

不同化感潜力水稻秧苗响应低钾的光合生理特性^{* *}

王海斌^{1,2} 何海斌^{1,2} 叶陈英² 邱龙² 方长旬² 林文雄^{1,2**}

(1. 生物农药与化学生物学教育部重点实验室 福州 350002; 2. 福建农林大学生命科学学院 福州 350002)

摘要 本研究以化感水稻“PI312777”和非化感水稻“Lemont”为材料,采用水培方法研究低钾(5 mg K·L⁻¹)和正常钾(40 mg K·L⁻¹)条件下,两水稻品种的光合生理及其响应机制。结果表明,低钾条件对非化感水稻“Lemont”的根长、株高、干重有显著的抑制作用;而对化感水稻“PI312777”的根长有促进作用,对其他指标的影响较小。低钾条件下,两种水稻光合作用参数——净光合速率、胞间CO₂浓度、蒸腾速率、气孔导度、气孔限制值、叶绿素含量等均下降,但非化感水稻“Lemont”下降的幅度较大,且与化感水稻“PI312777”差异显著。水稻光合作用相关酶的分析结果表明,低钾条件下核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶和乙醇酸氧化酶的活性及其基因表达强度均降低,但化感水稻“PI312777”的下降幅度显著小于非化感水稻“Lemont”。可见低钾条件下,化感水稻“PI312777”比非化感水稻“Lemont”具有更强的光合作用能力及耐营养匮乏能力。

关键词 水稻(*Oryza sativa* L.) 化感潜力 低钾胁迫 光合生理

中图分类号:Q945.11 文献标识码:A 文章编号:1671-3990(2008)06-1474-04

Photosynthetic physiology of different allelopathic rice accessions at seedling stage under potassium stress

WANG Hai-Bin^{1,2}, HE Hai-Bin^{1,2}, YE Chen-Ying², QIU Long²,
FANG Chang-Xun², LIN Wen-Xiong^{1,2}

(1. Key Laboratory for Biopesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, Fuzhou 350002, China;

2. School of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract Allelopathic rice “PI312777” and non-allelopathic rice “Lemont” were hydroponically cultured to explore photosynthetic physiological responses of different allelopathic rice accessions under low potassium supply. Morphological indices and photosynthetic physiological characteristics of two rice accessions respectively cultured in Hoagland solution at low potassium (5 mg·L⁻¹) and normal potassium (40 mg·L⁻¹) rates were investigated. The activities of three key enzymes associated with photosynthesis and expression of three key genes encoding enzymes were detected to evaluate the effect of low potassium on gene expression in two rice accessions. Results show that root length of “PI312777” is enhanced under low potassium supply and the reverse is the case for “Lemont”. Plant height and dry weight are slightly inhibited in “PI312777”, but significantly drop in “Lemont”. Under low potassium supply, photosynthetic physiological characteristics indices such as net photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration rate, intercellular CO₂ concentration, stomatal limitation and SPAD in “PI312777” slightly drop, but significantly drop in “Lemont”. Simultaneously, the activity and coding gene expression of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase, phosphoenolpyruvate carboxylase, and glycollic oxidase all decrease in two rice accessions under low potassium supply while significant decrease in non-allelopathic rice “Lemont”. The results indicate that “PI312777” has stronger photosynthetic ability and nutrition stress resistance.

Key words Rice (*Oryza sativa* L.), Allelopathic potential, Low potassium stress, Photosynthetic physiology

(Received Feb. 27, 2008; accepted June 15, 2008)

水稻是世界上最重要的粮食作物之一,构成了世界亿万人口的基本营养来源。随着世界人口的

* 国家自然科学基金(30671220,30471028)、福建省生态学重点学科项目(0608537)和福建省自然科学基金重大项目(2002F012)资助

** 通讯作者:林文雄(1957~),男,博士,教授,主要从事作物生理与分子生态学研究。E-mail:wenxiong181@163.com

王海斌(1983~),男,硕士研究生,主要从事植物化感作用及其分子生态学研究。E-mail:w13599084845@sina.com

收稿日期:2008-02-27 接受日期:2008-06-15

逐步增加和耕地面积的急剧减少,粮食增长措施的研究已成为当今农业科学研究的重要课题。但在常年种植中,水田杂草尤其是稗草危害严重,已成为粮食增产的首要限制因素^[1]。美国遗传育种学家 Dilday 对来自世界各国多达 17 279 种水稻品种进行田间抑草能力筛选,获得了 94 种具有较强化感抑草潜力的水稻品种,其中包括具有强化感作用潜力的水稻品种“PI312777”和化感作用潜力较弱或非化感水稻品种“Lemont”^[2,3]。福建农林大学农业生态研究所长期研究发现,两水稻品种不仅在化感潜力上存在差异,还在抵抗外界环境胁迫及营养吸收上也存在显著区别,并从生理及分子水平揭示了两水稻品种在低氮、低磷条件下的生理与分子响应机制^[4]。但对于钾素胁迫下两水稻品种响应机制尚未作深入探讨,目前也未见较为系统的报道。

作物光合作用是作物生长发育和产量形成的生理基础,也是作物生产力高低的决定性因素。据报道小麦灌浆期高温使小麦叶片合成光合产物的能力下降,严重降低了籽粒中光合产物的积累^[5]。渍害则导致小麦上部功能叶早衰早枯,光合作用受抑制,减少了小麦光合产物的积累量和积累速度,使产量性状变劣并最终导致减产^[6]。程旺大等^[7]研究表明,杂交粳稻籽粒灌浆及后期,叶片光合特性可调控杂交粳稻的产量。可见作物光合效率高直接低直接影响作物产量,因而研究不同钾素条件下,不同化感潜力水稻的光合生理机制具有重要的意义。本研究以国际上公认的化感水稻品种“PI312777”和非化感水稻品种“Lemont”为材料,采用水培法研究两种水稻品种响应钾素胁迫的光合生理机制,以期选育化感抑草并兼具耐瘠性的新型水稻品种提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计

将催芽后的强化感水稻品种“PI312777”和非化感水稻品种“Lemont”种子分别播在秧盘里,至二叶期,选择均匀秧苗移至盛有 10 L 完全培养液(Hoagland 配方)的塑料盆(长 45 cm × 宽 35 cm × 高 15 cm),塑料盆中悬浮厚为 1.5 cm 的塑料泡沫板,泡沫板上均匀分布直径 1.5 cm 的小孔 40 个,每孔 1 株,株行距为 5 cm × 5 cm,恢复培养 7 d。更换培养液,营养成分除钾元素外,其他保持不变,钾分两个水平:低钾水平为 5 mg(K) · L⁻¹(记为 K⁻),正

常钾水平为 40 mg(K) · L⁻¹(记为 K⁺),每个水平设 3 个重复。培养 7 d 后,进行相关项目的测定。

1.2 水稻形态指标分析

采用直接测量法对各处理水稻品种的根长、株高进行测定,每个处理测量 20 株;测定完毕,取水稻 5 株 120 °C 杀青后,70 °C 烘干至恒重,称量干物质量。

1.3 光合作用参数的测定

采用美国 Gene 公司的 LI-6400 型自动便携式光合测定系统测定净光合速率(P_n)、大气温度(T_a)、大气 CO₂ 浓度(C_o)、细胞间 CO₂ 浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)等光合作用参数。气孔限制值(L_s)利用 Downton 的方法计算, $L_s = (C_o - C_i)/(C_o - \Gamma) \approx 1 - C_i/C_o$,方程中 C_o 、 C_i 和 Γ 分别为叶外 CO₂ 浓度、细胞间 CO₂ 浓度和 CO₂ 补偿点。测定过程采用生物效应灯为光源,PPFD 为 1 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,大气温度为 30 ~ 35 °C, ΔC_a 为 $\pm 1 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 。叶绿素含量为采用便携式叶绿素测定仪(日本)测定的水稻叶片 SPAD 值,每盆测定 15 个叶片,取平均值。

1.4 水稻光合酶活性的测定

水稻叶片光合作用相关酶——核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶和乙醇酸氧化酶活性的测定参照王学奎等的方法^[8],磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定参照马冬云的方法^[9]。

1.5 水稻光合作用关键酶基因的差异表达分析

水稻光合作用相关基因——核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶基因、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因、乙醇酸氧化酶基因的差异表达分析参照王海斌等的方法^[10],相应基因的引物见表 1。

1.6 数据统计分析

所获数据采用 DPS2000 软件进行统计分析,不同处理间的显著性分析采用 LSD 方法。

2 结果与分析

2.1 不同供钾条件对不同化感潜力水稻秧苗形态的影响

表 2 中的调查结果表明,与正常钾素条件(K⁺)相比,低钾条件下(K⁻)化感水稻“PI312777”的根长显著增加,根增长 32.28%;株高和干重受影响较小,株高和干重分别下降 0.47% 和 4.10%。而低钾条件下非化感水稻“Lemont”的根长、株高、干重均受到较大影响,各指标分别下降 14.08%、5.27%、13.95%,且与化感水稻“PI312777”差异显著。

表 1 水稻光合作用关键酶基因表达的 FQ-PCR 引物设计及序列

Tab.1 The FQ-PCR primers of the relative gene expression in rice involving in photosynthesis

| 关键酶 Key enzyme | 登录号 Accession number | 来源 Source | 引物序列 Primer sequence (5' -3') |
|---|----------------------|------------------------|--|
| 核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶 Ribulose 1,5 - bisphosphate carboxylase | D00644 | 水稻 <i>Oryza sativa</i> | S- CAGCAATGGCGGAAGGAT A- GCCGATGATACGGATAAAGG |
| 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 Phosphoenolpyruvate carboxylase | AB234234 | 水稻 <i>Oryza sativa</i> | S- TGCAGCCGACCTGAAGA A- CAGCAGCACTCCATTACAC |
| 乙醇酸氧化酶 Glycolate oxidase | AF022740 | 水稻 <i>Oryza sativa</i> | S- CCCATAATGATTGCTCCCA A- GCGGACCTCTCAACACTT |

表 2 不同钾素条件下不同化感潜力水稻的根长、株高、干重

Tab.2 Root length, plant height, and dry weight of different allelopathic potential rice seedling under different potassium supplies

| 品种 Accession | 根长 Root (cm) | | 株高 Plant height (cm) | | 干重 Dry weight (g) | |
|-----------------|--------------|--------------|----------------------|---------------|-------------------|----------------|
| | K + | K - | K + | K - | K + | K - |
| PI312777 | 6.32 ± 0.96c | 8.36 ± 0.83a | 36.42 ± 1.23b | 36.25 ± 1.19b | 1.387 ± 0.059b | 1.330 ± 0.062c |
| Lemont | 8.45 ± 0.57a | 7.26 ± 0.64b | 38.51 ± 1.07a | 36.48 ± 1.14b | 1.427 ± 0.048a | 1.228 ± 0.037d |

小写字母表示 0.01 < P < 0.05 的显著水平,下同。Numbers followed by different lowercase letters are significantly different at 0.01 < P < 0.05. The same below.

2.2 不同供钾条件对不同化感潜力水稻秧苗光合生理的影响

低钾条件下,不同化感潜力水稻的光合生理指标均呈下降趋势,但影响程度不同(表 3)。与正常钾素条件相比,低钾条件下化感水稻“PI312777”的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率、胞间 CO₂ 浓度、气孔限制值、叶绿素含量等分别下降 1.74%、8.53%、7.04%、3.11%、1.46%、5.90%,而非化感水稻“Lemont”相应指标则分别下降 16.59%、21.29%、23.43%、9.83%、12.26%、17.68%,且与

化感水稻“PI312777”差异显著。

2.3 不同供钾条件对不同化感潜力水稻秧苗光合作用关键酶活性的影响

由表 4 结果可知,低钾条件下化感水稻“PI312777”光合作用关键酶——核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、乙醇酸氧化酶等的活性分别比正常钾素条件下降低 2.82%、5.56%、4.46%,而非化感水稻“Lemont”分别下降 20.59%、13.73%、14.15%。

表 3 不同供钾条件对不同化感潜力水稻叶片光合生理特性的影响

Tab.3 Effects of different potassium supplies on photosynthetic indices of different allelopathic potential rice seedling leaves

| 光合生理指标 Photosynthesis physiology index | PI312777 | | Lemont | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | K + | K - | K + | K - |
| 净光合速率 Net photosynthetic rate [$\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$] | 25.27 ± 1.03a | 24.83 ± 0.95a | 25.49 ± 0.87a | 21.26 ± 1.12b |
| 气孔导度 Stomatal conductance [$\text{mol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$] | 0.258 ± 0.041a | 0.236 ± 0.054a | 0.263 ± 0.039a | 0.207 ± 0.048c |
| 蒸腾速率 Transpiration rate [$\text{mmol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$] | 2.13 ± 0.29b | 1.98 ± 0.25c | 2.39 ± 0.31a | 1.83 ± 0.28d |
| 胞间 CO ₂ 浓度 Intercellular CO ₂ concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$) | 225 ± 2.17b | 218 ± 1.95c | 234 ± 2.23a | 211 ± 2.06d |
| 气孔限制值 Stomatal limitation | 0.412 ± 0.41b | 0.406 ± 0.38b | 0.424 ± 0.29a | 0.372 ± 0.32c |
| 叶绿素含量 Chlorophyll content (SPAD) | 37.3 ± 1.04a | 35.1 ± 0.97b | 36.2 ± 1.13a | 29.8 ± 1.21c |

表 4 不同供钾条件对不同化感潜力水稻光合作用关键酶活性的影响

Tab.4 Enzyme activities in rice leaves involving in photosynthesis under different potassium supplies

| 关键酶 Key enzyme | PI312777 | | Lemont | |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | K + | K - | K + | K - |
| 核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶 Ribulose 1,5 - bisphosphate carboxylase [$\text{mmol}(\text{CO}_2) \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}(\text{protein})$] | 0.71 ± 0.08a | 0.69 ± 0.05a | 0.68 ± 0.07b | 0.54 ± 0.04c |
| 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 Phosphoenolpyruvate carboxylase [$\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}(\text{protein})$] | 0.54 ± 0.03a | 0.51 ± 0.04b | 0.51 ± 0.07b | 0.44 ± 0.05c |
| 乙醇酸氧化酶 Glycollic oxidase [$\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}(\text{protein})$] | 1.12 ± 0.14a | 1.07 ± 0.11b | 1.06 ± 0.09b | 0.91 ± 0.13c |

2.4 低钾条件下不同化感潜力水稻秧苗光合作用关键酶基因的差异表达

不同化感潜力水稻光合作用关键酶基因的差异表达分析结果(表5)表明,低钾条件下化感与非化感水稻光合作用关键酶基因均下调表达,但非化

感水稻“Lemont”下调倍数明显高于化感水稻“PI312777”。核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶基因非化感水稻“Lemont”下调倍数是化感水稻“PI312777”的3.42倍,磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因为3.58倍,乙醇酸氧化酶基因为2.88倍。

表5 低钾条件下不同化感潜力水稻叶片光合作用关键酶基因的下调倍数

Tab.5 Down-regulated gene expression of key enzymes in leaves of different allelopathic potential rice accessions involving in photosynthesis under lower potassium supplies

| 关键酶 Key enzyme | PI312777 | Lemont | PI312777 : Lemont |
|--|----------|--------|-------------------|
| 核酮糖 1,5 - 二磷酸羧化酶 Ribulose 1,5 - bisphosphate carboxylase | 0.54b | 1.85a | 1.00 : 3.42 |
| 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 Phosphoenolpyruvate carboxylase | 0.52b | 1.86a | 1.00 : 3.58 |
| 乙醇酸氧化酶 Glycollic oxidase | 0.57b | 1.64a | 1.00 : 2.88 |

3 讨论

植物化感作用是植物体在生态系统中的自身防御或抗逆能力,利用植物化感作用控制农田杂草,不必向系统引入难降解的化学物质,不会带来环境污染、农药残留等问题,是21世纪发展可持续农业的生物工程技术之一,已成为当前世界各国研究的热点。因此选育具有化感抑草并耐瘠高效水稻的组合品种具有重要意义。

本研究结果显示,低钾条件下,化感水稻“PI312777”的形态及光合生理指标均受到较小的影响,而非化感水稻“Lemont”则被显著抑制。进一步分析光合作用关键酶——核酮糖 1,5 - 二磷酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、乙醇酸氧化酶活性及相应基因的差异表达发现,低钾条件下两水稻品种各指标均下降,但非化感水稻“Lemont”下降幅度较大,且与化感水稻“PI312777”差异显著。核酮糖 1,5 - 二磷酸羧化酶是决定 C₃ 植物光合碳代谢方向和效率的关键酶,此酶羧化活性的强弱直接影响 CO₂ 同化速率^[11]。Camp 等^[12] 研究发现,小麦核酮糖 1,5 - 二磷酸羧化酶活性与光合速率显著正相关^[13]。磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶在 C₃ 植物固定呼吸释放出的 CO₂ 和碳素累积上起着关键的作用,而乙醇酸氧化酶活性与作物光合性能及产量呈正相关^[14]。

综上所述,低钾条件下非化感水稻“Lemont”光合作用关键酶的基因表达下调,导致相应酶活性下降,进而引起光合作用相关参数降低,光合作用能力下降,导致植物根系生长受阻,植株增长减缓和干物质积累降低等。而化感水稻“PI312777”在低钾条件下则表现出较强的适应能力。

参考文献

[1] Chandler J. M. Estimated loss of crops weeds[M]//Pimented D. Handbook of Pest Management in Agriculture.

Boca Raton: CRC Press, 1981: 95 - 109

- [2] Dilday R. H., Nastasi P., Smith R. J. Jr. Allelopathic observation in rice (*Oryza sativa* L.) to ducksalad (*Heteranthera limosa*) [C]// Proceedings of the Arkansas Academy of Sciences, 1989, 43: 21 - 22
- [3] Dilday R. H., Lin J., Yan W. Identification of allelopathy in the USDA-ARS rice germplasm collection [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1994, 34: 907 - 910
- [4] 林文雄. 水稻化感作用[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2006: 113 - 184
- [5] 郭文善, 施劲松, 彭永欣, 等. 灌浆期高温对小麦光合产物运转的影响[J]. 核农学报, 1998, 12 (1): 21 - 27
- [6] 王晨阳, 马元喜, 周苏玫, 等. 土壤渍水对冬小麦根系活性氧代谢及生理活性的影响[J]. 作物学报, 1996, 22 (6): 712 - 719
- [7] 程旺大, 姚海根, 张红梅. 南方晚粳杂交稻与常规稻籽粒灌浆及后期叶片光合特性的差异[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(2): 174 - 178
- [8] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 138 - 144
- [9] 马东云, 郭天财, 王晨阳, 等. 不同发育时期追氮肥对冬小麦旗叶中光合酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(6): 1091 - 1095
- [10] 王海斌, 熊君, 方长旬, 等. 氮素胁迫下强、弱化感水稻萜类代谢途径中关键酶基因差异表达的 FQ-PCR 分析[J]. 作物学报, 2007, 33(8): 1316 - 1321
- [11] Makino A., Mae T., Ohira K. Photosynthesis and ribulose 1,5 - bisphosphate carboxylase/oxygenase purified from rice leaves[J]. Plant physiol., 1983, 79: 57 - 61
- [12] Camp P. J., Huber S. C., Burke J. J., et al. Biochemical changes that occur during senescence of wheat leaves[J]. Plant Physiol., 1982, 70: 1641 - 1646
- [13] Stitt M. Nitrate regulation of metabolism and growth[J]. Current Opinion Plant Biology, 1999, 2: 178 - 186
- [14] 代红军, 王彦才, 马宏伟. 小麦品种间乙醇酸氧化酶活性的测定和比较[J]. 宁夏农林科技, 1999 (5): 14 - 16