

我国大豆种皮过氧化物酶活性和根部 荧光性基因表型频率分布

王克晶* 余建章

李福山

(沈阳农业大学)

(中国农业科学院品种资源研究所)

提 要

本研究测定我国1900份大豆栽培种(*G. max*)、半野生型(*G. gracilis*)、野生种(*G. soja*)的种皮过氧化物酶活性和根部荧光性基因表型频率。研究表明,这两个性状基因在我国Soja亚属三个种中的表型频率分布是不同的。野生种和半野生型具有较高频率的种皮过氧化物酶高活性和根部非荧光性基因,而栽培种则频率较低。各基因表型频率在栽培种中与种皮颜色、生育习性、结荚习性、百粒重等农艺性状有密切关系,其频率分布在我国地理纬度上表现出一定的规律性。结果还表明种皮过氧化物酶低活性基因和荧光性基因可能在大豆栽培驯化过程中得到积累。

关键词 大豆进化, 大豆品种资源

大豆群体内普遍存在种皮过氧化物酶活性基因(Ep 高活性, ep 低活性)和根部荧光性基因(Fr 荧光性, fr 非荧光性)。Chmeler (1934)首先研究了大豆的荧光性,以后Goodwin和Kavahgh (1945)、Gradbe (1957)、Palmer (1981)^[3]、Xavier等(1982)先后都有过报道。其结果基本一致。栽培种非荧光性占2%左右,野大豆占25%左右。Buzzell和Buttery (1968、1969)^[4,5]、Delanuy等(1982)^[6]分别研究了种皮过氧化物酶活性和根部荧光性的遗传机理。胡志昂(1984)^[1]曾报道过我国栽培大豆种皮过氧化物酶等位基因频率。

大豆起源于我国,有丰富的变异类型。目前有关这两个性状的基因频率与其它性状的关系以及在品种资源研究中的应用方面国内很少有报道。本文从研究利用我国大豆资源的角度,讨论了这两个性状基因在我国的基本分布规律及其与几个重要农艺性状的关系。这对揭示大豆起源与进化及品种资源的研究利用有一定意义。

材 料 与 方 法

1. 材料: 本研究于1985年冬至1986年春季,测定来自全国十八个省(区)的1900份材料。其中690份野大豆来自辽宁省(见表1)。供试材料中的地方品种和野大豆是原省(区)保存的性状稳定的纯系。改良品种是育成品种和未推广的高代品系。因此全部材料就这两个性状基因型来说是遗传稳定的纯合体。供试材料为1985年当年种子,少部分野大豆是1983年种子,其生活力完好,供试半野生材料一般百粒重3—6克,野生种3克以下。

2. 基因型检测方法: 用Palmer和Heer提供的方法,对根部荧光性进行鉴定,每份材料取5粒种子在巾纸上置于恒温箱中发芽,温度控制在25℃—20℃。待4天后根长10厘米左右时(含下胚轴),于暗处用于提式紫外光灯照射幼根,发白蓝色荧光者为Fr型,无

* 现在中国农业科学院品种资源研究所工作
本稿1989年1月收到,1989年3月终审完毕

荧光者为 fr 型。种皮过氧化物酶活性的测定用 Buttery 等提供的比色盘比色法, 用高活性的 Evans 和低活性的 Minsoy 品种作对照。

表 1 供试材料与来源

Table 1 Trial material and source

省份 Province	改良品种 Improved varieties	地方品种 Local varieties	省份 Province	改良品种 Improved varieties	地方品种 Local varieties
辽宁 Liaoning	109	579 野大豆 690 Wild soybean 690	陕西 Shaan xi	14	16
吉林 Jilin	40		山西 Shanxi	7	16
黑龙江 HeiLongjiang	19	9	江苏 Jiangsu	7	17
山东 Shandong	10	67	贵州 Guizhou	2	18
河北 Hebei	6	9	福建 Fujian		26
河南 Henan	1		内蒙古赤峰 chifeng Neimenggu	2	60
四川 Shechuan		55	安徽 Anhui		3
广西 Guangxi	2	76	宁夏 Ningxia		16
云南 yunnan	1		广东 Guangdong		5

结果与分析

一 不同类型大豆 Ep, fr 基因表型频率

1. 进化程度与基因表型频率

大豆的进化过程, 仅是积累不同基因频率的过程。从表 2 看到, 3 种类型有着不同的 Ep, fr 等位基因表型频率。在栽培种内 fr 型基因和野生种内的 ep 基因频率极低, fr 和 Ep 频率是野生种最高, 其次是半野生型, 最低是栽培种。在不同种间频率差别相当明显; 这说明 Ep, fr 频率值的高低与大豆进化有关。

表 2 不同类型(种) Ep, fr 表型频率

Table 2 Ep, fr phenotypic frequencies in different types of soybeans

种 Species	样本数 Samplenumber	表现型 Phenotype		Phenotype	
		Fr	fr	Ep	ep
栽培种 Cultivated	1210	0.9769	0.0231	0.4496	0.5504
半野生种 Semi-wild	188	0.7794	0.2206	0.7394	0.2606
野生种 Wild	502	0.6295	0.3705	0.9821	0.0179

表3 地方品种、改良品种的Ep、fr频率
Table 3 Ep, fr frequencies of Local and improved varieties

省份 Province	样本类型 Sample types	样本数 Sample number	表现型 Phenotype			
			Fr	fr	Ep	ep
黑龙江 Heilongjiang	地方品种	9	1.0000		0.5556	0.4444
	改良品种	19	1.0000		0.4211	0.5789
	总合	28	1.0000		0.4643	0.5357
吉林 Jilin	地方品种	28	0.9643	0.0357	0.4286	0.5714
	改良品种	40	0.9500	0.0500	0.2750	0.7250
	总合	68	0.9559	0.0441	0.3382	0.6818
辽宁 Liaoning	地方品种	579	0.9827	0.0173	0.4058	0.5942
	改良品种	109	0.9908	0.0092	0.2294	0.7706
	总合	688	0.9840	0.0160	0.3836	0.6164
陕西 Shaanxi	地方品种	16	1.0000		0.5000	0.5000
	改良品种	14	1.0000		0.2857	0.7143
	总合	30	1.0000		0.4000	0.6000
山东 Shandong	地方品种	57	0.9649	0.0351	0.4386	0.5614
	改良品种	10	1.000		0.4000	0.6000
	总合	67	0.9701	0.0299	0.4328	0.5672
总合 Total	地方品种	689	0.9826	0.0174	0.4136	0.5864
	改良品种	192	0.9844	0.0156	0.2708	0.7292
全部材料 Whole materials	地方品种	991	0.9859	0.0141	0.4844	0.5156
	改良品种	219	0.9863	0.0137	0.2922	0.7078

表4 二十五个样本以Ep、fr表型频率分组结果
Table 4 The grouping result of twenty-five samples to Ep, fr phenotypic frequencies

组别 Groups	I	II	III	
			a	b
分组样本组成类型及序号 The component types and order number of sample groups	栽培豆: 黄 15 克以下(1) 黄 15.1—18 克(2) 黄 18.1—24 克(3) 黄 24 克以上 (4) 青 15.1—18 克 (6) 青 18 克以上(7) 栽培豆总合 (25)	野生种: 黄 (20) 黑 (21) 双色 (22) 野生种总合(24)	栽培豆: 黑 15 克以下(8) 黑 15.1—18 克(9) 黑 18 克以上(10) 褐 15 克以下(11) 褐 15.1—18 克(12) 双色 15 克以下(14) 15 克以下深色豆总合(15) 半野生型: 黑 (17)	栽培豆: 青 15 克以下(5) 褐 18 克以上(13) 半野生型: 黄 (16) 褐 (18) 双色 (19) 半野生型总合 (23)

注：括号内为样本序号。

Note: Number in brackets is the sample order.

在人工选择的情况下, 地方品种经过改良其性状向着适合人类要求的方向进化。这种人工改良群体与未经改良的地方品种频率积累有何差异? 从表 3 看出, 改良品种 Ep 频率都低于地方品种, 地方品种经过改良后, Ep 频率降低, ep 基因得到积累。供试地方品种 Ep 频率为 0.4844, fr 频率为 0.0141, 而改良品种 Ep 频率为 0.2922, fr 频率为 0.0137, 显示出频率变化与进化方向一致。

2. 根据 Ep, fr 等位基因表型频率对大豆进行分组

大豆 *Soja* 亚属按照这两个性状位点在各类型群体间的表型频率, 大豆被划分为 3 个组别(见表 4)。本文以表型频率计算样本间的遗传距离, 采用组平均聚类法。从三个类群上看出, 栽培大豆的深色豆与浅色豆、野大豆群体内的半野生型与野生种不在同一组。半野生型和栽培种的深色豆尽管在形态上相差很大, 但这两个性状遗传距离相对较近。根据这个划分, 相似的样本基本上都在相应的类群中。样本 5、13、17 略有出入。

坐标表示表 4 三组各样本的进化关系。分布在中间的样本是栽培种的深色豆和半野生型(16、17、18、19、23), 并且深色豆各样本几乎按照百粒重由小到大向栽培浅色豆过渡。百粒重 15 克以下的青豆(5)和百粒重 18 克以上的褐豆(13)样本介于深色豆和浅色豆之间, 相当于过渡类型。

此图还可说明以下两点: 一是深色豆中百粒重大小标志着进化程度的高低, 而浅色豆则这种关系不明显。二是半野生型 5 个样本按照自然积累微小变异进化的观点, 应在野生种和栽培深色豆样本之间, 但图中并非如此。这可能与它的其它方式起源有关^[7]。半野生型样本几乎都在深色豆之下, 并且较分散, 这反映了它们与深色豆的遗传差别, 种群本身也有较大的变异性。

二 栽培大豆各基因表型频率在地理纬度上的分布

不同地理位置上的大豆群体各基因表型频率分布有所不同。它们在地理纬度上的分布有一定规律性。按大区划分, 华东中部、西南、西北 150 份材料, 全为 Fr 型, 华南、华北(含山东)、东北(含赤峰)材料存在 fr 型。华南 109 份材料, fr 频率为 0.0138; 华北 105 份, fr 频率为 0.0286; 东北 846 份, fr 频率为 0.0177。从 fr 分布看, 华北略高, 其次为东北和华南, 中部地带缺乏 fr 型基因。

Ep 频率的分布, 则华东中部为 0.61, 西北为 0.62, 华南为 0.52, 华北为 0.49, 东北为 0.38, 西南为 0.32。从分布趋势可以看出, 长江和黄河流域频率较高, 向南向北均降低, 其中华南高于东北, 西南最低。

三 Ep, fr 表型频率与 4 个农艺性状的关系

1. 种皮颜色

表 5 结果表明, 栽培种 Ep, fr 频率与种皮颜色有关, 颜色越深, 频率越高。种皮类型 Ep

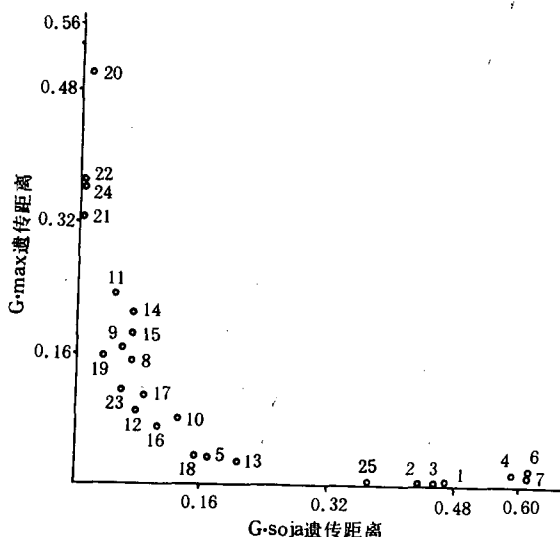


图 25 个样本遗传距离图(数字为样本序号, 同表 4)

Fig. Hereditary distance figure of twenty-five Samples
(Number is samples order, the same as table 4)

表5 我国各种类型大豆种皮过氧化物酶活性及根荧光性类型频率
 Table 5 Alleles phenotypic frequency of peroxidase activity in seedcoat and root fluorescence in types soybeans in our country

材料 Material	农艺性状 Agronomic character	类型 Types	样本数 Sample number	表现型 Phenotype				
				Fr	fr	Ep	ep	
栽培大豆 Cultivated soybean	种皮色 Seedcoat colour	黄豆	822	0.9805	0.0195	0.4075	0.5924	
		青豆	206	0.9806	0.0194	0.3204	0.6796	
		褐豆	60	0.9667	0.0333	0.7333	0.2667	
		黑豆	110	0.9455	0.0545	0.7909	0.2091	
	生育习性 Life habit	直豆	896	0.9754	0.0246	0.3893	0.6161	
		半直立	168	0.9287	0.0713	0.6369	0.3631	
		蔓生	27	1.0000	0.0000	0.8889	0.1111	
	结荚习性 Pod bearing habit	有限	622	0.9792	0.0208	0.3296	0.6704	
		亚有限	46	0.9783	0.0217	0.3700	0.6300	
		无限	38	0.9737	0.0263	0.5000	0.5000	
	百粒重 (克) Weight of 100 seeds	小粒 15克以下	107	0.9533	0.0467	0.6345	0.3655	
		中粒 15.1—18克	308	0.9740	0.0260	0.5032	0.4967	
		大粒 18.1—24克	346	0.9971	0.0029	0.3931	0.6069	
		特大粒 24克以上	28	1.0000	0.0000	0.2857	0.7143	
	野生大豆 Wild soybean	半野生大豆 Semi wild soybean	黄豆	50(45)	0.7332	0.2667	0.6200	0.3800
			褐豆	10(8)	0.8750	0.1250	0.6000	0.4000
黑豆			21(19)	0.9474	0.0526	0.8905	0.1095	
双色豆			107(64)	0.7500	0.2500	0.7944	0.2056	
小粒野大豆 Small grain Wild soybean		黄豆	8	0.5000	0.5000	1.0000	0.0000	
		黑豆	79	0.6835	0.3164	0.9747	0.0253	
		双色豆	415	0.6295	0.3705	0.9821	0.0179	

注: 括号内为测荧光数 Note: Number in brackets is fluorescence that .

表6 不同种粒大小的深色豆和浅色豆Ep、fr频率差别
 Table 6 Ep, fr frequencies difference of deep and Light colour Soybean in different seed grades

	粒级 Seed grades	深色豆 Deep colour	浅色豆 Light colour	差值 Difference value	fr	粒级 Seed grades	深色豆 Deed colour	浅色豆 Light colour	差值 Difference value
	Ep	小粒 Small seed	0.9375	0.3725		0.5650		小粒 Small seed	0.0417
中粒 Middle seed		0.7368	0.3143	0.4231	中粒 Middle seed	0.1053		0.0285	0.0768
大粒 Large seed		0.6818	0.2978	0.3840	大粒 Large seed			0.0074	0.0074

频率高低依次为黑豆 0.79 > 褐豆 0.73 > 黄豆 0.417 > 青豆 0.32。fr 频率为黑豆 0.05 > 褐豆 0.03 > 黄(青)豆 0.02。从 Ep 频率值看到, 深色豆高于浅色豆, 这种差异还与百粒重大小有关, 随着百粒重增大差异减小(见表 6)。

半野生型和野生种种皮色类型与基因表型频率虽然无明显的关系, 但也有同栽培大豆相似之处, 如半野生的黑、双色豆 Ep 频率明显高于黄、褐色豆。野生种的双色豆 fr 频率高于黑色豆, 黄豆样本较小, 频率偏差会较大。野生种的三个种皮类型 Ep 频率几乎无差异。半野生型种皮间 fr 频率无规律性。

2. 生育习性

在三种生育习性类型中, 进化程度高低 Ep 位点各表型频率表现明显变化, Ep 频率由蔓生、半直立、直立依次降低。fr 表型频率无明显的变化。

3. 结荚习性

结荚习性不同, 基因表型频率值也有差异(表 5)。Ep 频率在 3 种结荚习性类型中, 由无限型 0.50 > 亚有限型 0.37 > 有限型 0.33, 依次降低。fr 频率无限型 0.026 > 亚有限型 0.022 和有限型 0.021。从基因表型频率看, 无限型同有限和亚有限型差别最大, 后二者差别较小。

表 7 不同种皮与百粒重类型的 Ep、fr 频率

Table 7 Ep, fr frequencies of 100 seeds weight type of identical seed coat colour

种皮色 Seed coat colour	粒级 Seed grades	样本数 Sample number	表现型 Phenotypes				种皮色 Seed coat colour	粒级 Seed grades	样本数 Sample number	表现型 Phenotypes			
			Fr	fr	Ep	ep				Fr	fr	Ep	ep
黄豆 Yellow	小粒 Small seed	41	0.9756	0.0244	0.3171	0.6829	黑豆 Black	小粒 Small seed	26	0.9615	0.0385	0.8846	0.1154
	中粒 Middle seed	106	0.9717	0.0283	0.3396	0.6604		中粒 Middle seed	8	0.8750	0.1250	0.7500	0.2500
	大粒 Large seed	167	0.9940	0.0060	0.3292	0.6708		大粒 Large seed	12	1.0000		0.7500	0.2500
	特大粒 Larger seed	23	1.0000		0.2609	0.7391							
青豆 Green	小粒 Small seed	10	0.9000	0.1000	0.6000	0.4000	褐豆 Brown	小粒 Small seed	17	0.9411	0.0588	1.0000	
	中粒 Middle seed	33	0.9697	0.0303	0.2353	0.7647		中粒 Middle seed	8	0.8750	0.1250	0.7500	0.2500
	大粒 Large seed	105	1.0000		0.2476	0.7524		大粒 Large seed	10	1.0000		0.6000	0.4000

注: 小粒 15 克以下, 中粒 15.1—18 克, 大粒 18.1—24 克, 特大粒 24 克以上(百粒重)

Note: Small seed under 15g, Middle seed 15.1—18g, Large seed 18.1—24g, Larger seed over 24g (100 seeds weight)

4. 百粒重

Ep、fr 频率与百粒重大小有密切相关性(表 5)。中、小粒类型, Ep 频率较高, 而大粒、特大粒频率较低。种粒大小与 Ep 频率变化趋势为小粒 0.63 > 中粒 0.50 > 大粒 0.39 > 特大粒 0.29。fr 频率也表现同样的规律性, 28 份特大粒样本没有 fr 型。Ep、fr 频率表现出随着百粒重增大而降低。

不同百粒重间频率变化还与种皮类型有关(表 7)。在浅色豆中(小粒青豆例外), 百粒重

间 *Ep* 频率变化幅度很小, 而黑豆、褐豆大粒和小粒差别比较明显。浅色豆的 *fr* 频率表现出随百粒重增大而逐渐降低, 而深色豆这种变化不明显。大粒型材料均无 *fr* 型。

讨 论

1. 本研究结果表明, 大豆不同进化类型积累了不同基因频率。在天然野生混合群体中存在大量 *fr* 型基因, 其频率高达30%左右。其中半野生型平均在22%, 野生种在37%左右。栽培大豆的 *fr* 基因频率很低, 仅2%左右, 栽培种的小粒秣食豆(13克/100粒以下)平均4.17%。

野生种的 *Ep* 频率高达98%以上, 半野生型为73.9%, 小粒秣食豆为93.8%, 栽培种平均为45%, 与 Broich 和 Palmer 报道39.4%接近。有人把栽培种的秣食豆也看成为半野生型, 但是它的遗传结构却与自然半野生型不同。

2. 我国华南 *Ep* 频率52%; 东北地方品种40.9%, 改良品种26.2%, 平均38.3%。在北纬30°—40°地带(包括宁夏、陕西、山西、河北、山东、河南、四川、安徽似有、江苏) *Ep* 频率59.2%, 高于华南和东北。Buttery 和 Buzzell (1968, 1969) 测定我国东北 *Ep* 频率为75%, 华南为51.6%。我们的结果, 东北远低于这个数值, 而华南结果完全一致。胡志昂(1984)以82个代表品种研究中国栽培大豆认为33°—43°纬度地区 *Ep* 频率仅6%, 显然本文结果比此值高得多。

另外在人工选择条件下, 为什么 *ep* 基因在改良品种中逐渐积累, 也许 *ep* 基因具有某种生物学上或农艺上的利益或相关, 有待研究。

3. *Ep* 频率与种皮色密切相关。而且还与生育习性、结荚习性、百粒重相关。*fr* 型频率也同样的相关关系。通过这两个基因表型频率证明, 种子小粒性、深色种皮、蔓生、半蔓生性、无限结荚习性都是进化程度低的农艺性状。因此这两个生化性状可用于进化研究及资源分类。在 *Soja* 亚属中这两个性状基因位点在群体中的遗传分化存在3个类群(见表4)。

4. *Ep* 基因频率在地理分布上变化较大。野大豆几乎100%是 *Ep* 型。栽培大豆 *Ep* 频率最高的地带在30°—40°纬度。从西南地区大豆 *Ep* 位点来看, 与东北地区有相似的频率, 这两个地理相距较远的大豆群体是否血缘关系较近还需研究证实, 或者说对 *Ep* 位点来讲, 两地对 *ep* 的积累有类的生态选择条件。

Ep、*fr* 显然是低级进化阶段的两个基因, 它们与小粒, 深色种皮, 蔓生, 无限结荚习性等性状密切相关。在进化过程中逐渐随着其它性状的进化而改变其基因频率, 向 *ep*(低活性)和 *Fr*(荧光性)进化, 因此, 可以预期, 对 *Ep*(*ep*), *Fr*(*fr*)的研究结果, 与其他等位基因频率的研究一样, 不仅将揭示大豆的起源与进化的轨迹, 而且将有利于人类对大豆的利用要求。如 *fr* 与 *Ep* 基因与粗蛋白和粗脂肪有一定的相关性, 相关关系与进化的方向一致。在 *G. max* 中, *ep* 型群体的油分含量高于 *Ep* 型。在蛋白质方面, 黄豆 *ep* 型与 *Ep* 型含量相当。因此, 在资源利用上, *ep* 型黄豆可能对“双高”育种较为有利。

同样, 在 *G. gracilis* 中黄豆与褐豆的油分含量明显较高, 油分和蛋白质含量都较高的黄豆与褐豆, 在利用上将更有利。推测 *ep*(*Ep*)对化学成分的作用是间接的。将 *ep*(*Ep*)的定性测定变为定量测定, 对品质育种将有极重要的指导意义。

5. *Ep* 与 *ep* 频率的高低与生育习性的进化方向一致, 即时化程度越高, *ep* 频率越大,

植株越趋向于半直立和直立。而 Ep(ep)是种皮的生化性状,可在播前事先在实验室条件下,采用不破坏籽粒,仅取少量种皮来测定的方法,预先测知种间杂种后代株系的生育习性,进行播前的有意识选择。

参 考 文 献

- [1] 胡志昂等, 1984, 植物学报, 26(3), 328 — 332.
- [2] 徐豹等, 1985, 大豆科学, 4(1), 7 — 12.
- [3] Palmer, R.G., 1981, Report of the Soybean Genetics Committee Soybean Genet. News, 5, 9 — 14.
- [4] Buttery, B.R., and Buzzell, R.I., 1968, Crop Sci., 8, 722 — 725.
- [5] Buzzell, R.I., and Buttery, B. R., 1969, Crop Sci., 9, 387 — 388.
- [6] Delanny, X., and Palmer, R.G., 1982, Crop Sci., 22, 278 — 281.
- [7] Hymowitz, T., 1970, Econ. Bot., 23, 408 — 421.

Studies on Phenotypic Frequency Distribution of Alleles of Peroxidase Activity in Seed Coat and Root Fluorescence of Soybeans in China

Wang Kejing Yu Jianzhang

Li fushan

(Shenyang Agricultural University)

(Institute of Crop Germplasm Resources CAAS)

Abstract

The phenotypic frequencies of two alleles peroxidase activity (Ep, ep) and root fluorescence (Fr, fr), were examined in Subgenus soja. The samples were 1210 local varieties and improved cultivars in cultivated soybean (*G. max*) and 690 wild soybean (*G. soja* and *G. gracilis*). They were introduced from germplasm preserved in 18 provinces. The results are as follows:

The frequencies and distribution of two alleles were different in three species of Subgenus soja. *G. soja* and *G. gracilis* have higher frequencies of high peroxidase activity (Ep) and nonfluorescence (Fr) while *G. max* has lower one. The frequencies of the alleles show significantly related with agronomic characters such as colour of seed coat, growth habits, 100 seed weights and setting habits in *G. max*.

The higher the frequencies of Ep and fr were, the less the type evolved. The genes ep and Fr were accumulated during soybean evolution.

The Subgenus soja was divided into four types with the cluster analysis of genetic distance. They were cultivated soybean with light coloured seed coat, cultivated soybean with dark coloured seed coat, semiwild type (*G. gracilis*) and wild type (*G. soja*).

Key words Soybean evolution, Soybean germplasm resources