

网络出版时间:2022-04-27 14:28 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2022.11.005
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20220426.1600.004.html

外源 C_4 -PEPC 对水稻粒形和稻米品质及成分的影响

连 玲^{1,2,3}, 吴春珠¹, 何 炜^{1,2,3}, 郑燕梅^{1,2,3},
魏林艳^{1,2,3}, 蔡秋华^{1,2,3}, 谢华安^{1,2,3}, 张建福^{1,2,3}

(1 福建省农业科学院 水稻研究所, 福建 福州 350018; 2 农业部华南杂交水稻种质创新与分子育种重点实验室, 福建 福州 350003;
3 福州(国家)水稻改良分中心, 福建 福州 350003)

【摘 要】【目的】磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)参与植物碳代谢, 并且在碳氮耦合代谢调节过程中扮演着重要角色。分析导入外源 C_4 -PEPC 对水稻稻谷粒形和稻米品质及成分变化的影响, 进一步阐明 C_4 -PEPC 在 C_3 植物水稻中的作用。【方法】以航 2 号(对照)和转 C_4 -PEPC 水稻为材料, 采用万深 SC-G 型自动考种及千粒重分析仪分析稻谷的粒形, 采用电镜扫描观察稻米内部淀粉粒结构, 参照标准米质测定方法测定稻米品质(直链淀粉含量、胶稠度、碱消值); 同时, 测定稻米中支链淀粉、蔗糖、可溶性总糖及碳氮的含量, 并采用高效液相色谱法测定稻米中的氨基酸含量。【结果】粒形分析表明, 与对照航 2 号相比, 转 C_4 -PEPC 水稻的谷粒明显较短较窄, 其长、宽、周长及千粒质量也明显较小。电镜扫描显示, 航 2 号淀粉粒排列紧密, 而转 C_4 -PEPC 稻米淀粉粒排列明显比较松散。转 C_4 -PEPC 株系稻米中直链淀粉含量明显较低, 而支链淀粉含量明显较高, 胶稠度和碱消值与对照无明显差别, 垩白率和垩白度降低, 蔗糖和可溶性糖含量极显著降低。转 C_4 -PEPC 稻米的总氮含量明显较低, 其中天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、酪氨酸、缬氨酸、胱氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸等 14 种氨基酸含量明显较低, 而其余 3 种氨基酸, 即脯氨酸、异亮氨酸、色氨酸含量与对照无明显差别。【结论】导入外源 C_4 -PEPC 后, 水稻谷粒变小, 淀粉粒排列松散, 稻米中直链淀粉、蔗糖、可溶性糖、总氮及大部分氨基酸含量降低, 而支链淀粉含量升高。

【关键词】 水稻; 外源 C_4 -PEPC; 水稻粒形; 稻米品质

【中图分类号】 S511.032 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-9387(2022)11-0035-07

Effect of exogenous C_4 -PEPC on grain shape, quality and composition of rice (*Oryza sativa*)

LIAN Ling^{1,2,3}, WU Chunzhu¹, HE Wei^{1,2,3}, ZHENG Yanmei^{1,2,3}, WEI Linyan^{1,2,3},
CAI Qiuhua^{1,2,3}, XIE Huaan^{1,2,3}, ZHANG Jianfu^{1,2,3}

(1 Rice Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350018, China;
2 Key Laboratory of Germplasm Innovation and Molecular Breeding of Hybrid Rice for South China, Ministry of Agriculture, Fuzhou, Fujian 350003, China; 3 Fuzhou Branch, National Rice Improvement Center of China, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract:【Objective】Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) involves in carbon metabolism of plants and has an important role in carbon and nitrogen interactions. This study investigated the changes in grain shape and composition of rice with exogenous C_4 -PEPC to clarify the effects of exogenous C_4 -PEPC and the role of C_4 -PEPC in C_3 plant rice.【Method】The grain shape of Hang 2 (CK) and rice with C_4 -

【收稿日期】 2021-11-01
【基金项目】 国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08001-004); 杂交水稻国家重点实验室(湖南杂交水稻研究中心)开放课题(2019KF10); 福建省农业科学院农业科技专项(GJPY2019005)
【作者简介】 连 玲(1983—), 女, 福建武平人, 助理研究员, 硕士, 主要从事水稻分子生物学与分子育种研究。
E-mail: lianling51@163.com
【通信作者】 张建福(1971—), 男, 福建永定人, 研究员, 博士, 主要从事水稻分子设计育种研究。E-mail: jianfzhang@163.com

PEPC was analyzed using SC-G Rice Automatic Test Analyzer (Wanshen). The starch grain structure was observed by scanning electron microscope (SEM). Rice quality indexes including amylose content, gel consistency and alkali spreading value were determined according to the standard method of rice quality determination. The grain amylopectin, sucrose, soluble sugar, carbon and nitrogen contents were determined, and amino acid content was determined using high performance liquid chromatography (HPLC). 【Result】 The grain of rice with C_4 -PEPC was shorter and narrower compared with CK, and grain length, width, perimeter and 1 000-grain weight of rice with C_4 -PEPC were reduced. The starch granule of CK was arranged densely, while that of rice with C_4 -PEPC was arranged loosely. In contrast with CK, rice with C_4 -PEPC had lower grain amylose content, sucrose content, soluble sugar content, chalkiness rate and chalkiness degree, but higher amylopectin content. The gel consistency and alkali spreading value had no difference between CK and rice with C_4 -PEPC. The contents of grain nitrogen and 14 amino acids including Asp, Glu, Ser, Gly, His, Arg, Thr, Ala, Tyr, Val, Cys, Leu, Phe and Lys decreased, while contents of Pro, Ile and Trp unchanged in rice with C_4 -PEPC. 【Conclusion】 Introduction of exogenous C_4 -PEPC caused smaller grain, loose starch granule, lower contents of grain amylose, sucrose, soluble sugar, nitrogen and most of amino acids, and higher amylopectin content.

Key words: rice; exogenous C_4 -PEPC; rice grain shape; grain quality

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)广泛存在于维管植物、原生动物、蓝藻、绿藻、非光合细菌和古细菌中^[1-2],在植物细胞中主要参与光合碳同化等重要代谢途径,并且在不同组织中具有多种生理功能^[3]。在 C_4 和景天科植物中,PEPC 的主要生理作用是固定原初二氧化碳(CO_2),催化碳的同化;但在非光合作用组织及 C_3 植物中,PEPC 是三羧酸循环(TCA 循环)回补代谢途径的关键酶,催化磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)与 HCO_3^- 反应生成草酰乙酸(OAA),此反应不可逆,而产物 OAA 是 TCA 循环的重要原料^[1]。与 C_3 植物相比, C_4 植物的光合效率高, CO_2 补偿点低,光呼吸弱,其主要原因是由于最初固定 CO_2 的关键酶 PEPC 对 CO_2 的亲力强,并起到 CO_2 泵的作用,同时能有效抑制核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)的加氧活性,降低光呼吸能力^[4-6]。科学家们设想将 C_4 光合作用途径引入 C_3 植物,并进行了将 C_4 型植物 PEPC 导入到 C_3 植物的研究。因此,全面分析 C_4 -PEPC 在 C_3 植物水稻中的作用,可为 C_4 型基因更好地应用于 C_3 植物奠定必要的理论基础。

目前,有关将 C_4 型基因导入 C_3 植物的研究较多。Ku 等^[7]将完整的玉米 PEPC 转入水稻,发现转基因水稻中 PEPC 活性明显提高,光氧化减弱,但光合速率变化不明显;而后来的研究发现,导入玉米 PEPC 后水稻的光合速率有不同程度提高^[8-10],气孔导度增加, CO_2 吸收速率和羧化效率提高, CO_2 补偿点略有降低^[11-13];导入高粱、甘蔗或稗草 PEPC

后,水稻植株的光合速率也有所提高^[14-16]。另外,水稻中转入 PEPC 基因后,PEPC 可以激活清除活性氧的关键酶,从而有效清除叶片活性氧,增强抗光氧化能力^[17-18];在高光强下,转 PEPC 基因水稻光化学效率下降较少,光化学猝灭系数较为恒定,表现出耐光抑制^[19-20]。在其他逆境或外源物质处理下,转 PEPC 基因水稻也表现出与对照不一样的生理特性。在低氮情况下,转 PEPC 基因水稻表现出耐低氮的优势,碳氮关键酶活性较高,参与光呼吸相关基因表达上调,并具更高的单株产量^[21-22]。干旱胁迫下,转 PEPC 基因水稻的光合及抗氧化系统能保持相对较高的稳定性,可减轻干旱胁迫对光合作用的抑制作用,具较强的抗旱能力^[23-24];且其抗旱性与糖类代谢及 Ca^{2+} 、NO、 H_2O_2 相关的信号传递有关^[25-27]。外源草酰乙酸、苹果酸及亚硫酸氢钠处理可以增强转玉米 PEPC 水稻的光合速率^[28-29]。因此,转 C_4 -PEPC 水稻的生理特性发生了明显的变化。同时,研究者将转 C_4 -PEPC 水稻进一步应用于育种,发现 C_4 -PEPC 在新遗传背景下能高水平表达并稳定遗传,杂交后代的光合特性得到了一定改善,被认为值得进一步考察和利用^[30-32]。另外, C_4 -PEPC 的转入会影响水稻籽粒中的组成成分含量。李霞等^[33]的研究表明,转 PEPC 水稻籽粒中可溶性糖和蛋白质含量显著增加,而淀粉含量无明显变化;张边江等^[34]研究表明,转 PEPC 水稻籽粒中脂肪质量分数显著增加,可溶性糖质量分数降低,而水分、灰分和淀粉的质量分数无显著差异。

综上所述,现有的相关绝大部分研究侧重于 C_4 -PEPC 水稻的生理生化方面,包括光合特性和抗逆特性等,而关于 C_4 -PEPC 对稻米影响的研究较少。本研究拟分析转 C_4 -PEPC 水稻的粒形、稻米淀粉粒分布情况、稻米品质和稻米成分,以期为完善 C_4 -PEPC 在 C_3 植物水稻中的功能分析提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

航 2 号对照(CK)水稻及不同株系的高代转 C_4 -PEPC 水稻种子,均由福建省农业科学院水稻研究所农业农村部华南杂交水稻种质创新与分子育种重点实验室保存。当年收获,室温放置 3 个月后用用于后续试验。

1.2 试验方法

1.2.1 粒形分析 采用万深 SC-G 型自动考种及千粒重分析仪对航 2 号水稻和转 C_4 -PEPC 水稻种子的粒形进行分析,测定谷粒的周长、长、宽、直径、面积和千粒质量。每个样品重复测定 5 次,每个重复 150 粒。

1.2.2 电镜扫描观察 将航 2 号及转 C_4 -PEPC 株系稻谷送往福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,电镜扫描观察其横截面及淀粉粒分布情况。据观察,不同转基因株系情况类似,因此随机选择其中 1 个株系进行拍摄。

1.2.3 米质的测定 收获成熟种子自然晒干,室温放置 3 个月。每个品种称取 200 g,采用中华人民共和国农业农村部标准米质测定方法(NY/T 83—2017)对样品的米质进行测定,每个样品重复测 3 次,计算其垩白率和垩白度。其中,垩白率是具垩白的稻米数量占稻米总数的比率,垩白度是测定稻米中垩白部位的面积占米粒投影面积的比例。

1.2.4 稻米总碳和糖类含量的测定 随机选择其中 1 个转 C_4 -PEPC 水稻株系进行后续的物质含量测定。样品送福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所测定稻米总碳含量;样品处理以及可溶性总糖和蔗糖含量的测定参见《植物生理学实验指导》^[35];样品送往苏州科铭生物技术有限公司测定支链淀粉含量。每个样品重复测定 3 次。

1.2.5 稻米总氮和氨基酸含量的测定 采用凯氏定氮法测定稻米的总氮含量;采用高效液相色谱法(HPLC,Agilent 1100)测定稻米 17 种氨基酸含量。每个样品重复测 3 次。

1.3 数据处理

试验数据采用单因素方差分析或 t -检验分析,以 $P \leq 0.05$ 为差异显著;采用 SPSS 软件及 Microsoft Excel 2019 进行统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 转 C_4 -PEPC 水稻的粒形分析

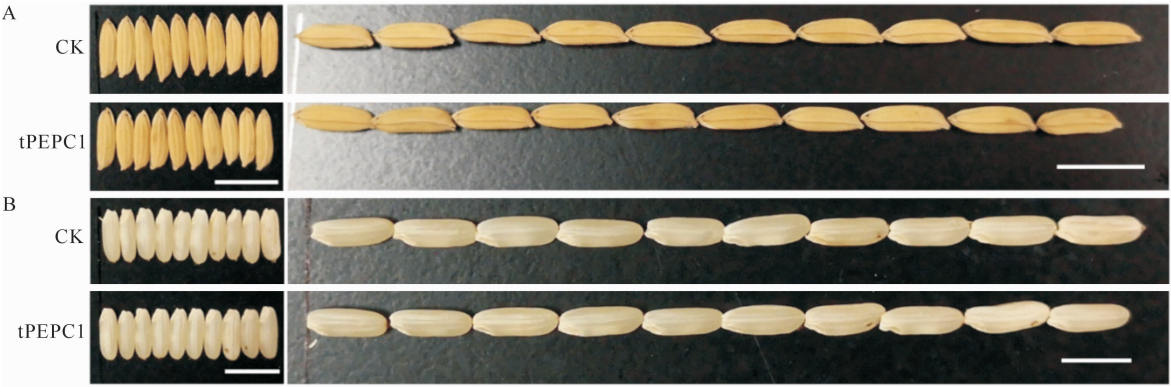
谷粒粒形分析结果(表 1)显示,与对照相比,转 C_4 -PEPC 水稻 3 个株系(tPEPC1、tPEPC2、tPEPC3)的谷粒周长均较对照减小 7.82%~9.27%,谷粒长较对照减小 8.00%~10.33%,谷粒宽较对照减小 8.31%~8.92%,且均差异显著。转 C_4 -PEPC 水稻株系的谷粒直径和谷粒面积也相对较小,但只有 tPEPC3 株系与对照差异显著。

另外,转 C_4 -PEPC 水稻 3 个株系的千粒质量均明显小于对照,较对照降低 8.96%~11.74%,其中 tPEPC1 和 tPEPC2 株系与对照差异极显著,tPEPC3 株系与对照差异显著。与对照相比,转 C_4 -PEPC 水稻的谷粒长较短,去除颖壳后转 C_4 -PEPC 水稻的稻米也较短(图 1)。上述结果表明,外源 C_4 -PEPC 的导入明显改变了水稻稻谷的粒形。

表 1 转 C_4 -PEPC 水稻稻谷的粒形分析
Table 1 Grain shape of rice with C_4 -PEPC

样品 Sample	谷粒周长/mm Grain perimeter	谷粒长/mm Grain length	谷粒宽/mm Grain width	谷粒直径/mm Grain diameter	谷粒面积/mm ² Grain area	千粒质量/g 1 000-grain weight
对照 CK	25.45±1.81	10.26±0.69	3.25±0.24	6.76±0.46	26.00±4.04	30.24±2.60
tPEPC1	23.40±0.42*	9.38±0.16*	2.97±0.10*	6.33±0.12	22.41±1.11	26.69±1.45**
tPEPC2	23.46±0.47*	9.44±0.18*	2.98±0.02*	6.28±0.09	22.09±0.56	26.74±1.16**
tPEPC3	23.09±0.26*	9.20±0.61*	2.96±0.07*	6.17±0.09*	21.36±0.63*	27.52±1.45*

注:对照为航 2 号,tPEPC1、tPEPC2、tPEPC3 为 3 个转 C_4 -PEPC 水稻株系;* 表示差异显著($P \leq 0.05$),** 表示差异极显著($P \leq 0.01$)。下表同。
Note:CK is Hang 2,tPEPC1,tPEPC2 and tPEPC3 are three transgenic lines of the rice with C_4 -PEPC.* and ** indicate significant difference at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$,respectively. The same below.



A. 稻谷;B. 稻米. Bar=1 cm

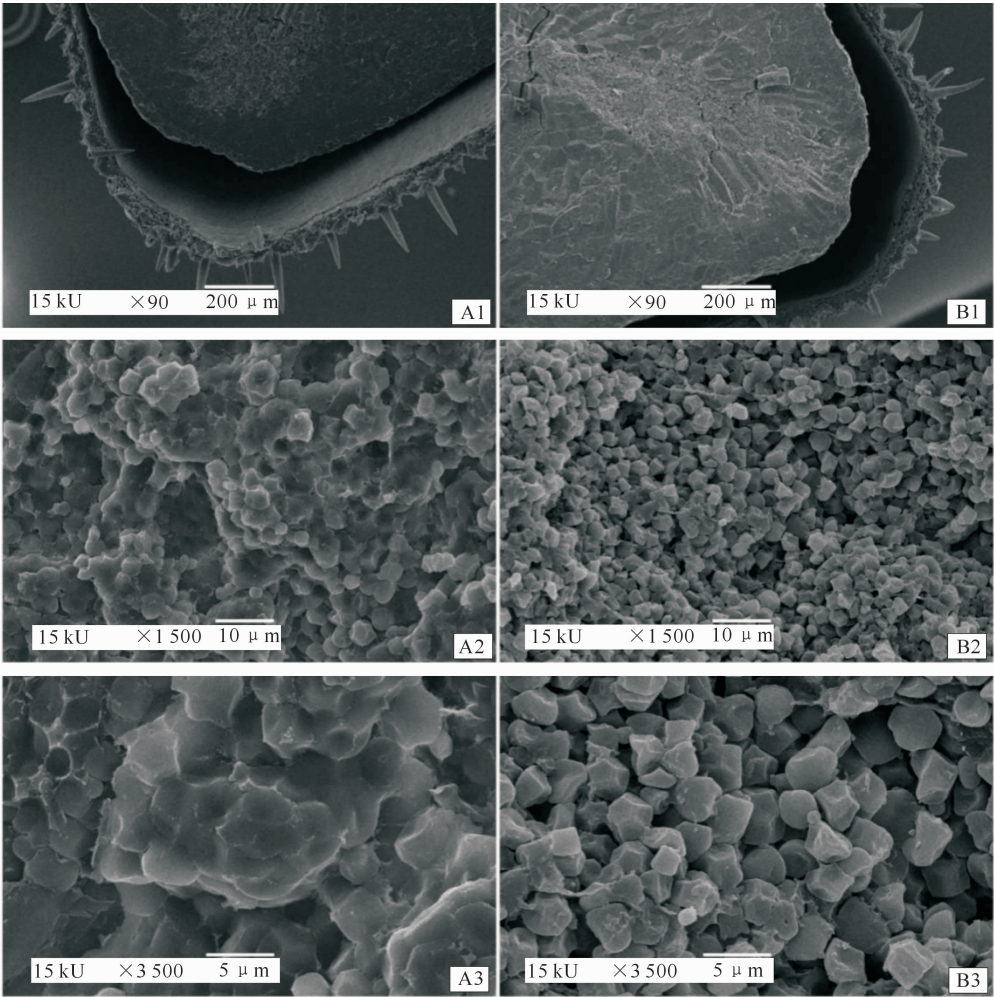
A. Hull rice;B. Milled rice. Bar=1 cm

图 1 转 C_4 -PEPC 水稻 tPEPC1 和对照水稻粒形的比较

Fig. 1 Comparison of grain shape of rice with C_4 -PEPC and CK

2.2 转 C_4 -PEPC 水稻稻谷横截面的电镜扫描观察
为了探明 C_4 -PEPC 的导入是否会影响稻米的

内部结构,采用电镜扫描观察稻谷横截面,结果见图 2。



A. 对照;B. tPEPC1;A1 和 B1. 放大 90 倍;A2 和 B2. 放大 1 500 倍;A3 和 B3. 放大 3 500 倍

A. CK;B. tPEPC1;A1 and B1. 90-fold magnification;A2 and B2. 1 500-fold magnification;A3 and B3. 3 500-fold magnification

图 2 转 C_4 -PEPC 水稻稻谷横截面的电镜扫描观察

Fig. 2 Scanning electron microscope for grain cross section of rice with C_4 -PEPC

图 2 显示,转 C₄-PEPC 水稻(tPEPC)的淀粉结构与对照有明显差别,tPEPC 稻米的淀粉粒排列明显较为松散,而对照淀粉粒排列紧密。表明转 C₄-PEPC 稻米的内部结构发生了明显变化,即外源 C₄-PEPC 的导入对稻米内部结构产生了明显影响。

2.3 C₄-PEPC 水稻稻米品质分析

由表 2 可以看出,与对照相比,转 C₄-PEPC 株系稻米的直链淀粉含量均有所降低,其中 tPEPC2

和 tPEPC3 株系降低显著。转 C₄-PEPC 株系稻米的胶稠度和碱消值与对照无明显差别。转 C₄-PEPC 株系 tPEPC1 和 tPEPC3 稻米的垩白率较对照显著降低,而 tPEPC2 的垩白率较对照降低不显著。tPEPC1、tPEPC2、tPEPC3 株系的垩白度较对照均有所降低,但差异均不显著。该结果表明,外源 C₄-PEPC 的导入对稻米品质产生了一定影响,其中对直链淀粉含量和垩白率的影响较为明显。

表 2 转 C₄-PEPC 水稻稻米品质的分析
Table 2 Grain quality analysis of rice with C₄-PEPC

样品 Sample	直链淀粉含量/(mg·g ⁻¹) Amylose content	胶稠度/mm Gel consistency	碱消值 Alkali spreading value	垩白率/% Chalkiness ratio	垩白度/% Chalkiness degree
对照 CK	137.24±0.15	86.00±1.41	6.00±0.00	68.50±0.71	16.42±1.38
tPEPC1	135.07±0.73	84.50±0.71	6.00±0.00	62.50±0.71*	12.32±0.97
tPEPC2	133.20±0.99*	85.00±0.00	6.00±0.00	67.00±1.41	15.43±1.75
tPEPC3	118.70±2.69*	82.00±0.00	6.25±0.35	61.50±2.12*	12.65±0.50

2.4 转 C₄-PEPC 稻米的总碳和糖类含量

稻米的主要成分是糖类,因此对稻米中的总碳、可溶性糖、蔗糖和支链淀粉含量进行了测定,结果见表 3。由表 3 可以看出,转 C₄-PEPC 水稻(tPEPC)稻米的总碳含量相对较高,但与对照无显著差异。

转 C₄-PEPC 稻米的支链淀粉含量较对照提高 7.00%,差异显著;蔗糖含量较对照降低 24.16%,差异极显著;可溶性糖含量较对照降低 31.06%,差异极显著。表明外源 C₄-PEPC 的导入影响了稻米中不同糖类含量的分配。

表 3 转 C₄-PEPC 稻米总碳和糖类含量的测定
Table 3 Determination of total carbon and sugar contents in grain of rice with C₄-PEPC mg/g

样品 Sample	总碳 Total carbon content	支链淀粉 Amylopectin content	蔗糖 Sucrose content	可溶性糖 Soluble sugar content
对照 CK	815.48±29.56	681.09±12.41	4.54±0.05	9.81±0.10
tPEPC	865.50±37.09	728.25±16.31*	3.44±0.16***	6.76±0.15***

注:***表示差异达极显著水平(P≤0.001)。下表同。
Note:*** indicates significant difference at P≤0.001. The same below.

2.5 转 C₄-PEPC 稻米的总氮及氨基酸含量

稻米成分除主要的糖类外还含有少量的蛋白

质,进一步测定了稻米中的总氮含量和 17 种氨基酸含量,结果见表 4。

表 4 转 C₄-PEPC 稻米总氮及氨基酸含量的测定结果
Table 4 Determination result of total nitrogen and amino acids contents in grain of rice with C₄-PEPC

指标 Index	对照 CK	tPEPC	指标 Index	对照 CK	tPEPC
总氮/(mg·g ⁻¹) Total nitrogen	186.57±3.84	170.20±0.76***	脯氨酸/(μg·g ⁻¹) Pro	1 496.39±54.43	1 199.91±83.62
天冬氨酸/(μg·g ⁻¹) Asp	4 478.44±23.73	3 941.71±68.65**	酪氨酸/(μg·g ⁻¹) Tyr	1 123.52±19.88	1 006.31±22.31**
谷氨酸/(μg·g ⁻¹) Glu	7 418.17±46.09	6 415.11±119.03**	缬氨酸/(μg·g ⁻¹) Val	1 202.56±8.57	1 016.02±60.72*
丝氨酸/(μg·g ⁻¹) Ser	2 041.22±52.79	1 748.22±20.44**	胱氨酸/(μg·g ⁻¹) Cys	132.92±17.47	75.66±8.02*
甘氨酸/(μg·g ⁻¹) Gly	1 730.55±15.29	1 458.76±60.02**	异亮氨酸/(μg·g ⁻¹) Ile	842.53±1.26	726.21±54.67
组氨酸/(μg·g ⁻¹) His	822.77±56.03	684.17±33.25*	亮氨酸/(μg·g ⁻¹) Leu	2 659.69±15.58	2 254.45±127.59*
精氨酸/(μg·g ⁻¹) Arg	2 819.82±125.21	2 399.75±28.19**	苯丙氨酸/(μg·g ⁻¹) Phe	1 635.43±8.82	1 363.93±78.30*
苏氨酸/(μg·g ⁻¹) Thr	985.09±9.62	824.61±44.16*	色氨酸/(μg·g ⁻¹) Trp	29.20±1.70	27.44±2.26
丙氨酸/(μg·g ⁻¹) Ala	2 037.92±28.98	1 773.09±62.74*	赖氨酸/(μg·g ⁻¹) Lys	919.62±6.28	821.61±40.77*

由表 4 可以看出,转 C_4 -PEPC(tPEPC) 稻米的总氮含量明显较低,较对照降低 8.77%。与对照相比,转 C_4 -PEPC 稻米中的天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、酪氨酸、缬氨酸、胱氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸等 14 种氨基酸的含量均明显较低,且差异达显著或极显著水平;而脯氨酸、异亮氨酸、色氨酸 3 种氨基酸的含量与对照无明显差别。表明外源 C_4 -PEPC 的导入对稻米的各种氨基酸含量产生了一定影响。

3 讨 论

PEPC 在高等植物的初级代谢中起着重要作用,在调节碳氮耦合代谢中也扮演着重要角色^[36]。本研究结果表明,与对照相比,转 C_4 -PEPC 水稻谷粒较短较窄,并且去掉颖壳后稻米也较短较窄,说明谷粒较小与稻米较小有关。同时,转 C_4 -PEPC 水稻的千粒质量明显较轻,这可能与转 C_4 -PEPC 水稻的谷粒较小有关。电镜扫描结果显示,转 C_4 -PEPC 水稻稻米淀粉粒的排列较为松散,说明其灌浆不够充分。

外源 PEPC 的导入对受体植物种子成分会产生一定程度影响。Rolletschek 等^[37]研究发现,导入外源 PEPC 的转基因豌豆种子中,粗蛋白和游离氨基酸含量增加,而蔗糖和磷酸化糖类含量减小。本研究结果表明,转 C_4 -PEPC 水稻株系稻米中的直链淀粉含量明显降低,稻米品质发生了一定的改变。与李霞等^[33]和张边江等^[34]转 PEPC 水稻籽粒的淀粉含量无显著变化的结果并不一致,其可能的原因有两个方面:一方面是所导入的 PEPC 来源不同,之前研究导入的是来自玉米的 PEPC,而本研究导入的是甘蔗 PEPC,不同来源的 PEPC 可能在活性和功能方面存在一些差异;另一方面是受体所属亚种不同,之前的研究受体是粳稻 Kitaake,而本研究的受体是籼稻航 2 号。本研究结果表明,转 C_4 -PEPC 稻米的总碳含量相对较高,且支链淀粉含量明显高于对照,而蔗糖和可溶性糖含量较低,这可能是由于 C_4 -PEPC 的导入影响了稻米中各糖分的分配,与张边江等^[34]报道的转 PEPC 水稻籽粒中可溶性糖质量分数降低的结果一致。另外,本研究结果显示,转 C_4 -PEPC 稻米中的总氮含量及大部分氨基酸含量均有所降低。Lian 等^[38]的研究却表明,转 C_4 -PEPC 水稻植株中的总碳及总氮含量较对照显著增加,而其稻米中的总碳含量与对照无显著差别,总氮含量显著降低。这可能是因为营养物质从

源到库是一个复杂的生理生化过程,且受许多因素的影响,源和库中的物质含量水平并不一定完全一致。关于外源 C_4 -PEPC 在水稻中是如何影响稻米各成分的含量及各成分的分配,以及其相关的作用机制等还有待于进一步研究。

4 结 论

导入外源 C_4 -PEPC 籼稻的谷粒较小,内部淀粉粒排列比较松散,直链淀粉含量和垩白率明显降低,蔗糖及可溶性糖含量极显著降低,而支链淀粉含量显著增加,总氮及大部分氨基酸含量降低显著。本研究结果表明, C_4 -PEPC 对水稻粒形、稻米品质和成分产生了明显的影响,初步反映了 C_4 -PEPC 在水稻中的功能,为该基因应用于 C_3 植物提供了一定的理论依据。

[参考文献]

- [1] Chollet R, Vidal J, O'Leary M H. Phosphoenolpyruvate carboxylase: a ubiquitous, highly regulated enzyme in plants [J]. Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology, 1996, 47(47): 273-298.
- [2] O'Leary B, Park J, Plaxton W C. The remarkable diversity of plant PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase): recent insights into the physiological functions and post-translational controls of non-photosynthetic PEPCs [J]. The Biochemical Journal, 2011, 436(1): 15-34.
- [3] 魏绍巍, 黎 茵. 植物磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的功能及其在基因工程中的应用 [J]. 生物工程学报, 2011, 27(12): 1702-1710.
Wei S W, Li Y. Functions of plant phosphoenolpyruvate carboxylase and its applications for genetic engineering [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2011, 27(12): 1702-1710.
- [4] 王丽媛, 张 玉, 徐明怡, 等. 植物磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的研究进展 [J]. 国土与自然资源研究, 2017(5): 86-89.
Wang L Y, Zhang Y, Xu M Y, et al. The research progress of plant phosphoenolpyruvate carboxylase [J]. Territory & Natural Resources Study, 2017(5): 86-89.
- [5] Kellogg E A. C_4 photosynthesis [J]. Current Biology, 2013, 23(14): 594-599.
- [6] Evans J R. Improving photosynthesis [J]. Plant Physiology, 2013, 162(4): 1780-1793.
- [7] Ku M S, Agarie S, Nomura M, et al. High-level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants [J]. Nature Biotechnology, 1999, 17(1): 76-80.
- [8] Bandyopadhyay A, Datta K, Zhang J, et al. Enhanced photosynthesis rate in genetically engineered indica rice expressing *pepc* gene cloned from maize [J]. Plant Science, 2007, 172(6): 1204-1209.
- [9] Ji B H, Zhu S Q, Jiao D M. A limited photosynthetic C_4 -micro-

- cycle and its physiological function in transgenic rice plant expressing the maize *PEPC* gene [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(5):542-551.
- [10] 丁在松,赵 明,荆玉祥,等. 玉米 *ppc* 基因过表达对转基因水稻光合速率的影响 [J]. *作物学报*, 2007, 33(5):717-722.
Ding Z S, Zhao M, Jing Y X, et al. Effect of overexpression of maize *ppc* gene on photosynthesis in transgenic rice plants [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(5):717-722.
- [11] 焦德茂,李 霞,黄雪清,等. 转 *PEPC* 基因水稻的光合 CO_2 同化和叶绿素荧光特性 [J]. *科学通报*, 2001, 46(5):414-418.
Jiao D M, Li X, Huang X Q, et al. The characteristics of CO_2 assimilation and chlorophyll fluorescence in transgenic rice with *PEPC* [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2001, 46(5):414-418.
- [12] Jiao D M, Huang X Q, Li X, et al. Photosynthetic characteristics and tolerance to photo-oxidation of transgenic rice expressing C_4 photosynthesis enzymes [J]. *Photosynthesis Research*, 2002, 72(1):85-93.
- [13] 焦德茂,匡廷云,李 霞,等. 转 *PEPC* 基因水稻具有初级 CO_2 浓缩机制的生理特点 [J]. *中国科学:C 辑*, 2003, 33(1):33-39.
Jiao D M, Kuang T Y, Li X, et al. The physiological characteristics of primary CO_2 concentration mechanism in transgenic rice expressing *PEPC* [J]. *Science in China: Series C*, 2003, 33(1):33-39.
- [14] 张 方,迟 伟,金成哲,等. 高粱 C_4 型磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶基因的分子克隆及其转基因水稻的培育 [J]. *科学通报*, 2003, 48(14):1542-1546.
Zhang F, Chi W, Jin C Z, et al. Molecular cloning of C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase gene from sorghum and cultivation of the transgenic rice [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48(14):1542-1546.
- [15] Lian L, Wang X W, Zhu Y S, et al. Physiological and photosynthetic characteristics of indica Hang 2 expressing the sugarcane *PEPC* gene [J]. *Molecular Biology Reports*, 2014, 41(4):2189-2197.
- [16] 张桂芳,丁在松,赵 明. 稗草 (*Echinochloa crusgalli*) 根型 *ppc* 基因对水稻的遗传转化及其对光合速率的调节效应 [J]. *作物学报*, 2015, 41(3):507-514.
Zhang G F, Ding Z S, Zhao M. Transformation of barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli*) root type phosphoenolpyruvate carboxylase gene into rice (*Oryza sativa*) plants and their effects on photosynthetic gas exchange [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(3):507-514.
- [17] 李 霞,焦德茂,戴传超. 转 *PEPC* 基因水稻对光氧化逆境的响应 [J]. *作物学报*, 2005, 31(4):408-413.
Li X, Jiao D M, Dai C C. The response to photooxidation in leaves of *PEPC* transgenic rice plant (*Oryza sativa* L.) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2005, 31(4):408-413.
- [18] Jiao D M, Li X, Ji B H. Photoprotective effects of high level expression of C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice during photoinhibition [J]. *Photosynthetica*, 2005, 43(4):501-508.
- [19] Huang X Q, Jiao D M, Chi W, et al. Characteristics of CO_2 exchange and chlorophyll fluorescence of transgenic rice with C_4 genes [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(4):405-412.
- [20] 张 谦,焦德茂,张云华,等. 转 *PEPC* 基因水稻的光保护效应的研究 [J]. *中国农业科学*, 2004, 37(12):1812-1818.
Zhang Q, Jiao D M, Zhang Y H, et al. Study of the protective effects in *PEPC* transgenic rice [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(12):1812-1818.
- [21] 唐玉婷,李 霞,陆 巍,等. 高表达转 C_4 型 *PEPC* 基因水稻在低氮下诱导碳氮酶稳定光合作用 [J]. *华北农学报*, 2015, 30(4):95-100.
Tang Y T, Li X, Lu W, et al. Transgenic rice with high expression of C_4 -*PEPC* genes induced higher carbon and nitrogen key enzyme to maintain photosynthesis under low nitrogen conditions [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2015, 30(4):95-100.
- [22] Tang Y T, Li X, Lu W, et al. Enhanced photorespiration in transgenic rice over-expressing maize C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase gene contributes to alleviating low nitrogen stress [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 130:577-588.
- [23] Gu J, Qiu M, Yang J. Enhanced tolerance to drought in transgenic rice plants overexpressing C_4 photosynthesis enzymes [J]. *The Crop Journal*, 2013, 1(2):105-114.
- [24] Liu X L, Li X, Zhang C, et al. Phosphoenolpyruvate carboxylase regulation in C_4 -*PEPC*-expressing transgenic rice during early responses to drought stress [J]. *Physiologia Plantarum*, 2017, 159(2):178-200.
- [25] Zhang C, Li X, He Y F, et al. Physiological investigation of C_4 -phosphoenolpyruvate-carboxylase-introduced rice line shows that sucrose metabolism is involved in the improved drought tolerance [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 115:328-342.
- [26] Qian B Y, Li X, Liu X L, et al. Enhanced drought tolerance in transgenic rice over-expressing of maize C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase gene via NO and Ca^{2+} [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2015, 175:9-20.
- [27] Qian B Y, Li X, Liu X L, et al. Improved oxidative tolerance in suspension-cultured cells of C_4 -*PEPC* transgenic rice by H_2O_2 and Ca^{2+} under PEG-6000 [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2015, 57(6):534-549.
- [28] 朱素琴,季本华,焦德茂. 外源 C_4 二羧酸对转基因水稻 *PEPC* 基因水稻 C_4 光合途径的促进作用 [J]. *中国水稻科学*, 2004, 18(4):326-332.
Zhu S Q, Ji B H, Jiao D M. Promotive effect of exogenous C_4 -bicarboxylate on photosynthetic C_4 pathway in transgenic rice plant expressing maize specific *PEPC* gene [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2004, 18(4):326-332.

thesis, catabolism, and response pathways [J]. The Plant Cell, 2002, 14(S1): S61-S80.

[27] Wang C C, Wang X Y, Wang K X, et al. Manipulating aeroponically grown potatoes with gibberellins and calcium nitrate [J]. American Journal of Potato Research, 2018, 95(4): 351-361.

[28] 任志广, 杨立均, 龚治翔, 等. 赤霉素与钾肥互作对烤烟生理指标及上部叶化学成分的影响 [J]. 核农学报, 2018, 32(11): 2232-2239.

Ren Z G, Yang L J, Gong Z X, et al. Effects of interaction between gibberellin and potassium on physiological indexes and chemical components of upper leaves in flue-cured tobacco [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(11): 2232-2239.

[29] 李文婷. 马铃薯产量形成的源库关系及水氮对其的调控 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.

Li W T. The source-sink relationship in potato yield formation and the regulation of water and nitrogen on it [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2016.

[30] Demagante A L, Zaag P. The response of potato (*Solanum* spp.) to photoperiod and light intensity under high temperatures [J]. Potato Research, 1988, 31(1): 73-83.

[31] Vreugdenhil D, Sergeeva L I. Gibberellins and tuberization in potato [J]. Potato Research, 1999, 42: 471-481.

[32] Menzel C M. Tuberization in potato at high temperatures: responses to exogenous gibberellin, cytokinin and ethylene [J]. Potato Research, 1985, 28(2): 263-266.

[33] Okazawa Y, Chapman H W. Regulation of tuber formation in the potato plant [J]. Physiologia Plantarum, 2010, 15(3): 413-419.

[34] 郭慧琴, 任卫波, 李平, 等. 2,4-表油菜素内酯和赤霉素互作对羊草种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. 草业科学, 2014, 31(6): 1097-1103.

Guo H Q, Ren W B, Li P, et al. Effect of epi-brassinosteroid and gibberellin on seed germination and seedling growth of *Leymus chinensis* [J]. Pratacultural Science, 2014, 31(6): 1097-1103.

(上接第 41 页)

[29] 朱素琴, 季本华, 焦德茂. 亚硫酸氢钠对转 *PEPC* 基因水稻叶片光合作用的促进作用 [J]. 科技通报, 2004, 20(6): 523-528.

Zhu S Q, Ji B H, Jiao D M. Promotive effect of NaHSO₃ on photosynthesis in *PEPC* transgenic rice leaves [J]. Bulletin of Science and Technology, 2004, 20(6): 523-528.

[30] 王德正, 王守海, 吴爽, 等. 玉米 *pepc* 基因在杂交转育的转基因水稻后代中的传递和表达特征 [J]. 遗传学报, 2004, 31(2): 195-201.

Wang D Z, Wang S H, Wu S, et al. Inheritance and expression of the maize *pepc* gene in progenies of transgenic rice bred by crossing [J]. Acta Genetica Sinica, 2004, 31(2): 195-201.

[31] Li J H, Xiang X C, Zhou H Q, et al. Photosynthetic characteristics and heterosis in transgenic hybrid rice with maize phosphoenolpyruvate carboxylase (*pepc*) gene [J]. Rice Science, 2006, 13(3): 185-192.

[32] 李季航, 向珣朝, 何立斌, 等. 含玉米 *pepc* 基因恢复系的 MAS 转育及其杂交稻的光合特性和杂种优势研究 [J]. 作物学报, 2006, 32(12): 1779-1787.

Li J H, Xiang X C, He L B, et al. Photosynthetic characteristics and heterosis in transgenic hybrid rice with maize phosphoenolpyruvate carboxylase (*pepc*) gene by MAS [J]. Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(12): 1779-1787.

[33] 李霞, 焦德茂, 刘蔚, 等. 转玉米 *PEPC* 基因水稻的农艺性状及生理特性 [J]. 江苏农业学报, 2007, 23(2): 87-92.

Li X, Jiao D M, Liu W, et al. Agronomic performance and physiological characteristics of *PEPC* transgenic rice [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2007, 23(2): 87-92.

[34] 张边江, 唐宁, 陈全战, 等. 转 *C₄* 基因水稻籽粒产量及品质分析 [J]. 西北农业学报, 2017, 26(2): 210-215.

Zhang B J, Tang N, Chen Q Z, et al. Grain yield and quality analysis of transgenic rice expressing *C₄* enzymes [J]. Acta Agriculture Boreali-occidentalis Sinica, 2017, 26(2): 210-215.

[35] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导 [M]. 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 127-129.

Zhang Z L, Qu W J, Li X F. The guidance of plant physiology experiments [M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2004: 127-129.

[36] Champigny M L. Integration of photosynthetic carbon and nitrogen metabolism in higher plants [J]. Photosynthesis Research, 1995, 46(1/2): 117-127.

[37] Rolletschek H, Borisjuk L, Radchuk R, et al. Seed-specific expression of a bacterial phosphoenolpyruvate carboxylase in *Vicia narbonensis* increases protein content and improves carbon economy [J]. Plant Biotechnology Journal, 2004, 2(3): 211-219.

[38] Lian L, Lin Y L, Wei Y D, et al. *PEPC* of sugarcane regulated glutathione S-transferase and altered carbon-nitrogen metabolism under different N source concentrations in *Oryza sativa* [J/OL]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 287. (2021-06-24). DOI: 10.1186/s12870-021-03071-w.