

大豆寄主固氮遗传育种研究进展^{*}

李新民 窦新田 王玉峰

(黑龙江省农科院土肥所 哈尔滨 150086)

豆科作物的生物固氮作用为农业生产提供了一条重要氮素资源。依据粮农组织 1992 年度的统计报告估算,全球每年粮食、油料和纤维作物生长所需的氮肥价值高达 330 亿美元,而其中豆科作物的生物固氮作用提供了约 50 亿美元的氮源。倘若生物固氮效率提高 15%,将相当于多提供 10 亿美元的氮肥。固氮效率的提高一方面可通过合理的栽培管理措施,减少不利生长因素来促进豆科作物的生长发育,另一方面通过选育高固氮能力的豆科作物品种来实现。提高豆科寄主作物的固氮潜力是在 70 年代初首次提出^[20],并建立起的一个涉及土壤微生物、植物生理和遗传育种等学科的研究领域。近 20 年来,世界许多国家和国际研究组织相继开展了通过育种手段提高豆科作物的固氮能力研究课题^[7]。本文主要对大豆寄主固氮遗传育种研究作一概述。

1 大豆结瘤调控等位基因

目前已鉴定出 5 个大豆基因,调控着与之共生的根瘤菌不结瘤或结无效瘤的等位基因(表 1)。

表 1 大豆结瘤调控的寄主基因

Table 1 Soybean host genes controlling nodulation

等位基因	Allele	寄主	Host	表现型	Phenotype
r ₁		Lee		几乎与所有根瘤菌不结瘤	
r ₂		Harlee		与 6(d)和 122血清组菌株无效结瘤	
r ₃		Harlee		与 U SDA33根瘤菌菌株无效结瘤	
r ₄		Hll, Dunfield		与 U SDA61根瘤菌菌株无效结瘤	
r ₅		Kent		与 U SDA205根瘤菌菌株无效结瘤	

r₁ 基因调控着寄主与几乎所有的大豆根瘤菌的不结瘤反应。美国农业部贝茨维尔研究中心的 Devine 研究小组^[10]研究发现与 r₁ 基因共生结瘤的根瘤菌,在土壤自然群体中存在的数量极少,在 10– 20 万植株上仅分离到 300 株这样的菌株,该研究组通过传统的育种手段将 r₁ 基因转移到商业品种上,并试图利用特定的根瘤菌接种剂克服 r₁ 基因的限制结瘤作用。而同一中心的 Cregan 和 Keyser^[8, 9]研究组则试图筛选出能限制美国中西

^{*} 本文承蒙大豆所杜维广研究员审阅指导,谨此致谢。

收稿日期 1998- 01- 19

Received on Jan. 19, 1998

部地区土壤中普遍存在的竞争结瘤强,有效性差的 USDA123血清簇 (serocluster)土著根瘤菌的结瘤的大豆基因型,而与目的高效接种菌结瘤固氮。目前,这两研究组的工作仍在继续之中,并取得了一些进展

2 大豆基因型与根瘤菌的相互作用

大豆基因型与根瘤菌的相互作用,表现在两者共生结瘤的亲力和专一性上。在提高大豆固氮能力研究中,一是筛选高效的寄主基因型与根瘤菌菌株的优良组合^[5],二是不考虑专一性,在田间土壤存在有大量有效根瘤菌群体条件或人为的条件下,用已知的高效菌株广泛筛选结瘤固氮能力强的寄主基因型^[5]。已有大量研究表明,同一个或多个高效根瘤菌共生固氮表现优良的寄主基因型,同其它菌株也同样表现出优良的共生固氮特性^[6 22 23 29]。

3 大豆的耐氮特征与固氮

研究表明,大豆的氮素固定存在着广泛的差异(表 2) 固氮量为 0- 450kg/hm²,固氮比率为 0- 83%。土壤氮水平直接影响着根瘤的形成和氮素固定,已有在高氮土壤条件下,固氮比率为零的研究报导^[17 19]。已有证据表明,大豆固氮能力的提高同品种的耐氮性状有关。Betts等(1987)^[15]对 489份大豆材料的耐氮性状评价研究表明,品种的耐氮特性存在广泛差异,并筛选出 4个具有耐氮特性的高固氮材料,做为高固氮育种的亲本。研究进一步表明,这 4份材料,在高氮条件下结瘤作用的提高,可能是通过氮同化和代谢能力的改变,或根瘤菌更有效侵染得到加强,而并非如同 nts突变体限制结瘤自动调节作用的丧失^[12],而得到改善。Serraj等^[26](1992)对 158份大豆基因型在含有 3m⁴ NO⁻₃ 盐的盆栽土壤结瘤固氮能力评价研究表明,铁岭白眉大豆种质具有较高的结瘤固氮能力,其根瘤中的硝酸还原酶 (NR)活性最低,因此认为,该种质维持较高的固氮能力,是由于结瘤作用的提高和对 NO⁻₃ 盐吸收能力的降低结果所致。

表 2 已发表的大豆固氮量及因氮比率部分材料

Table 2 The partial reports on estimates of N₂ fixation of soybean

国家	固氮量	固氮比率	评价方法	文献
Country	N ₂ fixed	Pfix(%)	Method of assessment	Reference
澳大利亚	0- 233	0- 83	酰胺分析	17
Australia	139- 204	34- 67	¹⁵ N同位素	9
美国	14- 75	13- 40	N差异法	28
U. S. A	116- 192	42- 78	¹⁵ N同位素	27
泰国 Thailand	17- 450	14- 70	¹⁵ N同位素	23
	0- 113	0- 45	¹⁵ N同位素	19
加拿大 Canada	33- 151	14- 16	¹⁵ N同位素	31
法国 France	38- 70	26- 38	¹⁵ N同位素	3
中国 China	67- 140	35- 70	¹⁵ N同位素	2

耐硝酸盐超级结瘤大豆突变体 (nts),在高氮土壤条件下具有强优势的结瘤作用。但多数研究者认为,在营养生长初期所具有的高固氮能力不能维持到大豆生殖生长后期,且突变体的籽粒产量常常低于正常大豆品种产量的 20% - 30%^[11 16 32]

4 大豆固氮遗传力

大豆的固氮性状属于数量遗传性状 Ronis 等^[25](1985)利用¹⁵N同位素示踪法,对三个大豆杂交组合的 F₂代群体籽粒中固定氮含量和固氮比率的广义遗传力分析表明,他们分别在 0.53–0.60和 0.12–0.43变化范围内,低的固氮比率遗传力(0.12)是其中一杂交组合亲本均具相似的结荚习性和固氮能力所致 其它两组合亲本有着较大差异固氮能力,因而产生出很大变异的杂交后代,固氮比率广义遗传力分别为 0.43和 0.37 Herridge 和 Rose^[18](1994)对以四个耐氮的高固氮朝鲜大豆材料和当地品种为亲本的 11个杂交组合 F₆代植株酰脲分析表明,其固氮广义遗传力为 0.32–0.52 因此选用适宜大豆亲本材料,是有可能选育出高固氮的大豆品种(系)。

5 大豆固氮育种

Bliss^[33](1993)指出,提高豆科作物固氮能力的育种研究应遵循下列几点: 1)作为筛选标准的性状应能被简单准确的测定,能有效区别优劣; 2)大豆种质的固氮性状(固氮比率或其它相关性状)变异性是可遗传的; 3)对农艺性状和固氮性状遗传有差异亲本选配; 4)筛选单元(如单株家系)利于相关性状精确量化且保证后代的延续; 5)利用育种程序(混合选择系谱选择)确保固氮和其它农艺性状重组,从而有最大遗传获得

5.1 固氮测定和性状筛选单元

豆科作物的固氮测定,当今所使用的方法有氮差异、植株氮量、¹⁵N同位素、乙炔还原和韧皮部渗出液(如酰脲)分析等法,但没有一个能完全准确地定量,这些方法受环境、参比作物的选择等因素的影响,各有利弊。70年代以来,广泛使用的乙炔还原法,有被精确可行的方法所取代的趋势。考虑到固氮育种须是非破坏性的测定,以确保杂交后代种子的产生,¹⁵N同位素虽费时和昂贵,对于亲本和高世代家系的测定和筛选行之有效,特别是高氮土壤条件下,能有效地区别植株中氮素的来源。Herridge 等^[14, 16](1984, 1987)发展起来的大豆韧皮部渗出液酰脲分析技术,对于杂交后代的固氮测定简便快捷,且有效地保证了杂交后代生命的延续。随着分子生物学技术的应用和利用报导基因(report gene)作为生物指示系统^[30]的完善和发展,酰脲分析技术,将为高固氮大豆育种提供行之有效的固氮性状测定和评价方法。

固氮性状的为数量性状,氮的固定随土壤中氮含量水平的不同而发生变化^[13]。固氮性状测定筛选单元是评价杂交后代固氮遗传变异的关键。Bliss^[13](1993)的 Herridge 等^[18](1994)认为,应以株系的平均值取代个体值作为筛选单元,尽可能减少非遗传因素的影响。对于 F₂分离世代,应在人为控制的环境中(如沙培和水培并提供定量的营养)对植株固氮测定取舍是有效的^[18]。

5.2 大豆固氮育种的亲本选配和杂交方式

亲本的选配应以固氮能力高的大豆种质和材料为骨干亲本,与农艺性状好适宜的丰产型材料杂交。由于土壤氮水平影响大豆结瘤和固氮,应注重亲本的耐氮特征,并创造条件使其充分表达。杂交方式包括回亲,轮回选择和种间杂交。

非常规育种采用辐射诱变和生物工程技术^[24]等进行。

6 结束语

随着国际社会对农业环境状况和农业持续发展的关注,生物固氮这个可更新的氮素

资源的潜在作用,愈来愈受到各国学者的重视。我国是大豆共生固氮的基因中心,充分利用资源优势,深入地开展相关研究,无疑对农业发展具有重大作用。

参 考 文 献

- [1] 冀新田等, 1992, 中国油料, 1: 27- 29
- [2] 李新民等, 1997, 中国油料, 1: 16- 18
- [3] Armage N, et al., 1974, Plant and Soil 52 269- 280
- [4] Bergersen F. J. et al., 1985, Aust. J. Agri. Res. 36 411- 423
- [5] Betts J H and Herridge D. F., 1987, Crop Sci. 27 1156- 1161
- [6] Buttery B. R. and Drisk V. A., 1987, Plant and Soil 98 285- 293
- [7] Buttery B. R. et al., 1992, Can. J. Plant Sci. 72 323- 349
- [8] Cregan P. B. and Keyser H. H., 1996, Crop Sci. 26 911- 916
- [9] Cregan P. B. et al., 1989, Crop Sci. 29 307- 312
- [10] Devine T. E., 1984, In "Biological Nitrogen Fixation" Ed. M. Alexander 127- 154. Plenum Publishing, New York.
- [11] Hansen A. P. et al., 1989, J. Exp. Bot. 43 1- 7
- [12] Delves A. et al., 1987, Aust. J. Plant Physiol. 14 473- 478
- [13] Harper J. E., 1987, In "Soybean Improvement, Production and Use", Ed. J. P. Wilcox 495- 531. ASA, CSSA and SSA, Madison, WI
- [14] Herridge D. F., 1984, Crop Sci. 24 173- 179
- [15] Herridge D. F. and Betts J H., 1988, Plant and Soil 110 129- 135
- [16] Herridge D. F. and Peoples M. B., 1990, Aust. J. Plant Physiol. 93 360- 367
- [17] Herridge D. F. and Holland J. F., 1992, Aust. J. Agri. Res. 43 105- 122
- [18] Herridge D. F. and Rose I. A., 1994, Crop Sci. 34 360- 367
- [19] Kucey R. M. N. et al., 1988, Plant and Soil 108 87- 92
- [20] Lie T. A. and Mulder E. G., 1971, Plant and Soil, Special Volume, Martinus Nijhoff, The Hague 590p
- [21] Mick A., 1993, Plant and Soil 152 81- 86
- [22] Phillips D. A. and Teuber L. R., 1985, In "Nitrogen Fixation Research Progress", Eds Evans H. J. et al., 11- 17, Martinus Nijhoff Publ. Dordrecht
- [23] Rennie R. J. et al., 1988, Plant and Soil 112 183- 193
- [24] Rolf B. G. and Gresshoff P. M., 1988, Ann. Rev. Plant Physiol. 39 297- 319
- [25] Ronis D. H. et al., 1985, Crop Sci. 25 1- 4
- [26] Serraj B. L. et al., 1992, J. Plant Physiol. 140 366- 371
- [27] Vasilas B. L. and Han G. E., 1984, Agron. J. 76 759- 764
- [28] Weber C. R., 1966, Agron. J. 58 46- 49
- [29] Wisersma J. V. and Drf J. H., 1992, Agron. J. 46 28- 29
- [30] Wilson K. J. et al., 1995, Plant and Soil 174: 241- 253
- [31] Rennie R. J. 1984, Agron. J. 76 785- 790
- [32] Wu S. and Harper J., 1991, Crop Sci. 31 1233- 1240
- [33] Bliss F. A., 1993, Plant and Soil 152 71- 79