

野生大豆功能基因的研究进展

植健怡¹, 高超升¹, 袁嘉志¹, 孙明明², 董利东¹

(¹广州大学生命科学学院/广东省植物适应性与分子设计重点实验室, 广州 510006; ²黑龙江省农业科学院大豆研究所, 哈尔滨 150086)

摘要: 野生大豆 (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) 是栽培大豆 (*Glycine max* [L.] Merr.) 的近缘祖先种。在大豆驯化的过程中, 栽培大豆丢失了大量的基因或等位变异, 导致栽培大豆的遗传多样性降低, 这严重限制了栽培大豆品种选育和改良的有效性与丰富性。我国野生大豆种质资源丰富, 蕴藏着许多高蛋白含量、抗病虫、耐干旱、耐盐碱等方面的潜力基因, 挖掘潜力基因并利用分子设计育种技术应用到现代的栽培大豆品种中, 能够有效地拓宽栽培大豆的遗传多样性。本文综述了野生大豆的分布规律和形态特征、近年来在野生大豆中发掘的重要功能基因或位点, 包括百粒重、开花期和成熟期、蛋白质和油分含量、抗病、抗虫、耐盐碱、耐干旱等重要农艺性状基因, 并讨论这些重要基因或位点在未来栽培大豆育种中的应用潜力, 以期育种家培育和改良大豆新品种提供一种新的育种思路和策略。

关键词: 野生大豆; 基因资源; 纬度适应性; 生物和非生物胁迫; 高蛋白

Research Progress of Functional Genes in Wild Soybean

ZHI Jianyi¹, GAO Chaosheng¹, YUAN Jiazhi¹, SUN Mingming², DONG Lidong¹

(¹School of Life Sciences, Guangzhou University/Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Adaptation and Molecular Design, Guangzhou 510006; ²Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: Wild soybean (*G. soja* Sieb. & Zucc.) is the ancestor species of cultivated soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). A large number of genes or allelic variants have been lost in the process of domestication, thus leading to genetic bottlenecks in variety selection and improvement of current cultivated soybean. Wild soybean is widely distributed in China and with rich genetic diversity, harboring elite genes for high protein content, resistance to diseases and pests, drought tolerance, salt and alkali tolerance, etc. Reintroducing elite allelic variants into modern cultivated soybean varieties using molecular design breeding techniques can effectively broaden the genetic diversity. In this paper, we review the distribution and morphological characteristics, and the important functional genes or loci that control some important agronomic traits in wild soybean in recent years, including hundred grain weight, flowering time and maturity time, protein and oil content, disease resistance, insect resistance, saline-alkali resistance, drought resistance, etc. We also discuss the potential of these genes in future soybean breeding, expecting to provide insight and strategy for improving new varieties in soybean.

Key words: wild soybean; gene resource; latitude adaptation; biotic and abiotic stress; high protein

大豆是重要的粮食和油料作物, 含有丰富的蛋白质、油脂、人类和动物所需的氨基酸以及生物活性成分^[1]。随着人们对生活质量的逐渐提高, 我国对大豆产量和品质的需求也越来越高, 然而我国大豆却难以满足自给。2020年我国大豆产量只有

1960万吨, 进口量首次超过1亿吨, 达到10033万吨^[2], 因此, 提高我国大豆的总产量和品质是主要的育种目标。栽培大豆由野生大豆驯化而来, 在经过几千年的人工选择后, 其植株形态、农艺性状均发生了巨大变化, 遗传多样性显著下降, 使得目前利

收稿日期: 2023-12-08 网络出版日期: 2024-01-26

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20231208002>

第一作者研究方向为大豆分子遗传育种, E-mail: zjy4524@126.com

通信作者: 董利东, 研究方向为控制大豆产量相关性状基因的发掘与调控网络解析, E-mail: dong_ld@gzhu.edu.cn

基金项目: 广东省自然科学基金-杰出青年项目 (2023B1515020063)

Foundation project: Guangdong Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholar (2023B1515020063)

用杂交技术培育大豆新品种产生了遗传瓶颈效应。相比于栽培大豆,野生大豆具有营养物质丰富、抗逆境胁迫强、多花多荚等特点,且栽培大豆和野生大豆杂交亲和。因此,利用分子设计育种技术,将野生大豆中的优良基因应用到栽培大豆的改良中,对提高栽培大豆耐逆性、种子蛋白含量和纬度适应性等性状具有非常重要的价值^[3-4]。近年来,我国科学家先后构建了野生大豆的泛基因组^[5]和绘制了高质量的野生大豆参考基因组^[6],为有效阐明野生大豆特有的基因信息和从野生大豆中寻找重要基因提供了重要的保障。同时,2022年我国科学家及其合作研究人员对大豆属中5个具有代表性的多年生二倍体物种 *falcata* (FF)、*stenophita* (BB)、*cyrtoloba* (CC)、*syndetika* (AA)和 *G. tomentella* D3 (DD) 以及多年生异源多倍体 *G. dolichocarpa* (AADD)进行了高质量的基因组组装,为多年生野生大豆重要基因的挖掘奠定了基础^[7]。本文综述了国内外研究者对野生大豆功能基因挖掘和利用的研究进展,总结了控制野生大豆生物和非生物胁迫响应、产量性状和品质性状等相关基因的克隆和应用情况,并对这些基因的应用前景进行了展望,旨在为大豆育种家提供新的育种资源和育种策略。

1 野生大豆的分布规律及形态特征

野生大豆主要分布在中国、日本、韩国和俄罗斯。我国的野生大豆资源丰富,除新疆、青海和海南外,在全国范围内均有广泛分布,南北可从纬度24°N跨越至52°S,东西可从经度135°E跨越至97°E,目前我国大豆种质资源库中保存了6172份野生大豆,约占世界总数的90%以上^[8]。

野生大豆种子有泥膜、种皮为黑色,且百粒重在2.0 g左右,植株形态主要表现为紫花、棕毛、椭圆叶,茎缠绕、半缠绕或匍匐,其蛋白质、脂肪、异黄酮、油酸等含量较高,如平均蛋白质含量高达46.8%,显著高于栽培大豆的蛋白质含量,此外,野生大豆对于干旱、盐碱、缺磷等环境胁迫具有较强耐受能力^[9-15]。

2 野生大豆重要农艺性状基因的挖掘和利用

2.1 产量、品质相关基因的进展

2.1.1 百粒重 籽粒大小(粒重)是决定大豆单株产量的主要因素之一。野生大豆与栽培大豆籽粒大小(粒重)差异较大,一般来说,野生大豆的百粒

重在2.0 g左右,而栽培大豆的百粒重是野生大豆的5~10倍,说明在大豆驯化的过程中,控制籽粒大(重)的基因受到了强烈的人工选择^[16],利用正向或反向遗传学鉴定出控制籽粒大小(粒重)的基因,有助于人类了解大豆的选择规律,为进一步改良大豆提供理论基础。

目前,有较多的控制籽粒大小(粒重)的QTL在野生大豆中被鉴定出来^[10,17-21],如阚贵珍等^[10]构建了以野生大豆江浦野生豆-5为母本,栽培大豆南农06-17为父本的重组自交系群体,并利用复合区间作图和混合线性模型复合区间作图方法,在不同的染色体上能够稳定地鉴定到10个控制大豆百粒重的QTL,分别为 *qEPP-D1b-1*、*qSW-Fb-1*、*qSW-B1-1*、*qSW-B2-1*、*qSW-C2-1*、*qSW-I-2*、*qSW-H-1*、*qSW-K-1*、*qSW-Lb-1*、*qSW-Ma-1*,其中除了 *qSW-H-1* 是新的QTL外,其他QTL均被报道过,但这些QTL的具体编码基因目前未知。

在植物中,糖是碳水化合物的主要运输形式,它能够通过韧皮部被运输至籽粒种皮,随后从种皮被运输至胚中,说明糖对于籽粒发育具有重要的作用^[17]。SWEET蛋白是植物中重要的糖转运蛋白, Yang 等^[18]利用野生大豆 N24852 和栽培大豆 NN1138-2 构建的重组自交系,在15号染色体上鉴定到1个 *SWEET* 家族基因 *SWEET15* (*Glyma.15G04.9200*),并证实该基因主要在大豆籽粒中表达, *SWEET15* 的栽培大豆等位变异在大豆的驯化过程中受到了强烈的人工选择,将其突变后,大豆籽粒显著减小,而将其过表达后,其籽粒显著变大。最近, Wei 等^[19]利用野生大豆 ZYD06 与栽培大豆 SN14 反复回交构建的染色体片段代换系,在11号染色体上鉴定到1个控制百粒重的QTL (*qHSW*),并克隆了其基因 *HSW*,该基因编码 β -1,3-糖基水解酶。在栽培大豆中敲除 *HSW* 基因能使栽培大豆的籽粒显著变大,进化分析表明,在大豆驯化的过程中, *HSW* 基因的栽培大豆等位变异受到了强烈的人工选择^[19]。对302份大豆品种(包含60份野生大豆、89份农家品种、153份栽培大豆)进行重测序分析,结合百粒重表型数据,利用全基因组关联分析,在大豆的8号染色体上也鉴定到1个调控籽粒大小的 *ST* 位点,该位点编码1个UDP-D-葡萄糖醛酸4-差向异构酶,通过催化UDP-半乳糖醛酸促进果胶的合成,进而调控籽粒大小,进化分析表明,在大豆驯化的过程中,该基因的栽培大豆等位变异同样受到了强烈的人工选择^[20]。尽管栽培大豆的籽粒远

大于野生大豆,但野生大豆中不是只存在籽粒变小的基因或等位变异,同时也存在调控籽粒变大的基因或等位变异,如对野生大豆 ZYD7 与栽培大豆 HN44 的重组自交系进行精细定位后发现,1个磷酸酶 PP2C 的野生大豆等位变异 PP2C-1 蛋白,能够通过油菜素内脂家族成员 BZR1 蛋白互作,提高大豆的百粒重^[21]。

在模式植物拟南芥和模式作物水稻中均报道了多个控制籽粒大小(粒重)相关的基因^[22-23]。利用同源基因比对等反向遗传学在野生大豆中鉴定出一些可能控制籽粒大小(粒重)的相关基因。例如,宿洋等^[24]利用同源比对的方法,在大豆中鉴定到与拟南芥和水稻中控制籽粒大小基因同源的 175 个基因,通过基因表达谱分析,发现 22 个在大豆种子中特异表达的基因,并在 56 份大豆材料中鉴定了这 22 个基因的遗传变异,其中 *Glyma.05G019800*、*Glyma.07G022800*、*Glyma.13G259700* 和 *Glyma.13G261700* 的变异在野生大豆和栽培大豆中存在明显分化,通过与 1695 份大豆材料的百粒重数据进行关联性分析,发现携带野生型变异的大部分材料百粒重较大,说明这 4 个基因可能是调控大豆籽粒大小(粒重)的重要基因。其中, *Glyma.05G019800* 位于大豆 5 号染色体,是水稻 *GW7*(*GRAIN WEIGHT 7*) 的同源基因,在水稻中 *GW7* 能够调控水稻的籽粒形状,而在大豆中编码未知蛋白; *Glyma.07G022800* 位于大豆 7 号染色体,是水稻 *GW6a*(*GRAIN WEIGHT 6a*) 的同源基因,水稻中这个基因编码乙酰氨基转移酶,参与氨基酸的运输和代谢等; *Glyma.13G259700* 和 *Glyma.13G261700* 均位于大豆 13 号染色体,分别是拟南芥 *UBP15/SOD2* 和 *SOB7* 的同源基因,在拟南芥中这两个基因分别编码泛素水解酶和氧化还原酶,其中, *UBP15/SOD2* 参与无机离子的转运与代谢等,而 *SOB7* 能够参与次生代谢物的生物合成、运输和分解代谢等。

2.1.2 开花期与成熟期 开花期和成熟期是影响大豆单株产量形成的重要农艺性状,大豆是典型的短日照作物,对光周期非常敏感,相比于短日照条件,同一大豆品种种植在长日照条件下,其开花期和成熟期显著延迟,株高、分枝数、单株荚粒数等增多,最终大豆单株产量增加,说明开花期和成熟期不仅影响大豆的单株产量,同时能够影响大豆的种植适应性^[11,25-26]。栽培作物的开花期和成熟期一般

会比其野生祖先提前,但早花早熟是否为作物的驯化性状一直存在较大争议。Lu 等^[25]利用全基因组关联分析,在 424 份大豆品种(包括野生大豆、农家品种、栽培大豆)中鉴定出两个 *PRR* (*pseudo-response-regulator*) 家族的同源基因 *Tof11* (*Time of flowering 11*) 和 *Tof12*,发现栽培大豆等位变异 *tof11-1* 和 *tof12-1* 是功能缺失型等位变异,能够显著促进大豆开花和成熟期提前。在大豆驯化和改良的过程中, *tof12-1* 和 *tof11-1* 先后受到了人工选择,促进了栽培大豆对高纬度长日照地区的适应性。因此,证实了早花早熟是作物的驯化的核心性状^[25]。此外, Dong 等^[11]通过全基因组关联分析,在大豆 5 号染色体上鉴定到 1 个控制开花期关键位点 *Tof5*,并证明该位点由 *FUL2a*(*FRUITFULL*) 基因所编码,栽培大豆等位变异 *Tof5^{mt}* 受到了人工选择,促进了栽培大豆向长日照地区的适应性。

野生大豆在全国范围内广泛分布,为解释野生大豆适应长、短日照地区的遗传基础, Dong 等^[11]发现分布在长日照地区的野生大豆中部分含有 *Tof5^{mt}* 基因型, *Tof5^{mt}* 基因型能够促进野生大豆的开花期提前,说明 *Tof5^{mt}* 基因型能够促进野生大豆对长日照地区的适应性。 *Tof4* 位于 4 号染色体上,编码大豆开花核心基因 *E1* 家族的同源基因 *E1La*,在野生大豆中存在两种单倍型,其中 *tof4-1* 是功能缺失型等位变异,促进野生大豆的开花期提前,并促进野生大豆对长日照地区的适应性^[23]。超过 70% 的长日照地区野生大豆中含有 *tof4-1* 或 *Tof5^{mt}* 等位变异,说明这 *Tof4* 和 *Tof5* 基因是野生大豆适应长日照地区的主要遗传基础。此外,栽培大豆适应高纬度长日照地区关键位点 *E3* 的功能缺失等位变异 *e3* 也存在于长日照地区野生大豆中,说明 *E3* 在野生大豆适应高纬度长日照地区也发挥重要的作用^[11]。

目前为止,栽培大豆和野生大豆适应高纬度长日照地区的重要基因均已被克隆,栽培大豆中早开花等位变异 *tof11-1*、*tof12-1*、*Tof5^{mt}* 的人工选择,促进了栽培大豆对长日照地区的适应,野生大豆中早开花等位变异 *Tof5^{mt}*、*tof4-1*、*e3* 的自然选择,促进了野生大豆对长日照地区的适应。而野生大豆如何适应短日照地区,适应短日照地区的栽培大豆中又有哪些基因受到了人工选择目前尚未见报道(图 1)。

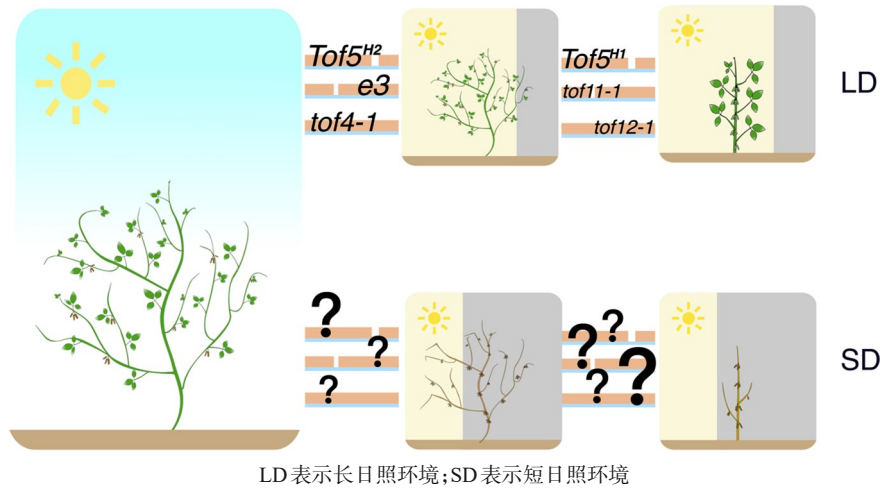


图1 野生大豆适应不同纬度地区功能基因鉴定情况

Fig.1 Identification of functional genes adapted to different latitudes in wild soybean

2.1.3 蛋白质含量 大豆蛋白是营养价值最高的植物性蛋白质,提高大豆中的蛋白质含量能够满足人们对营养和健康的需求,因此,从20世纪90年代开始,大量与大豆蛋白质含量相关的位点在不同的遗传群体中被鉴定出来^[27-28]。然而,却几乎没有编码基因被克隆出来,其中20号染色体上的QTL (*cqSeed protein-003*)被反复报道和应用,直到最近,*cqSeed protein-003*的编码基因才被图位克隆出来^[12, 30]。Fliege等^[12]将栽培大豆A81-356022与野生大豆PI 468916进行杂交,在20号染色体上鉴定到控制大豆蛋白质和油分含量的关键QTL(*cqSeed protein-003*),并证实*cqSeed protein-003*由*Glyma.20g085100*所编码。同年,Goettel等^[29]通过全基因组关联分析,同样在大豆20号染色体上鉴定到1个控制大豆蛋白质和油分含量的重要位点,并将该位点命名为*POWR1* (*Protein, Oil, Weight Regulator 1*),进一步精细定位发现*POWR1*同样由*Glyma.20g085100*编码,在栽培大豆中,*POWR1*基因的结构域插入了一个反转录转座子,使得种子含油量、百粒重和产量均显著提高,而蛋白质含量降低。除此之外,Zhang等^[30]利用栽培大豆W82和野生大豆PI 479752的重组自交系群体,在15号染色体上定位到1个与蛋白质和油分含量相关的QTL,并证实该位点由糖转运蛋白基因*SWEET39*所编码。在栽培大豆中,大多数品种的*SWEET39*基因缺失了2 bp(-CC),导致该基因产生移码突变,最终导致大豆蛋白质含量降低^[30]。

2.2 生物和非生物胁迫响应相关基因的进展

病虫害、干旱、盐碱等逆境胁迫是影响大豆产

量和品质的重要环境因素,挖掘与病虫害、干旱、盐碱等逆境胁迫响应相关的关键基因,利用分子设计育种培育耐逆大豆品种是防治生物和非生物胁迫、提高大豆产量和品质的有效方法之一,相比于药物治疗,能有效降低种植成本,减少对环境的污染与破坏^[31-32]。野生大豆由于经历过残酷的自然环境,可能表现出更强的抗病虫害、耐干旱、耐盐碱等能力^[32],因此,挖掘野生大豆中的逆境响应基因十分重要。

2.2.1 抗虫基因 我国主要的大豆害虫有豆卷叶螟 (*Lamprosema indicata Fabricius*)、斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura Fabricius*)、大豆食心虫 (*Leguminivora glycinivorella*)和蚜虫 (*Aphis glycines Matsumura*)等,这些害虫不仅通过咬断根、茎、叶,咬食豆粒等造成机械损伤危害,同时可能会间接造成病毒的传播,如蚜虫在直接危害大豆的同时,也能够传播大豆花叶病毒^[33]。不同害虫的危害特性并不相同,自20世纪60年代起,科学家们针对不同的害虫开展了大量的研究,鉴定出大量抗不同虫害的大豆材料及QTL,但相关基因的克隆及功能分析却鲜少报道。其中,许多大豆材料为野生大豆,如85-32^[34]、PI 468916^[35]等。相比于栽培大豆南农1138-2,野生大豆N24852对斜纹夜蛾具有更高的抗性,为鉴定抗斜纹夜蛾幼虫的关键基因,以野生大豆N24852为供体亲本,栽培大豆南农1138-2为轮回受体亲本,经反复回交,构建了染色体片段代换系群体SojaCSSLP1,进一步鉴定发现,在2号、5号、6号、13号、14号、16号、17号、20号等染色体上共存在12个与斜纹夜蛾抗性相关的QTL,但具体的编码

基因尚不清晰^[13]。此外, Du等^[36]以121个野生大豆组成的自然群体为材料, 结合自然群体的重测序数据及大豆喂食斜纹夜蛾后的体重、叶片受伤程度等表型数据, 通过全基因组关联分析, 在11号染色体上鉴定到1个与斜纹夜蛾抗性相关的新位点, 并证明该位点由1个呼吸爆发氧化酶基因 *GsRbohA1* 所编码, 野生大豆中主要含有 *GsRbohA1^A* 和 *GsRbohA1^G* 两种基因型, 包含 *GsRbohA1^A* 的野生大豆对斜纹夜蛾的抗性显著高于包含 *GsRbohA1^G* 基因型。在大豆毛根中过量表达 *GsRbohA1^A* 能够显著增强大豆对斜纹夜蛾的抗性。

大豆胞囊线虫病(SCN, soybean cyst nematode) 是大豆种植期常见的线虫病害, 关于野生大豆对大豆胞囊线虫抗性的QTL定位研究较少。袁翠平等^[37]利用SLAF-seq技术, 在野生大豆 ZYD03685 中鉴定到两个抗大豆胞囊线虫的QTL (*qSCN-1* 和 *qSCN-2*), 均位于第18号染色体, 这两个QTL的候选编码基因 *GmSNAP18-a* 和 *GmSNAP18-b* 可能是在野生大豆中鉴定的两个重要的抗大豆胞囊线虫基因^[38-39]。最近, Usovsky等^[40]利用PI 90763×Peking、Forrest×PI 437654 和 SA10-8471×PI 90763 三个遗传群体对抗大豆胞囊线虫位点进行定位, 发现3个群体均在大豆第2号染色体定位到1个大豆抗胞囊线虫关键位点 *GmSNAP02*, 并证明了 *GmSNAP02* 由1个 α -SNAP蛋白编码。利用基因编辑技术创制了 *GmSNAP02* 的毛状根突变体, 发现 *GmSNAP02* 的毛状根突变体能够同时提高栽培大豆 Peking 对大豆抗胞囊线虫 HG 型1号、2号、5号、7号生理小种的抗性^[40]。大豆蚜虫是大豆重要害虫之一, 严重威胁着大豆的产量和品质。目前, 在大豆中共鉴定到16个抗大豆蚜虫位点, 但这些位点的编码基因均没有被克隆^[41]。其中, 在野生大豆 85-32 中鉴定到两个抗大豆蚜虫位点 *Rag6* 和 *Rag3c*^[42], 分别位于第8号和16号染色体上。另有研究表明野生大豆 PI 65549 和 PI 101404A 中可能含有新的抗大豆蚜虫位点^[43-44]。

2.2.2 抗病基因 大豆花叶病毒病(Soybean mosaic disease)在全世界范围内均有传播, 是由大豆花叶病毒(SMV, soybean mosaic virus)所引起的大豆病害, 可造成大豆减产35%~50%^[45]。一些野生大豆的抗病能力较强^[46], 如 ZYD03715。陈珊宇等^[47]将野生大豆 ZYD03715 与感病栽培大豆品种南农1138-2、大黄珠分别进行杂交, 构建重组自交系, 结合接种大豆花叶病毒 SC13 后植株的表型数据,

在14号染色体上的0.9 cM和4.1 cM区间内鉴定到1个抗病基因 *r^{SC13}*, 野生大豆等位变异 *r^{SC13}* 显著促进大豆对大豆花叶病毒的抗性。将抗大豆花叶病毒的野生大豆品种 BYO-15、感大豆花叶病毒的栽培大豆品种 W82 及其杂交的 F₃ 代群体中的抗性植株和感病植株同时接种大豆花叶病毒后, 进行转录组测序分析, 发现 *CAD1* 在野生大豆和 F₃ 抗性植株中的表达显著上调, 在栽培大豆品种和 F₃ 感病植株中表达显著降低, 说明 *CAD1* 在大豆对大豆花叶病毒的抗性中发挥重要的作用, 随后经序列比对发现, *CAD1* 蛋白的第45位氨基酸在野生大豆中为谷氨酸, 而在栽培大豆中为天冬氨酸, 这可能导致了 *CAD1* 在不同大豆品种中的表达差异^[48]。同时, 将野生大豆 *CAD1* 基因在 W82 中过表达后, 发现过表达转基因大豆对大豆花叶病毒病的抗性显著增强^[48]。

大豆腐霉根腐病(Soybean root rot)是一种土传性病害, 在世界范围内均普遍发生, 严重时可造成大豆减产60%左右, 甚至能够造成绝产^[49]。刘建新等^[50]利用全基因组关联分析, 鉴定到1个大豆腐霉根腐病抗性候选基因 *DYRK2*; 对18份野生大豆材料进行抗病性鉴定, 同时鉴定18份野生大豆材料中 *DYRK2* 基因的表达量, 关联分析发现 *DYRK2* 基因的表达量与腐霉根腐病抗性有明显的正相关性, 说明 *DYRK2* 基因可能是野生大豆抗腐霉根腐病的相关基因。大豆灰斑病(*Cercospora sojina*)属于真菌性病害, 由大豆尾孢菌(*Cercospora sojina* Hara)引起^[51]。王财金等^[52]用130份栽培大豆、13份地方大豆品种和62份野生大豆资源检测到7个与大豆灰斑病1号生理小种抗性显著关联的SSR位点, 分别为 *Satt142*、*Satt431*、*Satt244*、*Satt332*、*Satt233*、*Satt387* 和 *Satt309*, 其中 *Satt142* 对表型变异的解释率最大, 为16.06%。其中, 野生大豆中效应值较大的3个等位变异分别为 *Satt244-230*、*Satt142-154* 和 *Satt244-186*。

2.2.3 耐干旱基因 在缺水环境条件下, 干旱和盐碱度对作物的生长发育产生严重的限制, 对作物的产量造成巨大的影响。鉴定耐旱、耐盐碱的基因, 利用分子设计育种手段培育耐旱、耐盐碱的作物品种, 是提高干旱和盐碱地作物产量的有效途径之一^[53]。野生大豆耐旱、耐盐碱的能力高于栽培大豆, 野生大豆中的一些抗性基因已被鉴定^[54-56]。在干旱等逆境胁迫条件下, 植物的氧化还原稳态是通过抗氧化系统维持的, 其中酶系统包括抗坏血酸过

氧化物酶(APX, ascorbate peroxidase)、超氧化物歧化酶(SOD, superoxide dismutase)、过氧化氢酶(CAT, catalase from micrococcus lysodeikticus)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST, glutathione S-transferase)^[54]。将野生大豆中谷胱甘肽-S-转移酶基因*GsGST*在烟草中过表达,在正常环境下,其农艺性状与野生型没有明显区别,但在干旱处理下,过表达转基因烟草的耐旱性显著增强,说明野生大豆中的*GsGST*可能是提高作物抗干旱环境胁迫能力的重要基因^[54]。*WRKY*家族基因在植物响应逆境胁迫的过程中扮演重要的角色,Ning等^[55]将野生大豆*WRKY20*在栽培大豆品种JACK中过表达,发现过表达转基因大豆植株的耐旱性显著增强,进一步分析发现*WRKY20*通过激活SOD、CAT、POD的活性,抑制丙二醛(MAD, malondialdehyde)等活性,进而提高大豆对干旱的耐性。在拟南芥中过表达野生大豆*WRKY57*基因,同样也能够提高拟南芥对干旱的抗性^[56]。

*SnRK1*是丝氨酸-苏氨酸激酶家族的重要基因,能够通过调控细胞的能量稳态来响应植物受到的逆境胁迫,近年来,*SnRK1*家族的基因功能在拟南芥、水稻等植物中被多次报道^[57]。Liu等^[58]分析了野生大豆中*SnRK1*基因,发现第49位氨基酸可能是1个ATP结合位点,第176位氨基酸可能是1个磷酸化位点,并利用定点突变的方法,创制了*SnRK1.1*(K49M)、*SnRK1.1*(T176A)以及*SnRK1.1*(T176E)突变,将野生大豆*SnRK1*基因及3种定点突变基因分别在拟南芥中过表达,干旱处理后发现,过表达野生大豆*SnRK1*基因型和*SnRK1.1*(T176E)基因型,能够促进气孔关闭,进而提高转基因拟南芥植株的耐旱性。

2.2.4 耐盐基因 截止到2023年,利用正向遗传学在野生大豆中仅鉴定出两个关键耐盐基因。Guan等^[59]、Qi等^[60]分别利用不同的重组自交系,同时也在第3号染色体上克隆出1个耐盐基因*SALT3/CHX1*,该基因属于阳离子/H⁺交换器家族基因,进一步分析发现,*SALT3/CHX1*的部分基因型大多数存在于野生大豆中,说明在大豆的进化过程中,该基因受到了自然和人工选择。Jin等^[14]利用全基因组关联分析,在182份野生大豆资源中鉴定到1个位于11号染色体上的新基因*ERD15B*,这是1个含有PAM2结构域的转录激活子。在野生大豆中*ERD15B*存在两种基因型,其中一种启动子缺失了7 bp,而这种基因型能够显著增强大豆对盐的耐性。

此外,耐盐基因家族较多,因此研究者利用同

源比对等方法,也陆续在野生大豆中鉴定出许多耐盐优异等位变异,如*GST*^[55]、*JAZ2*^[61]、*CBRLK*^[62]、*Bzip67*^[63]、*SRK*^[64]、*DREB*^[65]、*TIFY6B*^[66]等。Hou等^[15]分析了*DREB*家族基因,结合其课题组前期的重测序和耐盐表型数据,在野生大豆中鉴定出1个优异的等位变异*DREB3b*^{39Del},在栽培大豆的毛根中过表达*DREB3b*^{39Del},能够显著促进大豆毛根对盐的耐性。*TIFY6B*基因主要在野生大豆的毛根和叶片中表达,同时受盐碱胁迫、茉莉酸和脱落酸的诱导上调表达,说明野生大豆中*TIFY6B*基因可能是大豆响应盐胁迫的相关基因^[66]。

2.2.5 其他逆境响应基因 除了上述野生大豆抗病虫害、耐干旱、耐盐的研究外,野生大豆中也报道了其他逆境胁迫的研究结果,如碱胁迫、铝害等。在野生大豆Bw69中克隆出*ALS3*,分别在拟南芥和大豆品种华春6号中进行过表达,铝处理条件下,与野生型相比,转基因拟南芥主根伸长更多,说明在拟南芥中过表达*GsALS3*能增强拟南芥的耐铝性;与此结果相同,过表达大豆植株的主根长度、总根长、总根毛面积、总根毛体积均比对照大豆植株有所增加,说明*ALS3*也能够增强大豆对铝的耐性^[67]。

3 问题与展望

作物的野生祖先通常具有丰富的遗传变异,同时具有丰富的适应性,包括对冷热、干旱和盐碱等环境胁迫的耐逆性,对病原菌等生物胁迫的抗性。但一些提高作物产量的关键基因或优异等位变异,在作物的驯化和改良的过程中发生丢失。例如,影响玉米叶夹角关键基因*UPA2*(*Upright Plant Architecture1*),在现代玉米及其祖先种大刍草中存在不同的遗传变异,大刍草中的*UPA2*等位变异在玉米驯化的过程中被丢失,导致现代玉米的叶夹角较大,将大刍草中的*UPA2*等位变异重新导入到现代玉米中,可以减小玉米的叶夹角,密植条件下能够增加玉米总产量^[68]。野生大豆中存在许多优异的基因或等位变异,而在大豆驯化的过程中受到有意识或无意识的人工选择,导致栽培大豆的遗传多态性降低。近年来,有部分在大豆驯化过程中丢失的基因被陆续鉴定出来,例如,在野生大豆中鉴定到的早花早熟等位变异*tof4-1*,其在现在的栽培大豆育种工作中几乎没有被应用,将野生大豆的早花早熟等位变异*tof4-1*导入到现代的高产优质大豆品种中,能够显著促进栽培大豆开花提前,并促进大豆适应更高纬度的长日照地区^[23]。耐盐基因

*GmSALT3*在非盐碱条件下对大豆产量没有影响,而在田间盐碱胁迫下,可通过增加不同遗传背景的种子重量,进而提高大豆产量^[69]。利用标记辅助选择,大豆品种 85-140 和铁峰 8 杂交产生的含有 *GmSATL3* 片段的近等基因系 NIL-T,可被用作基因源,加速商业化种植耐盐大豆品种的培育^[70],还可以开发基于 PCR 的 *GmSALT3* 功能标记,在大豆育

种中用于鉴定和选择,提高耐盐或盐敏感品系的选择效率^[71]。目前在野生大豆中鉴定到的大豆开花期、蛋白含量、耐逆境胁迫相关的优异等位基因或变异并不多(图 2),野生大豆的调控分子机理的相关报道也很有限,这极大地限制了利用野生资源培育高产优质大豆新品种的育种进程,因此,今后可能需要更多的科研力量投入其中。

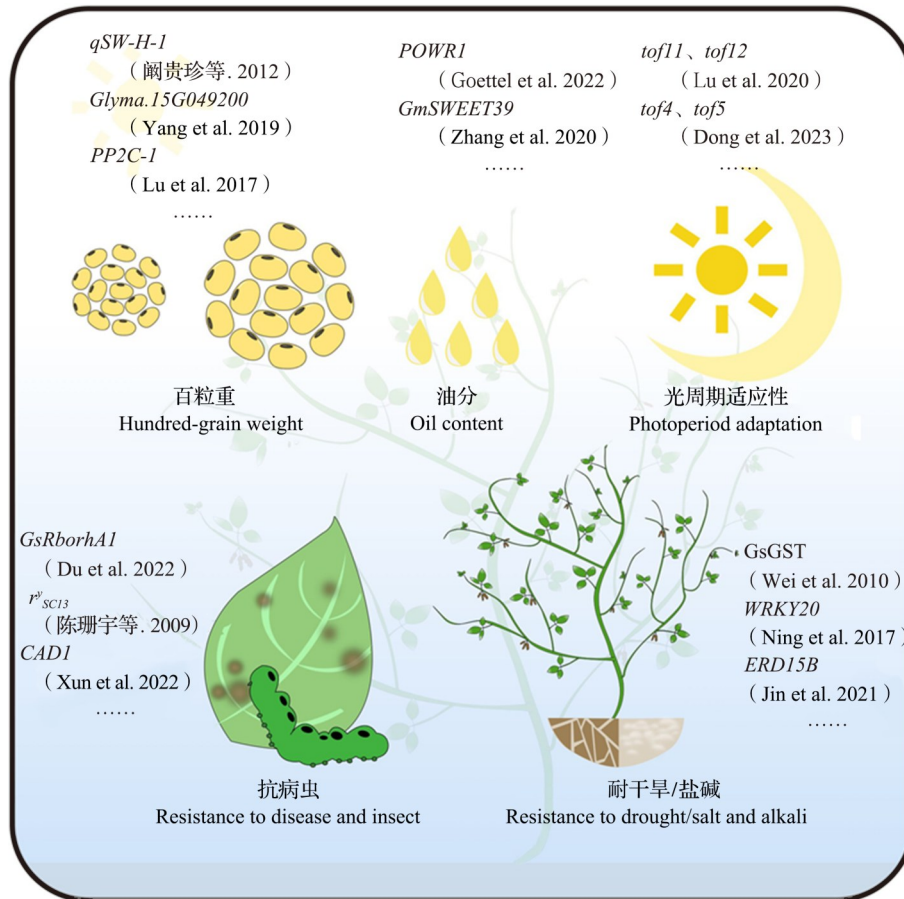


图 2 野生大豆中重要功能基因鉴定情况总结

Fig.2 Summary of identification of important functional genes in wild soybean

由于野生大豆与栽培大豆形态差异较大,在后代选育中会存在大量不利性状,如后代蔓生、小粒等,导致传统的杂交育种技术难以将野生大豆的优良性状导入到栽培大豆品种中,为克服这一难题,产生了亲本选配技术、F₂代选择技术、回交改良技术。利用这些技术,选育出许多大豆新品种,如小粒豆品种包括吉林小粒 1 号、吉林小粒 3 号、吉林小粒 6 号、吉林小粒豆 7 号、龙品 9777 等^[72],其中吉林小粒 1 号,是吉林省作物品种审批委员会批准的首个野生大豆直接选育的大豆新品种。来永才等^[73]利用野生大豆 ZYD00355 和高蛋白质含量栽培大豆黑农 35 进行种间杂交和回交育种,选育出蛋白质含量与脂肪含量总和高达 66% 的新品系龙品 8807。

此外,来永才等^[74]采用外源 DNA 导入技术,选育出我国第一个利用分子设计育种育成的大豆新品种黑生 101。野生大豆的优异基因或等位变异导入到栽培大豆中,能够拓宽栽培大豆的遗传资源,为培育高产大豆新品种提供一种新的思路。而且在作物育种中,来自于野生大豆的同源基因比外源基因更有优势。对栽培大豆而言,野生大豆是其近缘祖先种,有着相同的遗传背景,体内的调控机理更为适应,与其他基因间可能产生相互作用和调节,表达稳定性较高,两者之间不存在生殖隔离现象,可以进行杂交,为利用野生大豆培育大豆新品种提供基础保障,并加速目标特性的育种进程。此外,相较于转基因食品,同源基因导入培育的大豆品种更

容易被大众接受,可以提高市场接受度和降低推广难度。从野生大豆发掘出来的重要功能基因,可以进行分子标记的设计,并进行分子标记辅助育种,从而大大缩短育种时间;还可以通过基因敲除和过表达技术来实现对大豆品种的精准定制,既能保证大豆产量和品质的提高,也能满足其在各个地区不同环境的种植需求。

参考文献

- [1] Graham P H, Vance C P. Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology*, 2003, 131: 872-877
- [2] Dong L D, Li S C, Wang L S, Su T, Zhang C B, Bi Y D, Lai Y C, Kong L P, Wang F, Pei X X, Li H Y, Hou Z H, Du H P, Du H, Li T, Cheng Q, Fang C, Kong F J, Liu B H. The genetic basis of high-latitude adaptation in wild soybean. *Current Biology*, 2023, 33(2): 252-262
- [3] Hou Z H, Li Y L, Cheng Y H, Li W W, Li T, Du H, Kong F J, Dong L D, Zheng D F, Feng N J, Liu B H, Cheng Q. Genome-wide analysis of *DREB* genes identifies a novel salt tolerance gene in wild soybean (*Glycine soja*). *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 821647
- [4] 王克晶,李向华.中国野生大豆(*Glycine soja*)遗传资源主要形态、遗传变异和结构.植物遗传资源学报,2012,13(6): 917-928
Wang K J, Li X H. Morphological types, genetic variation and structure in Chinese wild soybean (*Glycine soja*) genetic resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13(6): 917-928
- [5] Li Y H, Zhou G, Ma J, Jiang W, Jin L G, Zhang Z, Guo Y, Zhang J, Sui Y, Zheng L, Zhang S S, Zuo Q, Shi X H, Li Y F, Zhang W K, Hu Y, Kong G, Hong H L, Tan B, Song J, Liu Z X, Wang Y S, Ruan H, Yeung C K L, Liu W B, Wang H L, Zhang L J, Guan R X, Wang K J, Bi W B, Chen S Y, Chang R Z, Jiang Z, Jackson S A, Li R Q, Qiu L J. De novo assembly of soybean wild relatives for pan-genome analysis of diversity and agronomic traits. *Nature Biotechnology*, 2014, 32(10): 1045-1052
- [6] Xie M, Chung C Y, Li M W, Wong F L, Wang X, Liu A L, Wang Z L, Leung A K, Wong T H, Tong S W, Xiao Z X, Fan K J, Ng M S, Qi X P, Yang L F, Deng T Q, He L J, Chen L, Fu A S, Ding Q, He J X, Chung G, Isobe S, Tanabata T, Valliyodan B, Nguyen H T, Cannon S B, Foyer C H, Chan T F, Lam H M. A reference-grade wild soybean genome. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1216
- [7] Zhuang Y B, Wang X T, Li X C, Hu J M, Fan L C, Landis J B, Cannon S B, Grimwood J, Schmutz J, Jackson S A, Doyle J J, Zhang X S, Zhang D, Ma J. Phylogenomics of the genus *Glycine* sheds light on polyploid evolution and life-strategy transition. *Nature Plants*, 2022, 8(3): 233-244
- [8] 王静,李占军.野生大豆种质资源及开发利用研究进展.农业与技术,2018,38(22): 59-59
Wang J, Li Z J. Research progress on germplasm resources and development and utilization of wild soybean. *Agriculture and Technology*, 2018, 38(22): 59-59
- [9] Yang H Y, Wang W B, He Q Y, Xiang S H, Tian D, Zhao T J, Gai J Y. Identifying a wild allele conferring small seed size, high protein content and low oil content using chromosome segment substitution lines in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132(10): 2793-2807
- [10] 阚贵珍,童振峰,胡振宾,张丹,张国正,喻德跃.野生大豆荚粒相关性状QTL定位.大豆科学,2012,31(3): 333-340
Kan G Z, Tong Z F, Hu Z B, Zhang D, Zhang G Z, Yu D Y. Mapping QTLs for yield related traits in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). *Soybean Science*, 2012, 31(3): 333-340
- [11] Dong L D, Cheng Q, Fang C, Kong L P, Yang H, Hou Z H, Li Y L, Nan H Y, Zhang Y H, Chen Q S, Zhang C B, Kou K, Su T, Wang L S, Li S C, Li H Y, Lin X Y, Tang Y, Zhao X H, Lu S J, Liu B H, Kong F J. Parallel selection of distinct *Tof5* alleles drove the adaptation of cultivated and wild soybean to high latitudes. *Molecular Plant*, 2022, 15(2): 308-321
- [12] Fliege C E, Ward R A, Vogel P, Nguyen H, Quach T, Guo M, Viana J P G, Dos Santos L B, Specht J E, Clemente T E, Hudson M E, Diers B W. Fine mapping and cloning of the major seed protein quantitative trait loci on soybean chromosome 20. *The Plant Journal*, 2022, 110(1): 114-128
- [13] 史鸿飞.野生大豆染色体片段代换系群体中斜纹夜蛾抗性、叶片茸毛密度相关QTL/片段的定位及茸毛发育相关基因*GmTTG1*的克隆.南京:南京农业大学,2013
Shi H F. Mapping QTL/segments related to cotton worm resistance and leaf pubescence density in a wild soybean chromosome segment substitution line population and cloning *GmTTG1* genes related to pubescence. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013
- [14] Jin T, Sun Y Y, Shan Z, He J B, Wang N, Gai J Y, Li Y. Natural variation in the promoter of *GsERD15B* affects salt tolerance in soybean. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(6): 1155-1169
- [15] Hou Z H, Li Y L, Cheng Y H, Li W W, Li T, Du H, Kong F J, Dong L D, Zheng D F, Feng N J, Liu B H, Cheng Q. Genome-wide analysis of *DREB* genes identifies a novel salt tolerance gene in wild soybean (*Glycine soja*). *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 821674
- [16] 牛远,徐宇,李广军,王云清,刘晓芬,李河南,魏世平,章元明.大豆籽粒大小和粒形的驯化研究.大豆科学,2012,31(4): 522-528
Niu Y, Xu Y, Li G J, Wang Y Q, Liu X F, Li H N, Wei S P, Zhang Y M. Domestication of seed size and shape traits in soybean. *Soybean Science*, 2012, 31(4): 522-528
- [17] Chen L Q, Lin I W, Qu X Q, Sosso D, McFarlane H E, Londono A, Samuels A L, Frommer W B. A cascade of sequentially expressed sucrose transporters in the seed coat and endosperm provides nutrition for the Arabidopsis embryo. *The*

- Plant Cell, 2015, 27(3): 607-619
- [18] Yang H Y, Wang W B, He Q Y, Xiang S H, Tian D, Zhao T J, Gai J Y. Identifying a wild allele conferring small seed size, high protein content and low oil content using chromosome segment substitution lines in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132(10): 2793-2807
- [19] Wei S M, Yong B, Jiang H W, An Z H, Wang Y, Li B B, Yang C, Zhu W W, Chen Q S, He C Y. A loss-of-function mutant allele of a glycosyl hydrolase gene has been co-opted for seed weight control during soybean domestication. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2023, 65(11): 2469-2489
- [20] Li J, Zhang Y H, Ma R R, Huang W X, Hou J J, Fang C, Wang L S, Yuan Z H, Sun Q, Dong X H, Hou Y F, Wang Y, Kong F J, Sun L J. Identification of *ST1* reveals a selection involving hitchhiking of seed morphology and oil content during soybean domestication. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(6): 1110-1121
- [21] Lu X, Xiong Q, Cheng T, Li Q T, Liu X L, Bi Y D, Li W, Zhang W K, Ma B, Lai Y C, Du W G, Man W Q, Chen S Y, Zhang J S. A *PP2C-1* allele underlying a quantitative trait locus enhances soybean 100-seed weight. *Molecular Plant*, 2017, 10(5): 670-684
- [22] Meng L S, Xu M K, Wan W, Wang J Y. Integration of environmental and developmental (or metabolic) control of seed mass by sugar and ethylene metabolisms in *Arabidopsis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(13): 3477-3488
- [23] Song X J, Huang W, Shi M, Zhu M Z, Lin H X. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type *E3* ubiquitin ligase. *Nature Genetics*, 2007, 39(5): 623-630
- [24] 宿洋,杨静,郭勇,杜维俊,邱丽娟.大豆百粒重相关基因的全基因组发掘分析.作物杂志, 2021(3): 8-18
Su Y, Yang J, Guo Y, Du W J, Qiu L J. Whole genome discovery and analysis of genes related to 100-seed weight in soybean. *Crops*, 2021(3): 8-18
- [25] Lu S J, Dong L D, Fang C, Liu S L, Kong L P, Cheng Q, Chen L Y, Su T, Nan H Y, Zhang D, Zhang L, Wang Z J, Yang Y Q, Yu D Y, Liu X L, Yang Q Y, Lin X Y, Tang Y, Zhao X H, Yang X Q, Tian C G, Xie Q G, Li X, Yuan X H, Tian Z X, Liu B H, Weller J M, Kong F J. Stepwise selection on homeologous *PRR* genes controlling flowering and maturity during soybean domestication. *Nature Genetics*, 2020, 52(4): 428-436
- [26] Dong L D, Li S C, Wang L S, Su T, Zhang C B, Bi Y D, Lai Y C, Kong L P, Wang F, Pei X X, Li H Y, Hou Z H, Du H P, Du H, Li T, Cheng Q, Fang C, Kong F J, Liu B H. The genetic basis of high-latitude adaptation in wild soybean. *Current Biology*, 2023, 33(2): 252-262
- [27] Diers B W, Shoemaker R C. Restriction fragment length polymorphism analysis of soybean fatty acid content. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1992, 69: 1242-1244
- [28] Panthee D R, Pantalone V R, West D R, Saxton A M, Sams C E. Quantitative trait loci for seed protein and oil concentration, and seed size in soybean. *Crop Science*, 2005, 45(5): 2015-2022
- [29] Goettel W, Zhang H Y, Li Y, Qiao Z Z, Jiang H, Hou D Y, Song Q J, Pantalone V R, Song B H, Yu D Y, An Y C. *POWRI* is a domestication gene pleiotropically regulating seed quality and yield in soybean. *Nature Communications*, 2022, 13(1):3051
- [30] Zhang H, Goettel W, Song Q, Jiang H, Hu Z, Wang M L, An Y C. Selection of *GmSWEET39* for oil and protein improvement in soybean. *PLoS Genetics*, 2020, 16(11): 1009114
- [31] 王娟,刘森,王志坤,李文滨.大豆抗病、虫转基因研究进展.大豆科学, 2011, 30(5): 865-868, 873
Wang J, Liu M, Wang Z K, Li W B. Advances in transgenic soybean resistant to disease and pest. *Soybean Science*, 2011, 30(5): 865-868, 873
- [32] 傅连舜,吴冈梵,卜雅山.辽宁省野生大豆搜集评价及利用的研究.辽宁农业科学, 1993(6): 6-9
Fu L S, Wu G F, Bu Y S. Study on collection, evaluation and utilization of wild soybean in liaoning province. *Liaoning Agricultural Sciences*, 1993(6): 6-9
- [33] 任海红,任小俊,刘学义.大豆蚜虫的危害特点与综合防治措施.现代农业科技, 2012(21): 163-165
Ren H H, Ren X J, Liu X Y. Damage characteristics and comprehensive control measures of soybean *aphids*. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2012(21): 163-165
- [34] 杨振宇,本多健一郎,王曙明,马晓萍.中国东北抗蚜野生大豆重复鉴定的研究.吉林农业科学, 2004, 29(5): 4
Yang Z Y, Honda K, Wang S M, Ma X P. The repetitive identification on aphid-resistant wild soybean on northeast of China. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 2004, 29(5): 4
- [35] Wang D, Diers B W, Arelli P R, Shoemaker R C. Loci underlying resistance to Race 3 of soybean cyst nematode in *Glycine soja* plant introduction 468916. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103(4): 561-566
- [36] Du H P, Qin R, Li H Y, Du Q, Li X, Yang H, Kong F J, Liu B H, Yu D Y, Wang H. Genome-wide association studies reveal novel loci for herbivore resistance in wild soybean (*Glycine soja*). *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(14): 8016
- [37] 袁翠平,齐广勋,李玉秋,刘晓冬,王英男,王玉民,赵洪锬,董英山.野生大豆抗胞囊线虫QTL定位.中国油料作物学报, 2019, 41(6): 887-893
Yuan C P, Qi G X, Li Y Q, Liu X D, Wang Y N, Wang Y M, Zhao H K, Dong Y S. QTL mapping for resistance to soybean cyst nematode in wild soybean. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2019, 41(6): 887-893
- [38] Cook D E, Lee T G, Guo X L, Melito S, Wang K, Bayless A M, Wang J P, Hughes T J, Willis D K, Clemente T E, Diers B W, Jiang J M, Hudson M E, Bent A F. Copy number

- variation of multiple genes at *Rhgl* mediates nematode resistance in soybean. *Science*, 2012, 338:1206-1209
- [39] Yu N, Diers B W. Fine mapping of the SCN resistance QTL *cqSCN-006* and *cqSCN-007* from *Glycine soja* PI 468916. *Euphytica*, 2017, 213: 54
- [40] Usovsky M, Gamage V A, Meinhardt C G, Dietz N, Triller M, Basnet P, Gillman J D, Bilyeu K D, Song Q, Dhital B, Nguyen A, Mitchum M G, Scaboo A M. Loss-of-function of an α -*SNAP* gene confers resistance to soybean cyst nematode. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 7629
- [41] Natukunda M I, MacIntosh G C. The resistant soybean-*Aphis glycines* interaction: Current knowledge and prospects. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 1223
- [42] Zhang S C, Zhang Z N, Bales C, Gu C H, DiFonzo C, Li M, Song Q J, Cregan P, Yang Z Y, Wang D C. Mapping novel aphid resistance QTL from wild soybean, *Glycine soja* 85-32. *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, 130 (9) : 1941-1952
- [43] Hesler L S. Resistance to soybean aphid among wild soybean lines under controlled conditions. *Crop Protection*, 2013, 53: 139-146
- [44] Conzemius S R, Hesler L S, Varenhorst A J, Tilmon K J. Resistance to soybean aphid biotype 4 in plant introductions of *Glycine soja*. *Euphytica*, 2019, 215 (5):10
- [45] Zheng C P, Chen P Y, Gergerich R. Effect of temperature on the expression of necrosis in soybean infected with soybean mosaic virus. *Crop Science*, 2005, 45(3): 916
- [46] 钟超, 李银萍, 孙素丽, 刘章雄, 邱丽娟, 朱振东. 野生大豆资源对大豆疫病抗病性和耐病性鉴定. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(4): 684-690
- Zhong C, Li Y P, Sun S L, Liu Z X, Qiu L J, Zhu Z D. Identification of resistance and tolerance to *phytophthora sojae* in wild soybean germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(4): 684-690
- [47] 陈珊宇, 郑桂杰, 杨中路, 刘若森, 智海剑. 我国大豆核心种质南方材料对 SMV 流行株系的抗性评价. *中国油料作物学报*, 2009, 31(4): 513-516
- Chen S Y, Zheng G J, Yang Z L, Liu R M, Zhi H J. Evaluation of resistance to SMV of soybean core collection from southern China. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2009, 31(4): 513-516
- [48] Xun H W, Qian X Y, Wang M, Yu J X, Zhang X, Pang J S, Wang S C, Jiang L L, Dong Y S, Liu B. Overexpression of a cinnamyl alcohol dehydrogenase-Coding gene, *GsCADI*, from wild soybean enhances resistance to soybean mosaic virus. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23 (23): 15206
- [49] Tyler B M. *Phytophthora sojae*: Root rot pathogen of soybean and model oomycete. *Molecular Plant Pathology*, 2007, 8: 1-8
- [50] 刘建新, 郭新宇, 马乐, 杨光, 毕影东, 樊超, 刘森, 张忠林. 腐霉根腐病抗性候选基因 *GsDyrk2* 研究及大豆 *Dyrk* 基因生物信息学分析. *大豆科学*, 2022, 41(3): 281-287
- Liu J X, Gou X Y, Ma L, Yang G, Bi Y D, Fan C, Liu M, Zhang Z L. Study on pythium root resistance candidate gene *GsDyrk2* and bioinformatics analysis of soybean *Dyrk* genes. *Soybean Science*, 2022, 41(3): 281-297
- [51] Mian R, Bong J, Joobeur T, Mengistu A, Wiebold W, Shannon G, Wrather A. Identification of soybean genotypes resistant to *Cercospora sojae* by field screening and molecular markers. *Plant Disease*, 2009, 93(4): 408-411
- [52] 王财金, 弟文静, 马淑梅, 王洋. 发掘大豆资源中灰斑病 1 号生理小种抗性优异等位变异. *作物杂志*, 2020(6): 189-196
- Wang C J, Di W J, Ma S M, Wang Y. Mining the elite allele of resistance of *Cercospora sojae* hara race 1 in soybean resources. *Crops*, 2020(6): 189-196
- [53] 晏益民. 栽培大豆和野生大豆对不同环境胁迫的表型性状响应. 北京: 中国科学院大学, 2023
- Yan Y M. Phenotypic responses of cultivated soybean and wild soybean to different environmental stresses. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2023
- [54] Ji W, Zhu Y M, Li Y, Yang L, Zhao X W, Hua C, Bai X. Over-expression of a glutathione S-transferase gene, *GsGST*, from wild soybean (*Glycine soja*) enhances drought and salt tolerance in transgenic tobacco. *Biotechnology Letters*, 2010, 32(8): 1173-1179
- [55] Ning W F, Zhai H, Yu J Q, Liang S, Yang X, Xing X Y, Hou J L, Tian P, Yang Y L, Bai X. Overexpression of *Glycine soja WRKY20* enhances drought tolerance and improves plant yields under drought stress in transgenic soybean. *Molecular Breeding*, 2017, 37: 19
- [56] 王岩岩, 张永兴, 郭藏, 代文君, 周新安, 矫永庆, 沈欣杰. 野生大豆转录因子 *GsWRKY57* 基因的克隆与抗旱性功能分析. *中国油料作物学报*, 2019, 41(4): 524-530
- Wang Y Y, Zhang Y X, Guo W, Dai W J, Zhou X A, Jiao Y Q, Shen X J. Cloning and function of *GsWRKY57* transcription factor gene response to drought stress. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2019, 41(4): 524-530
- [57] 孔伟胜, 刘言, 王林娟, 李胜飞, 张海荣. 植物 *SnRK* 家族的研究进展. *植物生理学报*, 2016, 52(4): 413-422
- Kong W S, Liu Y, Wang L J, Li S F, Zhang H R. Research progress of plant family *SnRK*. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(4): 413-422
- [58] Liu Y M, Cao L, Wu X, Wang S, Zhang P M, Li M L, Jiang J H, Ding X D, Cao X Y. Functional characterization of wild soybean (*Glycine soja*) *GsSnRK1.1* protein kinase in plant resistance to abiotic stresses. *Journal of Plant Physiology*, 2023, 280: 153881
- [59] Guan R X, Qu Y, Guo Y, Yu L L, Liu Y, Jiang J H, Chen J G, Ren Y L, Liu G Y, Tian L, Jin L G, Liu Z X, Hong H L, Chang R Z, Gilliam M, Qiu L J. Salinity tolerance in soybean is modulated by natural variation in *GmSALT3*. *The Plant Journal*, 2014, 80(6): 937-950
- [60] Qi X P, Li M W, Xie M, Liu X, Ni M, Shao G H, Song C, Yim A K Y, Tao Y, Wong F L, Isobe S, Wong C F, Wong K

- S, Xu C Y, Li C Q, Wang Y Guan R, Sun F M, Fan G Y, Xiao, Z X, Zhou F, Phang T H, Xuan L, Tong S W, Chan T F, Yiu S M, Tabata S, Wang J, Xu X, Lam H M. Identification of a novel salt tolerance gene in wild soybean by whole-genome sequencing. *Nature Communications*, 2014, 5: 4340
- [61] Zhu D, Cai H, Luo X, Bai X, Deyholos M K, Qin C, Chen C, Ji W, Zhu Y M. Over-expression of a novel *JAZ* family gene from *Glycine soja*, increases salt and alkali stress tolerance. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 426(2): 273-279
- [62] Sun X L, Sun M Z, Jia B W, Qin Z W, Yang K J, Chen C, Yu Q Y, Zhu Y M. A Glycine soja methionine sulfoxide reductase B5a interacts with the Ca^{2+} /CAM-binding kinase *GsCBRLK* and activates ROS signaling under carbonate alkaline stress. *The Plant Journal*, 2016, 86(6): 514-529
- [63] Wu S Y, Zhu P H, Jia B W, Yang J K, Shen Y, Cai X X, Sun X L, Zhu Y M, Sun M Z. A Glycine soja group S2 bZIP transcription factor *GsbZIP67* conferred bicarbonate alkaline tolerance in *Medicago sativa*. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 234-236
- [64] Sun M Z, Qian X, Chen C, Cheng S F, Jia B W, Zhu Y M, Sun X L. Ectopic expression of *GsSRK* in *Medicago sativa* reveals its involvement in plant architecture and salt stress response. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9(1): 226-228
- [65] Jin T C, Chang Q, Li W F, Yi D X, Li Z J, Wang D L, Liu B, Liu L X. Stress-inducible expression of *GmDREB1* conferred salt tolerance in transgenic alfalfa. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2010, 100: 219-227
- [66] 阎文飞,程凡升,姜新强,刘翠霞,朱丹.野大豆盐碱胁迫相关 *GsTIFY6B* 基因克隆及表达特性分析. *华北农学报*, 2018, 33(4): 82-89
Yan W F, Cheng F S, Jiang X Q, Liu C X, Zhu D. Cloning and expression analysis of *GsTIFY6B* associated with saline and alkali stress in *Glycine soja*. *Acta Agriculturae Borealisinica*, 2018, 33(4): 82-89
- [67] 潘焕婷.野大豆 *GsALS3* 基因的功能研究.广州:华南农业大学, 2017
Pan H T. Functional analysis of *GsALS3* of *Glycine Soja*. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017
- [68] Tian J G, Wang C L, Xia J L, Wu L S, Xu G H, Wu W H, Li D, Qin W C, Han X, Chen Q Y, Jin W W, Tian F. Teosinte ligule allele narrows plant architecture and enhances high-density maize yields. *Science*, 2019, 365(6454): 658-664
- [69] Do T D, Chen H T, Hien V T, Hamwih A, Yamada T, Sato T, Yan Y L, Cong H, Shono M, Suenaga K, Xu D H. Ncl synchronously regulates Na^+ , K^+ , and Cl^- in soybean and greatly increases the grain yield in saline field conditions. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19147
- [70] Liu Y, Yu L L, Qu Y, Chen J J, Liu X X, Hong H L, Liu Z X, Chang R Z, Gilliam M, Qiu L J, Guan R X. *GmSALT3*, which confers improved soybean salt tolerance in the field, increases leaf Cl^- exclusion prior to Na^+ exclusion but does not improve early vigor under salinity. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1485
- [71] Guan R X, Yu L L, Liu X X, Li M Q, Chang R Z, Gilliam M, Qiu L J. Selection of the salt tolerance gene *GmSALT3* during six decades of soybean breeding in China. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 794241
- [72] 杨光宇,王洋,马晓萍,王跃强,王英男,马金保,陈长学,杨文华,郭德广.野生大豆利用技术研究与应用. *世界农业*, 2010(3): 47-48
Yang G Y, Wang Y, Ma X P, Wang Y Q, Wang Y N, Ma J B, Chen C X, Yang W H, Guo D G. Research and application of utilization technology of wild soybean. *World Agriculture*, 2010(3): 47-48
- [73] 来永才,林红,方万程,姚振纯,齐宁,王庆祥,杨雪峰,李辉.黑龙江野生大豆优异资源筛选、评价及利用的研究. *中国农学通报*, 2005, 21(6): 379-382
Lai Y C, Lin H, Fang W C, Yao Z C, Qi N, Wang Q X, Yang X F, Li H. Research that the excellent resource of wild soybean screen appraise and utilization in Heilongjiang. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(6): 379-382
- [74] 来永才,林红,方万程,姚振纯,齐宁,王庆祥,杨雪峰,李辉.野生大豆资源在大豆种质拓宽领域中的应用. *沈阳农业大学学报*, 2004(3): 184-188
Lai Y C, Lin H, Fang W C, Yao Z C, Qi N, Wang Q X, Yang X F, Li H. Wild soybean natural resources and its application in broadening of soybean germplasm. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2004(3): 184-188