

研究
简报

小白菜 (*Brassica chinensis* L.) 黄苗突变体的叶绿素荧光特性

郭士伟¹ 张云华^{1,2} 金永庆³ 师素云¹ 谭秀云¹ 刘蔼民^{1,*}

(¹ 江苏省农业科学院遗传生理研究所, 江苏南京 210014; ² 安徽农业大学生命科学学院, 安徽合肥 230036; ³ 镇江市蔬菜研究所, 江苏镇江 212005) *

Characterization of Chlorophyll Fluorescence in a Mutant of *Brassica chinensis* L. with Xantha Seedling Leaves

GUO Shi-Wei¹ ZHANG Yun-Hua^{1,2} JIN Yong-Qing³ SHI Su-Yun¹ TAN Xiu-Yun¹ LIU Ai-Min^{1,*}

(¹ Institute of Agrobiological Genetics and Physiology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014; ² College of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036; ³ Zhenjiang Institute of Vegetable Crops, Zhenjiang, Jiangsu 212005, China)

叶片失绿(黄化)突变体是研究高等植物叶绿素合成、叶绿体遗传和发育的好材料。用这种突变产生的叶色变异作为形态标记在生产上有广泛用途。目前已在玉米、小麦、水稻、大麦、大豆、白菜、油菜、棉花等多种作物中发现或利用诱变技术创造了一些这样的突变体,并分别对其遗传特点、超微结构、叶片蛋白、光合生理等进行了研究。在光合生理的光抑制方面,用不同黄化材料得到的结果完全不同^[6-8,10]。上述这些材料的叶片失绿或由于贯穿于全生育期而影响其生长发育,或系受环境影响所致不能遗传,或能遗传但与不良性状连锁,因此生产上难以应用。我们最近得到了一个自然变异产生的小白菜黄苗突变体,除黄化基本性状外,其他性状与前人研究的材料不同,主要特点是 6 叶龄前子叶和真叶均呈明显的淡黄色,6 叶龄后又逐渐复绿,该性状不受环境影响,可稳定遗传,受隐性单基因控制。将该黄化性状向大白菜、油菜等十字花科作物进行了转育,未见与不良性状连锁,转育后代均表现较强的生长优势^[2]。本文用叶绿素 a、b、类胡萝卜素含量及叶绿素荧光参数为指标,研究了该突变体的光合生理特性,以期为该突变体的光合生理研究及生产应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

实验以小白菜 (*B. chinensis* L.) 黄苗突变株系黄苗寒青

和其野生型寒青为材料,于 2001 年 9 月中旬种植于盆钵中,按常规管理,当苗长至 4~5 叶期(10 月中旬)时,进行各项研究。

1.2 叶绿素 a、b 和类胡萝卜素含量的测定

采用叶圆片法()和研磨法()同时进行,80%丙酮暗中提取,按波钦诺克方法^[4]测定和计算。

1.3 叶绿素荧光动力学参数的测定

用 Hansatech FMS-2 便携脉冲调制式荧光仪于室外自然条件下测定。荧光动力学参数按下式计算: $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$; $q_p = (F_m - F_s)/(F_m - F_o)$; $q_N = 1 - (F_m - F_o)/(F_m - F_o)$ ^[9]。

2 结果与讨论

2.1 叶片色素含量

两种测定方法的结果都说明,野生型的叶绿素含量和类胡萝卜素含量都远高于突变体,但突变体的 Chl a/b 比值和类胡萝卜素/叶绿素比值都远大于野生型。Chl a/b 比值大,说明 Chl b 相对减少较多,因此突变体的 PS 捕光能力弱,同时也有利于向状态 1 的转换,减少 PS 向 PS 激发能转移,提高其 PS 的光化学效率^[7]。当光合机构吸收的光能超过其所利用的量时,过剩的光能可产生活性氧进而引起光合机构的破坏,此时类胡萝卜素可猝灭其中的单线态氧^{1O₂},起到保护光合机构的作用^[1,5]。突变体较高的类胡萝卜素/叶绿

*基金项目:江苏省自然科学基金重点项目(BK2001214)。

作者简介:郭士伟(1971-),男,河南汝州人,硕士,助理研究员,主要从事作物光合生理及遗传改良研究。*通讯作者:刘蔼民

Received(收稿日期):2002-05-16, Accepted(接受日期):2002-09-09.

表 1 突变体和野生型小白菜叶片光合色素含量及组成

Table 1 The photosynthetic pigment (PSP) content and their ratios in mutant and wild-type seedling leaves

	叶绿素含量 Chlorophyll content		Chl a/b		类胡萝卜素含量 Carotenoid content		类胡萝卜素/叶绿素 Carotenoid/ Chlorophyll	
野生型 Wild type	86.31 ±3.5	3.29 ±0.12	3.39	3.07	35.48 ±1.60	0.88 ±0.03	0.41	0.27
突变体 Mutant	47.92 ±2.7 **	1.59 ±0.09 **	4.64	5.49	25.48 ±0.87 **	0.53 ±0.01 **	0.53	0.33

注:表中光合色素含量数据为 5 个叶片所测结果的平均值。和 分别代表研磨法和叶圆片法,单位分别为 mg PSP ·100g⁻¹ FW 和 mg PSP ·dm⁻²。**表示极显著水平。

Note: Values of the chl and carotenoid content are means of 5 separate samples of seedling leaves and their standard deviations. and represent grinding method and leaf disc method using the unit mg PSP ·100g⁻¹ FW and mg PSP ·dm⁻² respectively. ** indicate significance at 1% probability level.

素比值,表明它在相同光能条件下比野生型有较强的活性氧清除能力,从而能更有效地保护其光合机构免受破坏。

2.2 叶绿素荧光

各测定时刻光强和温度变化如表 2 所示。

表 2 各测定时刻光强和温度

Table 2 The light intensity and temperature at the detecting time

时间 Time	光强 Light intensity ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)
6:30	918	8.9
9:30	1080	15.0
12:30	1242	18.5
14:30	990	20.0
17:00	468	15.5

初始荧光 F_0 的增加表明 PS 反应中心发生了伤害。图 1A 显示,强光下野生型和突变体的 F_0 均有上升,最大值分别出现在 12:30(光强,1242 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 和 9:30(光强,1080 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$),但在任何光强下,突变体的 F_0 都明显低于野生型,且强光下最大值时增加的绝对值(62.7)也远小于野生型的(102.2)。因此,强光下虽然二者光合机构都有伤害,但对突变体的伤害程度小于野生型。

荧光参数 F_v/F_m 反映了 PS 原初光化学效率。图 1B 显示,野生型和突变体的 PS 原初光化学效率随光强增加均有不同程度的降低,并分别在 9:30(光强,1080 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$

s^{-1}) 和 12:30(光强,1242 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 下降到最低值,但突变体下降的绝对值(0.052)稍小于野生型(0.066)。而且在所有光强下突变体的 F_v/F_m 都始终高于野生型。说明强光下二者均已经发生了光抑制,但突变体的光抑制程度小于野生型。

q_p 是 PS 是天线色素吸收的光能用于光化学传递的份额,它反映了 PS 中开放的反应中心比例和参与固定 CO_2 的电子多少。从图 1C 可以看出,在实验光强下,突变体和野生型的 q_p 并无大差异,这说明实验光强对材料的光化学猝灭(q_p)没有产生影响。

非光化学猝灭(q_N)反映的是 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部分,热耗散是植物保护 PS 的重要机制。从图 1D 看,强光下(中午 12:30,光强,1242 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$),野生型 q_N 有较大幅度的下降,降低的绝对值为 0.239,降幅达 41.6%,而突变体的 q_N 却几乎没有变化。因此,在强光下突变体比野生型有较强的热耗散能力。

综上所述,小白菜黄苗突变体只有较弱的捕光能力,在强光下比其野生型有较强的热耗散能力和更有效的活性氧清除系统。因此,它比野生型耐光抑制,表现为强光下 PS 光化学效率(F_v/F_m)降低较少和反映光合机构破坏程度的初始荧光 F_0 上升较少。

生产上,油菜、白菜等十字花科作物不育系普遍存在微量到大量花粉自交问题,影响繁殖、制种纯度和杂种优势的利用^[3]。由于同属十字花科,可以方便地将此黄化性状通过转育向近缘作物转移,从而可以依据苗期叶色实现杂种纯度的早期鉴定。耐光抑制性状的确定为小白菜黄苗突变体在生产上的应用奠定了初步的基础。

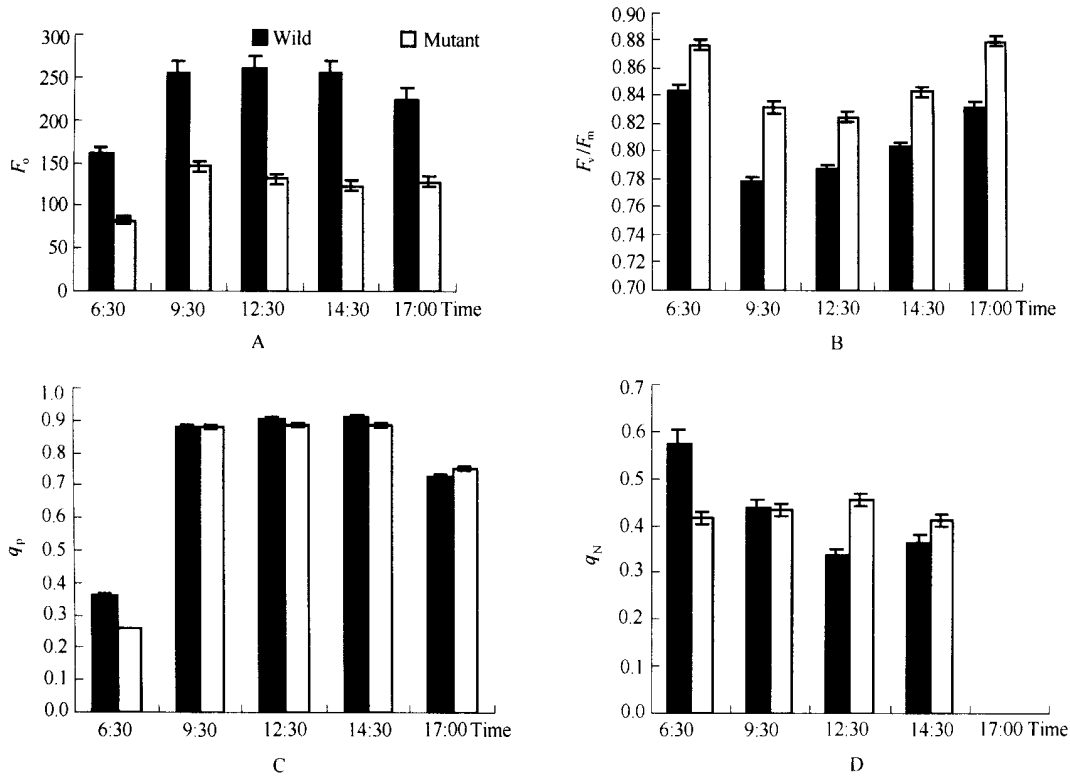


图1 小白菜黄苗突变体和其野生型的叶片叶绿素荧光参数日变化

Fig. 1 The comparison of chlorophyll fluorescence diurnal variation in the seedling leaves between the xantha mutant of *B. chinensis* L. and its wild type

致谢 承蒙焦德茂教授对本文提出宝贵意见。

References

- Jiao D-M(焦德茂). The problem of rice tolerance to photoinhibition and its breeding. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 1993, 29(4): 293—296
- Jin Y-Q(金永庆), Shen X-K(沈晓昆), Yan S-F(颜素芳), Hu Z-Z(胡志中), Wei W-Q(韦武清). The breeding of heterocoplasmic male sterility line of *Brassica chinensis* L. with Xantha seedling leaves and its good cross. *Jiangsu Agricultural Sciences* (江苏农业科学), 2001, (1): 50—53
- Jiang L-C(蒋梁材), Pu X-B(蒲晓斌), Zhang Q-X(张启行), Chen F(陈放). Discovery and its genetic study on the cytoplasmic male sterility line "NEA" in *Brassica napus* L. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2002, 35(1): 72—78
- X. H. (edu). Jing J-H(荆家海), Ding Z-R(丁钟荣) (Translation). *Plant Biochemistry Analysis Methods* (植物生物化学分析方法), Beijing: Science Press, 1981. 255—259
- Demmig-Adams B, Adams W W. . Photoprotection and other responses of plant to high light stress. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43: 599—626
- Leverenz J W, Gunnar O, Gunnar W. Photosynthesis and photoinhibition in leaves of chlorophyll b-less barley in relation to absorbed light. *Physiol Plant*, 1992, 85: 495—502
- Tan X. X, Xu D Q. A Cause of higher photochemical efficiency of photosystem in a chlorophyll-deficient barley mutant. *Acta Phytophysiological Sinica* (植物生理学报), 1997, 23(3): 251—256
- Tan X-X(谭新星), Xu D-Q(许大全), Tang Z-S(汤泽生). Leaf photosynthesis and chlorophyll fluorescence in a chlorophyll-deficient mutant of barley. *Acta Phytophysiological Sinica* (植物生理学报), 1996, 22(1): 51—57
- van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth Res*, 1990, 25: 147—150
- Xu D Q, Chen X M, Zhang L X, Wang R F, Hesketh J D. Leaf Photosynthesis and chlorophyll fluorescence in a chlorophyll deficient soybean mutant. *Photosynthetica*, 1993, 29(1): 103—112