

耐热水稻品种 Nagina 22 高温胁迫下的生理响应

穰中文, 周清明

(湖南农业大学农学院, 长沙 410128)

摘要:为研究耐热水稻品种 Nagina 22(N22) 开花结实期高温胁迫下的主要生理响应, 采用温室盆栽试验, 在各供试材料的开花期, 利用人工气候室进行高温胁迫处理。研究表明: N22 在高温胁迫下不改变开花期但表现出日开花量的转峰; 与 N22 相比, 水稻敏感品种 Moroberekan 花药开裂显著受阻, 柱头上萌发的花粉数显著减少; 花粉萌发数与花药开裂状况呈极显著的相关关系, 进而表现出主穗结实率与柱头上花粉萌发数呈显著的相关关系; 主穗日结实率在高温下呈递减趋势, 且 Moroberekan 较 N22 的下降速率显著加快, 表明耐热品种与高温胁迫对结实率存在累积效应, 而且高温胁迫效应发生在开花授粉之前。

关键词: Nagina 22(N22); 高温胁迫; 花药开裂胁迫指数; 开花峰期; 水稻

Physiological Responses of Heat-tolerant Variety Nagina 22 to High Temperature Stress in Rice (*Oryza sativa* L.)

RANG Zhong-wen, ZHOU Qing-ming

(College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)

Abstract: Greenhouse pot experiments were carried out to study the main physiological responses of heat-tolerant variety Nagina 22(N22) under high temperature (HT) stress during flowering period, indoor growth chamber was used for the HT conditions for all tested varieties. The results show that: under HT stress, the flowering stage of N22 did not change but the daily flowering amount of spikelet manifested the peak-lag; anther dehiscence blocked and germinated pollen on the stigma reduced with a significant level ($P < 0.05$) in heat sensitive variety Moroberekan compared with the N22; there was a significant relationship between the number of germinated pollen on the stigma and anther dehiscence, and then showed a strong relationship between seed-setting and the number of germinated pollen on the stigma; main tiller seed-setting was decreasing under HT, and the decline-rate significantly speeded up in Moroberekan compared with N22, indicating the true tolerance of N22 and the cumulative effect of HT stress on seed-setting, moreover, HT stress effect occurred before pollination.

Key words: Nagina 22; High temperature stress; Anther dehiscence index; Flowering peak; Rice

联合国政府间气候变化专门委员会 (IPCC) 第 4 次报告指出, 到 2100 年, 全球平均气温将升高 1.4 ~ 5.8℃, 亚热带地区的降水量减少, 极端天气出现频率大大增加^[1]。高温胁迫将越来越成为世界范围内作物生产的威胁^[2]。一般来讲, 气温上升对水稻生殖长期的影响比营养生长期更为严重, 一些敏感的生理过程如花药开裂^[3]、授粉^[4]、柱头上花粉的萌发以及花粉管生长和受精初期^[5]易受到高温的影响, 从而诱导水稻的败育^[6], 最终降低产量^[7]。解决因高温而造

成的水稻产量损失问题, 最有效的方法就是培育耐热水稻新品种, 从而尽可能地提高在高温胁迫条件下的水稻产量, 以维持世界粮食生产安全。大量研究表明, 水稻品种的耐热性与其花药的开裂特征相关^[8-10], 例如在高温胁迫条件下花药的开裂时间和开裂程度^[11]等。此外, 温度高于 35℃ 的热胁迫存在积温效应^[12], 而且温度与胁迫时间之间存在一定的相互关系^[6], 表明水稻的开花特性及其开花期长短与品种的耐热性可能存在潜在的联系。一般来说, 籼稻比

收稿日期: 2011-12-26 修回日期: 2012-03-08

作者简介: 穰中文, 博士, 讲师。研究方向: 作物栽培生理。E-mail: rzwronger@126.com

通信作者: 周清明, 博士, 教授。研究方向: 作物遗传育种。E-mail: zqm0618@yahoo.com.cn

粳稻更耐高温^[13]。到目前为止, Nagina 22 (*Oryza sativa aus.*)^[14-16]被发现为高温胁迫下表现最好的耐热品种(表现为结实率高)。因此,本研究以耐热品种 Nagina 22 与感热品种^[14,17] Moroberekan (*Oryza sativa L.*)为材料,研究水稻开花期高温胁迫下的品种生理响应差异,如开花期、开花峰期、花器官显微特征表现和结实率等,旨在探讨水稻高温胁迫的生理响应机制,为全球气候变暖下提高世界水稻生产安全和耐热品种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

水稻耐高温品种 Nagina 22-19379、Nagina 22-03911 (*Oryza sativa aus.*, 由印度选育,耐旱、耐高温的陆生稻^[15])和高温敏感品种 Moroberekan (*Oryza sativa japonica*) (西非早稻品种,感热,但有较强的抗旱性^[14]),均由菲律宾国际水稻研究所种质资源中心 (Genetics Recourse Center of IRRI; GRC) 提供。耐热品种的不同编号表示 Nagina 22 的两个生态类型。

1.2 栽培管理

盆栽试验于 2010 年在国际水稻研究所 (IRRI) 开展。破休眠处理 (50℃, 2d) 后的种子直播于规格为 12cm × 6cm 的育秧盘中。育秧土壤和盆栽土壤均由 IRRI 大田试验站提供,每 1kg 育秧土壤中含 2.5g (NH₄)₂SO₄, 0.5g KCl 和 0.5g 过磷酸钙。14d 秧龄的水稻苗单株移栽到规格为 30cm × 20cm 的塑料盆中,盆栽土壤用量为 6kg/盆,每 1kg 土壤中含 7.5g (NH₄)₂SO₄, 1.5g KCl 和 1.5g 过磷酸钙。移栽后 20 ~ 30d, 每盆追施 2.5g 的 (NH₄)₂SO₄, 每隔 15d 喷施浓度为 0.42g/L 的氯氰菊酯抑制白背飞虱 (*Bemisia spp.*) 的危害。

1.3 温室条件

盆栽水稻移栽后 30d 放置于装有自动控温设备的温室中,昼夜温度为 29℃/21℃ [实际温度: 28.8℃ ($s = 0.80$)/20.9℃ ($s = 0.27$)], 相对湿度 75% ~ 85% [实际相对湿度: 75.2% ($s = 0.11$) ~ 82.7% ($s = 2.83$)]。此外,该温室条件同时作为开花期高温处理的对照条件。室内空气温度与湿度用热电偶 (Chessell 392, USA) 每隔 10 s 记录 1 次,每隔 10min 记录 1 次平均值。

1.4 人工气候室与高温处理

对试验材料采用随机高温处理方法^[12,14,17],即各品种各单株 ($n = 5$) 在开花当天分别转移到人工气候室进行高温处理。处理条件: 胁迫温度 38℃ ($s = 0.13$), 相对湿度 75% ($s = 1.10$); 处理方法为 6h / d

(8:30-14:30), 处理后返回温室 (29℃/21℃); 次日进行相同处理, 连续处理 5 d; 光合光子通量密度为 640 μmol/m² · s。

1.5 测定项目与方法

主穗开花期记载: 从第 1 朵小花开放到最后 1 朵小花授粉关闭的时间 (d); 同时, 5 个重复单株在高温处理的各天 (前 4d) 用不同颜色的签字笔标记所有开放的颖花。

花药开裂比: 随机摄取 20 朵开放的小花存放于装有 FAA 固定液 (50% 无水乙醇、5% 醋酸、27% 甲醛以及 18% 高温灭菌水) 的管状玻璃瓶 (3ml) 中进行固定, 并在立体显微镜 (Olympus SZX7, Japan) 下解剖颖花, 观察记载各个颖花花药开裂情况。开裂花药数与未开裂花药之间的比率即为花药开裂比。

花药开裂胁迫指数: 为高温胁迫下花药的开裂比与对照的花药开裂比之间的比率 ($0 \leq r \leq 1$), 从而消除环境因素来比较各品种之间花药的开裂情况。

花药开裂 OA 值: 花药开裂百分数进行逻辑化二项式处理值。所得 OA 值表示在把各个花药的开裂与否看作概率发生的随机个体, 即特定的花药开裂情况与特定的柱头上萌发的花粉数之间成一一对应关系。此时花药存在二项式处理的两种状况: 1—花药开裂, 0—花药未开裂。二项式处理公式为:

$$OA = \log [(1-p)/p] \quad p = \text{花药开裂让步比}$$

花粉萌发数观测: 颖花解剖后将子房 (含柱头) 集装在盛有 8mol/L NaOH 的玻璃管中, 室温静置 3 ~ 5h 进行清洗, 后用溶于 0.1mol/L K₂HPO₄ 溶液的苯胺蓝染色剂染色 5min, 于装有数码相机 (DP70) 的荧光显微镜下观测柱头上花粉萌发情况 (放大倍数: ×100) 以及花粉萌发数的拍摄与记载 (放大倍数: ×50)。

育性分析: 主分蘖穗结实率与日结实率的考查, 参考 Prasad 等^[15] 与 Rang^[18] 等的方法。

2 结果与分析

2.1 高温下的开花特性

2.1.1 开花期 从图 1 可以看出, 正常生长条件下 (对照) 耐热品种 N22-03911 和 N22-19379 与感热品种 Moroberekan 之间存在显著差异, 分别达到极显著与显著水平, 而两个耐热品种的主穗开花期没有差异。与对照相比, 高温胁迫不改变耐热品种的开花期, 而对感热品种来说, 高温胁迫显著延长了主茎穗的开花期 ($P < 0.05$), 其花期是正常生长条件下的 1.4 倍。

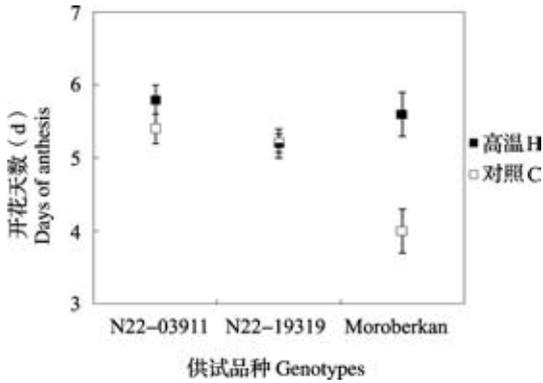


图1 高温对不同水稻品种主分蘖穗开花期的影响

Fig. 1 Effect of high temperature stress on days of anthesis of main tiller in rice genotypes

H: High temperature, C: Contrast, 下同

2.1.2 开花峰期 试验结果表明,在正常生长条件下,无论是耐热品种还是感热品种,其开花峰期一般是在开花期的第1天(图2),各品种日开花量 N22-03911 为 43.5%, N22-19379 为 37.1%, Moroberekan 为 37.9%。然而高温处理后,两个耐热品种表现出一种转峰现象,即最大日开花量日期滞后,但与正常生长条件下的峰期日开花量没有显著差异($P_{N22-03911} = 0.533, P_{N22-19379} = 0.770, \alpha = 0.05$)。而高温敏感型品种 Moroberekan 在高温胁迫处理下,其开花峰期和日开花量均无显著变化($P_{Moroberekan} = 0.980, \alpha = 0.05$)。

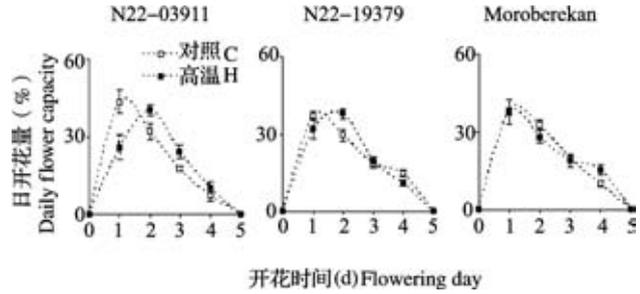


图2 高温胁迫下各品种主分蘖穗的开花峰期

Fig. 2 Daily flowering capacity of main-tiller during anthesis under high temperature stress

2.2 花药开裂胁迫指数与柱头花粉萌发数

如图3所示,高温胁迫下耐热品种与感热品种之间的花药开裂胁迫指数具有显著差异,而两个耐热品种间差异不显著。在热胁迫条件下,柱头上萌发的花粉数存在品种间的差异,而且不管是耐高温品种还是感高温品种,柱头上萌发的花粉数都受高温胁迫而显著减少,与对照相比,耐高温品种 N22-03911 和 N22-19379 分别减少 71% 和 67%,感高温品种 Moroberekan 减少 97%。此外,在高温胁迫下花药开裂百分数与柱头上的花粉萌发数之间存在极显著的相关关系($R^2 = 0.961, P < 0.001$)。说明在不考虑其他因素情况下(如花粉活力、花粉萌发率等)花药开裂状况决定了柱头上萌发的花粉数。

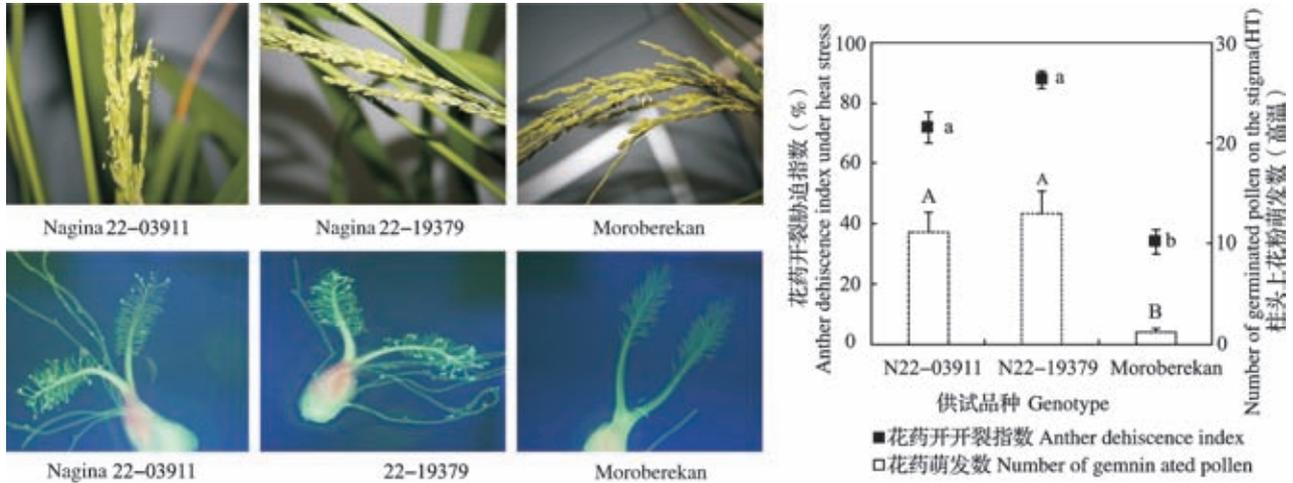


图3 高温胁迫下花药开裂指数与柱头花粉萌发数量

Fig. 3 Anther dehiscence index and number of germinated pollen on the stigma under high temperature stress

大、小写字母分别表示花药开裂胁迫指数和花粉萌发数间多重比较, $\alpha = 0.05$

capital, lowercase letters denote the multiple comparisons of anther dehiscence index and number of germinated pollen, $\alpha = 0.05$

2.3 高温对育性的影响

2.3.1 主穗结实率 开花期高温显著影响不同水稻品种结实率。如图4所示,正常生长条件下,各品种都保持较高的结实率,且不存在品种间的差异。但经过高温胁迫处理后,各品种主穗结实率受到严

重影响,分别下降 59.72%、62.82% 和 99.23%,而且各品种之间结实率对高温的响应表现出显著差异,即耐高温品种 N22-03911 和 N22-19379 表现出相对高的结实率,分别为 38.35% 和 35.53%,而感高温品种 Moroberekan 其结实率几乎为 0(0.74%);

与此同时,两个耐高温的品种之间没有显著差异。

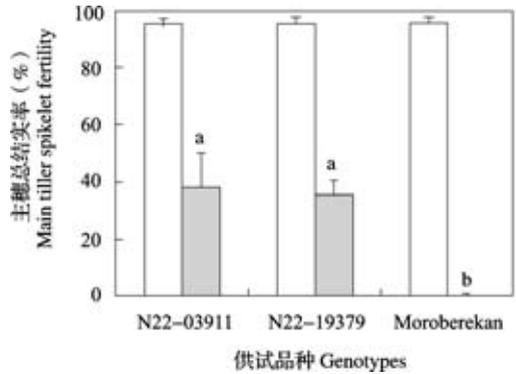


图4 高温胁迫对结实率的影响

Fig. 4 Effect of high temperature on daily spikelet fertility on rice genotype

2.3.2 日结实率 不管是耐高温品种还是感高温品种,高温胁迫下主穗日结实率(标记天数内)均随时间逐步下降,但是品种间的日结实率下降速率有所不同(图5),耐热品种 N22-03911 和 N22-19379,感热品种 Moroberekan,日结实率下降速率分别为 22.8% ($y = -22.802x + 111.63, R^2 = 0.9751, P < 0.01$), 16.6% ($y = -16.637x + 94.705, R^2 = 0.9779, P < 0.01$) 和 47.2% ($y = -47.155x + 128.95, R^2 = 0.842, P < 0.01$)。对于耐高温品种而言,主分蘖穗日结实率在标记的第4天仍保持一定的育性,而感热品种 Moroberekan,在胁迫处理的第1天其日结实率已受到严重影响,处理第2天其日结实率基本为0,说明水稻品种间高温胁迫耐性的差异。另一方面,耐高温品种与感高温品种在标记同一天的日结实率存在显著差异,而且从标记第1天到第4天,不同品种日结实率的差异逐步缩小,说明高温对水稻结实率的影响具有累积效应,胁迫处理时间越长,品种间结实率差异越小。

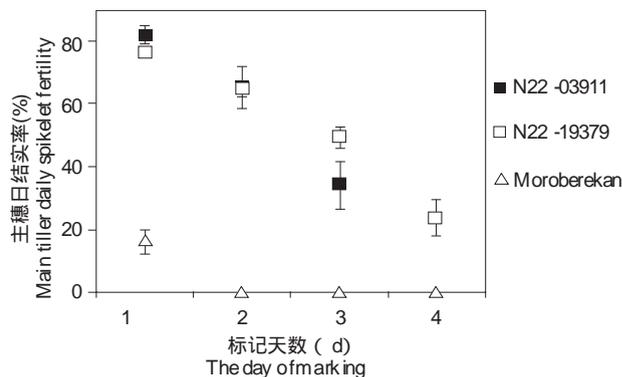


图5 高温对水稻日结实率的影响

Fig. 5 Effect of high temperature on daily spikelet fertility on rice

3 讨论

水稻对高温最敏感时期为抽穗扬花期。每年7、8月份,我国南方大部分稻区高温天气出现频率高,持续时间长,对某些地区水稻(如中稻生产)生产造成严重的损失。而其他东南亚国家,尤其是热带地区的水稻生产国受高温天气的影响更为严重。因此,提高水稻开花期对高温胁迫的抗性,充分应用水稻耐高温品种和选育抗高温胁迫或非生物胁迫多抗品种,越来越成为一种应用策略和手段,应对不断变化的全球气候所带来的负面影响^[7]。一般情况下,水稻对高温胁迫的响应分为耐热性和避热性,如有些水稻品种能够在较低温度条件下就完成开花或是在开花期各天提早开花,即所谓的早花现象,从而避开花期高温的影响^[16];有些品种表现出不同的生理响应过程能够真正耐受高温^[12,14,19]。高温胁迫处理能改变水稻的开花特性,如开花时间早或晚、开花速率快或慢等^[12]。但本试验研究表明耐热性与避热性之间存在对立统一的矛盾关系,耐热品种 Nagina 22 在高温处理后不改变开花期时间的情况下,通过日开花量的转峰试图避开高温,而感热品种在保证日开花量(标记天数内)的情况下,延长开花期试图避开高温,体现了避热性的普遍性。另一方面,通过对主分蘖穗日结实率的分析表明,由于日结实率随胁迫时间而逐步下降,不论是转峰还是延长花期都不利于高结实率的形成,体现了两者之间的对立关系。此外,结实率与日结实率分析表明高温胁迫对水稻育性的影响具有累积效应,即前一天的高温影响后一天或几天将要开花的小穗的育性,这与一些认为在开花期小花开放时高温严重影响结实率的观点有所不同^[16],反映了水稻开花期对高温胁迫的响应机制的复杂性和阶段性。

开花期的温度高于 35℃ 超过 1h 就能诱导颖花不育^[12],其直接原因是由于高温抑制花粉粒的吸水膨胀,花药开裂失去驱动力,严重影响花药开裂及散粉,从而影响正常受精而不能正常结实,造成产量降低^[20]。本研究结果也表明,高温胁迫使水稻花药开裂受阻,柱头上萌发的花粉数急骤减少(图3),花粉萌发数与花药开裂状况呈极显著的相关关系;耐热性不同的水稻品种在高温胁迫条件下的花粉萌发数以及主穗结实率存在显著差异,而使主穗结实率与柱头上花粉萌发数也呈现出显著的相关关系。

有研究表明,即使是在 41 ~ 45℃ 的高温下,柱头上花粉仍能正常萌发与伸长^[9],表明因高温胁迫

导致花粉萌发数减少可能是由于授粉前花粉的活性已经受到了影响,这与本研究结果中高温胁迫的累积效应观点相一致。本研究结果表明,主穗的日结实率在高温下呈递减趋势,一方面说明了高温胁迫对育性的累积效应,另一方面进一步证实了胁迫效应的发生是在授粉之前^[3,21],而且导致花粉萌发数减少可能是由于授粉前花粉的活性已经受到了影响^[9]。

综上所述,耐热水稻品种 Nagina 22 在高温胁迫处理下,表现出其颖花开放物理特性的改变,体现了避热性;表现出相对较好的花药开裂水平和较高的结实率,体现了其本质的耐热性。而且其耐热性还表现出多种不同的生理响应机制,一是开花授粉前高温胁迫对花粉的累积效应,二是开花授粉时高温对花药开裂抑制作用等。至于高温如何影响花粉活性或花药的开裂状况以及内在的有关生理生化调控机制等问题亟待进一步研究。

参考文献

- [1] IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. Fourth Assessment Report of the intergovernmental Panel on Climate Change: The Impacts, adaptation and vulnerability[R]. Cambridge University Press, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007
- [2] Hall A E. Crop Responses to Environment[M]. CRC Press LLC Boca Raton, Florida, 2001
- [3] Matsui T, Omasa K J. Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Tolerance to High Temperature at Flowering: Anther Characteristics[J]. *Annu Bot*, 2002, 89: 683-687
- [4] Matsui T, Kobayasi K, Kagata H, et al. Correlation between viability of pollination and length of basal dehiscence of the theca in rice under a Hot-and-Humid condition[J]. *Plant Prod Sci*, 2005, 8(2): 109-114
- [5] Taylor L P, Hepler P K. Pollen germination and tube growth[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, 48: 461-491
- [6] Jagadish S V K, Craufurd P Q, Wheeler T R. High temperature stress and spikelet fertility in rice[J]. *J Exp Bot*, 2007, 58: 1627-1635
- [7] Horie T, Matsui T, Nakagawa H, et al. Effect of elevated CO₂ and global climate change on rice yield in Japan[M]//Omasa K, Kai K, Taoda H, Uchijima Z, Yoshino M, eds *Climate change and plants in east Asia Tokyo*, 1996: 39-56
- [8] Mackill D J, Coffman W R, Rutger J N. Pollen shedding and combining ability for high temperature tolerance in rice[J]. *Crop Sci*, 1982, 22: 730-733.
- [9] Matsui T, Omasa K, Horie T. High temperature-induced spikelet sterility of japonica rice at flowering in relation to air temperature, humidity and wind velocity conditions[J]. *Jpn J Crop Sci*, 1997, 66(3): 449-455
- [10] Satake T, Yoshida S. High temperature-induced sterility in indica rice at flowering[J]. *Jpn J Crop Sci*, 1978, 47: 6-10
- [11] Zhang Z S, Lu Y G, Feng, J H, et al. Studies on the Anther Dehiscence in F₁ of Hybrids between Taichung 65 and Its F₁ Pollen Sterility Near Isogenic Lines[J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2004, 12(6): 521-527
- [12] Jagadish S V K, Craufurd P Q, Wheeler T R. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2007, 58(7): 1627-1635
- [13] Matsui T, Omasa K, Horie T. High temperature at Flowering Inhibits Swelling of Pollen Grains, a Driving Force for Thecae Dehiscence in Rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Prod Sci*, 2000, 3(4): 430-434
- [14] Jagadish S V K, Craufurd P Q, Wheeler T R. Phenotyping parents of mapping populations of rice (*Oryza sativa* L.) for heat tolerance during anthesis[J]. *Crop Sci*, 2008, 48: 1140-1146
- [15] Prasad P V V, Boote K J, Jr L H A, et al. Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress[J]. *Field Crop Res*, 2006, 95: 398-411
- [16] Yoshida S. High temperature stress in rice[M]. IRRI Research Paper Series International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, 1981, 67
- [17] Jagadish S V K, Muthurajan R, Oane R, et al. Physiological and Proteomic approaches to address heat tolerance during anthesis in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2010, 61(1): 143-156
- [18] Rang Z W, Jagadish S V K, Zhou Q M, et al. Effect of high temperature and water stress on pollen germination and spikelet fertility in rice[J]. *Environ Exp Bot*, 2011, 70(1): 58-65
- [19] Matsui T, Omasa K. Rice (*Oryza sativa* L.) cultivars tolerant to high temperature at flowering: anther characteristics[J]. *Ann Bot*, 2002, 89: 683-687
- [20] Matsui T, Omasa K, Horie T. Mechanism of anther dehiscence in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Ann Bot*, 1999, 84: 501-506
- [21] Nishiyama I. Interspecific cross-incompatibility system in the genus [J] *Avena J Plant Res*, 1984, 97(2): 219-231