

# 一个特性优良的大豆新种质 – 耐阴黑豆<sup>\*</sup>

张性坦 陈建南 赵 存 傅鸿仪  
柏惠侠 秦环英 林建兴

(中国科学院遗传研究所, 北京 100101)

## 摘 要

耐阴黑豆的光合产物合成和积累多, 每天运往豆荚、豆粒的干物质明显高于凤交 66-12 和京黄 3 号, 它的  $\text{CO}_2$  补偿点低, 花荚脱落率低, 产量也高。同时, 经 Northern 斑点杂交测定, 它的硝酸还原酶基因, 二磷酸核酮糖羧化酶小亚基基因及 3-磷酸甘油醛脱氢酶基因等在花荚期的叶片中表达能力均高于对照品种京黄 3 号, 特别是在干旱和阴湿的逆境条件下, 它们的高效表达更为突出。上述的特性表明, 耐阴黑豆是一个特性优良的大豆新种质。

**关键词** 耐阴黑豆; 抗逆能力; 光合产物; 大豆新种质

## 前 言

优异的种质材料是改良和创造新品种的关键, 搜集、筛选和创造新的种质以拓宽遗传基础是选育新品种的基础。我国的科技工作者经过长期以来的工作, 已搜集到一批地方品种和野生资源, 到目前为止, 已送入国家库长期保存的栽培大豆资源有 22,765 份, 野生大豆资源有 6000 份<sup>[1]</sup> 为推动我国的大豆育种工作进展起到了很大作用。以往分析种质材料时主要从生态特性、形态特征及农艺性状等方面进行<sup>[2,3]</sup>。本文主要通过生理生化及分子水平研究分析新种质材料的特性, 为大豆新种质材料的利用提供理论依据。

## 材料与方法

1 供试材料为本所试验场种植的耐阴黑豆、新黑豆、8101 京黄 3 号和凤交 66-12 等。

### 2 光合产物的测定

采用干重法测定每天每品种每 10 株大豆从开花期到成熟期运往豆荚和籽粒的干物质重量 (以克为单位), 比较各品种间从开花到幼荚期, 开花至鼓粒期, 开花到成熟期的干

\* 收稿日期: 1996-02-08

This paper was received on Feb. 8, 1996.

物质质量的差异。用半叶法通过红外线 CO<sub>2</sub> 气体分析仪测定各品种光合效率和 CO<sub>2</sub> 补偿点。用统计痕迹法统计花荚脱落率

3 采用与光合效率密切相关的二磷酸核酮糖羧化酶 Rubisco 小亚基 cDNA 探针 (Pssu), 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GC)基因的 cDNA 探针 (PGC)与大豆叶片 RNA 进行 Northern 斑点杂交,从而测定植株叶片的上述两种酶表达活性。RNA 提取和 Northern 斑点杂交方法按文献<sup>[4 5]</sup>进行,每斑点的 RNA 用量为 20mg 叶片提取的总 RNA

4 利用硝酸还原酶 (NR)基因的 cDNA 探针 (PNR)与大豆叶片 RNA Northern 斑点杂交,测定上述大豆叶片中 NR 基因的表达能力,方法按文献<sup>[4 5]</sup>。每斑点的 RNA 用量为 20mg 叶片提取的总 RNA

5 大豆常温、干旱和阴湿的处理方法

收集同期播种的幼荚期大豆上部完全展开的 5 张叶片,经液氮冷冻后转移到 - 70℃ 冰箱中保存备用

处理方法:① 常温叶片,即采集田间同期同部大豆的叶片 (对照用) ② 干旱处理叶片,即在大田中,用铁架子 (宽× 长× 高 = 1. 5× 3× 1. 5m)罩住植株,架上部用白色塑料布盖住以防雨水进入,在铁架四周挖一深沟通向下水道以防雨水进入,并在开花 10 天后取花荚期的植株上部叶片。③ 阴湿叶片,采集经连续 7 天阴雨并在未晴天前的田间大豆花荚期叶片 (今年夏天遇上连续 8 天阴雨天气,田间还有积水)。

6 Pssu 由 J. Fleck 教授提供, PEG 由 R. Cerff 教授提供, PNR 由 M. Caboche 教授提供。

结 果

1 耐阴黑豆、新黑豆、凤交 66- 12 和京黄 3 号等品种光合产物运转比较

表 1 耐阴黑豆、新黑豆、凤交 66- 12 和京黄 3 号大豆品种光合产物积累和运转的差异性比较

Table 1 Accumulating and transporting distinction of photosynthesis product among Shade- enduring black soybean, New black soybean, Fenjiao 66- 12 and Jinghuang 3

品种 Cultivar	开花至幼荚期			开花至鼓粒期			开花至成熟期			平均	
	Blooming- young podding			Blooming- seed filling			Blooming- maturing			Average	
	0- 15 天			0- 35 天			0- 60 天				
	克 / 天	克 / 15 天	增长率	克 / 天	克 / 35 天	增长率	克 / 天	克 / 60 天	增长率		
	g / day	g / 15 day	%	g / day	g / 35 day	%	g / day	g / 60 day	%		
耐阴黑豆	2. 55	38. 4	444. 68	6. 42	224. 7	32. 37	7. 12	427. 2	17. 66	5. 33	125. 10
新黑豆	2. 75	41. 25	485. 11	5. 91	206. 85	21. 86	6. 64	398. 4	9. 75	5. 10	137. 35
凤交 66- 12	0. 16	2. 4		3. 56	124. 6		4. 22	253. 2		3. 79	68. 10
京黄 3 号	0. 47	7. 05		4. 85	169. 75		6. 05	363		2. 62	95. 95

注: \* 每天平均 10 株运往豆荚和豆粒的干物质 (克)  
Amount of dry matter transported to pod and seed every ten plants every day.  
\* \* 运转干物质总量比对照品种京黄 3 号的干物质总量高出的百分数

Percentage of transporting matter amount higher than control of Jinghuang 3.

表 1表明,光合产物运转好的耐阴黑豆和新黑豆每天平均每株运往豆荚豆粒干物质为 0. 533g和 0. 510g,光合物质运转差的凤交 66- 12和对照品种京黄 3号则分别为 0. 264g和 0. 379g,经统计学分析表明前两个品种明显优于后两个品种,差异性都达到极显著的标准 耐阴黑豆亩产比对照京黄 3号高 30. 4%。

表 2 大豆花英脱落率与光合效率的比较

Table 2 Relationship between abscission rate of flower and pod with ability of photosynthesis in soybean

品种 Cultivar	光效类型 Type of photosynthetic efficiency	花英脱落率 Abscission rate of flower and pod	净同化率		净光合强度	CO <sub>2</sub> 补偿点 (ppm) Compen- sation point of CO <sub>2</sub>	亩产 (公斤) Yield kg/mu
			mg CO <sub>2</sub> dm <sup>-2</sup> hr <sup>-1</sup>		mg CO <sub>2</sub>		
			Net photosynthetic rate 大田 Field	室温条件 Room temperature	dm <sup>-2</sup> hr <sup>-1</sup> Net photosyn- thetic intensity		
耐阴黑豆 Shade- enduring black soybean	高效型 High- efficiency	20. 0	19. 6	15. 2	16. 5	47	171. 25
新黑豆 New black soybean	高效型 High- efficiency	20. 0	18. 9	13. 0	16. 4	50	169. 35
凤交 66- 12 Fengjiao 66- 12	低效型 Low- effie- iency type	64. 5	5. 7	5. 4	9. 7	57	100. 00
京黄 3号 Jinghuang- 3	低效型 Low- effie- iency type	66. 5	6. 8	7. 2	13. 1	55	139. 15

注:① 测定条件: 光强 1. 7万勒克斯,流量: 每分钟通过 0. 4- 0. 6升空气,温度: 28- 30℃  
Testing condition: light intensity 17 thousand lux, flow through 0. 4- 0. 6 liter air- per minutes, temperaturé 28- 30℃.

表 2结果表明: 耐阴黑豆、新黑豆在正常条件下净同化率,净光合强度明显的高于凤交 66- 12和京黄 3号; CO<sub>2</sub> 补偿点低于凤交 66- 12和京黄 3号。它们的花英脱落率 (20)% 明显低于凤交 66- 12(64. 5%)和京黄 3号 (66. 5%),属于花英脱落低的高效型品种。

2 Rubisco小亚基 cDNA探针 (Pssu)与大豆叶片 RNA Northern斑点杂交。

从图 1可以看出,在正常条件下, A= B> C,在干旱条件时, A> C> B,在阴湿条件时, A> B= C,从而表明,在干旱和阴湿逆境条件时, 2- 磷酸核酮糖羧化酶小亚基基因在花英脱落率低的耐阴黑豆 (A)中的表达明显高于 8101(B)和京黄 3号 (C)。

3. 3- 磷酸甘油醛脱氢酶基因 cDNA探针 (PGC)与大豆叶片 RNA Northern斑点杂交。从图 2可以看出,在正常条件时, A= B> C,在干旱条件时, A= B> C,在阴湿条件时, A> B= C,从而表明, 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GC)基因在花英脱落率低的耐阴黑豆 (A)中的表达明显高于京黄 3号 (C)。

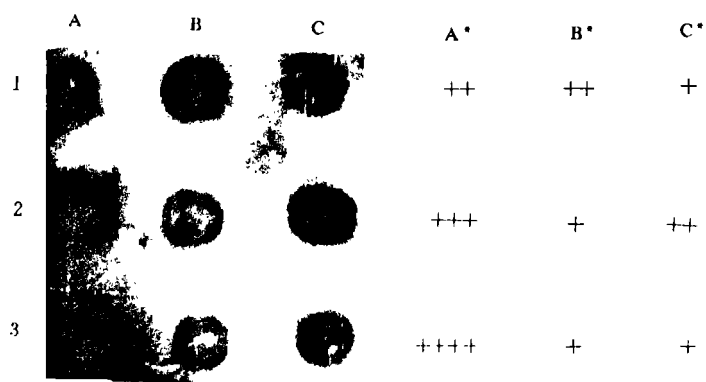


图 1 耐阴黑豆 8101和京黄 3号大豆叶片 RNA与 Pssu探针 Northern斑点杂交比较

Fig. 1 Dot blot hybridization of pssu probe with leaf RNA of Shade-enduring black soybean, Jinghuang 3 and 8101 respectively

图中 A耐阴黑豆 ,B 8101, C 京黄 3号

A Shace- enduring black soybean B 8101 C Jinghuang- 3

1.正常条件叶片 RNA 1. Leaf RNA of normal condition

2.干旱条件叶片 RNA 2. Leaf RNA of dry condition

3.阴湿条件叶片 RNA 3. Leaf RNA of shade and wet condition

\* 图 1右边的 A\*、B\*、C\* 下的“+”号为左边 A B C的 Northern杂交强度表示法,“+”号越多,表明杂交强度越大。

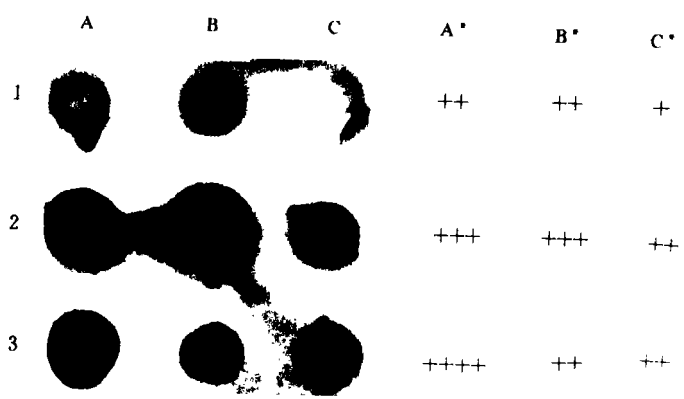


图 2 耐阴黑豆、京黄 3号和 8101大豆叶片与 RNA与 PGC探针 Northern斑点杂交比较

Fig. 2 Dot blot hybridization PGC probe with leaf RNA Shade-enduring black soybean, 8101 and Jinghuang- 3 respectively

4 耐阴黑豆,8101和京黄 3号大豆叶片 RNA与 PNR探针 Northern斑点杂交,从图3可以看出,在正常条件时,A= B= C,在干旱条件时,A> C> B,在阴湿条件时,A> C> B从而表明,在干旱和阴湿条件时,硝酸还原酶基因 NR在抗脱英的耐阴黑豆 (A)的表达明显高于 8101(B)和京黄 3号 (C)

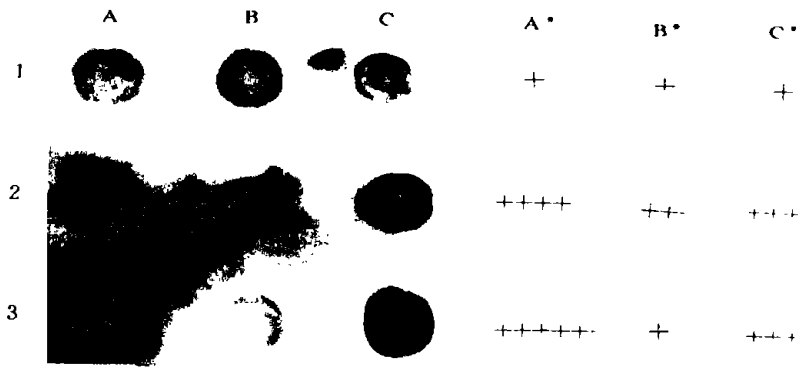


图 3 耐阴黑豆、8101和京黄 3号大豆叶片 RNA 与 PNR探针 Northern斑点杂交比较

Fig. 3 Dot blot hybridization of PNR probe with leaf RNA of Shade- enduring black soybean and 8101 respectively Jinghuang- 3

## 讨 论

在正常条件下,耐阴黑豆具有光合效率高,  $\text{CO}_2$  补偿点低,光合产物合成和积累多,物质运转好,分配合理,每天运往豆荚和豆粒的干物质明显高于其它品种,那么,在干旱、阴湿逆境条件时,耐阴黑豆的命运又如何呢?试验表明,它仍能保持良好的营养供应,下面用 3种酶的活性情况来加以说明。

众所周知,硝酸还原酶催化植物  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$  反应,是  $\text{NO}_2^-$  同化为  $\text{NH}_4^+$  的限速步骤<sup>[6]</sup>。它在植物氮代谢中处于关键位置。硝酸还原酶活力可以作为高蛋白品种选育和营养诊断的生理生化指标<sup>[7-8]</sup>,而 PNR是硝酸还原酶基因 mRNA的 cDNA,可检测该基因的转录活性,而它的 mRNA的出现与硝酸还原酶的出现是一致的,能作为硝酸还原酶活性的指标,从图 3表明,在常温叶片中,NR mRNA转录量是一样的,  $A = B = C$ ,在干旱时  $A > C > B$ 在阴湿条件时,也是  $A > C > B$  从而表明,耐阴黑豆(A)具有明显的抗干旱和阴湿逆境的能力。再从图 1结果分析,二磷酸核酮糖羧化酶 Rubisco小亚基 cDNA探针(pssu)与叶片 RNA的 Northern斑点杂交结果是,常温时  $A = B > C$ ,干旱时  $A > C > B$ ,阴湿时  $A > B = C$ 。图 2是 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GC) cDNA探针(PGC)与叶片 RNA Northern斑点杂交比较,常温时  $A = B > C$ ,干旱时  $A = B > C$ ,阴湿时  $A > B = C$ 。从上述结果可以看出,上述 3个酶基因在常温条件时,以上 3个品种表达基本是一致的;但干旱时除 GC外,耐阴黑豆强于 8101和对照品种京黄 3号;阴湿条件时,具有抗脱英特性的耐阴黑豆(A)的上述 3种酶基因的高效表达更为突出。众所周知,Rubisco酶是光合环中的关键性酶类,小亚基是此酶的重要组成部分<sup>[9]</sup>。3-磷酸甘油醛脱氢酶也是光合作用的必要酶类<sup>[10-12]</sup>。因此,它们的表达标志着光合作用的进行,表达强度越高,光合效率越高。在一般情况下,干旱时和阴湿条件会影响大豆光合产物的形成,造成严重的脱花英现象。然而,耐阴黑豆在干旱和阴湿的恶劣环境下 3种酶能高效表达,能够维持高的光合效率和良好的营养供应,从而表明了大豆抗逆能力和抗脱英有着密切的关系。所以,耐阴黑豆是光合产物积累和运转好,  $\text{CO}_2$  补偿点低,花英脱落率低,抗干旱和阴湿逆境能力强的优良大

## 豆新种质

## 参 考 文 献

- [1] 崔章林, 盖钧镒, 1995, 大豆科学, 14(2): 167– 173
- [2] Sexton R, 1982, Ann. Rev. Plant Physiol. 33 133
- [3] Trewavas A J., 1982, Physiol Plant. 55 60
- [4] Verwoerd. T. C. et al., 1989, Nucleic Acids Res. 17 23– 62
- [5] Sambrook et al., 1989, Molecular cloning 2nd ed. 371– 373
- [6] Schrader L. E. et al., 1975, Crop Sci. 15 710– 713
- [7] 朱长甫, 苗以农, 1990, 大豆科学, 9(1): 33– 36
- [8] 李家喜, 1986, 植物生理学通讯 (4): 30– 32
- [9] 戈巧英等, 1994, 大豆科学, 13(2): 139– 143
- [10] 李立人, 1991, 植物生理学通讯, 27(4): 241– 245
- [11] 沈同, 王镜岩, 赵邦悌, 1980, 生物化学 (下) 480– 488
- [12] 韩天富, 王金陵, 1995, 大豆科学, 14(2): 95– 100

**SHADE- ENDURING BLACK SOYBEAN- AN EXCELLENT NEW GERMPLASM**

Zhang Xingtian Chen Jiannan Zhao Cun Fu Hongyi  
Bai Huixia Qin Huanying Lin Jianxing

(*Institute of Genetics, Academia Sinica, Beijing 100101*)

## Abstract

In Shade- enduring black soybean which synthesizes and accumulates more photo-synthetic products, dry matter transported to both pod and seed per day is remarkably more than in other cultivars such as Fengjiao 66- 12 and Jinghuang 3. In addition to its lower CO<sub>2</sub> compensation point and lower abscission rate of flower and pod, its yield is higher. Dot blot demonstrated that in this cultivar, the ability to express of nitrate reductase gene, glyceraldehyde- 3 phosphate dehydrogenase gene and Rubisco small subunit gene in the leaf during flowering and podding is all higher than that in other cultivars. The high- efficient expressing is especially eminent under dry or shade and wet condition. All these indicate that Shade- enduring black soybean is a germplasm with excellent characteristics.

**Key words** Shade- enduring black soybean; Stress- resist ability; Photosynthetic product; New cultivar of soybean