

DOI:10.11937/bfyy.201623024

常绿杜鹃组植物 Rubisco 大亚基(RbcL)的生物信息学预测及分析

周晓馥, 陈思霖, 武 慧, 徐洪伟

(吉林省植物资源科学与绿色生产重点实验室, 吉林 四平 136000)

摘 要:常绿杜鹃组(Sect. *Ponticum* G. Don)属杜鹃属(*Rhododendron*)常绿杜鹃亚属(Subgen. *Hymenanthes* (Blume) K. Koch),该组植物多为常绿大灌木或乔木,且具有重要的观赏和药用价值。核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco)是卡尔文循环中一种重要的限速酶,参与植物的光合作用和光呼吸过程,由于 Rubisco 的催化位点主要位于 Rubisco 大亚基(RbcL),因此对于 RbcL 结构及性质的研究显得尤为重要。现对常绿杜鹃组 RbcL 进行了统计,对所获得 RbcL 条目的基本理化性质进行了分析,同时还选取了 4 段具有代表性的 RbcL 片段进行了疏水性分析,并利用生物信息学对其二级结构、三级结构及结构域进行了预测。此外,还对常绿杜鹃组 RbcL 进行了系统进化分析,结果表明:常绿杜鹃组植物中的 Rubisco 催化位点和 RbcL 虽然具有高度的保守性,但其在进化上仍然存在差异。这为进一步深入探究常绿杜鹃组植物光合作用机理和 RbcL 的催化机制奠定基础。

关键词:常绿杜鹃组; Rubisco; Rubisco 大亚基; 生物信息学

中图分类号:S 685.21 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)23-0102-07

常绿杜鹃组(Sect. *Ponticum* G. Don)属杜鹃花科(Ericaceae)杜鹃属(*Rhododendron*)常绿杜鹃亚属(Subgen. *Hymenanthes* (Blume) K. Koch),常绿杜鹃亚属下仅有一个分组,即常绿杜鹃组,该组植物为常绿大灌木或乔木,叶片革质,通常为椭圆形或近似圆形^[1]。根据其形态特征差异《中国植物志》一书又将该组分成 23 个亚组。该组植物主要分布于北半球,亚洲东南部,少数种类分布于欧洲及北美洲,根据 2015 年中国生物物种名录和中国植物物种编目数据库记载,截至目前,我国常绿杜鹃组植物共有 251 种,变种及种下植物 101 种,约占我国杜鹃属物种总数的 46%(包含种下条目)。该组的 251 种植物中(不包括变种及其种下物种),有 186 种为中国特有物种,分布在除了钟花杜鹃亚组(Subsect. *Campanulata* Sleumer)的 22 个亚组中,且大多数特有种分布在四川(67 种),云南(75 种)和西藏自治区(76 种)等地。

核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco, EC 4.1.1.39)作为催化卡尔文循环反应的第一步,参与植物光合作用中 CO₂ 的同化^[2],其在植物中含量十分丰富,约占叶片可溶性蛋白质总量的 50%^[3],此外 Rubisco 也是植物体内一种重要的储藏蛋白^[4],因此在提高光合速率的研究中, Rubisco 的地位显得尤为重要^[5]。虽然 Rubisco 在高等植物光合作用中起着至关重要的作用,但其催化能力却相对较弱^[6-8],所以提高 Rubisco 活性成为近年来的研究热点。

利用系统发生分析法可将目前发现的 Rubisco 蛋白分为 4 类,即 Rubisco I、II、III 和 IV。Rubisco I 为常见的 L₈S₈ 16 聚体,其广泛存在于高等植物、真核藻类、蓝藻以及一些光合细菌中; Rubisco II 中仅含有大亚基,并且与 I 型相比二者的大亚基序列同源性仅为 30%^[9]; Rubisco III 存在于某些古细菌中^[10],最新研究发现,嗜冷古菌 *Methanococcoides burtonii* 定向进化后,其含有的 Rubisco 可能具有提高植物光合作用和促进植物生长的潜力^[11]; Rubisco IV 不具有 Rubisco 活性,所以也称 Rubisco-like 蛋白(RLPs)^[12],尽管这类蛋白不能催化光合作用,但根据其一级结构和三级结构与 Rubisco 对比所显示出的同源性,可以推断出它们具有共同的祖先^[13]。

在许多高等植物中 Rubisco 可能会产生一些天然变异,从而使其催化活性发生变化^[14-17]。根据结构功能分

第一作者简介:周晓馥(1964-),女,博士,教授,博士生导师,研究方向为植物基因工程。E-mail:zhouxiaofu@jlu.edu.cn.

责任作者:徐洪伟(1964-),男,博士,教授,研究方向为植物基因工程。E-mail:jygc_lab@126.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31070224)。

收稿日期:2016-08-04

析发现,在催化活动中起主要作用的氨基酸残基主要位于 RbcL,WHITNEY 等^[18]也证实了 Rubisco 的催化活性很大程度上是由其 RbcL 的氨基酸序列所决定的。PRINS 等^[19]通过对 25 个小麦品系的 RbcL 进行比对,并对其氨基酸差异和催化性能进行分析,从中筛选出能够提高植物光合作用速率的高效 Rubisco。

1 常绿杜鹃组 RbcL 概况

截至 2016 年 4 月 29 日,NCBI 数据库中收录杜鹃花科 Rubisco 相关蛋白条目 1 865 条,其中杜鹃属共 754 条,包括 732 条 RbcL 部分片段和 22 条 Rubisco activase 片段。常绿杜鹃组中共有 288 条 RbcL 条目,约占 RbcL 条目总数的 40%。在常绿杜鹃组的 23 个亚组中,除了长序杜鹃亚组 (Subsect. *Pontica* Sleumer)和朱红大杜鹃亚组 (Subsect. *Griersoniana* Davidian ex Chamb),其余 21 个亚组中均检索到了 RbcL 相关蛋白条目,具体数据如表 1 所示。

2 常绿杜鹃组 RbcL 的生物信息学分析

2.1 基本理化性质分析

2.1.1 等电点(pI) 利用 Prot Param (<http://web.expasy.org/protparam/>) 对 288 条常绿杜鹃组 RbcL 理论等电点(pI)进行分析。在对 RbcL 的 pI 进行分析的过程中发现(表 2),RbcL 的 pI 主要大于 6.0,且数值大多集中在 6.92、6.93 和 7.77 这 3 个点上。

表 1 常绿杜鹃组各亚组所含 RbcL 条目

Table 1 RbcL in each subject of Sect. *Ponticum* G. Don

亚组名称 Subject	拉丁名 Latin name	物种数目 Species number	含 RbcL 片段物种数 Species number obtain RbcL	条目 Item
云锦杜鹃亚组	Subsect. <i>Fortunea</i> Sleumer	27	6	24
耳叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Auriculata</i> Sleumer	2	2	4
大叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Grandia</i> Sleumer	10	4	12
杯杜鹃亚组	Subsect. <i>Falconera</i> Sleumer	10	5	14
圆叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Williamsiana</i> Chamb.	2	1	3
弯果杜鹃亚组	Subsect. <i>Campylocarpa</i> Sleumer	6	3	14
麻花杜鹃亚组	Subsect. <i>Maculifera</i> Sleumer	13	2	2
漏斗杜鹃亚组	Subsect. <i>Selensia</i> Sleumer	9	4	11
粘毛杜鹃亚组	Subsect. <i>Glischra</i> (Tagg) Chamb.	6	3	5
露珠杜鹃亚组	Subsect. <i>Irrorata</i> Sleumer	21	11	28
长序杜鹃亚组	Subsect. <i>Pontica</i> Sleumer	2	0	0
银叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Argyrophylla</i> Sleumer	20	5	7
树形杜鹃亚组	Subsect. <i>Arborea</i> Skumer	4	2	13
大理杜鹃亚组	Subsect. <i>Taliensia</i> Sleumer	54	18	58
镰果杜鹃亚组	Subsect. <i>Fulva</i> Sleumer	2	2	8
黄钟杜鹃亚组	Subsect. <i>Lanata</i> Chamb.	4	2	4
钟花杜鹃亚组	Subsect. <i>Campanulata</i> Sleumer	2	2	8
朱红大杜鹃亚组	Subsect. <i>Griersoniana</i> Davidian ex Chamb	1	0	0
星毛杜鹃亚组	Subsect. <i>Parishia</i> Sleumer	7	1	1
硬刺杜鹃亚组	Subsect. <i>Barbata</i> Sleumer	4	1	4
火红杜鹃亚组	Subsect. <i>Neriiflora</i> Sleumer	27	15	52
猩红杜鹃亚组	Subsect. <i>Fulgensia</i> Sleumer	3	2	2
蜜腺杜鹃亚组	Subsect. <i>Thomsonii</i> Sleumer	15	4	14
总计		251	95	288

表 2 常绿杜鹃组 RbcL 的 pI

Table 2 pI of RbcL in Sect. *Ponticum* G. Don

亚组名称 Subject	拉丁名 Latin name	条目 Item	pI ≤6.00	6.00<pI<7.00	7.00≤ pI
云锦杜鹃亚组	Subsect. <i>Fortunea</i> Sleumer	24	11	9	4
耳叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Auriculata</i> Sleumer	4	4	0	0
大叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Grandia</i> Sleumer	12	0	6	6
杯杜鹃亚组	Subsect. <i>Falconera</i> Sleumer	14	0	6	8
圆叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Williamsiana</i> Chamb.	3	1	0	2
弯果杜鹃亚组	Subsect. <i>Campylocarpa</i> Sleumer	14	0	10	4
麻花杜鹃亚组	Subsect. <i>Maculifera</i> Sleumer	2	1	0	1
漏斗杜鹃亚组	Subsect. <i>Selensia</i> Sleumer	11	0	6	5
粘毛杜鹃亚组	Subsect. <i>Glischra</i> (Tagg) Chamb.	5	0	2	3
露珠杜鹃亚组	Subsect. <i>Irrorata</i> Sleume	28	3	19	6
银叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Argyrophylla</i> Sleumer	7	2	0	5
树形杜鹃亚组	Subsect. <i>Arborea</i> Skumer	13	9	1	3
大理杜鹃亚组	Subsect. <i>Taliensia</i> Sleumer	58	0	33	25
镰果杜鹃亚组	Subsect. <i>Fulva</i> Sleumer	8	0	2	6
黄钟杜鹃亚组	Subsect. <i>Lanata</i> Chamb.	4	0	0	4
钟花杜鹃亚组	Subsect. <i>Campanulata</i> Sleumer	8	0	2	6
星毛杜鹃亚组	Subsect. <i>Parishia</i> Sleumer	1	0	0	1
硬刺杜鹃亚组	Subsect. <i>Barbata</i> Sleumer	4	0	0	4
火红杜鹃亚组	Subsect. <i>Neriiflora</i> Sleumer	52	0	29	23
猩红杜鹃亚组	Subsect. <i>Fulgensia</i> Sleumer	2	0	0	2
蜜腺杜鹃亚组	Subsect. <i>Thomsonii</i> Sleumer	14	0	6	8
总计		288	31	131	126

2.1.2 平均亲水系数(GRAVY) 平均亲水系数(GRAVY)是用以衡量蛋白质亲水性的指标,若数值为负值表示该蛋白为亲水性蛋白,反之则为疏水性蛋白,且负值越大亲水性越强。利用 Prot Param ([http://](http://web.expasy.org/protparam/)

web.expasy.org/protparam/)对常绿杜鹃组 RbcL 的总平均亲水系数(GRAVY)进行分析,结果如表 3 所示,该组 RbcL 均为亲水蛋白,且亲水性较好。

表 3 常绿杜鹃组 RbcL 的总平均亲水性(GRAVY)

Table 3 GRAVY of RbcL in Sect. <i>Ponticum</i> G. Don					
亚组名称 Subsect	拉丁名 Latin name	条目 Item	$\text{GRAVY} \geq -0.3$	$-0.3 > \text{GRAVY} > -0.4$	$-0.4 \geq \text{GRAVY}$
云锦杜鹃亚组	Subsect. <i>Fortunea</i> Sleumer	24	0	15	9
耳叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Auriculata</i> Sleumer	4	0	4	0
大叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Grandia</i> Sleumer	12	1	1	10
杯杜鹃亚组	Subsect. <i>Falconera</i> Sleumer	14	0	0	14
圆叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Williamsiana</i> Chamb.	3	0	1	2
弯果杜鹃亚组	Subsect. <i>Campylocarpa</i> Sleumer	14	0	0	14
麻花杜鹃亚组	Subsect. <i>Maculifera</i> Sleumer	2	0	2	0
漏斗杜鹃亚组	Subsect. <i>Selensia</i> Sleumer	11	0	1	10
粘毛杜鹃亚组	Subsect. <i>Glischra</i> (Tagg) Chamb.	5	0	2	3
露珠杜鹃亚组	Subsect. <i>Irrorata</i> Sleume	28	0	15	13
银叶杜鹃亚组	Subsect. <i>Argyrophylla</i> Sleumer	7	0	7	0
树形杜鹃亚组	Subsect. <i>Arborea</i> Skumer	13	0	10	3
大理杜鹃亚组	Subsect. <i>Taliensia</i> Sleumer	58	0	4	54
镰果杜鹃亚组	Subsect. <i>Fulva</i> Sleumer	8	0	0	8
黄钟杜鹃亚组	Subsect. <i>Lanata</i> Chamb.	4	0	0	4
钟花杜鹃亚组	Subsect. <i>Campanulata</i> Sleumer	8	0	0	8
星毛杜鹃亚组	Subsect. <i>Parishia</i> Sleumer	1	0	0	1
硬刺杜鹃亚组	Subsect. <i>Barbata</i> Sleumer	4	0	0	4
火红杜鹃亚组	Subsect. <i>Nerii flora</i> Sleumer	52	0	1	51
猩红杜鹃亚组	Subsect. <i>Fulgensia</i> Sleumer	2	0	0	2
蜜腺杜鹃亚组	Subsect. <i>Thomsonii</i> Sleumer	14	0	0	14
总计		288	1	63	224

2.2 其它性质及结构分析

2.2.1 疏水性分析 选取具有代表性的 3 段 RbcL 序列以及剔除不合理数据后的最大同源序列(hr)(表 4),利用 ProtScale (<http://web.expasy.org/protscale/>)对其进行疏水性分析,其中 RbcL1 分析结果如图 1 所示。

结果显示,4 段被测序列的最小疏水系数均为-2.467,但最大疏水系数略有差异,其中 RbcL3 和 hr 的最大疏水系数为 1.489,而 RbcL1 和 RbcL2 的最大疏水系数则分别为 1.689 和 1.633。

表 4 RbcL 氨基酸序列与序号对应

Table 4 Corresponding of amino acid sequence and serial number of RbcL		
序列名称 Name	长度 Length/aa	氨基酸序列 Amino acid sequence
RbcL1	233	KASVGFKAGVKDYKLNYYTPQYETKDTDLAAFRVTPQGPVPEEAGAAVAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRCYHIEPVAGDENQYIAYVAYPLDLFEEGSVTNMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRIPAAAYAKTFQGPPHGIQVERDKLNKYGRPLLGCITKPKLGLSAKNYGR AVYECLRGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLFCAEALYKAQAETGEIKGHYL YTPQYETKDTDLAAFRVTPQGPVPEEAGAAVAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRCYHIEPVAGDENQFIAYVAYPLDLFEEGSVT
RbcL2	217	NMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRIPAAAYAKTFQGPPHGIQVERDKLNKYGRPLLGCITKPKLGLSAKNYGRAVYECLRGGLDFTKDDE NVNSQPFMRWRDRFLFCAEALYKAQAETGEIKGHYLN GVKDYKLNYYTPQYETKDTDLAAFRVTPQGPVPEEAGAAVAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRCYHIEPVAGDENQYIAYVAYP
RbcL3	205	LDLFEEGSVTNMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRIPAAAYAKTFQGPPHGIQVERDKLNKYGRPLLGCITKPKLGLSAKNYGRAVYECLR GGGLDFTKDDENVNSQPFMRWRDRFLF YTPQYETKDTDLAAFRVTPQGPVPEEAGAAVAESSTGTWTTVWTDGLTSLDRYKGRCYHIEPVAGDENQYIAYVAYP
hr	176	LDLFEEGSVTNMFTSIVGNVFGFKALRALRLEDLRIPAAAYAKTFQGPPHGIQVERDKLNKYGRPLLGCITKPKLGLSAKNYGR RAVYECLRGGLDFT

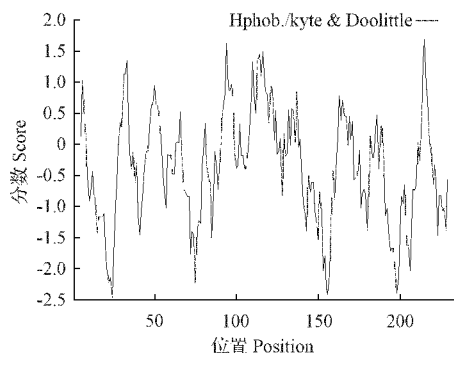
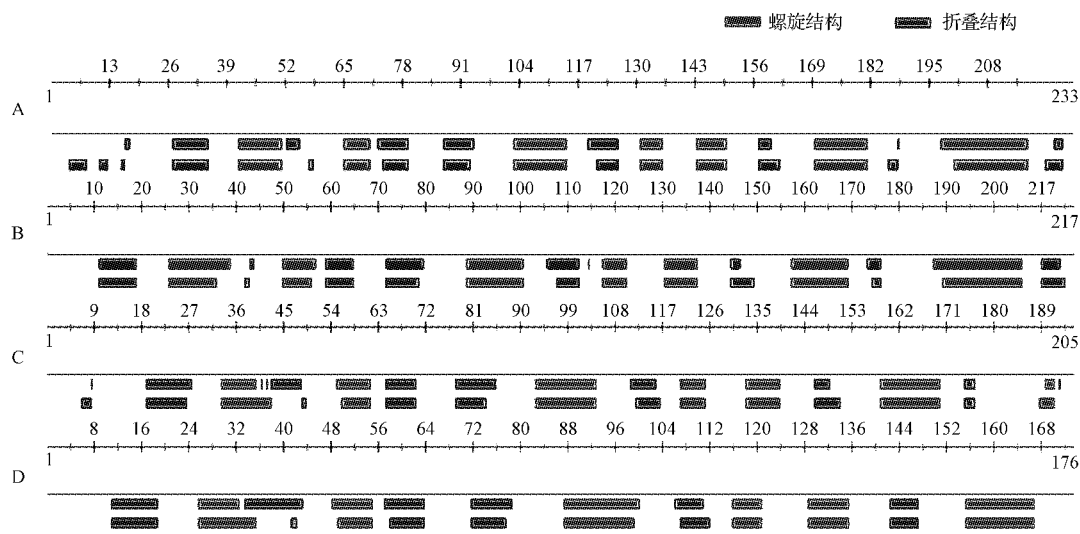


图1 RbcL1 序列疏水性
Fig.1 Hydrophobicity of RbcL1

2.2.2 RbcL 二级结构预测 利用 PredictProtein 在线预测软件(<http://ppopen.informatik.tu-muenchen.de/>)对4段序列的二级结构进行预测,并对预测结果进行了进一步的分类处理,得到图2、3,其分别代表了4段序列的二级结构及溶剂可及性。对预测结果进行分析后发现 RbcL1 和 RbcL2 的各项指标十分相近,而与另2段序列相比则存在较大差异。在4段序列中,环状结构均占总体的50%以上,比重最大,此外,在对序列的溶剂可及性分析中发现,与暴露区相比包埋区所占比重更大,具体数据见表5。由表5可知,植物中的 RbcL 虽然具有高度的保守性,但在同一属下的不同物种之间仍然存在明显的差异。



注:A. RbcL1 序列预测结果;B. RbcL2 序列预测结果;C. RbcL3 序列预测结果;D. hr 序列预测结果。下同。
Note: A. Prediction of RbcL1; B. Prediction of RbcL2; C. Prediction of RbcL3; D. Prediction of hr. The same below.

图2 RbcL 序列二级结构预测结果
Fig.2 Secondary structure prediction of RbcL

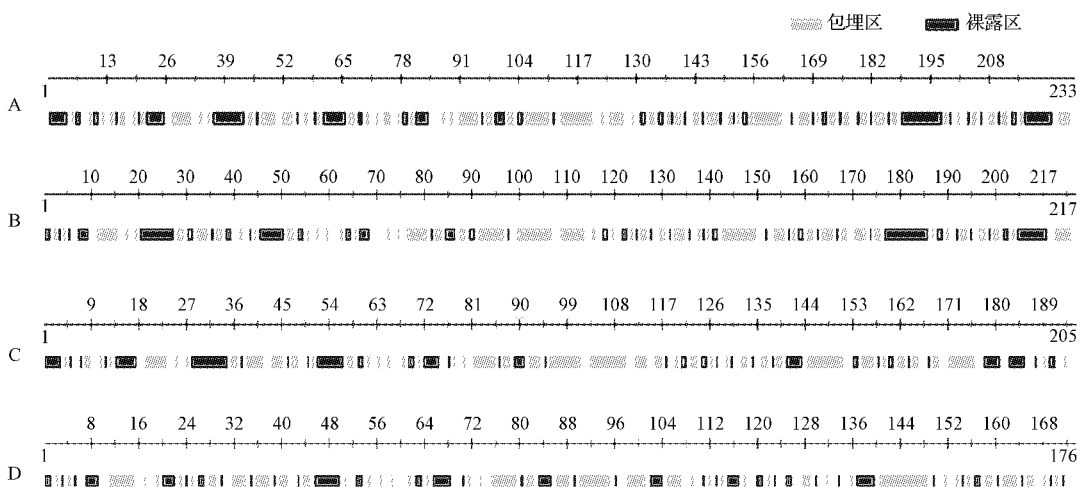


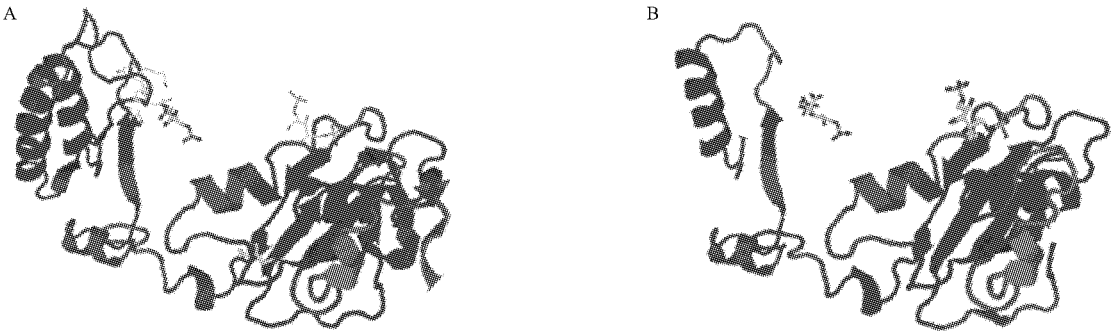
图3 RbcL 序列溶剂可及性预测结果
Fig.3 Solvent accessibility prediction of RbcL

表 5 RbcL 各部分所占比例

Table 5 The proportion of each part in RbcL %

序列名称	环状结构	折叠结构	螺旋结构	包埋区	裸露区	连接区
Name	Loop	Strand	Helix	Buried	Exposed	Intermediate
RbcL1	51.50	18.88	29.61	48.07	39.06	12.88
RbcL2	50.23	17.97	31.80	48.39	38.71	12.90
RbcL3	56.10	17.07	26.83	48.78	36.59	14.63
hr	52.84	17.61	29.55	47.73	36.93	15.34

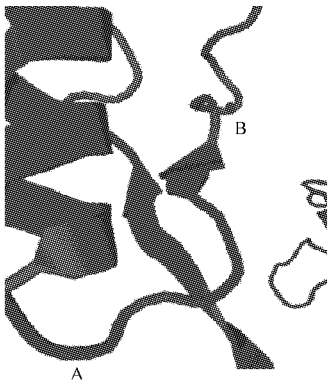
2.2.3 RbcL 三级结构预测及结构域分析 以 RbcL1 和 hr 序列为模板,利用 SWISS(<http://swissmodel.expasy.org/>)进行 3D 模型的构建,得到 RbcL1 及 hr 的 3D 模型,如图 4 所示。同时利用 Inter Pro (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>) 对 4 段序列进行结构域分析,结果显示,在 RbcL 1、2、3 中均识别到了 RbcL 活性位点,且该活性位点共包含 8 个氨基酸残基(序列为 GLDFTK-DDE),在 RbcL1 中该活性位点位于 189~197 氨基酸残基处,但在 hr 中并未检测到该结构域。通过对比二者氨基酸序列及 3D 模型,对 RbcL 理论上的活性区域 3D 结构进行了预测(图 5)。



注:A. RbcL1 序列预测结果;B. hr 序列预测结果。
Note: A. Prediction of RbcL1; B. Prediction of hr.

图 4 RbcL 序列 3D 模型预测结果

Fig. 4 3D model prediction of RbcL



注:A-B 即为活性位点所在区域。
Note: Active site is from A to B.

图 5 RbcL 活性位点 3D 结构预测

Fig. 5 3D structure prediction of RbcL active site

2.3 常绿杜鹃组 RbcL 系统进化分析

为了探究我国常绿杜鹃组各亚组之间的 RbcL 系统进化关系,课题组把从 NCBI 中获得的 288 条常绿杜鹃组 RbcL 序列进行比对并剔除重复序列,从 95 种植物中筛选出 21 种分布在不同亚组且具有代表性的 RbcL,物种名称与编号对照表如表 6 所示。

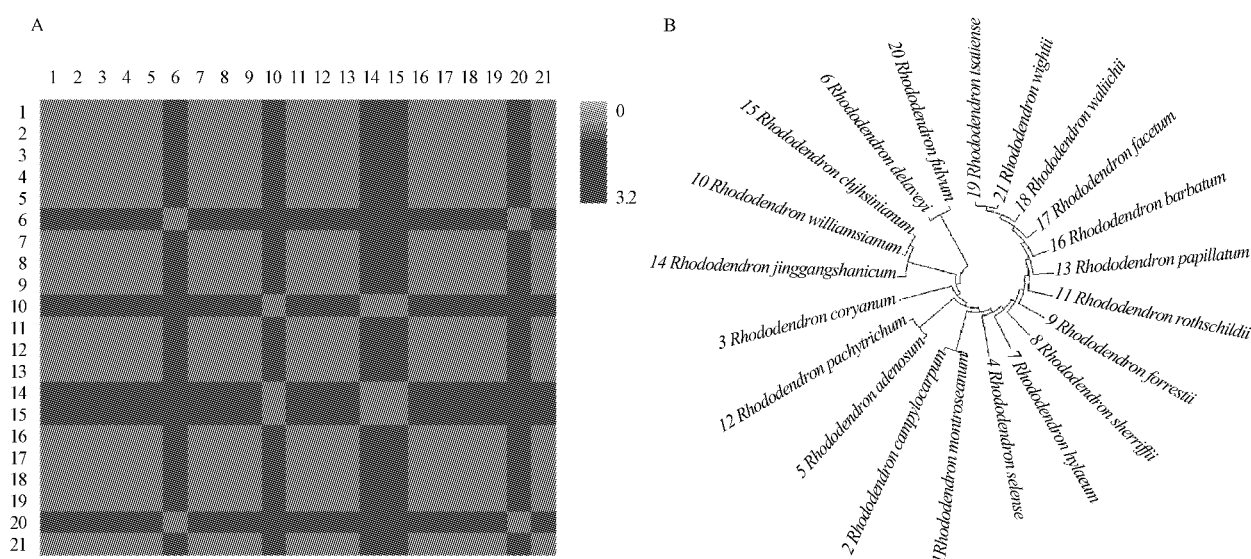
同时利用 MEGA 7.0.14 软件对其进行分析,并构建了遗传距离矩阵(图 6A)和邻接树(图 6B)(1 000 次抽样)。从图 6 可以看出,在含有 RbcL 的 21 个亚组中,圆

叶杜鹃亚组、云锦杜鹃亚组和耳叶杜鹃亚组具有较近的亲缘关系,树形杜鹃亚组与镰果杜鹃亚组亲缘关系也较为亲近,但同其余的 16 个亚组相比,这 5 个亚组的 RbcL 在进化上仍存在差异。

表 6 物种名称与编号对照

Table 6 Corresponding of specie and number

编号	拉丁名	物种	亚属
No.	Latin name	Species	Subgenus
1	<i>Rhododendron montroseanum</i>	墨脱杜鹃	大叶杜鹃亚组
2	<i>Rhododendron campylocarpum</i>	弯果杜鹃	弯果杜鹃亚组
3	<i>Rhododendron coryanum</i>	光蕊杜鹃	银叶杜鹃亚组
4	<i>Rhododendron selense</i>	多变杜鹃	漏斗杜鹃亚组
5	<i>Rhododendron adenosum</i>	枯鲁杜鹃	粘毛杜鹃亚组
6	<i>Rhododendron delavayi</i>	马缨杜鹃	树形杜鹃亚组
7	<i>Rhododendron hylaeum</i>	粉果杜鹃	蜜腺杜鹃亚组
8	<i>Rhododendron sherrii</i>	红钟杜鹃	猩红杜鹃亚组
9	<i>Rhododendron forrestii</i>	紫背杜鹃	火红杜鹃亚组
10	<i>Rhododendron williamsianum</i>	圆叶杜鹃	圆叶杜鹃亚组
11	<i>Rhododendron rothschildii</i>	宽柄杜鹃	杯杜鹃亚组
12	<i>Rhododendron pachytrichum</i>	绒毛杜鹃	麻花杜鹃亚组
13	<i>Rhododendron papillatum</i>	乳突杜鹃	露珠杜鹃亚组
14	<i>Rhododendron jinggangshanicum</i>	井冈山杜鹃	云锦杜鹃亚组
15	<i>Rhododendron chihstnianum</i>	红滩杜鹃	耳叶杜鹃亚组
16	<i>Rhododendron barbatum</i>	硬刺杜鹃	硬刺杜鹃亚组
17	<i>Rhododendron facetum</i>	绵毛房杜鹃	星毛杜鹃亚组
18	<i>Rhododendron wallichii</i>	簇毛杜鹃	钟花杜鹃亚组
19	<i>Rhododendron tsariense</i>	白钟杜鹃	黄钟杜鹃亚组
20	<i>Rhododendron fulvum</i>	镰果杜鹃	镰果杜鹃亚组
21	<i>Rhododendron wightii</i>	宏钟杜鹃	大理杜鹃亚组



注:A.RbcL遗传距离矩阵;B.RbcL系统进化树。

Note: A. Genetic distance matrix of RbcL; B. Phylogenetic tree of RbcL.

图6 RbcL系统进化分析

Fig. 6 Phylogenetic analysis of RbcL

3 结论

常绿杜鹃组为杜鹃属下最大的组,该组植物大多具有药用价值且大部分植物为国家急需保护物种,如该组中的牛皮杜鹃,其叶可入药,用于治疗痢疾、高血压等病症,但牛皮杜鹃数量十分稀少,已被定为渐危种。要使植物能够更好的适应环境,提高植物体内次生代谢产物的含量,必须能够更好地剖析植物的光合作用机理,而Rubisco作为光合作用和光呼吸过程中的一种关键酶,其所发挥的作用不容小觑,由于Rubisco的活性位点主要位于RbcL,所以对于常绿杜鹃组植物RbcL的研究不仅具有重要的现实意义,而且对植物资源的开发利用和保护将起到巨大的推动作用。基于该研究,今后的试验将从蛋白质组水平对常绿杜鹃亚组的某些特定物种开展更进一步的研究,探究常绿杜鹃组植物中RbcL种类及其表达量对光合作用的影响,从而寻找到一种能够有效提高植物光合作用能力的方法,为植物资源的利用和保护奠定基础。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:57卷[M]. 北京:科学出版社,1999.
- [2] LI L A, TABITA F R. Transcription control of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase and adjacent genes in *Anabaena* species[J]. *Journal of Bacteriology*, 1994, 176(21): 6697-6706.
- [3] ELLIS R J. Most abundant protein in the world[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1979, 4(11): 241-244.
- [4] RAINES C A. Transgenic approaches to manipulate the environmental responses of the C3 carbon fixation cycle[J]. *Plant Cell and Environment*, 2006, 29(3): 331-339.
- [5] FELLER U, FISCHER A. Nitrogen metabolism in senescing leaves[J].

Critical Reviews in Plant Sciences, 1994, 13(3): 241.

- [6] ZHU X G, PORTIS A R, LONG S P. Would transformation of C-3 crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis[J]. *Plant Cell Environ*, 2004, 27(2): 155-165.
- [7] ZHU X G, de STURLER E, LONG S P. Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: a numerical simulation using an evolutionary algorithm[J]. *Plant Physiol*, 2007, 145(2): 513-526.
- [8] PARRY M A J, MADGWICK P J, CARVALHO J F C, et al. Prospects for increasing photosynthesis by overcoming the limitations of Rubisco[J]. *J Agric Sci*, 2007, 145(1): 31-43.
- [9] TABITA F R. Microbial ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: A different perspective[J]. *Photosynthesis Research*, 1999, 60(1): 1-28.
- [10] WATSON G M, YU J P, TABITA F R. Unusual ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase of anoxic Archaea[J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(5): 1569-1575.
- [11] WILSON R H, ALONSO H, WHITNEY S M. Evolving *Methanococcoides burtonii* archaeal Rubisco for improved photosynthesis and plant growth[J]. *Scientific Reports*, 2016(6): 22284.
- [12] HANSON T E, TABITA F R. A ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO)-like protein from *Chlorobium tepidum* that is involved with sulfur metabolism and the response to oxidative stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(8): 4397-4402.
- [13] TABITA F R, HANSON T E, LI H, et al. Function, structure, and evolution of the RubisCO-like proteins and their RubisCO homologs[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2007, 71(4): 576-599.
- [14] DELGADO E, MEDRANO H, KEYS A J, et al. Species variation in Rubisco specificity factor[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1995, 46(11): 1775-1777.
- [15] GALMÉS J, FLEXAS J, KEYS A J, et al. Rubisco specificity factor tends to be larger in plant species from drier habitats and with persistent leaves[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28(5): 571-579.

DOI:10.11937/bfyy.201623025

哈茨木霉菌剂防治葡萄病害及土壤盐渍化

梁 荣, 孙 新 平

(上海松江区泖港镇农业服务中心, 上海 201607)

摘 要:以“巨峰”“黄玫瑰”葡萄为试材, 喷施哈茨木霉菌等 5 种药剂, 通过测定病情指数、田间防效等指标, 研究了哈茨木霉菌剂对葡萄霜霉病的抑制效果及对葡萄土壤盐渍化的影响。结果表明: 哈茨木霉菌粉剂 150、250、350 g, 72% 霜脲·锰锌 80 g, 56% 啉菌脂百菌清 60 g 防效分别为 87.80%、86.78%、80.68%、82.71%、82.37%; 哈茨木霉菌能抑制葡萄灰霉病菌的生长; 木霉菌颗粒剂 667 m² 用量为 10 kg 时, 能有效降低土壤盐分含量。

关键词:哈茨木霉菌; 防治; 葡萄病害; 盐渍化

中图分类号:S 436.631 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)23-0108-03

由于设施葡萄长期使用化学肥料及农药, 土壤已经“不再健康”, 土壤性状恶化, 土地板结、酸化、盐渍化及

第一作者简介:梁荣(1974-), 男, 上海松江人, 本科, 农艺师, 研究方向为种植业植保。E-mail: liangrong0802@163.com.

基金项目:农业部农作物重点病虫害监测预警及高毒农药替代专项资金资助项目(B8949D)。

收稿日期:2016-07-25

病害发生严重, 土壤微生物多样性被破坏等问题越来越突出。目前主要采用化学药剂防治病虫害, 但是效果不够理想, 还存在农药残留、土壤板结、污染环境弊端^[1-6]。现以“巨峰”“黄玫瑰”葡萄为试材, 于 2014—2015 年喷施哈茨木霉菌剂(*Trichoderma harzianum*), 通过测定病情指数、田间防效等指标, 调查葡萄病害的种类及对土壤盐渍化的影响, 研究了哈茨木霉菌剂对葡萄的安全

[16] KAPRALOV M V, FILATOV D A. Widespread positive selection in the photosynthetic Rubisco enzyme[J]. BMC Evolutionary Biology, 2007, 7(3): 73.

[17] ANDRALOJC P J, BENCZE S, MADGWICK P J, et al. Photosynthesis and growth in diverse willow genotypes[J]. Food and Energy Security, 2014, 3(2): 69-85.

[18] WHITNEY S M, HOUTZ R L, HERNAN A. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO₂-sequestering enzyme, Rubisco[J]. Plant Physiol, 2011, 155(1): 27-35.

[19] PRINS A, ORR D J, ANDRALOJC P J, et al. Rubisco catalytic properties of wild and domesticated relatives provide scope for improving wheat photosynthesis[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(6): 1827-1838.

Bioinformatics Analysis and Prediction of Rubisco Large Subunit(RbcL) in Sect. *Ponticum* G. Don

ZHOU Xiaofu, CHEN Silin, WU Hui, XU Hongwei

(Jilin Provincial Key Laboratory of Plant Resource Science and Green Production, Siping, Jilin 136000)

Abstract: Sect. *Ponticum* G. Don belongs to the representative of the family *Rhododendron* (Sect. *Ponticum* G. Don). Plants of the sect are evergreen shrubs or arbors with important ornamental and medicinal value. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) is the rate-limiting enzyme of Calvin cycle and also has involved in photosynthesis and photorespiration of plants. The catalytic sites of Rubisco mainly located in the Rubisco large subunit (RbcL), so it has a great significance to study the structure and character of RbcL. The RbcL of Sect. *Ponticum* G. Don and the basic physical and chemical characters of these obtained RbcL were investigated and analyzed in the present study. Four representative RbcL fragments were selected to analyze the hydrophobicity. Structures were predicted by bioinformatics and the phylogenetic relationship of the RbcL of Sect. *Ponticum* G. Don was also been analyzed. The results showed that the catalytic sites of Rubisco and the RbcL were highly conservative in Sect. *Ponticum* G. Don, but they still had differences in evolution. This study may lay a solid foundation for further research into the photosynthesis mechanism of Sect. *Ponticum* G. Don as well as the catalytic mechanism of RbcL.

Keywords: Sect. *Ponticum* G. Don; Rubisco; RbcL; bioinformatics