

华航一号和华航八号与原品种剑叶 光合产物输出的比较

张东方¹, 张建国², 黄卓烈¹

(1 华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642)

摘要: 空间诱变水稻新品种华航一号和新品系华航八号与各自的原品种相比, 灌浆期剑叶都表现出 ATP 酶活性较高; 细胞质果糖-1, 6-二磷酸酯酶(FBP 酶)活性较低; 白天蔗糖积累较少, 淀粉积累较多; 夜间光合产物输出的总量较多. 水稻千粒质量和单穗质量与剑叶上午淀粉积累呈正相关, 与剑叶夜间光合产物总量下降呈正相关, 与剑叶上午蔗糖积累呈负相关.

关键词: 空间诱变; 光合产物运输; ATP 酶; 果糖-1, 6-二磷酸酯酶(FBP 酶); 蔗糖; 淀粉

中图分类号: S511

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2005)03-0010-04

The comparison of photosynthate translocation of Huahang No. 1 and Huahang No. 8 with their original cultivars

ZHANG Dong-fang¹, ZHANG Jian-guo², HUANG Zhuo-lie¹

(1 College of Life Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 College of Agriculture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Some physiological characteristics of new rice varieties after space mutation in flags related to translocation of photosynthate were compared with their original cultivars in the stage of grain filling. The activity of ATPase was increased. The activity of FBPase was decreased. The accumulation of sucrose content in the daytime was lower. The accumulation of starch content in the daytime was higher. The total photosynthate transported out from leaves in the night time was higher. 1 000-grain mass and filled grain mass per spike of rice were positively correlated to the starch increase of flags in the morning and the total photosynthate decrease of flags in the night, but negatively correlated to the sucrose increase of flags in the morning.

Key words: space mutation; photosynthate translocation; ATPase; FBPase; sucrose; starch

自 20 世纪 80 年代中期以来, 我国已通过空间诱变育种筛选出许多高产优质的新品种. 华航一号是我国返回式卫星搭载水稻种子特籼占 13 诱变后选育出的优质高产水稻新品种, 2001 年通过了广东省品种审定. 华航八号是利用高空气球搭载水稻种子粤香占诱变后选育出的优质高产水稻新品系. 目前对植物空间诱变育种在生理生化方面已有一些研究^[1]. 本研究以空间诱变新品种华航一号和空间诱

变新品系华航八号以及各自的原品种特籼占 13 和粤香占为材料, 通过测定剑叶叶绿素含量、光合速率、ATP 酶活性、果糖-1, 6-二磷酸酯酶(FBP 酶)活性、蔗糖及淀粉含量, 比较空间诱变新品种(或新品系)与原品种剑叶有机物输出的差异, 寻找空间诱变新品种(或新品系)增产的生理原因, 为今后的育种和栽培提供生理依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻华航一号、特籼占 13、华航八号、粤香占栽种在华南农业大学试验场同一块田, 每种试验材料各种一个 8 行×45 株的试验区, 于 2002 年 7 月 25 日播种, 8 月 2 日插秧, 株行距 20 cm×20 cm。

1.2 试验方法

- 1.2.1 剑叶叶绿素含量的测定 依 Amon^[2]的方法。
- 1.2.2 剑叶光合速率测定 用 Licor-6200 便携式光合作用测定仪连续 2 d 阳光充足无云的晴天上午 10:00~11:00 田间测定各品种(或品系)灌浆期剑叶的光合速率。叶面积用称质量法测定。
- 1.2.3 剑叶 ATP 酶提取及活性测定 样品提取操作在 0~4℃进行, 取剑叶 0.5 g, 4 mL 提取缓冲液研磨, 四重纱布过滤, 6 500 r/min 离心 15 min, 取上清液。提取缓冲液含蔗糖 0.25 mol/L、乙二胺四乙酸(EDTA)5.0 mmol/L、二巯基苏糖醇(DTT)1.0 mmol/L、苯甲基磺酰氟(PMSF)0.2 mmol/L、牛血清白蛋白(BSA)0.05 g/L、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)0.15 g/L、三羟甲基氨基甲烷—吗啉乙基磺酸(Tris-Mes)25 mmol/L, pH 7.6。
- ATP 酶活性测定按郝鲁宁等^[3] Mg²⁺—ATP 酶活性测定方法。无机磷测定按 Ohnishi 等^[4]的方法。
- 1.2.4 细胞质 FBP 酶提取及活性测定 FBP 酶的提取参照 Rufty 等^[5]的方法。提取操作在 0~4℃下进行, 剑叶 1 g, 用 5.0 mL 提取缓冲液研磨, 6 500 r/min 离心 15 min (转头半径 $r=101$ mm, 样品高度 $h<20$ mm), 取上清液。提取缓冲液为 50.0 mmol/L 羟乙基呱

嗪乙磺酸—NaOH (Hepes-NaOH), pH 7.5 内含 5.0 mmol/L MgCl₂、1.0 mmol/L EDTA、2.5 mmol/L DTT、0.2 g/L 聚乙二醇、0.1 g/L BSA。

FBP 酶活性测定参照陈景冶^[6]的方法。0.1 mL 酶液, 1.3 mL 反应缓冲液(5.0 μmol/L 还原型谷胱甘肽, 0.1 μmol/L EDTA-Na, 15.0 μmol/L MgCl₂, 100 μmol/L Tris-HCl, pH 8.0), 30℃恒温约 5 min, 加入 0.1 mL 5.0 μmol/L 腺苷二磷酸钠(ADP-Na)起始反应, 30℃恒温条件下准确反应 10 min, 加入 0.5 mL $w=12\%$ 的三氯乙酸终止反应。无机磷测定按 Ohnishi 等^[4]的方法。

1.2.5 蛋白质测定 按 Bradford^[7]的方法。

1.2.6 剑叶蔗糖和淀粉的测定 剑叶的处理按夏叔芳等^[8]的方法。新鲜剑叶置于 110℃烘箱烘 1 h, 然后于 70℃烘箱过夜。称取烘干的剑叶 50 mg, 磨碎, 倒入离心管, 加入 $\varphi=80\%$ 的乙醇 6 mL, 置于 80℃水浴中不断搅拌 40 min, 8 000 r/min 离心 15 min。上清液加活性碳 10 mg, 80℃搅拌脱色 30 min, 过滤, 滤液定容 10 mL 用于蔗糖测定; 离心后的沉淀加蒸馏水 3 mL, 置于 100℃水浴糊化 15 min, 冷却后在冰浴中加入 $\varphi=72\%$ 的冷冻过氯酸 2 mL, 搅拌 40 min, 过滤, 滤液定容 10 mL 用于淀粉测定。

蔗糖测定按 Cardini 等^[9]的方法。淀粉测定按 McCready 等^[10]的方法。

2 结果与分析

2.1 灌浆期剑叶的几个生理指标的比较

灌浆期剑叶的几个生理指标的测定结果见表 1。

表 1 灌浆期剑叶的几个生理指标的比较¹⁾

Tab. 1 Comparison of some physiological characteristics in the stage of grain filling

品种 cultivars	w(叶绿素 chlorophyll)/ (mg·g ⁻¹)	光合速率 ²⁾ photosynthetic rate/ (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	ATP 酶活性 ATPase activity/ (μmol·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	FBP 酶活性 FBPase activity / (μmol·mg ⁻¹ ·min ⁻¹)
华航一号 Huahang No. 1	1.77 b	23.28 a	9.15 b	0.739 b
特籼占 13 Texianzhan 13	1.47 d	21.56 a	6.41 c	0.807 a
华航八号 Huahang No. 8	1.88 a	22.26 a	10.70 a	0.605 c
粤香占 Yuexiangzhan	1.59 c	23.23 a	10.27 a	0.627 c

1) 同列数据后字母不同者表示 $\alpha=0.05$ 水平差异显著(Duncan's 法, SPSS 软件, 光合速率指标 $n=12$, 其余指标 $n=3$); 2) 在上午 10:00~11:00 时测定

华航一号叶绿素含量高于特籼占 13, 华航八号高于粤香占, 4 个品种(或品系)的叶绿素含量都有显著差异; 4 个品种(或品系)的光合速率在上午 10:00~11:00 时都没有显著差异。华航一号 ATP 酶活性高于特籼占 13, 差异显著; 华航八号 ATP 酶活性与粤香占差异不显著。华航一号细胞质 FBP 酶活性低于特籼占 13, 差异显著; 华航八号细胞质 FBP 酶活性与粤香占差异不显著。

©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 灌浆期剑叶蔗糖和淀粉含量的昼夜变化

华航一号、华航八号与原品种特粘占 13 和粤香占均在连续 3 d 晴天的 6:00、12:00 及 18:00 取灌浆期剑叶材料测定蔗糖和淀粉的含量,并计算 6:00、12:00 及 18:00 之间蔗糖和淀粉含量的差值,结果如表 2、3。

4 个品种(或品系)的灌浆期剑叶蔗糖含量均是早晨最低,正午时最高,下午含量下降,可见,光合作用后,蔗糖会在叶片积累,并且积累量与光合作用强弱一致。

华航一号灌浆期剑叶正午时的蔗糖含量比特粘占 13 低很多,差异显著;从早晨到正午蔗糖积累平均值的增加,华航一号与特粘占 13 相差近 1 倍,但 Duncan's 分析结果没有显著差异。剑叶蔗糖 18:00 与 6:00 的差值除部分用于剑叶自身的暗呼吸外,与夜间剑叶向外输出有关,华航一号的平均值比特粘占 13 高近 4 倍,但 Duncan's 分析结果也没有显著差异。

华航八号与粤香占灌浆期剑叶蔗糖含量变化相比,其趋势与华航一号和特粘占 13 灌浆期剑叶蔗糖含量变化相比的趋势相似。

表 2 灌浆期剑叶蔗糖含量的昼夜变化¹⁾

Tab. 2 The diurnal dynamics of sucrose contents in the flags in the stage of grain filling

mg·g⁻¹

取样时间 sampling time	华航一号 Huahang No. 1	特粘占 13 Texianzhan 13	华航八号 Huahang No. 8	粤香占 Yuexiangzhan
6:00	12.50 b	16.83 a	15.17 ab	13.90 ab
12:00	21.30 b	30.45 a	26.50 ab	31.65 a
18:00	17.67 b	18.17 ab	23.22 a	13.90 b
12:00 与 6:00 的差值	8.80 b	13.62 ab	11.33 ab	17.75 a
12:00 与 18:00 的差值	3.63 b	12.28 a	3.28 b	17.75 a
18:00 与 6:00 的差值	5.17 b	1.33 b	8.05 a	0.00 b

1) 同行数据后字母不同者表示 $\alpha=0.05$ 水平差异显著 (Duncan's 法, SPSS 软件, $n=6$)

4 个品种(或品系)灌浆期剑叶的淀粉含量均是从早晨到下午不断升高。可见,白天随着光合作用的进行,淀粉不断积累。经过一个夜晚,剑叶淀粉含量下降到前一天早晨的水平。

华航一号从早晨 6:00 到正午 12:00 灌浆期剑叶淀粉的积累,以及从正午到下午灌浆期剑叶的淀粉积累,均比特粘占 13 高,而且差异显著。华航一号灌浆期剑叶淀粉含量 18:00 与 6:00 的差值比特粘占 13

高,差异显著,剑叶淀粉除分解后用于暗呼吸外,与剑叶淀粉分解并合成蔗糖向外输出有关。

华航八号与粤香占灌浆期剑叶淀粉含量变化相比,其趋势同华航一号与特粘占 13 灌浆期剑叶淀粉含量变化相比的趋势相似。

表 3 灌浆期剑叶淀粉含量的昼夜变化¹⁾

Tab. 3 The diurnal dynamics of starch contents in the flags in the stage of grain filling

mg·g⁻¹

取样时间 sampling time	华航一号 Huahang No. 1	特粘占 13 Texianzhan 13	华航八号 Huahang No. 8	粤香粘 Yuexiangzhan
6:00	11.41 c	11.84 bc	12.25 b	12.76 a
12:00	20.43 b	19.71 c	22.50 a	20.61 b
18:00	24.31 b	21.78 d	24.62 a	23.47 c
12:00 与 6:00 的差值	9.02 b	7.87 c	10.25 a	7.85 c
18:00 与 12:00 的差值	3.88 a	2.07 b	2.55 b	2.86 ab
18:00 与 6:00 的差值	12.90 a	9.94 c	12.79 a	10.72 b

1) 同行数据后字母不同者表示 $\alpha=0.05$ 水平差异显著 (Duncan's 法, SPSS 软件, $n=6$)

2.3 部分产量性状与灌浆期剑叶光合产物输出的关系

4 个品种(或品系)成熟期的千粒质量和单穗质量田间调查结果见表 4。华航八号的千粒质量和单穗质量都显著高于原品种粤香占,华航一号的千粒质量和单穗质量与原品种特粘占 13 差异不显著。千粒质量和单穗质量是与产量有关的产量性状,当然产量还与穗粒数、有效穗数和株行距等因素有关。

表 4 4 个品种(或品系)的部分产量性状¹⁾

Tab. 4 Partial yield characters of 4 cultivars

g

品种 cultivars	千粒质量 1 000-grain mass	单穗质量 filled grain mass per spike
华航一号 Huahang No. 1	20.115a	3.322a
特粘占 13 Texianzhan 13	20.190a	3.239a
华航八号 Huahang No. 8	19.345b	2.916a
粤香占 Yuexiangzhan	18.270c	2.459b

1) 同列数据后字母不同者表示 $\alpha=0.05$ 水平差异显著 (Duncan's 法, SPSS 软件, $n=20$)

千粒质量和单穗质量与剑叶光合产物输出的相关分析见表 5。千粒质量和单穗质量均与灌浆期剑叶蔗糖和淀粉的夜间含量下降呈正相关,与夜间光合产物总量下降呈正相关,与剑叶上午积累的淀粉量呈正相关。千粒质量和单穗质量均与剑叶上午积累的蔗糖量呈负相关。

表 5 千粒质量和单穗质量与灌浆期剑叶光合产物输出特性的相关分析¹⁾

Tab. 5 The correlation analysis of 1 000-grain mass and filled grain mass per spike with the characteristics of photosynthate translocation of flags in the stage of grain filling

项目 items	夜间淀粉含量	夜间蔗糖含量	夜间光合产物总	上午淀粉积	上午蔗糖积
	下降 decrease of	下降 decrease of	量 ²⁾ 下降 decrease of	累量 increase of	累量 increase of
	starch content in the night	sucrose content in the night	total photosynthate in the night	starch in the morning	sucrose in the morning
千粒质量 1 000-grain mass	0.19	0.32	0.27	0.14	— 0.76
单穗质量 filled grain mass per spike	0.23	0.36	0.33	0.18	— 0.82

1)Microsoft excel 分析结果; 2)光合产物总量是指蔗糖和淀粉的总量

3 讨论与结论

叶片细胞质 FBP 酶是蔗糖合成速度的调节酶,其活性高低,影响蔗糖合成速度的快慢^[1];水稻高级分支叶脉的有机物装入是水稻韧皮部有机物装入的主要形式,是需能过程^[12],较高的叶片 ATP 酶活性可能有利于高级分支叶脉的有机物装入,蔗糖及时向外输出. 叶片细胞质 FBP 酶活性低,蔗糖合成较少,叶片 ATP 酶活性高,蔗糖输出速度较快,所以华航一号和华航八号比各自的原品种叶片蔗糖积累较少,蔗糖含量较低. 熊福生等^[13]从蔗糖分解与蔗糖含量的关系做过研究,比较了不同发育阶段叶片的酸性转化酶活性与蔗糖含量的关系,发现幼叶酸性转化酶活性较高,蔗糖含量较低,成长叶的酸性转化酶活性较低,蔗糖含量较高,叶片蔗糖含量与酸性转化酶活性呈负相关. 幼叶有机物从其他部位向叶片内运输,需要分解蔗糖的酶,所以,不同年龄叶片的比较,不能解释同是成长叶的蔗糖含量.

叶片细胞质 FBP 酶活性影响蔗糖合成速度,影响蔗糖淀粉合成途径对共同底物的竞争,从而影响光合产物形成蔗糖和淀粉之间的分配^[10],华航一号和华航八号与各自的原品种相比,FBP 酶活性都较低,蔗糖合成速度较慢,光合产物较多地合成淀粉在叶片积累. 本试验结果表明,灌浆期水稻剑叶白天蔗糖积累较少,淀粉积累较多,可能对籽粒灌浆有利. 灌浆期剑叶夜间向外输出的有机物总量较多,在夜间没有光合作用时,保持剑叶在夜间的有机物输出,可能对籽粒灌浆也是有利的.

参考文献:

[1] 李社荣, 曾孟潜, 刘雅楠, 等. 植物空间诱变研究进展 [J]. 核农学报, 1998, 12(6): 375— 379.

[2] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in beta vulgaris[J]. Plant Physiol, 1949, 24: 1— 15.

[3] 郝鲁宁, 余叔文. 大麦根细胞质膜 Ca²⁺-ATP 酶和 Ca²⁺转运系统的特性[J]. 植物生理学报, 1993, 19(2): 172— 180.

[4] OHNISHI T, GALL R S, MAYER M L. An improved assay of inorganic phosphate in the presence of extralabile phosphate compounds: Application to the ATPase assay in the presence of phosphocreatine[J]. Anal Biochem, 1975, 69: 261— 267.

[5] RUFTY T W Jr, HUBER S C. Changes in starch formation and activities of sucrose phosphate synthase and cytoplasmic fructose -1, 6-bisphosphatase in response to source-sink alterations [J]. Plant Physiol, 1983, 72: 474— 480.

[6] 陈景治. 植物生理实验手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1985. 162— 164.

[7] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248— 254.

[8] 夏叔芳, 于新建, 张振清. 叶片光合产物输出的抑制与淀粉和蔗糖的积累[J]. 植物生理学报, 1981, 7(2): 135— 141.

[9] CARDINI C E, LELOIR L F, CHIRIBOGA J. The biosynthesis of sucrose[J]. J Biol Chem, 1955, 214: 149— 155.

[10] McCREADY R M, GUGGOIZ J, SILVIERA V, et al. Determination of starch and amylose in vegetables[J]. Anal Chem, 1950, 22: 1 156— 1 158.

[11] 张振清. 光合碳在叶片淀粉和蔗糖间分配的调节[J]. 植物生理学通讯, 1989, 6: 1— 6.

[12] van BEL A J E. Strategies of phloem loading[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1993, 44: 253— 281.

[13] 熊福生, 高煜珠, 詹勇昌, 等. 植物叶片蔗糖、淀粉积累与其降解酶活性关系研究[J]. 作物学报, 1994, 20(1): 52— 58.

【责任编辑 李晓卉】