

大豆高光效育种研究

满为群¹, 杜维广¹, 郝迺斌²

(¹黑龙江省农业科学院大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; ²中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要:从探索提高 C₃ 作物光合效率途径为切入点, 在分析作物高光效育种历程阶段的基础上, 从大豆高光效育种的总体思路、高光效的光合生理基础、高光效育种理论、高光效高产育种体系、高光效品种选育 5 个方面讨论了大豆高光效育种。旨在为通过高光效育种途径来提高 C₃ 作物光合效率提供理论依据和技术支撑, 促进大豆高光效育种的进程。提出了启动 C₃ 作物自身 C₄ 途径, 并将多项高光效功能整合, 并与常规育种相结合, 可能是提高 C₃ 作物光合效率新的突破点, 从而确定了大豆高光效育种的总体思路。大豆高光效的光合生理基础是高光效品种的光反应和暗反应过程与常规品种相比都有明显改善, 并且它们之间存在密切的连锁相关。大豆高光效育种理论是依据作物遗传育种理论和作物生理学原理构成的。建立在作物生态类型基础上的高光效育种生理遗传基础和高光效的光合生理基础是大豆高光效育种理论基础。依据大豆高光效育种总体思路 and 理论, 通过高光效育种实践建立了大豆高光效高产育种体系, 育成了高光效品种黑农 39、黑农 40 和黑农 41。

关键词:大豆; C₃ 作物中类似 C₄ 途径; 高光效育种

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2009)03-0382-06

Study on Soybean Breeding for High Photosynthetic Efficiency

MAN Wei-qun¹, DU Wei-guang¹, HAO Nai-bin²

(¹Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang; ²Botany Institute, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: On the basis of analyzing the courses of crop breeding for high photosynthetic efficiency (HPE) and improving the photosynthetic efficiency of C₃ crop, we discussed soybean breeding for HPE in five aspects including breeding strategy, photosynthetic physiology, breeding methodology, breeding system and cultivar development, aiming at providing theoretical basis for increasing photosynthetic efficiency of C₃ crop through the way of soybean breeding for HPE and promoting its progress. It may be a new way of improving soybean photosynthetic efficiency that starting up the C₄ pathway in C₃ crops, through integrating functions associated with HPE and combining with the conventional breeding. As result the methodology of soybean breeding for HPE could be determined. The photosynthetic and physiological basis of soybean HPE are that light and dark reactions are obviously improved compared with that of normal soybean cultivars. The breeding theory of soybean consists of crop genetic breeding theory and crop physiological principle. The theoretical basis of soybean breeding for HPE includes physiological genetics, photosynthetic physiology on specific crop eco-types. According to the methodology and theory of soybean breeding for HPE as well as breeding practice, the high yield breeding system on the base of HPE was established, and soybean cultivars with HPE, Heinong 39, Heinong 40 and Heinong 41 were developed.

Key words: Soybean; C₄ analogous pathway in C₃ Crop; High photosynthetic breeding

自 20 世纪 70 年代, 国内外育种学家和植物生理学家开始, 积极探讨以提高 C₃ 作物光合生产力遗传改进为目标的育种途径和方法, 经过对各阶段农业增产途径分析后, 明确提出提高 C₃ 作物的光合效率是今后育种的重要途径。其方法主要有以下两个

方面: 一是转基因途径, 即通过转 C₄ 植物的光合效率; 二是种质改良, 通过高光效育种途径与方法, 使 C₃ 作物固有的 C₃ 和 C₄ 途径酶系基因得以充分表达。

20 世纪 70 年代初, 是作物高光效育种初期阶段。研究者试图通过“作物同室效应”和“提高作物

收稿日期: 2009-04-20

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(G1998010108)。

作者简介: 满为群(1964-), 研究员, 主要从事大豆遗传育种及高光效育种研究。E-mail: manweiqun@163.com。

单叶光合效率去大幅度提高作物产量”,这是作物高光效育种的初级路线,因其局限性未能取得预期效果,使作物高光效育种的研究陷入困境,到 80 年代,研究者初步认识到作物高光效育种必须在常规育种基础上,注入作物光合作用理论和指标,使作物高光效育种有了新发展。80 年代中期至今,科学家探索了作物遗传育种和植物生理生化紧密结合,在作物遗传育种和光合作用理论指导下,建立了作物高光效育种新思路、新途径和新方法,使作物高光效育种迈进深入发展阶段。

作物高光效育种的深入发展主要体现在以下 5 个方面的研究领域。一是作物高光效育种生理遗传基础研究;二是作物高光效的光合生理基础研究,三是作物高光效育种新思路探讨;四是作物高光效育种体系建立;五是培育作物高光效品种和种质创新。以探索提高 C_3 作物光合效率的途径为切入点,主要从大豆高光效育种总体思路、光合生理基础,大豆高光效育种理论、大豆高光效高产育种体系、大豆高光效品种选育等 5 个方面论述大豆高光效育种。

1 大豆高光效育种总体思路

有报道通过转基因技术将某种特定的 C_4 关键酶基因转移到 C_3 植物中,试图提高 C_3 植物光合效率,但目前仅有少数获得成功^[1-3]。近来研究发现,将玉米的 *PEPC* 基因转入水稻后,*PEPC* 基因的转导只是促进了 C_3 植物本身原有的有限的 C_4 代谢途径的转运,改善了水稻的光合生理特性,促进了产量的增加,但转基因水稻仍属 C_3 代谢类型^[4]。

C_4 植物具有高的光合效率是因为它与一个能浓缩的 CO_2 的 C_4 途径,该途径使植物更有效地吸收并保持着高的 CO_2 同化效率。如果 C_3 作物也具有类似 C_4 途径,就有可能调动 C_3 作物内在的 C_4 途径来提高光合效率。据此,课题组提出研究并启动 C_3 作物自身的 C_4 途径,将多项高光效功能整合聚集,并与常规育种相结合,可能是提高 C_3 作物光合效率的新突破点。

1984 年本课题组便开始研究 C_3 植物的 C_4 途径酶,并提出在 C_3 作物的小麦和大豆叶片中,虽然不具有 C_4 植物的 Kranz 解剖结构,但可能具有一个完整的 C_4 途径循环系统^[5],Hata 和 Matsuoka^[6] 也曾报道在小麦的叶片中存在 C_4 途径的关键酶。Bandur-

sk^[7]曾报道在 C_3 植物中也存在着 C_4 途径的酶系统,如 *PEPCase*、*NAD(P)-ME*、*NAD(P)-MDH*、*PPDK* 等,但是因活性较低,长期以来不为人们重视。这些研究表明在 C_3 植物叶片确实存在 C_4 途径的关键酶,但这些试验都没有进一步系统地证明在 C_3 植物叶片中 C_4 途径酶的存在。本课题组以不同产量水平的黑农 41、黑农 40、黑农 37 品种为材料,测定了 4 种 C_4 途径关键酶活性。结果表明不同发育时期大豆叶片内均存在 C_4 途径酶:*PEPCase*、*NAD(P)-MDH*、*PPDK*,使大豆本内可能构成一个完整的 C_4 循环(*PEPC* 羧化- C_4 酸脱羧-*PEP* 再生),从而发挥高效的碳同化作用。同时高产的黑农 40 叶片中几个 C_4 途径关键酶活性明显高于对照品种黑农 37。而且黑农 40 的 *PEPCase*/*RuBPCase* 比值高于黑农 37,表明 C_4 途径酶与作物生产潜力具有相关性,因为可通过 C_4 途径酶重新固定呼吸作用所释放的 CO_2 ,以减少 CO_2 的损失,增加碳素积累^[8-9]。有些实验室研究表明,虽然 Kranz 结构是 C_4 植物的标志,但是目前已经发现无 Kranz 结构的水生植物和陆生植物,Reiskind 等研究发现,水生单子叶植物黑藻(*Hydrilla verticillata*) 在低 CO_2 诱导下是 C_4 植物,陆生植物 *Borsceouia aralocaspica* (藜科)也是无 Kranz 结构的 C_4 植物^[10],说明 Kranz 结构不是 C_4 植物的唯一标志。这些研究结果表明在 C_3 植物叶片中确实存在完整的 C_4 循环,不同基因型 C_4 途径酶系活性存在显著差异。这为本课题组提出提高 C_3 作物光合效率的新观点提供理论依据。在这种观点指导下,依据作物遗传育种和光合作用理论,以高光效高产育种体系为手段,根据当地大豆生态资源优势 and 国内外市场需求等,辅以南繁北育及酶学指标等措施,进行高光效高产品种选育和种质创新,来解决目前国内外大豆常规育种难以大幅度提高 C_3 作物大豆光合效率进而提高单产的难题。其次,以高光效品种为核心技术,以高产理论和栽培技术研究结果为配套技术,建立高光效品种生产技术规程,推进高光效品种推广,从而确立了大豆高光效育种的总体思路(图 1)。

按着该思路进行的高光效育种选育出的 C_4 酶活性高表达的品种与转 C_4 酶系基因到 C_3 植物相比,具有异曲同工、殊途同归的效果。

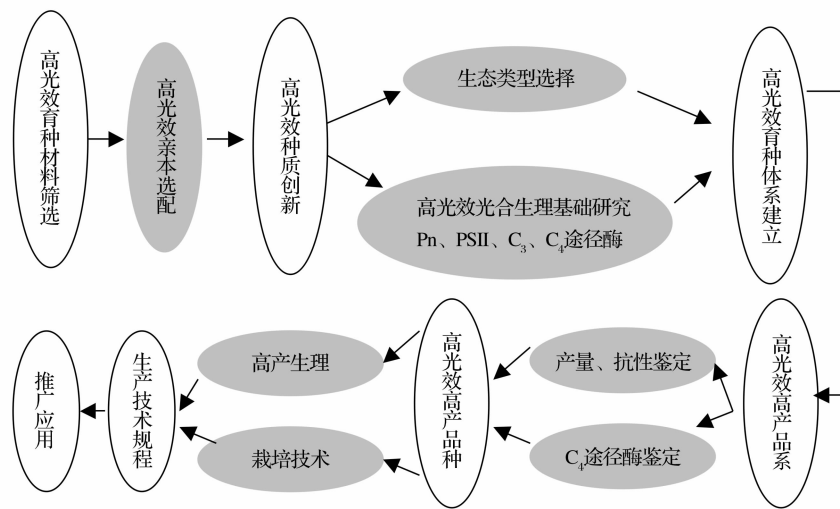


图 1 大豆高光效育种的总体思路

Fig. 1 The methodology of soybean breeding for HPE

2 大豆高光效的光合生理基础

2.1 光能转化效率的提高

2.1.1 大豆叶片光系统Ⅱ光化学功能 通过对高光效大豆品种黑农 40、黑农 41 及对照品种黑农 37 的光系统Ⅱ(PSⅡ)原初光能转化效率(F_v/F_m)、PSD 活

性(F_v/F_0)、PSⅡ实际光化学效率($\phi_{PSⅡ}$)以及光化学猝灭系数(q^p)和非光化学猝灭系数(q^n)等荧光动力学参数的测定,显示出 PSⅡ反应中心综合活力(光能吸收传递和转换效率)在大豆初荚期光合作用最旺盛时达到最大,并表现出高光效品种黑农 40 和黑农 41 高于高产品种黑农 37(表 1)。

表 1 不同大豆品种在初荚期的光合速率和光饱和点及荧光动力学参数

Table 1 The Pn and light saturation point and chlorophyll fluorescence parameters of different soybean cultivar in pod-bearing stage

品种 Cultivar	Pn $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	PDF $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	F_v/F_0	F_v/F_m	q^p	q^n	$\phi_{PSⅡ}$
黑农 40 Heinong 40	17.76 ± 1.05	1360	5.2 ± 0.15	0.84 ± 0.04	0.65 ± 0.07	0.65 ± 0.06	0.51 ± 0.03
黑农 41 Heinong 41	17.27 ± 1.20	1188	5.2 ± 0.10	0.84 ± 0.00	0.64 ± 0.05	0.65 ± 0.04	0.53 ± 0.02
黑农 37 Heinong 37	13.59 ± 1.02	1146	4.5 ± 0.31	0.82 ± 0.01	0.61 ± 0.09	0.71 ± 0.05	0.40 ± 0.03

2.1.2 大豆豆荚光系统Ⅱ光化学功能 研究表明,初荚期、鼓粒期和衰老期豆荚光系统Ⅱ光化学功能的 q^p 和 $\phi_{PSⅡ}$ 值及叶绿体 DCIP 活性均在鼓粒期达到高峰,黑农 40 高于黑农 37,而 q^n 值则是黑农 37 高于黑农 40 和黑农 41(表 1),说明高光效品种豆荚光系统Ⅱ光化学功能优于黑农 37。

上述结果充分说明高光效光合生理基础,主要表现在叶片和豆荚光化学反应能量利用的增加和非光化学能量耗散的减少,从而使 PSⅡ反应中心把捕获的光能更有效地用于光合作用中。

2.2 光合碳同化酶活性明显提高

2.2.1 大豆叶片 C_3 与类似 C_4 循环途径酶活性 C_3 和类似 C_4 途径酶活性,随着大豆生长发育过程而有规律地变化,其变化趋势是从苗期到初荚期酶活性逐渐升高,然后降低,在初荚期酶活性均达到最高

值。就初荚期而言,黑农 40 和黑农 41 不仅光合速率高,而且 RuBPC、PEPC、NADP-NDH、NADP-ME 和 PPDK 活力也均比黑农 37 高(表 2)。

PEPCase/RuBPCase 比值反映了 C_4 途径途径在 C_3 途径中表达的比例关系,其变化趋势与 C_4 途径酶活性的变化趋势一致。各品种的 PEPCase/RuBPCase 值在初荚期达到最大,黑农 40 的 PEPCase/RuBPCase 值比黑农 37 提高 18%。表明高光效大豆黑农 40 叶片内 C_4 途径酶表达程度较高。从稳定同位素分馏率(Δ 值)看,也表明 $^{14}\text{CO}_2$ 在高光效大豆叶片中更多地被分馏。 Δ 值的提高意味着 $^{14}\text{CO}_2$ 在叶肉细胞内更多地被分馏,使细胞内的 CO_2 分压增加,从而使叶肉细胞内的 HCO_3^- 浓度及 RuBPC 作用部位附近的 CO_2 浓度提高,此乃 PEPC 的高效表达所致。该结果说明大豆叶片的类似 C_4 途径具有初级 CO_2

浓缩机制(表3),其代谢产物是苹果酸(Mal)和天冬氨酸(Asp)(图2)。

表2 不同大豆品种在初荚期的光合速率和C₃、C₄关键酶活性

Table 2 The photosynthetic rate and the activities of C ₃ and C ₄ enzymes of different soybean cultivar in pod-bearing stage		Pn	RuBPC	PEPC	NADP- MDK	NADP- ME	PPDK
品种 Cultivar		/μmolCO ₂ · m ⁻² · s ⁻¹	/μmol · mg pro. · min ⁻¹	/μmol · mg pro. · min ⁻¹	/μmol/mg pro. · min ⁻¹	/μmol · mg pro. · min ⁻¹	/μmol · mg pro. · min ⁻¹
黑农 40 Heinong 40		17.76 ± 1.05	0.85 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.22 ± 0.02	1.94 ± 0.04	2.70 ± 0.02
黑农 41 Heinong 41		17.27 ± 1.20	0.82 ± 0.1	0.09 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.89 ± 0.01	2.35 ± 0.10
黑农 37 Heinong 37		13.59 ± 1.02	0.77 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.18 ± 0.05	0.75 ± 0.04	2.20 ± 0.02

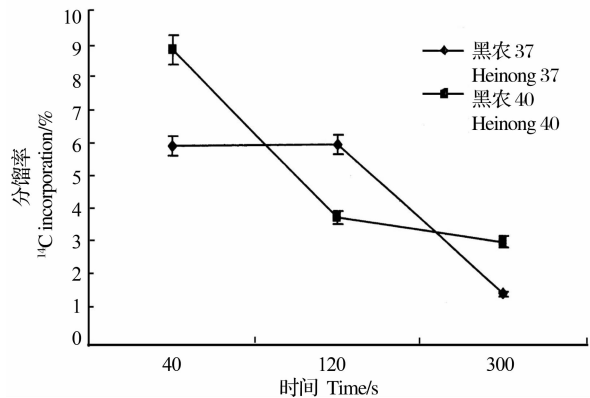


图2 初荚期黑农 37 和黑农 40 叶片¹⁴CO₂喂饲试验中 Mal + Asp 的代谢

Fig. 2 The metabolism on Mal + Asp in fed¹⁴C₂ test in leaves of Heinong 37 and Heinong 40 in pod-bearing stage

表3 不同大豆品种在初荚期叶片中稳定同位素分馏率(Δ值)比较

Table 3 The comparison on the value(Δ) of fractionation on stable isotope of different soybean cultivar in pod-bearing stage				
品种 Cultivar	RuBPC /μmol · mg pro. · min ⁻¹	PEPC /μmol · mg pro. · min ⁻¹	δ ¹³ C /‰	Δvalue /‰
黑农 37 Heinong 37	0.77 ± 0.01	0.06 ± 0.01	-28.10 ± 0.02	20.68 ± 0.01
黑农 41 Heinong 41	0.82 ± 0.02	0.09 ± 0.01	-29.38 ± 0.00	22.05 ± 0.01

综上所述,当大豆由营养生长进入生殖生长阶段时,C₄途径酶活性与C₃途径关键酶RuBPCase活性同步达到高效表达,这种同步表达说明C₃与C₄酶之间的互为依存关系。从不同产量水平大豆的光合速率、光合碳同化酶活性、C₄途径CO₂同化最初产物(Mal和Asp)以及稳定同位素分馏率等差异看,高光效品种黑农40和黑农41优于对照品种黑农37。这些光合参数的差异源于品种的基因型。

2.2.2 大豆豆荚C₃与类似C₄途径酶 研究黑农

37、黑农40品种豆荚在初荚期、鼓粒期和成熟期RuBPCase、PEPCase、PPDK、NADP- MDH和NADP- ME活性。结果表明,各品种上述酶活性均在鼓粒期出现高峰,并且高光效品种黑农40和高于对照品种黑农37^[4]。结果说明高光效的光合生理基础还表现在大豆豆荚C₄途径酶活性大幅度提高,羧化中C₄酸初产物的明显增加。

2.2.3 大豆C₃和类似C₄途径酶活性与光系统Ⅱ光化学功能的相互关系 对高光效大豆品种叶片荧光参数与光合速率及光合碳同化酶活性之间的相关分析发现,它们之间表现出明显的连锁相关(表4)。当PSⅡ综合活力提高时,为光合碳同化提供了充足的能量(ATP)和还原力(NADPH),导致C₃和C₄途径高效运转,反过来C₃和C₄途径的高效运转需要更多的能量,必然又拉动了光化学反应的加速,促进了光能的高效转换。由此可见,上述各项光合生理功能的相互协调互动,导致光合效率的提高,其中类似C₄途径酶活性起着举足轻重的作用。因此,启动光合碳同化酶的羧化效率,对光合作用的提高至关重要。

3 大豆高光效育种理论

大豆高光效育种是作物育种学生理学的重要组成部分,其理论是基于作物遗传育种理论和作物生理学原理(主要是作物光合作用理论)指导下开展研究的。显然,大豆高光效育种生理遗传基础和高光效的光合生理基础是大豆高光效育种理论基础之一。

作物育种就是为一定的目的与要求去选育一定生态类型的作物品种^[11]。因此作物生态类型也必然是大豆高光效育种的理论基础。只是大豆高光效育种更侧重于从提高作物光能利用效率角度出发,选育的高光效高产品种既具有形态、株型和群体最大限度地吸收光能,又具有自身生理功能改善,最大限度地提高光能的传递效率和光能转化效率,构成理想光合生态型。

表4 大豆光合碳同化酶活性和荧光动力学参数的相关性
Table 4 Correlation between the activities of C₄ pathway enzymes and the chlorophyll fluorescence parameters

	P _n	PEPCase	NADP- MDH	NADP- M E	PPDK	RUBPCas e	F _v /F _o	qP	qN	φPS II
P _n	1.00	0.75	0.81 *	0.78	0.54	0.94 *	0.70	0.99 **	-0.93 *	0.93 *
PEPCase		1.00	0.81 *	0.84 *	0.80	0.99 *	0.84 *	0.83 *	-0.66	0.85 *
NADP- MDH			1.00	0.96 **	0.34	0.86 *	0.82 *	0.85 *	-0.67	0.78
NADP- ME				1.00	0.48	0.88 *	0.95 **	0.82 *	-0.56	0.83 *
PPDK					1.00	0.66	0.58	0.58	-0.44	0.74
RUBPCase						1.00	0.85 *	0.77	-0.58	0.80
F _v /F _o							1.00	0.73	-0.42	0.83 *
qP								1.00	-0.93 *	0.96 **
qN									1.00	-0.82 *
φPS II										1.00

4 大豆高光效高产育种体系

依据课题组提出的大豆高光效育种总体思路及大豆高光效育种理论,通过大豆高光效育种实践验

证,提出了大豆高光效高产育种体系(图3)。该体系与常规育种途径比较,在育种理论、育种目标、亲本及后代选择和鉴定等方面均存在着差异(图4)。

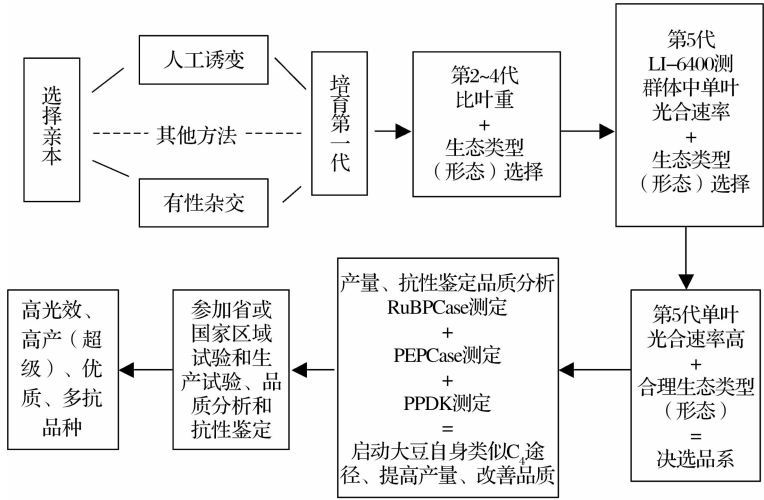


图3 高光效高产育种体系
Fig. 3 The breeding program for HPE and high yield

5 大豆高光效品种选育

采用大豆高光效高产育种体系选育出大豆高光效品种黑农39、黑农40、黑农41。黑农39、黑农40、黑农41均属均匀一主茎型。R₁、R₃、R₅期单株叶面积比哈79-9440、黑农33有较大提高(表5)。

高光效品种R₄期光合生理特性:黑农39、黑农40光合速率比最高亲本绥农4分别提高25%和18%;黑农41光合速率比亲本黑农33提高41%。RuBPC活性和PEPC活性也有类似地提高。黑农40和黑农41荧光动力学参数和C₄途径酶活性显著高于高产品种黑农37^[8-9]。哈79-9440、哈82-7799光合速率比最高亲本十胜长叶分别提高14%和42%。

表5 不同大豆高光效品种(种质)和高产品种单株叶面积比较
Table 5 The comparison on leaf area per plant between soybean cultivars with HPE and high yield cultivars

品种(系) Cultivar (line)	单株叶面积 Leaf area per plant/cm ²		
	R ₁	R ₃	R ₅
哈79-9440 Ha79-9440	53.07	1590.1	2060.3
黑农33 Heinog 33	710.44	1771.0	2296.3
黑农39 Heinong 39	742.3	2665.0	2594.0
黑农40 Heinong 40	656.4	1818.7	3498.5
黑农41 Heinong 41	747.3	2437.2	2446.7

黑农39、黑农40、黑农41分别于1994年、1996年、1999年经黑龙江省农作物品种审定委员会审定命名为高光效品种黑农39、黑农40、黑农41。黑农39和黑农40被新疆农作物品种审定委员会认定为推广品种。

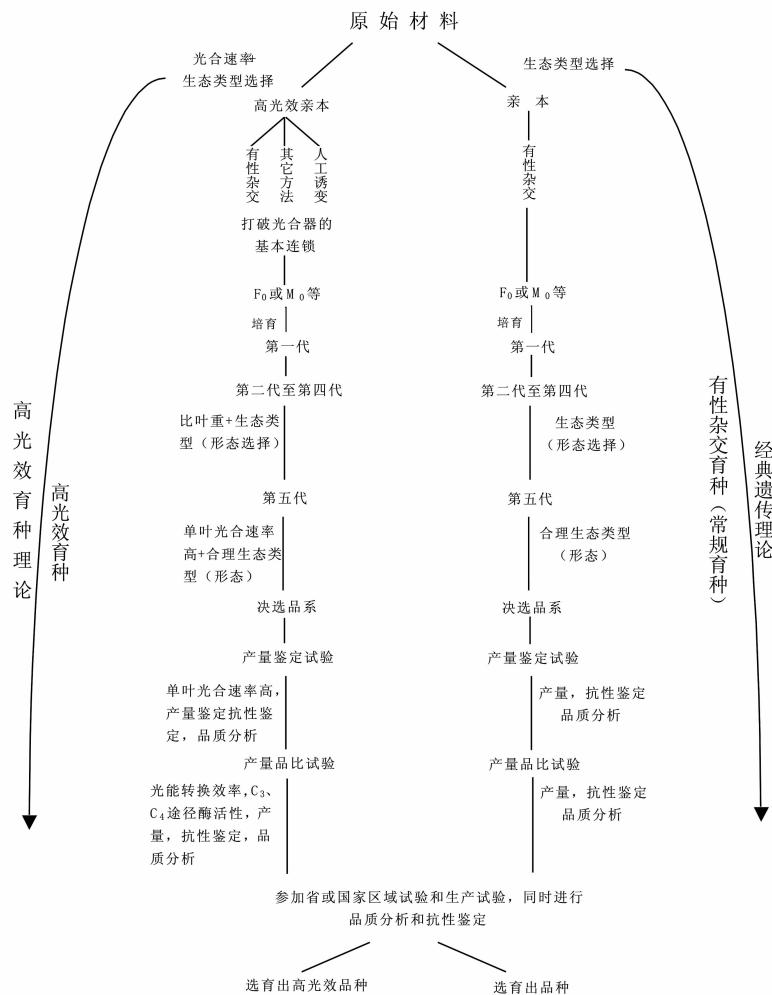


图4 大豆高光效高产育种体系与常规育种途径比较

Fig. 4 The comparison on the breeding program between soybean breeding for HPE and conventional breeding

参考文献

- [1] 李卫华,郝迺斌,戈巧英,等. C₃ 植物中 C₄ 途径研究进展[J]. 植物学通报,1999,16:97-106. (Li W H, Hao N B, Ge Q Y, et al. Advances in study on C₄ path way in C₃ plant[J]. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 16:97-106.)
- [2] Gehlen J, Paanstruga R, Smets H, et al. Effect of altered phosphoenolpyruvate carboxylase activities on transgenic C₃ plant *Solanum tuberosum*[J]. Plant Molecular Biology, 1996, 32:831-848.
- [3] Ku S B, Agarie S, Nomura M, et al. High-level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants[J]. Nature Biotechnology, 1999, 17:76-80.
- [4] 杜维广,郝迺斌,满为群. 大豆高光效育种[M]. 北京:中国农业出版社,2007: 150-152,171-173. (Du W G, Hao N B, Man W Q. Soybean breeding for high photosynthetic efficiency [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007: 150-152, 171-173.)
- [5] 郝迺斌,谭克辉,那青松,等. C₃ 植物绿叶器官 PEPC 活性比较研究[J]. 植物学报,1991,33:632-697. (Hao N B, Tan K H, Na Q S, et al. A comparative study of PEPC activity of green organs in C₃ plant[J]. Acta Botanica Sinica, 1991, 33:692-697.)
- [6] Hata S, Matsuoka M. Immunological studies on pyruvate orthophosphate dikinase in C₃ plant[J]. Plant Cell physiology, 1987, 28: 635-641.
- [7] Bandurski R S, Greiner C M. The enzymatic synthesis of oxalacetate from phosphoryl endpyruvate and carbondioxide[J]. Journal of Biological Chemistry, 1983, 204:781-786.
- [8] 李卫华,卢庆陶,郝迺斌,等. 大豆 C₄ 途径与光系统 II 光化学功能的相互关系[J]. 植物学报,2000,42(7):689-692. (Li W H, Lu Q T, Hao N B, et al. The Relation between C₄ pathway enzymes and PS II photochemical function in soybean[J]. Acta Botanica Sinica, 2000, 42(7):689-692.)
- [9] 李卫华,卢庆陶,郝迺斌,等. 大豆叶片 C₄ 循环途径酶[J]. 植物学报,2001,43(8):805-808. (Li W H, Lu Q T, Hao N B, et al. C₄ Pathway enzymes in soybean leaves[J]. Acta Botanica Sinica, 2001, 43(8):805-808.)
- [10] Voznesen S, Kaya E V, Franceschi V R, et al. Kranz anatomy is not essential for terrestrial C₄ plant photosynthesis [J]. Nature, 2001, 414:543-546.
- [11] 王金陵. 大豆生态类型[M]. 北京:农业出版社,1991:173-176. (Wang J L. Soybean ecotypes [M]. Beijing: Agriculture Press, 1991:173-176.)