

大豆铁营养的遗传和铁高效品种的选育*

张国平 马国瑞

(浙江农业大学, 杭州 310029)

GENETICS OF SOYBEAN Fe NUTRITION AND VARIETY BREEDING OF Fe HIGH EFFICIENCY BY SELECTION

Zhang Guoping Ma Guorui

(Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029)

植物缺铁失绿(Iron-Deficiency Chlorosis, IDC)是一个世界性的营养失调问题,特别是在干旱、半干旱地区的石灰性土壤上,许多农作物常因发生缺铁失绿导致生长不良,产量下降。据报道,全球40%的耕地具有潜在的缺铁失绿问题。虽然对缺铁反应敏感的农作物范围很广,但敏感程度作物之间有明显差异。与水稻、小麦等禾谷类作物相比,大豆对缺铁的反应较为敏感。尽管大豆缺铁失绿现象早在本世纪30年代就发现了,但在生产上对此一直没有引起重视。60年代后期,美国大豆生产区衣阿华和明尼苏达等州育成推广的一些品种对缺铁十分敏感,在钙质土壤上种植减产严重,从而引起了育种者与生产者的注意。缺铁失绿症虽可通过叶面喷施铁肥或土施铁螯合物加以校正,但往往不大经济。解决缺铁失绿的最佳途径是选育铁有效(Fe efficiency)品种。本文就大豆缺铁失绿表现的基因型差异及其生理机制、遗传方式和铁有效基因型的评估筛选方法与育种技术作一概述,以供有关研究参考。

一、铁反应的基因型差异及其生理原因

大豆铁反应的基因型差异已有不少报道。Clark等(1986)曾综述过49种作物(包括果树、蔬菜等)的铁反应基因型差异,其中列出了43篇文献有关36个耐低铁大豆基因型的报道^[1]。一般认为耐低铁(铁有效)基因型具有以下一些生理特点:(1)根系释放较多的氢离子;(2)可诱导产生原生质膜或细胞壁上的高铁还原系统,使根系的还原能力增强;(3)根系释放较多的还原物,促进土壤的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ;(4)体内积累较多的有机酸,吸收的铁在体内有较大的溶解性与移动性;(5)铁专一性螯合物的合成和分泌(如植物高铁载体);(6)铁专一性运载蛋白的合成或活性增加。据Wallace等(1986)研究,铁有效品种Hawkeye在缺铁条件下,根系释放的质子和还原物明显多于铁无效品种PI-54619-5-

* 本文于1995年7月19日收到。

This paper was received on July 19, 1995.

1^[21]。Jelley 等(1986)也报道过,著名的铁有效品种 A7 与一些铁敏感品种相比,在铁胁迫环境下根系释放较多的 H^+ 和还原物,从而使体内保持较高的 Fe 浓度和叶绿素含量^[14]。

一些研究表明,铁有效基因型对缺铁的反应是经可诱导产生一些化学反应使之铁成为有效,而无效(敏感)基因型则缺乏这种反应,其中最重要的反应是 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,有效品种具有较强的铁还原能力。Tipton 等(1985)表明,大豆根吸收铁之前,先在细胞壁空间将其还原,苹果酸是还原反应的电子供源^[20]。大豆的铁有效性也与其较强的吸收能力有关。Sain 等(1986)研究了大豆铁有效品种和无效品种在细胞悬浮培养下的吸铁情况,表明有效品种在缺铁条件下吸收能力强,表现为 Km 和 Vmax 值较大,而无效品种吸收能力减弱^[19]。Longnecker 等(1990)认为,大豆根内胞间质中有较多铁积累是铁有效品种的一个重要特征。铁有效性不同的大豆品种在光合特性上也表现出明显的差异^[17]。据 Davis 等(1986)研究,在各种铁水平下,铁有效品种 A7 和 Hawkeye 始终保持较高的净光合强度(Pn),而铁无效品种 T202 和 Anoka 在低铁水平下 Pn 值很小,随铁水平的增加稳步上升,相关分析表明,各品种 Pn 的变化与叶片叶绿素及铁含量的变化呈一致的趋势^[6]。

植株特别是叶片的铁含量,一直被用于评估作物铁营养状况的诊断指标,在相同的铁营养水平下基因型铁含量的差异则认为是铁有效性不同的生理基础。但大豆上的一些研究表明,铁有效性不同的品种在缺铁失绿症与叶片含铁量之间并不表现一定的相关性。据 Al-Showk 等(1986)报道,5 个铁有效性不同的大豆品种在两种钙质土壤上叶片的铁含量基本相同,但失绿程度差异显著^[1]。他们认为铁无效品种呈失绿症的直接原因是铁在植株体内失活或它们的生理生化反应要求较高水平的铁,该研究也佐证了磷和锰的营养状况与缺铁表现有密切的关系,在相同的营养条件下,铁有效性差的大豆品种,其体内的磷和锰浓度较高。综上所述,大豆铁反应的基因型差异与许多因素有关,其中包括根系的吸收和还原能力,铁与其它营养元素之间的数量比例关系,体内铁的形态与分配。

二、大豆铁反应的遗传

Weiss(1943)利用营养液温室条件下评估了大豆不同基因型的铁利用情况,并对试验结果进行了遗传学分析,指出这一性状受一主基因控制,铁有效(Fe Efficiency)为显性^[22]。Cianzio 等(1980)研究了几个缺铁失绿(IDC)抗性品种和敏感品种杂交 F_2 代铁有效性的分离规律。结果表明这可以由一个主基因效应解释,但受少数几个修饰基因的制约,并提出回交是把铁有效基因导入优良基因型的最佳育种方法^[3]。但是一些研究结果认为大豆铁有效性是一种数量性状。Rodriguez 等(1982)利用 IDC 抗性品种(A2)和敏感品种(Pride B216)为材料,研究杂种 F_1 和 F_2 代的失绿变异表现,结果是 F_1 代平均失绿症等级 3.3,而中亲值为 3.2(Pride B216 和 A2 分别为 4.4 和 1.9),说明 F_1 代铁有效性并未呈显性^[18]; F_2 代的失绿症呈连续性变异,范围为 1.2—4.8,平均 2.8,其中有 7 个 F_2 代株系失绿症等级小于 A2,这些株系与 Pride B216 回交,它们的后代均未达到 A2 的 IDC 抗性程度,由此他们认为铁有效性是数量性状,受一些累加效应基因的控制。近年来,一些研究者开展了大豆铁有效性基因的染色体定位工作,但迄今尚未取得实质性进展。Diers 等(1992)试图确定影响大豆铁有效性的数量性状位点(QTL),利用限制酶片段长度多态性(RFLP)、同功酶、形态特性和贮藏蛋白等分析,共取得了 272 个分子标记,但没有找到与铁有效性有关的分子标记^[7]。为了有效地利用分子技术改良大豆的铁有效性,需要加强与此有关的基因

染色体定位和 DNA 序列分析。

三、铁有效基因型的鉴定与筛选技术

开展大豆铁有效性育种要求建立一种简单而又可靠的鉴定和筛选技术。在评估植物体内铁营养的丰缺状况时,常利用叶片可溶性铁、铁与其它元素的比值、一些酶活性(如过氧化物酶、含铁血红蛋白酶等)和叶绿素含量等指标。相比较,叶片叶绿素含量具有测定简单、与缺铁失绿程度及产量表现关系密切等特点,在大豆基因型铁有效性的评估上被广泛应用。Frochlich 等(1981)以 15 个铁反应不同的大豆品种为材料,研究了失绿症程度与产量的关系,在无失绿表现至完全失绿范围内分成 0—5 级,得到失绿症每增加一个等级,大豆将多减产 20%,因此,认为可以用失绿症程度(等级)直观地评估大豆基因型对铁的反应^[10]。

由于大豆缺铁失绿症表现受许多因素的影响,从而给铁有效性育种带来了筛选难的问题。大田试验往往由于土壤异质性和环境变异结果的不一致性,难以对铁有效作出精确可靠的评估,因此筛选工作要求在受控环境的温室或生长室内进行,方法是利用盆栽钙质土模拟缺铁失绿形成的环境条件,或者利用营养液模拟失绿土壤的化学组成,通过直观观察失绿症程度或测定叶绿素含量予以评估。根据 Byron 等(1983)研究,第二复叶期失绿症表现最为明显,此时评估结果比较可靠,在盆栽试验中,土壤含水量对失绿症表现有一定的影响^[2]。Fairbanks 等(1977)表明,缺铁失绿最重的含水量因土壤类型而异,但以衬质势表示则基本相同,认为在利用盆栽钙质土筛选铁有效基因型时要控制好土壤的含水量^[9]。

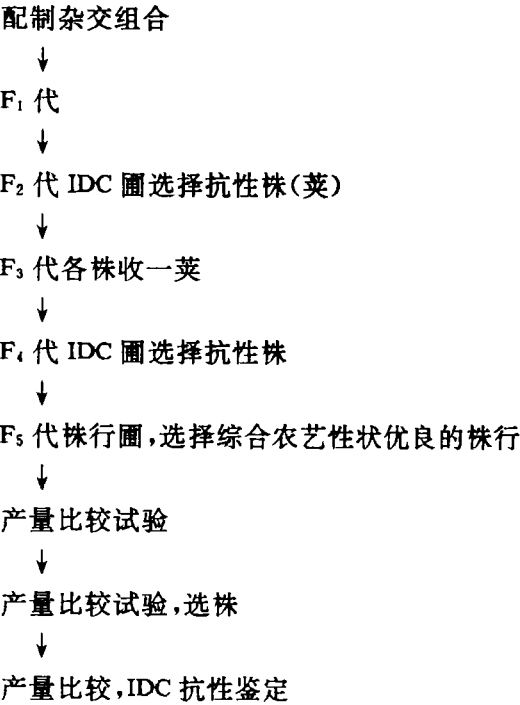
在营养液培养筛选中,营养成分对大豆基因型的失绿症表现影响很大。一些研究者指出,为了较好地反映基因型对铁反应的差异,除了提供正常生长的矿质营养成分外,要选择合适的铁和碳酸浓度。Coulombe 等(1984)表明^[5],在 4 μ M 和 6 μ M 铁浓度下,增加碳酸浓度(0—25 μ M),使失绿症加重,在较低铁浓度和高碳酸浓度下,抗性品种也会表现失绿症状,他们推荐用于基因型筛选的适宜浓度为 6 μ M 铁,15 μ MHCO₃⁻,这样的浓度可很好地区分失绿程度不同的基因型,且与大田表现有较好的相关性,Jessen 等(1986)介绍过两种诱导大豆缺铁失绿症选择铁有效基因型的方法^[11]。一种方法是把大豆直接种在钙质土壤上,出苗后切除子叶节以上器官,观察新叶的失绿症,结果表明这种处理可加重失绿程度。另一种方法是进行溶液培养,各种营养液的浓度为:2mM MgSO₄, 3mM Mg(NO₃)₂, 1mM KNO₃, 1mM CaCl₂, 4mM Ca(NO₃)₂, 10 μ M HBO₃, 50 μ M KOH, 2 μ M MnCl₂, 2 μ M CuSO₄, 1 μ M ZnSO₄, 0.2 μ M MoO₄, 2 μ M Fe(NO₃)₂, 5—10mM HCO₃⁻。各基因型在溶液培养中的失绿表现与大田结果具有很高的相关性,认为两者都可用于铁有效基因型的鉴定与筛选。最近,据 Jolley (1992)研究^[16],大豆植株培养在 Hongland 溶液中,铁有效基因型表现较快、较强的铁还原能力,且 7 天内还原的 Fe⁺量与田间失绿等呈显著负相关,提出可以此为指标进行基因型鉴定。

四、大豆铁有效品种选育

尽管很早就认识到选育耐低铁(铁有效)品种在根本上解决铁失绿症,增加大豆产量的重要性,但有目的地开展这项工作至 70 年代才开始。其中起步较早且取得了不少成果的要推美国的 Northrup King 公司(Jhorne, 1986)^[13]。该公司一直选育、生产和销售美国北

部和加拿大南部地区的大豆种子,70 年代以前,育种目标主要是高产、抗倒伏、高蛋白质和油分含量,很少考虑 IDC 抗性,选育的一些品种大多对 IDC 表现敏感,尤其是 70 年代中期选育的几个高产品种,如 S1492、S1474 等,在钙质土上,种植表现出严重缺铁失绿症。此后该公司着手选育 IDC 抗性品种。

大豆铁有效品种(IDC 抗性品种)选育的最初工作是对现有种质资源和高代材料进行评估与筛选。Northrup King 公司于 1977 年首先在衣阿华州南部的钙质土上对高代育种材料进行了 IDC 抗性筛选,从中初步得到了一批抗性品系,次年继续对选系进行评估与筛选,从中选育出综合农艺性状较好,IDC 抗性强的新品系 A2,后成为注册品种。此后,该公司以 A2 为抗源,进行杂交育种,1983 年选育出 IDC 抗性比 A2 更强的品系 A7。根据该公司的 IDC 抗性育种经验,通过评估和筛选高代材料,选择杂交亲本组合和集团选择等育种程序,可望取得比较满意的结果。集团选择的步骤如下:



针对大豆铁有效性属数量性状、受多基因控制的遗传特点,衣阿华大学的大豆育种者(Dragonuk 等,1989)利用轮回选择法改良大豆的 IDC 抗性^[8],他们用 10 个高产抗病优质大豆基因型与铁有效性很高、钙质土壤上生长良好的 10 个基因型进行相互间杂交,组建了 AP9 群体。以后,在钙质土壤上于开花前评价 100 个 So 衍生系,从中选择出铁有效性好且农艺性状基本符合育种目标的 10 个株系,对它们配制双列杂交,经五轮选择后,发现群体中大量基因型对 IDC 具有较高的抗性,表明轮回选择有利于 IDC 抗性基因的聚合,产生抗性明显高于单个抗性亲本的杂种后代。据 Dragonuk 等(1989)分析,在上述材料的第六轮群体(C₆)中铁有效性的期望遗传力在室内营养液条件下为 22±7%,在大田条件下为 10±2%;在 C₁-C₇ 群体中,予以 10% 的选择强度,如从失绿症等级(分 0—5 级)上考察,遗传进度在营养液和大田分别为 -0.05 和 -0.08,说明定向选择有良好的作用,具有

广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Al-Showk, A. M. et al. 1986 *Journal of Plant Nutrition*, 9:355-371
- [2] Byron, D. F. et al. , 1983 *Crop Sci.* 23:885-888
- [3] Cianzio, S. R. et al. , 1980 *Crop Sci.* 20:433-434
- [4] Clark, R. B. et al. , 1986 *Journal of Plant Nutrition*, 9:471-491
- [5] Coulombe, B. A. et al. , 1984 *Journal of Plant Nutrition*, 7:411-425
- [6] Davis, T. D. et al. , 1986 *Journal of Plant Nutrition*, 9:671-681
- [7] Diers, B. W. et al. , 1992 *Journal of Plant Nutrition*, 15:2127-2136
- [8] Dragonuk, M. B. et al. , 1989 *Crop Sci.* 29:952-955
- [9] Fairbanks, D. J. et al. , 1987 *Crop Sci.* 27:953-957
- [10] Frochlich, D. M. et al. , 1981 *Crop Sci.* 21:438-441
- [11] Jessen, H. J. et al. , 1986 *Journal of Plant Nutrition*, 9:345-353
- [12] Jessen, H. J. 1988 *Crop Sci.* 28:204
- [13] Jhorne, J. C. 1986 *Journal of Plant Nutrition*, 9:335-343
- [14] Jolley, V. D. et al. , 1986 *Journal of Plant Nutrition* 9:373-386
- [15] Jolley, V. D. et al. , 1986 *Journal of Plant Nutrition* 9:387-396
- [16] Jolley, V. D. 1992 *Journal of Plant Nutrition* 15:1679-1690
- [17] Longnecker, N. et al. , 1990 *Plant Physiology*, 92:17-22
- [18] Rodriguez, S. et al. , 1982 *Crop Sci.* 22:431-434
- [19] Sain, S. L. et al. , 1986 *Journal of Plant Nutrition*, 9:729-750
- [20] Tipton, C. L. et al. , 1985 *Plant Physiology*, 79:432-435
- [21] Wallace, A. et al. , 1986 *Journal of Plant Nutrition*. 9:787-803
- [22] Weiss, M. G. 1943 *Genetics* 28:253-268