

大豆属多年生野生种收集、 评价及利用研究进展*

韩 锋 凌以禄

(江苏省农科院经济作物研究所)

STUDY DEVELOPMENT OF PERENNIAL
Glycine ON COLLECTING, APPRAISING AND USING

Han Feng Ling Yilu

(Jiangsu Academy of Agricultural Sciences)

大豆属 *Glycine* 分为 *Soja* 和 *Glycine* 两个亚属, *Soja* 亚属包括栽培种 *G. max* 及其最近缘的一年生野生种 *G. soja*; *Glycine* 亚属由多年生野生种组成。随着大豆育种工作的不断发展, 人们越来越认识到栽培大豆的近缘野生种在育种中的应用价值。过去种质利用仅限于栽培大豆和它的一年生野生祖先 *G. soja*。从分类学观点来看, *Glycine* 亚属的多年生野生种也能和栽培大豆进行基因交换, 因而在扩大栽培大豆种质资源方面具有潜在的应用价值。为此近年来对多年生野生种资源的研究工作迅速展开, 并取得较大进展。本文将就这一资源的收集, 评价及利用研究概况作一简要综述。

一、多年生野生种的收集和评价研究

(一) 收集概况

目前已收集并报导的多年生野生种有 15 个^[1,2,3,4]。表 1 列出了这 15 个种的名称, 体细胞染色体数, 染色体组符号^[5]及分布。15 个多年生野生种中除 *G. tabacina* 和 *G. tomentella* 外, 其余 13 个种均只分布于澳大利亚。而 *G. tabacina* 在澳大利亚, 中国南部、南太平洋群岛、台湾、琉球群岛、马里阿纳群岛等均有分布, 种内有二倍体 ($2n=40$) 和四倍体 ($2n=80$)。 *G. tomentella* 主要分布在澳大利亚, 中国南部, 台湾、菲律宾、新几内亚等, 种内有二倍体 ($2n=40$), 四倍体 ($2n=80$) 和非整倍体 ($2n=38, 78$)。目前澳大利亚、美国、中国、英国、

* 吉林省农业科学院大豆所徐豹研究员提供部分资料, 特此致谢。

本文于 1991 年 6 月 10 日收到。

This paper was received on June 10, 1991.

日本等均保存有该种质。

表 1 15 个多年生野生种名称、体细胞染色体数、染色体组符号及分布

Table 1 15 species in the subgenus *Glycine*, somatic chromosome number, genome symbols and distribution

种 Species	2n	染色体组符号 Genome symbols	分 布 Distribution
<i>G. albicans</i>	40	— —	澳大利亚 Australia
<i>G. arenaria</i>	40	— —	澳大利亚 Australia
<i>G. argyrea</i>	40	A ₂ A ₂	澳大利亚 Australia
<i>G. canescens</i>	40	AA	澳大利亚 Australia
<i>G. clandestina</i>	40	A ₁ A ₁	澳大利亚 Australia
<i>G. curvata</i>	40	— —	澳大利亚 Australia
<i>G. cyrtoloba</i>	40	(X)	澳大利亚 Australia
<i>G. falcata</i>	40	FF	澳大利亚 Australia
<i>G. hirticaulis</i>	40	— —	澳大利亚 Australia
<i>G. lactovirens</i>	40	— —	澳大利亚 Australia
<i>G. latifolia</i>	40	B ₁ B ₁	澳大利亚 Australia
<i>G. latrobeana</i>	40	— —	澳大利亚 Australia
<i>G. microphylla</i>	40	BB	澳大利亚 Australia
<i>G. talacana</i>	40	B ₁ B ₂	澳大利亚、中国南部、台湾、琉球群岛、
无不定根类型 No adventitious roots	80	AA B ₂ B ₂	南太平洋群岛 Australia; South China;
有不定根类型 Adventitious roots	80	BB B ₂ B ₂	Taiwan; Ryukyu Is., South Pacific Island
<i>G. tomentella</i>	36	EE	澳大利亚、中国南部、台湾、
	40	DD	菲律宾、新几内亚
	78	DDEE	Australia; South China; Taiwan;
	80	AADD	Philippines; Papua New Guinea
	80	AA??	

(二)基本评价

1. 农艺性状的鉴定

多年生野生种收集后,各保存单位对其农艺性状进行了系统的观察、记载和研究,鉴定出一些对育种有价值的优良农艺性状:

(1)长花序:多年生野生种大多具有长花序特性,据我们测量, *G. falcata* 的花序最长,平均长 22.2cm,最长花序达 43.0cm,平均每花序结荚 14.7 个,最多结荚 24.0 个。其余种的平均花序长度在 2.0~12.8cm 之间,平均每花序结荚 4.0~17.7 个。(2)多荚多粒:多年生野生种与一年生野生种一样,由于其无限生长习性,单株荚数较多。一般可达 500~800 个,最多的有 1000 个以上。此外其每荚粒数也较多,如 *G. tomentella* (2n=80)中的一些材料每荚达 6.9 粒,其余种平均为每荚 4~5 粒。(3)光照反应钝感:Marshall 和 Broue^[6]首

先报道了多年生野生种具有中日性,即对光照反应钝感。我们通过几年的观察也发现:只要温度适宜。一些种能在一年中较长期间内开花结实,如 *G. microphylla*, *G. tabacina*, *G. tomentella* 中的一些材料。

2. 抗逆性鉴定

通过抗逆性鉴定发现多年生野生种是具有潜在应用价值的理想的抗(耐)性资源:

(1)抗花叶病毒病及锈病性:Singh 等^[7]的鉴定表明: *G. tabacina*, *G. tomentella* 对花叶病和锈病均抗。Burdon 和 Marshall^[8,9]研究表明: *G. canescens*, *G. clandestina*, *G. tabacina*, *G. tomentella* 对锈病的抗性反应在材料间变异很大,有高抗类型出现,而 *G. falcata*, *G. latrobeana* 对锈病表现为中抗。(2)耐盐性:Pantalone III 和 Kenworthy^[10]以及 Hymowitz 等^[11]研究表明,多年生野生种 *G. tomentella*, *G. microphylla*, *G. argyrea*, *G. canescens*, *G. latifolia* 的耐盐性较强,而 *G. clandestina*, *G. tabacina*, *G. cyrtoloba* 对盐分较为敏感。(3)其他抗(耐)性:Mignucci 和 Chamberlain^[12]报道了 *G. canescens* 对白粉病表现出免疫。Loux 等^[13]评价了 7 个多年生种对除草剂草甘磷的耐性,结果发现: *G. tabacina*, *G. clandestina*, *G. tomentella*, *G. cyrtoloba*, *G. falcata* 耐性较好, *G. canescens*, *G. latifolia* 耐性较差,但都强于栽培种 *G. max*。Marshall 和 Broue^[6]还报道了多年生种具有较强的耐热、耐旱,耐冷特性。

二、多年生野生种的利用研究

(一)体细胞培养技术的应用进展

体细胞培养技术是保存种质,扩大育种材料变异类型的重要手段。多年生野生种中应用体细胞培养技术已取得显著进展。在由外植体及愈伤组织形成再生植株方面:已能从 *G. tabacina* 的细胞悬浮培养中观察到胚状体^[14]。在 *G. canescens*, *G. tomentella*, *G. clandestina* 中已能从下胚轴或子叶外植体再生出植株^[15,16,17,18,19]。最近 Davey 等^[20]利用含有 4.4μM BAP 和 0.025μM IBA 的 B₅ 基本培养基,从实生苗的子叶,叶片及叶柄诱导出愈伤组织,但只有硬性的,绿色的和结核状的愈伤组织产生幼芽。当将愈伤组织转移到 BAP 含量减少的相近培养基上后,幼芽发育形成幼苗。这些幼苗在加有 0.2% 活性炭的无激素培养基上开始生根。利用 *G. canescens*, *G. falcata*, *G. latrobeana* 和 *G. tomentella* 的 30 份材料的进一步研究表明,有 12 份材料具有器官再生能力,并且 *G. canescens* G. 1171 优于其它材料,70% 以上的培养体可以形成小植株。当用 1.0mg l⁻¹ 的激动素和 2·4-D 或玉米素代替 BAP 时,再生过程仍然发生,但频率较低。最新研究表明,这一再生程序经修正后也能应用于 *G. argyrea*^[21], *G. cyrtoloba* 和 *G. latrobeana*^[22] 的植株再生。在通过原生质体形成再生植株方面:已能从 *G. tabacina* 的原生质体愈伤组织中诱导出胚状体^[23],在 *G. canescens*, *G. clandestina*, *G. argyrea* 中已能从下胚轴或子叶原生质体中再生出植株^[21,24,25,26]。

(二)多年生野生种与栽培种的种间杂交

由于多年生野生种具有许多有潜在应用价值的农艺性状,因此实现多年生野生大豆与栽培大豆的种间杂交能够有效地拓宽栽培大豆的种质基因库。但是多年生野生种与栽培大豆的可交配性很差,杂交荚早期败育,迄今将多年生野生大豆的外源性状引入栽培大豆尚未成功,用荧光显微镜观察表明,野生大豆的花粉能够萌发、生长,并到达胚囊,败育的主要原因是受精后的障碍,把生长激素施于受精后的雌蕊上,可以改善这种状

况^[27,28,29,30,31,32,33]。Newell 和 Hymowitz^[34]1982 年首次报道利用胚珠培养技术获得了栽培大豆与多年生野生种 *G. tomentella* ($2n=78$) 间的杂种,并得到细胞遗传学和形态学方面的证实,减数分裂时染色体行为检查表明,染色体配对频率比预期的要高,平均染色体构型是 $43.28 \text{ I} + 7.31 \text{ II} + 0.28 \text{ III} + 0.06 \text{ IV}$,杂种是不育的 ($2n=3X=59$)。Hymowitz 和 Singh^[35]进一步将 *G. max* \times *G. tomentella* 的 F_1 植株嫁接到栽培大豆上,并用 0.1% 的秋水仙碱使嫁接植株染色体加倍 ($2n=6X=118$),染色体加倍的 F_1 植株结了 2 个荚 3 粒种子,他们试图将 F_1 植株与栽培种回交但未成功。然而 F_2 植株结了 2 个荚,每荚含 2 粒种子。Singh 等^[36]报道了 *G. max* \times *G. clandestina* 等杂种之一的产生,形态学和细胞学表现及育性行为。试验得到的 15 个败育荚,形成了 31 粒种子,通过组织培养和器官再生,有一粒种子形成了 21 个杂种植株,其在形态上表现出对父本 *G. clandestina* 的孪生特性,再生植株都具有预期的 $2n=40$ 条染色体,在中期 I,有 40.9% 的孢母细胞不存在染色体联会,但也观察到不同数量的 1~6 个松弛配对的杆状二价体,说明存在异源联会的可能性。*G. max* ($2n=40$) \times *G. clandestina* ($2n=40$) 的杂种双倍体 ($2n=80$) 虽然在减数分裂过程中染色体配对几乎是正常的,但却不结实。最近, Singh 等^[37]报道了 *G. max* \times *G. tomentella* ($2n=78$) 杂种双倍体与栽培大豆回交的一些 BC_1 植株的来源,鉴定其染色体行为。经秋水仙碱加倍的双倍体植株 ($2n=118$) 表现出几乎正常的减数分裂的染色体配对,终变期平均染色体构型为 $0.71 \text{ I} + 57.98 \text{ II} + 0.33 \text{ IV}$ 。但减数分裂后期不正常,有落后染色体与染色体桥出现。植株仅结了几个荚, F_2 、 F_3 、 F_4 植株携带有预期的 $2n=118$ 条染色体,因而在细胞学上是稳定的。在栽培大豆与双倍体植株的回交中,将浓度为 $100 \text{ mg GA}_3 + 25 \text{ mg NAA} + 5 \text{ mg}$ 激动素/1 升蒸馏水的激素溶液喷施在授粉的雌蕊上,可显著提高着荚率,施用生长激素的着荚率为 14.19%,而未施用激素的着荚率为 0.09%。通过胚珠的离体培养和组织再生,获得了两个组合的回交杂种 BC_1 ,其中一个组合的杂种 $2n=76$,与预期的 $2n=79$ 相比丢失了 3 条染色体。所有 BC_1 植株都是不育的。他们正在试图获得 BC_2 植株,以期得到具有外来染色体的可育的附加系和代换系。

为了克服有性杂交的不亲和性,许多学者进行了体细胞融合的研究, Hammatt 和 Davey^[38]以及 Hammatt 等^[39]将栽培大豆幼苗下胚轴原生质体与 *G. canescens* 幼苗子叶原生质体进行电激融合,产生了异核体,并培养形成愈伤组织,诱导出幼苗。通过愈伤组织的天门冬氨酸转移酶带谱分析证实为体细胞杂种。这一研究的重要特点在于应用了高水平的流动的细胞质测定技术,其主要依据亲本原生质体的荧光反应差异来实现。这样能将富含异核体的细胞群落筛选出来进行培养。Hammatt 等^[21]通过在培养基中增加 $10.0 \text{ mg l}^{-1} \text{ GA}$ 延长了幼苗的发育时间,并促进了芽和叶片的生长。但培养时间延长,双亲的 DNA 含量有所减少^[38]。最新研究表明:发根农杆菌 (*A. rhizogenes*) 的菌株 LBA 9402 能够对 *G. canescens* 和 *G. clandestina* 幼苗诱导出转化根系,将发生基因转入的 *G. canescens* 的根进行培养产生了含有 Ri 质粒的 T-DNA 转基因植株,并表达出 T-DNA 标记物 Opines 的特性^[40]。

另外,在种间杂种的染色体加倍方面, Kollipara 等^[41]成功地利用了含有秋水仙碱溶液的培养基对杂种芽尖进行培养,诱导了杂种染色体加倍。在种间杂种离体培养的培养基改良方面, Hogan 和 Hymowitz^[42]首先评价了三种培养基: (1) Newell 和 Hymowitz (1982) 修正的

用于拯救 *G. max* × *G. tomentella* 杂种胚的 B₅ 培养基; (2) Silvoy (1984) 用于促进多年生野生种自花授粉子房生长的培养基; (3) Tilton (1983) 的用于 *G. max* × *G. max* 受精的离体授粉培养基, 结果表明: Silvoy 培养基的效果最好。进一步他们改变了 Silvoy 培养基的 C/N 来源和数量, 随着 1g/1L 苹果酸, 20mg/1L 抗坏血酸和改进的 KT 族维生素混合物的增加, 种间杂交荚的生长得到显著改进。然后他们又改变了激素的类型, 水平和比例, 在含有 0.05mg/1L BAP 和 2.5mg/1L 赤霉素加 5g/1L 活性炭的修正培养基上, 能够使初心期的杂种胚存活。

随着有性杂交和体细胞杂交研究的不断深入, 可以期望应用现代遗传学和细胞遗传学的方法克服种间杂交的不亲和性, 获得可育的 F₁ 杂种, 使以前大豆改良中难以利用的完全不同类型的种质资源能加入到大豆的育种计划中。

参 考 文 献

- [1] Singh, R. J. and T. Hymowitz. 1985. Theor. Appl. Genet. 71: 221~230
- [2] Singh, R. J. et. al. 1988. Genome 30: 166~176
- [3] Singh, R. J. et. al. 1989. Genome 32: 796~801
- [4] Tindale, M. D. and L. A. Craven. 1988. Aust. Syst. Bot. 1: 399~410
- [5] Hymowitz, T. and R. J. Singh. 1989. Soybean Genet. Newsl. 16: 97~98
- [6] Marshall, D. R. and P. Broeue. 1981. J. Aust. Inst. Agric. Sci. 47: 149~154
- [7] Singh, B. B. et. al. 1974. Indian J. Genet. Plant Breed. 34: 400~404
- [8] Burdon, J. J. and D. R. Marshall. 1981a, Plant Dis. 65: 44~45
- [9] Burdon, J. J. and D. R. Marshall. 1981b. J. Ecol. 69: 381~390
- [10] Pantalone III, V. R. and W. J. Kenworthy. 1989. Soybean Genet. Newsl. 16: 145~146
- [11] Hymowitz, T. et. al. 1987. Soybean Genet. Newsl. 14: 271~272
- [12] Mignucci, J. S. and D. W. Chamberlain. 1978. Phytopathology 68: 169~173
- [13] Loux, M. M. et. al. 1987. Soybean Genet. Newsl. 14: 268~217
- [14] Gamborg, O. L. et. al. 1983a. Plant Cell Rep. 2: 209~212
- [15] Kameya, T. and J. M. Widholm. 1987. Plant Sci. Lett. 21: 289~294
- [16] Widholm, J. M. and S. Rick. 1983. Plant Cell Rep. 2: 169~173
- [17] Grant, J. E. 1984. Plant Cell. Tissue Organ Cult. 3: 169~173
- [18] Hymowitz, T. et. al. 1986. Plant Cell Rep. 3: 192~194
- [19] Hammatt, N. et. al. 1986. Physiol. Plant 68: 125~128
- [20] Davey, M. R. et. al. 1988. Soybean Genet. Newsl. 15: 41~48
- [21] Hammatt, N. et. al. 1989. Soybean Genet. Newsl. 16: 65~67
- [22] Jones, B. et. al. 1988. Soybean Genet. Newsl. 15: 51~53
- [23] Gamborg, O. L. et. al. 1983b. Plant Cell Rep. 2: 213~215
- [24] Newell, C. A. and H. T. Luu. 1985. Plant Cell, Tissue Organ Cult. 4: 145~149
- [25] Davey, M. R. and N. Hammatt. 1987. Soybean Genet. Newsl. 14: 144~147
- [26] Hammatt, N. 1987. Plant Sci. 48: 129~135
- [27] Palmer, R. G. and H. H. Hadley. 1968. Crop Sci. 6: 557~563
- [28] Ladizinsky, G. et. al. 1979. Euphytica 28: 421~423
- [29] ConoBa, T. C. 1984. 国外农学—大豆 1: 5~8

- [30] 酒井隆子等, 1986. 国外农学—大豆 1: 56~57
- [31] Harlan, J. R. 1976. *Crop Sci.* 16: 329~333
- [32] Hadley, H. H. and S. J. Openshaw. 1980. *Agron. Inc. Wisconsin* 133~159
- [33] Stalker, H. T. 1980. *Adv. Agron.* 33: 111~147
- [34] Newell, C. A. and T. Hymowitz. 1982. *Crop Sci.* 22: 1062~1065
- [35] Hymowitz, T. and R. J. Singh. 1984. *Soybean Genet. Newsl.* 11: 90
- [36] Singh, R. J. et. al. 1987. *Theor. Appl. Genet.* 74: 391~396
- [37] Singh, R. J. et. al. 1990. *Crop. Sci.* 30: 871~874
- [38] Hammatt, N. and M. R. Davey. 1988. *Soybean Genet. Newsl.* 15: 48~51
- [39] Hammatt, N. et. al. 1988. *Proc. The Internatl. Protoplast Sympos.*, Wageningen
- [40] Rech, E. L. et. al. 1988. *Soybean Genet. Newsl.* 15: 53~55
- [41] Kollipara, K. P. et. al. 1989. *Soybean Genet. Nowsl.* 16: 94~96
- [42] Hogan, R. M. and T. Hymowitz. 1989. *Soybean Genet. Newsl.* 16: 87~89