

超级杂交稻两优培九及其亲本生育后期的光抑制和早衰特性

王荣富¹ 张云华¹ 焦德茂² 钱立生¹ 于江龙^{1*}

(¹ 安徽农业大学生命科学院, 安徽合肥 230036; ² 江苏省农业科学院遗传生理所, 江苏南京 210014)

摘要 以超级杂交稻两优培九(培矮 64S/9311)和母本培矮 64S(PA64S)以及父本中粳 9311 为材料,研究亲本和后代在自然条件下叶绿素荧光和活性氧代谢的差异。结果表明:强光高温下,在叶片衰老过程中,两优培九的叶绿素、蛋白质含量、PS 原初光化学效率(F_v/F_m)和光化学猝灭系数(q_p)减少较少,非光化学猝灭系数(q_N)增加不明显,说明在自然条件下,超级杂交稻两优培九吸收的光能较多地转化为化学能,热耗散较少,耐光抑制。同时两优培九的内源活性氧清除酶系如超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)诱导的活性较高,表现耐光氧化和抗早衰。研究证明超级杂交稻两优培九在耐光抑制和抗早衰特性上具有一定的光合生理优势。

关键词 超级杂交稻;光抑制;早衰;叶绿素荧光特性;膜脂过氧化

中图分类号: S511

Characteristics of Photoinhibition and Early Aging in Super-hybrid Rice (*Oryza sativa* L.) "Liangyoupeijiu" and It's Parents at Late Development Stage

WANG Rong-Fu¹, ZHANG Yun-Hua¹, JIAO De-Mao², QIAN Li-Sheng¹, YU Jiang-Long¹

(¹ College of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui; ² Institute of Agrobiological Genetics and Physiology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, Jiangsu, China)

Abstract With the materials of super-hybrid rice "Liangyoupeijiu" and its female parent Peiai64S and male parent *indica* rice 9311, relationships between Liangyoupeijiu and its parents were studied through chlorophyll fluorescence parameters and key indexes of active oxygen metabolism under natural condition. The decrease of contents of chlorophyll and protein, PS primary photochemical efficiency (F_v/F_m) and photochemical quenching coefficient (q_p) were less; increment of non-photochemical quenching coefficient (q_N) were less in super-hybrid rice Liangyoupeijiu at noon (high light intensity and temperature) and during leaf senescence. The above results suggested that more light energy absorbed by Liangyoupeijiu was converted into chemical energy and less light energy was dissipated through thermal energy, showing the tolerance to photoinhibition. Meantime, the inductive activity of scavenging active oxygen enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) were higher. Thus endogenous active oxygen could be scavenged efficiently. As a result, the membrane-lipid peroxidation was lighter. These showed the tolerance to photooxidation and resistant to early aging. The above results demonstrated that super-hybrid rice "Liangyoupeijiu" had photosynthetic physiology advantage in the tolerance to photoinhibition and resistant to early aging.

Key words Super-hybrid rice; Characteristics of chlorophyll fluorescence; Photoinhibition; Early aging

两优培九(培矮 64S/9311)是我国自 1996 年开始执行“超级稻计划”以来成功培育的几个超高产杂交稻品种之一,具有高产、优质、多抗和适应性广等优点^[1,2]。与常规杂交稻汕优 63 相比,平均产量高于 10 500 kg·hm⁻²,比汕优 63 高出 20%~30%,高产的原因是其叶绿素含量和光合速率较高,在晴天

中午强光下光抑制较轻,耐光氧化^[3-5]。尽管人们已经认识到杂交稻品种的耐光氧化程度与其在自然条件下生育后期的叶绿素衰减快慢(早衰)有关^[6],但是,两优培九与其亲本之间光抑制和早衰特性的研究仍然较少。因此,本文研究比较了两优培九与其母本 PA64S、父本 9311 的叶绿素荧光和活性氧代

*基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(G1998010100)、安徽省自然科学基金资助项目(01041106)和安徽省重点科研项目(03023036)。

作者简介:王荣富(1954-),男,安徽肥东人,博士,教授博士生导师,主要从事植物生理生态的研究。E-mail:rongfuwang@hotmail.com

Received(收稿日期):2002-12-06,Accepted(接受日期):2003-06-30.

谢的关系,以期阐明超级稻耐光抑制和抗早衰的生理基础。

1 材料与方法

1.1 材料

以超级杂交稻两优培九(培矮 64S/9311)和母本“培矮 64S(PA64S)”以及父本中粳“9311”为实验材料,在南京进行盆栽试验,用 0.1% H_2O_2 消毒种子 5 min,30 水中浸种 48 h,在恒温培养箱中 30 催芽 24 h,分期播种,每盆 5 穴,每穴 1 苗,定植于江苏省农业科学院遗传生理研究所网室中,常规管理。

1.2 方法

1.2.1 光合速率的测定 使用 TPS-1 光合仪在孕穗期测定连体旗叶的光合速率, CO_2 含量为 350 $\mu L/L$,叶室温度保持在 30,光强为 1 000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,5 次重复。

1.2.2 Chl 含量的测定 叶圆片浸于 80% 丙酮中,暗中静置,待叶圆片脱色,按 Arnon 的方法测定和计算^[7]。

1.2.3 蛋白质含量测定 按 Bradford 的方法^[8]。

1.2.4 叶片叶绿素荧光参数测定 叶片暗适应 30 min,参照 Genty 等的方法用 FMS2 荧光仪(Hansatech,UK)测定^[9]PS 最大光化学效率(F_v/F_m)、光化学猝灭系数(q_p)、非光化学猝灭系数(q_N),先照弱检测光(0.12 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$),再照饱和脉冲光(4 000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$),闪光(0.9 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)2 s,间隔 30 s。3 次重复。荧光动力学参数按下式计算: $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$; $q_p = (F_m - F_s)/(F_m - F_0)$ ^[10]; $q_N = 1 - (F_m - F_0)/(F_m - F_0)$ ^[11]。从上午 8:00 到下午 18:00 的 PFD 在 200~1 400 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 之间。其中中午 14:00 的 PFD 最高,为 1 400 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,一天中气温的变化在 28~39 之间。

1.2.5 超氧阴离子产生速率的测定 按王爱国等方法^[12]。

1.2.6 丙二醛(MDA)的测定 按 Heath 等的方法^[13]。

1.2.7 SOD 活性测定 按 Gannopolitis 等的方法^[14]。

1.2.8 过氧化物酶(POD)活性的测定 按 Kochrba 等的方法^[15]。

2 结果

2.1 两优培九及其亲本光-光合曲线

超级杂交稻两优培九及其亲本在自然条件下

光-光合曲线见图 1。在 200~1 000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 光强范围内,杂交稻及其亲本叶片的光合速率随光强的增强而逐渐增加,且在 1 000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 达到饱和;在饱和光强下,母本 PA64S 光合速率为 25.2 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,父本 9311 的光合速率为 20 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,而杂交稻两优培九的光合速率为 24.6 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,表现超父本单亲的优势,且偏向母本。

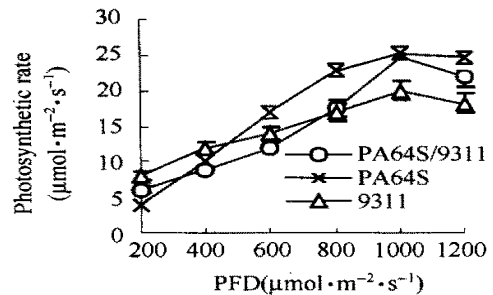


图 1 两优培九及其亲本孕穗期旗叶的光-光合曲线

Fig. 1 Light-photosynthetic rate in flag leaf in Liangyoupeiji and its parents

2.2 两优培九及其亲本的叶绿素荧光

两优培九及其亲本的叶绿素荧光见图 2。在图 2-A 中,两优培九及其亲本的 F_v/F_m 在 14:00 时下降最多。下午随光强减弱, F_v/F_m 回升,恢复到接近早晨水平。在 14:00 时,母本 F_v/F_m 下降了 10.7%,父本 9311 下降了 17.0%,而两优培九则下降了 11.9%,居于父母本之间,且接近母本。在图 2-B 中, q_p 和 F_v/F_m 呈相似的变化,在 14:00 时,母本 PA64S 下降了 18.5%,父本 9311 下降最多,为 33.1%,而两优培九则下降了 22.7%。在图 2-C 中,在 14:00 时,母本 PA64S 上升了 51.1%,父本上升了 118.1%,杂交稻两优培九上升了 76.5%,居于父母本之间,且偏向母本。

2.3 两优培九及其亲本剑叶衰老过程中的叶绿素荧光的变化

叶绿素荧光参数是评估叶片 PS 生理状况的良好指标。如图 3-A 所示,抽穗后 30 d,母本 PA64S 的 F_v/F_m 下降了 9.3%,父本 9311 下降了 17.5%,而两优培九则下降了 12.4%,居于父母本之间,偏向母本。在图 3-B 中,抽穗后 30 d,PA64S 的 q_p 下降了 25.8%,9311 下降了 41.1%,而两优培九则下降了 30.8%。在图 3-C 中,抽穗后 30 d,杂交稻与其亲本的 q_N 都有所增加,PA64S 增加了 13.5%,9311 增加了 49.8%,而两优培九增加了 32.5%。

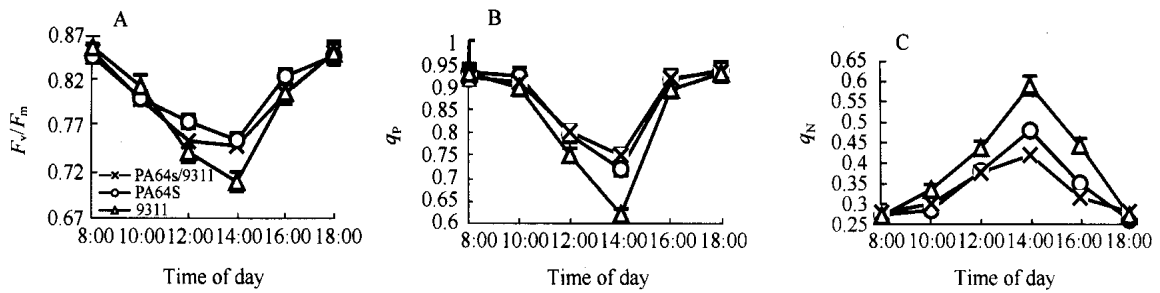


图2 自然条件下两优培九及其亲本的叶绿素荧光的变化

Fig. 2 Diurnal changes of chlorophyll fluorescence in Liangyoupeijiu and its parents under natural conditions

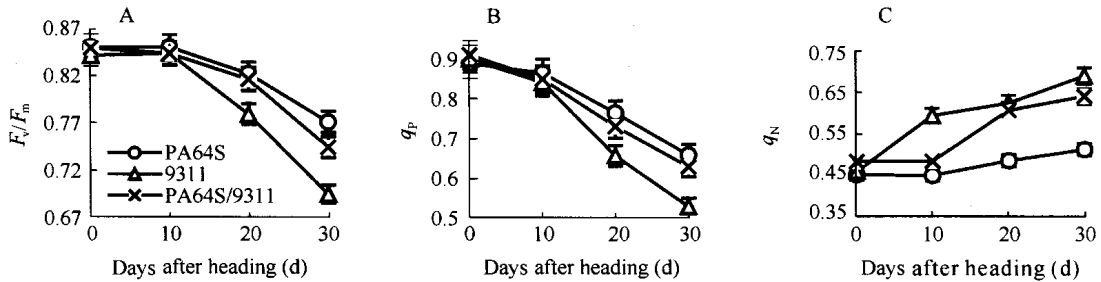


图3 两优培九及其亲本剑叶衰老过程中的叶绿素荧光参数的变化

Fig. 3 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in flag leaves of Liangyoupeijiu and its parents during the course of leaf senescence

2.4 两优培九及其亲本剑叶衰老过程中叶绿素和蛋白质含量的变化

在自然条件下,生育后期叶绿素和蛋白质含量的衰减程度可以反映不同水稻品种衰老情况。如图4-A所示,抽穗后30 d,PA64S的叶绿素和蛋白质含

量分别衰减了50.7%和38.0%,9311分别下降了82.9%和65.3%,比母本易早衰,而杂交稻两优培九的叶绿素和蛋白质含量则分别下降了63.9%和47.8%。由此看来,两优培九生育后期早衰特性偏向母本。

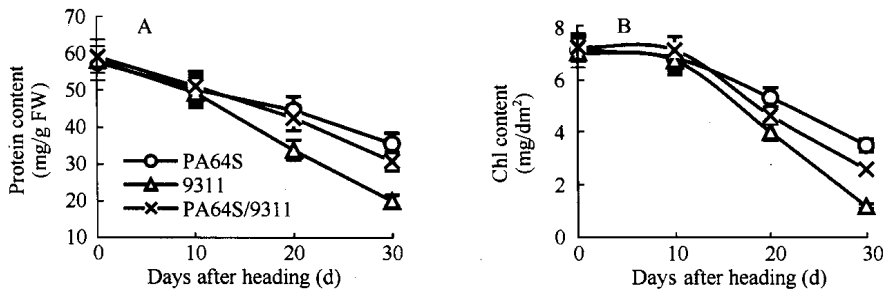


图4 两优培九及其亲本剑叶衰老过程中叶绿素和蛋白含量的变化

Fig. 4 Changes of chlorophyll and protein contents in flag leaves of Liangyoupeijiu and its parents during the course of leaf senescence

2.5 两优培九及其亲本剑叶衰老过程中活性氧的代谢

长时间的光抑制使植物PS还原侧过剩的电子与分子氧反应形成活性氧。活性氧的增多导致膜脂过氧化,从而产生MDA和低级的烷烃,对生物膜造成伤害^[23]。如图5-A和图5-B所示,抽穗后30 d,PA64S的 O_2^- 和MDA分别增加了1.1倍和1.8倍,9311分别增加了1.9倍和3.0倍;而两优培九则分别增加了1.5倍和2.3倍,表明其膜脂过氧化程度

居于父母本之间,且偏向母本。

作为内源保护酶,SOD能催化 O_2^- 转变为 H_2O_2 ,然后通过过氧化氢酶和过氧化物酶(POD)将后者分解为 H_2O 和 O_2 。如图5-C所示,抽穗后10 d,亲本与杂交稻两优培九的SOD活性都有所增加。随后SOD的活性又开始逐渐下降。到抽穗后30 d,叶内SOD活性,PA64S下降了10.3%,9311下降了45.0%,而两优培九则下降了23.8%。表明在生育后期两优培九的SOD活性一直维持和母本相接近

的较高活性。图 5-D 表明 POD 的活性在生育后期逐渐下降。到抽穗后第 30 天, PA64S 下降了 34.4%, 9311 下降了 53.4%, 两优培九则下降了

23.8%。由此看来, 两优培九和母本有较接近的活性氧清除能力。

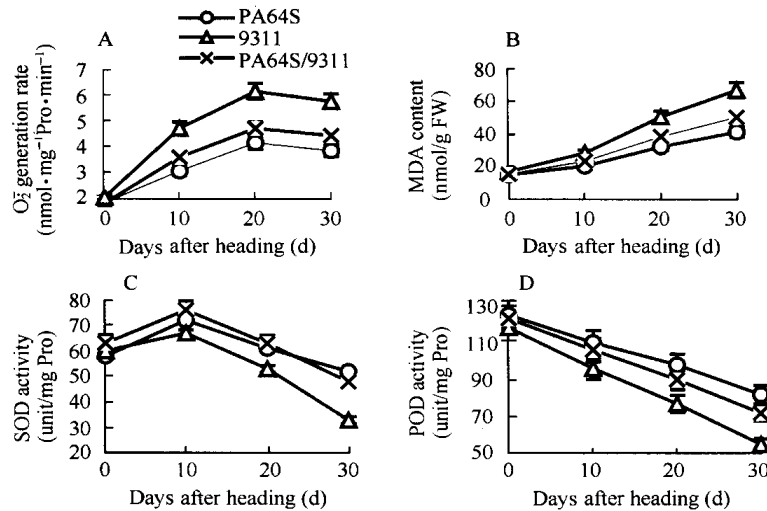


图 5 两优培九及其亲本剑叶衰老过程中活性氧的代谢

Fig. 5 Changes of indices related to metabolism of active oxygen in flag leaves of Liangyoupeijiu and its parents during the course of leaf senescence

3 讨论

F_v/F_m 表示 PS 原初光能转化效率^[16,17] 或 PS 光化学最大效率^[18] 或植物光合作用光抑制的程度^[19,20]。 q_p 表示光化学荧光猝灭系数, 是对 PS 原初电子受体 Q_A 氧化态的一种量度, 代表 PS 反应中心的开放比例^[9], 亦反映了 PS 天线色素吸收的光能用于光化学反应的份额^[21], 其值的降低表明 PS 反应中心的开放比例和参与 CO_2 固定的能量减少。 q_N 表示 PS 天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的那部分光能, 反映了对光合机构起一定的保护作用。两优培九是我国通过两系法培育出来的重穗型超高产杂交稻, 其群体光合叶面积较大, 上部叶片挺直, 光能利用较好^[2]。孕穗期单叶的光合速率表现与母本接近且超父本(图 1)。这与我们过去用不同的籼、粳稻及其杂交稻 F_1 为材料研究证明杂交稻的光抑制特性有偏母本遗传现象的结论一致^[24,25]。在中午的强光高温条件下, 两优培九及其亲本的 F_v/F_m 和 q_p 降低, q_N 增加, 反映强光引起水稻光抑制, 且部分光能以热的形式耗散掉(图 2)。中午 PS 活性的下调是水稻 PS 活性可逆失活的表现, 两优培九具有和母本相接近且高于父本的 PS 反应中心开放部分的比

例, 从而有利于减少不能进行稳定的电荷分离、不能参与光合电子线性传递的 PS 反应中心关闭部分的比例, 使天线色素所捕获的光能以较高比例用于推动光合电子传递, 促进电子传递能力的提高^[22]。光合作用的电子传递总是与形成 ATP 的光合磷酸化相偶联, 而且全电子传递又以 $NADP^+$ 为最终电子受体, 可见两优培九存在相对高的光合电子传递能力, 利于形成较多的 ATP 和 NADPH 供碳同化利用^[21]。与亲本相比, 两优培九与母本相似, 表现耐光抑制, 这可能与存在相对高的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPCase) 活性有关^[5], 在光抑制条件下其叶片存在高诱导的 PEPCase 活性具有明显的稳定光合功能的作用^[26]。

水稻籽粒的大部分干物质是生育后期通过光合作用获得的, 而叶片是植物光合作用的最重要器官^[27]。叶片的过早衰老(早衰)将会导致水稻光合生产力的下降。光合功能衰退过程中一个最明显的指标是叶绿素和蛋白质含量的下降^[4,28]。本研究表明, 两优培九在生育后期的叶绿素和蛋白质含量下降幅度均小于父本 9311, 与母本接近(图 4)。功能叶光能转化和光化学活性 (F_v/F_m 和 q_p) 逐渐下降(图 3)时, 过剩光能引起活性氧代谢和膜脂过氧化作用的逐渐增强, SOD、POD 等一些活性氧清除酶的活性降低(图 5), 反映了叶片发生衰老。与亲本相

比,两优培九与母本相似,内源活性氧清除酶如 SOD 和 POD 诱导活性下降相对较慢, O_2^- 和 MDA 积累较少,因而 F_v/F_m 和 q_p 下降较少,表现抗早衰。比较亲本与杂种,两优培九的耐光抑制和抗早衰能力偏向母本。由此可以推论,在杂交稻母本(不育系)中导入粳性成分,能提高杂交稻耐光抑制和抗早衰能力,达到在良好株型的基础上,发挥籼粳杂交的优势,并组装耐光抑制和防早衰等特性,使水稻稳产、高产。

References

- [1] Lu C-G(吕川根), Zou J-S(邹江石). Selection and application of two-line subspecies hybrid rice "Liangyoupeijiu". *Hybrid Rice* (杂交水稻), 2000, **15**(2): 4—5
- [2] Cheng S-H(程式华), Zhai H-Q(翟虎渠). Comparison of some plant type components in super high-yielding hybrids of inter-subspecies rice. *Acta Agro Sin*(作物学报), 2000, **26**(6): 713—718
- [3] Li X(李霞), Jiao D-M(焦德茂). Photosynthetic characteristics of super hybrid rice "Liangyoupeijiu". *Jiangsu J Agri Sci* (江苏农业学报), 2002, **18**(1): 9—13
- [4] Huang X-Q(黄雪青), Jiao D-M(焦德茂), Li X(李霞). Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane lipid peroxidation of various high-yield rice under photooxidation conditions. *Acta Bota Sin* (植物学报), 2002, **44**(3): 279—286
- [5] Wang Q(王强), Lu C-M(卢从明), Zhang Q-D(张其德), Hao N-B(郝乃斌), Ge Q-Y(戈巧英), Dong F-Q(董凤琴), Bai K-Z(白克智), Kuang F-Y(匡廷云). Characterization of photosynthesis, photoinhibition and the activities of C_4 pathway enzymes in superhighyield rice, Liangyoupeijiu. *Sci China (Ser C)* [中国科学(C辑)], 2002, **45**(5): 468—476
- [6] Jiao D-M(焦德茂), Li X(李霞), Huang X-Q(黄雪青), Ji B-H(季本华). The relationship among photoinhibition, photooxidation and early aging at later developmental stages in different high yield varieties. *Sic Agri Sin* (中国农业科学), 2002, **35**(5): 487—492
- [7] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplast; polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 1949, **24**:1—15
- [8] Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*, 1976, **72**: 248—254
- [9] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta*, 1989, **990**: 87—92
- [10] Foyer C H, Lelandais M, Kunert K.L. Photooxidative stress in plants. *Physiol Plant*, 1994, **92**: 696—717
- [11] van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence non-radiance in plant stress physiology. *Photosynth Res*, 1990, **25**: 147—150
- [12] Wang A-G(王爱国), Luo G-H(罗广华). Quantitative relation between the relation of hydroxy lamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 1990, (6): 55—57
- [13] Heath P L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. . Linetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*. 1968, **125**:189—198
- [14] Gannopolitis S, Ries S K. Superoxide dismutase: . Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 1977, **59**: 309—314
- [15] Kochba J, Lave E S, Spiegel-Roy P. Difference in peroxidase activity and isozymes in embryogenic and non-embryogenic 'Shamouti' orange ovular callus lines. *Plant Cell Physiol*, 1977, **18**: 463—467
- [16] Zhang Q-D(张其德), Zhu G-X(朱广新), Wang Q(王强). Photosynthetic characters of F_1 hybrids in winter wheat and their parents. *Acta Agro Sin* (作物学报), 2001, **27**(5): 727—731
- [17] Lin S-Q(林世青), Xu C-H(许春辉), Zhang Q-D(张其德). Some application of chlorophyll fluorescence kinetics to plant stress physiology phytoecology and agricultural moderation. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), 1992, **9**:1—16
- [18] Kitajima M, Butler W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1975, **376**:105—115
- [19] Xu D-Q(许大全), Zhang Y-Z(张玉忠), Zhang R-X(张荣铎). Photoinhibition of photosynthesis in plants. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), 1992, **28**:237—243
- [20] Demming-Adams B, Admans W W. Photoprotection and other response of plants to high light stress. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, **43**:599—622
- [21] Zhang Q-D(张其德), Zhang J-H(张建华), Liu H-Q(刘合芹), Li J-M(李建民). Effects of limited irrigation and different fertilization ways on some photosynthetic functions of flag leaves in winter wheater. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报). 2000, **6**(1):24—29
- [22] Zhang Q-D(张其德), Lu C-M(卢从明), Feng L-J(冯丽洁), Lin S-Q(林世清), Kuang F-Y(匡廷云), Bai K-Z(白克智). Effect of elevated CO_2 on primary conversion of light energy of alfalfa photosynthesis. *Acta Bota Sin* (植物学报), 1996, **38**(1): 77—82
- [23] Lin Z-F(林植芳), Li S-S(李双顺), Lin G-Z(林桂珠), Sun G-C(孙谷晴), Gao J-Y(郭俊彦). Superoxide dismutase activity and lipid reoxidation in relation to senescence of rice leaves. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1984, **14**:238—243
- [24] Ji B-H, Jiao D-M. Relationships between D1 protein, xanthophylls cycle and photodamage-resistant capacity in rice (*Oryza sativa* L.). *Chinese Science Bulletin*. 2000, **45**(17):1569—1575
- [25] D-M.Jiao, B-H.Ji. Photoinhibition in *indica* and *japonica* subspecies of rice (*Oryza sativa* L.) and their reciprocal F_1 hybrids. *Aust J Plant Physiol*, 2001, **28**:299—306
- [26] Ji B-H(季本华), Jiao D-M(焦德茂). Varietal difference in photochemical efficiency of PS and features of CO_2 exchange in rice leaves under photoinhibitory conditions. *Chinese J Rice Sci* (中国水稻科学), 1998, **12**:109—114
- [27] Zhu C(朱诚), Fu Y-P(傅亚萍), Sun Z-X(孙宗修). Relationship between leaf senescence and activated oxygen metabolism in super high yielding rice flowering and grain formation stage. *Chinese J Rice Sci*, 2002, **16**:326—330
- [28] Robert D R, Thompson J E, Dmbeff E B. Differential changes in the synthesis and steady-levels of thylakoid protein during bean leaf senescence. *Plant Mol Biol*, 1987, **9**:343—353