

## 不同世代水稻的光合速率、ATPase 活性及 ABA 含量变化的比较

李雪梅<sup>1,2,\*</sup> 徐正进<sup>3</sup> 张利红<sup>2</sup> 樊金娟<sup>2</sup>

<sup>1</sup>沈阳师范大学化学与生命科学学院, 沈阳 110034; <sup>2</sup>中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; <sup>3</sup>沈阳农业大学农学院, 沈阳 110161

**摘要** 随着世代的增加, 水稻上三叶中叶绿素含量有降低趋势, 倒三叶变化较明显。‘辽粳326’剑叶中ATPase活性、ABA含量和净光合速率则随世代的增加而逐渐降低, 但差异未达显著水平, 群体光合速率降低较明显,  $n$ 代与 $n+4$ 代差异达显著水平。‘奥羽316’的剑叶中ATPase活性、ABA含量和光合速率随世代增加变化不明显。

**关键词** 水稻; 世代; ATPase活性; ABA; 光合速率; 叶绿素

## Comparison of Changes in Photosynthetic Rate, ATPase Activity and ABA Content in Different Generations of Rice

LI Xue-Mei<sup>1,2,\*</sup>, XU Zheng-Jin<sup>3</sup>, ZHANG Li-Hong<sup>2</sup>, FAN Jin-Juan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Chemistry and Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China; <sup>2</sup>Shenyang Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; <sup>3</sup>College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

**Abstract** With increasing of generations, chlorophyll content in the top three leaves decreased gradually, and the change in the 3rd leaf was more obvious; ATPase activity, ABA content and net photosynthetic rate decreased gradually in flag leaf of *Oryza sativa* cv. ‘Liaojing 326’ but didn’t change in cv. ‘Aoyu 316’. While photosynthetic rate of plant population decreased significantly and difference was evidence between  $n$  and  $n+4$ .

**Key words** rice; generation; ATPase activity; ABA; photosynthetic rate; chlorophyll

从北方水稻比较发达的辽宁省1974~1997年审定的品种来看, 常规稻占95.4%, 而杂交稻仅占审定品种的4.6% (裴新华等1999)。生产中的优良水稻品种经多年栽培后产量会逐年降低, 这类种性优良的水稻可以保持多少代? 其产量降低的生理原因有哪些? 迄今, 有关种性衰退问题的报道还很少 (温钟瑞1989; 姜娟等2001; 王玉夫2001; 王忠华2001)。据此, 本文旨在通过对不同世代水稻生理特性的分析, 明确水稻世代间的生理变化, 找出导致产量降低的原因, 从而为水稻品种选育和优良种性的保持提供参考。

### 材料与方 法

试验选用水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种‘辽粳326’和‘奥羽316’为材料。1998年收获的种子中一部分保存于冰箱中记为 $n$ 代, 另一部分海南加代的成熟种子记为 $n+1$ 代;  $n+1$ 代一部分置于冰箱中保存, 另一部分继续加代后的种子记

为 $n+2$ 代; 继续种植、加代, 由此获得 $n$ 、 $n+1$ 、 $n+2$ 、 $n+3$ 、 $n+4$ 共5个世代。2001年5代全部种植。试验采用保温早育苗, 行株距为26.6 cm×16.6 cm, 每穴插1个苗, 5行区, 3 m行长。重复3次。整个生育期栽培管理同一般生产田。

于8月14日抽穗期每小区选取80个于同一天抽出的穗子挂牌标记, 以后每隔7~11 d采用日本产SPAD-502型活体叶绿素仪测定剑叶、倒二叶和倒三叶的活体叶中叶绿素含量, 用SPAD值表示。田间植株顶部上3片叶的SPAD值为每小区中间一行10片叶中部的平均值。另外, 分别在抽穗后0、14、28 d取每小区中间一行10片剑叶中部叶片准确称重, 样品置液氮中冷冻30 s后

收稿 2005-05-26 修定 2005-11-21  
资助 国家“948”计划(30040025)和沈阳师范大学博士启动基金(054-554318)。

\*E-mail: lxmls132@163.com, Tel: 024-86574211

置于-40℃冰箱中保存,待所有时期样品取完后同时测定下列各项指标。

ATPase活性测定参照陈季楚和傅婉华(1983)的方法,稍加改动。取叶片1g,用5mL冷却的提取介质冰浴研磨成匀浆,于4℃下以1000×g离心10min,上清液再以15000×g离心30min,沉淀用1mL悬浮介质悬浮后作为酶液。取0.3mL悬浮液加0.5mL反应液和0.4mL ATP溶液混合后,于36℃下保温30min,立即加入0.5mL 20%三氯乙酸终止反应。上清液用钼蓝比色法定磷,酶活性以每30min分解ATP释放的无机磷的OD<sub>660</sub>值表示。

内源激素ABA含量采用酶联免疫法(ELISA)测定(何钟佩1993)。酶联免疫试剂盒购自南京农业大学。

单叶光合速率采用美国CID公司生产的CI-301PS型便携式光合测定仪,开放式气路系统测定。于晴天上午10:00~12:00进行,每小区测定标记剑叶10片。群体光合速率采用封闭式测定方法,测定同化箱内CO<sub>2</sub>浓度的变化值。同化箱体积为0.6m×0.4m×1.3m。

数据分析采用单因子方差分析LSD多重比较。

## 实验结果

### 1 不同世代水稻叶中叶绿素含量的变化

一般来说,叶绿素衰减程度与其可目测到的叶色表现一致,因此叶绿素含量变化用作衡量叶片衰老的指标之一(Howard 1980)。由表1可以看出,随着种植世代的增加(*n*代到*n*+4),两品种水

表1 不同世代水稻叶中叶绿素含量的变化

Table1 Changes in chlorophyll content in leaves of different generations

抽穗后 时间/d	世代	‘辽粳326’			‘奥羽316’		
		剑叶	倒二叶	倒三叶	剑叶	倒二叶	倒三叶
0	<i>n</i>	40.2	40.1	40.2	37.6	37.5	37.6
	<i>n</i> +1	40.4 (0.50)	40.2 (0.25)	40.3 (0.25)	37.1 (-1.33)	36.7 (-2.13)	36.5 (-2.93)
	<i>n</i> +2	40.8 (1.49)	40.7 (1.50)	39.2 (-2.49)	37.7 (0.27)	36.6 (-2.40)	36.5 (-2.93)
	<i>n</i> +3	39.4 (-1.99)	39.5 (-1.50)	38.4 (-4.48)	37.0 (-1.60)	36.1 (-3.73)	36.1 (-3.99)
	<i>n</i> +4	39.3 (-2.24)	39.2 (-2.24)	38.4 (-4.48)	36.7 (-2.39)	35.7 (-4.80)	35.1 (-6.65)
7	<i>n</i>	42.1	40.1	38.4	38.2	37.0	34.1
	<i>n</i> +1	41.4 (-1.66)	40.2 (0.25)	39.6 (3.13)	37.8 (-1.08)	35.7 (-3.51)	32.2 (-5.57)
	<i>n</i> +2	42.4 (0.71)	40.1 (0)	37.4 (-2.60)	36.9 (-3.49)	35.7 (-3.51)	32.3 (-5.28)
	<i>n</i> +3	42.0 (-0.24)	39.5 (-1.50)	36.6 (-4.69)	37.5 (-1.88)	35.1 (-5.14)	31.6 (-7.33)
	<i>n</i> +4	41.9 (-0.48)	39.7 (-1.00)	38.1 (-0.78)	36.8 (-3.76)	35.3 (-4.59)	32.1 (-5.87)
12	<i>n</i>	41.1	40.3	37.4	34.6	33.7	29.9
	<i>n</i> +1	40.2 (-2.19)	38.5 (-4.47)	35.1 (-6.15)	34.2 (-1.16)	33.0 (-2.08)	26.1 (-12.71)
	<i>n</i> +2	39.9 (-2.92)	38.1 (-5.46)	36.3 (-2.94)	34.3 (-0.87)	33.4 (-0.89)	28.6 (-4.35)
	<i>n</i> +3	39.7 (-3.41)	37.6 (-6.70)	35.0 (-6.42)	33.7 (-2.60)	32.4 (-3.86)	26.7 (-10.70)
	<i>n</i> +4	39.7 (-3.41)	37.8 (-6.20)	35.5 (-5.08)	34.0 (-1.73)	32.7 (-2.97)	29.6 (-1.00)
21	<i>n</i>	38.0	36.1	33.7	31.3	27.5	21.6
	<i>n</i> +1	37.7 (-0.79)	35.6 (-1.39)	30.6 (-9.20)	31.6 (0.96)	27.8 (1.09)	21.3 (-1.39)
	<i>n</i> +2	36.0 (-5.26)	34.2 (-5.26)	31.9 (-5.34)	29.7 (-5.11)	27.7 (0.73)	21.3 (-1.39)
	<i>n</i> +3	36.7 (-3.42)	34.8 (-3.60)	29.4 (-12.76)	31.8 (1.60)	26.9 (-2.18)	21.7 (0.46)
	<i>n</i> +4	35.7 (-6.05)	34.2 (-5.26)	31.8 (-5.64)	30.5 (-2.56)	27.8 (1.09)	21.4 (-0.93)
32	<i>n</i>	33.5	31.3	26.9	25.3	21.9	—
	<i>n</i> +1	32.7 (-2.39)	29.2 (-6.71)	26.6 (-1.12)	24.9 (-1.58)	21.5 (-1.83)	—
	<i>n</i> +2	32.5 (-2.99)	29.5 (-5.75)	27.8 (3.35)	24.4 (-3.56)	18.9 (-13.70)	—
	<i>n</i> +3	31.9 (-4.78)	29.5 (-5.75)	25.9 (-3.72)	25.6 (1.19)	19.1 (-12.79)	—
	<i>n</i> +4	32.9 (-1.79)	28.8 (-7.99)	24.9 (-7.43)	24.4 (-3.56)	18.0 (-17.81)	—

单位为SPAD值。括号内数据为与*n*代比较变化的百分数。

稻上三叶中叶绿素含量都有逐渐降低的趋势,而且随着世代的增加,倒三叶叶绿素含量降低幅度比剑叶大,但经方差分析,差异未达显著水平。抽穗期‘辽粳326’的 $n+4$ 代剑叶中叶绿素含量与 $n$ 代相比下降2.24%,而倒三叶则下降4.48%;抽穗后32 d, $n+4$ 代剑叶中叶绿素含量与 $n$ 代相比下降1.79%,倒三叶则下降7.43%。比较‘奥羽316’各世代叶片叶绿素含量变化可以看出,其与‘辽粳326’叶绿素的变化趋势相同,随着世代增加倒三叶中叶绿素含量比剑叶降低明显。说明随着种植世代的增加,叶片特别是下部叶片衰老加速,叶片功能期缩短,从而导致后期光合速率下降,同化产物减少,籽粒灌浆不充分,最终产量降低。

## 2 不同世代水稻叶中ATPase活性的变化

在抽穗期,‘辽粳326’不同世代剑叶中ATPase活性不同,随着世代的增加其活性逐渐降低, $n$ 和 $n+1$ 代的活性明显高于后3代, $n+4$ 代比 $n$ 代下降15.86%。抽穗后14 d,剑叶中ATPase活性随着世代增加仍表现为下降,但与抽穗期相比,下降幅度减小。抽穗后28 d,各世代之间的这种差异逐渐缩小(图1)。抽穗期维持较高的ATPase活性对各种生理反应的顺利进行无疑是

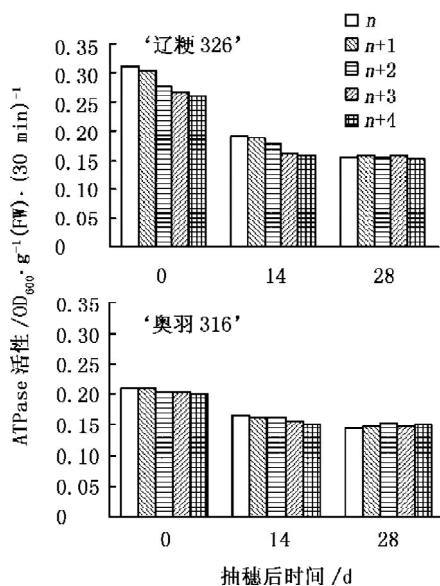


图1 不同世代水稻剑叶中ATPase活性的变化  
Fig.1 Changes inATPase activity in flag leaf of different generations of rice

有利的,在此期间,通常是叶片和茎鞘中贮存的光合产物大量运向籽粒,而叶中高的ATPase活性则是物质大量合成和迅速转运的保证(黄琪玉和吴志强1989)。

‘奥羽316’剑叶的ATPase活性在世代间的变化与‘辽粳326’的不同,并无明显差异(图1)。方差分析表明,叶片中ATPase活性在不同时间和不同世代间差异均不显著。

## 3 不同世代水稻单叶和群体光合速率的变化

图2显示,‘辽粳326’5个世代的剑叶平均净光合速率为 $6.999 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,随着种植世代的增加,其剑叶净光合速率有明显的降低趋势, $n$ 代为 $7.771 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,以后各代逐渐降低,表现出明显的世代间差异。对剑叶净光合速率进行方差分析, $n$ 代与 $n+4$ 代间差异达显著水平。与‘辽粳326’相比,‘奥羽316’剑叶净光合速率世代间差异不明显,最大差异不到6%。由单叶净光合速率的变化来看,‘辽粳326’世代间差异比‘奥羽316’的明显,并且在相差5代时差异就显著。

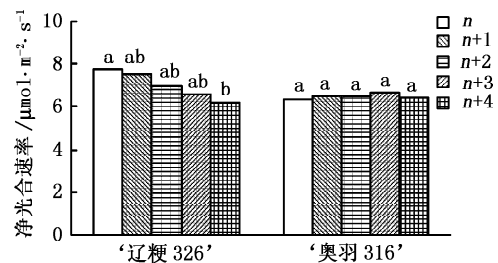


图2 不同世代水稻剑叶净光合速率的变化  
Fig.2 Changes in net photosynthetic rate in flag leaf of different generations of rice

具有相同小写字母者为差异性不显著,不同者为差异显著。

群体条件下的作物光合速率高低能更好地反映作物干物质积累的快慢(刘宛等2000)。图3显示,孕穗期‘辽粳326’群体光合速率有世代间的差异,随着种植世代的增加,群体光合速率逐渐降低, $n+4$ 代的与 $n$ 代相比降低25.61%;灌浆期,除 $n$ 代比 $n+1$ 代略低外,其它4个世代仍表现为逐渐降低的趋势。方差分析表明,灌浆期‘辽粳326’的 $n+1$ 代与 $n+4$ 代间差异显著之外,其余时间和各代间差异均未达到显著水平。‘奥羽

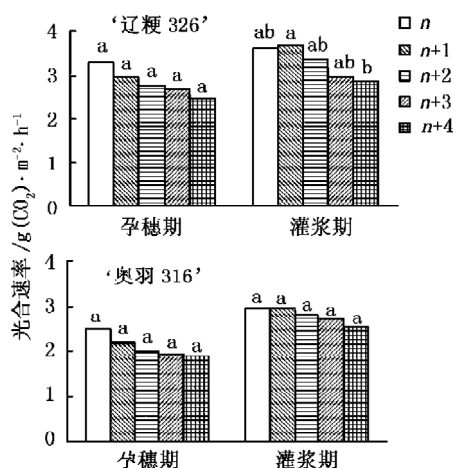


图3 不同世代水稻群体光合速率的变化  
Fig. 3 Changes in canopy photosynthetic rate  
in different generations of rice

具有相同小写字母者为差异性不显著, 不同者为差异显著。

316'的群体光合速率与'辽粳326'的相同, 随着世代的增加, 群体光合速率逐渐降低。但灌浆期世代间的这种差异较小, 方差分析表明世代间差异均不显著。在灌浆期, 各世代'奥羽316'的剑叶净光合速率基本上相同, 而在孕穗期和灌浆期群体光合速率却表现出较明显的差异。其原因可能是弯穗型品种剑叶在冠层上部受光态势较好, 所以没有表现出世代间差异; 而在群体条件下, 整个冠层下层叶片相互遮蔽, 随世代增加叶片衰老加快, 抗性降低(另文发表), 所以表现出群体光合速率随着世代增加而逐渐降低的趋势。

#### 4 不同世代水稻叶片中ABA含量的变化

内源ABA常被认为是促进衰老的激素, 一般来说, 叶中ABA含量升高会加速超氧化物歧化酶(SOD)活性下降, 促进丙二醛(MDA)积累, 以致膜脂过氧化(樊金娟等2004; 吴金贤1992)。图4显示, 抽穗期, 不同世代'辽粳326'的ABA含量几乎相同, 但到抽穗后14 d各世代间则表现出一定的差异, 随着世代的增加ABA含量略有增加, 而到抽穗后28 d这种变化趋势更加明显, 即剑叶中ABA含量随着世代增加而增高(图4)。「奥羽316」剑叶中ABA含量变化与「辽粳326」相似, 其世代间差异从抽穗期就已表现出来, 即随着世代的增加, 剑叶中ABA含量也逐渐增加。方差分析表明, 叶片中ABA含量在不同时间和不同

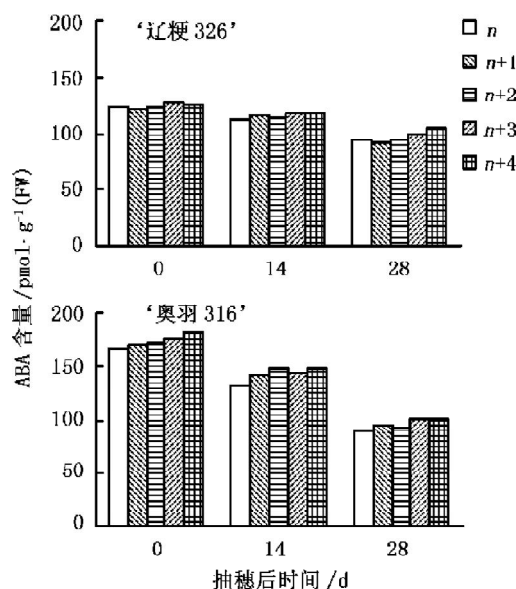


图4 不同世代水稻叶片中ABA含量的变化  
Fig. 4 Changes in ABA content in flag leaf  
of different generations of rice

世代间差异均不显著。

## 讨 论

任何水稻品种均有一组特定的指标, 在品种刚刚育成时, 群体中每个个体的性状几乎相同, 整个群体处在对环境利用的最佳状态, 自身具有很强的生活力和对不利因素的高度适应性, 并能充分有效地利用各种自然条件及栽培措施形成最高产量。这是品种高产的生理基础。但随着品种栽培世代的增加, 这些性状的特征指标常会发生不同程度的改变, 品种内部基因调控难以适应环境及栽培技术的变化而表现为各种抗性降低、生命力衰退、光合器官衰老, 导致产量变异大而逐年下降(卫云宗2002)。从我们的试验结果来看, 随着栽培世代的增加, 「辽粳326」叶片ATPase活性逐渐降低(图1), 叶片大量合成和转运物质的能力降低, 叶片功能减弱; 后期叶中叶绿素含量降低(表1), 绿叶面积减少, 同时, 促进衰老的激素ABA略有升高(图4), 单叶和群体的光合速率均呈下降趋势, 最终导致产量的降低(另文发表)。与「辽粳326」相比, 「奥羽316」随着世代增加的上述生理性状变化不显著。水稻优良品种是一种纯系, 但完全的纯是没有的, 随着栽培世

代的增加, 个体间会不断发生分离, 引起种性衰退, 产量降低。‘辽粳326’是粳粳稻杂交育成的品种, 而‘奥羽316’是由典型粳稻育成的, 遗传基础较单纯, 这可能是‘奥羽316’世代衰退较慢的原因之一。试验中,  $n$ 代材料是采用低温冷藏的方式保存的, 其种性保持良好。据此我们认为, 对优良品种来说, 采用低温冷藏, 分年繁殖等技术措施, 维持品种原有的遗传平衡, 可以在一定程度上延缓因种性衰退引起的产量降低, 从而延长优良品种的种植年限。

### 参考文献

- 陈季楚, 傅婉华(1983). 叶片细胞的膜束缚ATP酶活性的测定. 细胞生物学杂志, 5 (3): 21~23
- 樊金娟, 李雪梅, 阮燕晔, 张立军, 徐正进 (2004). 杂交水稻及其亲本灌浆过程中内源激素含量的变化. 植物生理学通讯, 40 (2): 146~148
- 何钟佩主编(1993). 农作物化学控制实验指导. 北京: 北京大学出版社, 60
- 黄琪玉, 吴志强(1989). 稻穗ATP酶活性与籽粒灌浆的关系. 福建农学院学报, 18 (4): 487~493
- 姜娟, 宋书宏, 葛大光, 李子升, 李军(2001). 大豆种子使用年限对生育性状及产量的影响. 杂粮作物, 21 (2): 27
- 刘宛, 陈温福, 徐正进, 宋桂云, 张龙步(2000). 水稻不同穗型品种穗部的某些生理特性观察. 植物生理学通讯, 36 (6): 527~530
- 裴新华, 卢庆善, 王伯伦(1999). 辽宁省农作物品种志(1974~1988). 沈阳: 辽宁科技出版社, 54~88
- 温钟瑞(1989). 基因群体结构的初步推论. 自然杂志, 9 (12): 691~694
- 王玉夫(2001). 水稻种性漂移及对策. 中国稻米, (3): 39~40
- 王忠华(2001). 从转基因到“时空”基因打靶. 科学时报, 07-27 (3)
- 吴金贤(1992). 6-BA对水稻叶片衰老过程中活性氧代谢的调控. 南京农业大学学报, 15 (3): 20~23
- 卫云宗(2002). 旱地小麦品种衰退原因分析. 麦类作物学报, 22 (1): 67~70
- Howard T (1980). Leaf senescence. Ann Rev Plant Physiol, 31: 83~111