

研究
简报

水稻低叶绿素 b 突变体光系统 II 的热稳定性

郭春爱 周 玮 刘 芳 许晓明* *

(南京农业大学生命科学学院植物科学系, 江苏南京 210095)

摘 要: 通过测定不同温度处理后水稻低叶绿素 b 突变体及其野生型(镇恢 249)叶绿素荧光参数和快速荧光诱导动力学曲线的变化,研究了低叶绿素 b 对突变体光系统 II 热稳定性的影响。结果表明,突变体荧光参数 F_0 快速升高的温度拐点(43℃)比野生型(46℃)低 3℃。升温到 40℃ 以上,两者多相荧光曲线开始出现明显的 K 点,说明高温伤害了放氧复合体(OEC),且突变体受伤害的程度大于野生型。同时,高温引发 PS II 反应中心失活。总之,低叶绿素 b 突变体对高温更敏感,PS II 捕光色素蛋白复合体(LHC II)中叶绿素 b 减少可能降低了 PS II 结构与功能的热稳定性。

关键词: 水稻;热稳定性;低叶绿素 b 突变体;叶绿素荧光参数;光系统 II

Thermostability of Photosystem II in Low Chlorophyll b Rice Mutant

GUO Chun-Ai, ZHOU Wei, LIU Fang, and XU Xiao-Ming*

(Department of Plant Sciences, College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

Abstract: Low chlorophyll b rice mutant and the wild type rice (Zhenhui 249) were used to study the effects of low chlorophyll b on thermostability of photosystem II in mutant by measuring their changes in chlorophyll fluorescence parameters and polyphasic chlorophyll fluorescence transients under different temperature treatments. The results showed that the temperature of F_0 rising threshold was shifted 3℃ lower in the mutant (43℃) than in the wild type (46℃). At temperature up to over 40℃, O-J-I-P transient was transformed into O-K-J-I-P transient, a very clear K point appeared, this suggested that high temperature damaged the oxygen evolving complex (OEC), and the degree of damage was severer in mutant than in the wild type. In addition, high temperature led to inactivation of PS II reaction centre. All results indicated that the mutant showed a tendency for higher thermosensitivity, and the decrease of chlorophyll b in LHCII could lead to less thermostability of PS II structure and function.

Keywords: Rice; Thermostability; Low chlorophyll b mutant; Chlorophyll fluorescence parameters; Photosystem II

伴随全球工业化进程的加速和温室效应的加剧,地球平均气温升高,高温胁迫已成为影响作物生长的主要环境因子之一^[1]。研究表明,光合机构中的光系统 II 是电子传递链中对热最敏感的组分^[2],高温胁迫很容易抑制其电子传递,导致其光化学效率降低。

低叶绿素 b 突变体是近年来用于研究叶绿素合成机制和叶绿素 b 在类囊体膜捕光色素蛋白复合体装配中作用的重要材料。目前的研究集中于其与野生型光敏感性的差异。但尚未见有关自然低叶绿素 b 突变体热稳定性的研究报道。本文研究的低叶绿素 b 突变体属田间自然突变体。研究表明,该突变体不同于由物理、化学诱变获得的低叶绿素 b 突变体,它有高光效,耐光抑制和高产的生理特性^[3-4]。本文旨在比较野生型与突变体之间光系统 II 的热稳定性,了解水稻

叶绿素 b 减少后热敏感性的变化及高温对水稻的伤害机理,为培育耐高温高光效水稻品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料和温度处理

供试水稻(*Oryza sativa* L.)品种(系)为镇江农业科学研究所提供的镇恢 249(以下简称“野生型”)及其低叶绿素 b 突变体(以下简称“突变体”)。该突变体减少了捕光色素蛋白复合体的含量,叶绿素 a/b 比值高于野生型,分别为 5.3 和 3.3。以幼苗六叶期全展叶片为材料,将叶片中部切段置 36~48℃ 恒温水浴中(HH-2 数显恒温水浴锅,国华电器)暗处理 30 min,以 28℃ 处理为对照。

*基金项目:国家自然科学基金项目(30300217)

作者简介:郭春爱(1981-),女,河南唐河,在读硕士研究生,E-mail:chunaiguo@126.com

*通讯作者(Corresponding author):许晓明,Tel: 025-84395423, E-mail: xuxm@njau.edu.cn

Received (收稿日期): 2006-11-09; Accepted (接受日期): 2007-01-21.

1.2 测定方法

1.2.1 叶绿素荧光参数 用脉冲调制式荧光仪 (PAM-210, Walz, 德国) 测定, 叶片预先暗适应 30 min 后, 置于 30℃ 并以 1℃ min⁻¹ 连续升温至 80℃ 记录 F_o -温度响应曲线。

1.2.2 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线 参照 Strasser 等的方法^[5], 用植物效率分析仪 (Handy PEA, Hansatech, 英国) 测定并计算。测定光强为 3 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。

根据 Strasser 的能量流传递模型(叶片模型)计算 PS II 反应中心失活的百分比^[6], 通过 Handy PEA 数据处理软件 (BiolyzerHP3) 获得模型, 其中空心圆点代表有活性的 PS II 反应中心, 实心圆点代表失活的 PS II 反应中心, 每一个圆点代表 1%。

1.2.3 统计分析 利用 SPSS13.0 的双变量相关分析 (Bivariate) 对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 野生型和突变体水稻 F_o -温度曲线的变化

初始荧光 F_o 是已暗适应的光合机构全部 PS II 中心都开放时的荧光强度, 它已被广泛作为一种热伤害指标, F_o 迅速增大的转折点表示光合膜开始出现不可逆伤害^[7]。如图 1 所示, 随温度升高, 两者的 F_o -T 曲线都呈双峰曲线型, 其峰值的温度分别出现在 60℃、65℃ (野生型) 和 54℃、64℃ (突变体)。 F_o 快速升高的拐点温度分别在 43℃ (突变体) 和 46℃ (野生型), 可见由于叶绿素 b 的减少使 F_o 的阈值温度降低 3℃。

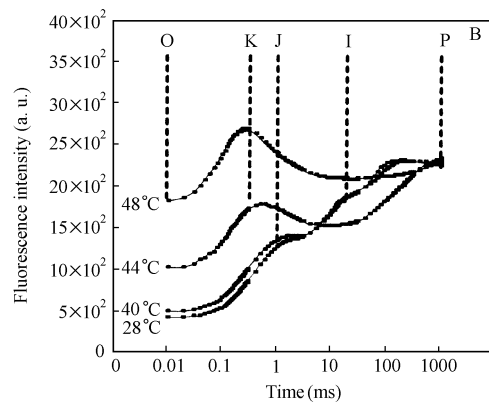
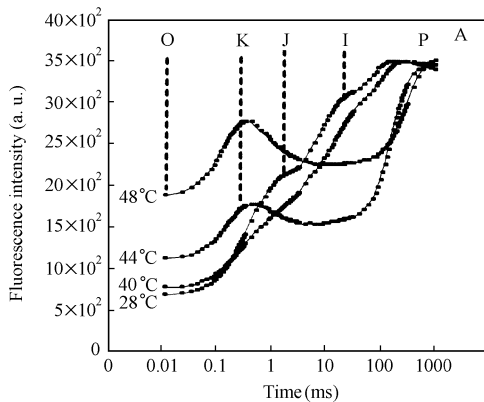


图 2 高温对野生型和突变体叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

Fig.2 Effects of high temperature on polyphasic chlorophyll fluorescence transients in leaves of wild-type (A) and mutant rice (B)

2.3 高温对野生型和突变体水稻 PS II 反应中心的影响

研究表明, PS II 反应中心也是热伤害的位点之一^[12]。随着处理温度的升高, 野生型和突变体 PS II 反应中心失活的百分比增加, 在 40℃ 以下变化不大, 40℃ 以上呈快速增加趋势 (图 4), 至 48℃ 时, PS II 反应中心失活的百分比高达 85% (野生型) 和 95% (突变体)。可见高温引起 PS II 反应中心失活, 且突变体反应中心受伤害程度大于野生型。

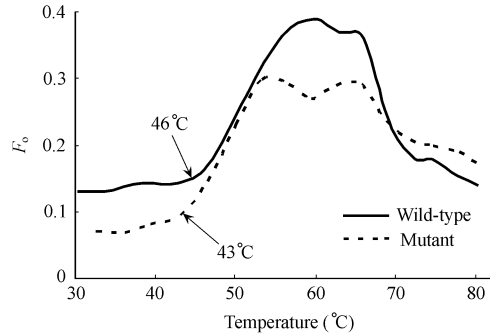


图 1 野生型和突变体水稻的 F_o -温度曲线
Fig.1 The F_o -temperature curves in wild-type and mutant rice

2.2 高温对野生型和突变体水稻 PS II 供体侧的影响

典型的快速荧光诱导动力学曲线有 O、J、I、P 等相^[5]。研究表明, 高温可以引起荧光强度上升, 出现 K 点 (照光后大约 300 μs), 这是水裂解系统被抑制和 Q_A 之前受体侧部分被抑制所造成的^[6,8], 在此抑制过程中受伤害的是放氧复合体 (OEC), 所以 K 点可以作为 OEC 受伤害的一个特殊标记^[7,9]。

由图 2 可见, 当温度升至 40℃ 以上时, 野生型 (图 2-A) 和突变体 (图 2-B) 开始出现 K 点, 说明高温伤害了 PS II 供体侧的 OEC。K 点荧光强度可以用 $V_k [V_k = (F_k - F_o) / (F_m - F_o)]$ 表示, V_k 的大小可以用来衡量 OEC 被破坏的程度^[10-11]。如图 3 所示, 40℃ 以下野生型和突变体的 V_k 变化不大, 但 40℃ 以上随着温度升高 V_k 快速增大, 引起 OEC 的严重破坏, 突变体受伤害的程度大于野生型。

3 讨论

水稻是我国最重要的粮食作物, 生育期历经夏季典型强光、高温的生态条件。高温胁迫已成为制约水稻产量的重要环境因素之一。光合作用是对高温伤害最敏感的代谢活动^[13], 叶绿体类囊体膜对热敏感^[14], 由热激引起的膜结构改变会在 F_o 中得到反映。中度热胁迫 F_o 变化不明显, 当热激

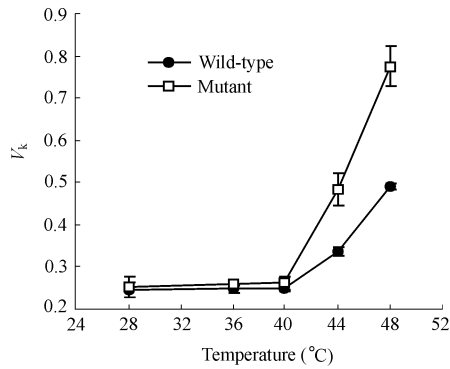


图3 高温对野生型和突变体叶片 V_k 的影响
Fig.3 Effects of high temperature on V_k in leaves of wild-type and mutant rice

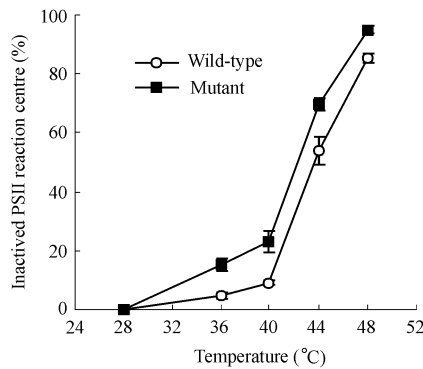


图4 高温对野生型和突变体叶片 PS II 反应中心的影响
Fig.4 Effects of high temperature on PS II reaction center in leaves of wild-type and mutant rice

达到一定阈值强度时引起膜蛋白构象不可逆破坏,表现为 F_0 的骤升^[14]。本研究表明,叶绿素 b 减少使 F_0 的阈值温度降低 3°C,引起突变体热敏感性增加。

在处理温度低于 40°C 时,PS II 反应中心失活百分比少量增加,说明 PS II 反应中心受到一定程度的破坏。但 F_0 和 V_k 变化不大,表明在此温度范围内 PS II 反应中心的破坏是由可逆失活引起的,野生型和突变体差异不大。

研究表明,PS II 供体侧对高温更敏感^[15-16],放氧复合体(OEC)位于类囊体膜基粒片层外侧,由于位置上的特殊性,最易受到高温伤害^[7]。野生型和突变体经 40°C 处理后 V_k 和 F_0 快速升高。统计分析表明, F_0 与 V_k 的变化极显著相关(野生型 $r = 0.988^{**}$,突变体 $r = 0.990^{**}$),说明由 F_0 升高引起 PS II 结构改变的主要部位是 PS II 供体侧的 OEC。由此可见,40°C 以上的高温处理主要引起野生型和突变体 OEC 的破坏,进而引发 PS II 反应中心破坏。而结果也表明突变体 OEC 对高温更敏感。

本研究中的水稻突变体主要缺少叶绿素 b 和 LHCII^[3],而它们对维持 PSII 结构的稳定性起重要作用。结果表明,叶绿素 b 减少对突变体 PS II 供体侧影响较大,显著降低了 OEC

的稳定性,从而导致低叶绿素 b 突变体对高温的较高敏感性。

References

- [1] Zhang G-L(张桂莲), Chen L-Y(陈立云), Lei D-Y(雷东阳), Zhang S-T(张顺堂). Progresses in research on heat tolerance in rice. *Hybrid Rice* (杂交水稻), 2005, 20(1): 1-5 (in Chinese with English abstract)
- [2] Berry J, Björkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Ann Rev Plant Physiol*, 1980, 31: 491-543
- [3] Dai X-B(戴新宾), Cao S-Q(曹树青), Xu X-M(许晓明), Lu W(陆巍), Zhang R-X(张荣铨), Xu C-C(许长成), Chen Y-D(陈耀东), Kuang T-Y(匡廷云). Study on a mutant with low content chlorophyll b in a high yielding rice and its photosynthesis properties. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2000, 42(12): 1289-1294 (in Chinese with English abstract)
- [4] Xu X-M(许晓明), Zhang R-X(张荣铨), Tang Y-L(唐运来). Effect of low content chlorophyll on distribution properties of absorbed light energy in leaves of mutant rice. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2004, 37(3): 339-343 (in Chinese with English abstract)
- [5] Strasser R J, Srivastava A, Govindjee. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochem Photobiol*, 1995, 61(1): 32-42
- [6] Strasser R J, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P eds. Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation. London: Taylor and Francis Press, Chapter 25, 2000. pp 445-483
- [7] Georgieva K, Fedina I, Maslenkova L, Peeva V. Response of chlorina barley mutants to heat stress under low and high light. *Funct Plant Biol*, 2003, 30(5): 515-524
- [8] Guissé B, Srivastava A, Strasser R J. The polyphasic rise of the chlorophyll a fluorescence (O-K-J-I-P) in heat stressed leaves. *Archs Sci Gene*, 1995, 48: 147-160
- [9] Eggenberg P, Rensburg L V, Krüger H J, Strasser R J. Screening criteria for drought tolerance in *Nicotiana tabacum* L. derived from the polyphasic rise of the chlorophyll a fluorescence transient (O-J-I-P). In: Mathis P (ed). Photosynthesis: from Light to Biosphere. Dordrecht: KAP Press, 1995, 4: 661-664
- [10] Appenroth K J, Stöckel J, Srivastava A, Strasser R J. Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. *Environ Pollut*, 2001, 115: 49-64
- [11] Lu C M, Zhang J H. Heat-induced multiple effects on PS II in wheat plants. *J Plant Physiol*, 1999, 156: 259-265
- [12] Havaux M. Characterization of thermal damage to the photosynthetic electron transport system in potato leaves. *Plant Sci*, 1993, 94: 19-33
- [13] Baker N R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiol Plant*, 1991, 81: 563-570
- [14] Weis E, Berry J A. Plant and high temperature stress. In: Long S P, Woodward F I eds. Plant and Temperature. Vol. 42. Symposium of the Society Experimental Biology. Cambridge, UK: Cambridge Company of Biologists, 1988. pp 129-346
- [15] Cajanek M, Stroch M, Lachetova I, Kalina J, Spunda V. Characterization of the photosystem II inactivation of heat-stressed barley leaves as monitored by the various parameters of chlorophyll a fluorescence and delayed fluorescence. *J Photochem Photobiol. B: Biol*, 1998, 47(1): 39-45
- [16] Posp'Isil P, Tyystjärvi E. Molecular mechanism of high temperature induced inhibition of acceptor side of photosystem II. *Photosyns Res*, 1999, 62: 55-66