

## 大豆远缘嫁接诱变技术的优化

潘相文<sup>1</sup>, 孙晓环<sup>2</sup>, 张凤芸<sup>3</sup>, 赵超<sup>3</sup>, 张雪松<sup>3</sup>, 杜维广<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所 黑土生态重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 黑龙江省农业科学院 牡丹江分院, 黑龙江 牡丹江 157041; 3. 黑龙江生物科技职业技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150025)

**摘要:** 为完善和优化大豆远缘嫁接诱变技术体系, 以与大豆远缘的 8 种植物为砧木, 以 4 个大豆品种(系)为接穗进行嫁接试验。结果表明: 以 6~8 日龄的大豆幼苗作为接穗可提高远缘嫁接成活率, 其中 7 日龄大豆幼苗的嫁接成活率最高。砧木类型对远缘嫁接大豆后代诱变率和诱变方向有重要影响, 番茄/龙选 1 号、蓖麻/科绿 2 号、生姜/科绿 2 号、蓖麻/田丰 90 和洋姜/田丰 90 嫁接组合的诱变率最高, 同时以生姜和番茄作为砧木与大豆接穗嫁接后代可出现高蛋白、高油和晚熟类型突变; 以甘薯和马铃薯为砧木与大豆接穗嫁接后代可出现多分枝和丰产类型突变; 以蓖麻和洋姜为砧木与大豆接穗嫁接后代可出现抗逆性强(抗倒伏)和植株矮化的突变类型; 以南瓜和葫芦为砧木与大豆接穗嫁接后代可出现晚熟和高大植株的突变类型。嫁接亲和力评价结果表明, 以南瓜、马铃薯、番茄和生姜作为砧木的嫁接亲和力较高, 以科绿 2 号为接穗的嫁接亲和力较高。

**关键词:** 大豆; 远缘嫁接; 诱变技术; 优化

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)02-0237-05

## Optimization of Distant Grafting Mutagenesis Technology in Soybean

PAN Xiang-wen<sup>1</sup>, SUN Xiao-huan<sup>2</sup>, ZHANG Feng-yun<sup>3</sup>, ZHAO Chao<sup>3</sup>, ZHANG Xue-song<sup>3</sup>, DU Wei-guang<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Mollisols Soil Ecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081; 2. Mudanjiang Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang 157041; 3. Heilongjiang Vocational College of biology Science and technology, Harbin 150025, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Heterograft mutagenesis technology of plant is a kind of effective way for plant resources innovation, optimizing and improving the technical system of heterograft mutagenesis is presently an important and urgent task. The heterograft experiments with 8 species far from soybean in genetic relationship used as the rootstocks and 4 soybean varieties or lines used as the scions were conducted to improve and optimize the technical system of heterograft mutagenesis in soybean. The results indicated that the 6-8 days-old soybean seedlings as the scions when grafted could improve the survival rate of graft, among which the grafting survival rate for 7 days-old soybean seedlings was the highest. The types of rootstock had an important influence on the mutation rates and directions of heterografted soybean offspring, the grafting combinations for tomato/Longxuan 1, castor/Kelv 2, ginger/Kelv 2, castor/Tianfeng 90 and Jerusalem artichokes/Tianfeng 90 performed with the highest mutation rate. At the same time, the soybean scions grafted with ginger and tomatoes as the rootstocks might induce the mutations with high protein, high oil and late mature in the offspring, the branchy and high yield mutations in the offspring for the combinations of sweet potato and potatoes as the rootstocks, the strong resistance (lodging-resistance) and dwarf plant height mutations in the offspring for the combinations of castor and Jerusalem artichokes as rootstocks, and the late mature and tall plant height mutations in the offspring for the combinations of pumpkin and gourd as the rootstocks. Through the grafting compatibility evaluation, it was found that the rootstocks such as pumpkin, potatoes, tomatoes and ginger had higher grafting compatibility while soybean line Kelv 2 as the scion possessed higher grafting compatibility.

**Key words:** Soybean (*Glycine max* L. Merr.); Heterograft; Mutagenesis technology

嫁接技术起源于中国, 并认为是受到自然界中“连理枝”现象的启发而发展起来的, 距今已有 3 000 多年的历史<sup>[1]</sup>。最初, 嫁接技术被用于果树的

繁殖和生产, 以提高抗寒性、抗病性及加快品种更替。后来, 嫁接技术在蔬菜、花卉的繁殖和生产得到了迅速应用。在生产实际和研究中, 人们发现远

收稿日期: 2012-02-02

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目(2011BAD35B06); 中国科学院东北地理与农业生态研究所前沿领域创新项目(KZCX3-SW-NA09-4)。

第一作者简介: 潘相文(1972-), 男, 高级工程师, 主要从事大豆资源创新和分子育种研究。E-mail: panxw52579@163.com。

缘嫁接(种间嫁接)不仅可以提高植物的抗逆性,还可以导致果实形状和品味的改变,而且这种变异是可以稳定遗传的<sup>[2-4]</sup>。于是,科研工作者就开始了利用远缘嫁接创造植物遗传变异的探索研究,进而初步形成了植物远缘嫁接诱变技术。近年来,利用该技术已在棉花、绿豆、小麦、甘薯、花生等作物上创造出大量优异的资源,并培育出很多抗逆、优质、丰产新品种(系)<sup>[5]</sup>。然而,这项技术并没有得到科研工作者的普遍认可和应用,主要原因在于远缘嫁接诱变的机理尚不清楚,同时远缘嫁接诱变技术的掌握和熟练程度也是限制该技术推广应用的重要瓶颈。为此,该研究以与大豆远缘的8种植物为砧木,以4个大豆品种(系)为接穗,探究大豆接穗接龄对嫁接成活率的影响及砧木类型对嫁接诱变率的影响,评价砧木与大豆嫁接的亲合力,最终完善和优化大豆远缘嫁接诱变技术体系,以推进大豆资源创新和品种改良的进程。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

砧木材料:生姜、南瓜、葫芦、番茄、洋姜、马铃薯、甘薯和蓖麻,分别购于农贸市场和农科院园艺所。

大豆材料:龙选1号、东农42、科绿2号和田丰90,选自中国科学院东北地理与农业生态研究所种质资源库。

### 1.2 方法

1.2.1 砧木材料的培育 甘薯块茎于2010年4月20日播种在直径为50 cm的塑料桶中,栽培基质是由河沙与农田土以2:1混合而成,待甘薯苗长至10 cm时移栽到直径为25 cm的塑料桶中,每桶栽3株,及时补水保证甘薯苗健康生长;番茄种子于5月1日播种在温室内的营养钵中,栽培基质由草炭土和农田土以1:2比例混合而成,待小苗长到10 cm时移栽到直径为25 cm的塑料桶中,每桶栽3株,及时补水保证番茄苗健康生长;生姜、马铃薯和洋姜块茎及南瓜、葫芦和蓖麻种子于5月10日直接播种在直径为25 cm的塑料桶中,遮阴保湿7 d后在正常条件下生长,出苗后保证每盆3株幼苗,及时补水保证幼苗健康生长。

1.2.2 接穗材料的培育 选取整齐一致的龙选1号、东农42、科绿2号和田丰90大豆种子分别于6月1日、11日和21日播种在直径为15 cm的塑料

桶中,每桶播20粒种子,每份材料每期播10桶,播种时要均匀浅播,保证大豆出苗整齐一致。

1.2.3 远缘嫁接及其后期管理 远缘嫁接技术及其嫁接后遮阴管理、水分管理、接穗自生根剔除和砧木主茎去除等参照潘相文等<sup>[6]</sup>的程序和方法进行。嫁接后7~45 d,检查接穗自生根生长状况,并及时用刀片剔除,注意不要伤及嫁接结合处;嫁接后15 d,调查不同日龄大豆幼苗成活的株数,并计算嫁接成活率;嫁接后50 d,嫁接体停止遮阴,并切断砧木主茎,仅保留地上部15 cm以下的部分;最后成活的嫁接材料采取正常管理一直到成熟,并收获嫁接当代( $G_0$ 代)种子。

1.2.4 嫁接后代突变类型的鉴定 于2011年5月8日将2010年不同嫁接组合收获的176粒 $G_0$ 代种子以嫁接组合为单元进行种植,各嫁接组合及其收获的 $G_0$ 代种子数量见表1。每个组合种植1~2桶,每桶3~5粒种子,同时种植原始接穗大豆材料各5桶,每桶4株。根据大豆形态性状和生态性状差异,鉴别株高、叶形、叶色、花色、茸毛色、分枝数、熟期、抗倒伏性、丰产性、蛋白质含量和油份含量12个性状的突变体,并计算出不同嫁接组合的嫁接诱变率。

表1 不同嫁接组合收获的 $G_0$ 代种子数量

Table 1 Seeds numbers of  $G_0$  generation harvested from different grafting combinations

砧木材料 Root stocks	接穗大豆品种(系) Varieties or lines of scion soybean			
	龙选1号 Longxuan 1	东农42 Dongnong 42	科绿2号 Kelv 2	田丰90 Tianfeng 90
	南瓜 Pumpkin	6	7	8
甘薯 Sweet potato	6	5	7	4
马铃薯 Potato	6	6	8	4
蓖麻 Castor	3	4	3	3
番茄 Tomato	8	5	8	5
洋姜 Jerusalem artichoke	4	3	4	3
葫芦 Bottle gourd	7	6	6	5
生姜 Ginger	8	7	6	6

### 1.3 数据分析

所有数据采用Excel进行录入和分析,图形采用Sigma Plot(10.0)绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆接穗接龄对嫁接成活率的影响

分别以 5~9 日龄的大豆幼苗作为接穗,以番茄作为砧木,探讨了大豆接穗接龄对嫁接成活的影响。

根据图 1 可以看出,嫁接时接穗接龄对嫁接成活率有重要的影响,其中以 6~8 日龄的大豆幼苗为接穗时嫁接成活率较高,均在 70% 以上,最高可达到 80%。因此,在嫁接时,选择适宜日龄的大豆幼苗作为接穗才能取得较高的成活率,日龄过小或者过大都会降低成活率。

### 2.2 大豆远缘嫁接的亲合力评价

采用嫁接成活率来体现嫁接亲合力。根据表 2 可以看出,南瓜与龙选 1 号和科绿 2 号、马铃薯与东农 42 和科绿 2 号、番茄与龙选 1 号和科绿 2 号、葫芦与龙选 1 号以及生姜与龙选 1 号和东农 42 嫁接的成活率最高,达到了 80%,说明它们之间具有较好的嫁接亲合力。针对不同砧木而言,南瓜、马铃薯、番茄和生姜的嫁接成活率较高,表现出较好的嫁

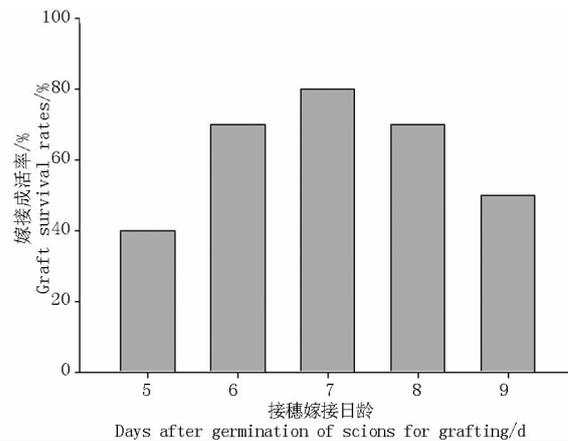


图 1 嫁接时接穗接龄对嫁接成活率的影响

Fig. 1 Effects of scion days after germination on grafting survival rates when grafted

接亲合力;而蓖麻和洋姜的嫁接成活率较低,表现出较差的嫁接亲合力。针对不同大豆接穗而言,科绿 2 号的嫁接成活率较高,表现出较好的嫁接亲合力,而田丰 90 的嫁接成活率相对较低,表现出较差的嫁接亲合力。从整体上来看,各种嫁接组合的平均成活率为 65%,这不仅证明了远缘嫁接技术的可行性,也为后期的嫁接诱变的发生提供了保障。

表 2 不同嫁接组合嫁接成活率的比较

Table 2 Comparison of grafting survival rates for different grafting combinations (%)

砧木材料 Root stocks	接穗大豆品种(系) Varieties or lines of scion soybean				平均 Average
	龙选 1 号 Longxuan 1	东农 42 Dongnon 42	科绿 2 号 Kelv 2	田丰 90 Tianfeng 90	
南瓜 Pumpkin	80	70	80	70	75
甘薯 Sweet potato	60	70	70	60	65
马铃薯 Potato	75	80	80	65	75
蓖麻 Castor	40	50	40	30	40
番茄 Tomato	80	70	80	70	75
洋姜 Jerusalem artichoke	50	40	50	40	45
葫芦 Bottle gourd	80	70	70	60	70
生姜 Ginger	80	80	70	70	75
平均 Average	65.6	66.3	67.5	58.1	65.0

### 2.3 砧木类型对大豆远缘嫁接诱变效率的影响

所有 G<sub>0</sub> 代种子播种后,出苗率为 87.5%,即有 154 粒种子正常出苗。通过精细的形态学和生态学鉴定,共鉴定出 31 个突变材料,总突变率达 20.13%。研究表明,不同砧木类型对嫁接诱变率的贡献率是不同的,番茄、蓖麻、生姜、蓖麻和洋姜与大豆嫁接表现

为相对较高的诱变效率。研究也发现,不同嫁接组合后代的突变类型是有区别的,而且与砧木类型明显相关。以生姜和番茄作为砧木与大豆接穗嫁接后代可出现高蛋白、高油和晚熟类型突变;以甘薯和马铃薯为砧木与大豆接穗嫁接后代可出现多分枝和丰产类型突变;以蓖麻和洋姜为砧木与大豆接穗嫁接后代可

表3 不同嫁接组合诱变效率的比较

Table 3 Comparison of induction efficiency for different grafting combinations

嫁接组合 Grafting combinations	出苗数 Seedling numbers	突变植株数 Numbers of mutation plant	突变性状 Traits of mutation	突变率 Mutation rates/%
南瓜/龙选1号 Pumpkin/Longxuan 1	5	1	植株高大、晚熟	20.0
甘薯/龙选1号 Sweet potato/Longxuan 1	5	1	分枝、荚密、抗倒	20.0
马铃薯/龙选1号 Potato/Longxuan 1	4	1	分枝、荚密、早熟	25.0
蓖麻/龙选1号 Castor/Longxuan 1	3	0	-	-
番茄/龙选1号 Tomato/Longxuan 1	6	2	高油、抗倒、晚熟	33.3
洋姜/龙选1号 Jerusalem artichoke/Longxuan 1	4	1	抗倒、分枝、植株矮	25.0
葫芦/龙选1号 Bottle gourd/Longxuan 1	6	1	植株高大、荚大、晚熟	16.7
生姜/龙选1号 Ginger/Longxuan 1	7	1	高油、晚熟、分枝	14.3
南瓜/东农42 Pumpkin/Dongnong 42	6	1	植株高大、分枝、晚熟	16.7
甘薯/东农42 Sweet potato/Dongnong 42	5	1	分枝、节间短、抗倒	20.0
马铃薯/东农42 Potato/Dongnong 42	5	1	分枝、荚密、早熟	20.0
蓖麻/东农42 Castor/Dongnong 42	4	1	抗倒、抗病、植株矮	25.0
番茄/东农42 Tomato/Dongnong 42	4	1	高油、晚熟、荚多	25.0
洋姜/东农42 Jerusalem artichoke/Dongnong 42	3	0	-	-
葫芦/东农42 Bottle gourd/Dongnong 42	5	1	植株高大、荚密、晚熟	20.0
生姜/东农42 Ginger/Dongnong 42	6	1	高油、高糖、晚熟	16.7
南瓜/科绿2号 Pumpkin/Kelv 2	8	2	植株高大、抗倒、晚熟	25.0
甘薯/科绿2号 Sweet potato/Kelv 2	6	1	分枝、荚密、荚大	16.7
马铃薯/科绿2号 Potato/Kelv 2	7	1	分枝、荚密、叶大	14.3
蓖麻/科绿2号 Castor/Kelv 2	3	1	抗倒、荚密、植株矮	33.3
番茄/科绿2号 Tomato/Kelv 2	7	1	高油、晚熟、分枝少	14.3
洋姜/科绿2号 Jerusalem artichoke/Kelv 2	4	1	抗倒、植株矮	25.0
葫芦/科绿2号 Bottle gourd/Kelv 2	5	1	植株高大、晚熟、抗倒	20.0
生姜/科绿2号 Ginger/Kelv 2	6	2	高蛋白、晚熟、抗倒	33.3
南瓜/田丰90 Pumpkin/Tianfeng 90	4	1	植株高大、荚密、晚熟	25.0
甘薯/田丰90 Sweet potato/Tianfeng 90	4	1	分枝、高蛋白、荚密	25.0
马铃薯/田丰90 Potato/Tianfeng 90	3	0	-	-
蓖麻/田丰90 Castor/Tianfeng 90	3	1	抗倒、植株矮、荚密	33.3
番茄/田丰90 Tomato/Tianfeng 90	4	1	高油、抗逆、晚熟	25.0
洋姜/田丰90 Jerusalem artichoke/Tianfeng 90	3	1	抗倒、植株矮、分枝	33.3
葫芦/田丰90 Bottle gourd/Tianfeng 90	4	0	-	-
生姜/田丰90 Ginger/Tianfeng 90	5	1	高蛋白、晚熟、荚密	20.0

出现抗逆性强(抗倒伏)和植株矮化的突变类型;以南瓜和葫芦为砧木与大豆接穗嫁接后代可出现晚熟和高大植株的突变类型。

### 3 讨 论

#### 3.1 接穗接龄对嫁接成活率的影响

成功的嫁接必须有维管束连接,同时接口处新形成的连结完善的形成层向内产生的木质部中出现导管,向外产生的韧皮部中出现筛管<sup>[1]</sup>。一般来讲,嫁接成活的过程大约需要 10~15 d,因嫁接组合而异,所以文中根据嫁接后 15 d 大豆接穗与不同砧木的结合和生长状况来评定嫁接的成活。除了嫁接技术及应用有效的调控剂外,适宜的嫁接时期是嫁接成功的关键。不同日龄大豆接穗与番茄砧木嫁接的试验表明,大豆接穗的嫁接日龄对嫁接成活率有重要的影响。其中以 6~8 日龄的大豆幼苗为接穗时嫁接成活率较高,均在 70% 以上,最高可达到 80%,日龄过小或者过大都会降低嫁接成活率。因此,在今后的嫁接实践中建议以 6~8 日龄的大豆幼苗作为接穗材料。

#### 3.2 砧木与接穗的嫁接亲和力

嫁接亲和力一般是指砧木和接穗在遗传上、生理上的关系,通过嫁接后的愈合生长能力。植物的亲缘关系、生理、形态结构和遗传特性以及内含物决定亲和力的大小<sup>[7]</sup>。因此,不同的嫁接组合会表现出不同的嫁接亲和力。该研究通过嫁接成活率的比较反应了嫁接亲和力的高低,结果表明,南瓜、马铃薯、番茄和生姜的嫁接成活率较高,表现出较好的嫁接亲和力;而蓖麻和洋姜的嫁接成活率较低,表现出较差的嫁接亲和力。针对不同大豆接穗而言,科绿 2 号的嫁接成活率较高,表现出较好的嫁接亲和力,而田丰 90 的嫁接成率相对较低,表现出较差的嫁接亲和力。然而,嫁接亲和力往往会与嫁接诱变率负相关,可见,在嫁接实践中要结合嫁接成活率和嫁接诱变率来确定适于资源创新的嫁接组合。

#### 3.3 砧木类型对大豆远缘嫁接诱变效率的影响

远缘嫁接诱变率受到多种因素和管理措施的影响,其中砧木类型是相对重要的影响因素,因为它不仅影响嫁接后代的突变数量,还在一定程度上决定突变产生的类型和方向,这将对定向诱变或创

新种质资源提供非常有意义的指导。研究发现,大部分组合(87.5%)均有突变性状的产生,这进一步证明了植物间的远缘嫁接是创造遗传变异的有效途径。而且,不同砧木类型对嫁接诱变率的贡献率不同,番茄、蓖麻、生姜、蓖麻和洋姜与大豆嫁接表现为相对较高的诱变效率,因此在今后的嫁接实践中应主要利用这些砧木类型来重点研究。研究还发现不同嫁接组合后代的突变类型是有区别的,而且与砧木类型明显相关。如果要创造品质和熟期类型突变,应以利用生姜和番茄等砧木类型为主;如果欲创造多分枝和丰产类型突变,应以利用甘薯和马铃薯等砧木类型为主;如想创造植株矮化和抗逆类型突变,应以利用蓖麻和洋姜等砧木类型为主;如果要获得株高和熟期类型突变,应以利用南瓜和葫芦等砧木类型为主。

### 参考文献

- [1] 褚怀亮,郑炳松. 植物嫁接成活机理研究进展[J]. 安徽农业科学,2008,36(13):5405-5407,5409. (Chu H L,Zheng B S. Research progress on the survival mechanism of grafted plants[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(13): 5405-5407,5409.)
- [2] Hirata Y, Yagishita N. Graft-induced changes in soybean storage proteins. I. Appearance of the changes[J]. Euphytica, 1986, 35: 395-401.
- [3] 刘乃森,刘福霞. 嫁接引起可遗传变异的研究进展[J]. 北方园艺,2007(1):33-34. (Liu N S,Liu F X. Research progress on the inheritable variations induced by grafting[J]. Northern Horticulture, 2007(1):33-34.)
- [4] 张丹华,孟昭璜,肖卫民,等. 嫁接导致的绿豆可遗传变异及其在绿豆育种中的应用[J]. 植物学报,2002,44(7):832-837. (Zhang D H,Meng Z H,Xiao W M, et al. Graft-induced inheritable variation in mungbean and its application in mungbean breeding[J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(7): 832-837.)
- [5] 孟昭璜,芦翠乔. 绿豆与甘薯嫁接的研究[J]. 华北农学报, 1989,4(4):34-38. (Meng Z H,Lu C X. Research on grafting of mungbean and sweet potato[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1989,4(4):34-38.)
- [6] Pan X W, Cao C Y, Zhang Q Y, et al. Distant-graft mutagenesis technology in soybean[M]//Dora Krezhova. Soybean-genetics and novel techniques for yield enhancement. ISBN:978-953-307-721-5, Croatia: InTech—Open Access Publisher, 2011:273-280.
- [7] 曹建华,林位夫,陈俊明. 砧木和接穗嫁接亲和力研究综述[J]. 热带农业科学,2005,25(4):64-69. (Cao J H,Lin W F, Chen J M. Studies of affinity between rootstock and scion[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2005, 25(4): 64-69.)