

李一政,隋超,郭尚敬,等.大豆硬实性状研究进展[J].江苏农业科学,2022,50(13):77-82.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.13.013

大豆硬实性状研究进展

李一政,隋超,郭尚敬,孙永旺

(聊城大学农学院,山东聊城 252000)

摘要:大豆是全球范围内重要的油料农作物之一,同时还为人们提供了大量的植物蛋白。野生大豆具有丰富的遗传背景,在大豆育种中具有重要的利用价值。然而,野生大豆种子广泛存在硬实生物性状,该性状在杂交育种中经常以遗传累赘的形式出现在子代中,从而严重制约了其在大豆育种中的利用。大豆种子硬实度主要与种子的种皮、种脐、气孔等结构有关,同时还受种皮化学组分、籽粒大小等多种因素影响。大豆种子的成熟度及收获后期温度、湿度等环境条件也会影响种子硬实度。大豆种子硬实性状大多为显性遗传,且由多个基因调控,目前已经发现许多与该性状有关的数量形状位点(QTL)或关键调控基因。对硬实性状产生的生理和分子机制的研究对大豆育种和生产具有重要意义。对大豆硬实性状相关的种皮结构、环境因素、遗传学特性、关键基因等4个方面进行综述,以期为该性状的进一步研究提供参考。

关键词:大豆;硬实;种皮结构;遗传学特征;基因

中图分类号:S565.101 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)13-0077-05

我国是世界排名第一的大豆消费国,随着人口的不断增长和人民生活水平的提高,我国对大豆的需求量逐年增加,供需矛盾日益突出^[1]。为了解决近20年来我国大豆对外依存度过高的问题,育种学家日益关注如何培育高产优质的大豆新品种,希望由此提高我国大豆的生产能力。种植大豆大约是5000年前由一年生的野生大豆人工驯化发展而来的^[2]。在从野生大豆发展到种植大豆的人工驯化过程中,大豆失去了一大半的遗传多元性和超过80%的稀有等位基因^[3-4]。当前,全球范围内重要的大豆品种类型都具有遗传基础狭隘的安全隐患,大部分育成品种类型都出自相同的祖先亲本,这不仅严重制约了综合品质与生产总量的提高,更增加了大豆品种应对生物、非生物胁迫的脆弱性^[4]。由于没有受到人为选择的影响,野生大豆中蕴藏着丰富的优良基因,具有多荚多粒、蛋白含量高、适应力强、繁殖系数高、抗旱、抗寒、耐贫瘠等优点^[5]。在大豆品种繁育工作中,作为培育优质大豆品种重要

材料的野生大豆,可以为拓展种植大豆的生物遗传基础、供应有益生物性状与基因物质资源提供重要材料^[6]。野生大豆资源中的高产、高蛋白、抗旱、抗病虫等优良材料已被广泛应用于栽培大豆的性状改良中^[7]。然而,育种实践表明,野生大豆的很多优良基因不能被有效利用,其中一个很重要的原因是野生大豆普遍存在硬实性状,该性状会导致不可忽视的遗传累赘。

1 种子硬实性状

形成种子硬实的主要原因是种子皮比较致密、不透水,造成种子不可以吸胀发芽,又叫作物物理休眠,属于种子休眠的一种类型^[8]。其硬实性是一种适应生态环境的可用性性状,可以保护种子避免动物、微生物的侵害,还可以在高温多雨等气候条件下使种胚与外界空气、水分隔绝以使种子保持长久活力,随着外界基本条件的改变,土壤中不同种子的发芽水平也随之改变以促进物种的延续和传播^[9-12]。硬实生物性状广泛存在于绿色植物种子中,在农作物中最为普遍的就是豆科农作物^[13-14]。与其他植物一样,野生大豆硬实种子具有较强的生命活力和较长的寿命,有利于其适应环境^[15]。然而,对于栽培大豆而言,种子硬实通常是一个不利性状。在农业生产中,虽然把大豆硬实种子放在合适的温度及湿度环境中进行浸泡数天仍不能使其

收稿日期:2021-08-22

基金项目:国家自然科学基金青年基金(编号:32101788);聊城大学博士科研启动基金(编号:318052021)。

作者简介:李一政(1997—),男,山东聊城人,硕士,主要从事大豆分子遗传育种研究。E-mail:907434606@qq.com。

通信作者:孙永旺,博士,讲师,主要从事大豆育种和大豆分子遗传研究。E-mail:sunyongwang@lcu.edu.cn。

吸水萌发,若直接播种会导致田间出苗率、整齐度降低,很容易产生各类杂草,严重影响播种品质并最终降低产量;在连作制度下,硬实种子如果在下一年萌发后,还会与后作大豆种子混杂,从而使产量降低^[16-17]。在大豆食用商品生产加工、制造和使用过程中,硬实不仅会直接干扰影响豆芽等豆类食用商品的感官综合品质,而且会减少大豆原有物质材料在豆腐、豆浆和酱油等生产加工制造过程中的碾磨综合品质^[18]。目前,对于硬实度高的大豆品种,人们必须采用机械划破、特殊温湿度处理、药剂浸泡等方法来使大豆种子获得吸胀萌发的一致性,这些方式无疑增加了生产成本^[8]。除了对农业生产及种子加工方面的不利影响,种子硬实性状在某些农业实践方面也表现出较好的利用价值。硬实种子外皮阻碍了水分向空气中扩散。在作物成熟收获前,若遇恶劣天气条件,硬实种子可防止种子循环吸水和干燥;坚硬的种皮能延缓种胚对周围环境水蒸气的吸收,抵抗贮藏过程中由于温度、湿度波动对种子造成的损害,使种子长时间维持萌发活力,这对操控种子的睡眠与萌发及增加种子的储存寿命具有十分深远的影响^[8]。因此,深入了解大豆种子硬实性状调控机制,对于野生种质资源在大豆品种改良和生产实践方面的应用具有重要的指导意义。

2 硬实性状相关种皮结构和组分特征

在大豆种子自身特性方面,硬实性状与种子的种皮、种脐、气孔等结构及种皮化学组分、籽粒大小等因素有关,其中种皮、种脐和大豆种子硬实的相互作用最为密切^[19]。前人分析得出,大豆种子硬实度通常与角质分布层、栅栏分布层有关。Ma 等观察了 6 种大豆种子的种皮结构发现,硬实种子和非硬实种子的种皮纵向结构相似,种子浸水后首先在背侧观察到种皮褶皱这一典型吸水现象,硬实种子的角质层则没有裂痕。因此,Ma 等认为种皮角质层是否存在裂痕是决定种子硬实性的关键结构特征^[20]。Chris 等认为,大豆种子吸水分种皮吸水、种胚吸胀 2 个阶段,剥除大豆种子的种皮后,硬实、非硬实种质种胚的吸水速率无明显差异,硬实种子种皮的透水率比非硬实种子低,表明种子外皮渗入性是造成种子硬实生物性状的重要因素^[17]。徐亮等发现,野生大豆硬实种子表面覆盖着 1 层角质层,种脐表面有不规则的龟裂,但观察不到发芽孔,种脐

处栅栏层细胞排列紧密。用浓硫酸处理野生大豆硬实种子后,种皮表面的角质层被腐蚀而脱落,种脐裂缝加宽加深,且栅栏层细胞也被腐蚀,使得发芽孔外露,从而可以吸水萌发。由此可见,引起野生大豆种子外皮不透水的主要形成因素,除了角质分布层能够发挥阻挡水分进入的作用外,更深层的原因是栅栏分布层的细胞镶嵌排布并且相互之间连接密切,而种脐仅作为一种通道控制水分进入种子^[19]。在栅栏状细胞的外端,纤维物质和栓化层形成致密区域,在显微镜下观察时该结构特别明亮,称为明线,这一特殊物理结构被认为是最不容易透水的区域^[21-22]。Yaklich 等提出,有中心气孔的种子外皮普遍具有吸水性,大豆种皮中心气孔的缺乏会造成种子硬实的生物性状^[23]。栅栏层处的细胞呈紧密排列的狭长形状,里面积聚大量钙盐或硅酸盐,还含有不透水的酚类、醌类物质,形成紧凑坚固的防水保护层^[19,21]。Zhou 等研究了山东省 2 种大豆种皮中与种子硬度、萌发相关的酚类物质,从种皮中分离出 3 种主要的酚类物质,其中表儿茶素含量的变化与种子硬实粒率的变化呈显著正相关,因此表儿茶素含量可能与大豆的硬实性有关^[24]。此外,种皮中果胶、木聚糖、羟基脂肪酸、钙含量也与种子的硬实性状具有密切关系^[25-27]。Calero 等对少数大豆材料的研究发现,种子籽粒的实际大小与吸水百分比呈负相关关系^[28]。而黄建成等经过研究证实,在吸胀试验中小粒种子在 0 ~ 3 h 内的吸水速度显著大于大粒种子,表明小粒种子的吸水速率比较高,生命活力较强^[29]。Edwards 等也研究得出,小粒种子的吸水速度大于大粒种子^[30]。综上,种子硬实的产生受多种结构因素影响,可能是所用研究材料或生长条件不一致引起的。

3 影响大豆硬实性状的环境因素

除了种子自身的结构特性,种子硬实性状还受到多种内外部环境因素影响。大豆种子的成熟度会直接影响硬实种子的产生,当大豆种子达到一定成熟度后,种子的有效含水总量明显降低,种子皮外层的栅栏分布层依次加厚,造成种子外皮的生物硬化,形成硬实种子^[31]。前人通过分析得出,不同收期的同类农作物与同一收期的同类农作物相比,不同植株位置会直接影响种子硬实比例,收期越迟,硬实比例越大;绿色植被下端的种子硬实比例超过绿色植被上端的种子硬实比例,表明种子硬实

的产生和种子本身成熟度相关^[32-33]。干扰大豆种子硬实形成的外界环境因素通常包含以下几点:生长末期的自然生态气候基本条件、贮藏与运输的基本条件、种子收获后至长期储存期间的环境条件^[34]。Vieira 等提出,大豆在鼓粒期与鼓粒满期(R5、R6)遭遇干旱胁迫,容易造成种子硬实比例提高;干旱胁迫对种子硬实与生产总量都存在干扰作用,在小粒种子中最为明显,种子实际有效质量与生产总量都明显降低^[35]。除此之外,牛连杰等发现与秋大豆相比,夏大豆的硬实比例更低,其根本原因是河南、新疆地区第二季度高温多雨,而第三季度则天气干燥^[33,36]。在大豆整个生长过程中,水分的实际供给情况也会直接影响种子的硬实度,例如当灌水次数相同时,灌水量越小,大豆的硬实比例越高^[37]。阳光辐射强度同时也是影响种子硬实的因素之一,阳光辐射的时间愈短,作用强度愈小,愈不容易形成硬实种子^[38]。田青种子不管完熟收获还是枯熟进行收获,阴干处理种子的硬实比例均比晒干处理种子的低,表明收获后种子的干燥处理模式也会直接影响种子硬实度^[32-33]。在种子贮藏或者运输过程中,当实际环境湿度偏低时,也容易形成硬实种子,譬如草木樨与菜豆在贮藏过程中,当种子有效含水量降低时,种子硬实率显著升高^[33]。

4 硬实性状的遗传学分析

遗传是决定种子硬实度的关键因素。以往用经典遗传学方法对大豆硬实性状进行遗传研究发现,大豆硬实性状受少数基因控制,但关于其显隐性及控制该性状的基因数存在争议。Woodworth 提出,非硬实是一类部分显性性状^[39]。而 Ting 却提出,硬实性是显性性状^[40]。Kilen 等使用硬实、非硬实亲本正反交构建 F₂ 代分离群体,发现硬实个体较少,推测大豆硬实性状受 3 对隐性基因控制^[41]。Shahi 等研究发现,大豆硬实性状受 1 对基因控制,但显隐性关系与品种选择有关。亚类间杂交以硬实种子为优势种,类间杂交以硬实种子为隐性种^[42]。Verma 等用 6 个亲本正反交产生的 15 个杂交组合分析大豆硬实遗传特征,以 F₂、F₃ 代大豆种子的吸胀情况作为参考,推测不同品种材料中有 1~4 对隐性基因操控大豆的硬实性^[43]。张太平等通过分析硬实性大豆品类 D86-4448 与非硬实性商用大豆品类 A6297 的 F₂ 代群体,提出 2 个主要基因操控硬实生物性状,并且基因间有累加作用,证

明硬实是显性生物性状^[44]。上述不同的研究结果,可能与不同研究人员使用的亲本材料相关,同时说明大豆硬实性状存在较为复杂的调控机制。

5 硬实性状相关数量形状座位(QTL)的定位

找出关键性状的控制基因或者 QTL 的准确定位和克隆,在农业作物相关研究过程中具有十分深远的影响。Keim 等以栽培种、大豆野生种大豆构建表型分离群体,运用限制性片段长度多态性(RFLP)标记进行大豆硬实 QTL 准确作用的定位分析研究,共检测得到 5 个与大豆种子硬实度有关的标记,这些标记及标记间的上位性能够解释 71.0% 的遗传变异^[45]。Sakamoto 等利用野生大豆与栽培大豆配制杂交组合,研究 F₂ 代至 F₆ 代单株种皮色与吸胀性的相关性,经过分子标记测试,找出 2 个主效 QTL、1 个微效 QTL 与大豆种子硬实度有关,其中在 2 号遗传染色体上的简单重复序列(SSR)标记 Satt459 周围的 QTL 对大豆种子硬实度贡献率最大,在 F₂ 代、F₃ 代依次能够解释说明 23.8%、38.5% 的表型变异^[46]。Satoshi 等使用硬实、非硬实的栽培大豆品种构建分离群体,发现 3 个与大豆种子硬实度有关的标记,其中 RAS1 位于 6 号染色体,与标记 Satt489 密切连锁;RAS2 位于 2 号染色体,与标记 B142 密切连锁;RAS3 位于 8 号染色体,与其密切连锁的标记为 Satt367^[47]。Liu 等用栽培大豆、野生大豆亲本构建了重组自交系(RIL)群体进行定位,在 2 号、6 号遗传染色体上依次定位到 2 个大豆硬实 QTLs,其中 2 号、6 号遗传染色体的 QTL 依次可以解释超过 42.0%、13.0% 的表型变异^[48]。Singh 等发现,分别位于 6 号、8 号、12 号、15 号染色体的 4 个标记与种皮透性显著相关,种皮透性标记可单独解释 3.9%~4.5% 的总表型变异^[49]。Kebede 等发现,栽培大豆 PI594619 中控制一个大豆种皮硬实的主效位点处于 2 号遗传染色体 Satt202 标记和 Satt459 标记之间^[34]。近年来,很多国内学者报道了大豆硬实性 QTLs,如艾丽娟等鉴定得到了 4 个大豆硬实加性或上位性互作 QTLs,陈静静等使用集团分离分析法(BSA 法)发掘到 3 个与大豆种子硬实有关的 QTLs^[50-51]。

6 硬实性状调控分子机制

Sun 等研究发现,大豆硬实性状受单显性基因 *GmHSL-1* 控制,通过精细定位和功能验证,证明钙

调磷酸跨膜蛋白编码基因 *Glyma02g43700* 是关键基因。在非硬实大豆品种中, *GmHSL-1* 基因突变导致其编码的蛋白结构发生变异, 种皮钙素含量降低且栅栏层变薄, 从而使种皮产生透水性。虽然 *GmHSL-1* 基因只是发生了某个碱基序列的点突变, 却可以说明该基因也许对种子透水性具有调控作用^[52]。Jang 等通过精细定位、序列分析和表达分析, 克隆了大豆硬实数量性状位点 *qHSL* 基因 *Glyma02g43680*, 该基因编码 1,4- β -葡聚糖内切酶, 该基因的编码区在硬实和非硬实品类间存在 1 个碱基差异, 该碱基变异与硬实性状紧密连锁。在非硬实大豆品种中, 该基因突变造成 1,4- β -葡聚糖内切酶底物结合区产生 1 个氨基酸替换, 导致其编码的 1,4- β -葡聚糖内切酶底物结合区产生 1 个氨基酸替换, 笔者推测这可能导致其底物结合能力降低, 种皮中 1,4- β -葡聚糖合成量减少, 从而产生透水性^[53]。上述研究发现的基因, 在大豆基因组中处于同一区间, 且位置相邻。由此可见, 对于上述 2 个基因之间分析得出的差异, 还需要进一步研究。

目前, 除了大豆中已经发现的基因, 其他近缘植物中发现的硬实调控基因及分子调控机制也可以为大豆硬实性状研究提供借鉴。蒺藜苜蓿具备基因组小、生长时间短、遗传转化处理工作效率高等优势, 是豆科的模式植物, 正常的蒺藜苜蓿籽粒为典型的硬实性状^[54]。Chai 等通过筛选苜蓿 *Tnt1* 反转录转座子突变体库, 找到具有种子快速吸水能力的突变体。表型分析结果显示, 该突变体种皮角质层中脂质单体组分发生改变, 导致角质层出现许多微小裂缝, 从而增强了种皮透水性。通过分析转座子的插入位置, 发现突变体中编码 KNOTTED-like homeobox 蛋白的 *KNOX4* 基因 (基因序列号: Medtr5g011070) 转录异常, 功能互补试验证实该基因突变是导致突变体种子产生快速吸水性状的关键原因。进一步研究发现, *KNOX4* 通过调控脂肪酸羟化酶基因 *CYP86A* (基因序列号: Medtr8g030590) 来调节角质层组分的合成路径^[22]。菜用大豆是一种重要的豆科作物, 野生菜用大豆种子普遍存在硬实现象, 而栽培菜用大豆种子容易吸胀。为了研究决定菜用大豆种子硬实性状的调控基因, Soltani 等以硬实、非硬实菜豆品系为亲本建立重组自交系, 利用集团分离分析法找到了控制硬实性状的主效 QTL 位点。进一步研究发现, 一个编码果胶乙酯

酶的基因可能是控制菜用大豆硬实性状的关键基因。与硬实品系相比, 吸胀品系中果胶乙酯酶的基因由于发生了移码突变而丧失功能。基于以上结果, 笔者扩大了硬实和吸胀品系的调查范围, 发现硬实品系中该基因序列正常, 而 77% 的栽培品系中存在突变型的等位基因, 表明该基因在菜豆驯化过程中受到了正向选择^[55]。

7 讨论与展望

硬实是植物种子中常见的休眠特征, 主要是由于种皮缺乏透水性。野生大豆普遍存在的硬实性状严重限制了其在大豆遗传改良中的应用, 解析该性状产生的生理、分子机制对大豆育种工作具有重要意义。对于该性状产生的生理及分子机制, 不同研究者得出了不同结论, 可能由于所用材料不同, 同时说明硬实性状存在非常复杂的调控机制。虽然目前已经克隆到 2 个大豆硬实调控基因, 但是由于硬实性状产生的复杂性, 其生理及分子调控机制仍有待进一步研究。笔者认为, 今后应进一步加强野生大豆硬实性状的调查和研究, 对于特异的硬实种质, 应采用经典遗传学分析和高通量测序相结合的手段, 加快硬实调控基因的克隆; 此外, 还应注意加强其他植物, 尤其是其他豆科植物种子硬实性状调控机制的研究, 通过大豆中的同源基因加速大豆硬实性状调控机制的解析。随着现代分子生物技术的发展, 尤其是以基因编辑技术为代表的基因工程技术的进步, 硬实调控基因的挖掘与应用将加快大豆育种工作进程, 为大豆品种改良提供科学指导。

参考文献:

- [1] 田志喜, 刘宝辉, 杨艳萍, 等. 我国大豆分子设计育种成果与展望 [J]. 中国科学院院刊, 2018, 33(9): 915-922.
- [2] Stupar R M, Specht J E. Insights from the soybean (*Glycine max* and *Glycine soja*) genome: past, present, and future [J]. *Advances in Agronomy*, 2013, 118: 177-204.
- [3] Hyten D L, Song Q J, Zhu Y L, et al. Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(45): 16666-16671.
- [4] Zhou Z K, Yu J, Zheng W, et al. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(4): 408-414.
- [5] Liu B, Fujita T, Yan Z H, et al. QTL mapping of domestication-related traits in soybean (*Glycine max*) [J]. *Annals of Botany*, 2007, 100(5): 1027-1038.
- [6] Chen X F, Ning K, Xu H L, et al. Research progress of wild soybean

- germplasms and utilization[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2017,18(5):812–817.
- [7] 金晓飞,曹凤臣,徐丽娟,等. 浅谈利用野生大豆创制育种资源和新品种[J]. *东北农业科学*,2017,42(1):12–15.
- [8] 孙星邈,王 政,李曙光,等. 大豆硬实形成机制与破除技术的研究进展[J]. *大豆科技*,2014(3):23–27.
- [9] Mohamed – Yasseen Y, Barringer S A, Costanza S S. The role of seed coats in seed viability [J]. *The Botanical Review*, 1994, 60 (4): 426–439.
- [10] Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. Seed dormancy and germination[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2002, 5 (1): 33–36.
- [11] Dalling J W, Davis A S, Schutte B J, et al. Seed survival in soil: interacting effects of predation, dormancy and the soil microbial community[J]. *Journal of Ecology*, 2011, 99(1): 89–95.
- [12] Paulsen T R, Colville L, Kranner I, et al. Physical dormancy in seeds: a game of hide and seek? [J]. *New Phytologist*, 2013, 198 (2): 496–503.
- [13] Baskin C C, Baskin J M. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination[J]. *Crop Science*, 2014, 40 (2): 564.
- [14] 杨期和,尹小娟,叶万辉. 硬实种子休眠的机制和解除方法 [J]. *植物学报*, 2006, 23(1): 108–118.
- [15] Heatherly L G, Kenty M M, Kilen T C. Effects of storage environment and duration on impermeable seed coat in soybean[J]. *Field Crops Research*, 1995, 40(1): 57–62.
- [16] Potts H C, Duangpatra J, Hairston W G, et al. Some influences of hardseededness on soybean seed quality[J]. *Crop Science*, 1978, 18(2): 221–224.
- [17] Chris J M, Ernst S, Carol A P. Patterns and kinetics of water uptake by soybean seeds [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58 (3): 717–732.
- [18] Zhang B, Chen P Y, Charles Y C, et al. Quantitative trait loci mapping of seed hardness in soybean [J]. *Crop Science*, 2008, 48 (4): 1341–1349.
- [19] 徐 亮,李建东,殷萍萍,等. 野生大豆种皮形态结构和萌发特性的研究[J]. *大豆科学*, 2009, 28(4): 641–646.
- [20] Ma F S, Ewa C, Tasneem M, et al. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water[J]. *Annals of Botany*, 2004, 94(2): 213–228.
- [21] de Souza F H D, Marcos – Filho J. The seed coat as a modulator of seed – environment relationships in Fabaceae[J]. *Brazilian Journal of Botany*, 2001, 24(4): 365–375.
- [22] Chai M, Zhou C, Molina I, et al. A class II *KNOX* gene, *KNOX4*, controls seed physical dormancy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (25): 6997–7002.
- [23] Yaklich R W, Vigil E L, Wergin W P. Pore development and seed coat permeability in soybean [J]. *Crop Science*, 1986, 26 (3): 616–624.
- [24] Zhou S, Sekizaki H, Yang Z, et al. Phenolics in the seed coat of wild soybean (*Glycine soja*) and their significance for seed hardness and seed germination [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(20): 10972.
- [25] Saio K. Soybeans resistant to water absorption [J]. *Cereal Foods World*, 1976, 21(4): 168–173.
- [26] Mullin W J, Xu W. Study of soybean seed coat components and their relationship to water absorption [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(11): 5331–5335.
- [27] Shao S Q, Chris J M, Ma F S, et al. The outermost cuticle of soybean seeds: chemical composition and function during imbibition [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(5): 1071–1082.
- [28] Calero E, West S H, Hinson K. Water absorption of soybean seeds and associated causal factors [J]. *Crop Science*, 1981, 21(6): 926–933.
- [29] 黄建成,林国强,徐树传,等. 春大豆优良种质籽粒吸胀特性与萌发关系初报[J]. *福建农业学报*, 1999, 14(2): 8–11.
- [30] Edwards C J, Hartwig E E. Effect of seed size upon rate of germination in soybeans [J]. *Agronomy Journal*, 1971, 63(3): 429–450.
- [31] 叶常丰,戴心维. 种子学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 168–220.
- [32] 熊昌绪. 豆科作物种子硬实的形成原因[J]. *种子世界*, 1987 (6): 13–15.
- [33] 牛连杰. 浅析种子发生硬实的原因及影响硬实形成的因素 [J]. *种子世界*, 2004(9): 32.
- [34] Kebede H, Smith J R, Ray J D. Identification of a single gene for seed coat impermeability in soybean PI 594619 [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127(9): 1991–2003.
- [35] Vieira R D, Tekrony D, Egli D B. Effect of drought and defoliation stress in the field on soybean seed germination and vigor [J]. *Crop Science*, 1992, 32(2): 23110–23110.
- [36] 马 盾. 新疆大豆褐斑、硬实的产生及其影响因素 [J]. *作物杂志*, 1995(1): 37–38.
- [37] 季 良,张振泰. 北疆地区春播大豆高产优质灌水模式的研究 [J]. *大豆科学*, 1996, 15(2): 141–148.
- [38] 周宏玲,刘 健. 东北大豆在新疆种植籽粒品质的变化 [J]. *大豆科技*, 1993(5): 53–55.
- [39] Woodworth C M. Genetics of the soybean [J]. *Journal of the America Society of Agronomy*, 1933, 25(1): 36–51.
- [40] Ting C L. Genetic studies on the wild and cultivated soybeans [J]. *Agronomy Journal*, 1946, 38(5): 381–393.
- [41] Kilen T C, Hartwig E E. An inheritance study of impermeable seed in soybeans [J]. *Field Crops Research*, 1978, 1: 65–70.
- [42] Shahi Â J P, Pandey Â M P. Inheritance of seed permeability in soybean [J]. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 1982, 42(2): 196–199.
- [43] Verma V D, Ram H H. Genetics of seed impermeability in soybean [J]. *The Journal of Agricultural Science*, 1987, 108(2): 305–310.
- [44] 张太平, Boquet D J, Moore S H. 大豆硬粒种的遗传及其与其他性状的关系 [J]. *大豆科学*, 1992, 11(1): 88–92.

赖家豪,熊桂红,刘冰,等.放线菌活性物质的挖掘与分离技术研究进展[J].江苏农业科学,2022,50(13):82-89.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.13.014

放线菌活性物质的挖掘与分离技术研究进展

赖家豪,熊桂红,刘冰,蒋军喜,游婧,刘彤珂

(江西农业大学农学院植物保护系,江西南昌 330045)

摘要:放线菌是一类广泛分布且备受人类关注的微生物资源,其能产生多种多样的结构新颖、具有生物活性的次级代谢产物,是多种天然产物的重要来源,具有极大的研究和开发价值。本文阐述了以生物活性为导向进行筛选挖掘、基因组挖掘、转录组挖掘等放线菌天然活性物质的挖掘手段,并结合近年研究成果分别论证各方法的优势及适用条件,为合理选择挖掘手段提供参考;概述了溶媒萃取法、离子交换层析法、薄层层析法等天然活性物质分离方法及其优缺点。文中重点综述伴随着基因组学和现代分子生物学的迅速发展而兴起的包括生物信息学分析、同源表达、异源表达等利用基因组挖掘活性物质的方法,以期为微生物资源的挖掘与利用提供相应的参考。最后合理分析目前放线菌开发利用中存在的一些问题,并简要提出相应的建议,就将来放线菌的研究方向和发展前景进行了展望。

关键词:放线菌;活性物质挖掘;分离技术;基因组挖掘;微生物资源

中图分类号:S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)13-0082-08

放线菌是一类形体微小多样、主要呈菌丝状生长、以孢子进行繁殖的原核微生物,其生长形态多变,呈丝状、放射状、星状分枝,也可形成不规则形状的杆状或球状,属于革兰氏阳性菌^[1-2]。该类菌

存在于多种生态环境中,凭借其独特高级的次级代谢系统产生诸多结构新颖、具有明显生物活性的次级代谢产物,是一类极具价值的微生物资源^[3]。放线菌与人类的生产和生活关系极为密切,其产生的活性物质广泛应用于农业、医药、食品、工业、环境污染治理等各个方面。在农业方面可作抗菌剂、杀虫剂以及除草剂等,如井冈霉素、春雷霉素、多氧霉素等已应用于植物病害防治中^[4-6];在医药方面可作抗肿瘤药物,治疗心血管疾病药物等,如蒽环类(阿霉素)、肽类(博来霉素和放线菌素 D)等^[7-8];在食品方面可被应用于天然食品添加剂和

收稿日期:2021-11-05

基金项目:国家自然科学基金(编号:31460139);江西省自然科学基金(编号:20161BAB204184);江西省科技支撑计划(编号:20121BBF60024)。

作者简介:赖家豪(1998—),男,江西瑞金人,硕士,主要从事植物病理学研究。E-mail:2286349575@qq.com。

通信作者:刘冰,博士,副教授,主要从事植物病害生物防治方面的研究。E-mail:lbzjm0418@126.com。

[45] Keim P, Diers B W, Shoemaker R C. Genetic analysis of soybean hard seededness with molecular markers. [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1990, 79(4): 465-469.

[46] Sakamoto S I, Abe J, Kanazawa A, et al. Marker-assisted analysis for soybean hard seededness with isozyme and simple sequence repeat loci [J]. Breeding Science, 2004, 54(2): 133-139.

[47] Satoshi W, Teuku T, Naoki Y, et al. Analysis of QTLs for reproductive development and seed quality traits in soybean using recombinant inbred lines [J]. Breeding Science, 2004, 54(4): 399-407.

[48] Liu B, Fujita T, Yan Z H, et al. QTL mapping of domestication-related traits in soybean (*Glycine max*) [J]. Annals of Botany, 2007, 100(5): 1027-1038.

[49] Singh R K, Raipuria R K, Bhatia V S, et al. Identification of SSR markers associated with seed coat permeability and electrolyte leaching in soybean [J]. Physiology and Molecular Biology of

Plants, 2008, 14(3): 173-177.

[50] 艾丽娟,陈强,杨春燕,等.大豆籽粒硬实加性和上位性 QTL 定位[J].作物学报,2018,44(6):852-858.

[51] 陈静静,刘谢香,于莉莉,等.利用 BSA 法发掘野生大豆种子硬实性相关 QTL [J]. 中国农业科学,2019,52(13):2208-2219.

[52] Sun L, Miao Z, Cai C, et al. *GmHsl-1*, encoding a calcineurin-like protein, controls hard-seededness in soybean [J]. Nature Genetics, 2015, 47(8): 939-943.

[53] Jang S J, Sato M, Sato K, et al. A single-nucleotide polymorphism in an endo-1,4- β -glucanase gene controls seed coat permeability in soybean [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0128527.

[54] 魏臻武,盖钧镒.豆科模式植物——蒺藜苜蓿[J].草业学报,2008,17(1):114-120.

[55] Soltani A, Walter K A, Wiersma A T, et al. The genetics and physiology of seed dormancy, a crucial trait in common bean domestication [J]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 58.