

杂交水稻及其亲本光合特性的研究

I. 功能叶片叶绿素含量、叶绿素-蛋白复合物及诱导荧光动力学

郭培国

李明启

(广州师范学院生物系, 广州 510400) (华南农业大学农业生物系, 广州 510642)

摘要 研究了杂交水稻青优 159 和广优四号及其亲本功能叶片的光合速率、叶绿素含量、叶绿素-蛋白复合物及诱导荧光动力学特性。这二个杂交水稻的光合速率分别高于其亲本, 其超亲优势分别为 18.72% 和 18.2%, 平均优势分别为 29.6% 和 26.2%。杂交水稻功能叶片的叶绿素-蛋白复合物在 650nm 和 675nm 处光密度扫描峰面积具有明显的杂种优势, 并与光合速率之间有较密切的正相关关系; 叶绿素诱导荧光动力学特征参数 F_v/F_m 和 F_v/F_o 比值超过其高值亲本, 具有杂种优势; 杂交水稻功能叶片的叶绿素含量没有明显的杂种优势, 光合速率与叶绿素含量之间没有明显的相关关系。而杂交水稻功能叶片的叶绿素 a/b 比值均低于其亲本, 并且叶绿素 a/b 比值与光合速率呈较为密切负相关。

关键词 杂交水稻; 光合速率; 叶绿素; 叶绿素-蛋白复合物; 诱导荧光动力学

STUDIES ON PHOTOSYNTHETIC CHARACTERISTICS IN RICE HYBRID PROGENIES AND THEIR PARENTS I. CHLOROPHYLL CONTENT, CHLOROPHYLL-PROTEIN COMPLEX AND CHLOROPHYLL FLUORESCENCE KINETICS

Guo Peiguo

(Dept. of Biology, Guangzhou Teachers' College, Guangzhou 510400)

Li Mingqi

(Dept. of Agricultural Biology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

Abstract Studies were made on photosynthetic rates, chlorophyll contents and chl a/b ratio, chlorophyll-protein complexes and chlorophyll induction fluorescence kinetics in two rice hybrid progenies in comparison with their parents. Two rice hybrids used were Qingyou 159 (F_1) and its parents Qing A (♀) and R159 (♂), Guangyou No. 4 (F_1) and its parents Guang A (♀) and Qingliuai (♂). It was found that the photosynthetic rates of both hybrids were much higher than their parents (18% heterobeltiosis, 26% - 30% mid-parent heterosis). The chlorophyll contents in leaves of both hybrids were not much different from that of their parents and showed only a low mid-parent heterosis, while chl a/b ratios were lower in these two hybrids than in their parents. Statistical analysis showed no correlation between photosynthetic rates and chlorophyll contents, and the chl a/b ratio showed significant

高等学校博士学科点专项科研基金和广东省高校重点学科(协作组)科研项目资助课题

1995-09-27 收稿; 1996-05-02 修回

negative correlation with photosynthetic rate. Determination of the chlorophyll-protein complex content by SDS-electrophoresis followed by scanning of the electrophoretogram at 650nm and 675nm showed that the peak area of OD values in both hybrids were much higher than that of their respective parents with marked heterobeltiosis, and was significantly correlated with photosynthetic rate. Chlorophyll fluorescence induction kinetics studies showed that the characteristic parameters (F_v/F_o and F_v/F_m) in the hybrids were higher than those of their respective parents, indicating a higher photosystem II activity and high primary photochemical efficiency of photosystem II in these two rice hybrids than that in their respective parents.

Key words Rice hybrid; Photosynthetic rate; Chlorophyll; Chlorophyll-protein complex; Chlorophyll fluorescence induction kinetics

高光合效率是具有杂种优势杂交水稻的一个重要生理特征^[1]。影响光合作用效率的因子有很多,如叶片形态结构、叶片对光能的吸收传递、光合碳循环等。为了探索杂交水稻之所以具有光合速率杂种优势的机理,需要对影响光合作用的诸多内部因子作系统的比较研究。但过去文献中只有过零星的研究,而且是用不同的杂交材料进行研究的,这便很难得出全面的结论。在本项研究中我们用相同的两个具光合优势的杂交组合对光合作用全过程的各个环节(包括光能的吸收、光合磷酸化、碳代谢)作系统的比较研究,企图找出哪些环节是与光合速率的杂种优势密切相关的,哪些是关系不大或无关的,以阐明光合杂种优势的内部机理。本文报告与光能吸收有关的叶绿素含量、叶绿素-蛋白复合物和荧光动力学方面的结果,其它结果另文报告。

Nakazawa^[2]认为:在强光下,叶绿素的含量与光合作用速率有着非常密切的相关关系。同样,叶绿素 a/b 比值也与光合作用有密切的关系^[3]。叶绿素蛋白复合物的含量和成分比例多少也影响光能吸收,如高的 LHCP (light-harvesting chlorophyll a/b protein) 有利于弱光下对光能的吸收和利用, LHCP 中叶绿素 a/b 比值低,有利于吸收光能^[4]。另外,叶绿素荧光反映光合作用的原初过程,如光能的吸收、激发能的传递以及光系统 II 的光化学反应^[5];通过室温条件下对叶片光诱导荧光动力学参数的检测,可估计叶片潜在光合作用量子转化效率^[6]。因此,了解影响具光合优势杂交水稻内部的光能吸收的生理生化特性,找出哪些特性是杂交水稻所具备的,可为具有高光效杂交水稻的快速选育提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

选用二组杂交水稻及亲本:杂种 F₁ 青优 159, 母本青 A, 父本 R159; 杂种 F₁ 广优四号, 母本广 A, 父本青六矮。盆栽种植于网室中, 自然光照下生长, 按常规方法栽培管理。选用分蘖期功能叶片作为研究对象。

1.2 方法

光合作用速率 在水稻生长的分蘖期, 在 $827\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光照条件下对其功能叶片用

LI-6200 光合作用测定仪测定光合速率。

叶绿素含量 按 Arnon^[7] 的方法测定。

叶绿体中叶绿素-蛋白复合物分析 按 Anderson^[8] 的方法提取叶绿体类囊体膜, 叶绿素-蛋白复合物不连续的 SDS-聚丙烯凝胶电泳按储钟稀和毛大璋^[9] 的方法。

叶片叶绿素诱导荧光动力学特征 按 Schreiber 等^[9] 方法。用脉冲调制荧光仪 (Pulse modulation fluorometer, PAM, WALZ Germany) 测定叶绿素荧光诱导曲线。固定荧光 F_0 是用黑暗适应的叶片在弱调制测量光 ($0.05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 下诱导产生的, 最大荧光 F_m 则是在 F_0 之后强饱和脉冲 ($6600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 激发。 F_v 即 ($F_m - F_0$) 为黑暗适应叶片的最大可变荧光。当荧光从最大值降到接近 F_0 水平时, 用光强为 $70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 的作用光 (actinic light) 诱导 F_p , 此时最大可变荧光则是在诱导期间用饱和脉冲闪光 (闪光时间为 800ms, 两次闪光间歇为 30s) 激发产生, 它叠加在作用光的背景上。

2 结果

2.1 杂交水稻及亲本的光合作用速率

在饱和光照下, 对二组杂交水稻及其亲本的光合作用速率进行测定的结果 (表 1) 表明, 二组具杂种优势杂交水稻的光合速率具有明显的超亲优势和平均优势。

表 1 杂交水稻及亲本的光合作用速率的比较

Table 1 The comparison of photosynthetic rates in rice hybrids and their parents

材料 Material	光合速率 Photosynthetic rate ($\text{CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	杂种优势 Heterosis (%)	显著性差异 Significant difference
青 A (♀) QingA(♀)	10.79 ± 0.10		b
青优 159 (F ₁) Qingyou 159(F ₁)	12.81 ± 0.12	18.72* 29.6**	c
R159 (♂)	8.98 ± 0.11		a
广 A (♀) Guang A(♀)	9.38 ± 0.13		b
广优四号 (F ₁) Guangyou No.4(F ₁)	11.09 ± 0.10	18.20* 26.2**	c
青六矮 (♂) Qingliuai(♂)	8.19 ± 0.07		a

平均数 ± SD, Means ± SD (n=10);

a, b, c 表示在 $\alpha = 0.05$ 水平上杂交水稻与各自亲本之间差异达显著性 Values in column followed by different letters differ significantly at the 0.05 level;

* 超亲优势 Heterobeltiosis; ** 平均优势 Mid-parent heterosis.

表 2 杂交水稻及亲本的叶绿素含量和叶绿素 a/b 比值

Table 2 Chlorophyll contents and chlorophyll a/b ratios of hybrid rice and their parents

材料 Material	叶绿素含量 Chlorophyll content ($\text{mg g}^{-1}\text{FW}$)	叶绿素 a/b 比值 Chlorophyll a/b ratio
青 A (♀) Qing A (♀)	3.45 ± 0.01	2.592 ± 0.006
青优 159 (F ₁) Qingyou 159 (F ₁)	3.30 ± 0.04	2.513 ± 0.005
R159 (♂)	2.74 ± 0.02	2.701 ± 0.005
广 A (♀) Guang A (♀)	3.61 ± 0.01	2.650 ± 0.001
广优四号 (F ₁) Guangyou No.4 (F ₁)	3.66 ± 0.01	1.38%* 2.520 ± 0.011
青六矮 (♂) Qingliuai (♂)	3.56 ± 0.01	2.672 ± 0.009

平均数 ± SD, Means ± SD (n=4);

* 超亲优势 Heterobeltiosis.

2.2 杂交水稻及亲本的叶绿素含量和叶绿素 a/b 比值

表 2 结果表明, 杂交水稻青优 159 的叶绿素含量低于其母本而高于父本, 无超亲优势。杂交

水稻广优四号的叶绿素含量有 1.38% 的超亲优势, 杂种优势不突出。二组杂交水稻的叶绿素 a/b 比值表现一致, 均低于其父本。

将二组杂交水稻及亲本的光合作用速率与叶绿素含量进行相关关系分析, 所得的光合作用速率与叶绿素含量之间的相关系数 $r=0.108$, 二者之间相关系数极小; 而叶绿素 a/b 比值与光合作用速率的相关系数为 -0.919 , t 测验结果达到 $\alpha=0.025$ 的极显著负相关。这表明叶绿素含量和光合作用速率之间没有明显的正相关关系, 叶绿素 a/b 比值与光合作用速率具有较高的负相关关系。

2.3 杂交水稻及亲本的叶绿素-蛋白复合物

杂交水稻及其亲本的叶绿素-蛋白复合物的光密度扫描出的叶绿素-蛋白复合物 OD 值峰面积均有超亲优势。二组杂交水稻及亲本的叶绿素-蛋白复合物在 650nm 和 675nm 处光密度扫描峰面积总和与光合速率高低的排列顺序基本一致, 它们之间的相关系数为 0.945, t 测验结果表明二者之间达到极显著正相关 ($\alpha=0.005$)。

表 3 杂交水稻及亲本的叶绿素-蛋白复合物扫描 OD 值峰面积

Table 3 The scanning peak area of OD value of chlorophyll-protein complex in rice hybrids and their parents

材料 Material	扫描峰面积 OD 值(%)* Scanning peak area of OD value (%)*				
	at 650nm		at 675nm		Total
青 A Qing A (♀)	100 ± 0.40		100 ± 1.20		100
青优 159 Qingyou 159 (F ₁)	135.54 ± 1.39	35.54%**	140.29 ± 2.78	40.2%**	138.35 38.35%**
R159 (♂)	80.15 ± 1.28		92.60 ± 1.18		87.50
广 A Guang A (♀)	100 ± 0.70		100 ± 0.77		100
广优四号 Guangyou No.4 (F ₁)	102.08 ± 2.65	2.08%**	110.30 ± 3.01	10.3%**	106.78 6.78%**
青六矮 Qingliuai (♂)	74.25 ± 1.06		80.08 ± 1.93		77.85

* 叶绿素-蛋白复合物扫描峰面积是以二组合各自母本(青A和广A)的峰面积为基数100%所得到的相对值。平均数±SD(n=3)
All values are expressed in percentage using the material plants Qing A and Guang A as 100%, respectively.
Means ± SD (n=3); ** 超亲优势 Heterobeltiosis

表 4 杂交水稻及亲本的叶绿素诱导荧光动力学特征参数

Table 4 Characteristic fluorescence parameters in leaves of hybrid rice and their parents

材料 Material	最大荧光 F _m	固定荧光 F _o	可变荧光 F _v (F _m -F _o)	F _v /F _m	F _v /F _o
青 A Qing A (♀)	49.26 ± 0.54	10.40 ± 0.15	38.86	0.7889	3.737
青优 159 Qingyou 159 (F ₁)	56.13 ± 1.07	11.83 ± 0.15	44.30	0.7892	3.745 1.03%*
R159 (♂)	52.33 ± 0.51	11.19 ± 0.10	41.14	0.7862	3.676
广 A Guang A (♀)	47.81 ± 1.29	11.26 ± 0.21	36.55	0.7645	3.244
广优四号 Guangyou No.4 (F ₁)	54.29 ± 0.77	11.76 ± 0.10	42.53	0.7834 1.44%*	3.616 6.45%*
青六矮 Qingliuai (♂)	49.10 ± 1.17	10.79 ± 0.17	38.31	0.7802	3.550

平均数 ± SD, Means ± SD(n=8); * 平均优势 Mid-parent heterosis

2.4 杂交水稻及亲本功能叶片的叶绿素诱导荧光动力学特征

从表4结果可见,杂交水稻青优159的荧光参数 F_v/F_o 与其亲本相比,略为超过其高值亲本,其平均优势为1.03%。广优四号的 F_v/F_m 和 F_v/F_o 亦超过其高值亲本,具有轻度的杂种优势,其平均优势分别为1.44%和6.45%。这说明杂交水稻与其亲本相比具有较高的PSII原初光化学效率和较高的PSII活性。

3 讨论

杂交水稻及亲本功能叶片在分蘖期叶绿素含量没有表现出差异,这说明在正常情况下,叶绿素含量的多少与光合作用速率没有明显的关系。与Willstatter和Stoll^[10]所研究的结果一致。但亦有研究认为叶绿素含量在一定范围内与光合速率成正相关关系^[11,12],这可能与种及品种的各自特性有关。叶绿素a/b比值的结果(表2)表明:叶绿素a/b比值与光合作用速率关系密切,这说明叶绿素a/b比值可能是影响光合速率高低的一个内在因子^[11,12]。

杂交水稻叶绿素-蛋白复合物在650nm和675nm两处光密度扫描峰面积具有明显的杂种优势,并且该扫描峰面积总和与光合速率的相关关系密切($r=0.954$)。我们所得的结果与Кренделева等^[13]一致,即高光效品种具有高含量的叶绿素-蛋白复合物。

对叶绿素荧光发射的研究,有助于了解植物的光合特性。在室温条件下,叶片叶绿素发射的荧光大部分来自光系统II^[5]。荧光产量的变化主要决定于反应中心的开放率。当反应中心不开放(如用DCMU处理),此时荧光产量最大(F_m);当反应中心全开放(如在黑暗中处理),PSII原初受体全部处于氧化态,这时叶片天线色素接受光后会发出荧光,其强度与光合作用的光反应无关,称为固定荧光(F_o),其荧光产量最小。 F_m 与 F_o 的差值称为最大可变荧光(F_v)^[14]。 F_v/F_m 比率大小可表示PSII原初光化学效率的高低, F_v/F_o 比率表示PSII的潜在活性^[6]。对杂交水稻及亲本功能叶片叶绿素诱导荧光动力学特征参数的研究结果表明:杂交水稻与其亲本相比,PSII光化学效率和PSII的潜在活性略高。这与张其德^[6]和孙国荣等^[15]所研究得出的高的 F_v/F_m 和 F_v/F_o 比值,伴随着高的光合作用速率一致。

参考文献

- 1 王永锐. 杂交水稻产量生理. 广州:中山大学出版社, 1986, 17-23
- 2 Nakazawa F, Tunoda K, Torikura H. On the photosynthetic characteristics of high yielding rice varieties. I. Leaf photosynthetic rate. Japanese Crop Sci, 1990, 59(1):72-79
- 3 储钟稀, 毛大璋. 捕光chl a/b蛋白复合物LHC-I和LHCPa在PSI和PSII中的调节和分配. 植物学报, 1986, 28(1):69-78
- 4 Sane P V. The topography of the thylakoid membrane of the chloroplast. In Trebst A, Avron M ed. Photosynthesis I. Photosynthetic Electron Transport and Photophosphorylation. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg New York, 1977, 522-542
- 5 Krause G H, Weis E. The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. In Lichtenthaler H K ed. Application of Chlorophyll Fluorescence. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1988, 3-11
- 6 张其德. 高产杂交水稻的光合特性. 植物杂志, 1990, (4):32-33
- 7 Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 1949, 24(1):1-15

- 8 Anderson J M. P_{700} content and polypeptide profile of chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoid. *Biochem Biophys Acta*, 1980, 591:113-126
- 9 Schreiber U, Schliwa U, Rilger W. Continuous recording of photochemical and nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosyn Res*, 1986, 10:51-62
- 10 Willstatter R, Stoll A. Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Sieben Abh. Berlin. Springer 1918 (Cited from Ruhland W ed. *Encycopaedia of Plant Physiology*, Vol. V, Part 2, 1960, 156-167)
- 11 刘贞琦, 刘振业, 曾淑芬等. 水稻某些光合生理特性的研究. *中国农业科学*, 1982, (5):33-39
- 12 刘振业, 刘贞琦. 光合作用的遗传与育种. 贵州人民出版社, 1984, 48-52
- 13 Кренделева Т Е, Низовская Н В, Тулбу Г·В и др. Вопросы об организации Фотосинтетического аппарата у различных по продуктивности сортов риса. *Физиология Растений*, 1985, 32(4):651-660
- 14 Kooten Van O, Snel F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosyn Res*, 1990, 25:147-150
- 15 张国荣, 刘文芳, 肖翊华. 杂交水稻灌浆期光合生理特性的研究. *武汉植物学研究*, 1990, 4:341-346