

大豆分子标记及辅助选择育种技术的发展

李文滨, 韩英鹏

(东北农业大学 大豆研究所, 大豆生物学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:分子标记、QTL的研究和辅助选择应用已经得到很大的发展,一批与大豆形态性状、产量性状、品质性状、生态性状、抗生物胁迫性状相关的QTL在国内外均有报道。但近年来分子标记和QTL研究在比较发达的国家已经转向功能标记(FMs: EST-SSR、SNP和候选基因)的研究,相继启动大豆EST计划和大豆功能基因组计划,以期使功能基因和性状直接联系起来,目前已经取得了显著成效。而我国目前分子标记和QTL的研究还主要集中在利用随机标记(RMs: RAPD、SSR和AFLP)对性状进行研究。该文就国内外大豆分子标记和分子标记辅助育种及分子育种技术发展动态和发展中存在的主要问题做一概述。

关键词:大豆;分子标记;分子标记辅助育种

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2009)05-0917-09

Development of Soybean Molecular Markers and Molecular Markers Assistant Breeding

LI Wen-bin, HAN Ying-peng

(Soybean Research Institute, Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: In recent years, molecular markers, QTL-assisted selection research and application has been greatly developed, and a number of important traits related QTL have been studied, such as morphological traits, yield traits, quality traits, ecological traits, and abiotic stress resistance. However, developed countries have shifted to the functional markers studies, such as EST-SSR, SNP and candidate gene marker. Soybean EST project and soybean functional genomics program directly have started and aim to have a view on functional genes linked to traits. At present, molecular markers have focused on the use of random markers for QTL analysis of traits, such as RAPD, SSR and AFLP in domestic land. This study will show main problems and development of soybean molecular markers and marker-assisted selection breeding in the development process.

Key words: Soybean; Molecular marker; Molecular marker assistant breeding

1 大豆分子标记及辅助选择育种技术发展动态

1.1 随机标记(RMs)

1.1.1 RFLP标记 自20世纪80年代初提出RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)可以用作分子标记之后, RFLP便被成功地用于许多生物学的分子生物学研究。大豆起步较晚,至1988年才有Apuga等^[1]系统地报导了大豆RFLP研究结果。1994年Keim等^[2]用RFLP探针对一粒传法

(SSD)和多粒传(MSD)法进行了分析。

1.1.2 RAPD标记 1990年, RAPD(Random amplified polymorphic DNAs)技术首次被Williams用于基因组DNA分析,共包括1200条引物。Terry等^[3]研究显示RAPD技术对于研究亲本材料的遗传背景、选配杂交亲本、确定有效的选择方式具有较高的可靠性。Lee等^[4]的研究显示在大豆种子轮回选择过程中应适当注意增加细胞质的变异。Sneller等^[5]对大豆种质资源的研究证明RAPD技术对于评估种质资源变异方面的有效性,因此RAPD技术在大豆进化、分类及种质资源方面应用切实有效。

收稿日期:2000-04-04

基金项目:国家高技术研究发展计划目标导向资助项目(2006AA10ZF1Z1);国家高技术研究发展计划重点资助项目(2006AA100104-4);大豆产业技术体系资助项目(nycyt-x-004)。

作者简介:李文滨(1958-),男,教授,博士生导师。E-mail:wenbinli@yahoo.com。

SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) 标记由 RAPD 进一步测序衍生而来。Zheng 等^[6]发现 RAPD 引物 OPN11 的扩增片段 OPN11980/1070 与抗大豆花叶病毒基因相连锁,并将其转换为 SCAR 标记取得良好的效果。邹继军等^[7]发现 RAPD 引物 OPS03 的扩增片段 OPN11580/620 与抗大豆灰斑病基因连锁,并将其转换为 SCAR 标记,并在抗感种质划分中取得良好的效果。

1.1.3 SSR 标记 大豆基因组中微卫星 (Microsatellite) 序列绝大部分随机、均匀、广泛分布;平均间隔约 15 Kb,两端特异性序列在属内是保守的,呈孟德尔式遗传,多样性指数比 RFLP 及 RAPD 要高,是一种共显性的遗传标记。建立在微卫星序列信息基础上的 SSR 分子标记技术应用于大豆研究发展极为迅速,目前已设计出的用于连锁作图的大豆基因组 SSR 引物已超过 1 015 对,且还在不断增加。Peakall 等^[8]考察 31 个大豆 SSR 位点在野生同属植物和其他豆属植物中的同源性,发现高达 65% 的引物扩增出产物,这些扩增片段与栽培大豆相比较短,也出现断裂情况。许占友等^[9]从中国大豆品种资源中选择农艺性状相差显著的 90 份材料,经 SSR 分析,结果佐证了山西是我国大豆发源地之一的结论。

1.1.4 AFLP 标记 AFLP (Amplified fragment length polymorphism) 是 1993 年由荷兰 Keygene 公司科学家 Zabeau Marc 和 Vos Pieter 开发的分子标记技术。Satyavathi^[10]利用 AFLP 标记对印度的 72 个栽培品种进行分析,结果表明 95% AFLP 引物表现为多态性,72 个栽培品种只分成 3 个类群,表现为较狭窄的遗传多样性。

1.2 功能标记 (FMs)

1.2.1 SNP 标记 近年来,大豆种质的多样性不断降低,其结果使连锁不平衡性 (Linkage Disequilibrium, LD) 增加,这有利于目的基因座上 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 单元型与表型的相关性分析。例如美国栽培大豆 4/5 的多态性来自 7~10 个大豆基因型,80% 的 SNP 存在于由 3 个作图亲本产生的所有 22 个大豆基因型。大豆是自交作物,具有高水平的 LD。如果一个植物基因组存在足够多的 LD,全基因组扫描将有助于鉴别与目的性状相关的基因组区域。Meksem^[11]利用荧光标记的 SNP 探针

检测了大豆根节线虫抗性基因 *Rhg4*,准确性高达 90%。Rafalski 等^[12]对大豆序列多样性的研究表明,在 22 个多态性高的大豆基因型中,SNPs 的出现频率在编码区每 kb 发现 1.64 个 SNP,在非编码区每 kb 发现 4.85 个 SNP,被测序基因的 3' 端有 1/3 含 SNP。Jeong 等^[13]利用与抗大豆花叶病毒相关的位点 Rsv1 和 Rsv3 的 SNP 对一个 F₂ 群体进行了分析,结果表明与 Rsv1 和 Rsv3 的 SNP 与抗花叶病毒显著相关。袁翠平等^[14]利用 SNP 技术分析了抗大豆胞囊线虫 *Rhg4* 基因,表明片段长度差异等位基因特异性 PCR 法是一种简便、快捷、新型的方法。

SNP 标记技术作为第三代 DNA 遗传标记,有着高密度的巨大优势,但受到成本和技术的限制,在大豆研究领域没有得到快速的发展。随着大豆基因组信息的公布和 EST 数据的积累,为 SNP 的发展提供了生物信息学的基础。SNP 常规检测手段的成本下降,如基因芯片技术等;新技术的产生,如基因分析仪 Light Scanner 等都为 SNP 检测技术的推广和高通量的检测提供了有力的物质保障。

1.2.2 EST-SSR 标记 大豆 EST 计划是在美国国家自然科学基金 (National Science Foundation, NSF) 资助下,于 1998 年 3 月启动,其目的是克隆并解码 300 000 个基因的 EST,意味着每一个基因都将有 1 个 EST 标记。大豆 EST 计划只是属于结构基因组方面的研究,随着大豆 EST 计划的发展,公共数据库中积累了大量的 DNA 序列,这些序列在基因组内对大豆的生长发育起什么样的作用,互相之间有什么样的联系,即属于大豆功能基因组的研究范畴。在大豆 EST 计划基础上,美国大豆功能基因组计划 (A Functional Genomics Program for Soybean) 于 1998 年 10 月启动,其目的之一是通过与遗传图上分子标记相关的 BAC 克隆的分离及序列分析,构建大豆物理图谱,并开展大豆与其他物种的比较基因组学研究。近年来,在 NCBI 基因库中已登超过 40 万条大豆 EST 序列,因此兴起 EST-SSR 标记的开发利用。EST-SSR 反映了基因的编码部分,可以直接获得基因表达的信息,为功能基因提供“绝对”的标记,这有可能对决定重要表型性状的等位基因进行直接鉴定;省去了 SSR 引物开发过程中的克隆和测序步骤,充分利用了现有测序数据,降低了开发成本;在不同物种间通用性好。Song 等^[15]将 24 个 EST-SSR 整合进 Cregan 等^[16]公共图谱,为更好利

用 EST-SSR 开辟了道路。

1.2.3 候选基因标记 Cheng 等^[17]利用异黄酮合成酶基因的 SNP 位点 IFS1 和 IFS2 对 33 个中国大豆品种进行了分析,发现该 2 个 SNP 位点显与大豆籽粒中异黄酮含量显著相关。

2 大豆遗传图谱构建研究进展

2.1 经典遗传图谱

大豆的常规标记包括形态、色素和同工酶标记,经典遗传图谱(Classical Linkage Group, GLG)发展速度较慢,研究也不系统,到 1973 年才仅有 7 个连锁群,1985 年达到 13 个连锁群。

2.2 以 RFLP 标记为主的遗传图谱

RFLP 标记作为第 1 代 DNA 分子标记,重复性好,共显性,被广泛用于基因作图、多样性分析和进化研究等。Apuya 等^[1]应用大豆 2 个栽培品种 Minsoy 和 Noir1 杂交得到的 F₂群体,构建了世界上第 1 张 RFLP 图谱,图谱包括 4 个连锁群,其上共有 11 个 RFLP 标记。Shoemaker^[18]通过近等基因系 Clark × Harosoy 杂交得到 F₂分离群体,在该群体中共计有 20 个形态标记和同工酶标记表现分离,据此,通过 JoinMap 作图软件将这些标记与已定位的 RFLP 座位连锁的常规标记整合到 1 张遗传图谱上,该图谱当时被认为是第 1 张“公共图谱”。张德水等^[19]应用栽培大豆长农 4 号与半野生大豆新民 6 号杂交,通过 84 个 F₂单株,以 RFLP 标记为主进行连锁群分析,构建我国首张大豆分子遗传连锁图谱。

2.3 以 SSR 标记为主的遗传图谱

Mansur 等^[20]通过 2 个栽培大豆 Minsoy 和 Noir1 杂交,得到 284 个 F₇代的重组自交系,用 45 个 SSR 标记对其中的 223 个单株系进行分析,在遗传图谱上添加了其中 22 个新的 SSR 标记。刘峰等^[21]应用栽培大豆长农 4 号和半野生大豆新民 6 号杂交得到的 F₈代重组自交系,构建了我国第 2 张较高密度的遗传图谱。吴晓雷等^[22]利用科丰 1 号与南农 1138-2 杂交的 F₉代 RIL 群体绘制了我国的第 3 张遗传图谱。

2.4 大豆公共遗传图谱的构建

Cregan^[16]对大豆公共遗传图谱的绘制具有里程碑的作用。1999 年,他利用 606 对 SSR 引物,对三所大学所构建的图谱进行整合,形成一张高密度

的大豆分子遗传图谱。三张图谱所利用的作图群体分别为:美国农业部/依阿华州立大学分离群体(USDA/Iowa State University Population),这是栽培大豆自交系 A81-356022 和野生大豆 PI468916 种间杂交的 F₂作图群体,该群体由 59 个 F₂植株组成;犹塔大学重组自交系群体(University of Utah Population),这是通过 2 个栽培大豆品种 Minsoy 和 Noir1 杂交后得到的 F₇重组自交系群体,由 240 单株组成;内布拉斯加大学的近等基因系群体(University of Nebraska Population),这是由栽培大豆近等基因系 Clark 和 Harosoy 杂交得到的 F₂群体,这一群体由 57 株 F₂单株衍生系组成。至此,这张图谱被认为是最具有代表性的“公共图谱”,该遗传图谱包括 606 对 SSR 引物、689 个 RFLP 引物、10 个 AFLP 引物、10 个同工酶标记、26 个常规标记,该图谱的分子标记被分布到 20 个连锁群上。Song 等^[15]在公共图谱的基础上进一步进行加密,形成了包括 1015 对 SSR 引物、709 个 RFLP 引物、73 个 RAPD 引物、6 个 AFLP 引物、10 个同工酶标记、24 个常规标记、12 个其他标记在内 1849 个分子标记,分布于 20 个连锁群,共 2 523.6 cM 的遗传连锁图谱,是目前最密、被引用最多的遗传连锁图谱。

在我国,宛焜嵩等^[23]利用由大豆主栽品种晋豆 23 和农家种灰布支(ZDD2315)杂交培育的 F₁₀代大豆重组自交系群体共 474 个家系作为作图群体。其依据 1999 年 Cregan 等^[16]发表的大豆“公共图谱”,选用 441 对 SSR 引物,建成了含有 227 个 SSR 座位的大豆 SSR 连锁图,该图覆盖大豆基因组 1 900 cM,两个相邻标记的平均间距为 8.3 cM,归属于 20 个大豆连锁群,与 Song 等^[15]发表的公共图谱相比,所有标记都被定位于相同的连锁群,且排列顺序大致相同,具有很好的线性关系。

3 大豆数量性状遗传位点(QTL)研究进展

3.1 大豆发育性状 QTL

国外方面,现在已经被定位的株高 QTL 共有 70 多个。Mansur 等^[20]共定位了 10 个株高 QTL,其中与标记 Satt006 和 Satt079 连锁的 2 个 QTL 能解释 31.6% 和 18.1% 的遗传变异,检测到的与 A109a 和 R79 相连锁的控制开花期的 QTL 解释的表型变异分别达到 31.1% 和 22.3%。Kiem 等^[24]检测到与

茎粗有关的 QTL 3 个,与冠层高度、宽度有关的 QTL 各 3 个,解释的表型变异都在 10% 以上。Nisar^[25]等利用 SSR 分子标记分析了与大豆闭花受粉相关的 QTL,结果在连锁群 C2, D1a, I 和 L 上共发现了 4 个与闭花受粉相关的 QTL。

在国内,吴晓雷等^[22]用“科丰 1 号”和“南农 1138-2”杂交得到的 RIL 群体,在 C2 和 N 连锁群上检测到 4 个控制株高的 QTL。Zhang 等^[26]也利用该 RIL 群体,在 B1、C2 和 E 连锁群上检测到 8 个控制开花期的 QTL。刘峰^[21]同时在 A1、D1b 连锁群上检测到 4 个控制种皮色的 QTL。

3.2 大豆产量性状 QTL

在国外已报道的与大豆粒重有关的 QTL 有 80 多个,其中解释超过 10% 表型变异的有 27 个。Mian 定位了 1 个与标记 B031 紧密连锁的 QTL 能解释 22% 的总变异。Sebolt 定位了 1 个与标记 A144_1 紧密连锁的 QTL,解释高达 29% 的总变异。Hoeck 在 L 连锁群上定位了 2 个与标记 Satt006、Satt143 紧密连锁的 QTL,分别解释 28.2% 和 20% 的总变异。Mansur 等^[20]在与 K443 连锁控制粒重的 1 个 QTL 解释 10.8% 的表型变异。Csanadi^[27]等将与 Satt219 和 Satt562 连锁的粒重 QTL 定位在 O 和 I 连锁群上,这 2 个 QTL 分别解释了总变异的 12.0% 和 11.6%。与单株产量有关的 QTL 有 30 多个,其中解释超过 10% 的表型变异的有 16 个。Sebolt 在 I 连锁群上定位了 1 个解释 26% 表型变异的 QTL (Satt127)。Mansur 等^[20]鉴定的与 R79 连锁控制产量的 QTL 解释 12.5% 的表型变异。Li 等^[28]利用栽培品种‘7499’和 PI 245331 杂交衍生的 BC2F4 群体并在 3 个环境下进行产量的测定。

在国内,刘峰^[21]利用“新民 6”和栽培大豆“长农 4”种间杂交得到的 F₂ 代重组自交系群体分别在 G2、K 连锁群上检测到 2 个与粒重相关的 QTL。吴晓雷等^[22]在 A2、C2、D1、D2a 和 G 连锁群上检测到 6 个控制百粒重的 QTL。Zhang 等^[26]在 A2、B1 和 D2 连锁群上检测到 4 个控制百粒重的 QTL。孙德生等^[29]发现 17 个主茎荚数的非条件 QTL。

3.3 大豆品质性状 QTL

已报道的蛋白质含量 QTL 有 70 多个,与脂肪含量有关的 QTL 有 60 多个。Diers 等^[30]发现了 8 个与蛋白质含量相关的 QTL,分别解释 12% ~ 142% 的表型变异。同时发现了 9 个与脂肪含量相

关的 QTL,解释 10% ~ 13.8% 的总变异。Lee 等发现 8 个与蛋白质含量相关的 QTL。Qiu^[31]在 H 和 F 连锁群上发现 2 个与标记 B072 和 B148 连锁的蛋白质含量 QTL。Csanadi^[27]将 4 个与蛋白质含量相关的 SSR 标记定位在 D1b + Q、C2、M、K 连锁群上;将 3 个与脂肪含量有关的 QTL 定位在 B2、K 和 I 上。Diers 等^[30]还发现与亚油酸、油酸、棕榈酸含量有关的 QTL 各 3 个,与亚麻酸相关的 QTL 7 个,且解释的表型变异都在 10% 以上。Spencer 定位了 1 个与硬脂酸含量有关的 QTL。Maughan 等发现了 17 个与蔗糖含量有关的 QTL,其中 3 个解释 10% 以上的总变异。Meksem^[32]等利用 Essex 和 Forrest 的重组自交系,利用 400 个 SSR 引物,构建了含 133 个引物的 SSR 图谱,发现与大豆异黄酮含量相关的标记。

刘峰等^[21]采用野生大豆“新民 6”和栽培大豆“长农 4”种间杂交得到的 F₂ 代重组自交系,对大豆籽粒蛋白含量、脂肪含量、氨基酸含量等 23 个品质性状进行了遗传分析和 QTL 定位,分别在 N、G2、K、M、O 连锁群上检测到 1 个控制蛋白含量的 QTL 和 4 个控制油分含量的 QTL。吴晓雷等^[22]用“科丰 1 号”和“南农 1138-2”杂交得到的 RIL 群体在 B1、B2 和 W 连锁群上检测到了 3 个控制蛋白含量的 QTL,同时在上述群体的 N3-B1 和 N8-W 连锁群上检测到 3 个控制蛋白含量的 QTL。Zhang 等^[26]利用上述群体,检测到与油分和蛋白相关的 QTL 各 1 个,其中在 B2 连锁群上检测到的控制蛋白含量的 QTL,解释了 12.4% 的变异。杨柳等^[33]利用 606 个 SSR 引物对高亚麻酸 × 低亚麻酸组合进行分析,发现 3 个低亚麻酸 QTL 位点。李文滨等^[34]利用亚麻酸含量为 7.48% 的品种合丰 25 与亚麻酸含量仅为 2.66% 的突变品系 L-5 杂交获得的 126 个 F_{5,6} 代群体,得到 12 个低亚麻酸和油酸 QTL 位点。张红梅等^[35]以 176 个家系组成的苏 88-M21 × 新沂小黑豆重组自交系群体 NJRISX 为材料,分析干豆腐、湿豆腐和干豆乳得率的 QTL。曾国良等^[36]利用高异黄酮含量中豆 27 与低异黄酮含量的九农 20 杂交衍生的 150 个 F_{2,5} 重组自交系,获得一个能够稳定表达的同大豆黄素相关的 QTL 位点。刘焕成等^[37]采用合丰 25 为母本, Bayfield 为父本的 F_{5,6} 群体,发现与 α -、 γ -、 δ -生育酚和 VE 总含量相关的 QTL 14 个。

3.4 大豆生理性状 QTL

与生理性状有关的 QTL 共 60 多个。Mian 等发现多个与水分利用率、特定叶片重、叶片灰分和早期植株活力有关的 QTL,其中与水分利用率和叶片灰分有关的 QTL 有 2 个,解释表型变异达 10% 以上。Specht 等^[38]发现 1 个与抗旱性有关的 QTL,与特定叶片重和早期植株活力有关的 QTL 有 3 个,1 个与碳同位素吸收有关的 QTL。Bianchi-Hall 等发现了 6 个耐铝的 QTL,但只有 1 个 QTL 解释表型变异达到 10% 以上。Van Taio 等发现了 1 个与 sat-064 连锁的与涝害有关的 QTL,解释表型变异达到 10% 以上。与叶长和叶宽有关的 QTL 分别为 6 和 10 个,解释表型变异达到 10% 以上的 QTL 均有 4 个。其中,Mansur 等^[20]发现了与 sat006 连锁的 QTL 解释表型变异达到 10.2%;与 R79 连锁的 QTL 解释表型变异达到 14.1%。与叶面积相关的 QTL 有 6 个,其中 3 个解释表型变异达到 10% 以上。Lee 等发现了与豆芽产量、胚轴长度和畸形幼苗有关的 QTL,分别为 4 个、3 个和 3 个。Mian 等发现与除草剂“C15H15N4SO6”敏感性有关的 QTL 3 个。

3.5 大豆抗病虫性状的基因定位

3.5.1 大豆胞囊线虫病 Cregan 等^[16]利用 SSR 标记将不同群体及传统标记整合在一起,使比较不同研究结果成为可能。目前,除 D1b + W 和 O 以外的 18 个连锁群上都已鉴定出与抗胞囊线虫相关的分子标记。其中抗大豆胞囊线虫的主效基因 *rhg1* 所在的连锁群 G 上的分子标记最多,其余连锁群上的标记数目较少,*rhg1* 控制着与大豆胞囊线虫病相关的 50% 以上的变异,并且在很多抗病种质中均存在,所以被认为是抗大豆胞囊线虫病的主基因位点。抗性基因的累加将提高抗性水平,抗大豆胞囊线虫分子标记累加最多可解释 98% 以上的抗性表型变异。在已鉴定出的抗大豆胞囊线虫病分子标记中,Satt309、Satt583 和 A006 被认为是抗病分子标记辅助选择效率最高的标记,但它们与抗病基因之间仍有一定距离。大豆对胞囊线虫病的抗性极为复杂,所以在抗性鉴定中,这些标记只可作为重要参考依据,不能作为绝对的衡量指标。董丽民等^[39]利用黑龙江省主栽品种黑农 37 与抗病品种 L-10 杂交,以筛选出的黑龙江省大豆胞囊线虫 3 号优势生理小种和 14 号小种的病土接种鉴定。

3.5.2 大豆灰斑病 Rouf Mian^[40]对抗大豆灰斑病 5 号生理小种的 *Rcs3* 基因进行分子作图。引物 Satt244 与 *Rcs3* 基因紧密连锁,它们之间几乎没有基因的重组。

3.5.3 大豆疫霉根腐病 许多学者利用一系列 Williams 近等基因系对大豆疫霉根腐病进行了分子作图尝试。Hegstad 等^[41]利用 RFLP 标记分析几个优良品种,证明 *Rps1-k* 和 *rps1-k* 之间具有多态性,当使用内切酶 *DraI* 和 A280 时,含有 *Rps1-k* 的品种 Williams82、Edison、Resnik 和 Yhorne 在 3.1 Kb 有 1 条带,而含有 *rps1-k* 的品种 AsgrowA3733、Bell、Jack、Spry 和 Yale 缺乏 3.1 Kb 带。Kasuga 等利用 RAPD、AFLP 法和物理作图法定位 *Rps1-k* 基因,找到 5 个 RAPD 和 27 个 AFLP 标记,其中 3 个 AFLP 标记是共显性的。物理作图法表明 *Rps1-k* 基因的侧翼标记 CG1 和 TC1 可能定位在 1 条长 125 Kb 的染色体片段上。Burnham 等^[42]在连锁群 D1b + W 和 F 上发现了抗疫霉根腐病部分生理小种的基因位点。关于大豆疫霉根腐病抗病基因定位研究较少,Weng 等^[43]利用 Conrad 与 OX760-6-1 群体在 J 和 D1b + w、F 连锁群上发现了耐疫霉根腐病的 3 个 QTL 位点。韩英鹏等^[44]利用 Conrad 与 OX760-6-1 群体分别在 J 和 D1b + w、F 连锁群上发现了耐疫霉根腐病的 3 个 QTL 位点。李修平等^[45]对 ConradX 合丰 25 $F_{2,5}$ 重组自交系群体进行 QTL 分析,抗病性鉴定于 2007 年在中国黑龙江省佳木斯和加拿大 Woodslee 进行,并分别采用来自两地的混合菌种进行温室鉴定。

3.5.4 大豆花叶病毒病 国外已经命名了 3 个抗 SMV 的位点,Yu 等^[46]通过 PI96983 (R) × Lee68 (S) 的 F_2 群体,研究了与 *Rsv* 连锁的分子标记,在 PI96983 中鉴定出抗 SMV 的单显性基因 *Rsv1*。他们进一步利用这 3 个标记在大豆中进行分子标记辅助的抗源筛选,鉴定了 67 个大豆栽培品种。Hayes 等^[47]利用 AFLP 标记对 PI96983 (*Rsv1*) × Lee68 (*rsv1*) 的 F_2 群体进行标记,在 960 个条带中有 33 个具有多态性,其中 4 个标记 R11 (518bp)、R12 (171bp)、R13 (261bp) 和 R14 (312bp) 与 *Rsv1* 连锁。Jeonga 等^[48]在 Columbia 中发现与 *Rsv1* 相独立的单显性抗 SMV 基因 *Rsv3*,将其定位在连锁群 B2 上。Hayes 等^[47]用 AFLP 和 SSR 对 LR2 × Lee68 和 VT1-370 × PI407162 的 F_2 群体进行标记,其中 R4-

1 和 R4-2 与 *Rst4* 连锁,分别相距 4.8 cM 和 18 cM。滕卫丽等^[49]通过 600 对 SSR 引物对中选 95-5117 × HB1 组合的 117 个 F₅ 代重组自交系 (RIL) 进行筛选,得到 2 个与抗 N3 株系相关的 SSR 标记。

3.5.5 大豆细菌性斑点病 大豆细菌性斑点病 (*Pseudomonas Syringae*) 是一种世界性病害,其 1 号小种的抗性由单显性基因 *Rpg1* 控制,*Rpg1* 又可分为 *Rpg1-b* 和 *Rpg1-r*。Ashfield 等^[50]利用 2 个不同群体对 *Rpg1-b* 进行定位。第 1 个定位群体 PI437654 × BSR101 的重组自交系 (RIL) 上已有大量的 RFLP 和 AFLP 标记。Shoemaker 等^[18]通过分析 157 个 RIL 的抗感反应和已有标记的关系,将 *Rpg1-b* 定位在连锁群 F 上的 RFLP 标记 A186 和 B212 之间,与 R45、php2265 和 php2385 等 3 个标记共分离。Ashfield 等^[50]还在 Flambeau × Merit 的 RIL 群体中分析了与 *Rpg1-b* 连锁的标记,找到与其连锁的 2 个 SSR 标记,*Rpg1* 被定位在 F 连锁群的 K644 和 B212 之间。

3.5.6 大豆猝死综合症 大豆猝死综合症 (*Fusarium Solani*, SDS) 是另一个数量抗病基因定位研究比较多的病害,Hnetkovsky 等^[51]用 Essex × Forrest 的 100 个重组自交系,利用连续 4 a 5 点的病害发生率 (Disease Incidence, DI)、病害严重度 (Disease Severity, DS) 数据和 70 多个多态标记位点分析了与 DI 和 DS 有关的 QTL。Yuan 等^[52]发现了 2 个抗大豆猝倒病的 QTL,并被定位在 G 和 N 连锁群上。

3.5.7 其它大豆病害 Lewers 等发现了 2 个与抗茎枯病有关的 QTL。Arahana 等和 Kim 等发现 29 个与抗菌核病相关的 QTL,其中有 2 个 QTL 解释表型变异分别为 11.9% 和 11.0%,分别与 ASU-A226H-1 和 OAA15750 相连锁,并定位于 M 和 C2 连锁群上。另外,与缺铁性黄萎病有关的 QTL 有 7 个,仅有 1 个 QTL 解释表型变异达到 10% 以上。Guo 等利用 ‘Kottman’ (2) × PI391589A 和 PI 391589B × IA2053 杂交所衍生的 F₂ 群体,在连锁群 E, F, M, 和 O 上定位了 4 个与大豆菌核病相关的 QTL 位点。Danielle 等利用 PI230970 × PI459025 和 PI 230970 (*Rpp2*) × BRS 184 所衍生的 2 个 F_{2,3} 群体定位大豆锈病抗病基因,结果在连锁群 J 和 G 上分别定位了 *Rpp2* 和 *Rpp4*。Alexandre 等利用 CD 208 和 PI200487, PI200526, PI230970, PI459025, PI471904 分别杂交产生的 5 个 F₂ 代进行 QTL 分析,在连锁

群 N 上发现 1 个抗大豆锈病新位点。Mian 等利用 Wyandot 和 PI243540 杂交产生的 184 个 F₂ 和 F_{2,3} 家系进行与抗蚜定位分析。Zhao 等^[53]用 606 对 SSR 引物对东农 1068 × 东农 8004 的 F₅ 代 RILs 的大豆食心虫抗性进行 QTL 定位,结果发现 3 个 QTL 位点。

4 大豆动态(条件)QTL 的分析进展

数量性状的遗传表达与发育阶段密切相关,存在基因表达的发育阶段性,不同发育阶段的性状变化是基因的选择性有序表达的结果。数量性状受特定的微效多基因系统控制,对数量性状在不同发育时段的基因表达和效应进行研究,有助于揭示数量性状发育的分子遗传机理。杜玉萍等^[54]在株高发育不同时期,于 2004 年和 2006 年共检测到 25 个非条件株高 QTL 和 27 个条件株高 QTL,其中有 3 个非条件 QTL 和 7 个条件 QTL 2 a 同时检测到。Li 等^[55]利用 Charleston × 东农 594 的重组自交系群体,在蛋白质含量积累的不同时期,于 2004 和 2005 两年共检测到 21 个蛋白质含量的非条件 QTL 和 17 个条件 QTL,其中有 6 个非条件 QTL 和 2 个条件 QTL 在 2 a 同时被检测到。

5 大豆分子标记辅助育种 (MAS) 发展现状

现阶段分子标记辅助选择技术主要用于遗传效应较大、遗传较简单的数量性状,目前还不能用在所有性状上。Tanksley 和 Nelson 针对数量性状特征,提出了分子辅助育种策略,即:将 QTL 分析与品种选育相结合,通过回交高世代的 QTL 分析,揭示综合性状差的种质资源中有价值的基因座位,将它们转移到优良的栽培材料中去,从而达到改良作物的目的,大豆孢囊线虫的分子育种是最为典型例子。Young 在 3 个群体中同时发现 1 个分子标记位点距离主要大豆孢囊线虫抗病基因仅 1 ~ 2 cM,迄今已鉴定出多个 SSR 标记 (Satt309、Satt163、Satt038、Satt130 等) 与不同的大豆孢囊线虫小种抗性有关。由于美国的大豆遗传基础主要来自少数几个外引资源,所以发现的与孢囊线虫抗病有关的分子标记在许多杂交亲本中存在,因此杂交群体通过回交,利用分子标记可以有目的的选择抗大豆孢囊线虫育种材料,在提高选择精度的同时也克服了大豆孢囊线虫

病的鉴定困难。育种家已经利用这些标记来代替复杂的大豆孢囊线虫抗性鉴定手续,快捷地培育出一批抗多个大豆孢囊线虫小种的品种。

通过分子标记及辅助育种方法,Merterc 公司的 Dennis L. Schultze 等在 2007 年培育出高产、多抗大豆栽培种 6223392(专利号:7371939),孟山都公司 2007 年推出了大豆品种 4782157(专利号:7381867),其下属的 Stine 种业同年也推出了 3 个高产、多抗大豆栽培种 6548193(专利号:7345228),6440261(专利号:7345227),S060291(专利号:7342151)。

张瑛等^[56]对鉴定出的 LOX 缺失个体进行分子标记辅助选择,使回交次数从常规育种方法所用的 6 次缩短至 3 到 4 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。郑宇宏等利用获得的与低亚麻酸相关的 QTL,在不同的杂交群体中选出低亚麻酸含量品系 L-47,其亚麻酸含量仅为 2.47%,油酸含量高达 25.81%;农艺性状和品质性状皆优良的低亚麻酸品系 L-106,其亚麻酸含量仅为 2.45%,油酸含量高达 24.57%。以上品系已进入品种审定阶段。

6 国内大豆分子标记及辅助选择育种存在的主要问题与建议

近年来,分子标记、QTL 的研究和应用已经得到很大的发展,在许多作物中已定位了很多重要性状的基因,但利用标记辅助选择育成品系或品种的报道还相对较少。究其原因主要有:(1)功能标记研究尚处于起步阶段,功能标记的开发利用将更直接的代表性状的表现;(2)标记信息的丢失。标记并不是基因,由于重组使标记与基因分离,导致选择偏离方向;(3)QTL 定位和效应估算的不精确性;(4)上位性的存在。由于 QTL 与环境、QTL 与 QTL 间存在互作,导致不同环境、不同背景下选择效率发生偏差;(5)QTL 筛选与育种过程相脱离。

针对上述现象,在分子标记研究中需加强以下工作:(1)加强新型标记的开发,如 EST-SSR 和 SNP 等功能标记。发展饱和遗传图谱,寻找与目的基因紧密连锁的两侧标记,提高基因型与表现型的一致性;(2)从全基因组水平对 QTL 展开研究,包括 QTL 的数目、位置、效应以及 QTL 与 QTL 间、QTL 与环

的互作、QTL 的一因多效性等,充分发掘 QTL 的信息,选择最佳组合进行标记辅助选择;(3)将常规选择与标记辅助选择相结合,针对不同性状的特点,研究高效的选择方法。如动物育种中采用的两阶段选择方法,即在早代通过标记辅助选择提高 QTL 基因的频率,在后期世代结合表型选择,快速获得理想的表型。

随着功能标记和随机标记的不断开发,遗传连锁图谱和物理图谱的不断完善,功能基因和基因网络的挖掘和建立,大豆基因组测序完成后的连锁群标定和相应分子生物信息学技术的发展完善,将使绘制大豆单一基因型图谱成为可能。育种家将根据基因型图谱决定哪一染色体区段由哪一亲本遗传给后代,从而完全控制后代的选择方向和目标,加快育种进程,减少区域试验耗费的时间,真正实现基因组辅助选择(Genomic assistant selection)育种或分子设计育种(Breeding by design)。

参考文献

- [1] Apuya N, Frazier B, Keim P, et al. Restriction length polymorphisms as genetic markers in soybean[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1988, 75:892-901.
- [2] Keim P, Reavis W D, Schupp J M, et al. RFLP analysis of soybean breeding population 1: Genetic structure difference due to inbreeding methods[J]. Crop Science. , 1994, 34:55-61.
- [3] Terry L I, Lark K G, Allphin L, et al. Molecular phylogeny as a tool for soybean breeding III [J]. Soybean Genetics Newsletter, 1994, 21 :245-256.
- [4] Lee D J, Donald J, Carol C A. et al. Analysis of cytoplasmic diversity in an outcrossing population of soybean [J]. Crop Science. , 1994, 34(1) :46-50.
- [5] Sneller C, Diers B, Kisha T, et al. RFLP and coefficient of parentage analyses of diversity in elite and p lant introduction soybean populations[J]. Agronomy Abstracts, 1994 ,213 :221-253.
- [6] Zheng C M, Chang R Z, Qiu L J. Identification and characterization of a RAPD/SCAR marker linked to a resistance gene for soybean mosaic virus in soybean[J]. Euphytica, 2003, 132:199-210.
- [7] 邹继军, 杨庆凯, 陈受宜, 等. 大豆灰斑病抗病基因 RAPD 标记的分子特征及抗、感种质的 SCAR 标记鉴定[J]. 科学通报, 1999, 44(23) :2544-2550. (Zou J J, Yang Q K, Chen S Y, et al. Cercospora leaf spot resistance gene RAPD markers and the molecular characteristics of resistant and susceptible germplasm identification of the SCAR marker[J]. Chinese Science Bulletin, 1999, 44(23) :2544-2550.)
- [8] Peakall R, Gilmore S, Keys W, Cross-Species amplication of soybean(*Glycine max*) Simple sequence repeats (SSRs) within the ge-

nus and other legume genera, implications for the transferability of SSRs in plants [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1998, 15 (10):1275-1287.

- [9] 许占友, 邱丽娟, 常汝镇, 等. 利用 SSR 标记鉴定大豆种质[J]. *中国农业科学*, 1999, 32 (增刊): 40-48. (Xu Z Y, Qiu L J, Chang R Z, et al. Using SSR Markers to evaluate genetic diversity of soybean in China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1999, 32: 40-48.)
- [10] Satyavathi C T, Bhat K V, Bharadwaj C, et al. AFLP analysis of genetic diversity in Indian soybean [*Glycine max*(L.) Merr.] varieties [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2006, 53: 1069-1079.
- [11] Meksem K, Ruben E, Davia L, et al. High-throughput genotyping for a polymorphism linked to soybean cyst nematode resistance gene *Phg4* by using TaqmanTm probes [J]. *Molecular Breeding*, 2001, 7:63-71.
- [12] Rafalski A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 2 (5): 94-100.
- [13] Jeong S C, Saghai M A. Detection and genotyping of SNPs tightly linked to two disease resistance loci, *Rsv1* and *Rsv3*, of soybean [J]. *Plant Breeding*, 2004, 123:305-310.
- [14] 袁翠平, 李英慧, 刘章雄, 等. 一种大豆 SNP 分型新方法[J]. *大豆科学*, 2008, 26(4):447-459. (Yuan C P, Li Y H, Liu Z X, et al. A method of SNP genotyping in soybean [J]. *Soybean Science*, 2008, 26(4):447-459.)
- [15] Song Q J, Marek L F, Shoemaker R C, et al. A new integrated genetic linkage map of the soybean [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 09:122-128.
- [16] Cregan P B, Jarvik T, Bush A L, Shoemaker R C, et al. An integrated genetic linkage map of the soybean genome [J]. *Crop Science*, 1999, 39:1464-1490.
- [17] Cheng H, Yu O, Yu D. Polymorphisms of *IFS1* and *IFS2* gene are associated with isoflavone concentrations in soybean seeds [J]. *Plant Science*, 2008, 175:505-512.
- [18] Shoemaker M S, Specht J E. Integration of simple sequence repeat DNA markers into a soybean linkage map. [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 35(5):1439-1445.
- [19] 张德水, 董伟, 惠东威, 等. 用栽培大豆与野生大豆间的杂种 F₂ 群体构建基因组分子标记连锁图谱框架图 [J]. *科学通报*, 1997, 42(2):1326-1330. (Zhang D S, Dong W, Hui D W, et al. With cultivation of soybean and wild soybean F₂ hybrids between the groups to build genome molecular marker linkage map of the framework map [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1997, 42(2):1326-1330.)
- [20] Mansur L M, Orf J H, Chase K, et al. Genetic mapping of agronomic traits using recombinant inbred lines of soybean [J]. *Crop Science*, 1996, 36:1327-1336.
- [21] 刘峰, 庄炳昌, 张劲松, 等. 大豆遗传图谱得构建和分析 [J]. *遗传学报*, 2000, 27(11):1018-1026. (Liu F, Zhuang B C, Zhang J S, et al. Construction and analysis of soybean genetic map [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2000, 27(11):1018-1026.)
- [22] 吴晓雷, 王永军, 贺超英, 等. 大豆重要农艺性状的 QTL 分析 [J]. *遗传学报*, 2001, 28(10):947-955. (Wu X L, Wang Y J, He C Y, et al. QTLs mapping of some agronomic traits of soybean [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(10):947-955.)
- [23] 宛煜嵩, 王珍, 肖英华, 等. 一张含有 227 个 SSR 标记的大豆遗传连锁图 [J]. *分子植物育种*, 2005, 3(1):15-20. (Wan Y S, Wang Z, Xiao Y H, et al. A soybean genetic linkage map comprising of 227 SSR loci in a soybean RIL population [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2005, 3(1):15-20.)
- [24] Keim P, Diers B W, Olson T C, et al. RFLP mapping in soybean [J]. *Genetics*, 1990, 126:735-742.
- [25] Nisar A K, Stephen M, Eduardo R, et al. QTL analysis of cleistogamy in soybean [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, DOI 10.1007/s00122-008-0792-5.
- [26] Zhang W K, Wang Y J, Zhang J S, et al. QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine max*(L.) Merr.) genetic map and their association with EST markers [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108:1131-1139.
- [27] Csanadi G J, Vollmann G S, Lelley T. Seed quality QTLs identified in a molecular map of early maturing soybean [J]. *Theoretical Applied Genetics*, 2001, 103:912-919.
- [28] Li D, Pfeiffer T W, Cornelius P L. Soybean QTL for yield and yield components associated with *Glycine soja* alleles [J]. *Crop Science*, 2008, 48(2):571-581.
- [29] 孙德生, 李文滨, 张忠臣, 等. 大豆株高 QTL 发育动态分析 [J]. *作物学报*, 2006, 32(4):509-514. (Sun D S, Li W B, Zhang Z C, et al. Analysis of QTL for plant height at different developmental stages in soybean [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(4):509-514.)
- [30] Diers B W, Keim P, Shoemaker R C. RFLP analysis of soybean seed protein and oil content [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1992, 83:377-383.
- [31] Qiu B X, Arelli P R, Slepner D A. RFLP markers associated with soybean cyst nematode resistance and seed composition in a 'Peking' 'Essex' population [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98(3/4):356-364.
- [32] Meksem K, Pantazopoulos P, Njiti V N. A Forrester resistant to the soybean cyst nematode is Bigenic; Saturation mapping of the *Rhgl* and *Rhg4* Loci [J]. *Theoretical Applied Genetics*, 2001, 103:710-717.
- [33] 杨柳, 张彬彬, 韩英鹏, 等. 大豆亚麻酸含量的 QTL 分析 [J]. *大豆科学*, 2006, 25(3):270-278. (Yang L, Zhang B B, Han Y P, et al. QTL analysis of linolenic acid content in soybean [J]. *Soybean Science*, 2006, 25(3):270-278.)
- [34] 李文滨, 郑宇宏, 韩英鹏, 等. 大豆种质资源脂肪酸组分含量及品质性状的相关性分析 [J]. *大豆科学*, 2008, 27(5):640-745.

- (Li W B, Zheng Y H, Hang Y P, et al. Analysis of fatty acid composition and other quality traits in soybean varieties developed in Heilongjiang Province [J]. Soybean Science, 2008, 27(5): 640-745.)
- [35] 张红梅, 周斌, 赵团结, 等. 大豆重组自交系群体 NJRISX 豆腐和豆乳得率的 QTL 分析[J]. 作物学报, 2008, 34(1): 67-75. (Zhang H M, Zhou B, Zhao T J, et al. QTL mapping of Tofu and soymilk output in RIL population NJRISX of soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(1): 67-75.)
- [36] 曾国良, 王继安, 韩英鹏, 等. 大豆异黄酮含量与主要农艺性状相关性及其通径分析[J]. 大豆科学, 2007, 26(1): 25-29. (Zeng G L, Wang J A, Han Y P, et al. Correlation of isoflavones with the major agronomic characters in soybean [J]. Soybean Science, 2007, 26(1): 25-29.)
- [37] 刘焕成, 韩英鹏, 滕卫丽, 等. 东北大豆与北美大豆维生素 E 含量的分析[J]. 大豆科学, 2008, 27(6): 925-928. (Liu H C, Han Y P, Teng W L, et al. Analysis of Vitamin E content in soybeans derived from Northeast China and North America [J]. Soybean Science, 2008, 27(6): 925-928.)
- [38] Specht J E, Chase K, Macrander M, et al. Soybean response to water: A QTL analysis of drought tolerance [J]. Crop Science, 2001, 41: 493-509.
- [39] 董丽民, 许艳丽, 李春杰, 等. 黑龙江省大豆胞囊线虫胞囊密度和生理小种鉴定 [J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(1): 108-111. (Dong L M, Xu Y L, Li C J, et al. Cyst density and subspecies identification of soybean cyst nematode in Heilongjiang Province [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2008, 30(1): 108-111.)
- [40] Rouf Miana M A, Tianyuan W G, Phillips D V, et al. Molecular mapping of the *Rcs3* gene for resistance to frogeye leaf spot in soybean [J]. Crop Science, 1999, 39: 1687-1691.
- [41] Hegstad J M, Nickell C D, Vodkin L O. Identification of resistance to *Phytophthora Sojae* in soybean using RFLP and pod inoculation [J]. Crop Science, 1996, 38: 50-55.
- [42] Burnham K D, Dorrance A E, VanToai T T, et al. Quantitative trait loci for partial resistance to *Phytophthora sojae* in soybean [J]. Crop Science, 2003, 43(5): 1610-1671.
- [43] Weng C G, Yu K F, Terry R, et al. A quantitative trait locus influencing tolerance to *Phytophthora* root rot in the soybean cultivar 'Conrad' [J]. Euphytica, 2007, 158: 81-86.
- [44] 韩英鹏, 李文滨, Terry R A, et al. 耐大豆疫霉根腐病 QTL 定位的研究 [J]. 大豆科学, 2006, 25(1): 23-27. (Han Y P, Li W B, Terry R A, et al. Mapping quantitative trait loci influencing tolerance to *phytophthora* root rot in soybean [J]. Soybean Science, 2006, 25(1): 23-27.)
- [45] 李修平, 韩英鹏, 丁俊杰, 等. 与耐大豆疫霉根腐病相关的 QTL 分析 [J]. 大豆科学, 2008, 27(4): 573-575. (Li X P, Han Y P, Ding J J, et al. Mapping quantitative trait loci underlying tolerance to *Phytophthora* root rot in soybean [J]. Soybean Science, 2008, 27(4): 573-575.)
- [46] Yu Y G, Saghai M A, Buss G R, et al. RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance [J]. Phytopathology, 1994, 84: 60-64.
- [47] Hayes A J, Saghai Marof M A. Targeted resistance gene mapping in soybean using modified AFLPs [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100: 1279-1283.
- [48] Jeonga S C, Kristipatia S, Hayesa A J, et al. Genetic and sequence analysis of markers tightly linked to the soybean mosaic virus resistance gene, *Rsv3* [J]. Crop Science, 2002, 42: 265-270.
- [49] 滕卫丽, 李文滨, 邱丽娟, 等. 大豆 SMV 3 号株系抗病基因的 SSR 标记 [J]. 大豆科学, 2006, 25(3): 244-249. (Teng W L, Li W B, Qiu L J, et al. Identification of SSR marker linked to the resistance gene of SMV3 in soybean [J]. Soybean Science, 2006, 25(3): 244-249.)
- [50] Ashfield T, Danzer J R, Held D, et al. *Rpg1*, a soybean gene effective against races of bacterial blight, maps to a cluster of previously identified disease resistance genes [J]. Theoretical and Applied Genetic, 1998, 96: 1013-1021.
- [51] Hnetkovsky N, Chang S J C, Doubler T W, et al. Genetic mapping of loci underlying field resistance to soybean sudden death syndrome (SDS) [J]. Crop Science, 1996, 36: 393-400.
- [52] Yuan J, Njiti V N, Meksem K. Quantitative trait loci in two soybean recombinant inbred line populations segregating for yield and disease resistance [J]. Crop Science, 2002, 42: 271-277.
- [53] Zhao G Y, Wang J, Han Y P, et al. Identification of QTL underlying the resistance of soybean to pod borer, *Leguminivora glycinivorella* (Mats.) obratsov, and correlations with plant, pod and seed traits [J]. Euphytica, 2008, 164: 275-282.
- [54] 杜玉萍, 孙德生, 李文滨. 大豆重要农艺性状的发育动态分析 [J]. 大豆科学, 2007, 26(3): 338-342. (Du Y P, Sun D S, Li W B. Dynamic change of agronomic traits in soybean [J]. Soybean Science, 2007, 26(3): 338-342.)
- [55] Li W B, Sun D S, Du Y P, et al. Quantitative trait loci underlying the development of seed composition in soybean (*Glycine max* L. Merr.) [J]. Genome, 2007, 50: 1067-1077.
- [56] 张瑛, 张磊, 吴敬德, 等. 植物脂肪氧化酶同工酶快速检测技术在无豆腥味大豆育种上的应用研究 [J]. 大豆科学, 2003, 22(1): 50-53. (Zhang Y, Zhang L, Wu J D. Study on the technique of an analyzing lipoxygenase isozymes for absence of beany flavor mutants in soybean breeding [J]. Soybean Science, 2003, 22(1): 50-53.)