

大豆等位基因系的研究和利用*

常汝镇

(中国农业科学院品种资源所)

STUDIES AND UTILIZATION OF ISOLINES IN SOYBEANS

Chang Ruzhen

(*Institute of Crop Germplasm Resources, CAAS*)

等位基因系(Isoline)或称近等基因系(Near-isogenic line)是指两个或多个品系仅有一对等位基因的差异,而其它性状遗传背景完全相同(表现型和基因型)的一组材料。由于等位基因系只有一、二个性状的差异,因此可以用来进行基因作用的研究,这可为育种中对这些性状的选择提供依据。

一、大豆等位基因系的形成

等位基因系的产生主要有三种途径:一是回交,通过回交把决定某一特定性状的等位基因转移到某一品种中,形成该品种的一系列等位基因系,通常至少回交6次,即形成BC₅,这是目前产生大豆等位基因系的主要方法;其次是通过突变选择产生,主要是辐射后代的系谱选择;也可以利用杂交高世代(F₅以后)材料某个仍然处于杂合状态的质量性状的分离进行选择,形成各个性状相同而某一性状不同的等位基因系。

前美国区域大豆实验室培育了若干优良大豆品种的等位基因系,将60余个不同的核基因和细胞质因子cyt-G等导入到Clark和Harosoy两品种的遗传背景中,形成Clark和Harosoy两品种的一系列大豆等位基因系。此外还有Chippewa、Wayne和Williams做轮回亲本形成的一些等位基因系。目前这些等位基因系做为美国农业部大豆种质搜集材料保存在美国北方大豆搜集保存中心——伊利诺斯大学内。在美国南方,位于密西西比州斯通维尔的三角洲试验站,以著名品种Lee的姊妹系D49-2491(该品系与Lee相比更不易感染霜霉病)为轮回亲本,培育出若干等位基因系。

当我们整理大豆遗传资源时,往往会发现一个品种群体中植株和子粒性状完全相同,唯花色不同或脐色不同,也有种皮色不同的,这实际即为单一基因差别的等位基因系。

* 本文于1990年5月8日收到。

This paper was received on May 8, 1990.

目前主要有决定下列性状的基因所形成的等位基因系。

1. 抗病性, (不包括原品种的该项基因型): 包括有抗霜霉病(Rpm)、疫霉根腐病(Rps₁)、细菌性斑疹病(rxp)的等位基因系。

2. 营养反应: 包括吸收铁无效(fe)、耐磷(Np)、不结根瘤(rj₁)。

3. 茎的生长特点: 包括有限性(dt₁)、亚有限性(Dt₂)、扁化茎(f)、矮秆(S)、高秆(s')等。

4. 成熟期: 晚熟(E₁)、早熟(e₂)、早熟(e₃)以及晚熟灰毛连锁(E₁t)。

5. 叶的形式: 包括迟落叶(ab)、多泡叶(lb₁)、五小叶(Lf₁)、七小叶(lf₂)、卵圆叶(l₀)、窄叶(ln)、波状叶(lw₁)。

6. 茸毛类型: 包括无茸毛(p₁)、微柔毛(p₂)、非紧贴茸毛(pa₂)、紧贴茸毛(pa₁pa₂)、锐尖茸毛(Pb)、弯曲茸毛(pc)、浓密茸毛(Pd)、稀疏茸毛(Ps)、半稀疏茸毛(Ps')。

7. 叶绿素: 青豆(cyt-G)、青豆(d₁d₂)、青豆(G d₁d₂)、青豆(G d₁)、青豆(G d₂)、黄豆(d₁)、黄豆(d₂)、黄绿色植株(y₃)、黄绿色植株(y₇y₈)、黄绿色植株(y₉)、显性半致死黄化(Y₁Y₁₁)。

8. 色素: 黑粒有褐色斑点(F₁I)、灰脐(I)、自身黑种皮突变(i)、黑鞍(i¹)、无褐斑种子(Im I r)、无褐斑粒(Im r)、黑鞍(k₁)、褐鞍(k₂)、黑荚(L₁)、褐荚(l₂)、红褐粒(i o r)、褐脐(r)、黑褐色条纹(i r^m)、灰毛(t)、近于灰毛(td)、白花(w₁)、花瓣基部为紫色(purple throat flower)(W₃w₄)、近于白花(w₄)、黄脐(I r)、品红色花(wm)、灰脐(R)、淡褐脐(i¹)、不完全黑脐(i¹R)。

9. 其它: 半野生大豆细胞质(Gracilis cytoplasm)、野生大豆细胞质(Wild cytoplasm)、种子上有泥膜(B₁i)、雄性不育(Ms₁ms₁)、不正常脐(n)。

此外, 还有若干基因组合在一个品系中, 形成一系列等位基因系, 如(dt₁E₁t.e s') [有限(dt₁)、晚熟(E₁)灰毛(t)连锁、早熟(e₂)和高秆(s')]。目前有 Clark 的等位基因系 180 余份, Harosoy 的等位基因系 90 余份, Chippewa 和 Wayne 的等位基因系各 10 余份。

二、大豆等位基因系的研究

育种家往往通过改变与产量有关的形态和生理性状, 达到高产的目的, 在确定影响这些性状的基因潜在价值之前, 研究这些性状的变异以及它们与产量的关系是很必要的。利用等位基因系可以测定某个性状对构成产量的贡献, 可以确知某一性状对其它性状有何影响等。

利用等位基因系进行了许多研究, 对确定这些基因的作用, 指导大豆育种以至栽培、施肥等是很有参考价值的。对结瘤基因、控制茸毛、叶形、成熟期等基因研究较多, 本文对若干研究加以简要介绍。

我国在 70 年代引入了 Clark 和 Harosoy 的结瘤(Rj₁)和不结瘤(rj₁)以及有限、无限和亚有限等位基因系, 80 年代中期由中国农科院品种资源所引入了 Clark 和 Harosoy 的全套等位基因系。其中, 利用结瘤性等位基因系做了一些研究。

侯立白等(1985)利用 Clark 结瘤与不结瘤等位基因系研究土壤氮、肥料氮和空气氮三种氮源, 造成四种不同氮素营养条件, 研究各种氮源单独或混合供应情况下, 各种来源的氮素在大豆生长和产量形成过程中的相对重要性及其相互影响。研究表明, 大豆生育前

期主要利用土壤和肥料中的氮素,以土壤氮为主,后期主要利用共生固氮。施氮对共生固氮有明显的抑制作用,但施氮可增加大豆对土壤氮的吸收。三种氮源在大豆植株各器官中的分配结果表明,肥料氮和土壤氮较多的分配于营养器官,空气氮较多的分配于籽粒。营养器官转运到籽粒中的氮素中50%来自叶片。

该课题组(李奇真等,1989)应用结瘤与不结瘤等位基因系的研究还表明,大豆生育后期营养器官向籽粒运转的氮素转运率50%左右,磷肥转运系数比氮素高10—20%。合理施用氮肥能促进大豆植株对土壤氮的吸收,激发率达1.535—1.778。试验认为早期施用少量氮肥对大豆生育有利,氮磷比以1:2或1:3为佳。

丁安林(1989)对结瘤与不结瘤等位基因系进行了性状比较研究,两者固氮能力有显著差异,结瘤系比不结瘤系的产量高64—68%,蛋白质含量高15.4—15.9%脂肪含量则低6.5—7.2%,接种根瘤时,蛋白质含量比不接种的高,差异显著。结瘤系的株高、荚数、节数、粒数和粒重都高于不结瘤系,只有分枝数较低,百粒重和结荚高度变化不规律。

笔者曾对具有不同成熟期基因的Clark和Harosoy等位基因系、具不同细胞质等位基因系等进行比较研究,发现确定成熟期的基因的作用主要在生育前期,即出苗到开花的营养生长阶段,对生育后期,即开花到成熟没有多大作用,甚至有相反作用。栽培、野生和半野生细胞质等位基因系对产量等性状没有多大影响。

Weber(1966)对结瘤与不结瘤大豆等位基因系进行了农艺和化学特性以及对施用氮肥的反应等研究。结果指出,随着用氮量的增加,结瘤品系的产量仅有少许增加,而不结瘤品系的产量成直线性大量增长。不结瘤等位基因系不施氮肥时产量为每公顷1937kg,施用22.5kg氮肥(硝酸铵)时产量为每公顷2165kg,施45kg时产量为2387kg,施68kg时产量达到2623kg。即使如此,尚不足以补偿因无根瘤而造成的产量损失,因为施用68kg氮肥时结瘤等位基因系的产量为每公顷2818kg,差异仍然高度显著。

Liu和Hadley(1976)研究不结瘤基因 r_j 对种子蛋白质和油分含量的影响,指出不结瘤植株的种子蛋白质含量显著低于结瘤姊妹系,平均差异范围在1.3到4.5%。

Burton等(1983)研究了结瘤与不结瘤等位基因系与结瘤品种混合栽培的表现。 r_j 等位基因系油分百分率比 R_j 等位基因系或结瘤的品种要显著的高,而蛋白质百分率、种子产量、总蛋白产量、总油分产量以及粒大小都比结瘤等位基因系低。不结瘤等位基因系粒大小比结瘤系小25%,不结瘤系每粒种子蛋白质产量比结瘤系低50%。他们还指出,不结瘤等位基因系的产量与结瘤系或结瘤品种混种时,产量显著的增加。混种时的产量比清种高314kg/公顷。不结瘤系清种时蛋白质含量平均为28.4%,与结瘤品种一起种植时为32.1%,混种时总蛋白产量每公顷高出130kg,总油分多64kg/公顷。不结瘤系从与其有关的结瘤植株那儿得到的好处主要是氮的获得。

McBroom(1981)研究了若干等位基因系在清种和套种情况下的表现, ln (窄叶)和 dt_1 (有限)基因在两种栽培制度下都使产量下降。 Dt_2 (亚有限)和 e_3 (早熟)在两种栽培方式中对产量没有影响。

Mandl和Buss(1981)对窄叶和宽叶大豆等位基因系进行了比较,结果表明窄叶和宽叶对产量的影响是相似的。三年平均窄叶等位系的产量为2474kg/公顷,宽叶为2476kg/公顷。窄叶等位基因系株高比宽叶等位系显著的降低,籽粒变小,倒伏则没有差异。结果

证明窄叶特性与宽叶相比,既不提供产量优势,也不降低产量。

Cooper 等(1985)研究了 Pd(浓密茸毛)、Rps₁抗疫霉根腐病和窄叶(ln)基因的作用, Pd 基因使无限性大豆株高和倒伏显著增加,种子产量显著下降。在不倒伏情况下,有限性的株高增加,产量或增加或影响不显著。Rps₁基因加入到无限性品种使株高增加,倒伏加重,有的还使产量下降。在有限性等位系中,倒伏并不加重,3个比较中有2个株高和产量增加。上述研究证明 Rps₁和 Pd 基因加入到无限性等位系中造成的倒伏阻止了产量的增加,或在某些情况下使产量显著下降。ln 基因显著增加了无限性同位系的株高和倒伏,但产量并没有增加,其作用与 Pc 和 Rps₁基因相似。

Spetch 等(1985)对不同大豆茸毛基因等位系进行了比较分析。他们指出,pa₁和 pa₂(紧贴茸毛)使种子产量、倒伏和百粒重增加,株高降低,成熟期稍早,提高了种子的质量。pb(锐尖茸毛)可降低种子产量,pc(弯曲茸毛)造成成熟期偏晚,株高下降,百粒重降低。pd₁和 pd₂(浓密茸毛)使产量下降,成熟期延迟,株高和倒伏增加,这与 Cooper 等(1985)的结果一致。p₁基因(无茸毛)大大降低了产量、株高和百粒重,但改进了种子质量。

McBlain 等(1987)研究了不同成熟期基因对生殖物候学的遗传影响。在人工气候室条件下,E₁、E₂和 E₃基因(相对于 e₁、e₂和 e₃)分别使开花延迟 16、7 和 2 天。基因主要是累加作用。在控制光周期情况下,E₁、E₂和 E₃使开花分别延迟 14.4、5.4 和 2.7 天,三个显性等位基因比相应的隐性等位基因降低开花进度速率分别为每天 0.008、0.004 和 0.003。三个等位基因在 12、14 和 16 小时光周期处理下,对开花的作用 E₁平均延迟开花 14.4 天,E₂为 5.4 天,E₃为 2.7 天,与人工气候室估算结果相似。开花促进率相应减少分别为 0.0054、0.0025 和 0.0013,约为人工气候室恒温条件下估算值的 60%。播期试验结果,虽然包含有相同的基因,但不变的光周期对开花后生殖发育的影响和自然光周期对开花反应的影响是很不同的,E₁、E₂和 E₃的平均效应分别延迟开花 15.0、6.6 和 5.5 天,延迟成熟分别为 10.8、10.6 和 5.8 天。E₁和 E₂的成熟期效应是相似的,但它们对开花的影响是不同的,E₁和 E₂等位基因在相反方向上改变了开花到成熟这一阶段,这一改变似乎多出现在开花到荚的早期发育阶段。这些结果表明,虽然大豆的开花期和成熟期是相关的,但两者能被这些基因独立地稍微加以改变。

三、大豆等位基因系的利用

等位基因系用于研究控制各性状等位基因的遗传反应及其多效性,为育种提供选择的依据。70 年代前后,我国东北大豆产区利用“荆山扑”等披针叶品种为亲本,育成了一些长叶形品种,这些品种每荚粒数较多,引入美国后引起大豆育种家的注意。美国大豆品种基本上为圆叶,那么长叶品种是否高产呢?为此进行了长叶和圆叶等位基因系的比较研究。如前所述,长叶即不增加产量,也不降低产量。因此大豆育种家一如既往,选育的品种仍以小圆叶为主体。

大豆等位基因系在育种实践中也得到广泛利用,60 年代以来,通过回交已把若干抗病基因导入推广品种之中,形成与原品种性状相同,唯抗某种病害的新品种。

疫霉根腐病是一种毁灭性病害,1948 年在美国印第安纳州东北部首次发现,其后在美国和加拿大多数大豆产区都有发生,著名品种如 Clark、Harosay、Hawkeye、Lindarin、Chippewa、Lee、Amsoy 等均感此病,通过回交育种,把抗疫霉根腐病的基因 Rps₁导入这些

推广品种,形成原品种抗病等位基因系,也成为新的推广品种,先后推出 Clark63、Harosoy63、Hawkeye63、Lindgarin63、Chippewa64、Lee68、Amsoy71等。Clark 还通过 S54-1714 把 CNS 所携带的抗细菌性斑疹病的隐性基因 *rxp* 转移过来,成为抗二种病害的品种。

Lee 是美国南方的著名品种,通过回交把品种 Arksoy 所携带的抗疫霉根腐病基因转移到 Lee 品种中,成为抗疫霉根腐病的 Lee68,又通过 R66-1517 把 FC33243 对根结线虫的抗性转移到 Lee68 之中,形成抗两种病害的 Lee74。Lee、Lee68 和 Lee74 即为一组大豆等位基因系,也是生产上不同阶段育成的推广品种。

美国大豆品种多黑脐、棕毛、紫花,如生产上曾大面积种植的 Clark,我国也早已引进,用它做杂交亲本,后代棕毛、黑脐频率也高,影响品种的外观品质。由于选育出黄脐和褐脐的 Clark 等位基因系,用其为亲本,杂种后代的脐色就会浅淡的多。同样,Clark 为一成熟期 IV 组的晚熟品种,熟期基因型为 $e_1E_2E_3$,由于选育了 $e_1e_2e_3$ 基因型的早熟 Clark 等位基因系,因此北方早熟地区即可用此等材料为育种亲本,并且具有 Clark 血缘。

参 考 文 献

- [1] 侯立白等,1985,应用¹⁵N示踪法对大豆不同来源氮素吸收与利用的研究,《作物学报》11(3):181-189
- [2] 李奇真等,1989,夏大豆施肥生理基础及高产栽培技术研究,《中国农业科学》22(4):41-48
- [3] 丁安林,1989,大豆结瘤性等位基因系的性状比较研究,《作物学报》15(2):189-192
- [4] Berard, R. L. 1975, Notice of release of soybean isolines to geneticists and breeders U. S. Regional Soybean Laboratory
- [5] Burton, J. W. et al., 1983, Performance of Non-nodulating and nodulating soybean isolines in mixed culture with nodulating cultivars Crop Sci. 23:469-473
- [6] Cooper, R. L., et al., 1985, Effect of three genes (Pd, Rps1 and ln) on plant height, lodging and seed yield in indeterminate and determinate near-isogenic lines of soybeans. Crop Sci. 25: 90-92
- [7] McBlain, B. A., et al., 1987, Genefic effects on reproductive phenology in soybean isolines differing in maturity genes. Can. J. Plant Sci. 67:105-116
- [8] Ming-Chin Liu, et al., 1976, Effects of a nonnodulating gene (*rjl*) on seed protein and oil percentages in soybeans with different genetic backgrounds. Crop Sci. 16:321-325
- [9] Specht, J. E., et al., 1985, Near-isogenic analyses of soybean pubescence genes. Crop Sci, 25:92-96
- [10] Weber, C. R., 1966, Nodulating and nonnodulating soybean isolines, I Agronomic and chemical attributes. Agro. J. 58: 43-46
- [11] Weber, C. R. 1966, Nodulating and nonnodulating soybean isolines, II Response to applied nitrogen and modified conditions. Agro. J. 58: 46-49