

超高产杂交稻剑叶衰老过程中 PSII 功能的变化

阳成伟 彭长连* 段俊 陈贻竹 林桂珠 欧志英

(中国科学院华南植物园, 广东广州 510650)

摘要: 对田间自然条件下培矮 64S/E32 和对照汕优 63 的剑叶衰老过程中 PSII 光化学效率、光能耗散和叶黄素循环组分的动态变化进行了研究。结果表明, 水稻剑叶衰老过程中 PSII 光化学效率(F/F_m)、PSII 量子产量(Φ_{PSII})、光化学猝灭系数(qP)和光合速率(P_n)均降低, 但非辐射热耗散(NPQ)、叶黄素循环库和中午时的脱环氧化状态则升高。移栽后 55-75 d 两品种剑叶的 Φ_{PSII} 和 qP 变化相近, 此后培矮 64S/E32 比汕优 63 下降缓慢。在生育后期的衰老过程中培矮 64S/E32 剑叶的 PSII 功能比汕优 63 下降慢, 并具有更高的光能利用效率。

关键词: 超高产水稻; 剑叶; 衰老; PSII 功能

中图分类号: Q945.48

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)02-0147-06

Changes in PSII Function during the Senescence of Flag Leaves in Super-High Yielding Hybrid Rice (*Oryza sativa* L.)

YANG Cheng-wei PENG Chang-lian* DUAN Jun CHEN Yi-zhu LIN Gui-zhu OU Zhi-ying
(South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstracts: The changes in light energy dissipation and xanthophyll cycle components in super-high yielding rice (*Oryza sativa* L.) cv. Peiai 64S/E32 were compared with those in traditional hybrid Shanyou 63 during the senescence of flag leaves in the field. The results showed that the maximum photochemical efficiency of PSII (F/F_m), quantum efficiency of PSII (Φ_{PSII}), photochemical quenching coefficient (qP) and photosynthetic rate all decreased with the senescence of flag leaves, but the non-photochemical quenching coefficient (NPQ), the pool size of xanthophyll cycle ($Z+A+V$) and deepoxidation state (DES) increased. There was no significant difference in Φ_{PSII} and qP between super-high yielding rice Peiai 64S/E32 and traditional hybrid Shanyou 63 on the 55-75 day after transplanting, but the decreases in Φ_{PSII} and qP in Peiai 64S/E32 were less than those in Shanyou 63 after transplanting for 75 days. This suggests that there is a better PSII function for utilization of the absorbed light energy in Peiai 64S/E32 than in Shanyou 63 during the senescence of flag leaves.

Key words: Super-high yielding rice; Flag leaves; Senescence; PSII function

Thomas 和 Stoddart^[1]指出, 水稻叶片衰老过程中光合作用是下降的, 这种观点已为多数人所接受。这种下降主要由于与光合作用光反应有关组分的降解(如叶绿素、类胡萝卜素、Cyt_f等^[2,3])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^[2])有关。已有研究指出, 叶片衰老导致叶绿体功能的丧失必然伴随着

PSI 和 PSII 活性的下降^[4], 但 PSII 比 PSI 对衰老更敏感, 其光化学活性在衰老过程中下降十分明显。但是, 目前对于 PSII 电子传递下降的原因还不清楚, 有人认为是由于放氧系统的失活^[5], 或是 PSII 反应中心复合物的丧失^[6], 或者是激发能从类胡萝卜素到叶绿素传递受抑制^[7], 或 Rubisco 的丧失等^[8]。

以离体的叶绿体或类囊体为材料研究叶片衰老

收稿日期: 2003-02-17 接受日期: 2003-06-05

基金项目: 国家重点基础研究规划项目(G1998010100)资助

* 通讯作者 Corresponding author

过程中 PSII 光化学活性的结果表明, PSII 光活性随叶片衰老明显下降, 而 Adams 等^[9]和 Lu 等^[10]的研究结果则表明离体叶片衰老过程中 PSII 光化学最大效率无明显变化。这暗示用离体叶绿体或类囊体测定的 PSII 光化学活性不总能反映活体的情况。即使在人为控制条件下用完整植株作材料, 也不能代表自然条件衰老过程的真实变化^[11]。而研究在田间生长条件下水稻叶片的 PSII 光化学的报道还较少^[9]。

近年来叶绿素荧光猝灭分析已被证明是一种非破坏性的、快速、准确和对光合机构干扰少的技术。它被用来估计不同的环境条件下 PSII 的功能和吸收的光能在热耗散和光合电子传递之间分配的比率^[12]。本研究以国家杂交水稻工程技术研究中心和江苏省农业科学院合作育成的两系杂交稻组合培矮 64S/E32 为材料, 其产量明显高于多年大面积推广的汕优 63, 探讨超高产杂交稻叶片衰老过程中 PSII 光合功能的特性。

1 材料和方法

实验材料 超高产杂交稻(*Oryza sativa* L.) 培矮 64S/E32 和对照汕优 63 种子由湖南杂交水稻研究中心提供。于 2001 年 4 月种植于中国科学院华南植物研究所的实验田中, 常规管理。从水稻 55 DAT(移栽后的天数, days after transplanting)孕穗期开始, 选取生长势相近的植株, 随着剑叶的生育过程于早晨 6 时和中午 12 时取样作各项指标测定, 每次取样至少重复 3 次, 考种数据取样至少 12 株。

光合放氧速率 用 Hansatech 叶圆片氧电极测定, 光强 $850 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 饱和 CO_2 条件下, 温度 25°C 。

叶绿素荧光参数的测定 使用调制荧光仪 PAM 101/102/103 (H. Walz, Effeltrich, Germany) 测量。测定之前将叶片暗适应 15 min, 用 1.6 kHz 的弱测量光($0.04 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)测 F_0 , 随后给一个强闪光 (Schott lamp KL1500 FL103) ($> 5000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 脉冲时间 2 s), 测定荧光的最大值 F_m 。当 F_m 猝灭接近 F_0 时, 给出一个连续的光化光($400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$),

诱导荧光再上升到 F_p , 当荧光从 F_p 下降并达稳态水平 F_s 时, 加一个强闪光, 获得一个稳定的 F_m' 。最后关掉光化光使荧光下降到 F_0' 。根据 Schreiber 等^[13]和 Adams 等^[14]的公式计算叶绿素荧光参数, $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$; $qP = (F_m' - F_0)/(F_m' - F_0')$; $qN = 1 - (F_m' - F_0')/(F_m - F_0)$; $NPQ = F_m/F_m' - 1$; $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_0)/F_m'$ 。所得荧光参数均为相对值。

叶黄素循环组分的分析(HPLC) 于晴天中午在田间取样, 叶样立即保存到液氮中。叶黄素循环组分的分析参照 Gilmore 和 Yamamoto^[15]的方法, C_{18} 色谱柱, 线性梯度分离。使用 WATERS HPLC 仪 (WATERS MILFORD, USA)。

叶绿素含量的测定 参考 Arnon^[16]的方法。

2 结果

2.1 两品种考种数据的比较

从表 1 可见, 超高产杂交稻培矮 64S/E32 具有较高的结实率, 比汕优 63 高 10% 左右, 经济系数也较高, 理论产量比汕优 63 提高了 32%。

2.2 净光合速率和总叶绿素含量的变化

培矮 64S/E32 和汕优 63 的剑叶在生长过程中净光合速率 (P_n) 和总叶绿素含量的变化如图 1 所示。两个品种净光合速率在 62 DAT(抽穗期)左右有一个峰值, 均为 $25 \mu\text{mol O}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 左右, 随后逐渐下降, 在 86 DAT(腊熟期)之后下降更加明显, 但培矮 64S/E32 下降速率要比汕优 63 慢些, 而且叶绿素含量下降也较汕优 63 稍缓慢。

2.3 PSII 最大光化学效率的变化

从图 2 看出, 两个品种剑叶 PSII 最大光化学效率 (F_v/F_m) 在 80 DAT 之前均没有明显的变化, 随后缓缓下降。在衰老过程中当剑叶 Chl 含量减少至孕穗期(55 DAT)的含量一半时(95 DAT 左右), 它们的光化学效率仍较高(图 2), 这也说明严重衰老的剑叶此时还保持较高的光能转化能力, 而且品种间没有明显差异。

表 1 培矮 64S/E32 和汕优 63 籽粒产量及产量构成因素的比较

Table 1 Comparison of grain yield and yield components between Peiai 64S/E32 and Shanyou 63

品种 Variety	株高(cm) Plant height	穗长(cm) Panicle length	千粒重(g) 1000-grain weight	经济系数 Economic coefficient	结实率 Seed set (%)	理论产量 Theoretical yield (kg hm ⁻²)
汕优 63 (Shanyou 63)	88.67±4.88	23.0±1.5	24.74±0.45	0.46±0.03	0.687	7980±1605
培矮 64S/E32 (Peiai 64S/E32)	96.6±3.04	25.3±1.2	22.60±0.43	0.54±0.02	0.79	10545±2280

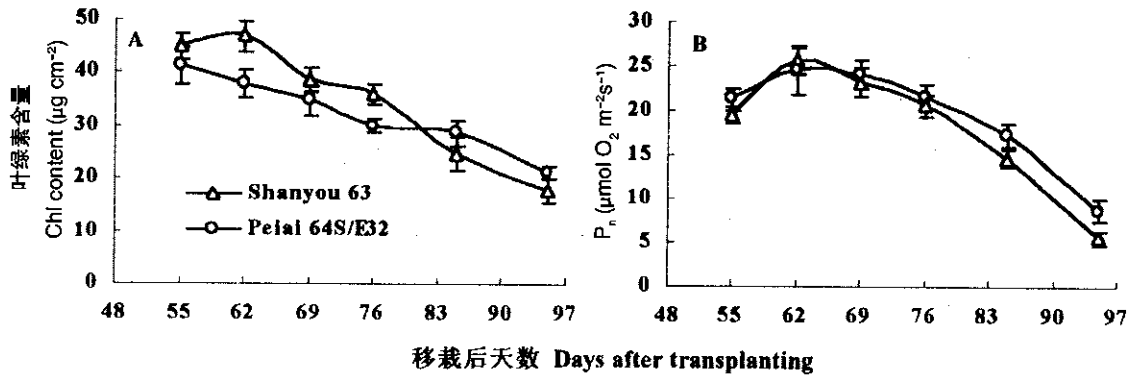


图 1 培矮 64S/E32 和汕优 63 剑叶衰老过程中总的叶绿素含量(Chl) (A)和净光合速率(P_n) (B)的变化
 Fig. 1 Changes in total Chl content (A) and photosynthetic rate (P_n) (B) during the senescence of flag leaves in cv. Shanyou 63 and Peiai 64S/E32
 图 1-3 均取上午 6:00 的叶片用于测定 Flag leaves were sampled from the field at 6:00 in the morning for Figs. 1- 3.

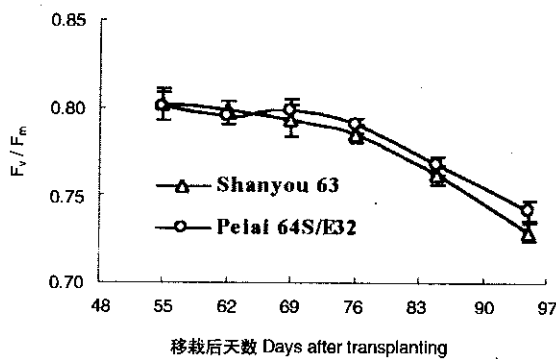


图 2 培矮 64S/E32 和汕优 63 剑叶衰老过程中 PSII 最大光化学效率(F_v/F_m)的变化
 Fig. 2 Changes in maximum efficiency of PSII photochemistry (F_v/F_m) during the senescence of flag leaves in cv. Shanyou 63 and Peiai 64S/E32

2.4 PSII 量子产量(Φ_{PSII})、光化学猝灭系数(qP)和非光化学猝灭系数(qN)的变化

从图 3 中可看出, 两个品种的 Φ_{PSII} 有类似 F_v/F_m 的缓慢下降趋势, 尤以培矮 64S/E32 下降更缓。 qP 是代表 PSII 反应中心氧化还原程度的一种参数, 较高 qP 值表明在给定相同的光照下 PSII 原始电子受体 Q_A 有较高的氧化程度, 即具有更大的可被还原的潜力。与汕优 63 相比, 培矮 64S/E32 的 qP 在 75 DAT 以后仍可保持相对较高的水平(图 3B), 说明在衰老后期培矮 64S/E32 剑叶 PSII 功能的衰退比汕优 63 慢。两个品种用于热耗散的非光化学猝灭(qN)都呈上升趋势(图 3C), 在 70 DAT 之前两个品种之间的差异较小, 此后培矮 64S/E32 吸收的光能用于热耗散的比率要低于汕优 63。

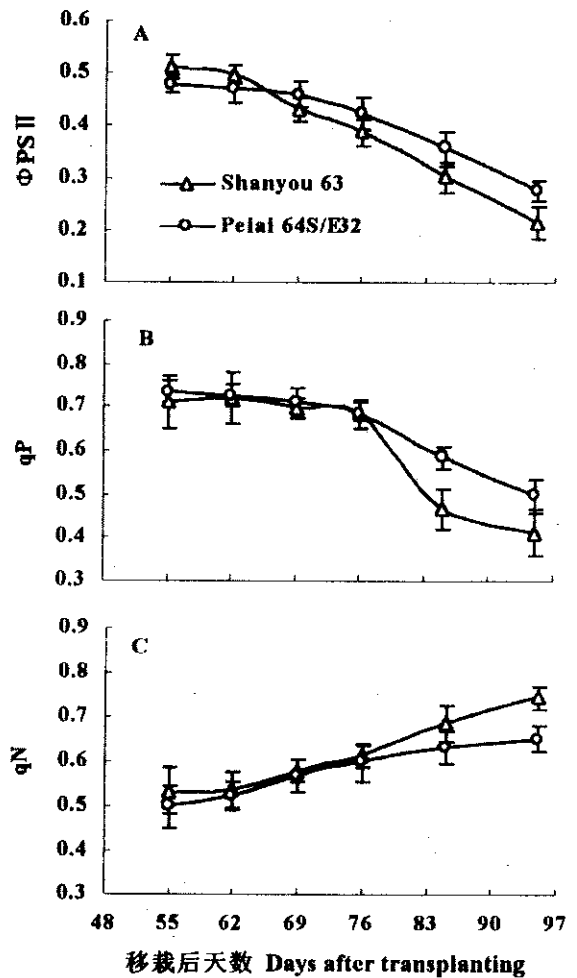


图 3 培矮 64S/E32 和汕优 63 剑叶衰老过程中 Φ_{PSII} (A)、 qP (B)和 qN (C)的变化
 Fig.3 Changes in PSII quantum efficiency(Φ_{PSII})(A) photochemical quenching coefficient (qP) (B) and non-photochemical quenching coefficient (qN) (C) during the senescence of flag leaves in cv. Shanyou 63 and Peiai 64S/E32

2.5 中午时类胡萝卜素组成的变化

从图 4A、C、D 可见,两个品种中午时的叶黄素循环库色素[V+A+Z]、玉米黄质(Z)和叶黄质(L)相对含量均随叶片的衰老而增加,但品种间存在差异。两个品种剑叶在衰老前期(75 DAT 前)[V+A+Z]和 Z 没有差异,但到后期培矮 64S/E32 明显比汕优 63 低。培矮 64S/E32 的 β -胡萝卜素和新黄质随叶片衰老下降并不明显(图 4B、E),在剑叶整个生长后期甚至保持比较稳定的水平,且它的新黄质在整个生育期均比汕优 63 高。

2.6 中午时脱环氧化状态、PSII 光化学效率和非光化学猝灭的变化

从图 5 可以看出,两品种的剑叶在中午 12 时的脱环氧化状态(DES)和非光化学猝灭(NPQ)均随叶片的衰老而逐步上升, F_v/F_m 下降的幅度增大。这表明随叶片的衰老光抑制程度和依赖叶黄素循环的热耗散也增大。培矮 64S/E32 的 DES 在生长前期(75 DAT 前)比汕优 63 高,此后则相反;在 75 DAT 前和 85 DAT 后 F_v/F_m 下降速率略比汕优 63 小。汕优 63 在生育后期的 NPQ 较培矮 64S/E32 高。

3 讨论

虽然田间自然条件下两个水稻品种的剑叶在衰老进程中都能保持较高的光能转化 (F_v/F_m) 能力(图 2),但超高产品种培矮 64S/E32 的光能有效利用和光合电子传递潜在最大量子效率 Φ_{PSII} 较对照汕优 63 更稳定(图 3)。Genty 等指出^[17], Φ_{PSII} 能反映 PSII 对吸收光能的利用情况和光合电子传递链的电子传递的真实速率,能更好地反映 PSII 的功能。两个品种的 Φ_{PSII} 均随剑叶衰老而下降,可能与叶片衰老过程中(特别是生长后期)与光反应有关组分(如放氧系统的失活、PSII 反应中心复合物和类胡萝卜素等)的降解而使 PSII 功能出现不可逆衰退有关^[5,6]。抽穗期(65 DAT 后)培矮 64S/E32 的 Φ_{PSII} 下降速率较汕优 63 小(图 3),显示衰老后期培矮 64S/E32 剑叶 PSII 功能衰退较慢,在能量的有效利用上比汕优 63 具有一定的优势。剑叶叶绿素降解和光合放氧速率变化的结果也说明在衰老后期培矮 64S/E32 光合功能的衰退较对照汕优 63 慢(图 1)。光合功能的早衰是水稻产量的主要限制因子之一^[18],因此超高产水稻培矮 64S/E32 光合功能衰退较慢可能是其高产的光合生理基础之一。

随着剑叶的衰老,PSII 吸收的光能分配到热耗

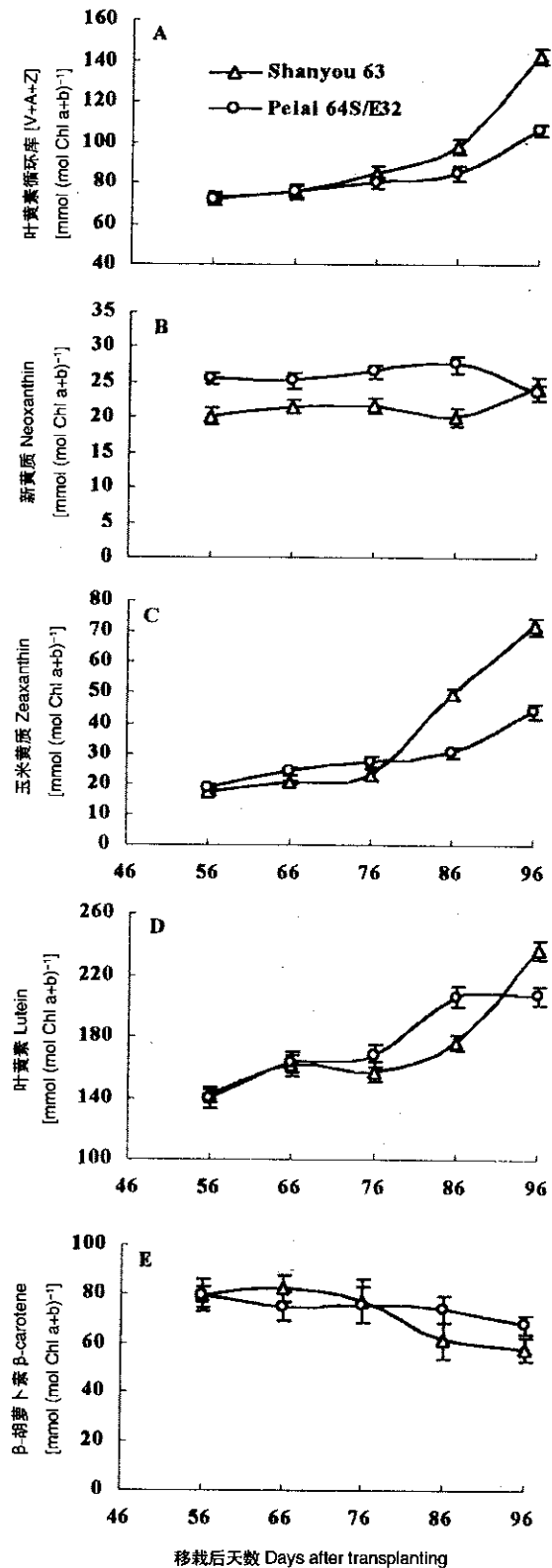


图 4 培矮 64S/E32 和汕优 63 剑叶衰老过程中叶黄素循环库(A)、新黄质(B)、玉米黄质(C)、叶黄质(D)和 β -胡萝卜素(E)的变化

Fig. 4 Changes in the xanthophyll cycle pool size (A), neoxanthin (B), zeaxanthin (C), lutein (D) and β -carotene (E) during the senescence of flag leaves in cv. Shanyou 63 and Peiai 64S/E32

图 4-5 均取晴天中午 12:00 的叶片用于测定 Flag leaves were sampled from the field at 12:00 at noon for Figs. 4-5.

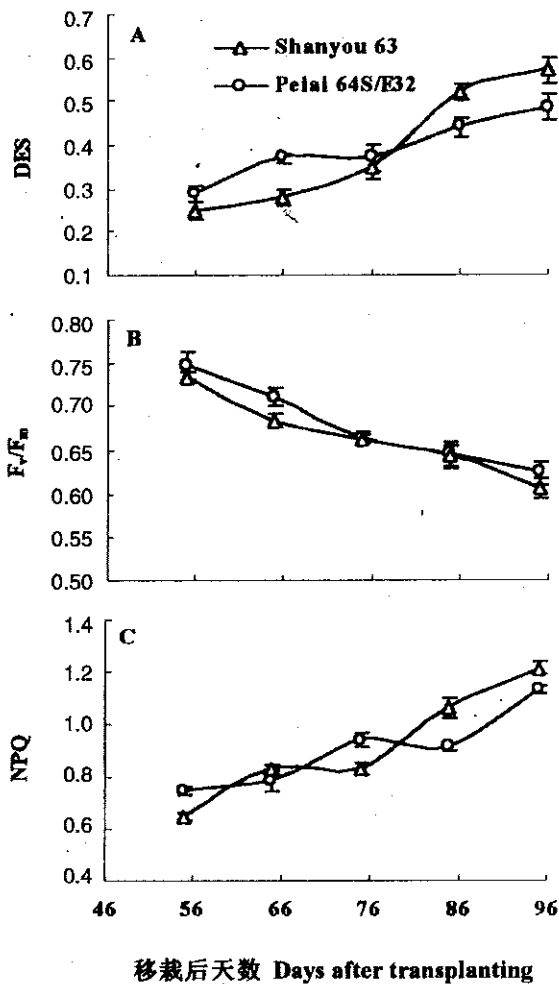


图5 培矮 64S/E32 和汕优 63 剑叶衰老过程中脱环氧化状态(A)、PSII 光化学效率(F_v/F_m)(B)和非光化学猝灭(NPQ)(C)的变化
Fig. 5 Changes in deepoxidation state (DES) (A), maximum efficiency of PSII photochemistry (F_v/F_m) (B) and non-photochemical quenching (NPQ) during the senescence of flag leaves in cv. Shanyou 63 and Peiai 64S/E32

散的比率(qN)也增加(图 3C),同时伴随着 [V+A+Z]、Z 含量和 DES 的增加(图 4A, C, 图 5A),中午叶绿素荧光非光化学猝灭的程度也明显提高(图 5B),表明依赖叶黄素循环的热耗散在叶片衰老过程中增强^[19,20]。本文的结果指出,培矮 64S/E32 的叶黄素循环库和 Z 的水平在移栽 75 d 后明显比汕优 63 低(图 4A, C),由此导致培矮 64S/E32 脱环氧化状态 DES 和非光化学猝灭 NPQ(热耗散)比汕优 63 低(图 5)。已有研究表明, NPQ 与 DES 或 [V+A+Z] 含量成正比^[12, 21]。汕优 63 的 DES 和 [V+A+Z] 在生育后期增加更大,但在中午强光下 F_v/F_m 却比培矮 64S/E32 的下降程度更大(图 2, 5),表明超高产杂交稻培矮 64S/E32 剑叶有较强的耐中午强光的光抑制能力,

并暗示在田间条件下,水稻抗光抑制的能力并不一定与叶黄素循环库色素含量和运转状态成正比,可能与其它防御光破坏的机制(如抗氧化系统和 D1 蛋白周转等参与)协同作用有关。我们推测培矮 64S/E32 剑叶中 DES 较低的可能原因为:1) 培矮 64S/E32 剑叶在衰老后期与汕优 63 相比叶片仍能保持相对垂直状态,避免叶片因吸收更多的太阳光而产生较多的过剩激发能;2) 剑叶生育后期由于光合能力下降(图 1B)的速率比 F_v/F_m 快(图 2),过量激发能会明显提高。而在田间条件下依赖于叶黄素循环的热耗散能力具有一定的饱和性^[22],这一阈值存在种间差异。因此当超过热耗散能力某一阈值时,其它光保护机制,如抗氧化系统、光呼吸等可能会成为主要的补偿机制。关于超高产杂交稻培矮 64S/E32 耐光抑制的机制在进一步研究中。

致谢 中国科学院华南植物园林植芳研究员对本文给予了指点和帮助,特此致谢!

参考文献

- [1] Thomas H, Stoddart J L. Leaf senescence [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1980, 31:83-111.
- [2] Hidema J, Makino A, Kurita Y, et al. Changes in the levels of chlorophyll and light-harvesting chlorophyll a/b protein of PSII in rice leaves aged under different irradiance from expansion through senescence [J]. *Plant Cell Physiol*, 1992, 33:1209-1214.
- [3] Murchie E H, Chen Y Z, Hubbart S, et al. Interactions between senescence and leaf orientation determine in situ patterns of photosynthesis and photoinhibition in field-grown rice [J]. *Plant Physiol*, 1999, 119:553-563.
- [4] Grove A, Mohanty P. Leaf senescence-induced alterations in structure and function of higher plant chloroplasts [A]. In: Abrol Y P, Mohanty P. *Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity* [M]. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. 225-255.
- [5] 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 [J]. *Plant Cell Envir*, 1982, 5:27-30.
- [6] Kura-Hotta M, Satoh K, Katoh S. Relationship between photosynthesis and chlorophyll content during leaf senescence of rice seedling [J]. *Plant Cell Physiol*, 1984, 28 (7):1321-1329.
- [7] Gruszecki W I, Veeranjanyulu K, Zelent B, et al. Energy transfer process during senescence: fluorescence and photoacoustic studies of intact pea leaves [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1056:173-180.
- [8] Grover A. How to senescing leaves lose photosynthetic activity? [J] *Curr Sci*, 1993, 64:226-234.
- [9] Adams III W W, Winter K, Schreiber U, et al. Photosynthesis and

- chlorophyll characteristics in relationship to changes in pigment and element composition of leaves of *Platanus occidentalis* L. during autumnal leaf senescence [J]. *Plant Physiol*, 1990, 93: 1184–1190.
- [10] Lu C M, Lu Q T, Zhang J H, et al. Xanthophyll cycle, light energy dissipation and photosystem II down-regulation in senescent leaves of wheat plants grown in the field [J]. *Aust J Plant Physiol*, 2001, 28:1023–1030.
- [11] Smart C M. Gene expression during senescence [J]. *New Phytol*, 1994, 126:419–448.
- [12] Demmig-Adams B, Adams III W W. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species [J]. *Planta*, 1996, 198:293–303.
- [13] Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer [J]. *Photosyn Res*, 1986, 10:51–62.
- [14] Adams III W W, Demmig-Adams B, Logan B A, et al. Rapid changes in xanthophylls cycle depend energy dissipation and photosystem II efficiency in two vines, *Stephania japonica* and *Smilax australis*. Growing in the understory of an open *Eucalyptus* forest [J]. *Plant Cell Envir*, 1999, 22:125–136.
- [15] Gilmore A M, Yamamoto H Y. Resolution of lutein and zeaxanthin using a non-encapped lightly carbon-loaded C_{18} high-performance liquid chromatographic column [J]. *J Chromatogr*, 1991, 543:137–145.
- [16] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant Physiol*, 1949, 24:1–15.
- [17] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1990, 990:87–92.
- [18] Zhang R X (张荣铎), Dai X B (戴新宾), et al. Photosynthetic function of leaves and the potential photosynthetic productivity [J]. *J Nanjing Norm Univ (Nat Sci)*(南京师大学报自然科学版), 1999, 22(3):28–35. (in Chinese)
- [19] Horton P, Ruban A V, Walters G R. Regulation of light harvesting in green plants [J]. *Annu Rev Plant Physiol Biol*, 1996, 47:655–684.
- [20] Gilmore A M. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant and plant chloroplasts and leaves [J]. *Physiol Plant*, 1997, 99:197–209.
- [21] Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1990, 1020:1–24.
- [22] Yang C W, Chen Y Z, Peng C L, et al. Daily changes of components of xanthophyll cycle and antioxidant systems in leaves of rice at different developing stages [J]. *Acta Physiol Plant*, 2001, 23 (4):361–369.