

嫁接技术在大豆生理和育种研究中的应用

贾 贞, 韩天富

(中国农业科学院 作物科学研究所, 国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程, 北京 100081)

摘 要:嫁接技术是研究植物不同器官间信号传导、可传导信号物质性质及作用方式等重要生理问题的有效手段。在简要介绍大豆嫁接技术和嫁接组合方式的基础上,重点综述了该技术在大豆生理研究中的应用,主要涉及大豆中可传导开花物质的特性和作用方式、地上和地下部的关系、根瘤发生及共生固氮的调控机制等领域。此外,还介绍了嫁接技术在大豆育种及多年生野生大豆资源保存和利用中的应用情况。

关键词:大豆;嫁接技术;生理;可传导信号

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2010)01-0136-07

Uses of Graft Techniques in the Studies of Physiology and Breeding of Soybean

JIA Zhen, HAN Tian-fu

(National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Graft techniques are effective in studying physiological aspects like signal transduction among organs of plants, properties of transmissible signal substances and their functions, etc. In this review, the graft techniques and combination types between stocks and scions were briefly introduced, and then the application of graft techniques in soybean physiological researches was illustrated in detail, with emphasis on the characteristics and action of transmissible floral induction substances, root-shoot interaction, mechanism of nodulation and regulation of nitrogen fixation. In addition, the utilization of graft techniques in soybean breeding and conservation of perennial *Glycine* species was also introduced.

Key words: Soybean; Graft; Physiology; Transmissible signal

嫁接是把一株植物的一部分(多为枝条,统称接穗)通过类似手术的方法连接到另一株植物的茎、根或其它器官(统称砧木)上,使连接在一起的接穗和砧木进一步发育,共同成长为一个完整植株的技术^[1]。近年来,嫁接技术在园艺作物生产中发挥了重大作用^[2],并成为研究植物根冠关系、生长调节物质、抗病机制等重要生理学问题的重要手段。随着分子生物学研究的不断深入,嫁接技术在揭示植物中由可传导信号物质参与的生理过程的机制方面得到新的应用,为深入了解植株不同器官的互作方式提供了不可替代的手段。同时,嫁接技术在植物生产和育种等领域的应用更加广泛。该文在对嫁接技术进行简要介绍的基础上,重点综述其在大豆生理及育种实践中应用的情况。

1 嫁接技术简介

1.1 嫁接技术的类型

根据砧木和接穗间接合方式的不同,可将嫁接方法分为3类:插接、劈接和靠接。插接是用竹签等器具在砧木苗茎的顶端或上部插孔,后将末端削成楔形的接穗插入砧木茎端插孔内,使二者连接形成一个新植株的嫁接方法^[3];劈接是将砧木茎的上端纵向切成楔形劈口,后将具楔形末端的接穗插入砧木切口,使其愈合成株;靠接则是将2个相邻植株枝干相向的部分,削出一定长度和深度的切口,然后将2个切口紧密对合^[4]。靠接植株成活后可根据需要切断接穗接口以下部分,或切除砧木接口以上部分。

1.2 砧木和接穗的组合方式

根据研究需要,可将砧木和接穗按上下、左右等不同方式组合(图1a~f)。在这些组合方式中,单

收稿日期:2009-10-27

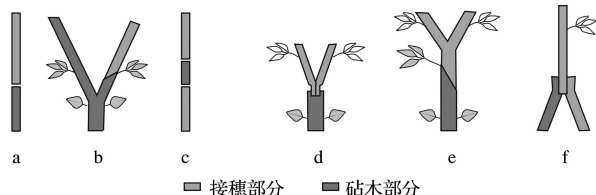
基金项目:国家高技术研究发展计划资助项目(2007AA10Z133);国家自然科学基金资助项目(30471054)。

第一作者简介:贾贞(1972-),男,博士,研究方向为大豆发育生物学。E-mail:zhenjia.tianshui@126.com。

通讯作者:韩天富,博士,研究员。E-mail:hantf@mail.caas.net.cn。

接穗-单砧木的上下型嫁接方式最为常见(图 1a),其次是单接穗 Y 形嫁接(图 1b)。在单接穗-单砧木嫁接体中,砧木可以是根和具有叶的地上部分,也可仅为根,前者在对研究可传导开花物质植物叶片产生的信号物质中使用较多,而后者多用于地上部和地下部的互作研究。单接穗 Y 型嫁接体的一枝来自砧木,另一枝来自接穗(图 1b),被用于研究砧木枝条和接穗枝条的相互作用。此外,由以上 2 种嫁接方式可衍生出中间砧木法(图 1c)、双接穗-单砧木 Y 形嫁接法(图 1d)和双枝接穗 Y 形嫁接法(图 1e)以及单接穗-双砧木的 A 型嫁接法(图 1f)等。中间砧木法,即在 1 种(株)植物的根和茎之间引入异种或异株植物的一段茎(图 1b);双接穗-单砧木 Y 型嫁接是由 2 个接穗与 1 个砧木嫁接而成(图 1d);双枝接穗 Y 形嫁接法由作者所在实验室新近构建,即在 1 个砧木的上端嫁接 1 个 Y 形双枝(图 1e),用于观察对其中一枝去叶时另一枝条开花反应的差别,是研究大豆开花促进物质和抑制物质互作的良好系统。

按研究目的不同,还可将砧木和接穗按其它方式组合。



a. 单接穗-单砧木; b. 中间砧木; c. 单接穗 Y 形嫁接; d. 双接穗-单砧木的 Y 形嫁接; e. 双枝接穗 Y 形嫁接; f. 双砧木-单接穗的 A 形嫁接。a. Shoot-to-root grafts. b. Y-shaped grafts with one scion. c. Interstock grafts. d. Y-shaped grafts with two scions. e. Y-shaped grafts with Y-shaped shoots. f. A-shaped grafts with two rootstocks.

图 1 嫁接方法的种类

Fig. 1 Types of graft techniques

2 嫁接技术在大豆生理研究中的应用

嫁接技术在大豆中的应用领域涉及可传导开花物质的特性和作用方式、根冠互作、根瘤发生及固氮调控的机制等。

2.1 大豆可传导的开花物质

2.1.1 可传导开花促进物质及其与品种光周期反应敏感性的关系 在光周期诱导植物开花的过程中,对叶片进行光周期处理,即可引起茎端分生组织

开始花芽分化。由此推测,在适于植物开花的光周期条件下,叶片产生可传导的开花促进物质,经维管束传导至茎端分生组织,诱导花芽分化^[5-6]。这种开花促进物质还可通过嫁接传导至其它植株,使这些植株在非诱导条件下开花^[6]。

在光周期反应研究的早期,嫁接即成为研究大豆开花调控的特点和可传导开花物质的特性和作用方式的重要手段^[7-8]。Borthwick 和 Parker^[7]、Hamner^[9]及 Shanmugasundaram 等^[10]先后以双枝大豆为材料证明植物中存在可传导的开花物质。Shanmugasundaram 等^[10]通过剪除大豆的茎端生长点,使其在单叶或子叶节处产生 2 个侧枝,形成双枝大豆植株,后对双枝大豆的二枝分别进行长、短日处理,以研究不同叶片数对开花促进物质在供体(短日处理枝条)和受体(长日处理枝条)间的传导,及其对开花时间和花荚数量的影响。结果表明,当对光周期反应不敏感品种的一枝进行短日处理时,二枝同时开花,但长日照处理可使其产生更多的花和荚果;在光周期反应敏感品种中,只有当受体枝条上的三出复叶不多于 2 片时,该枝条才可开花^[10]。在上述研究中,开花物质的供体和受体为同一品种,并且需对全株或部分进行光周期处理。

嫁接技术的改进推动了对大豆中可传导开花物质生理特性的深入研究。通过构建不同品种间的嫁接体,可省去光周期处理步骤,便于了解不同品种光周期反应及成熟期差异的机制。Heinze 等^[8]以光周期反应钝感品种 Agate 为开花促进物质供体,以光周期反应敏感性品种 Biloxi 为受体,通过茎间靠接、叶柄劈接和芽接,发现靠接后 50% 的 Biloxi 植株可形成花原基,嫁接后几天的去叶可提高受体花原基形成的百分率。在叶柄劈接试验中,只有当供体叶片在受体品种 Biloxi 上存活 4~8 d 时,才可诱导 Biloxi 形成花原基。在其它一些试验中,不同熟期品种或近等基因系间的嫁接,也可观察到开花促进物质通过嫁接连接点传递的现象^[11]。在以早熟品种为砧木,晚熟品种为接穗的嫁接组合中,均可观察到晚熟品种接穗早于自体嫁接对照开花的现象^[12]。

一些大豆育种工作者通过嫁接方法系统研究了大豆品种成熟期组类型与开花物质的关系。在 Beaver 和 Nelson^[13]的试验中,早熟品种 Hodyson 和 Williams 分别属于第 I、III 成熟期组,中、晚熟品种 Essex、Ransom、Imp. Pelican 和 Jupiter 分别属于第 V、VII 和 IX 成熟期组。Beaver 和 Nelson^[13]分别以早

熟品种 Hodyson 和 Williams 为砧木,以上述中、晚熟品种为接穗,在播种后不同日期劈接,观察嫁接日期、砧木对不同成熟期组接穗品种开花的影响。结果表明,当同期嫁接时,晚熟接穗开花比早熟品种晚。在分期嫁接试验中,随嫁接日期的延后,嫁接至初花的日数减少。另外,砧木的成熟期组类型对接穗的开花时间具有显著影响,嫁接时期较早时,以第 I 成熟期组的 Hodyson 为砧木的接穗开花早于以第 III 成熟期组 Williams 品种为砧木的接穗;而在较晚时候进行的嫁接试验中,结果则相反。不同时期嫁接接穗开花期的差异显然与嫁接后所处的光照长度有直接关系。在 Y 形嫁接体系中,早熟接穗的开花时间不受砧木成熟期组类型的影响,去叶也不改变早熟接穗的开花时间,表明早熟接穗的未展开叶片或花芽内即可产生开花促进物质^[14]。

2.1.2 可传导的开花抑制物质及其性质 嫁接不仅深化了人们对大豆中可传导开花促进物质的认识,而且证明大豆中也存在可传导的开花抑制物质,二者以相互拮抗的方式调控大豆开花和个体发育。Kiyosawa 和 Kiyosawa^[15]将早熟、中熟和晚熟大豆品种同期播种,在砧木植株的第一叶期(first leaf-stage),将接穗插接于砧木植株的节间部(inter-node)。并在嫁接后第 12 天时,一次性去除晚熟接穗的全部展开叶片,发现去叶可明显提前其初花日期,显示接穗叶片中存在抑制开花的物质。同时,对晚熟砧木上的中熟品种接穗的去叶处理则延迟其开花,表明在中熟品种可以正常开花的条件下,晚熟品种砧木内的开花抑制物质可传导至中熟品种接穗而延迟其开花。

在双枝大豆嫁接体中,供体和受体枝条的叶片数决定了二者间开花促进物质和抑制物质的互作方式,去叶处理可改变二者的平衡状态。受体枝叶少于 3 片时,开花提早^[14]。在由近等基因系构成的 Y 形嫁接体中,只有当晚熟接穗保留 1 或 2 个叶片时,晚熟和早熟接穗枝条才分别表现出轻微的开花的促进和延迟效应。在长日条件下,含 E1 和 E3 位点的近等基因系开花延迟程度较大^[11]。

Cober 等^[14]以二套近等基因系为材料进行嫁接,并允许砧木保留 1 个侧枝,从而构建单接穗—Y 形植株嫁接体,进而观察砧木和接穗枝条间的相互作用。结果表明,早、中熟砧木均可促进晚熟接穗开花,但早熟砧木的促进效应更大。此外,对晚熟接穗去叶可进一步促进其提前开花,显示在晚熟接穗叶

片中存在开花抑制物质。晚熟砧木枝条可以延迟中熟近等基因系接穗的开花时间,但对极早熟近等基因系的开花时间影响不大;在中熟近等基因系接穗幼叶充分展开前即予去除,可大大加强源自晚熟砧木枝条的延迟效应,证明晚熟大豆叶片产生的开花抑制物质具有可传导性。

Sinclair 和 Hinson^[16]借助嫁接手段研究大豆长童期特性的生理机制。他们将具有长童期性状的品系 F85-1226(LJ)和非长童期品系 F85-1221(NL)植株相互嫁接,分别在 F85-1226(砧木)第 1~5 不同复叶节位以上的部分嫁接 F85-1221 接穗,形成具不同叶片数的长童期砧木,以研究长童期砧木叶片数对接穗开花时间的影响。结果表明,当 F85-1226 砧木具有 3 片以上叶片时,才对 F85-1221 接穗的成花发育产生延缓作用,这种延缓作用与砧木叶片数成比例。由此可见,长童期品系 F85-1226 足够数量叶片的存在是引起接穗花期延迟的原因,表明长童期性状显然与一种或多种影响开花的可传导物质有关。目前尚不清楚在上述嫁接体系中,长童期品种叶片延迟接穗开花的作用到底是通过降低开花信号的量还是通过增加开花抑制物的量来实现的。

2.2 大豆的根冠互作

不同基因型大豆的嫁接,为研究地下部(根)和地上部(冠)的关系提供了可靠方法。

部分大豆品种的根系具有抗旱、高生物量等优良特性,而另一些品种的地上部具有抗衰老等性状。可借助嫁接技术研究这些优良性状的形成取决于根还是地上部。

大豆种质资源 PI416937 具有丰富的毛状根系,因而具有良好的抗旱能力。该品种还拥有较多根瘤,因而固氮能力较强。在 PI416937 幼苗期横切胚轴后插接自体或其它基因型接穗,发现 PI416937 毛状根系发达的性状是由其根系本身而非地上部决定的;与 PI416937 砧木嫁接的其它基因型接穗种子的干重显著增加,表明 PI416937 砧木丰富的毛状根系可提高接穗种子的产量。若通过育种手段将 PI416937 的优良根系性状转移到高产品种中,有望选育出新的高产品种^[17]。

Ookawa 等^[18]通过嫁接手段研究发现根系活力对大豆叶片衰老速度有重要影响。大豆品种 Tachinagaha(十胜长叶)的叶片衰老速度慢于 Enrei 品种。通过子叶节处进行的相互和自体嫁接,发现在大豆成熟过程的不同阶段,决定叶片衰老的部位不

同,早期阶段叶片的衰老速度(以叶绿素含量为指标)与根系的特性有关,晚期阶段则由地上部本身决定。此外,Tachinagaha 砧木具有较长的根,且其长度不受接穗品种的影响。在成熟早期和晚期,砧木根长没有变化,但在成熟早期,具有 Tachinagaha 品种砧木的嫁接体全株或单位面积的溢泌速率(exudation rate)更高;成熟后期溢泌速率较低,且不同嫁接组合间没有差异。因此,在大豆成熟期,根的生理活性与叶片衰老的关系更为密切。为了进一步揭示地上部特性影响叶片衰老的方式,Ookawa 等^[19]将 Tachinagaha 品种和 Enrei 品种在第 8 和第 9 节间相互嫁接,发现当以 Tachinagaha 品种为接穗时,Enrei 砧木叶片的叶绿素含量升高。反之,当以 Enrei 品种为接穗时,Tachinagaha 品种(砧木)叶片的叶绿素含量衰减速度加快。由此可见,除根系外,大豆叶片的衰老速度也取决于地上部本身的特性。

2.3 大豆根瘤发生的调控

结瘤和共生固氮是豆科植物的重要特性。大豆的根可与根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*)建立共生关系,形成根瘤,以获取氮素等营养。在大豆根瘤发生过程中存在自我调节现象,即已有根瘤可抑制后续根瘤的发生^[20-21],从而避免根部形成过多的根瘤。研究表明,在大豆根瘤的自我调控过程中,有系统性可传导信号的参与^[22]。

2.3.1 超结瘤性状的调控部位 关于大豆根瘤自我调控机制的研究得益于超级结瘤突变体的发现。Carroll 等^[23]用 EMS(Ethyl methane sulphfanate)诱导野生型大豆 Bragg 产生了一个被称为 *nts* 382 的超级结瘤突变体。在常规无氮培养基上,*nts*382 可产生十几倍(350~400 个根瘤·株⁻¹)于野生型 Bragg 的根瘤数。在少量硝酸钾或脲存在的情况下,*nts*382 植株可产生 800~1 000 个根瘤,数十倍于野生型 Bragg 植株。显然,超级结瘤突变体失去了根瘤发生的自我调节能力。

在大豆超结瘤突变体和野生型的嫁接试验中,突变体超级结瘤性状的有无受地上部控制^[24]。以超级结瘤突变体 *nts*382 的地上部为接穗、野生型大豆品种 Bragg 的地下部为砧木嫁接,使 Bragg 根部出现超级结瘤表型;而当以 Bragg 为接穗时,*nts*382 和 Bragg 基因型的根(砧木)均表现为野生型结瘤性状,表明根瘤的发生受寄主植物地上部控制。隐性突变体 *nts*382 可能丢失了一些根瘤生长抑制因子,因而表现为自动调节能力显著降低,根瘤的生长失

去了控制^[24]。

NOD1-3 是由野生型大豆品种 Williams 82 经化学诱变剂 N-甲基-N-亚硝基脲(N-nitroso-N-methyl-urea)诱发而来的超级结瘤突变体。在同等条件下,*NOD1-3* 突变体产生 2~4 倍于野生型亲本的根瘤数^[25-26]。Sheng 和 Harper^[27]进行了野生型 Williams 82 与突变体 *NOD1-3* 及扁豆(*Lablab. Purpureus*)的嫁接,进一步研究了地上部和地下部对根瘤发生的影响。嫁接在苗期进行,在子叶节以下、地面以上的部位采用劈接方法嫁接,形成单接穗-单砧木、双接穗-单砧木和单接穗-双砧木等多种嫁接组合,并对部分 Y 形嫁接体进行去叶处理,以对调控信号和光合产物的影响加以区别。当把超级结瘤品系的地上部嫁接到 Williams 82 品种或扁豆砧木上后,后者的根瘤数增加;当把 2 个接穗嫁接于 1 个砧木上时,提高了不同基因型(砧木)根系的生长量,而根瘤数的多少则取决于地上部的结瘤基因型而与光合面积无关。在双接穗-单砧木嫁接体中,若去除 Williams 82 或 *NOD1-3* 接穗的三出复叶,会减少根和茎的干重,可能原因是光合产物供应不足。值得注意的是,对 Williams 82 接穗的去叶可增加两种结瘤基因型大豆和扁豆砧木的根瘤数,而对 *NOD1-3* 接穗的去叶处理结果则相反。由此可见,叶片是大豆根瘤发生自我调节信号的控制部位;大豆及扁豆具有共同的、可传导的根瘤自我调节信号;幼苗的营养生长状态和根瘤数的调控没有关联;在根瘤数的调控过程中存在抑制和促进两类信号^[27]。

丛枝真菌(*Bradyrhizobium japonicum*, *Gigaspora rosea*)是除根瘤菌外可与大豆建立共生关系的另一类微生物。丛枝真菌的菌丝可穿过大豆根皮质,以丛生状分布于宿主细胞内,形成丛生枝。丛枝真菌有利于大豆对氮素的吸收。研究表明,大豆与丛枝真菌的共生和根瘤的形成受地上部的调控。

En6500 是大豆品种 Enrei 的超级结瘤突变体。Sakamoto 和 Nohara^[28]使用嫁接技术研究了丛枝真菌寄生的调控机制。他们将出苗 10 d 的 Enrei 和其超级结瘤突变体 *En6500* 在子叶节以下的部位相互或自体嫁接,随后用两种根瘤菌接种。结果表明,在 *En6500* 突变体自体嫁接的根内,丛枝真菌的菌丝分枝度是 Enrei 根内的 1.5 倍;在 Enrei 和 *En6500* 的相互嫁接中,只有以后者为地上部时,根细胞才具有丰富的菌丝丛生枝;而当以前者为地上部时,菌丝丛生枝的多少与 Enrei 自体嫁接相当。

可见,无论是丛枝真菌的共生还是根瘤的形成均受地上部的系统调控^[28]。

2.3.2 调控超级结瘤发生可传导信号的分子本质 有人提出,在根瘤发生过程中,一旦根皮层表皮细胞的分裂达到临界值,根内就会产生一种前体分子,这种分子转运至地上部后被转化为抑制物质,抑制因子被转运至根部后抑制新的根瘤形成。这种自我调节机制避免了根因共生固氮而导致能耗过度^[29]。

朱玉贤等^[30]用外施植物提取液结合嫁接的方法,研究了结瘤调控信号物质的特性,发现野生型大豆品种 Bragg 的幼苗在含有超结瘤突变体 *nts382* 幼苗地上部抽提液的培养基中不表现超结瘤特性,而 *nts382* 的超级结瘤性状在含 Bragg 幼苗提取液的培养基中明显受抑。Bragg 提取液对 *nts382* 植株超结瘤性状的抑制作用还随所用豆苗苗龄的增加而明显减弱,接种后 60 d 的抽提液基本无抑制功效。未经根瘤菌接种的 Bragg 幼苗的提取液不能抑制 *nts382* 的超结瘤表型。与此不同,嫁接不存在这种时间效应,无论用 Bragg 幼苗或成株做接穗,都能有效地抑制 *nts382* 砧木的超级结瘤现象^[30]。Williams 品种超级结瘤突变体的根部具有高浓度的异黄酮,而异黄酮是根瘤菌 *nod* 基因表达的诱导物,并可能参与随后根瘤的发育过程。嫁接揭示,Williams 超级结瘤突变体地上部可能通过影响大豆根部异黄酮的含量,来决定根部超级结瘤性状的有无^[31]。

在其它一些大豆品种(如 Korea)中,也可能存在另外的根瘤数和结瘤模式调控机制^[32]。另外,个别品种对根瘤菌具有抗性,表现为不结瘤。这种特性也受地上部调控^[32]。

多个大豆品种间的嫁接揭示,根瘤菌 *Rhizobium fredii* USDA257 对大豆的致瘤作用存在品种特异性。苗期嫁接证实,大豆品种间的致瘤特性差异受根本身而非地上部的调控^[33]。

2.3.3 大豆根系固氮代谢调控 大豆根系固氮量因发育时期的不同而呈现规律性的变化。利用嫁接技术可研究大豆根冠比变化对根固氮能力的影响,弄清鼓粒期固氮量的下降是否可以逆转。

Streeter^[34]通过靠接获得大豆嫁接体,然后切除其中一根,使其成为根冠比减半的 Y 形嫁接体,进而研究了大豆花期或鼓粒初期根冠比变化对大豆根瘤固氮量等的影响,发现根冠比变化并不影响成熟时地上部总氮和干物质积累量,但在根冠比变化后 7 d 时,根和根瘤的重量增加;根冠比变化后 2 d 时,

每克根瘤的固氮速率(乙烯还原酶活性)比对照高出 75%,然后随根瘤重量的增加,单个根瘤的固氮速率下降到对照水平,但在 2 周左右的时段内,单根固氮速率比对照高出 60%~70%,表明大豆的根能以更高水平的速率固氮^[34]。此外,鼓粒期大豆根系固氮存在一个自然的衰减过程。嫁接试验揭示,这一过程由多个器官参与并受不同发育阶段的调控,且是可逆的。将幼嫩接穗靠接于已过固氮高峰、处于结荚期的砧木的基部或茎端,成活后去除接穗植株的根,发现只有靠接于砧木基部的接穗,才可逆转砧木固氮速率的衰减过程。嫁接于砧木茎顶部的接穗不能诱导这一过程的原因可能是受茎传导性的制约。此外,砧木上荚果的存在可减缓根部固氮酶活性的衰减过程。伴随接穗的开花和鼓粒过程,根部可出现第 2 个固氮高峰^[35]。

2.3.4 大豆根瘤的抗盐性 大豆结瘤的抗盐性被认为与地上或地下部的可溶性信号有关。“NOD1-3”为盐害敏感品种,“PI416937”为耐盐品种。在经盐胁迫时,前者结瘤受影响的程度比后者更为严重。将耐盐品种 PI416937 的接穗嫁接到敏感性品种 NOD1-3 的根(砧木)上,而后进行盐胁迫处理,发现 PI416937 接穗减轻了盐对砧木结瘤的抑制作用,表明在嫁接体中存在向下传导的结瘤信号;而当以 NOD1-3 作接穗,嫁接到 PI416937 根砧木上时,PI416937 根的结瘤数介于 NOD1-3 和 PI416937 自体嫁接体之间,表明耐盐大豆的根也可产生根瘤发育信号^[36]。

3 嫁接技术在大豆育种和种质资源保存方面的应用

嫁接不仅是大豆生理研究的良好工具,而且在大豆育种和多年生野生大豆种质保存等方面具有一定利用价值。在大豆育种中,通过嫁接可对不同品种进行花期调控,为杂交育种创造条件。也有研究者通过嫁接,进行无性方式的育种^[4]。

3.1 大豆育种

大豆不同品种的开花期变化范围很大,限制了杂交育种亲本的利用。对部分不能及时开花的晚熟品种进行遮光处理促其开花,是实现不同亲本花期同步的有效方法,但这一过程费时费力。此外,在短日条件下很多品种存在闭花授粉现象,增加人工杂交的难度。实践证明,通过不同成熟期品种间的嫁接,可实现亲本花期同步,为杂交育种创造条件。据 Kiihl 等^[12]观察,在当地品种和晚熟品种按正常播

期播种的情况下,若在砧木始花时嫁接,晚熟品种有望在嫁接后 21 d 到 50 d 内开花,因此,在了解当地杂交亲本开花时间的前提下,合理安排嫁接时间,可使晚熟亲本获得充足花朵。另外,嫁接也可用于霜前不能成熟品种的种子生产^[12]。

一些育种工作者曾通过不同材料的嫁接,试图通过无性杂交的方式选育大豆新品种。刘忠堂^[4]认为,利用成熟期相差较大的材料进行营养体嫁接育种,不仅省去了对其进行花期调节的环节,而且还具有产生杂种种子数量多,后代分离早、稳定快,育种年限短等优点。

供体植株的遗传物质传导至受体后,使受体产生可遗传的变异,是通过嫁接实现无性杂交育种的理论基础。已有证据显示,在植物嫁接体间可产生遗传物质交换,引起可遗传变异。Hirata 和 Yagishita^[37]将大豆品种 Kinzu ($Gly1Gly1Ti^0Ti^0$) 的幼苗接穗劈接于 2 月苗龄的 Raiden 品种 ($gly1gly1Ti^3Ti^3$) 砧木上。Kinzu 接穗的后代产生包括贮藏蛋白 11S 酸性亚基组成、Kunitz 型胰蛋白酶抑制因子等性状的改变。Kinzu 接穗的子一代胰蛋白酶抑制因子和酸性亚基的组成变为 $Gly1gly1Ti^3Ti^0$, 这一性状无论在其子二代 (G1S2) 还是以子一代为接穗产生的子二代 (G2S1) 中均发生分离,但分离比例不同于 Raiden 和 Kinzu 有性杂交后代所表现的孟德尔分离方式。

为分析母本影响大豆脂肪酸含量的因子是否具有可传导性,Carver 等^[38]将农艺性状相近而脂肪酸含量不同的大豆品种 N78-2245 和 Essex 在开花前相互嫁接。结果发现,砧木的表型显著影响接穗的脂肪酸组成,表明母体植株可能通过可传导的因子影响种子脂肪酸的组成。另外,若在种子发育过程中对接穗进行去叶处理,可增大接穗种子脂肪酸组成的变化幅度,表明影响种子脂肪酸含量变化的可传导因子很可能产生于叶片。

新近的分子生物学研究证实,通过嫁接的确可以导致植物不同组织间发生遗传物质的交换。利用转基因技术获得细胞核和细胞质分别携带不同标记的两种转基因烟草,以这两种烟草互为砧木或接穗嫁接后切去茎切段的部分组织进行培养,获得兼具两种标记的再生植株,表明具不同标记的转基因系间发生了遗传物质的转移。基因组标记分析显示,携带细胞核标记的细胞可将其整个细胞质基因组或其大片段 DNA 向另一细胞转移,暗示嫁接体可通过这种方式,实现接穗和砧木间遗传物质的交换^[39]。

另外,已发现寄生植物的遗传物质可向寄主植物横向传递 (Horizontal transfer),进而导致寄主植物遗传物质发生变化^[40]。

3.2 多年生野生大豆种质资源的保存

种子繁殖是多年生野生大豆种质资源保存的难点之一。Newell 和 Hymowitz^[41]曾在美国对来自澳大利亚南部的短绒野大豆 (*Glycine tomentella* Hayata) 资源 PI 393567 进行短日处理以促进其开花结实,但未获成功。他们将短绒野生大豆与栽培大豆嫁接,发现作为接穗的短绒野大豆生长良好,顺利开花后,产生大量种子。在同一环境条件下,短绒野生大豆的非嫁接对照没有开花。可见,嫁接是促进多年生野大豆开花结实的有效手段。

4 展望

综上所述,将嫁接技术应用于大豆生理和植物保护研究,进一步明确了不同器官间的互作方式,加深了对有可传导信号参与的生理现象及植物防卫反应的认识,取得了大量有重要科学意义的结果。嫁接技术在大豆育种和种质资源保存中也有一定利用价值。但是,目前尚有诸多问题未能解决,例如,如何将嫁接技术与分子生物学方法有机结合,进一步确定大豆开花促进物质和抑制物质的分子性质,明确二者的作用方式,进而诠释大豆营养生长和生殖发育的分子机制和调控途径。另外,嫁接技术如何与大豆生产实践结合,也是值得探讨的问题。

为加强嫁接技术在大豆生物学特性研究及大豆育种和生产实践中的应用,近期应开展以下方面的工作:(1)改进已有嫁接技术,开发新的嫁接方法;(2)与分子生物学技术和理化分析手段紧密结合,进一步研究大豆开花促进物质的分子性质,明确开花抑制物质的有无,探讨二者的相互作用方式;(3)对已有的被认为是通过嫁接方式育成的大豆品种及其嫁接亲本进行基因型分析,验证无性杂交(嫁接)在大豆育种中应用的可靠性;(4)将嫁接技术与常规性状鉴定、筛选技术相结合,筛选具有良好固氮、抗旱、抗盐、抗病和缓衰等性状的大豆种质资源,并确定相关性状的决定部位;(5)通过不同嫁接组合方式,解析大豆品种地上部和根系对产量的贡献率,明确根冠关系在大豆进化和品种改良中的演进规律,确定最佳的根冠组合;(6)通过调节根冠关系,探索大豆超高产的新途径。

参考文献

- [1] 陈贵林, 也兰春. 蔬菜嫁接栽培实用技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2005; 1. (Chen G L, Mie L C. Practical graft techniques for Vegetables[M]. Beijing: Jindun Press, 2005; 1.)
- [2] Oda M. Use of grafted seedlings for vegetable production in Japan[J]. Acta Horticulturae, 2008, 770: 15-20.
- [3] 韩世栋, 赵一鹏, 王广印, 等. 蔬菜嫁接百问百答[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005; 32. (Han S D, Zhao Y P, Wang G Y, et al. Questions and answers for vegetable grafting[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005; 32.)
- [4] 刘忠堂. 大豆育种[M]//王金陵. 大豆. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1982; 226-232. (Liu Z T. Soybean breeding[M]//Wang J L. Soybean. Harbin: Heilongjiang Science & Technology Press, 1982; 226-232.)
- [5] Knott J E. Effect of localized photoperiod on *Spinach*[J]. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 1934, 31: 152-154.
- [6] Chailakhyan M Kh. New facts in support of the hormonal theory of plant development[J]. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de l'URSS, 1936, 13: 79-83.
- [7] Borthwick H A, Parker M W. Photoperiodic perception in Biloxi soybeans[J]. Botanical Gazette, 1938, 100: 374-387.
- [8] Heinze P H, Parker M W, Borthwick H A. Floral initiation in Biloxi soybean as influenced by grafting[J]. Botanical Gazette, 1942, 103 (3): 518-530.
- [9] Hamner K C. Interrelation of light and darkness in photoperiodic induction[J]. Botanical Gazette, 1940, 101: 658-687.
- [10] Shanmugasundaram S, Wang C C, Toung T S. Photoperiodic response of flowering in two-branched soybean plants[J]. Botanical Gazette, 1979, 140(4): 4141-4147.
- [11] Przepiorkowski T, Martin S K S. The effect of grafting on the flowering of near-isogenic lines of soybean[J]. Crop Science, 2003, 43 (5): 1760-1763.
- [12] Kihiel R A S, Hartwig E E, Kilen T C. Grafting as a tool in soybean breeding[J]. Crop Science, 1977, 17: 181-182.
- [13] Beaver J S, Nelson R L. Effect of grafting date and maturity of the stock on the flowering behavior of soybean scions[J]. Soybean Genetics Newsletter, 1981, 8: 37-40.
- [14] Cober E R, Curtis D F. Both promoters and inhibitors affected flowering time in grafted Soybean flowering-time isolines[J]. Crop Science, 2003, 43(3): 886-891.
- [15] Kiyosawa S, Kiyosawa K. A study on varietal difference in flowering habits of soybean plants as followed by grafting experiments[J]. Plant Cell Physiology, 1962, 3(3): 263-273.
- [16] Sinclair T R, Hinson K. Soybean flowering in response to the long-juvenile trait[J]. Crop Science, 1992, 32: 1242-1248.
- [17] Pantalone V R, Rebetzke G J, Burton J W, et al. Soybean PI 416937 root system contributes to biomass accumulation in reciprocal grafts[J]. Agronomy Journal, 1999, 91(5): 840-844.
- [18] Ookawa T, Nishiyama M, Ishihara K, et al. Analysis of the factors causing differences in the leaf-senescence pattern between two soybean cultivars, Enrei and Tachinagaha[J]. Plant Production Science, 2001, 4(1): 3-8.
- [19] Ookawa T, Tomita N, Hirasawa T. Interaction of scion and stock on leaf senescence of soybean plants grafted at mid-stem during ripening[J]. Plant Production Science, 2005, 8(1): 32-37.
- [20] Pierce M, Bauer W D. A rapid regulatory response governing nodulation in soybean[J]. Plant Physiology, 1983, 73: 286-290.
- [21] Kossalak R M, Bohloul B B. Suppression of nodule development of one side of a split-root system of soybeans caused by prior inoculation of the other side[J]. Plant Physiology, 1984, 75: 125-130.
- [22] Kinkema M, Scott P T, Gresshoff P M. Legume nodulation: successful symbiosis through short- and long-distance signaling[J]. Functional Plant Biology, 2006, 33(8): 707-721.
- [23] Carroll B J, McNeil D L, Gresshoff P M. A supernodulation and nitrate-tolerant symbiotic (nts) soybean mutant[J]. Plant Physiology, 1985, 78: 34-40.
- [24] Delves A C, Mathews A, Day D A, et al. Regulation of ean-*rhizobium* nodule symbiosis by shoot and root factors[J]. Plant Physiology, 1986, 82(2): 588-590.
- [25] Gremthe soybaud M F, Harper J E. Selection and initial characterization of partially nitrate-tolerant mutants of soybean[J]. Plant Physiology, 1989, 89: 169-173.
- [26] Francisco P B J, Harper J E. Translocatable leaf signal autoregulates soybean nodulation[J]. Plant Science, 1995, 107: 167-176.
- [27] Sheng C, Harper J E. Shoot versus root signal involvement in nodulation and vegetative growth in wild-type and hypernodulating soybean genotypes[J]. Plant Physiology, 1997, 113: 825-831.
- [28] Sakamoto K, Nohara Y. Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) shoots systemically control arbuscule formation in mycorrhizal symbiosis[J]. Soil Science & Plant Nutrition, 2009, 55(2): 252-257.
- [29] Caetano-Anollés G, Gresshoff P M. Plant genetic control of nodulation[J]. Annual Review of Microbiology, 1991, 45: 345-382.
- [30] 朱玉贤, 潘乃穰, 陈章良. 大豆提取液对超结瘤现象的抑制[J]. 植物学报, 1993, 35(9): 716-721. (Zhu Y X, Pan N S, Chen Z L. Soybean seedling extracts inhibit supernodulation[J]. Acta Botanica Sinica, 1993, 35(9): 716-721.)
- [31] Cho M J, Harper J E. Root isoflavonoid response to grafting between wild-type and nodulation-mutant soybean plants[J]. Plant Physiology, 1991, 96(4): 1277-1282.
- [32] Delves A C, Higgins A V, Gresshoff P M. Shoot control of supernodulation in a number of mutant soybeans (*Glycine max* [L.] Merr.) [J]. Functional Plant Biology, 1987, 14(6): 689-694.
- [33] Balatti P A, Pueppke S G. Cultivar-specific interactions of soybean with *Rhizobium fredii* are regulated by the genotype of the root[J]. Plant Physiology, 1990, 94: 1907-1909.
- [34] Streeter J G. Growth of two soybean shoots on a single root; effect on nitrogen and dry matter accumulation by shoots and on the rate of nitrogen fixation by nodulated roots[J]. Journal of Experimental Botany, 1974, 25(1): 189-198.

- nine-rich delta-zein in transgenic soybean results in the formation of two types of novel protein bodies in transitional cells situated between the vascular tissue and storage parenchyma cells[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2004, 2(3):199-210.
- [62] Yu O, Shi J, Hession A O. Metabolic engineering to increase isoflavone biosynthesis in soybean[J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(7):753-763.
- [63] Van Eenennaam A L, Lincoln K, Durrett T P, et al. Engineering vitamin E content; from arabidopsis mut[J]. *Plant Cell*, 2003, 15(12):3007-3019.
- [64] Chiera J M, Finer J J, Grabau E A. Ectopic expression of a soybean phytase in developing seedsof to *Glycine max* to improve phosphorus availability[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 56(6):895-904.
- [65] 李明春, 卜云萍, 王广科, 等. 深黄被孢霉 Δ^6 -脂肪酸脱氢酶基因在大豆中的表达[J]. *遗传学报*, 2004, 31(8):858-863. (Li M C, Bu Y P, Wang G K, et al. Heteologous expression of mortierella isabellina Δ^6 - fatty acid desaturase gene in soybean[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(8):858-863.)
- [66] 刘兰英. 大豆品质改良的基因工程[D]. 北京: 中国农业大学, 1996. (Liu L Y. Genetic engineering on improving soybean quality traits[D]. Beijing: China Agricultural University, 1996.)

(上接第 135 页)

- [7] 陈辉, 张文明, 胡晨, 等. 安徽省野生大豆资源考察研究初报[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(36):11787-11788. (Chen H, Zhang W M, Hu C et al. Survey and study on the wild soybean resource in Anhui Province[J]. *Journal Anhui Agricultural Science*, 2007, 35(36):11787-11788.)
- [8] 林红, 齐宁, 李向华, 等. 黑龙江省野生大豆资源考察研究[J]. *中国油料作物学报*, 2006, 28(4):427-430. (Lin H, Qi N, Li X H. et al. New progress on wild soybean survey in Heilongjiang province[J]. *Chinese Journal Oil Crop Science*, 2006, 28(4):427-430.)
- [9] 程春明, 王瑞珍, 叶厚专, 等. 江西野生大豆种质资源考察初报[J]. *江西农业学报*, 2005, 17(4):63-65. (Chong C M, Wang R Z, Ye H Z, et al. Investigation on wild soybean germplasm resources in Jiangxi province[J]. *Acta Agricultural Jiangxi*, 2005, 17(4):63-65.)
- [10] Vavilov N. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants[M]. //Trans. by Starr Chester K. *Chronica Botanica*, New York: The Ronald Press Company. 1951.
- [11] 刘德全, 徐树传. 福建野生大豆生态分布及其分类[M]//李福山. 中国野生大豆遗传资源研究进展, 北京: 农业出版业, 1995:21-26. (Liu D Q, Xu S C. The ecological distribution and classification on the wild soybean in Fujian[M]//Li F S. Research progress in Chinese wild soybean resources, Beijing: Agriculture Press, 1995:21-26.)
- [12] 李向华, 田子罡, 李福山. 新收集野生大豆与已保存野生大豆遗传多样性比较[J]. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(4):345-349. (Li X H, Tian Z G, Li F S. Genetic analysis of newly collected wild soybean materials and conserved germplasm collected from the same places[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2003, 4(4):345-349.)
- [13] 孙备, 李建东, 王国骄, 等. 一年生野生大豆(*Glycine soja*) 生理生态学和种群生态学研究进展[J]. *大豆科学*, 2008, 27(4):687-692. (Sun B, Li J D, Wang G J, et al. Research progress on physiological ecology and population ecology of annual wild soybean(*Glycine soja*) [J]. *Soybean Science*, 2008, 27(4):687-692.)
- [14] Hymowitz T. On the domestication of soybean[J]. *Economic Botany*, 1970, 24:408-421.

(上接第 142 页)

- [35] Nasir S A M. Grafting experiments on the nature of the decline in N_2 fixation during fruit development in soybean[J]. *Physiologia Plantarum*, 1983, 57:561-564.
- [36] Abd- Alla M H, Vuong T D, Harper J E. Genotypic differences in dinitrogen fixation response to NaCl stress in intact and grafted soybean[J]. *Crop Science*, 1998, 38:72-77.
- [37] Hirata Y, Yagishita N. Graft-induced changes in soybean storage proteins I. Appearance of the changes[J]. *Euphytica*, 1986, 35(2):395-401.
- [38] Carver B F, Burton J W, Wilson R F. Graft-transmissible influence on fatty acid composition of soybean seed[J]. *Crop Science*, 1987, 27:53-56.
- [39] Stegemann S, Bock R. Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts[J]. *Science*, 2009, 324:649-651.
- [40] Mower J P, Stefanovic S, Young G J, et al. Plant genetics: gene transfer from parasitic to host plants[J]. *Nature*, 2004, 432(7014):165-166.
- [41] Newell C A, Hymowitz T. Flower induction in *Glycine tomentella* Hayata following grafting onto *G. Max* (L.) Merr[J]. *Crop Science*, 1979, 19:121-123.