

两优培九剑叶叶绿体衰退进程中的细胞生物学特性初探

雷 华¹ 陈国祥^{1,*} 高志萍¹ 魏晓东¹ 徐艳丽¹ 储慧君¹ 施大伟¹ 吕川根²

(¹南京师范大学 生命科学学院,江苏 南京 210097 ;²江苏省农业科学院 粮食作物研究所,江苏 南京 210014 ; * 通讯作者, E-mail : gxchen@nnu . edu . cn)

Cellular Biological Characteristics of Chloroplast of Flag Leaves in Super Hybrid Rice Liangyoupeijiu During Senescence

LEI Hua¹ , CHEN Guo xiang^{1,*} , GAO Zhi ping¹ , WEI Xiao dong¹ , XU Yan li¹ , CHU Hui jun¹ , SHI Da wei¹ , LU Chuan gen²
(¹ College of Life Sciences , Nanjing Normal University , Nanjing 210097 , China ;² Institute of Food & Crops , Jiangsu Academy of Agricultural Sciences , Nanjing 210014 , China ; * Corresponding author , E mail : gxchen@nnu . edu . cn)

Abstract : To study the cellular biological changes of chloroplasts of flag leaves in super hybrid rice Liangyoupeijiu during senescence , the ultra structure , photosynthetic characters and antioxidant system of chloroplasts were investigated . The results showed that the net photosynthetic rate of flag leaves was decreased gradually during senescence , the chlorophyll content in flag leaves was decreased obviously at the end of senescence , the oxygen consuming activity of PS II and the oxygen evolution activity of PS II were both increased slightly at first and then decreased gradually . Compared with the oxygen evolution activity of PS II , the changes in the oxygen consuming activity of PS II of chloroplasts during senescence were decreased more slowly . The activities of Ca²⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase were obviously decreased first and then increased quickly and decreased remarkably in late period of senescence . Superoxide dismutase played an important role in reducing the damage of active oxygen on the membrane system of chloroplasts in the earlier senescence of flag leaves , while glutathione played an indispensable role in late period , but the function of ascorbic acid wasn't obvious . The changes of photosynthetic characters were consistent with the ultra structure changes of chloroplasts .

Key words : super hybrid rice ; senescence ; chloroplast ; ultra structure ; antioxidant system

摘 要 : 以高产杂交水稻两优培九剑叶完整叶绿体为研究对象,对其衰退进程中光能转化、抗氧化特性和超微结构变化进行了研究。剑叶净光合速率随叶片衰老而逐渐下降,叶绿素含量在衰老后期出现显著下降的趋势。叶绿体 PS II 和 PS II 活性均显示先上升后降低的变化趋势,PS II 活性变化相对于 PS II 活性变化较为缓慢。Ca²⁺-ATP 酶和 Mg²⁺-ATP 酶活性变化呈现先下降后上升最后显著下降的变化趋势。叶绿体衰老早期超氧化物歧化酶在清除活性氧对叶绿体膜系统伤害中具有重要作用,衰老后期谷胱甘肽则发挥较大作用,但抗坏血酸的作用并不明显。电镜观察显示叶绿体超微结构变化与其光合生理功能变化一致。

关键词 : 超级杂交稻 ; 衰老 ; 叶绿体 ; 超微结构 ; 抗氧化系统

中图分类号 : Q942 . 5 ; Q945 . 11 ; S511 . 01

文献标识码 : A

文章编号 : 1001-7216(2008)03-0279-06

叶绿体是真核生物特有的细胞器。地球上唯一可以大规模地把太阳能转变成化学能,把无机物合成有机物并补充大气中氧气的光合作用是在叶绿体内进行的^[1]。水稻叶绿体的细胞及分子生物学特性,是提高水稻光合作用效率、调控水稻叶片叶绿体衰老进程、提高水稻光合产物积累的核心问题。杂交水稻功能叶片早衰是其产量的限制因子,如何提高并发挥叶绿体光合产物对产量贡献潜力,将很大程度取决于对叶绿体衰老进程的调控。因此,探索水稻叶片叶绿体衰老的动态特征及机制,显得尤为重要。迄今国内外相关工作者已从个体、叶片、细胞器等水平对高产杂交水稻功能叶衰老特性进行了不少研究,王荣富等^[2]、张成军等^[3]从叶片水平对高产杂交水稻生育后期的早衰特征进行了报道,欧志英等^[4]研究了高产杂交水稻衰老进程中剑叶 PS

光化学特性和 Rubisco 大、小亚基变化特征;Grover 等^[5]对叶片衰老引起的高等植物叶绿体结构与功能的变化进行过大量研究,但目前对高产杂交水稻功能叶叶绿体衰退进程中细胞生物学特性变化的系统研究尚未见报道。

本研究以大田两优培九剑叶自然衰退进程中完整叶绿体为研究对象,结合叶绿体超微结构的电镜观察,围绕自然衰老动态变化这一事件进行细胞器水平的探索和分析,结果将有助于提高对高产杂交水稻剑叶叶绿体衰退进程及其机制的认识,揭示叶绿体积累光合产物潜力并为适时调控叶绿体衰老进

收稿日期 : 2007-09-19 ; 修改稿收到日期 : 2007-12-14。

基金项目 : 国家自然科学基金资助项目 (30671254) ; 教育部科学技术重点研究项目 (204049)。

第一作者简介 : 雷 华 (1982 -) , 男 , 硕士研究生。

程提供一定的理论指导。

1 材料与方法

以大田种植的超级杂交水稻两优培九(江苏省农业科学院粮食作物研究所提供)为供试材料。采样时间为2006年8月25日剑叶全展到9月29日剑叶黄熟,每7 d采样1次,每次测定均设3次重复。

1.1 完整叶绿体的制备

依照 Marion 等^[6]的方法,并做适当修改。取水稻剑叶15~30 g,置于暗处1 d以耗尽叶片中的淀粉,于150 mL预冷的提取液(含330 mmol/L山梨醇,2 mmol/L EDTA,3 mmol/L MgCl₂,30 mmol/L Hepes,0.1% BSA,pH 7.8)中用组织捣碎机匀浆,4层纱布过滤,所得滤液于2 000 × g下离心2 min,沉淀悬浮于上述提取液,将悬浮液置于40%的 Percoll 梯度上,17 500 × g下离心30 min,取离心管下部的绿色条带,将它转移至另一离心管中,用悬浮缓冲液(上述提取液中不含0.1% BSA)通过离心的方式进行漂洗,2 500 × g下离心10 min,重复2~3次,最终得到的沉淀颗粒用悬浮缓冲液悬浮,即得完整叶绿体,完整率为60%~80%。上述各步骤均在4℃条件下进行。

1.2 净光合速率和叶绿素含量的测定

采用 CIRAS 2 型便携式光合作用测定系统(英国 PP Systems 公司)在大田中测定净光合速率。温度、湿度均为环境水平,环境 CO₂ 浓度控制在 360 μmol/mol,光强从 0 到 2000 μmol/(m² · s)。根据 Arnon^[7]的方法测定叶片叶绿素含量。

1.3 完整叶绿体电子传递活性和 ATP 酶活性的测定

参照 Cooms 等^[8]的方法,并做适当修改。参照 1.1 的方法提取叶绿体,每次试验均用上述悬浮缓冲液稀释叶绿体至相同浓度,采用薄膜氧电极分别测定叶绿体的 PS 还原能力和 PS 放氧活性。按照蔡剑萍等^[9]的方法测定两种 ATP 酶(Mg²⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶)活性。

1.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性、超氧阴离子(O₂^{·-})产生速率、丙二醛(MDA)含量、抗坏血酸(ASA)和谷胱甘肽(GSH)含量的测定

根据李合生^[10]的氮蓝四唑法测定 SOD 活性;参照王爱国等^[11]的方法测定 O₂^{·-}产生速率;用赵世杰等^[12]的硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定 MDA 含量;参照 Tanaka 等^[13]的方法测定 ASA 含

量,依据 Ellman^[14]的方法测定 GSH 含量。

1.5 叶绿体超微结构的观察

选择有代表性的新鲜水稻剑叶叶片,除去叶脉,取叶片中间部位,切成0.1 cm × 0.5 cm的片段,迅速投入到4%的戊二醛固定液中,用针筒抽气,将叶片中的气体排出,使叶片沉入固定液中,并保存于4℃下至少24 h,然后用磷酸缓冲液洗脱3次,每次15 min,换5%锇酸固定,用50%、60%、70%、80%、90%丙酮逐级脱水各15 min,然后用100%丙酮脱水两次,每次7~8 min。Epon 812 树脂浸润包埋,依次于30℃、45℃、60℃下聚合各24 h。LKB V 超薄切片机切片,铀铅双重染色,电子显微镜下观察拍摄。采用 Hitachi600A 2 透射电子显微镜观察。所用药品为国产分析纯或 Sigma 公司产品。

2 结果与分析

2.1 剑叶全展后净光合速率和叶绿素含量的变化

图1显示,两优培九剑叶在衰退进程中光合速率平稳下降。全展后第35天剑叶光合速率最低,在常规光通量密度1500 μmol/(m² · s)下,两优培九剑叶全展后前25 d光合速率维持在较高水平。图2显示剑叶全展后叶绿素含量呈现逐渐下降趋势,21 d后叶绿素含量呈现快速下降趋势。

2.2 剑叶全展后完整叶绿体 PS 耗氧活性、PS 放氧活性及 ATP 酶活性的变化

从表1可以看到,PS 耗氧活性和 PS 放氧活性均显示先上升后降低的变化趋势,且 PS 耗氧活

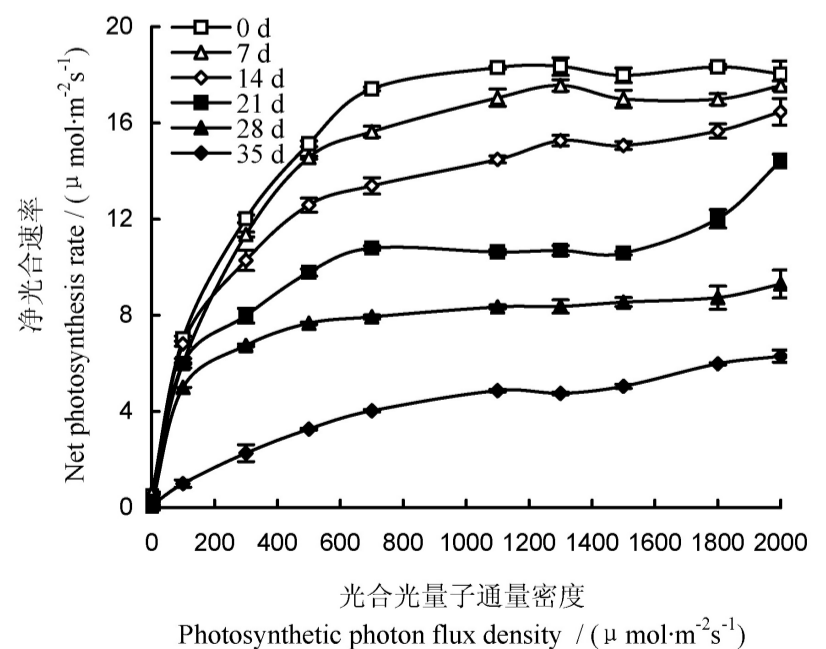


图1 两优培九剑叶光合作用光响应曲线的变化

Fig.1 Changes of response curve of photosynthesis to photosynthetic photon flux density in flag leaves of Liangyoupeijiu. 0, 7, 14, 21, 28, 35 d指剑叶全展后的天数。下同。

0, 7, 14, 21, 28, 35 d mean days after full expansion of flag leaves. The same as in the figures below.

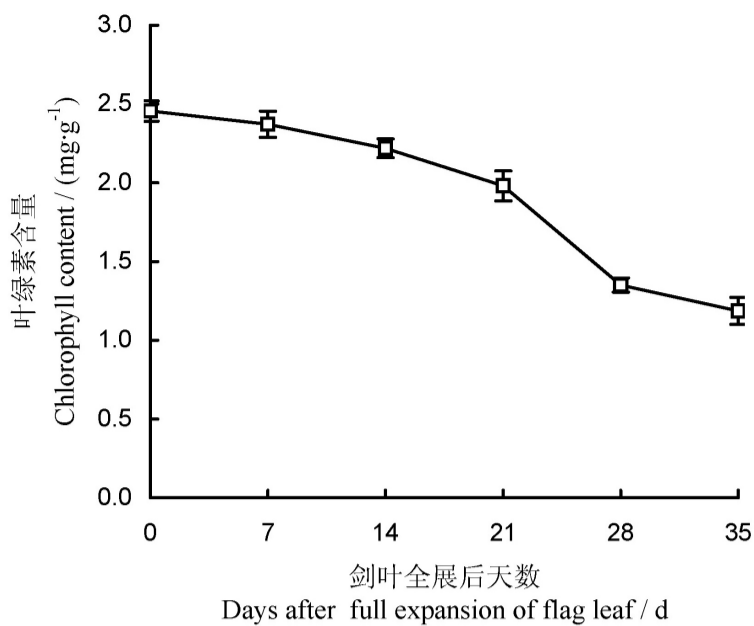


图2 两优培九剑叶叶绿素含量的变化

Fig. 2 Changes in chlorophyll contents in flag leaves of Liangyoupeijiu .

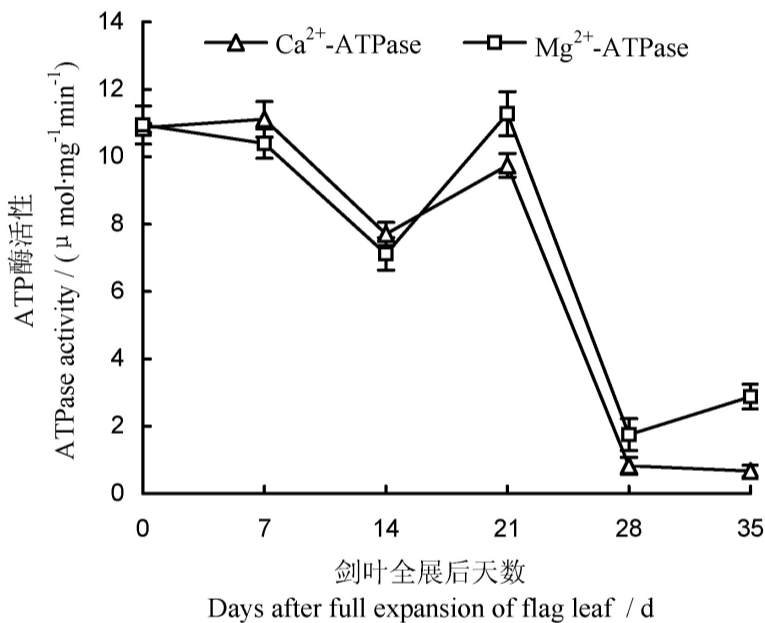


图3 两优培九剑叶在衰退进程中叶绿体 ATP 酶活性的变化

Fig. 3 Changes in activities of ATPases in chloroplasts of flag leaves of Liangyoupeijiu during senescence .

表1 两优培九剑叶叶绿体在衰退进程中 PS 耗氧活性、PS 放氧活性的变化

Table 1 Changes in oxygen consuming activity of PS and oxygen evolution activity of PS in chloroplasts of flag leaves of Liangyoupeijiu during senescence .

剑叶全展后天数 Days after full expansion of flag leaf /d	PS 耗氧活性 Oxygen consuming activity of PS /(μmol·mg ⁻¹ ·min ⁻¹)	比例 Percentage /%	PS 放氧活性 Oxygen evolution activity of PS /(μmol·mg ⁻¹ ·min ⁻¹)	比例 Percentage /%
0	1.47 ± 0.13	100.0	1.19 ± 0.26	100.0
7	1.80 ± 0.06	122.7	1.26 ± 0.12	105.9
14	1.96 ± 0.21	133.5	1.11 ± 0.28	93.7
21	1.61 ± 0.24	109.6	0.88 ± 0.32	74.3
28	1.41 ± 0.12	96.3	0.68 ± 0.25	57.3
35	1.24 ± 0.22	84.9	0.61 ± 0.27	51.3

数据表示为平均值 ± 标准差(n=3)。

Mean ± SD(n=3) .

性均比 PS 高。PS 耗氧活性在剑叶全展后第 14 天时最大,而 PS 放氧活性在剑叶全展后第 7 天达到最大值,随后两者呈现下降趋势。

图 3 显示两优培九剑叶在自然衰退进程中叶绿体 Ca²⁺-ATP 酶和 Mg²⁺-ATP 酶活性的变化趋势是十分相似的,均呈现先下降后上升最后显著下降的趋势。在剑叶全展后最初 14 d 内 Ca²⁺-ATP 酶活性要略高于 Mg²⁺-ATP 酶活性,但在衰老后期 Mg²⁺-ATP 酶活性明显高于 Ca²⁺-ATP 酶活性。

2.3 剑叶衰退进程中叶绿体 O₂^{·-} 产生速率,MDA、SOD、ASA 和 GSH 含量的变化

表 2 显示,两优培九剑叶全展后叶绿体细胞器内的超氧阴离子(O₂^{·-})产生速率和丙二醛(MDA)含量总体变化趋势均是上升的。具体而言,叶绿体内超氧阴离子产生速率在剑叶全展后 14 d 内变化不大,随后逐渐上升,而 MDA 含量在剑叶全展后 7 d 内先略微下降,在之后的 21 d 内缓慢上升,到剑叶全展第 35 天时显著增大,此时 MDA 含量达到初始值的 359.8%。超氧化物歧化酶活性在剑叶全展后呈现逐渐降低趋势。抗坏血酸(ASA)含量在剑叶叶绿体衰退进程中变化不明显,仅在叶绿体衰老后期有少量增加。谷胱甘肽(GSH)含量在两优培九剑叶全展后 21 d 内呈缓慢上升趋势,随后其含量显著上升。

2.4 剑叶衰退进程中叶绿体超微结构的变化

图 4 显示了两优培九剑叶在自然衰老进程中叶绿体细胞器超微结构的动态变化。剑叶全展前期叶绿体个体一般较小,形态以狭长的椭圆形为主(图 4 A),到全展中期,叶绿体数量增多,体积有所膨大,

表 2 两优培九剑叶衰老进程中叶绿体内超氧阴离子($O_2^{\cdot -}$)产生速率、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、抗坏血酸(ASA)和谷胱甘肽(GSH)含量的变化

Table 2 Changes in $O_2^{\cdot -}$ producing velocity, MDA content, SOD activity, ASA content and GSH content in chloroplasts of flag leaves of Liangyou peijiu during senescence.

剑叶全展后天数 Days after full expansion of flag leaf/d	$O_2^{\cdot -}$ 产生速率 $O_2^{\cdot -}$ producing velocity $/(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$	MDA 含量 MDA content $/(\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1})$	SOD 活性 SOD activity $/(\text{U} \cdot \text{g}^{-1})$	ASA 含量 ASA content $/(\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1})$	GSH 含量 GSH content $/(\text{mmol} \cdot \text{mg}^{-1})$
0	$10.09 \pm 1.22(100.0\%)$	$4.86 \pm 0.55(100.0\%)$	$89.37 \pm 2.22(100.0\%)$	$4.49 \pm 0.42(100.0\%)$	$0.10 \pm 0.02(100.0\%)$
7	$10.21 \pm 1.26(101.3\%)$	$3.99 \pm 0.85(82.2\%)$	$85.23 \pm 2.35(95.4\%)$	$4.75 \pm 0.84(105.7\%)$	$0.13 \pm 0.04(121.9\%)$
14	$11.70 \pm 2.03(116.1\%)$	$10.95 \pm 0.72(225.5\%)$	$60.15 \pm 4.26(67.3\%)$	$4.94 \pm 0.69(109.9\%)$	$0.13 \pm 0.06(127.1\%)$
21	$12.95 \pm 1.22(128.4\%)$	$13.42 \pm 0.82(276.4\%)$	$56.24 \pm 1.62(62.9\%)$	$5.11 \pm 0.80(113.6\%)$	$0.18 \pm 0.04(169.5\%)$
28	$16.42 \pm 2.03(162.8\%)$	$15.20 \pm 0.52(312.9\%)$	$46.24 \pm 2.62(51.7\%)$	$5.21 \pm 0.90(115.9\%)$	$0.20 \pm 0.02(193.5\%)$
35	$20.40 \pm 1.22(202.3\%)$	$17.48 \pm 0.82(359.8\%)$	$32.20 \pm 3.33(36.0\%)$	$6.07 \pm 0.91(135.1\%)$	$0.37 \pm 0.05(350.4\%)$

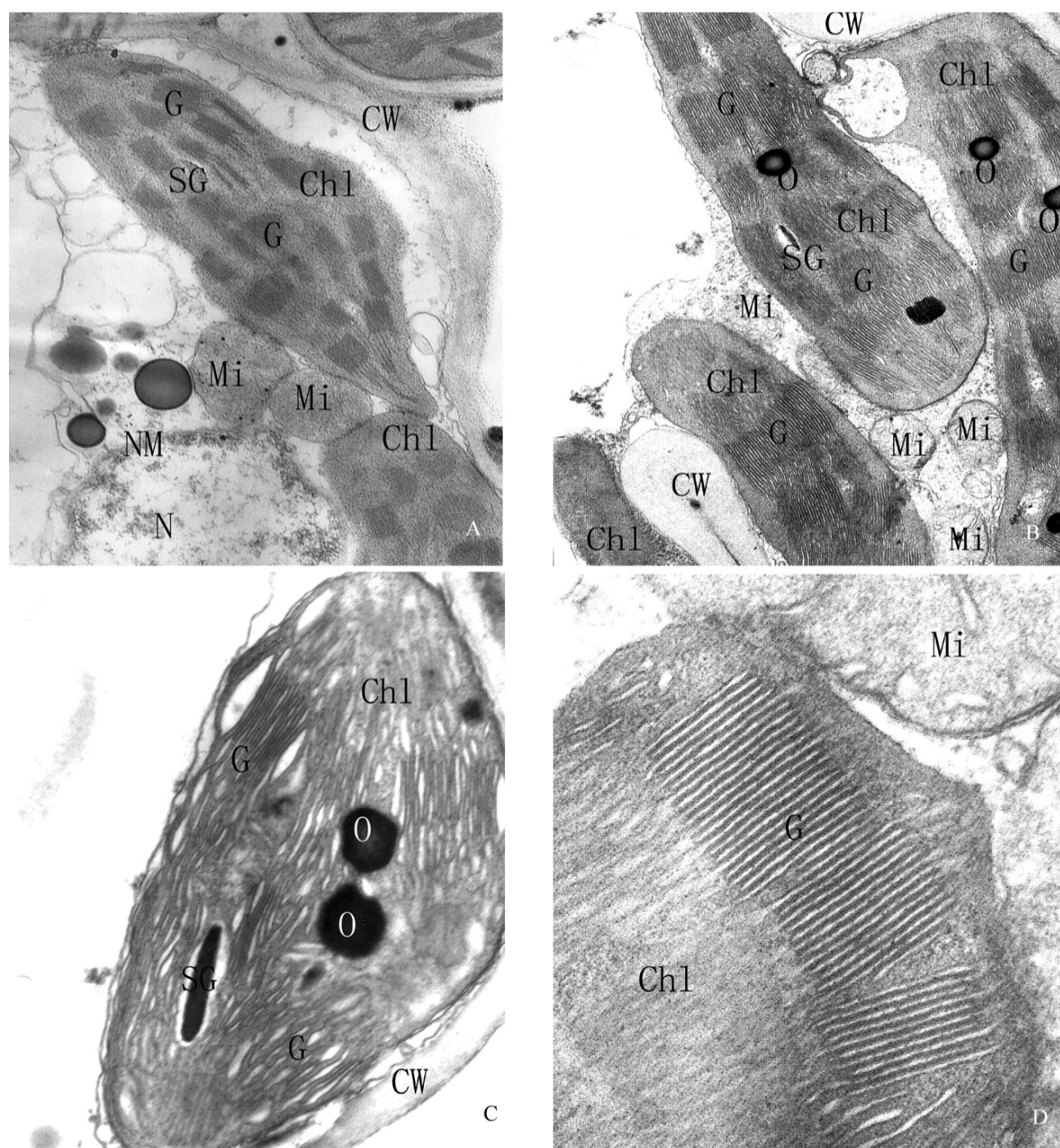


图 4 两优培九剑叶在衰老进程中叶绿体超微结构的变化

Fig. 4. Changes in ultra structure of chloroplast in flag leaves of Liangyoupeijiu during senescence.

A - 剑叶全展后 0 d ($\times 9\ 600$); B - 剑叶全展后 14 d ($\times 10\ 880$); C - 剑叶全展后 35 d ($\times 16\ 000$); D - 剑叶全展后 14 d 叶绿体内基粒片层形态 ($\times 38\ 400$).

Chl - 叶绿体; Mi - 线粒体; N - 细胞核; NM - 核膜; CW - 细胞壁; SG - 淀粉粒; O - 嗜锇滴; G - 基粒.

A, 0 day after full expansion of flag leaves ($\times 9\ 600$); B, 14 days after full expansion of flag leaves ($\times 10\ 880$); C, 35 days after full expansion of flag leaves ($\times 16\ 000$); D, 14 days after full expansion of flag leaves, showing the morphology of grana lamellae ($\times 38\ 400$).

Chl, Chloroplast; Mi, Mitochondria; N, Nucleus; NM, Nucleus membrane; CW, Cell wall; SG, Granulose; O, Osmiophilic granules; G, Granum.

呈梭形或椭圆形(图 4 B)。剑叶内叶绿体着生位置一般在细胞壁的边缘,着生处往往有凹陷(图 4 A、B)。到剑叶全展后期,随着衰老的加剧,叶绿体体积膨大,被膜部分出现穿孔破裂,内部物质减少,相应结构出现破坏(图 4 C)。剑叶全展前后,线粒体的数目可达 8~9 个(图 4 B、C)。剑叶全展后期可观察到膜脂受损的产物如嗜锶滴的出现,其数目随着衰老进程增多,体积增大(图 4 A、B)。从剑叶全展到衰老,均可以观察到叶绿体中淀粉粒的存在(图 4 A、B、C)。叶绿体衰退早期淀粉粒的数目少,且个体较小(图 4 A),到叶绿体衰退中后期淀粉粒数目增多,体积变大(图 4 B、C),导致淀粉粒扩展,基粒类囊体膜散乱。

3 讨论

叶绿体是植物叶片衰退进程中变化最灵敏和明显的器官^[1]。这除了受本身的遗传控制外,还受到其他许多因素的影响^[15]。本试验结果显示杂交水稻剑叶在衰老过程中,叶绿体的光能转化特性、抗氧化系统及其结构均呈现规律性变化。

光合速率与作物产量关系密切,是作物功能叶片主要生理指标^[1]。Thomas 和 Stoddart^[15]指出水稻叶片衰老过程中光合作用是下降的,这种下降主要与光合作用光反应有关组分的降解(叶绿素、类胡萝卜素、Cyt_f 等^[16-17])以及暗反应有关过程的衰退(如 Rubisco 活性的下降、Rubisco 的降解和气孔导度的降低等^[16])有关。本试验结果(图 2)显示两优培九剑叶全展后叶绿素含量呈逐渐下降的变化趋势。通过相关性分析发现剑叶叶绿体自然衰退进程中净光合速率与叶绿素含量呈高度线性正相关($r=0.9671$),与 $O_2\cdot^-$ 产生速率呈高度线性负相关($r=-0.9616$),说明两优培九剑叶叶绿体在自然衰退进程中净光合速率与叶绿素含量变化具有高度一致性,且衰退进程中净光合速率的下降受 $O_2\cdot^-$ 的产生影响明显。Asada^[18]的研究表明植物衰老后期叶绿体内氧化胁迫导致 PS 光化学活性、叶黄素循环及抗氧化特性等的紊乱,直接或间接影响叶片光合作用,同时, Munné Bosch 等^[19]指出叶绿体并不是植物衰老进程中氧毒害的唯一细胞器。类囊体膜是叶绿体光反应的场所,提取完整叶绿体测定电子链传递活性,可为从细胞水平上阐明作物光合效率提供较为直观的依据。电子传递速率与光合磷酸化相偶联,较高的电子传递速率,不仅有利于形成较多的 ATP,而且有利于形成更多的 NADPH,从而促进光

合碳同化的进行和干物质的积累,为高产稳产奠定良好的物质基础。国外已有研究发现,叶片衰老导致叶绿体功能丧失必然伴随着 PS 和 PS 活性的下降,但 PS 比 PS 对衰老更敏感,PS 的光化学活性在叶绿体衰退进程中下降十分明显^[5]。进一步的研究结果表明,PS 放氧活性的下降可能与叶片衰老过程,特别是衰老后期与光反应有关组分(如放氧系统的失活、PS 反应中心复合物、类胡萝卜素等)的降解而使得 PS 功能出现不可逆的衰退有关^[20-21]。本试验中剑叶衰老后期叶绿体 PS 耗氧活性与 PS 放氧活性变化的不协调可能打破电子链原有的平衡,增加超氧阴离子产生的机会,从而加速衰老进程。PS 耗氧活性均较 PS 放氧活性高,这也与王静等^[22]以两优培九幼苗功能叶片为材料测得的结果一致。植物叶绿体 ATP 酶是一种与叶绿体膜结合的复合蛋白,ATP 酶在催化光合磷酸化产生 ATP 的过程中起着重要的作用,是衡量叶绿体光能转化能力的指标之一^[23]。由两种 ATP 酶活性(图 3)变化可以得知,在光合速率高值持续期(图 1),即剑叶全展后 25 d 内,两者均保持在较高的水平,这可能是两优培九能合成较多光合产物,实现高产的生理原因之一。

抗坏血酸和谷胱甘肽均是叶绿体内内源性抗氧化物质,沈成国^[1]发现植物细胞中抗坏血酸-谷胱甘肽循环受衰老的影响,衰老仅微量地增加抗坏血酸(ASA)含量,而谷胱甘肽(GSH)含量则可增加 20 倍。本试验中 ASA 含量在剑叶叶绿体衰退进程中变化不明显,仅在叶绿体衰老后期有少量增加,GSH 含量在两优培九剑叶全展后 21 d 内变化不明显,但在衰老后期显著上升(表 2),这与沈成国^[1]的结果一致。此外,相关性分析也表明 $O_2\cdot^-$ 产生速率与 MDA 含量变化呈高度线性正相关($r=0.8921$),与 SOD 活性变化呈高度线性负相关($r=-0.9228$),与 ASA 和 GSH 含量变化呈高度线性正相关($r=0.9586$, $r=0.9619$),说明叶绿体衰老早期 SOD 在清除 $O_2\cdot^-$ 对叶绿体膜系统伤害方面发挥比较重要的作用,衰老后期 ASA-GSH 循环在缓解超氧阴离子伤害上则发挥一定作用,但这种作用是有限的,衰老产生的活性氧伤害仅能部分地被抗坏血酸-谷胱甘肽循环所抵消。剑叶叶绿体内 $O_2\cdot^-$ 等氧化胁迫加剧和抗氧化防御能力不足可能是叶绿体衰退进程中光合速率下降的一个原因。

叶片衰老必然伴随叶绿体结构的变化^[5],叶绿体衰老过程中叶绿体结构、数目、组分等变化导致光

合作用下降,光合效率和碳同化效率下降,最终导致植物光合生产力下降^[1]。本试验中剑叶衰老早、中期(图 4 A、B) 叶绿体着生位置一般在细胞壁的边缘处,着生处往往有凹陷,这种着生位置有利于叶绿体处在一种较好的受光姿态,从而较大程度地发挥叶绿体光合能力。到剑叶衰老后期,叶绿体膨大,基粒片层松散紊乱,嗜锻滴数目增多,体积增大,此时净光合速率、电子传递链活性和 ATP 酶活性等均下降至最低值(图 1、表 1、图 3)。类囊体膜是叶绿体进行光反应的部位,植物对光能的高效吸收、传递和转换是在类囊体膜上具有一定分子排列方式及空间构象的膜脂蛋白中进行的^[1]。类囊体膜数目的多少与结构的变化往往意味着植物光合功能强弱的改变。本试验中水稻剑叶全展后叶绿体衰退进程的前中期,类囊体的结构相对比较稳定,叶绿体内部充满类囊体膜,基粒之间的联系紧密且数量丰富(图 4 A、B、D),到全展中期时甚至不容易区分基粒之间的明确界限(图 4 B),基粒片层数目较多,有的可以达到 30 层以上(图 4 D)。到剑叶全展后期变化比较明显,叶绿体开始出现类囊体膜消融或者基粒类囊体膜松散的现象,而且随着衰老进程,上述现象会进一步加剧,直至膜间出现空泡状膨大,膜结构遭到破坏(图 4 C),剑叶净光合速率(图 1)、叶绿体 ATP 酶活性(图 3)变化趋势与叶绿体类囊体膜超微结构变化相一致。

本试验中,两优培九剑叶全展后叶绿体代谢能力的许多生理指标均呈现下降的变化趋势。首先表现在电子传递链上,一方面 PS 耗氧活性和 PS 放氧活性在剑叶全展后 7~14 d 内就开始降低,另一方面叶绿体衰老后期 PS 耗氧活性与 PS 放氧活性变化的不协调打破电子链原有的能量平衡;同时捕光色素蛋白的降解使得剑叶叶绿体用于光能转化部分的能量减少,过剩的光能增加;这两者的变化加速活性氧的产生,从而导致膜脂过氧化作用加剧,淀粉等 Calvin 循环产物通过被膜转运到叶绿体细胞器外的能力便受到限制,加之抗氧化系统防御能力下降的共同作用,很可能引起两优培九剑叶叶绿体衰老。两优培九剑叶全展后的灌浆期净光合速率较高且维持较长时间,意味着两优培九具有较强的光合优势,可能是其高产的生理原因之一。本试验初步探讨了两优培九剑叶叶绿体衰退进程中的部分细胞生物学特性,但其高产的分子机理、叶绿体功能组蛋白衰老特征、衰老及与产量之间的具体联系有待深入研究。

参考文献:

- [1] 沈成国. 植物衰老生理与分子生物学. 北京: 中国农业出版社, 2001: 156-166.
- [2] 王荣富, 张云华, 焦德茂, 等. 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. 作物学报, 2004, 30(4): 393-397.
- [3] Zhang C J, Chu H J, Chen G X, et al. Photosynthetic and biochemical activities in flag leaves of a newly developed super high yield hybrid rice (*Oryza sativa*) and its parents during the reproductive stage. *J Plant Res*, 2007, 120: 209-217.
- [4] Ou Z Y, Peng C L, Lin G Z, et al. Relationship between PS excitation pressure and content of super high yielding hybrid rice. *Acta Bot Sin*, 2003, 45(8): 929-935.
- [5] Grover A, Mohanty P. Leaf senescence induced alterations in structure and function of higher plant chloroplasts// Abrol Y P, Mohanty P. Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1992: 225-255.
- [6] Marion K, Jansch L, Kruff V, et al. Analysis of the chloroplast protein complexes by blue native polyacrylamide gel electrophoresis (BN-PAGE). *Photosyn Res*, 1997, 53: 35-44.
- [7] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplast: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 1949, 24: 1-15.
- [8] Coombs J, Hall D O, Long S P. Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis. Oxford: Pergamon Press, 1985: 136-137.
- [9] 蔡剑萍, 李淑俊. 植物叶绿体片层膜上腺苷三磷酸酶的检定. 植物生理学通讯, 1980(2): 33-36.
- [10] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 167-168.
- [11] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系. 植物生理学通讯, 1990(6): 55-57.
- [12] 赵世杰, 李德全. 植物生理生化实验原理与技术. 北京: 高等教育出版社, 1999: 305-306.
- [13] Tanaka K, Suda Y, Kondo N. Ozone tolerance and the ascorbate dependent hydrogen peroxide decomposing system in chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 1985, 26: 1425-1431.
- [14] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem*, 1959, 82: 70-77.
- [15] Thomas H, Stoddart J L. Leaf senescence. *Ann Rev Plant Physiol*, 1980, 31: 83-111.
- [16] Hidema J, Makino A, Kurita Y. Changes in the levels of chlorophyll and light harvesting chlorophyll a/b protein of PS in rice leaves aged under different irradiance from expansion through senescence. *Plant Cell Physiol*, 1992, 33: 1209-1214.
- [17] Murchie E H, Chen Y Z, Hubbart S. Interactions between senescence and leaf orientation determine *in situ* patterns of photosynthesis and photo inhibition in field grown rice. *Plant Physiol*, 1999, 119: 553-563.
- [18] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50: 601-639.
- [19] Munné-Bosch S, Alegre L. Plant aging increases oxidative stress in chloroplasts. *Planta*, 2002, 214: 608-615.
- [20] Misra A N, Biswall U C. Differential changes in the electron transport properties of thylakoid membranes during aging of attached and detached leaves and of isolated chloroplasts. *Plant Cell Environ*, 1982, 5: 27-30.
- [21] Kura-Hotta M, Satoh K, Katoh S. Relationship between photosynthesis and chlorophyll content during leaf senescence of rice seedling. *Plant Cell Physiol*, 1984, 28(7): 1321-1329.
- [22] 王静, 孙磊, 张成军. 杂交稻幼苗期对低温胁迫的生理反应. 作物学报, 2006, 32(7): 1049-1056.
- [23] Salisbury F B, Ross C. Plant Physiology. New York: Wadsworth Publishing Company, 1969: 214.