

# 导入玉米 *pepc* 基因杂交稻的光合特性和杂种优势

李季航<sup>1 2</sup> 向珣朝<sup>1 2 3</sup> 何立斌<sup>1 2</sup> 张楷正<sup>1 2</sup> 李 平<sup>1 2 , \*</sup>

(<sup>1</sup>四川农业大学 水稻研究所 , 四川 温江 611130 ; <sup>2</sup>四川农业大学 西南作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室 , 四川 雅安 625014 ; <sup>3</sup>西南科技大学 , 四川 绵阳 621000 ; \* 通讯联系人 , E-mail : liping@cngk . com)

## Photosynthetic Characteristics and Heterosis in Transgenic Hybrid Rice with Maize Phosphoenolpyruvate Carboxylase Gene (*pepc*)

LI Ji hang<sup>1 2</sup> , XIANG Xun chao<sup>1 2 3</sup> , HE Li bin<sup>1 2</sup> , ZHANG Kai zheng<sup>1 2</sup> , LI Ping<sup>1 2 , \*</sup>

(<sup>1</sup> Rice Research Institute , Sichuan Agricultural University , Wenjiang 611130 , China ; <sup>2</sup> Key Laboratory of Southwest Crop Genetic Resource and Improvement , Ministry of Education ; Sichuan Agricultural University , Ya' an 625014 , China ; <sup>3</sup> Southwest University of Science and Technology , Mianyang 621000 , China ; \* Corresponding author , E mail : liping@cngk . com )

Abstract : Rice sterile lines Gang 46A , 776A and 2480A as the female parents were crossed with the improved restorer line Shuhui 881 containing maize phosphoenolpyruvate carboxylase gene (*pepc*) and the restorer line Shuhui 881 (control) . The dynamic changes of photosynthetic characteristics in leaves of the F<sub>1</sub> with *pepc* gene and controls were determined at the initial tillering , maximum tillering , booting , initial heading , heading , maturity stages and other six different periods after flag leaves completely expanded . The leaf PEPCase activities and net photosynthesis rate ( P<sub>n</sub> ) of the three F<sub>1</sub>s with *pepc* gene increased significantly as compared with the controls during the whole developmental stages , and the correlation coefficient ( 0. 6081 \*\* ) between PEPCase activities and P<sub>n</sub> in the three F<sub>1</sub>s with *pepc* gene was significant . The leaf photosynthetic indexes of the three F<sub>1</sub>s with *pepc* gene were obviously superior to the controls , being increased by 30. 6% - 59. 7% , 29. 8% - 36. 9% and 34. 3% - 40. 0% in apparent quantum yield , light compensation point , carboxylation efficiency , respectively , and decreased by 23. 5% - 33. 3% in CO<sub>2</sub> compensation point . The P<sub>n</sub> of the three F<sub>1</sub>s with *pepc* gene at light saturated point and CO<sub>2</sub> saturated point was also higher than that of the controls . Furthermore , there was average 37. 10% competitive advantage compared with the controls for the three F<sub>1</sub>s with *pepc* gene on grain yield per plant . It indicated that the photosynthetic characteristics of the three F<sub>1</sub>s containing *pepc* gene have been improved to some extent as compared with their controls , which established physiological foundation for rice high production .

Key words : hybrid rice ; phosphoenolpyruvate carboxylase gene ; photosynthetic characteristic ; high photosynthetic efficiency breeding ; heterosis

摘 要 : 用含 *pepc* 基因的改良蜀恢 881 与 3 个不育系冈 46A、776A、2480A 配组 , 同时以野生型亲本蜀恢 881 与上述 3 个不育系杂交得到的 F<sub>1</sub> 为对照 , 比较了 3 个含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 及其相应对照在分蘖初期、分蘖盛期、拔节期、始穗期、齐穗期、成熟期以及剑叶完全展开后不同时期的光合指标的动态变化。含有 *pepc* 基因的 3 个 F<sub>1</sub> 在不同生育期和剑叶展开后的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPCase) 活力均显著高于各自对照 , 净光合速率也有所提高 , 分析表明 PEPCase 活力与净光合速率有极显著的相关性 ( 0. 6081 \*\* )。3 个含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 的表观量子效率、光补偿点、羧化效率均高于对照 , CO<sub>2</sub> 补偿点较对照低 , 在光饱和点和 CO<sub>2</sub> 饱和点时的净光合速率也高于相应对照。在单株产量表现中 , 含 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 较对照的平均增幅达 37. 10%。试验表明 , 杂交稻由于 *pepc* 基因的导入 , 光合特性得到了一定改善 , 奠定了水稻高产的生理基础。

关键词 : 杂交稻 ; 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因 ; 光合特性 ; 高光效育种 ; 杂种优势

中图分类号 : Q943 ; Q945 . 11 ; S511 . 032

文献标识码 : A

文章编号 : 1001-7216(2006)05-0499-06

按照光合途径可将植物分为 C<sub>4</sub> 植物、C<sub>3</sub> 植物和 CAM 植物。由于 C<sub>4</sub> 植物在高光强、高温和高氧分压条件下具有较 C<sub>3</sub> 植物高的光合速率 , 作物生理和育种学家曾试图在 C<sub>3</sub> 植物中增强 C<sub>4</sub> 光合特性 , 以期提高 C<sub>3</sub> 植物的光合生产能力<sup>[1-2]</sup>。以前的研究表明<sup>[3]</sup> , 属内 C<sub>4</sub> 光合特性可以通过杂交的方法在 C<sub>3</sub> 植物中传递 , 但科内 C<sub>4</sub> 作物玉米与 C<sub>3</sub> 作物水稻的杂交却未能获得预期的效果。可以明确的是 , C<sub>4</sub> 植物光合作用的关键并不在于它的 Kranz 解剖结构 , 而是控制其 C<sub>4</sub> 途径的酶系统<sup>[4-5]</sup>。近年来 , 许多与 C<sub>4</sub> 途径有关的关键酶基因如 *PEPC*、*NADP*

*ME*、*PPDK* 等已相继从玉米、高粱和苋菜等 C<sub>4</sub> 植物中被克隆<sup>[5]</sup> , 而 Ku 等<sup>[6]</sup> 采用农杆菌介导系统已成功地将玉米 C<sub>4</sub> 途径中促进 CO<sub>2</sub> 固定的关键酶——磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (Phosphoenolpyruvate carboxylase , PEPCase) 基因 *pepc* 导入 C<sub>3</sub> 植物

收稿日期 : 2006-01-10 ; 修改稿收到日期 : 2006-03-29。

基金项目 : 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2003AA212030 , 2004AA207110) ; 教育部长江学者和创新团队发展计划资助项目 (IRT0453)。

第一作者简介 : 李季航 (1980 - ) , 男 , 硕士研究生 , E-mail : lijihang@sohu . com.

水稻粳稻品种 Kitaake 中,并得到相当或高于玉米的表达水平。李霞等<sup>[7]</sup>、王德正等<sup>[8-9]</sup>曾用高表达的转基因水稻作父本与杂交水稻的亲本进行杂交,获得了高 PEPCase 活性和高光合速率的 F<sub>1</sub>材料,证明了常规育种和生物技术相结合可以将转基因水稻中高表达的 *pepc* 基因遗传给后代,为水稻高光效生理育种开拓了新的途径。但转基因原种水稻在农艺性状上的不足(如生育期短,在四川地区只有 90 d 左右)限制了其直接应用。四川农业大学水稻研究所利用现在四川地区广泛种植的籼型恢复系蜀恢 881 作为基因受体,通过多年回交,结合自行 BLAST 设计的 *pepc* 基因特征性引物进行分子标记选育,获得了遗传背景与蜀恢 881 相似度达 95.15% ~ 99.03% 的转 *pepc* 基因改良蜀恢 881。研究表明,*pepc* 基因在新的遗传背景下能够稳定地遗传和表达<sup>[10]</sup>。本试验使用其中遗传背景与轮回亲本相似度达 99.03% 的单株后代与 3 个三系不育系配组,研究了杂交稻全生育期及剑叶完全展开后不同时期的光合特性和杂种优势,以期为高光效杂交稻的选育提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

以转玉米 C<sub>4</sub>型 *pepc* 基因水稻 Kitaake(江苏省农业科学院焦德茂研究员提供)为基因供体,籼型恢复系蜀恢 881(881R)为受体,于 2000 年夏在南京杂交,通过四川温江、海南陵水两地不断回交和分子标记辅助选育,培育出高世代含转玉米 *pepc* 基因的改良蜀恢 881(以下简称 881P)。选取其中与 881R 遗传背景相似度达 99.03% 的 881P 一个单株后代与 3 个三系不育系冈 46A(以下简称 G46A)、776A、2480A 杂交,同时用 881R 与上述 3 个不育系杂交所得 F<sub>1</sub>,即 G46A/881R(CK1)、776A/881R(CK2)、2480A/881R(CK3)为对照。2005 年 4 月 15 日将材料播种于四川农业大学水稻研究所试验基地,参照何立斌等<sup>[10]</sup>的方法,利用 *pepc* 基因的特征性引物对目的基因进行 PCR 筛选,其阳性株及对照于 3 叶期移栽到大田,规格为行距 27 cm,窝距 16 cm,管理同于大田。

### 1.2 PEPCase 活力测定

参照 Kung 等<sup>[11]</sup>和 Gonzalez 等<sup>[12]</sup>的方法测定 PEPCase 活力。取 0.25 g 水稻叶片(去叶脉)加入适量的提取介质(50 mmol/L Tris HCl pH 7.5、1 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、5 mmol/L DTT、1 mmol/L

EDTA、5%甘油),然后迅速充分研磨。研磨液在 13 000 × g 下冷冻离心 10 min,取上清液分析酶活力,反应的总体积为 1 mL,含有 50 mmol/L HEPES KOH (pH 8.0)、10 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>、5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、0.2 mmol/L NADH,以及 2 mmol/L 磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)、1.5 U 苹果酸脱氢酶(MDH),以磷酸烯醇式丙酮酸的加入开始计时,记录 340 nm 光密度的变化,记录 5 次共 1 min,计算 PEPCase 活力。以上整个过程均在冷冻条件下进行。测定的叶片为分蘖初期、分蘖盛期、拔节期、始穗期、齐穗期、成熟期的倒 2 叶以及完全展开后不同时间的剑叶,每个时期每个样品测定 5 株,重复 2 次。其中剑叶的测定是自剑叶完全展开时起,每隔 7 d 测定 1 次,到 35 d 完成。

### 1.3 光合指标测定

净光合速率( $P_n$ )测定用美国 LICOR 公司 LI 6400 型便携式光合作用测定系统,每次测定于上午 10:00 ~ 11:30 进行,参数为叶室 CO<sub>2</sub> 浓度 400  $\mu\text{mol}/\text{mol}$ ,光通量密度(PFD)1200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,温度 30  $^{\circ}\text{C}$ 。在抽穗期测定  $P_n$  对 PFD 的响应曲线,参数为温度 30  $^{\circ}\text{C}$ ,叶室 PFD 设定梯度依次为 50、150、200、400、600、800、1000、1200、1500  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,CO<sub>2</sub> 浓度 400  $\mu\text{mol}/\text{mol}$ ,由  $P_n$  对 PFD 的响应曲线可得表观光量子效率、光补偿点、光饱和点和饱和光合速率。之后依次设定叶室 CO<sub>2</sub> 浓度梯度为 400、300、200、150、100、50、400、400、600、800、1000、1200  $\mu\text{mol}/\text{mol}$ ,PFD 设定在 1200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,通过  $P_n$  对 CO<sub>2</sub> 的响应曲线,求得羧化效率、CO<sub>2</sub> 补偿点、CO<sub>2</sub> 饱和点以及饱和点的  $P_n$ ,整个测定过程都在闭合气路系统下自动测定,测定时期和叶片同 1.2。

### 1.4 农艺性状考查及其数据处理

成熟时每小区除边行随机取样 5 株,考查株高、穗长、单株穗数、每穗粒数、结实率、干粒重和单株产量。对考查结果进行方差分析,所有数据处理过程均在(Data Processing System, DPS)软件上进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同生育时期的 PEPCase 活性和净光合速率的表现

总体上,3 个含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 在 6 个不同生育期的 PEPCase 活性均高于对照(图 1),表明通过杂交转育,*pepc* 基因能够在新的遗传背景下稳定有效地表达。但 3 个含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 又有各自的

表达特点,6个时期中,G46A/881P的PEPCase活性分别是CK1的1.93~6.03倍,以分蘖盛期的提高幅度最大,始穗期其次,为5.74倍,并且此时PEPCase活性达到最高;776A/881P在6个生育期PEPCase活性是CK2的2.34~8.72倍,齐穗期的提高幅度最大,PEPCase活性也在此时达到最高;2480A/881P的PEPCase活性是CK3的3.93~7.94倍,在拔节期达到最高。可以看出,3个含有*pepc*基因的F<sub>1</sub>的PEPCase活性都是在某个生育期达到最高,且在此之前都呈上升的趋势,之后逐渐下降。相比之下,3个对照的PEPCase活性在整个生育期都显著地低于3个含有*pepc*基因F<sub>1</sub>,期间没有明显的起伏。

6个生育期中,3个含有*pepc*基因的F<sub>1</sub>在净光合速率(*P<sub>n</sub>*)的表现上几乎都要好于各自的对照,都是从分蘖初期逐渐上升,在某个时期达到最高,所不同的是,G46A/881P和776A/881P的*P<sub>n</sub>*在拔节期达到最高,而2480A/881P在始穗期达到最高。在*P<sub>n</sub>*达到最大值后,只有G46A/881P的*P<sub>n</sub>*在齐穗期有小幅上扬,其余的2个含有*pepc*基因的F<sub>1</sub>都

呈下降趋势。

### 2.2 剑叶完全展开后的PEPCase活性和净光合速率的表现

水稻最后3片功能叶对籽粒干物质积累有极其重要的作用,其中以剑叶的作用最为突出。由图2可以看出,总的来说,3个含有*pepc*基因F<sub>1</sub>的PEPCase活性自剑叶完全展开逐渐上升,达到最高点之后开始下降。所不同的是,G46A/881P、776A/881P和2480A/881P分别是在剑叶展开21、14、7d时PEPCase活性达到最高,而且此时每个含有*pepc*基因F<sub>1</sub>的PEPCase活性相对于对照的提高幅度也是继剑叶展开35d这一观测点之后最高的,3个含有*pepc*基因F<sub>1</sub>在剑叶展开35d时PEPCase活性相对于对照提高都最大,原因在于对照在此时的PEPCase活性衰减太快。所以可以认为,3个含有*pepc*基因F<sub>1</sub>在PEPCase活性达到最高的时候相对于对照的PEPCase活性提高幅度也最大。

在剑叶展开后的整个测定时期,3个含有*pepc*基因F<sub>1</sub>的*P<sub>n</sub>*都高于对照,但又有各自的特点。自剑叶完全展开起,G46A/881P的*P<sub>n</sub>*有小幅下降,

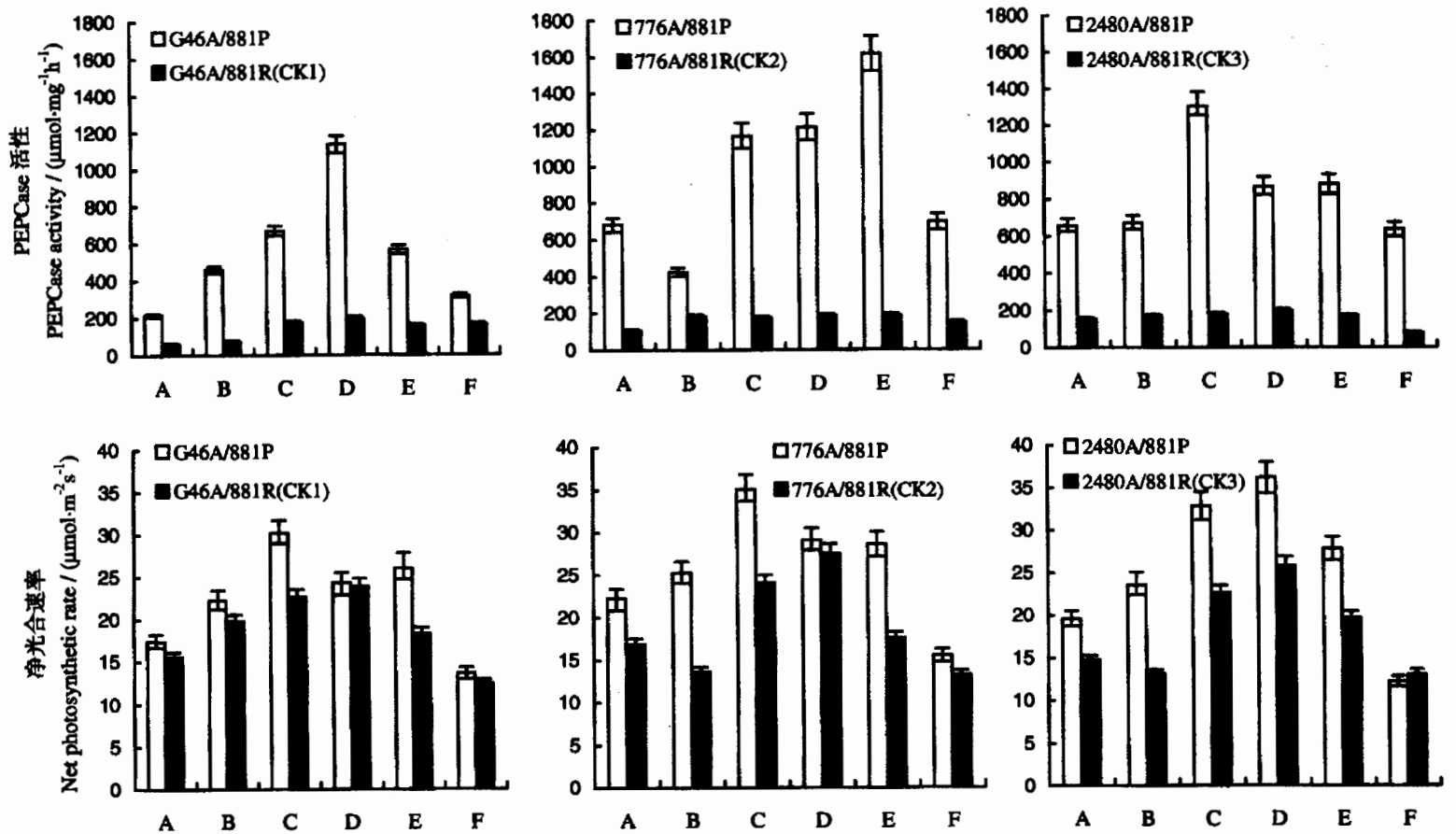


图1 含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 及其对照不同生育期的叶片 PEPCase 活性和净光合速率变化

Fig. 1. Dynamic changes of PEPCase activities and net photosynthetic rate in leaves for three F<sub>1</sub>s with *pepc* gene and their CKs at different stages.

A—分蘖初期; B—分蘖盛期; C—拔节期; D—始穗期; E—齐穗期; F—成熟期。

A, Initial tillering; B, Maximum tillering; C, Elongation; D, Initial-heading; E, Heading; F, Maturity.

881R, Restorer line Shuhui 881 without *pepc* gene; 881P, Improved restorer line Shuhui 881 with *pepc* gene.

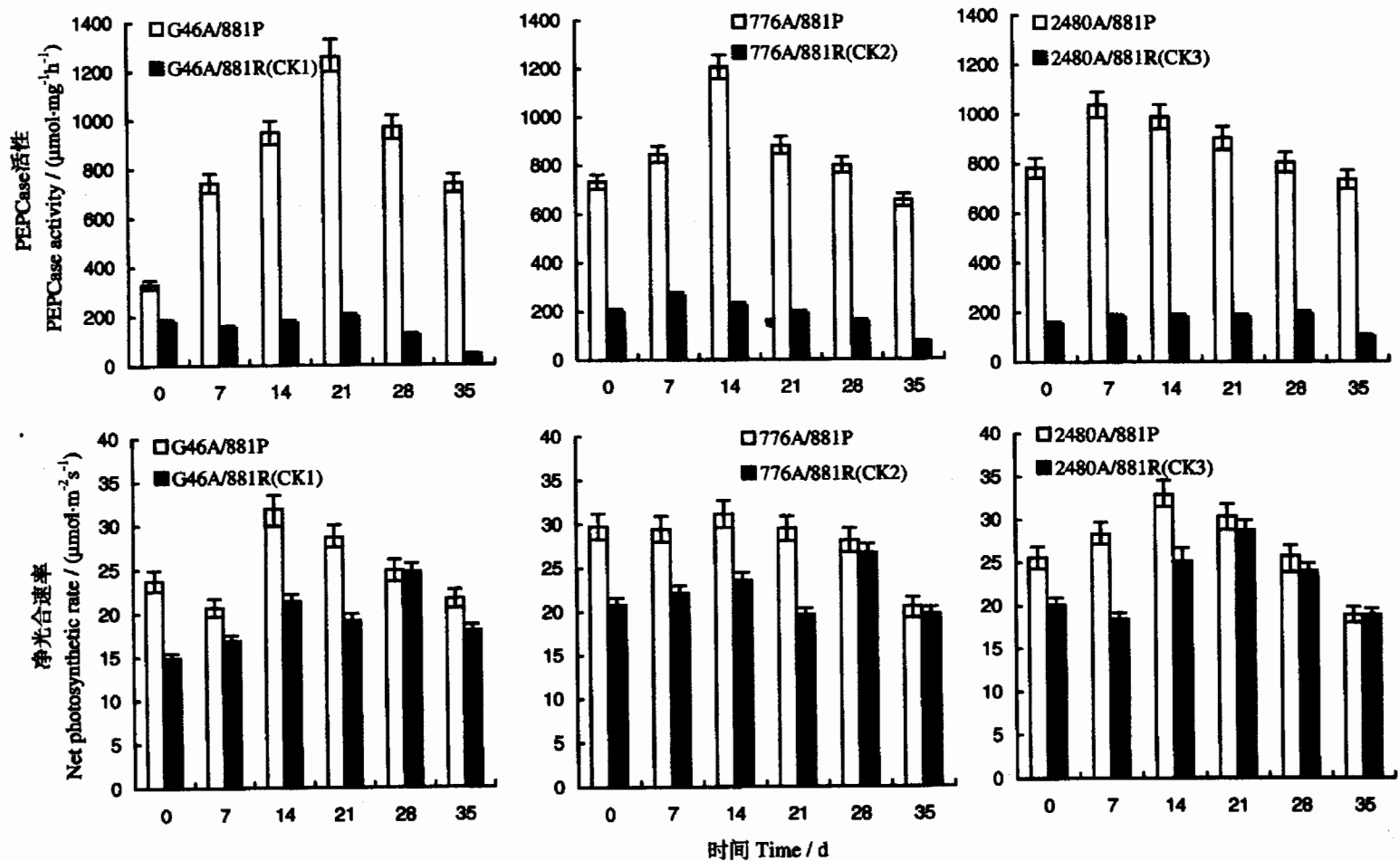


图2 含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 及其对照在剑叶完全展开后的 PEPCase 活性和净光合速率变化

Fig. 2. Changes of PEPCase activities and net photosynthetic rate in flag leaves for three F<sub>1</sub>s with *pepc* gene and their CKs after flag leaves completely expanded.

2480A/881P 逐渐上升,776A/881P 剑叶的  $P_n$  在整个测定的时期都较为平稳。3 个含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 都在剑叶完全展开的第 14 天  $P_n$  达到最大。

### 2.3 有关光合生理指标的表现

从表 1 中可以看出,3 个含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> (G46A/881P、776A/881P 和 2480A/881P) 的表现

量子效率都高于各自对照,分别较相应对照提高了 30.6%、54.3% 和 59.7%,光补偿点也分别提高了 29.8%、31.2% 和 36.9%,杂交稻导入 *pepc* 基因后似乎表现为更加“喜光”。3 个含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 在光饱和点时的净光合速率较对照提高了 11.7%~12.4%。

表 1 含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 及其对照的叶片光合生理指标

Table 1. Photosynthetic indexes in leaves of three F<sub>1</sub> hybrids with *pepc* gene and CKs.

材料 Material	表观量子效率 Apparent quantum yield	光补偿点	光饱和点净光合速率	羧化效率 Carboxylation efficiency	CO <sub>2</sub> 补偿点	CO <sub>2</sub> 补偿点净光合速率
		Light compensation point /( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	$P_n$ at light compensation point /( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )		CO <sub>2</sub> compensation point /( $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	$P_n$ at CO <sub>2</sub> compensation point /( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )
G46A/881P	0.052±0.008**	36.70±2.37**	28.00±1.29**	0.094±0.005**	40.68±2.34**	27.40±2.25*
G46A/881R(CK1)	0.040±0.004	28.27±1.87	24.90±0.93	0.070±0.008	58.62±4.37	24.00±0.77
776A/881P	0.071±0.005**	30.06±1.82**	28.60±1.01**	0.104±0.008**	41.51±2.27**	30.50±1.39*
776A/881R(CK2)	0.046±0.003	22.92±1.73	24.70±0.82	0.075±0.004	62.22±4.75	26.50±1.04
2480A/881P	0.075±0.004**	26.19±2.37**	29.50±1.47*	0.110±0.006**	45.05±4.28**	29.10±2.11*
2480A/881R(CK3)	0.047±0.004	19.13±1.32	26.40±0.22	0.078±0.010	58.83±3.56	25.50±1.12

\* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$ 。下同。

\*, \*\* Significant at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$  level, respectively. The same as in Table 2.

表 2 含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 及其对照的农艺性状的表现Table 2. Agronomic traits of three F<sub>1</sub> hybrids with *pepc* gene and CKs.

材料 Material	株高 Plant height /cm	穗长 Panicle length /cm	单株穗数 Panicle no. per plant	每穗粒数 Spikelet no. per panicle	结实率 Seed setting rate/%	千粒重 1000-grain weight/g	单株产量 Grain yield per plant/g
G46A/881P	122.2±2.4	26.1±0.5**	6.9±0.4	231.1±4.8**	79.3±2.4	27.1±1.0**	34.2±3.5**
G46A/881R(CK1)	119.6±2.0	24.4±0.1	7.0±0.3	211.4±8.0	74.8±3.9	23.9±0.5	27.1±2.2
776A/881P	123.4±1.8	27.7±0.8	10.3±1.5	271.8±14.2	69.0±7.9*	26.4±1.1*	50.5±7.0**
776A/881R(CK2)	126.6±0.2	27.4±0.2	10.0±1.5	296.4±28.6	58.9±3.4	25.1±0.9	37.5±3.9
2480A/881P	113.6±3.2*	26.5±0.2	8.1±1.1**	217.7±7.9**	81.4±4.3	26.0±0.2**	37.7±2.7**
2480A/881R(CK3)	121.4±2.0	27.8±1.0	5.0±0.7	273.3±18.5	79.4±7.2	23.3±1.3	25.1±2.1

对于羧化效率而言, G46A/881P、776A/881P 和 2480A/881P 分别比各自对照提高了 34.3%、38.7% 和 40.0%, 相应的 CO<sub>2</sub> 补偿点则比相应对照降低了 30.7%、33.3% 和 23.5%, 显示出导入的 *pepc* 基因能提高对低浓度 CO<sub>2</sub> 的利用能力。因此, CO<sub>2</sub> 饱和点时的净光合速率, 3 个含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 较对照提高了 14.1%~15.1%。

#### 2.4 含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 及其对照的农艺性状

表 2 显示了含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 以及对照的农艺性状表现, 在株高、穗长上, 分别只有 2480A/881P 和 G46A/881P 与对照有差异, 竞争优势分别为 -6.95% 和 7.10%。在单株穗数、每穗粒数和结实率 3 个产量性状的表现上, 分别也只有 2480A/881P、G46A/881P 和 776A/881P 有正向的竞争优势, 依次为 62.2%、9.30%、17.25%, 其中 2480A/881P 的每穗粒数相对于对照的竞争优势为负。3 个含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 的千粒重显著或极显著高于各自对照, 显示了 *pepc* 基因对籽粒充实度的贡献。在最终的单株生产能力上, 3 个转基因的 F<sub>1</sub> 全部极显著高于对照, G46A/881P、2480A/881P 和 776A/881P 相对于各自对照分别增产 26.31%、34.70% 和 50.30%。881P 与 881R 的背景相似度为 99.03%, 是遗传上近等基因系。从以上农艺性状的分析可以得出, 含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 在千粒重、单株产量等性状上的效应主要是由 *pepc* 基因引起的, 因此育种上利用该基因提高水稻产量是可行的。

### 3 讨论

常规育种→生理育种→生物技术育种是作物育种的发展趋势, 其中“高光效”是植物生理学家和育种学家共同关注的问题。转 C<sub>4</sub> 光合基因种质的创制与应用展示了利用 C<sub>4</sub> 光合特性改良 C<sub>3</sub> 作物光合作用的前景。我们运用回交转育含有 *pepc* 基因的

改良蜀恢 881 与 3 个不育系配组形成了生产上可以直接利用的杂交稻。初步的研究表明, *pepc* 基因在 F<sub>1</sub> 中同样实现了高表达。6 个关键生育期及剑叶展开后不同时期, 3 个含有 *pepc* 基因 F<sub>1</sub> 的 PEPCase 活性都显著高于相应对照(图 1, 图 2), 相应的 P<sub>n</sub> 在不同生育期和剑叶展开后测定时期也几乎好于对照, 分析显示, P<sub>n</sub> 和 PEPCase 活性有极显著的相关性(0.6081\*\*) (图 3)。881P 与 881R 是遗传上的近等基因系, 相似度达 99.03%, 用它们分别与不育系杂交, 含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 在光合生理与单株生产能力上的优势可以认为主要是由导入的 *pepc* 基因引起的, 从育种实践上证明了利用 C<sub>4</sub> 高光效基因的可行性。

试验中, 3 个对照在全生育期也测定到一定的 PEPCase 活性, 但 3 个含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 在全生育期的 PEPCase 活性相对于对照要高得多。实际上, *pepc* 虽然是 C<sub>4</sub> 植物光合作用的关键酶基因, 但 C<sub>4</sub> 植物进化于 C<sub>3</sub>, 它们编码的 *pepc* 基因有很大的

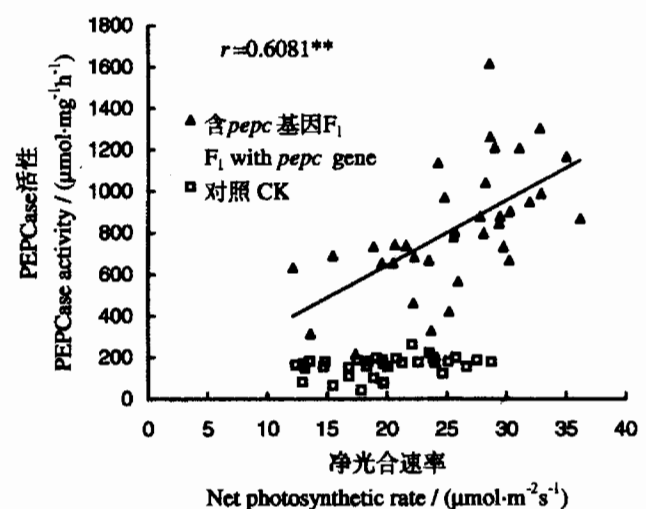


图 3 含有 *pepc* 基因的 F<sub>1</sub> 及其对照 PEPCase 活性与净光合速率的相关性

Fig. 3. Correlation between PEPCase activity and net photosynthetic rate of leaves for three F<sub>1</sub> hybrids with *pepc* gene and their CKs.

序列同源性<sup>[13]</sup>,一般情况下 *pepc*在 C<sub>3</sub>植物中表达的量很有限或者趋于沉默<sup>[13-14]</sup>;之前也有报道在 C<sub>3</sub>作物小麦<sup>[15]</sup>、水稻<sup>[16]</sup>中也有 C<sub>4</sub>光合酶系统,但由于酶活性较低,推测 C<sub>3</sub>植物中可能具有有限的 C<sub>4</sub>光合系统。有关光合生理指标的测定显示(表1),3个含有 *pepc*基因 F<sub>1</sub>的表观量子效率比对照提高了 30.6%~59.7%,光补偿点提高了 29.8%~36.9%,羧化效率较对照提高了 34.3%~40.0%,CO<sub>2</sub>补偿点降低了 23.5%~33.3%。在光饱和点以及 CO<sub>2</sub>饱和点的 P<sub>n</sub>表现上,3个含有 *pepc*基因 F<sub>1</sub>也明显地高于相应对照。我们认为可能是 *pepc*基因的导入增强了原有的 C<sub>4</sub>光合微循环,降低了光呼吸速率,改善了 P<sub>n</sub>。试验中也可以看出,PEPCase活性最大时 P<sub>n</sub>并不一定最高,即不同步变化,所以 *pepc*基因在杂交稻中的表达及其运行机制还值得进一步研究。另外,通过外源 *pepc*基因的导入,杂交组合的光合生理表现得到显著的提高,这是否预示着具有了 C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>中间型植物的特点<sup>[17]</sup>,需从实验上进一步验证。

#### 参考文献:

- [1] Brown R H, Bassett C L, Cameron R G, et al. Photosynthesis of F<sub>1</sub> hybrids between C<sub>4</sub> and C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> species of *Flaveria*. *Plant Physiol*, 1986, 82: 211-217.
- [2] Menz K M, Moss D M, Canel R Q, et al. Screening for photosynthetic efficiency. *Crop Sci*, 1969, 9: 692-694.
- [3] Rikishi K, Oquero H, Samejima M. C<sub>4</sub>-like plant derived from cross *Atriplex rosea*(C<sub>4</sub>) × *Atriplex putula*(C<sub>3</sub>) × *Atriplex rosea*(C<sub>4</sub>). *Japan J Breeding*, 1988, 38: 397-408.
- [4] Osmond C B, Bjorkman O, Anderson D J. Physiological progress in plant ecology // Ecological Studies. New York: Springer Verlag, 1980: 66-110.
- [5] 滕胜,钱前,黄大年. C<sub>4</sub>光合途径的分子生物学和基因工程研究进展. *农业生物技术学报*, 2001, 9(2): 198-201.
- [6] Ku S B, Agrie S, Nomura M, et al. High level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants. *Nat Biotech*, 1999, 17: 76-80.
- [7] 李霞,焦德茂,戴传超,等. 转育 *PEPC*基因的杂交水稻的光合生理特性. *作物学报*, 2001, 27(2): 137-143.
- [8] 王德正,焦德茂,吴爽,等. 转玉米 *PEPC*基因的杂交水稻亲本的选育. *中国农业科学*, 2002, 35(10): 1165-1170.
- [9] 王德正,迟伟,王守海,等. 转 C<sub>4</sub>光合基因水稻特征特性及其在两系杂交稻育种中的应用. *作物学报*, 2004, 30(3): 248-252.
- [10] 何立斌,向珣朝,李季航,等. 蜀恢 881 含玉米 C<sub>4</sub>型 *pepc*基因改良系的遗传背景及其光合特性. *中国水稻科学*, 2006, 20(1): 31-35.
- [11] Kung S D, Chollet R, Marsho T V. Crystallization and assay procedures of tobacco ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase. *Method Enzymol*, 1980, 69: 326-335.
- [12] Gonzalez D H, Iglesias A A, Andreo C S. On the regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase activity from maize leaves by L-malate: Effect of pH. *Plant Physiol*, 1984, 116: 425-430.
- [13] Makoto M, Robert T F, Hiroshi F, et al. Molecular engineering of C<sub>4</sub> photosynthesis. *Ann Rev Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 297-314.
- [14] Huang X Q, Jiao D M, Chi W, et al. Characteristics of CO<sub>2</sub> exchange and chlorophyll fluorescence of transgenic rice with C<sub>4</sub> genes. *Acta Bot Sin*, 2002, 44(4): 405-412.
- [15] Hata S, Matsuoka M. Immunological studies on pyruvate orthophosphate dikinase in C<sub>3</sub> plants. *Plant Cell Physiol*, 1987, 28: 635-641.
- [16] 王强,卢从明,张其德,等. 超高产杂交稻两优培九的光合作用、光抑制和 C<sub>4</sub>途径酶特性. *中国科学: C 辑*, 2002, 32(6): 468-476.
- [17] 王忠. 植物生理学. 北京: 中国农业出版社, 2000: 163-164.