, 27(2):146-150. (Wang Y T, Peng D L, Chen S Y. Inheritance of resistance to *Heterodera glycines* Race14 in Huibuzhi black bean [J]. Acta Genetica Sinica, 2000, 27(2):146-150.)

[10] 张文慧,陈庆山,杨庆凯,等. 大豆灰斑病 1 号生理小种抗性基因的 SSR 标记分析[J]. 大豆科学,2004, 24(3):169-173. (Zhang W H, Chen Q S, Yang Q K, et al. Analysis of resistant gene against *cercospora sojina* race1 in soybean with SSR markers [J]. Soybean Science, 2004, 24(3):169-173.)

[11] 马岩松,刘鑫磊,栾晓燕,等. 大豆胞囊线虫病抗性基因相关分子标记对杂交后代抗性的鉴定效率[J]. 大豆科学, 2014, 33(2): 173-178. (Ma Y S, Liu X L, Luan X Y, et al. Identification efficiency about resistance to soybean cyst nematode with relative molecular markers in hybrid progeny[J]. Soybean Science, 2014, 33(2):173-178.)

[12] 陈立君,郭强,刘迎雪,等. 大豆灰斑病 1 号生理小种抗性基因的 SSR 标记[J]. 中国农学通报,2009, 25(9):43-46. (Chen L J, Guo Q, Liu Y X, et al. SSR markers for resistance gene to *Cercospora sojina* hara race 1 [J]. Chinese Agricultural Bulletin, 2009, 25(9):43-46.)