

普通野生稻和武育粳8号剑叶光合功能衰退的比较

邓志瑞^{1,2}, 陆巍¹, 万建民¹, 张荣铨¹

(1. 南京农业大学水稻研究所, 江苏南京 210095; 2. 上海大学生命科学学院, 上海 200436)

摘要: 以武育粳8号(Wuyujing 8)和普通野生稻(*Oryza. sativa* L. f. *spontanea* Roschev.)为材料, 比较了它们剑叶光合功能衰退的进程。结果表明, 在剑叶一生中, 武育粳8号剑叶的叶绿素含量和光合速率都高于普通野生稻, 光合速率的最高值前者为 $23.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$, 后者为 $15.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$ 。前者剑叶光合速率的高值持续期比后者长近 20 d, 其叶源量是后者的 2.8 倍。武育粳8号剑叶叶绿素含量最大值的 SPAD 值为 50.1, 而普通野生稻最大值的 SPAD 值为 42.7。在可溶性蛋白质的基础上, 核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶比活性二者之间没有太大区别。内肽酶活力上升落后于光合功能的衰退。在光合功能衰退的早期, 内肽酶的活力仅有小幅度提高, 但在叶片衰老的末期升高幅度则较大。这说明内肽酶主要在光合功能衰退的后期即不可逆衰退期才发挥较大作用。

关键词: 光合功能衰退; 光合速率高值持续期; 叶绿素含量; 叶源量; 核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶; 内肽酶

中图分类号: Q945.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)06-0567-05

Comparison on photosynthetic declination of flag leaves between wild rice and Wuyujing 8

DENG Zhi-rui^{1,2}, LU Wei¹, WAN Jian-min¹, ZHANG Rong-xian¹

(1. Institute of Rice Research, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. College of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200436, China)

Abstract: Wuyujing 8(*sinica* type cv.) and Wild rice(*O. sativa* L. f. *spontanea* Roschev.) were used to compare the differences in photosynthetic declination between their flag leaves. The results indicated that during the whole life span of flag leaf, Wuyujing 8 had higher photosynthetic rate and chlorophyll content, the maximum photosynthetic rates being $23.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$ for the former and $15.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$ for the latter; the APD(active photosynthetic duration) of Wuyujing 8 flag leaves was nearly 20 days longer than that of wild rice flag leaves; and its LSC(leaf source capacity) was 2.8 times more than that of wild rice. Maximums of chlorophyll content(valued as SPAD) were 50.1 and 42.7 for Wuyujing 8 and wild rice flag leaves, respectively. Based on content of soluble protein, there was a little difference in specific activities of RuBP carboxylase in flag leaves between wild rice and Wuyujing 8. The activity of endopeptidase started to rise later than beginning of photosynthetic declination, and exhibited slightly higher in early phase of photosynthetic declination, but reached very high level in the latest phase. It implied that endopeptidases play a role mainly in late phase or irreversible phase of photosynthetic declination.

Key words: photosynthetic declination; active photosynthetic duration; chlorophyll content; leaf source capacity; RuBP carboxylase; endopeptidase

收稿日期: 2001-04-16

作者简介: 邓志瑞(1964-), 男, 河南永城人, 博士, 讲师, 主要从事植物生理和植物分子生物学方面的研究工作。

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(973)资助(1998010100)

普通野生稻 (*Oryza sativa* L. f. *spontanea* Roschev.) 经长期的人工选育和自然进化演变成现在的栽培稻 (*Oryza sativa* L.)^[1]。在这个漫长的过程中, 稻株的外部发生了很大的变化, 人们对这些变化有了较为详尽的了解^[1]。但对其内部生理过程的变化, 目前还了解得很少。李明启等人比较了栽培稻和野生稻在光合作用和叶绿素含量方面的差异^[2], Makino 等人详细研究了二者核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶的含量和其动力学特性^[3], 以及水稻叶片衰老过程中光合能力的变化^[4], 但尚未见到有关比较野生稻和栽培稻光合功能衰退进程方面的报道。普通野生稻是多年生的沼泽植物, 生活习性不同于栽培稻。武育梗 8 号是江苏省武进市农科所选育的常规梗稻, 1999 年通过江苏省品种审定并正式命名。经大面积示范种植, 其丰、抗、优综合性状良好, 产量在 650 kg 左右, 高产田块超过 750 kg。为此, 我们以普通野生稻和武育梗 8 号为材料比较了二者在光合功能衰退进程方面的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

普通野生稻和武育梗 8 号按照常规方法种植在南京农业大学校内水泥池内。对武育梗 8 号, 5 月 16 日浸种, 17~18 日催芽, 6 月 18 日移栽。因为野生稻种子很难萌发, 所以利用再生幼苗分根后栽培。栽培按每穴一苗, 行距×株距为 25 cm×20 cm。武育梗 8 号剑叶全展日期为 8 月 25 日, 野生稻剑叶全展日期为 9 月 15 日。

1.2 测定方法

1.2.1 净光合速率 (P_n) 和光合速率高值持续期 (Active Photosynthetic Duration, APD) 光合速率于上午 9:00~9:30 之间测定, 采用北京农业大学 BAU 光合作用测定系统, 起始 CO_2 的浓度为 330 mg/L, 温度 35 ± 3 °C, 光量子通量密度 $1\ 000 \pm 50 \mu E \cdot m^{-2} \cdot S^{-1}$ 。光合速率高值持续期是指从叶片全展到光合速率下降到叶片全展时 50% 的天数^[5,6]。

1.2.2 叶源量 (Leaf Source Capacity, LSC) 按公式 $LSC = \sum (P_n + P_{n+1}) / 2 \times (D_{n+1} - D_n)$ 计算, 其中 P_n 代表第 n 次净光合速率, P_{n+1} 代表第 $n+1$ 次净光合速率, $D_{n+1} - D_n$ 表示两次测定相隔的天数^[7,8]。

1.2.3 叶绿素含量和叶绿素含量相对稳定期 (Rela-

tive Steady Phase of Chlorophyll Content, RSP)

采用日本产 SPAD-502 型叶绿素仪测定活体叶片的 SPAD 值。叶绿素含量相对稳定期是指从叶片全展到叶绿素含量下降到全展时 80% 的天数^[5,9]。

1.2.4 RuBP 羧化酶活性 参照 Perchorwicz 等人的方法^[10], 测定叶片粗提液中酶的活性, 以粗提液中可溶性蛋白计算酶的比活性。

1.2.5 可溶性蛋白含量 按 Read 和 Northcoted 的方法^[11], 标准曲线用小牛血清蛋白制作。

1.2.6 内肽酶活性 参照 Reimerdes 和 Klostermeyer 的方法^[12], 每克鲜叶片加 2 mL pH8.0, 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (内含 1 mmol/L EDTA, 2 mmol/L DTT, 0.1% PVP) 和少量石英砂在研钵中于冰浴上研磨, 在 4 °C, $15\ 000 \times g$ 离心 20 min, 弃沉淀, 上清液定容到 8 mL, 此溶液用于内肽酶活性的测定。内肽酶测定体系组成如下: pH5.0, 200 mmol/L 醋酸钠缓冲液 0.4 mL, 上述酶液 0.4 mL, 1% 的酪蛋白 0.2 mL。混合物于 45 °C 保温 1 h, 加入 1 mL 10% 三氯乙酸中止反应, 对照则在保温前加入三氯乙酸。4 °C 静止 30 min, 在 4 °C, $15\ 000 \times g$ 离心 15 min。取上清液 0.2 mL 加入 2.8 mL, 1% 的茚三酮, 水浴煮沸 15 min, 冷却后测定 570 nm 光密度值, $\Delta A_{570} \cdot mg^{-1} \text{protein} \cdot h^{-1}$ 表示内肽酶活力的大小。

2 实验结果

2.1 叶绿素含量的变化

从图 1 可以看出, 在剑叶一生中, 普通野生稻叶绿素含量低于武育梗 8 号, 普通野生稻剑叶全展时 SPAD 值为 40.1 ± 0.6 , 最高值也只有 42.4 ± 1.2 ; 而武育梗 8 号剑叶全展时 SPAD 值为 47.0 ± 0.6 , 最高值高达 50.1 ± 0.9 。从图 1 计算出普通野生稻剑叶叶绿素含量相对稳定期长度为 25.5 d, 而武育梗 8 号剑叶叶绿素含量相对稳定期则长达 45.5 d。

2.2 光合速率和叶源量的差异

从图 2 知道, 野生稻剑叶净光合速率比武育梗 8 号低。前者全展时仅有 $11.8 \mu mol CO_2 m^{-2} \cdot S^{-1}$, 最大值才达 $15.5 \mu mol CO_2 m^{-2} \cdot S^{-1}$, 而后者全展时为 $20.4 \mu mol CO_2 m^{-2} \cdot S^{-1}$; 最大值则高达 $23.5 \mu mol CO_2 m^{-2} \cdot S^{-1}$ 。光合作用的高值持续期相差更为明显, 普通野生稻为 25 d, 武育梗 8 号则长达 45 d。从图 2 可以计算出武育梗 8 号剑叶的叶源量

为 $25.3 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$, 而野生稻剑叶的叶源量仅 $10.5 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$, 前者是后者的 2.8 倍。从光合速率、光合速率高值持续期和叶源量 3 个方面都可以清楚地看出, 栽培稻武育梗 8 号剑叶的光合功能强于普通野生稻。

2.3 蛋白质含量和内肽酶活性的变化

光合功能衰退过程中可溶性蛋白含量(图 3)总的趋势是可溶性蛋白含量在剑叶全展后 7~10 d 达到最高值(此时剑叶光合速率也最大), 然后随着光

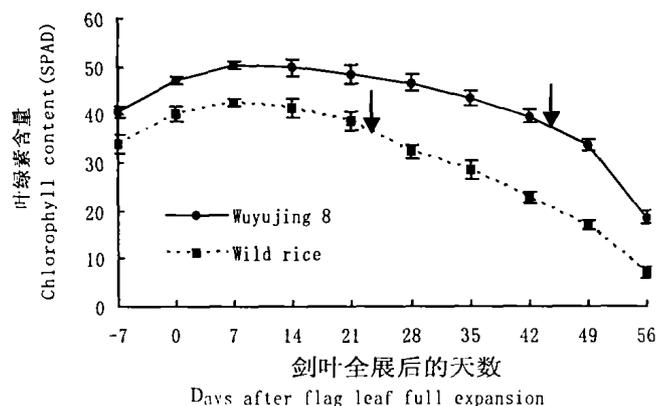


图 1 剑叶发育过程中叶绿素含量的变化

Fig. 1 The changes of chlorophyll content during flag leaf development

↓: 光合速率高值持续期的终点

↓: the end of active photosynthetic duration

很低, 在光合功能衰退的可逆期内, 内肽酶活力只有极轻微的提高, 且内肽酶活力升高显著滞后于蛋白质含量的下降, 这说明在可逆阶段, 还有另外的蛋白酶在起作用。到了叶片衰老的后期即不可逆期, 内肽酶的活性急剧升高, 可溶性蛋白质含量继续下降, 说明内肽酶在该阶段对蛋白质降解和光合功能衰退起着重要作用。

2.4 RuBP 羧化酶的比活性

武育梗 8 号和野生稻剑叶中 RuBPCase 初始比活性的变化基本相似(图 5)。剑叶全展 1 周后, RuBPCase 初始比活性达到最大值, 此后初始比活性迅速下降, 50 d 后的比活性已降近零。RuBPCase 的总比活性在剑叶全展前武育梗 8 号略高于野生稻(图 6)。剑叶全展 1 周后, 二者都达到最大值, 且最大值相近。

3 讨 论

水稻籽粒物质主要来源于开花后的光合作

合速率的降低而降低。高值持续期结束时, 武育梗 8 号剑叶中可溶性蛋白质的含量下降到最高值的 31%, 而野生稻中为 50%。因为叶片内可溶性蛋白 40%~50% 是 RuBPCase, 而高值持续期终点为光合速率下降到叶片全展时光合速率 50% 的时刻^[5,6], 可以推测光合速率的下降与蛋白质含量下降有关并且主要是由 RuBPCase 含量减少所引起的。内肽酶活性变化分为两个阶段(图 4), 即缓慢上升期和快速上升期: 在叶片全展时内肽酶的活力

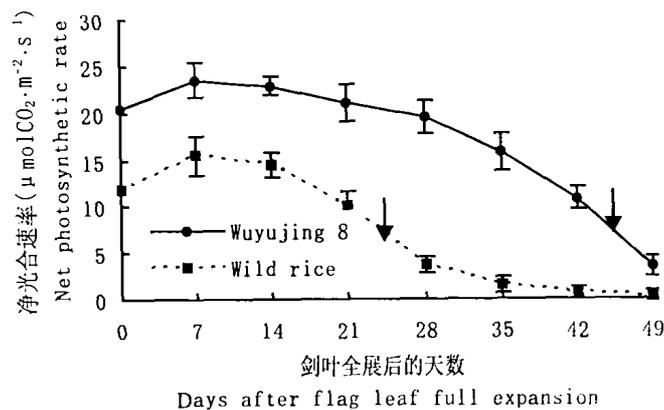


图 2 剑叶全展后净光合速率的变化

Fig. 2 The changes of net photosynthetic rate after flag leaf full expansion

↓: 光合速率高值持续期的终点

↓: the end of active photosynthetic duration

用^[13], 如何使作物在生育期的后期保持较高的光合速率和较长的光合速率高值持续期^[5~9,14], 成为进一步提高水稻产量的一个主要努力方向^[7,14,15]。已有的研究表明, 不同品种、亚种、品系的 Rubisco 并没有太大的区别^[3,4,16~20], 我们的结果与这些结论基本相同。人们在降低光呼吸方面也做了多种探索, 但由于 Rubisco 稳定的动力学性质, 并没有取得理想的结果。水稻剑叶中叶绿素和蛋白质含量的下降可作为水稻叶片衰老的可靠指标。武育梗 8 号剑叶的光合速率和叶绿素含量高于野生稻, 这同李明启等人类似研究的结果相一致^[2]。特别值得一提的是, 武育梗 8 号剑叶的叶绿素含量缓降期和光合速率高值持续期都相应地比野生稻长 20 d 左右, 叶源量是野生稻剑叶叶源量的 2.8 倍, 再考虑到武育梗 8 号剑叶叶面积远远大于野生稻剑叶的叶面积(前者是后者的 1.7 倍), 我们可以得出, 武育梗 8 号剑叶的光合作用总效果要远远好于野生稻剑叶的光合作用总效果的结论。从我们的结果可以看出, 较高的光合速率和较长的光合速率高值持续期

是栽培稻产量较高的主要原因之一。因为在一定范围内叶绿素含量与光合速率呈正相关;较高的光合速率和较长的高值持续期使水稻植株可以生产较多的光合产物,为栽培稻的高产奠定了物质基础。有

关内肽酶对 Rubisco 的降解所起的作用目前报道还不多,野生稻剑叶中内肽酶的活性快速上升期开始(约全展后 25 d)比武育梗 8 号剑叶中内肽酶活性快速上升期开始(约全展后 40 d)早,但都出现在光合

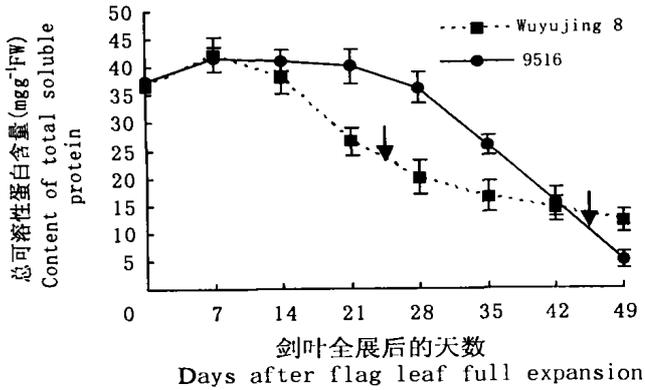


图 3 剑叶全展后可溶性蛋白含量的变化

Fig. 3 The changes in content of soluble protein after flag leaf full expansion
↓: 光合速率高值持续期的终点
↓: the end of active photosynthetic duration

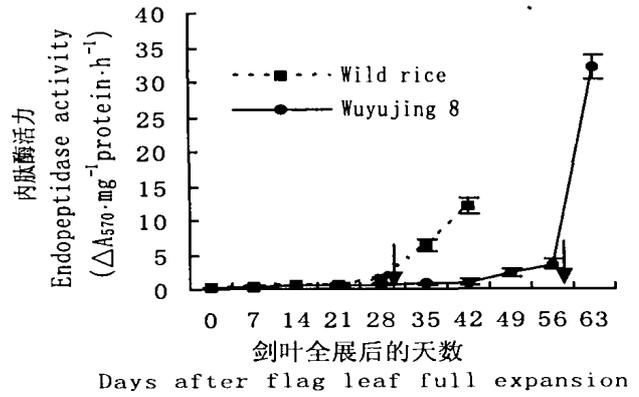


图 4 剑叶全展后内肽酶活性的变化

Fig. 4 The changes of endopeptidase activity after flag leaf full expansion
↓: 光合速率高值持续期的终点
↓: the end of active photosynthetic duration

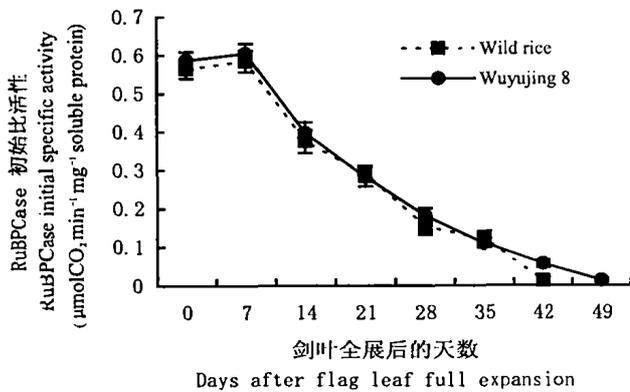


图 5 剑叶全展后 RuBP carboxylase 初始比活性的变化
Fig. 5 The changes of initial specific activities of RuBP carboxylase after flag leaf full expansion

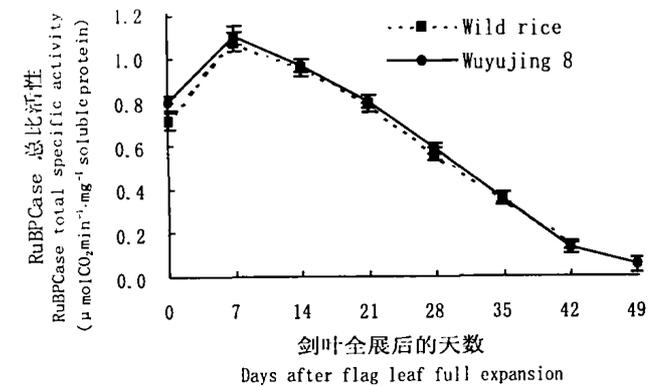


图 6 剑叶全展后 RuBP carboxylase 总比活性的变化
Fig. 6 The changes of total specific activities of RuBP carboxylase after flag leaf full expansion

作用从可逆衰退向不可逆衰退转折点附近,这与高玲等人在小麦上所得结果和吴光南等人在水稻上所得结果相类似^[21,22]。这表明内肽酶主要在光合功能衰退的不可逆阶段发挥较大作用。内肽酶活性快速上升期出现较早可能是野生稻剑叶光合速率高值持续期较短的原因之一,这是内部遗传因素决定的;另一方面由于野生稻的剑叶抽出较迟(比武育梗 8 号晚 20 d 左右),此时光照相对较弱、气温相对较低,可能是造成野生稻剑叶光合速率高值持续期较短的外部原因。另外,在叶片衰老后期,野生稻剑叶

中可溶性蛋白含量仍然保持在较高水平,这表明光合产物向籽粒转移较少。因此,光合速率高值持续期短和从源到库转移效率低,可能是野生稻结实率低的主要原因。采用一些生物技术适当地延长光合功能期,使源库协调一致可能成为进一步提高水稻产量的重要措施之一。

参考文献:

[1] 丁 颖. 中国栽培稻的起源及其演变[J]. 农业学报, 1957, 8: 243-260.

- [2] 李明启, 吕章荣, 邓向前. 野生稻和栽培稻的光合作用和叶绿素含量的比较研究[J]. 植物生理学报, 1984, 10(4): 333—338.
- [3] Makino A, Mac T, Ohira K. Variations in the contents and kinetic properties of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylases among rice species[J]. *Plant Cell Physiol.*, 1987, 28: 799—804.
- [4] Makino A, Mac T, Ohira K. Changes in photosynthetic capacity in rice leaves from emergence through senescence. Analysis from ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and leaf conductance [J]. *Plant Cell Physiol.*, 1984, 25: 511—521.
- [5] 张荣铎, 程在全, 方志伟, 等. 关于小麦光合速率高值持续期的初步研究[J]. 南京师范大学学报(自然科学版), 1992, 15(增刊): 76—86.
- [6] Goldthwaite J J, Lactsh W M. Control of senescence in rumex leaf discs by gibberellic acid [J]. *Plant Physiol.*, 1968, 43: 1 855—1 858.
- [7] 张荣铎, 高 忠. 小麦种和品种间叶片展开后光合特性的差异及其机理[A]. 见: 邹 琦, 王学臣. 作物高产高效生理研究进展(第一集)[C]. 北京: 科学出版社, 1994. 35—44.
- [8] 张荣铎, 刘晓忠, 宣亚南, 等. 小麦叶片展开后光合碳同化能力——叶源量的估算[J]. 中国农业科学, 1997, 30(1): 84—91.
- [9] 张荣铎, 朱根海. 作物品种离体叶片失绿进程模式[J]. 南京师范大学学报(自然科学版), 1992, 15(增刊): 87—94.
- [10] Perchorowicz J T, Raynes D A, Jensen G R. Measurement and preservation of the in vitro activation of Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in leaf extracts [J]. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78(5): 2 985—2 988.
- [11] Read S M, Northcote D H. Minimization of variation in the response to different proteins of the Coomassie Blue G dyebinding assay for protein[J]. *Anal. Biochem.*, 1981, 116: 53—64.
- [12] Reimerdes E H, Klostermeyer H, Determination of proteolytic activities of casien substrates[A]. In: Lorand L (ed) 'Methods in enzymology'[C]. New York: Academic Press, 1976. 45: 26—28.
- [13] 殷宏章, 沈允钢, 陈 因, 等. 水稻开花后干物质的积累和运转[J]. 植物学报, 1956, 5: 177—194.
- [14] 邓志瑞, 翟虎渠, 曹树青, 等. 高产与具有超高产潜力水稻品种光合功能衰退的比较[J]. 华北农学报, 2001, 16(3): 140 - 141.
- [15] 屠曾平, 林秀珍, 蔡惟涓, 等. 水稻高光效育种的再探索[J]. 植物学报, 1995, 37(8): 641—651.
- [16] Dean C, Leech R M. Genome expression during normal leaf development. 2. Direct correlation between ribulose bisphosphate carboxylase content and nuclear ploidy in a polyploid series of wheat [J]. *Plant Physiol.*, 1982, 70: 1 605—1 680.
- [17] Evans J R, Seemann J R. Differences between wheat genotypes in specific activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and the relationship to photosynthesis[J]. *Plant Physiol.*, 1984, 74: 759—765.
- [18] Makino A, Mac T, Ohira K. Purification and storage of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase from rice leaves[J]. *Plant Cell Physiol.*, 1983, 24: 1 169—1 173.
- [19] Yeoh H H, Badger M R, Watson L. Variation in kinetic properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase among plants[J]. *Plant Physiol.*, 1981, 67: 1 151—1 155.
- [20] Makino A, Mac T, Ohira K. Enzymic properties of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxgenase purified from rice leaves[J]. *Plant Physiol.*, 1985, 79: 57—61.
- [21] 吴光南, 刘宝仁, 张金渝. 水稻叶片蛋白水解酶的某些理化特性与其衰老的关系[J]. 江苏农业学报, 1985, 1(1): 1—10.
- [22] 高 玲, 叶茂炳, 张荣铎, 等. 小麦旗叶老化期间的内肽酶[J]. 植物生理学报, 1998, 24(2): 183—188.