

# 小豆种质资源研究与利用概述

王丽侠, 程须珍, 王素华

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

**摘要:** 小豆 (*Vigna angularis* Ohwi & Ohashi) 属于医食两用作物, 既是我国传统出口商品, 也是农业种植结构调整的重要作物。然而与大宗作物相比, 小豆现代分子遗传学、基因组学等研究落后, 种质资源利用效率较低, 品种改良仍局限于系统选育、杂交选育等常规手段, 育种效率低。笔者从事小豆种质资源保存评价、新基因发掘及创新利用等研究多年, 现从国内外小豆种质资源的收集与利用、品种选育概况及经典遗传学、现代分子遗传学等各方面研究进行回顾和概述, 并对我国小豆产业进行了展望和讨论, 以供国内小豆科研工作者参考, 并期望对提高我国小豆遗传研究水平有所裨益。

**关键词:** 小豆; 种质资源; 研究进展

## Review on Genetic Study and Application of Adzuki Bean (*Vigna angularis*) Germplasm

WANG Li-xia, CHENG Xu-zhen, WANG Su-hua

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** As a traditional crop, adzuki bean is widely cultivated in China. It is not only an important export product, but also plays an important role in modern planting systems. However, the genetic study of adzuki bean is much lagged, which limits the intensive development of this crop. In this paper, we reviewed the studies on germplasm collection, evaluation, breeding and molecular genetics of adzuki bean. The aim is to provide useful information in improving the genetic or genomics study and accelerating the breeding of adzuki bean in China.

**Key words:** Adzuki bean; genetic resources; breeding and genetic studies; progress

小豆 (*Vigna angularis* (Willd) Ohwi & Ohashi) 是豆科 (Leguminosae) 蝶形花亚科 (Papilionaceae) 菜豆族 (*Phaseoleae*) 豇豆属 (*Vigna*) 的一个栽培种, 染色体组为  $2n = 22$ 。小豆除富含蛋白质、维生素、矿物质元素等营养物质外, 还具有活血、利水等药用价值, 是广受欢迎的医食两用作物<sup>[1]</sup>。目前, 小豆既是我国现代农业种植结构调整的重要作物, 也是我国欠发达地区脱贫致富的主要经济来源。随着人们对健康的日益关注及小豆医疗保健成分的研究和相关产品的研发, 国内外市场对小豆及其多样化加工产品的需求量逐渐增加。因此, 我国小豆产业的发展前景非常乐观。

小豆起源于亚洲东南部, 我国中部和西部山区及其毗邻的低地均包括在起源地之内, 在喜马拉雅

山脉曾采集到小豆野生种和半野生种<sup>[2]</sup>, 近年来在辽宁、云南、山东、湖北、陕西等地也发现了小豆野生种及半野生种<sup>[3-4]</sup>。世界上小豆生产主要集中在亚洲国家, 如中国、日本、韩国等, 故亦被称为“亚洲作物”。据史书记载及考古学发现, 中国小豆栽培已有 2000 多年的历史, 是最大的小豆生产国, 年种植面积 30 万  $\text{hm}^2$  左右, 年际间虽有波动, 但总体呈渐升趋势。2011 年我国小豆种植面积近 25 万  $\text{hm}^2$ , 年总产量近 30 万 t。我国小豆产区主要集中在华北、东北和江淮地区, 其面积和产量约占全国小豆生产的 70%。日本为小豆第 2 大生产国, 年种植面积大约为 6 万 ~ 8 万  $\text{hm}^2$ , 主产区在北海道, 韩国年种植面积 2.5 万  $\text{hm}^2$  左右<sup>[5]</sup>。

中国作为小豆生产大国, 也是世界上最大的小

收稿日期: 2012-09-10 修回日期: 2012-11-16 网络出版日期: 2013-04-02

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130402.1804.024.html>

基金项目: 现代农业产业技术体系 (CARS-09); 农业行业科研专项 (NyhyZX07-017)

作者简介: 王丽侠, 博士, 副研究员, 主要从事食用豆种质资源创新利用研究。E-mail: wanglixia03@caas.cn

通信作者: 程须珍, 研究员, 主要从事食用豆种质资源评价鉴定研究。E-mail: chengxuzhen@caas.cn

豆出口国,年出口4万~8万t,主要出口至日本、韩国、新加坡等国家。宝清红、天津红、启东大红袍等著名农家品种曾经是国际市场上的主打品牌。由于长时间的种植,一些主要栽培品种的退化、混杂现象渐趋严重,影响其市场竞争力,而小豆遗传研究落后,新品种尤其是专用型品种相对缺乏,难以满足市场需求,限制了我国小豆产业的蓬勃发展。

本研究分别从种质资源收集与评价鉴定、新品种选育及经典遗传学、分子遗传学等方面进行了回顾和综述,并对我国小豆的产业前景进行了展望,仅供我国广大小豆科研工作者参考。

## 1 小豆种质资源研究与利用概述

### 1.1 种质资源收集保存及评价鉴定

目前,全世界收集保存的小豆种质资源有1万余份。作为小豆原产国,我国自1978年起,由中国农业科学院原作物品种资源研究所组织全国省市区的有关科研单位,开展了小豆种质资源的收集保存、鉴定评价和创新利用研究。截止到2007年,已收集国内外栽培小豆种质资源4691份,其中国外资源约占1.9%,均已编入《中国食用豆类品种资源目录》1~4册。上述资源中以地方品种为主,占98.8%,育成品种仅占1.2%。近年来,随着我国豇豆属野生资源考察收集工作的开展,经鉴定,共搜集到野生和半野生小豆资源约百余份,丰富了我国小豆种质资源的基因库。作为小豆主产国,日本已收集保存资源2000余份<sup>[6]</sup>,韩国为2000余份,印度约1000份,朝鲜、泰国等国家也保存少量的小豆种质资源<sup>[7]</sup>。此外,美洲、欧洲的诸国也从上述国家引进了少量资源或品种供研究和生产利用,如美国农业部国家种质资源保存中心保存的141份小豆种质资源(<http://www.ars-grin.gov/npgs/orders.html>)就是从上述亚洲国家引进的。

在不断的收集和保存过程中,也陆续开展了小豆种质资源表型性状鉴定评价,曾为育种和生产等提供了重要参考价值。王修臣<sup>[8]</sup>从河北省236份小豆种质资源中筛选出早熟、高产及具有耐旱或抗病等特性的种质,并认为高纬度小豆粗蛋白含量较高,低纬度小豆淀粉含量高。姜荣贵等<sup>[9]</sup>对山东省202份小豆资源生态类型的分析表明,该省小豆育种目标以中早熟、直立或半蔓及中大子粒的品种为主。通过农艺性状综合鉴定与评价,王述民等<sup>[10]</sup>将149份中国小豆种质资源分为2群6类,并筛选出9份优异种质,可用于种质创新和育种利用。金文林

等<sup>[11]</sup>从325份小豆中分别筛选出总淀粉含量高及支链淀粉相对含量高的种质资源,并筛选出一批可用于生产和品质育种的优异材料。R. J. Redden等<sup>[12]</sup>还分析了我国小豆核心样本在澳洲农艺性状的改变,从中筛选出适宜澳洲种植的小豆资源。此外,通过对小豆各性状的平均表现、遗传变异、遗传力及预期遗传进度等分析。田静等<sup>[13]</sup>归纳出小豆育种中不同性状的最佳选择世代。濮绍京等<sup>[14]</sup>根据小豆的生态适应性研究,认为系统选育新品种时应根据小豆地方品种农艺性状的特点及遗传潜力分区进行。刘长友等<sup>[15]</sup>对河北省的小豆种质资源进行了遗传多样性分析,并认为河北省小豆种质资源以承德最为丰富。刘振兴等<sup>[16]</sup>还分析了我国著名品牌唐山红和天津红小豆的遗传变异情况,为同名地方品种的保存及杂交组配提供了参考。

郑学勤等<sup>[17]</sup>对黑龙江省163份小豆资源农艺性状的分析表明,该省小豆大致可分为黑河和嫩江、绥化与合江、松花江与牡丹江共3个生态区。胡家蓬<sup>[18]</sup>对我国1979-1983年收集的小豆种质资源的整理和分析表明,我国小豆可划分为东北、华北、黄河中游、广西云南等4个大生态区。金文林<sup>[19]</sup>通过小豆生长发育的气候因子,利用模糊聚类方法则可将我国小豆生态气候资源分成8大生态区。依据种质资源的形态多样性,王述民等<sup>[20]</sup>将224份小豆分为长江中上游及西南、东北及华北、华中地区等3个组群,并指出我国小豆种植呈现从东北至西南的地理分布规律。余跃辉等<sup>[21]</sup>对四川小豆地方品种形态多样性的研究比较表明,参试品种组群的划分与小豆生长习性、生育期、粒重、粒色等关系密切。虽然目前我国小豆还没有进行统一的生态区划,上述研究将提供重要的参考依据。

除了对农艺性状的鉴定评价,还开展了抗性资源的筛选工作,为小豆抗性育种提供了信息。陈良弼等<sup>[22]</sup>从我国1000份小豆种质资源对叶斑病的抗性鉴定中发掘出中抗或抗性资源130份。曹如槐等<sup>[23]</sup>采用苗期田间人工接菌,从1003份小豆种质资源中筛选出7份高抗锈病资源。王修臣等<sup>[24]</sup>从1059份小豆资源中筛选出47份芽期和苗期一级耐盐的小豆。N. Kondo等<sup>[25-26]</sup>通过对小豆褐腐病2个生理小种的检测,也筛选出抗性资源。胡家蓬<sup>[27]</sup>在对4000余份小豆种质资源的评价中筛选出一批矮秆、直立、早熟、大粒、高蛋白和高淀粉含量、抗旱、抗寒、耐盐和抗病虫的种质。此外,魏淑红<sup>[28]</sup>以及朱振东等<sup>[29]</sup>也分别筛选出抗小豆叶斑病、疫霉茎腐

病的种质资源。茎褐腐病和镰刀菌枯萎病是日本北海道小豆的重要病害,在对北海道小豆资源鉴定中,分别发现了抗病性栽培小豆和野生小豆,其中栽培种 Akamame 和野生种 ACC2515 对以上 2 种病害的 3 个生理小种都具有抗性,可作为新的抗性基因资源加以利用。陈新等<sup>[30]</sup>通过离体叶片的失绿速度,提出小豆抗旱筛选的新方法,可用于小豆抗旱性评价。濮绍京等<sup>[31]</sup>通过人工环境鉴定小豆芽苗期耐冷性研究,发现发芽期与 3 叶期耐冷性存在差异,苗期持续耐冷性也存在差异。最近, N. Tomooka 等<sup>[32]</sup>在小豆及其近缘种间也成功筛选出抗茎腐病、萎蔫病种质,为小豆育种提供了抗性基因资源。

为便于我国小豆基因资源的深入评价与利用,王述民等<sup>[33]</sup>基于地理区划、农艺性状和营养品质等,选取 408 份小豆作为核心样品,占总体资源量的 10.3%。此后,在种质资源补充收集的基础上,徐宁等<sup>[34]</sup>进一步构建了小豆核心种质 435 份,占资源总量的 8.9%,该样本涵盖了 98.3% 的表型变异,目前,该样本已完成了多年多点的农艺性状鉴定,正在深入分析中。基于小豆遗传研究落后,种质资源利用效率低,育种工作滞后于生产需求的现状,我国也构建了小豆应用核心样本,样本容量约占资源总量 3%,该样本不仅包括了我国小豆国家种质资源库中表现特异的优良种质,也包括了曾在生产上广泛种植的地方品种或选育品种,及育种重要亲本和一些苗头品系,目前已完成农艺性状及 SSR 分子标记分析<sup>[35-36]</sup>,这将在我国现阶段小豆育种的亲本组配、后代标记辅助选择等方面发挥重要作用。

## 1.2 种质资源的利用及品种选育概况

种质资源的保存价值即在于其遗传研究和育种利用。长期以来,小豆生产多以地方品种为主,包括宝清红、天津红、启东大红袍等优良地方品种。随着这些名优品种的混杂退化以及市场上对不同小豆品质的要求,新品种选育是维护其产业长期稳定发展的重要保障。我国小豆品种改良始于 20 世纪 70 年代末,目前已有 30 多个小豆新品种通过省级以上的品种管理部门审(认、鉴)定。为了使生产经营及科研工作者对我国不同时期小豆品种有全面的了解,程须珍等<sup>[37]</sup>编写了国内首部《中国食用豆类品种志》,书中共收录了 73 个小豆品种,其中包括 12 个地方品种、61 个育成品种,育成品种中包括 33 个系统选育、24 个杂交选育和 4 个辐射诱变的品种。这些新品种在过去的几十年中,均不同程度地解决了当地小豆育种及生产中存在的一些问题,是小豆稳

产、高产的重要保障。

系统选育是我国小豆新品种选育的主要方法,代表品种为中国农业科学院选育的中红 2 号等<sup>[37]</sup>、河北省农林科学院的冀红 1 号等<sup>[38]</sup>、吉林省白城市农业科学院的白红 1 号<sup>[39]</sup>等系列小豆新品种。此外,如黑龙江的龙小豆 1 号<sup>[40]</sup>、山西的晋小豆 2 号<sup>[41]</sup>以及湖北的鄂红 1 号也均由农家品种系统选育而成。我国小豆杂交育种主要从 20 世纪 80 年代开始,代表品种有中国农业科学院选育的中红 6 号等、北京农学院的京农 6 号等<sup>[42]</sup>、河北省农林科学院的冀红 352 等、保定市农业科学研究所的保红 947 等<sup>[43]</sup>、吉林省农业科学院的吉红 6 号等及白城市农业科学院的白红 3 号等系列。此外,如江苏省农业科学院的苏红 1 号、苏红 2 号也分别由京农 5 号/崇明红小豆、盐城小豆 1 号/淮安大粒杂交选育而成<sup>[44]</sup>。

诱变育种作为作物新品种选育手段之一,在小豆育种方面也取得一定进展,如京农 5 号、京农 8 号分别由京农 2 号经钴 60 诱变选育而成,晋小豆 1 号由冀红小豆系列辐射诱变的后代变异株选育而成,而保 M908-15 则由钴 60 诱变冀红 1 号/日本大纳言//日本红小豆后代材料选育而成。作为自花授粉作物,小豆落花落荚比较严重,人工杂交成功率较低,因此,诱变育种是小豆种质创新、新品种选育的重要途径,尤其是诱变可导致后代群体的性状产生更丰富的变异类型,不仅能为小豆遗传育种提供丰富的亲本材料,也可为小豆重要特异性状的遗传分析等研究奠定物质基础。

前文提到,我国收集保存有近 2% 的种质资源来自国外,这些国外引进资源对拓宽国内小豆品种的遗传背景也发挥了重要作用。目前,国外小豆资源以从日本引进为主,如日本大正红、日本大纳言等作为亲本一直被频繁的应用于我国小豆杂交育种<sup>[37]</sup>。也有些引进种质经过系选或试种,直接用于我国小豆生产,如美国珍珠白小豆、韩国红小豆等<sup>[45-46]</sup>。近年来,随着泰国在小豆遗传研究方面的突破性进展,我国也从该国引进了系列抗豆象小豆,以期填补我国小豆抗豆象育种的空白。

日本小豆育种研究始于 20 世纪初,不仅选育出一大批高产、高抗、优质的小豆新品种,也积累了丰富的育种经验,金文林<sup>[7]</sup>和尹凤祥等<sup>[47]</sup>分别对日本小豆的育种历史和研究进展进行过详细的阐述,本文不再赘述。总的来说,日本小豆的育种目标主要集中在高产优质、抗病耐寒等方面。据悉北海道农

业试验场 20 世纪 70 年代就育成了小豆抗茎褐腐病品种,如 Kita-no-otome 和 Syumari 等<sup>[48]</sup>。近年来,也陆续有一些抗性品种发放,比如抗花叶病毒绿皮小豆 Yeonkeum<sup>[49]</sup>。因此,日本的小豆育种思路和经验值得我国小豆育种工作者借鉴,而随着国际合作的深入,从日本引进一些抗性资源,这将使我国小豆抗性育种有望取得突破性进展。

## 2 普通遗传学研究

小豆普通遗传学研究的相关报道较少。杨人俊等<sup>[3]</sup>发现野生小豆与栽培小豆的杂交后代有硬实率的分离,但缺乏进一步统计分析。金文林等<sup>[50]</sup>研究表明小豆茎色由单基因控制,紫茎为显性,子粒花斑对红色为显性,也由单基因控制,并进一步推论同一世代茎色基因与种皮色基因完全连锁。研究也表明小豆抗锈病和抗白粉病均为单基因控制,褐斑病抗性则由 3 对基因控制。而对株高、全生育期、主茎节数、单荚粒数、单株产量、百粒重、粒长、粒宽等研究表明,这些性状均表现为数量性状遗传<sup>[51]</sup>。对小豆矮化突变体的研究表明,该性状的遗传不稳定性由有丝分裂和减数分裂导致,为单一位点的不稳定性控制<sup>[52]</sup>。通过分析表型变异及基因型与环境互作对小豆产量的影响,V. K. Sharma 等<sup>[53]</sup>认为不同的基因型与环境的互作对不同的性状影响力不一致,并指出互作对不同基因型影响最大的为植物学产量和单株产量,并通过单株产量、收获指数等参数筛选出优异基因型,为小豆广适性育种提供理论依据。而对小豆杂交后代主要农艺性状遗传参数的分析表明,单株选择时优先选择单株产量有益于高产育种,而通过综合农艺性状筛选的高世代材料中仍具有较高的选择潜力<sup>[51]</sup>。

子粒色泽是小豆商品性的重要特征之一,研究其基因遗传信息对小豆粒色改良具有指导意义,因此目前针对小豆遗传研究相对较多的也是小豆的粒色遗传。日本高桥良直最初开展了不同种皮色的杂交试验,并推论种皮色由 7 对基因控制,但其研究结果并没有经过统计学检验;成河智明后来研究了白、红、灰白 3 种粒色的遗传,认为红对白为单显性,灰白对红为单显性,共由 2 对基因所控制<sup>[7]</sup>。通过小豆杂交 F<sub>2</sub> 子粒色泽明度指数(L)、红度指数(a)、黄度指数(b)的测定分析,金文林等<sup>[54-55]</sup>、孟龄等<sup>[56]</sup>初步推测控制小豆子粒的 L、a、b 性状的基因均为 2 对主基因,且 L、b 的主基因遗传效率高,而 a 的主基因遗传效率中等。由于小豆粒色多样化,其遗传机

制也相对复杂,因此关于小豆粒色遗传研究有待进一步深入。

## 3 分子遗传学研究进展

现代分子遗传学理论和相关技术发展相当迅速,大宗作物如水稻、小麦、大豆、玉米不仅在分子遗传学、基因组学等方面取得重要进展,且分子定向修饰技术在新品种培育方面也有一定成就,然而小豆分子遗传学研究目前仍局限在分子标记开发及初步利用,且进展相对缓慢,Genbank 收录的小豆 EST 序列(仅为 25 条)的数量近 10 年来未曾增加([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST\\_summary.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html))。

### 3.1 DNA 分子标记的分析与利用

小豆 DNA 分子标记研究最初多集中在遗传多样性分析、图谱构建等方面的报道,而且标记类型以 RAPD、AFLP 等通用性标记为主。

M. Mimura 等<sup>[57]</sup>利用 RAPD 标记研究了亚洲栽培、野生、半野生小豆,结果表明栽培小豆的遗传变异很低,野生小豆将是小豆基因资源的重要补充,且东南亚的小豆多样性远高于远东地区。而对小豆复合体 AFLP 分析则表明杂草小豆可能不是由栽培小豆逃逸而来的,而是一种特异的基因型,但在小豆育种中,杂草小豆比野生小豆的利用要方便且容易得多<sup>[58]</sup>。通过对小豆叶绿体 DNA 物理图谱的构建,发现其与绿豆及野生种 *V. nakashimae* 的叶绿体图谱比较一致,而与菜豆比较远,进一步支持了小豆归于豇豆属是正确的<sup>[59]</sup>。X. X. Zong 等<sup>[60]</sup>通过 AFLP 标记对不同地理来源小豆、野生小豆遗传分析,认为目前的栽培小豆至少来源于中国、日本、喜马拉雅山脉等 3 个地区的 4 个祖先。而 AFLP 标记对亚洲小豆复合体的分析则表明,栽培小豆至少经过了 2 次驯化,1 次是在亚洲南部的喜马拉雅山脉,1 次是在亚洲东北部,且喜马拉雅山地区的野生小豆多样性最高,是小豆育种的重要基因来源<sup>[61]</sup>。利用 RAPD 标记研究小豆复合体中基因漂移时发现,小豆及其野生种存在 1% 的天然杂交率,这种基因交流在后代可稳定遗传下去<sup>[62]</sup>。M. S. Yoon 等<sup>[63]</sup>利用 AFLP 标记分析了朝鲜栽培小豆、野生小豆及 *V. nakashimae* 资源的遗传变异情况。王丽侠等<sup>[64]</sup>基于 SSR 标记分析了栽培小豆及其近缘野生种的遗传关系,为种间分类提供了信息。

国际上第 1 套小豆遗传连锁图谱是基于小豆-*V. nakashimae* 的杂交 F<sub>2</sub> 构建的,该图谱共包含 132

个标记(包括 108 个 RAPD、19 个 RFLP 和 5 个形态标记),14 个连锁群,全长 1250cM,研究还发现有些连锁群上的标记成簇的表现偏分离<sup>[65]</sup>。后来,A. Kaga 等<sup>[66]</sup>又构建了小豆-饭豆(*V. umbellata*)遗传连锁图谱,该图谱包含 114 个 RFLP 和 74 个 RAPD 标记,也是 14 个连锁群,总长度为 1702cM,标记间平均距离为 9.7cM,同样也发现了一些染色体片段的标记表现严重偏分离。上述 2 套关于小豆遗传图谱构建的作图群体均是种间或亚种间杂交后代,这是因为小豆基因组水平的遗传变异相对较低,种间或亚种间杂交种可能筛选到更多的多态性标记,有助于增加图谱的标记密度<sup>[57,65]</sup>。

随着小豆及其近缘种 SSR 标记的开发,在小豆遗传研究方面,SSR 标记逐渐替代了 AFLP 和 RAPD 等通用性标记。对小豆种质资源的遗传多样性分析表明,平均等位变异数仅在 3.0~4.3 个之间<sup>[35-36]</sup>,进一步揭示了栽培小豆基因组较低的遗传变异。利用 SSR 标记构建的小豆遗传图谱,其连锁群数第 1 次与小豆染色体数目相一致,该图谱由 486 个标记组成,共 832.1 cM,标记间平均距离 1.85 cM,这也是小豆迄今为止最为饱和的图谱,可以说,该图谱对于小豆重要性状的遗传解析、基因定位等奠定了重要基础<sup>[67]</sup>。此外,通过 SSR 标记在小豆-野生小豆图谱中的分析发现,野生小豆第 4 连锁群和第 6 连锁群的长臂和短臂存在染色体置换现象<sup>[68]</sup>。后来在其他野生-栽培小豆组合中发现,并不是所有的野生小豆均存在染色体置换现象,发生置换现象的机制有待于进一步研究。

在小豆重要性状的 QTL 发掘方面,P. Somta 等<sup>[69]</sup>利用小豆-*V. nepalensis* 后代群体开展了抗豆象基因的 QTL 分析,发掘出 7 个 QTL,分析发现不同 QTL 位点的抗性机理可能不同。也有利用小豆-*V. nepalensis* 杂交后代开展驯化相关性状 QTL 分析的报道,结果分别检测到与种子、荚、茎、叶等相关性状的 QTL,进一步分析表明,这些 QTLs 在基因组中多集中在一些特定区域,比如连锁群 1 和 2 上主要为种子萌发、荚大小、子粒大小和节间缩短等有关的 QTLs,该研究也是首次对小豆驯化相关基因进行 QTL 分析<sup>[70]</sup>。

此外,小豆 SSR 标记开发对绿豆、饭豆等遗传研究落后物种的现代分子遗传学研究也带来便捷,近年来逐渐被用于遗传多样性分析和遗传图谱构建<sup>[71-74]</sup>。

### 3.2 小豆有关基因克隆与表达研究

相对于小豆重要性状的遗传规律、遗传图谱构建等工作,其基因克隆、遗传转化及表达分析等深入研究更显得零散,缺乏系统性。C. Ishikawa 等<sup>[75]</sup>用传统色谱法纯化分离了小豆蛋白酶抑制剂,通过分子量及氨基酸序列分析,解析了不同蛋白酶抑制剂的结构差异。氨基酸序列分析发现小豆枯草杆菌蛋白酶抑制剂与所谓的马铃薯抑制剂家族 I 有 29%~68% 的同源性<sup>[76]</sup>。Y. Takahashi 等<sup>[77]</sup>从日本札幌小豆中克隆了花叶病毒壳蛋白基因,并认为该病毒属豆类普通花叶病毒类(bean common mosaic potyvirus(BCMV-AzM))。T. Peterbauer 等<sup>[78]</sup>利用 RT-PCR 法获得了小豆种子淀粉合成基因的 cDNA,进一步研究表明该基因在种子萌发时的瞬时表达量最高。对小豆幼苗中的 ABA 葡糖基转移酶基因的克隆及研究表明,认为该基因编码 1 个 ABA 特异的葡糖基转移酶,且基因表达受环境胁迫调控<sup>[79]</sup>。而在解析小豆叶绿体基因组序列时发现,其与其他豆类的差异主要在于一大段序列的反向倒置<sup>[80]</sup>。此外,G. H. Chen 等<sup>[81]</sup>克隆了小豆防卫素基因 *VaDI* 的克隆,分析认为该基因能抑制蛋白质合成和豆象幼虫发育,可能与小豆抗豆象有关。F. Takako 等<sup>[82]</sup>通过对小豆贮藏蛋白 7S 谷蛋白的纯化和分析,利用 RT-PCR 方法获得了该蛋白的 cDNA 克隆。国内在小豆基因克隆与表达方面的研究更加少见,仅报道了 1 个可能与植物抗病有关的防卫素基因,其 cDNA 推导的氨基酸序列与菜豆中的 PVPR1、PVPR2 分别有 88%、91% 的同源性<sup>[83]</sup>。

上述的小豆基因克隆研究手段均为由已知蛋白序列设计引物进行基因组 PCR 扩增或者以同源序列法进行 PCR 扩增而获得目的基因,对于表达产物不清楚或序列完全未知的基因克隆尚未见报道,原因在于小豆基因组学研究相对落后,克隆未知功能或序列的基因尚存在困难。

### 3.3 小豆与其他物种的比较基因组学研究

比较基因组学(comparative genomics)研究即通过不同物种的基因组序列比较,揭示不同物种的基因组功能及进化关系。比较基因组学最基本的研究手段即比较基因组作图(comparative mapping),也就是说利用一系列共同的遗传标记(主要指 DNA 分子标记)对不同物种进行物理或遗传作图,比较这些标记在不同物种基因组中的分布,揭示染色体或染色体片段上的同线性(syntenly)或共线性(colinearity),从而对不同物种的基因组结构及基因组

进化历程进行分析。

目前关于小豆及其近缘种间的标记基因组学仅局限于比较基因作图阶段。A. Kaga 等<sup>[65]</sup>根据 20 个 RFLP 标记在小豆 - *V. nakashimae*、绿豆和豇豆连锁群上的分布发现,有些标记在连锁群上的分布是一致的,揭示了种间保守性比较强的染色体区段。而根据共同的 RFLP 和 RAPD 标记也发现小豆 - 饭豆遗传图谱分别与小豆 - *V. nakashimae* 图谱和绿豆图谱有多个保守区域<sup>[66]</sup>。根据共同 SSR 标记在小豆和绿豆遗传连锁图中的分布分析发现,二者存在很高的同源性,所用标记在 2 个物种中具有很高的共线性,而且由此可以确定小豆和绿豆连锁群的对应关系,比如绿豆连锁群 D(4) 上定位的 5 个 SSR 标记均定位在小豆连锁图第 8 连锁群且顺序完全一致,由此推断进化过程中绿豆连锁群 D(4) 可能与小豆的第 8 连锁群存在同源关系<sup>[73]</sup>。T. Isemura 等<sup>[84]</sup>则通过遗传多样性分布及驯化相关基因的分析,开展了小豆和饭豆遗传驯化模式的比较,认为饭豆驯化相关基因发生了突变,集中在 2 个连锁群,而小豆驯化相关基因分布在 5 个连锁群,以第 9 连锁群为主,而在饭豆的第 4 连锁群,更为奇妙的是一些种特异 QTL 在小豆和饭豆的分布也有差异,这种特异 QTL 表明能够提供新基因供种间育种利用。

在豇豆属作物整体研究水平比较滞后且参差不齐的情况下,开展比较基因组作图研究,将促进种间基因的交流 and 遗传信息的借鉴,尤其对遗传研究相对空白的近缘种来说更为重要。

## 4 研究展望

### 4.1 政府决策对我国小豆产业发展起到了关键的导向作用

作为原产国之一,我国小豆有着较大的产业发展潜力。然而长期以来,我国小豆研究水平比较落后。近 10 年来,随着人们对食用豆在营养保健及农业种植结构调整中重要作用的认识,各级政府对小豆产业发展的支持力度逐步加强,先后启动了农业行业科技专项和现代农业产业技术体系建设。上述项目的实施不仅加强了小豆等食用豆的遗传育种创新力度,对小豆病虫害防控、栽培与土肥及综合加工、产业经济等方面也开展了研究,有助于全面推动我国小豆产业的健康发展。此外,为了进一步加强小豆新品种的知识产权保护,农业行业标准小豆新品种 DUS 指南《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 小豆》已研制,并即将颁布实施,该指南

的颁布对小豆新品种的审定登记和以往品种的品种权保护均具有重要意义。因此,上述一系列政府决策将有力促进我国小豆产业的发展。

### 4.2 小豆现代基因组学研究亟待加强

目前我国已收集保存小豆种质资源近 5000 份,且大部分已完成了农艺性状的鉴定,从中评选出一批有利用价值的优异种质,供生产和育种项目利用,取得了一定的社会经济利益。但总体来说,小豆种质资源的利用率还相当低,据统计,《中国食用豆类品种志》中收录的 24 个杂交育成品种中涉及到的亲本材料很多被重复利用,比如冀红、保红小豆系列新品种多具有冀红小豆 1 号和日本大纳言的血统,而东北的小豆品种白红系列多有日本大正红的血统<sup>[37]</sup>,这种高频率的重复利用亲本材料,一方面将导致育成品种的遗传基础渐趋狭窄,另一方面将导致种质资源中大量潜在的优异基因缺乏有效利用的机会。因此,加强小豆分子遗传学乃至现代基因组学研究,既可以大批量的发掘新基因为育种服务,并通过对新基因的深入研究,建立标记辅助育种技术平台;也可进一步利用基因克隆、转基因等手段,实现分子定向修饰育种,从而提高新品种的培育效率,有效促进小豆产业稳定持续发展。

从目前研究来看,小豆分子遗传学研究远远落后于大宗作物,其遗传连锁图谱标记密度近年来进展缓慢<sup>[65-67]</sup>,重要性状基因定位及基于基因组学的基因克隆等也鲜有报道。在这种整体研究水平低下的情况下,若能充分利用豆科近缘植物如苜蓿、大豆等基因组学研究信息,将成为小豆深入研究快速发展的一个契机。因此,在充分发挥我国小豆资源优势的基础上,借助比较基因组学,将公共数据库中豆科近缘种基因组信息及分析手段等应用于小豆分子遗传及现代基因组学研究,必将有益于小豆遗传育种研究,提高育种效率,加快育种进程,并为建立我国特色小豆产业体系提供知识平台和技术支撑。

### 4.3 依据市场的需求,加强小豆的多元化产品研发

从长远来看,加强小豆的分子遗传学、基因组学等研究对于小豆产业的持续稳定发展具有重要意义,然而小豆在我国属于小作物,像大宗作物一样进行比较透彻的基础性研究将是一项长远的目标。笔者认为现阶段的工作,一方面是从实际出发,围绕当前小豆生产中的关键性问题比如抗虫、抗病、抗逆等方面开展抗性资源筛选、创新及育种利用研究,保障小豆生产的高产稳产,另一方面深入发掘小豆特有

的功能营养成分,培育专用型新品种,研发相关功能产品,提高其生产附加值。因为随着保健意识的提高,营养的全面性已然成为新的消费时尚,加强小豆保健功能的研究,研发保健食品也将成为我国发展壮大小豆产业的一个不可忽视的方向。

### 参考文献

- [1] 郑卓杰. 中国食用豆类学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 141-166
- [2] Tomooka N, Vaughan D A, Moss H, et al. The Asian vigna; the genus vigna subgenus *ceratotropis* genetic resources[M]. London: Kluwer Academic Publishers, 2003
- [3] 杨人俊, 韩亚光. 野赤豆在辽宁省的地理分布及其与赤豆间的杂交试验[J]. 作物学报, 1994, 20(5): 607-613
- [4] 杨人俊. 野赤豆在我国的地理分布[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 905-907
- [5] 林汝法, 柴岩, 廖琴, 等. 中国小杂粮[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 210-227
- [6] Tomooka N, Vaughan D, Xu R Q, et al. Japanese native *Vigna* genetic resources[J]. Japan Agr Res Quarterly, 2001, 35(1): 1-9
- [7] 金文林. 我国及日本的小豆育种和遗传资源研究现状[J]. 北京农学院学报, 1994, 9(1): 118-128
- [8] 王修臣. 小豆品种资源初步整理和利用[J]. 作物品种资源, 1983(1): 24-26
- [9] 姜荣贵, 陈守信. 山东省小豆资源生态型的研究[J]. 作物品种资源, 1984(2): 9-12
- [10] 王述民, 胡家蓬, 曹永生, 等. 中国小豆部分种质资源的综合评价与遗传多样性初步研究[J]. 植物遗传资源科学, 2001, 2(1): 6-11
- [11] 金文林, 濮绍京, 赵波, 等. 小豆种质资源子粒淀粉和支链淀粉含量分析[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(4): 373-376
- [12] Redden R J, Basford K E, Kroonenberg P M, et al. Variation in adzuki bean (*Vigna angularis*) germplasm grown in China[J]. Crop Sci, 2009, 49(3): 771-782
- [13] 田静, 范保杰. 河北省小豆品种资源主要农艺性状的遗传变异分析[J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(2): 17-20
- [14] 濮绍京, 金文林, 赵波, 等. 我国北方小豆地方品种资源研究 VIII. 不同地区小豆地方品种群体农艺性状的表现[J]. 北京农学院学报, 2003, 18(4): 245-248
- [15] 刘长友, 田静, 范保杰. 河北省小豆种质资源遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(1): 73-76
- [16] 刘振兴, 程须珍, 王丽侠, 等. 天津和唐山小豆地方品种遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(5): 679-685
- [17] 郑学勤, 张亚芝. 黑龙江省小豆地方品种生态类型的研究[J]. 作物品种资源, 1983(2): 25-29
- [18] 胡家蓬. 小豆资源研究初报[J]. 作物品种资源, 1984(1): 21-25
- [19] 金文林. 中国小豆生态气候资源分区初探[J]. 北京农业科学, 1995, 13(6): 1-5
- [20] 王述民, 曹永生, Redden R J, 等. 我国小豆种质资源形态多样性鉴定与分类研究[J]. 作物学报, 2002, 28(6): 727-733
- [21] 余跃辉, 荣廷昭, 雍平淑, 等. 四川小豆地方品种资源的形态多样性研究[J]. 杂粮作物, 2006, 26(5): 346-350
- [22] 陈良弼, 魏淑红. 小豆叶斑病抗性鉴定[J]. 黑龙江农业科学, 1991(1): 49-51
- [23] 曹如槐, 王晓玲, 南城虎, 等. 小豆种质资源对锈病的抗性鉴定研究[J]. 植物病理学报, 1991, 21(3): 180
- [24] 王修臣, 田静, 李辉. 小豆品种资源耐盐性鉴定研究[J]. 作物品种资源, 1992(3): 25-26
- [25] Kondo N, Fujita S, Murata K, et al. Detection of two races of *Phialophora gregata* f. sp. *adzukicola*, the causal agent of adzuki bean brown stem rot[J]. Plant Dis, 1998, 82(8): 928-930
- [26] Kondo N, Shimada H, Fujita S. Screening of cultivated and wild adzuki bean for resistance to race 3 of *Cadophora gregata* f. sp. *adzukicola*, cause of brown stem rot[J]. J Gen Plant Pathol, 2009, 75(3): 181-187
- [27] 胡家蓬. 中国小豆种质资源的收集与评价[J]. 作物品种资源, 1999(1): 17-19
- [28] 魏淑红. 全国小豆种质资源抗叶斑病菌鉴定研究[J]. 黑龙江农业科学, 2000(3): 20
- [29] 朱振东, 王晓鸣. 小豆疫霉茎腐病原菌鉴定及抗病资源筛选[J]. 植物保护学报, 2003, 30(3): 289-293
- [30] 陈新, 唐浩, 严继勇, 等. 一种选择小豆抗旱种质资源的新方法[J]. 江苏农业科学, 2005(6): 42-43
- [31] 濮绍京, 金文林, 史亚俊, 等. 人工环境鉴定小豆芽苗期耐冷性研究[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(1): 41-45
- [32] Tomooka N, Kondo N. New sources of resistance to *Cadophora gregata* f. sp. *adzukicola* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzukicola* in *Vigna* spp[J]. Plant Dis, 2012, 96(4): 562-568
- [33] 王述民, 曹永生, 胡家蓬. 中国小豆种质资源核心样品的初步建立[J]. 华北农学报, 2002, 17(1): 35-40
- [34] 徐宁, 程须珍, 王素华, 等. 以地理来源分组、利用表型数据构建中国小豆核心种质[J]. 作物学报, 2008, 34(8): 1366-1373
- [35] 王丽侠, 程须珍, 王素华, 等. 应用 SSR 标记对小豆种质资源的遗传多样性分析[J]. 作物学报, 2009, 35(10): 1858-1865
- [36] 王丽侠, 程须珍, 王素华, 等. 基于 SSR 标记的小豆种质资源遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(8): 2661-2666
- [37] 程须珍, 王述民. 中国食用豆类品种志[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2009
- [38] 王淑权. 赤豆新品种——“冀红小豆1号”[J]. 农业科技通讯, 1986(1): 39
- [39] 张敏, 李怀. 红小豆新品种白红一号[J]. 作物品种资源, 1988(3): 47
- [40] 张太民, 于亚玲. 小豆新品种“龙小豆1号”[J]. 农业科技通讯, 1983(4): 14
- [41] 左联忠, 王彩萍, 赵吉平, 等. 晋小豆2号的选育与应用[J]. 杂粮作物, 2006, 26(5): 339
- [42] 金文林, 濮绍京, 赵波, 等. 红小豆“京农6号”新品种选育[J]. 北京农学院学报, 2004, 19(2): 14-16
- [43] 李彩菊, 柳术杰, 高义平. 红小豆新品种保红947选育[J]. 杂粮作物, 2008, 28(4): 236-237
- [44] 张红梅, 顾和平, 陈新, 等. 小豆新品种苏红2号选育及高产栽培技术研究[J]. 金陵科技学院学报, 2011, 27(4): 63-65
- [45] 周存力. 小豆新品种珍珠白小豆[J]. 新农业, 2003(2): 37
- [46] 肖君泽, 李益锋, 曾宪军. 韩国小豆引种试验研究[J]. 作物研究, 2004(1): 27-28
- [47] 尹凤祥, 顾广霞, 王辉. 日本小豆研究概况与进展[J]. 国外农学—杂粮作物, 1995(2): 14-16
- [48] Fujita S. Studies on the breeding of adzuki bean cultivars resistant to adzuki bean brown stem rot (BSR) and phytophthora stem rot (PSR)[J]. Report of Hokkaido Prefectural Agricultural Experiment Stations, 2007, 115: 47-53
- [49] Moon J K, Lee Y H, Han W Y, et al. A new light green seed coated azuki bean cultivar, "Yeonkeum" with middle seed size and good seed quality[J]. Korean J Breed, 2006, 38(4): 303-304
- [50] 金文林, 陈学珍, 喻少帆. 小豆茎色、粒色性状的遗传规律研究[J]. 北京农学院学报, 1996, 11(2): 1-6
- [51] 金文林, 陈迎春, 陈丽燕, 等. 小豆杂交后代主要农艺性状的遗传参数分析[J]. 北京农学院学报, 1997, 12(2): 1-9
- [52] Aoyama S, Onishi K, Kato K. The genetically unstable dwarf locus in azuki bean (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi) [J]. J Hered, 2011, 102(5): 604-609
- [53] Sharma V K, Sharma J D, Gupta V P. Genotypic variability and genotype X environment interactions for seed-yield characters in adzuki bean (*Vigna angularis*) [J]. Indian J Agri Sci, 1995, 65(7): 490-493
- [54] 金文林, 丁燕红, 赵波, 等. 红小豆籽粒色泽性状 F<sub>2</sub> 世代分离分析[J]. 北京农学院学报, 2006, 21(2): 23-27

- [55] 金文林, 濮绍京, 赵波, 等. 中国小豆地方品种籽粒品质性状的评价[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(4): 50-59
- [56] 孟龄, 濮绍京, 赵波, 等. 小豆  $F_{2,3}$  世代籽粒色泽性状遗传分析[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(22): 40-42
- [57] Mimura M, Yasuda K, Yamaguchi H. RAPD variation in wild, weedy and cultivated azuki beans in Asia[J]. Genet Resour Crop Ev, 2000, 47(6): 603-610
- [58] Xu R Q, Tomooka N, Vaughan D A. AFLP markers for characterizing the azuki bean complex [J]. Crop Sci, 2000, 40(3): 808-815
- [59] Kato S, Yamaguchi H, Shimamoto Y, et al. The chloroplast genomes of azuki bean and its close relatives: a deletion mutation found in weed azuki bean[J]. Hereditas, 2000, 132(1): 43-48
- [60] Zong X X, Vaughan D, Tomooka N, et al. Preliminary study on geographical distribution and evolutionary relationships between cultivated and wild adzuki bean (*Vigna angularis* var. *angularis* and var. *nipponensis*) by AFLP analysis[J]. Plant Genet Res, 2003, 1(2/3): 175-183
- [61] Zong X X, Kaga A, Tomooka N, et al. The genetic diversity of the *Vigna angularis* complex in Asia [J]. Genome, 2003, 46(4): 647-658
- [62] Yamamoto Y, Sano C M, Tatsumi Y, et al. Field analyses of horizontal gene flow among *Vigna angularis* complex plants[J]. Plant Breed, 2006, 125(2): 156-160
- [63] Yoon M S, Lee J, Kim C Y, et al. Genetic relationships among cultivated and wild *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi and Ohashi and relatives from Korea based on AFLP markers [J]. Genet Resour Crop Ev, 2007, 54(4): 875-883
- [64] 王丽侠, 程须珍, 王素华. 基于 SSR 标记分析小豆及其近缘植物亲缘关系[J]. 生物多样性, 2011, 19(1): 17-23
- [65] Kaga A, Ohnishi M, Ishii T, et al. A genetic linkage map of azuki bean constructed with molecular and morphological markers using an interspecific population (*Vigna angularis* V. *nakashimea*) [J]. Theor Appl Genet, 1996, 88: 17-24
- [66] Kaga A, Ishii T, Tsukimoto K, et al. Comparative molecular mapping in *Ceratotropis* species using an interspecific cross between azuki bean (*Vigna angularis*) and rice bean (*V. umbellata*) [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100(2): 207-213
- [67] Han O K, Kaga A, Isemura T, et al. A genetic linkage map for azuki bean [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi] [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111(7): 1278-1287
- [68] Kaga A, Isemura T, Tomooka N, et al. The genetics of domestication of the azuki bean (*Vigna angularis*) [J]. Genetics, 2008, 178(2): 1013-1036
- [69] Somta P, Kaga A, Tomooka N, et al. Mapping of quantitative trait loci for a new source of resistance to bruchids in the wild species *Vigna nepalensis* Tateishi & Maxted (*Vigna* subgenus *Ceratotropis*) [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117(4): 621-628
- [70] Isemura T, Kaga A, Konishi S, et al. Genome dissection of traits related to domestication in azuki bean (*Vigna angularis*) and comparison with other warm-season legumes [J]. Ann Bot, 2007, 100(5): 1053-1071
- [71] Souframianien J, Gopalakrishna T. Cross-species amplification of microsatellite loci and diversity analyses in blackgram [J]. J Food Legumes, 2009, 22(1): 11-17
- [72] Gupta S K, Gopalakrishna T. Genetic diversity analysis in blackgram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) using AFLP and transferable microsatellite markers from azuki bean (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi) [J]. Genome, 2009, 52(2): 120-128
- [73] 赵丹, 程须珍, 王丽侠, 等. 绿豆遗传连锁图谱的整合 [J]. 作物学报, 2010, 36(6): 932-939
- [74] 钟敏, 程须珍, 王丽侠, 等. 绿豆基因组 SSR 引物在豇豆属作物中的通用性 [J]. 作物学报, 2012, 38(2): 223-230
- [75] Ishikawa C, Watanabe K, Sakata N, et al. Azuki bean (*Vigna angularis*) protease inhibitors: isolation and amino acid sequences [J]. J Biochem, 1985, 97(1): 55-70
- [76] Nozawa H, Yamagata H, Aizono Y, et al. The complete amino acid sequence of a subtilisin inhibitor from adzuki beans (*Vigna angularis*) [J]. J Biochem, 1989, 106(6): 1003-1008
- [77] Takahashi Y, Kamagata Y, Matsumura T, et al. Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of the genome of the azuki bean mosaic strain of the bean common mosaic virus and its phylogenetic relationship to viruses in the bean common mosaic virus group [J]. Nihon Shokubutsu Byouri Gakukaihou, 1998, 64(5): 478-480
- [78] Peterbauer T, Mucha J, Mayer U, et al. Stachyose synthesis in seeds of adzuki bean (*Vigna angularis*): molecular cloning and functional expression of stachyose synthase [J]. Plant J, 1999, 20(5): 509-518
- [79] Xu Z J, Nakajima M, Suzuki Y, et al. Cloning and characterization of the abscisic acid-specific glucosyltransferase gene from adzuki bean seedlings [J]. Plant physiol, 2002, 129(3): 1285-1295
- [80] Perry A S, Brennan S, Murphy D J, et al. Wolfe. Evolutionary reorganisation of a large operon in adzuki bean chloroplast DNA caused by inverted repeat monement [J]. DNA Res, 2002, 9(5): 157-162
- [81] Chen G H, Hsu M P, Tan C H, et al. Cloning and characterization of a plant defensin *VaDI* from azuki bean [J]. J Agr Food Chem, 2005, 53(4): 982-988
- [82] Takako F, Krisna P, Miki F. Physicochemical properties of native adzuki bean (*Vigna angularis*) 7S globulin and the molecular cloning of its cDNA isoforms [J]. J Agri Food Chem, 2007, 55(9): 3667-3674
- [83] 陈新, 易金鑫, 张红梅, 等. 小豆抗病相关基因 *VaPR3* 的克隆与表达分析 [J]. 江苏农业学报, 2009, 25(5): 1119-1123
- [84] Isemura T, Tomooka N, Kaga A, et al. Comparison of the pattern of crop domestication between two asian beans, azuki bean (*Vigna angularis*) and rice bean (*V. umbellata*) [J]. Japan Agr Res Quarterly, 2011, 45(1): 23-30