

申请品种保护的大豆品种常规种 SSR 位点纯合度分析

赵艳杰 黄思思 冯艳芳 马莹雪 李媛媛 张 蝶 邓 超 韩瑞玺 唐 浩

(农业农村部科技发展中心,北京 100176)

摘要:利用 40 对 SSR 引物,检测了 2000–2017 年度 661 份申请品种保护的大豆品种常规种 SSR 位点纯合度。结果表明,17 年间年平均纯合度在 95%~98.1% 之间。661 份材料中有 8 份申请材料在田间一致性测试中不合格,其中,3 份纯合度低于 85%,4 份纯合度在 87.5%~90% 之间,1 份纯合度达到了 95%。由此来看,申请品种保护的大豆品种常规种的分子纯合度整体较高,但需注意的是,SSR 位点纯合度虽然在一定程度上反映了一致性测试结果,但也存在例外,最终的一致性判定还需依靠田间测试。

关键词:品种保护;常规种;SSR 位点;纯合度;一致性测试

大豆是我国主要的农作物之一,在新品种保护申请量中占有较大比例。DUS 测试(特异性、一致性、稳定性)是植物新品种保护的技术基础和科学依据。一致性是指一个植物品种的特征特性除可以预见的自然变异外,群体内个体间其相关特征或者特性表现一致,是品种内株与株之间的比较。大豆作为自花授粉作物,理论上通过 6~7 代自交后,品种的纯合度可达到 98% 以上,但 DUS 测试经常看到群体内差异明显的现象。据统计,历年来因为一致性不合格未通过授权的大豆品种占到了 5.68%。

田间测试具有测试周期长、易受环境影响等特点,因此,研究大豆分子标记纯合度对大豆一致性测试有一定的辅助作用。关荣霞等^[1]利用 30 对 SSR 引物对 2005–2009 年参加国家区域试验的 1068 份大豆品种(系)的位点纯合度进行了分析,年平均纯合度在 94.9%~97.6% 之间,且纯合度低于 85% 的品种产量出现不同程度的降低。Guan 等^[2]用 11 个 SSR 标记检测 3 个大豆品种纯度,杂合位点数分别为 1 个、9 个、10 个,说明其中 2 个品种存在严重混杂。李英慧等^[3]在我国 2794 份大豆资源中检测出纯度较低资源 277 份,其中 16 份为育成品种,为有效保存种质遗传完整性提供理论依据。Yan 等^[4]发现低纯度大豆资源根据表型分离情况可在后代分离出不同的纯系。因此,分子位点的杂合在一定程

度上表现出品种的混杂。

本研究对 2000–2017 年度间申请保护的大豆品种常规种 SSR 位点纯合度进行系统分析总结,旨在明确我国申请保护的大豆品种常规种 SSR 位点纯合度状况,分析一致性不合格品种与 SSR 位点纯合度的关系,为田间一致性测试及选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 本研究所用材料为 2000–2017 年度间申请品种保护的 661 份大豆品种常规种,其种子由农业部植物新品种保藏中心提供。

1.2 DNA 提取 从每个品种中取 50 粒种子,放在装有适量湿沙土的发芽盒中,置于人工气候培养箱中培养,待长成苗后,每个样品随机取约 20 片叶片,液氮研磨后用改良的 CTAB 法^[5]提取 DNA。

1.3 SSR 标记检测与统计分析 荧光引物为黑龙江省农业科学院作物育种研究所推荐的品种区分效果好、峰型易读的 40 对 SSR 引物(英潍捷基(上海)贸易有限公司合成)。PCR 体系含 1 × TaqMan® Gene Expression Master Mix、30ngDNA,加 ddH₂O 补足 20μL。PCR 程序为 95℃ 预变性 5min,94℃ 变性 45s,60℃ 退火 45s,72℃ 延伸 45~90s,运行 32 个循环;72℃ 延伸 10~15min,扩增产物 16℃ 条件下保存。将 PCR 产物进行适当稀释后,取 1μL 稀释液加 8.5μL 去离子甲酰胺、0.5μL Liz-500 分子量内标,于 ABI 3730 DNA 分析仪上进行毛细管电泳检测。利用北京市农林科学院玉米中心开发的 SSR 指纹

分析器采集扩增产物的片段大小。每个品种在各位点的条带单一表示该位点纯合,如果在某位点出现2个及以上条带,表示该位点杂合。SSR位点纯度 = (检测SSR位点数 - 杂合位点数) / 检测SSR位点总数 × 100%。

2 结果与分析

2.1 不同年度品种SSR位点纯度变化 对661份大豆品种的SSR位点纯度进行分析,结果表明,2000–2017年度纯度大于95%的材料共有408份,占供试材料总数的61.725%;纯度在90.1%~95%之间的材料共有182份,占供试材料总数的27.534%;纯度在85%~90%之间的材料共有71份,占供试材料总数的10.741%。年平均纯度在95%~98.1%之间,其中,2002年的平均纯度最高,为98.1%,2001年最低,为95%。

表1 2000–2017年度检测品种数及SSR位点纯度

年份 (年)	品种数	纯度范围			平均纯度 (%)
		85%~90%	90.1%~95%	>95%	
2000	9	1	3	5	96.1
2001	3	0	2	1	95.0
2002	4	0	1	3	98.1
2003	8	1	2	5	96.6
2004	14	3	4	7	95.2
2005	30	4	11	15	95.6
2006	29	4	7	18	96.1
2007	21	2	10	9	95.8
2008	29	1	6	22	97.8
2009	55	6	17	32	96.1
2010	48	10	8	30	96.1
2011	36	3	10	23	97.2
2012	52	2	18	32	96.8
2013	30	2	8	20	96.6
2014	59	7	15	37	96.7
2015	99	10	25	64	96.7
2016	42	3	8	31	97.3
2017	93	12	27	54	96.2

2.2 未通过田间一致性测试的大豆材料纯度分析 661份大豆材料中,有8份材料在田间测试中不具备一致性,其中3份材料的纯度低于85%,4份在87.5%~90%之间,还有1份达到了95%(表2)。大豆常规种田间一致性测试采用至少95%的接受

概率,按照这个标准田间一致性测试结果表明:未通过田间一致性测试的材料大部分申请年份在2012年以后,说明在2012年之前,申请者提交的材料不管是自交代数还是样品的纯度都有一定的保证。究其原因,可能是近几年由于申请者出于利益等方面的考虑或者对DUS测试的不理解,导致申请材料在低自交代数或不注重样品纯度就急于申请保护,导致一致性不能通过而被驳回。

表2 未通过田间一致性测试的品种纯度

品种	申请年份(年)	田间测试地点	纯度(%)
濮豆857	2016	济南	90.0
滋身源1号	2014	南京	82.5
k117-3	2015	济南	87.5
汾豆79	2012	济南	70.0
张豆2号	2009	乌鲁木齐	60.0
中黄64	2015	济南	87.5
嫩奥1号	2014	哈尔滨	90.0
北农106	2012	济南	95.0

3 讨论

植物DUS测试与品种分子纯度关系密切,品种自身自交代数不够或种子混杂都会导致分子表现不纯合,从而在田间鉴定时出现表型分离,影响一致性测试。张雪原等^[6]利用20对SSR核心引物,对10个玉米品种进行了一致性鉴定,结果表明,田间鉴定结果与SSR分子标记鉴定结果相吻合的植株占83%。王俊等^[7]对国家资源中期库保存的2个大豆地方品种羊眼豆和毛豆的纯度检测表明,其SSR位点杂合率分别为44.8%和41.2%,单粒种子检测证明这些材料可以被聚为不同的种类,说明SSR位点纯度可以反映大豆品种的纯度。本研究对2000–2017年度申请保护的661份大豆品种分子纯度进行分析,发现大豆年平均分子纯度在95%~98.1%之间,相对较高,整体较好;在未通过一致性测试的8份大豆材料中发现,3份材料的纯度低于85%,4份在87.5%~90%之间,还有1份达到了95%。说明SSR分子纯度情况在田间一致性测试上有一定的借鉴意义,但是若要真正判定申请材料是否具备一致性还需通过田间测试。

因此,为防止申请保护材料因纯度不够影响

多抗机收玉米新品种新科 891 的选育与应用

刘经纬¹ 周联东¹ 孙佩¹ 王蕊¹ 王文洁¹ 张瑞平¹
王伟莉² 李合顺¹ 王学军¹ 刘贺梅¹

(¹ 河南省新乡市农业科学院, 新乡 453002; ² 河南省新乡市农业局, 新乡 453000)

摘要: 新科 891 是河南省新乡市农业科学院用自选系 S155 作母本、自选系 PHA458 作父本进行杂交选育的高产、优质、多抗、广适、适宜机收的玉米新品种。该品种遗传基础丰富, 既有国外品种坚秆、脱水快、耐密的特点, 同时又含有国内黄改品质好、配合力高、早熟的血缘。适宜在黄淮海夏玉米区种植。

关键词: 玉米; 新品种; 新科 891; 机械收获; 选育

玉米是全球第一大粮食、经济和饲料作物, 也是未来重要的能源作物^[1]。其生产发展对保障国家粮食安全、促进社会经济发展具有举足轻重的作用。随着玉米生产的发展, 市场对优质、高产、多抗、广适、适宜机收的玉米新品种的需求与日俱增, 加快适宜机收品种的选育是玉米育种的主攻方向。近年来, 河南省新乡市农业科学院生物技术研究所以玉米分子育种创新团队及时调整育种思路, 广泛搜集玉米种质资源, 利用分子标记辅助选择、单倍体育种等手段实现对高产、抗病、耐逆、发芽率高、子粒灌浆速率快、脱水快等优良性状的聚合, 选育出一批优良的玉米自交系, 组配高产、优质、适宜机收的玉米杂交种; 从中选育出高产、优质、多抗、广适、适宜机收的玉米

新品种新科 891。

1 选育思路和方法

黄淮海平原是我国重要的粮食生产基地, 属于典型的季风气候区。近年来, 气候变化对农业和粮食产量影响较大, 如频繁的高温干旱导致夏玉米各种病虫害发生严重, 市场上缺乏抗病性好、抗倒性好、适宜机收的玉米品种。因此, 选用国外、国内优良自交系组材, 保留国外种质材料的坚秆、抗倒、脱水快、适宜机收等优点, 同时选择抗病性好、结实好、配合力高的黄改系, 根据现代遗传育种理论, 利用远缘杂交模式原理, 创制不同的母本和父本基础群, 扩大群体遗传基础; 通过南繁北育、高密度、强胁迫淘汰不良基因, 选育出优良自交系; 在河南、山东、河北、陕西、安徽等省组建玉米新品种测试体系, 经多年多点鉴定选育出适应性广、抗病性好的玉米杂交种。

基金项目: 河南省科技攻关计划项目(152102110013); 河南省产学研合作计划项目(152107000021)

通信作者: 刘贺梅

申请者利益, 建议育种家在高世代进行单株选择和繁殖, 需提供育种家种子, 以确保繁殖材料基因组的纯度。

参考文献

- [1] 关荣霞, 方宏亮, 何艳琴, 常汝镇, 邱丽娟. 国家大豆区域试验品种(系) SSR 位点纯度分析. 作物学报, 2012, 38(10): 1760-1765
- [2] Guan R X, Liu Y, Liu Z X, Chang R Z, Qiu L J. Purity identification of soybean varieties with SSR technique. Molecular Plant Breeding, 2003, 1: 357-360
- [3] 李英慧, 常汝镇, 邱丽娟. 保存大豆种质遗传完整性的策略: 基于 SSR 分子标记选择纯系. 中国农业科学, 2010, 43(19): 3930-3936

- [4] Yan L, Nelson R L, Chang R Z, Qiu L J. The strategy for keeping soybean germplasm genetic integrity: I re-evaluate genebank accessions based on optimizing the phenotype descriptor. Journal of Plant Genetic Resources, 2010, 11(6): 678-682
- [5] 吴艳艳, 代德艳, 蔡春梅. 一种改良的大豆 DNA 提取方法. 大豆科学, 2015, 34(1): 112-115
- [6] 张雪原, 赵攀峰, 王风格, 孙世贤, 王守才. 玉米品种 SSR 分子标记与田间小区种植一致性鉴定结果的比较. 玉米科学, 2009, 17(1): 40-45
- [7] 王俊, 王林林, 刘章雄, 关荣霞, 金龙国, 李英慧, 常汝镇, 罗淑萍, 邱丽娟. 大豆地方品种遗传结构及其保存研究. 大豆科学, 2008, 27(3): 361-365

(收稿日期: 2018-12-25)