

Effect of Low Temperature on the Photosynthesis in Hainan Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.)

Yixun Liu, Xiang Mo, Mengliang Xu*

College of Life Sciences, Hunan Normal University/Hunan Provincial Key Laboratory of Crop Sterility Mechanism and Sterile Germplasm Resources Innovation, Changsha Hunan
Email: 675443243@qq.com, *xml2003cs@126.com

Received: Oct. 8th, 2019; accepted: Oct. 23rd, 2019; published: Oct. 30th, 2019

Abstract

Using Hainan wild rice and cultivated rice phenotypes of nipponbare and 9311 as materials, the photosynthetic parameters as net photosynthetic rate, stomatal conductance, apparent quantum yield (AQY), carboxylation efficiency (CE), maximal photon quantum efficiency of PSII (F_v/F_m), and photosynthetic pigments contents were determined before and after low temperature. The results showed there were no significant difference of above photosynthetic parameters between Hainan wild rice and two cultivated rice phenotypes before low temperature, but the parameters of Hainan wild rice were significantly ($P < 0.05$) high than those of typical cultivars after low temperature (the average daily mean, minimum, and maximum temperature from Oct. 26 to Oct. 31, 2010 at Changsha were 12.57°C, 9.37°C, and 16.60°C, respectively), and its ratios of above parameters after low temperature to before low temperature were 64.30% - 83.40%, obviously higher than those of typical cultivars (4.65% - 69.99%). The results suggest that the cold tolerance of photosynthesis of Hainan wild rice is strong than those of cultivated rice phenotypes of nipponbare and 9311.

Keywords

Oryza rufipogon Griff., Low Temperature, Net Photosynthetic Rate, Apparent Quantum Yield (AQY), Photosynthetic Pigments

低温对海南野生稻光合作用的影响

刘艺珣, 莫 香, 徐孟亮*

湖南师范大学生命科学学院/作物不育资源创新与应用湖南省重点实验室, 湖南 长沙
Email: 675443243@qq.com, *xml2003cs@126.com

收稿日期: 2019年10月8日; 录用日期: 2019年10月23日; 发布日期: 2019年10月30日

*通讯作者。

摘要

以海南野生稻、日本晴与9311为材料,测定了它们在低温胁迫前后的净光合速率、气孔导度、表观量子效率、羧化效率、光系统II最大光化学量子效率及光合色素含量。结果表明,低温胁迫前,3个材料的上述光合生理指标值差异不显著;但低温(6天平均日均温为12.57℃,平均日最低温为9.37℃,平均日最高温为16.60℃)胁迫后,海南野生稻上述光合生理指标值均显著高于2个栽培稻品种($P < 0.05$),且低温胁迫后的值与低温胁迫前的值相比,其上述光合生理指标值维持的百分率(64.30%~83.40%)也明显高于2个栽培稻品种维持的百分率(4.65%~69.99%)。说明海南野生稻光合作用对低温的忍耐能力强于栽培稻日本晴与9311。

关键词

野生稻, 低温, 净光合速率, 量子效率, 光合色素

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)是栽培稻(*Oryza sativa* L.)的近缘种,遗传多态性较栽培稻丰富[1][2][3]。其中蕴含不少抗病虫害、耐非生物逆境、具高产数量性状位点、米质优良、雄性不育的优、特异资源[4]-[11],是改良栽培稻以提高其产量、品质、抗性、适应性的一个重要遗传资源。有关野生稻光合作用的研究报道不多[12]-[18],而有关低温对野生稻光合作用影响的报道更少,海南野生稻是普通野生稻的一个种群,有关低温对其光合作用的影响未见报道。本研究比较分析了海南野生稻与典型栽培稻在低温胁迫后的净光合速率(光合强度)、气孔导度、表观量子效率、羧化效率、光系统II的最大光化学量子效率与光合色素含量,旨在探讨海南野生稻光合作用对低温的忍耐能力,发掘其适应低温的优良光合生理指标性状,为其开发利用提供理论依据并获取有关野生稻光合作用的新知识,具有重要意义。

2. 材料与方法

2.1. 材料

海南野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)、日本晴(*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*)与9311 (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*)。

2.2. 方法

2.2.1. 材料栽培与管理

供试材料用种茎于2010年9月下旬移栽,种茎高20 cm,每桶栽2个种茎,每个种茎带2个分蘖,每材料栽3盆。盆中装有湿润水稻土(水稻土烘干重为3.5 Kg),自然条件下生长发育,常规水肥管理与病虫害防治,至分蘖数足够时(约3周)进行各项光合指标参数的测定。

2.2.2. 低温胁迫

利用长沙晚秋的自然低温对材料进行低温胁迫。低温胁迫日期为2010年10月26日至2010年10月

31日,低温胁迫期间平均日均温为12.57℃,平均日最低温为9.37℃,平均日最高温为16.60℃,低温胁迫后,在自然条件下恢复生长5天(2010年11月1日~2010年11月5日,5天平均日均温为15.50℃,平均日最低温为11.62℃,平均日最高温为21.16℃)后,用于低温胁迫后光合作用各项指标的测定。

2.2.3. 净光合速率测定

净光合速率采用LI-6400便携式光合作用测定系统(美国LI-COR公司生产)测定,在上午9:00~11:00进行,光强控制在 $1500\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,由仪器配备的红蓝光源(6400-02B LED光源)产生, CO_2 浓度控制为 $400\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$,由小型 CO_2 钢瓶通过仪器配备的 CO_2 注入系统提供,叶面温度分别控制为30℃,由仪器的加热制冷装置自动精确控制。测定部位为倒二叶,每个材料每株测量1个叶片,共测6个叶片,取平均值作为测定结果。

2.2.4. 表观量子效率与羧化效率测定

表观量子效率(AQY)与羧化效率(CE)也采用LI-6400便携式光合作用测定系统进行测定,于上午9:00~11:00进行,测定部位为倒二叶,每个材料每盆测量1个叶片,共测3个叶片,取平均值作为测定结果。测定时,先通过仪器的Light curve和A-Ci curve自动测量程序获得净光合速率(Pn)对光强(PAR)及同化速率(A)对胞间 CO_2 浓度(Ci)的响应曲线,再根据Pn-PAR及A-Ci响应曲线求出AQY与CE。Light curve自动测量程序的光强控制为2000、1750、1500、750、200、150、100、50、0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 浓度控制在 $400\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$;A-Ci curve自动测量程序的胞外 CO_2 浓度控制为400,300,200,100,50,400,400,600,800,1000,1200,1500,1800 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$,光强控制在 $1500\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。两个自动测量程序的叶面温度均控制为30℃;程序运行前,先让被测叶片在光强为 $1500\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下适应15分钟。根据Pn-PAR及A-Ci曲线数据,以Pn或A为Y值,PAR或Ci为X值,通过线性回归分析,计算出初始斜率($\text{PAR}\leq 200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 或 $\text{Ci}\leq 200\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$),即为AQY或CE。

2.2.5. 光系统II最大光化学量子效率(Fv/Fm)测定

采用LI-6400便携式光合作用测定系统及其配套的LI-6400-40荧光叶室测定。待测叶片在充分暗适应(30 min)后,通过仪器的叶绿素荧光参数测量程序,测得叶绿素的最小荧光值(F_0)与最大荧光值(F_m),根据 F_0 与 F_m 值计算出 F_v/F_m , $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$,其中 F_v 为最大可变荧光。每个材料每株测量1个叶片,共测6个叶片,取平均值作为测定结果。

2.2.6. 叶绿体色素含量的测定

参照王玮[19]提取叶绿体色素的方法,取倒二叶中部片段0.5克,用95%的乙醇提取色素,用722型分光光度计测定665 nm、649 nm、470 nm处的吸光度(A),然后根据公式计算出叶绿素(Chl)和类胡萝卜素(Car)的含量,每个材料每株测量1个叶片,共测6个叶片,取平均值作为测定结果。各种色素含量(单位:mg/g)的计算公式为:

$$\text{Chl } a = V * (13.95A_{665} - 6.88A_{649}) / 0.5$$

$$\text{Chl } b = V * (24.96A_{649} - 7.32A_{665}) / 0.5$$

$$\text{Chl } T = V * (6.63A_{665} + 18.08A_{649}) / 0.5$$

$$\text{Car} = V * [1000A_{470} - 2.05 * (13.95A_{665} - 6.88A_{649}) - 114.8 * (24.96A_{649} - 7.32A_{665})] / (245 * 0.5)$$

公式中V代表提取液总体积(单位:L)。

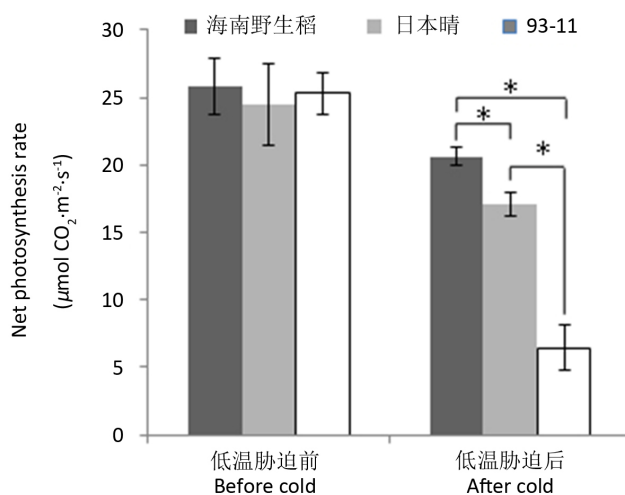
2.2.7. 数据分析

所得数据采用多重比较法进行差异显著性分析。

3. 结果与分析

3.1. 低温对海南野生稻净光合速率与气孔导度的影响

利用长沙晚秋的自然低温,测定了海南野生稻及供试的 2 个栽培稻在低温前后的净光合速率与气孔导度。结果表明,在低温胁迫前,海南野生稻的净光合速率及气孔导度与供试的 2 个栽培稻差异不显著,但低温(6 天平均日均温为 12.57℃,平均日最低温为 9.37℃,平均日最高温为 16.60℃)胁迫后,其净光合速率及气孔导度显著高于 2 个栽培稻对照(图 1、图 2),且低温胁迫后的值与低温胁迫前的值相比,其净光合速率与气孔导度维持的百分率分别为 79.91%与 66.53%,也高于 2 个栽培稻的相应值(分别为 69.99%、25.52%与 53.16%、21.03%)。说明低温对海南野生稻净光合速率及气孔导度的影响小于供试的栽培稻。



注: “*”表示两者间差异显著($P < 0.05$),下同。

Figure 1. Effect of low temperature on the net photosynthesis rate in Hainan wild rice

图 1. 低温对海南野生稻净光合速率的影响

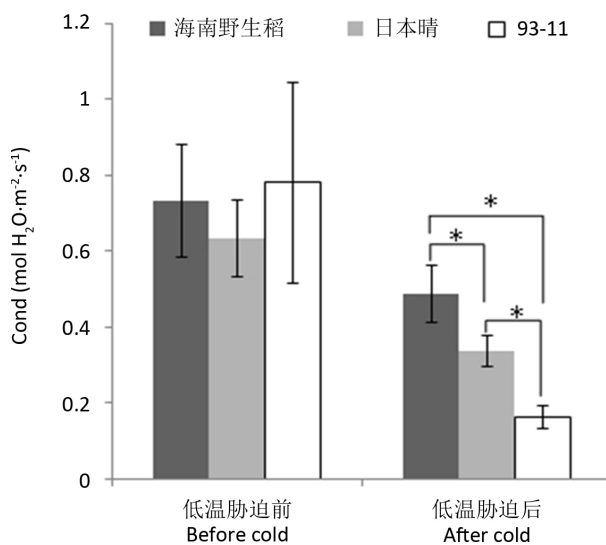


Figure 2. Effect of low temperature on cond in Hainan wild rice

图 2. 低温对海南野生稻气孔导度的影响

3.2. 低温对海南野生稻表观量子效率的影响

表观量子效率(AQY)可衡量叶片对照射在其上面的光量子的能量利用效率。对海南野生稻表观量子效率的测定结果表明,在低温前,其AQY与供试的2个栽培稻无显著性差异,但在低温胁迫后,其AQY显著高于2个栽培稻(图3),且低温胁迫后的值与低温胁迫前的值相比,其AQY维持的百分率(64.30%)也高于2个栽培稻对照维持的百分率(34.50%, 18.08%)。说明低温对海南野生稻光能利用效率的影响小于栽培稻。

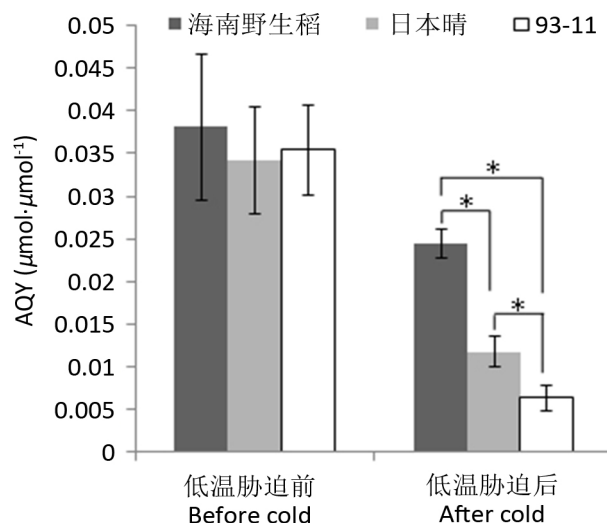


Figure 3. Effect of low temperature on the AQY in Hainan wild rice

图3. 低温对海南野生稻表观量子效率(AQY)的影响

3.3. 低温对海南野生稻羧化效率的影响

羧化效率(CE)可反映植物叶片活体条件下的羧化酶活性。对海南野生稻羧化效率的测定结果表明,低温胁迫前,海南野生稻的CE与栽培稻差异也不显著,而在低温胁迫后则显著高于2个栽培稻(图4),且低温胁迫后的值与低温胁迫前的值相比,其CE维持的百分率(75.2%)也高于所有栽培稻对照维持的百分率(30.3%, 14.5%)。说明海南野生稻在受低温胁迫后依然保持较高的羧化酶活性。

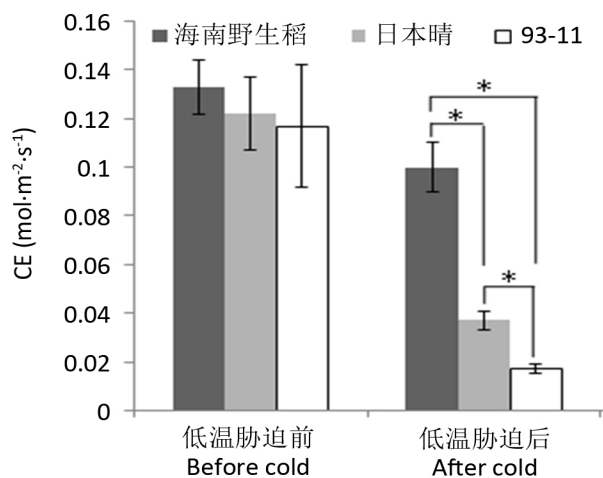


Figure 4. Effect of low temperature on the CE in Hainan wild rice

图4. 低温对海南野生稻羧化效率的影响

3.4. 低温对海南野生稻光系统 II 最大光化学量子效率的影响

光系统 II 易受低温、高温等逆境损伤, 受损程度可用其最大光化学量子效率(F_v/F_m)来衡量, F_v/F_m 反映植物的潜在光合能力。对光系统 II 的最大光化学量子效率测定结果显示, 在低温胁迫前, 海南野生稻及 2 个栽培稻的 F_v/F_m 值均介于正常范围, 且差异不显著, 而在低温胁迫后, 均低于正常范围, 但海南野生稻显著高于所测栽培稻(图 5), 且低温胁迫后的值与低温胁迫前的值相比, 其 F_v/F_m 值维持的百分率(83.4%)也高于所测栽培稻维持的百分率(67.5%, 38.8%)。说明海南野生稻光系统 II 对低温的忍耐能力强于 2 个栽培稻。

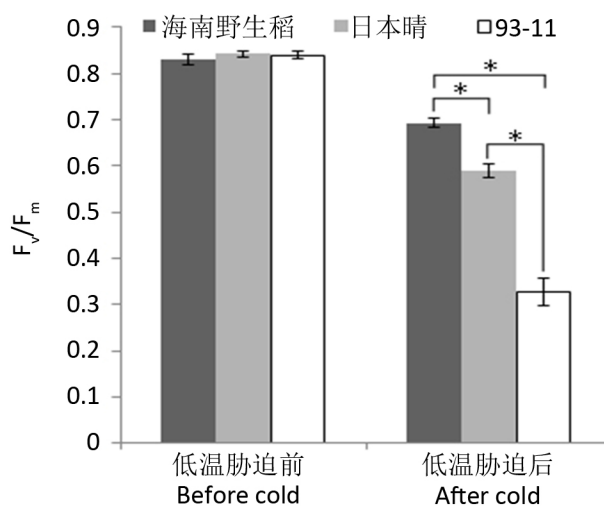


Figure 5. Effect of low temperature on the F_v/F_m in Hainan wild rice

图 5. 低温对海南野生稻光系统 II 的最大光化学量子效率 (F_v/F_m) 的影响

3.5. 低温对海南野生稻光合色素含量的影响

对海南野生稻光合色素含量的测定结果表明, 在低温胁迫前, 其叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素及类胡萝卜素含量与 2 个栽培稻对照差异不显著(表 1); 低温胁迫后, 其叶绿素 a、总叶绿素与类胡萝卜素含量均显著高于 2 个栽培稻对照(表 1), 且低温胁迫后的值与低温胁迫前的值相比, 其叶绿素总量与类胡萝卜素含量维持的百分率也高于所测栽培稻对照维持的百分率(表 1)。

Table 1. Effect of low temperature on the contents of photosynthetic pigments in Hainan wild rice ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{fw}$)

表 1. 低温对海南野生稻光合色素含量的影响($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{fw}$)

材料名称	低温胁迫前				低温胁迫后			
	Chla	Chlb	ChlT	Car	Chla	Chlb	ChlT	Car
海南野生稻	$2.40 \pm 0.19\text{a}$	$0.76 \pm 0.08\text{a}$	$3.16 \pm 0.26\text{a}$	$0.52 \pm 0.05\text{a}$	$1.75 \pm 0.15\text{a}$	$0.51 \pm 0.05\text{a}$	$2.26 \pm 0.20\text{a}$	$0.37 \pm 0.05\text{a}$
	100	100	100	100	72.91	67.11	71.52	71.15
日本晴	$2.67 \pm 0.46\text{a}$	$0.76 \pm 0.13\text{a}$	$3.43 \pm 0.57\text{a}$	$0.54 \pm 0.14\text{a}$	$1.28 \pm 0.14\text{b}$	$0.52 \pm 0.07\text{a}$	$1.80 \pm 0.21\text{b}$	$0.15 \pm 0.04\text{b}$
	100	100	100	100	47.94	68.42	52.48	27.78
9311	$2.37 \pm 0.18\text{a}$	$0.76 \pm 0.07\text{a}$	$3.13 \pm 0.23\text{a}$	$0.43 \pm 0.04\text{a}$	$0.17 \pm 0.07\text{c}$	$0.16 \pm 0.04\text{b}$	$0.33 \pm 0.11\text{c}$	$0.02 \pm 0.01\text{c}$
	100	100	100	100	7.17	21.05	10.54	4.65

注: Chla、Chlb、ChlT 及 Car 分别代表叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素与类胡萝卜素。表中数据为平均值 \pm 标准差。同列平均数后带不同小写字母者, 差异显著($\alpha < 0.05$)。

4. 讨论

4.1. 海南野生稻光合作用对低温的耐性较强，可用于栽培稻的遗传改良

水稻是原产热带或亚热带的一种喜温作物，绝大多数品种的耐冷性不强，尤其是广泛种植的籼稻主栽品种及杂交组合耐冷性不强，限制了其时空分布。耐冷性不强表现在很多方面，其中光合作用对低温的忍耐能力弱是一个重要方面。因此，提高栽培稻光合作用对低温的忍耐能力，是提高其耐冷性的一个重要举措，有助于其充分利用温光资源，拓宽时空分布，从而可大幅提高产量。

野生稻中蕴藏许多优、特异资源，发掘并利用这些资源及其优良性状是对栽培稻进行遗传改良的有效途径。我们对海南野生稻受到低温胁迫后的光合生理特性研究表明，该野生稻在低温胁迫后的净光合速率、叶绿素与类胡萝卜素含量、光系统 II 最大光化学量子效率(F_v/F_m)、表观量子效率及羧化效率均显著或极显著高于典型栽培稻；而且，与适温下(低温前)测定值相比，上述光合生理指标值维持的百分率也明显高于典型栽培稻。说明海南野生稻光合特性优良。通过育种途径，可望将这些优良光合生理指标性状转入栽培稻，从而提高栽培稻光合作用对低温的忍耐能力，达到拓宽其时空分布、提高产量的目的。

4.2. 该研究加深了对野生稻光合作用的认识

国内外有关野生稻光合作用的研究报道不多，且这些工作主要是研究了适宜环境(顺境)下野生稻的光合特性，而有关非生物逆境对野生稻光合生理特性影响的研究更少。该研究以海南野生稻为材料，探讨了低温对其光合作用的影响，研究结果表明，海南野生稻光合作用对低温的忍耐能力强于典型栽培稻。之所以表现出这一优点，很可能与其低温胁迫后依然能保持较高的叶绿素与类胡萝卜素含量、较高的表观量子效率与表观羧化效率以及光系统 II 对低温的忍耐能力较强有密切关系，这些具有重要参考价值的数据和结论，无疑加深了我们对野生稻光合作用的认识。

5. 主要结果与结论

经 6 天平均日均温 12.57℃、平均日最低温 9.37℃及平均日最高温 16.60℃的低温胁迫后，海南野生稻的净光合速率、气孔导度、叶绿体色素含量、光系统 II 的最大光化学量子效率、表观量子效率及羧化效率均显著高于典型栽培稻；且低温胁迫后的值与低温胁迫前的值相比，其上述光合生理指标值维持的百分率也显著高于栽培稻维持的百分率，表现出其光合作用耐低温的优良特性，可望作为育种资源来提高栽培稻光合作用对低温的忍耐能力。

基金项目

湖南省自然科学基金项目(10JJ3028,2018JJ3343)，杂交水稻国家重点实验室(武汉大学)开放基金项目(2016)，湖南省重点科技计划项目(2012FJ2013)。

参考文献

- [1] Sun, C.Q., Wang, X.K., Li, Z.C., Iwata, A. and Yoshimura, N. (2001) Comparison of the Genetic Diversity of Common Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and Cultivated Rice (*O. sativa* L.) Using RFLP Markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **102**, 157-162. <https://doi.org/10.1007/s001220051631>
- [2] Shishido, R., Kikuchi, M., Nomura, K. and Ikehashi, H. (2006) Evaluation of Genetic Diversity of Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Myanmar Using Simple Sequence Repeats (SSRs). *Genetic Resources and Crop Evolution*, **53**, 179-186. <https://doi.org/10.1007/s10722-004-3226-5>
- [3] 王一平, 魏兴华, 袁筱萍, 余汉勇, 徐群, 汤圣祥. 海南普通野生稻自然居群间遗传多样性的微卫星分析[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(6): 573-578.
- [4] 庞汉华, 陈成斌. 中国野生稻资源[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2002: 1-330.

- [5] Vaughan, D.A., Morishimay, H. and Kadowaki, K. (2003) Diversity in the *Oryza* Genus. *Current Opinion in Plant Biology*, **6**, 139-146. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00009-8](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00009-8)
- [6] 江川, 王金英, 李清华. 野生稻的优异特性及其在水稻育种中的利用[J]. 福建稻麦科技, 2003, 21(3): 8-10.
- [7] 钟代彬, 罗利军, 应存山. 野生稻有利基因转移研究进展[J]. 中国水稻科学, 2000, 14(2): 103-106.
- [8] Xiao, J., Grandillo, S., Ahn, S.N., McCouch, S.R., Tanksley, S.D., Li, J. and Yuan, L. (1996) Genes from Wild Rice Improved Yield. *Nature*, **384**, 223-224. <https://doi.org/10.1038/384223a0>
- [9] Xiao, J., Li, J., Grandillo, S., Ahn, S.N., Yuan, L., Tanksley, S.D. and McCouch, S.R. (1998) Identification of Trait-Improving Quantitative Trait Loci Alleles from a Wild Rice Relative *Oryza rufipogon*. *Genetics*, **150**, 899-909.
- [10] Gao, L.Z., Ge, S. and Hong, D.Y. (2000) Allozyme Variation and Population Genetic Structure of Common Wild Rice *Oryza rufipogon* Griff in China. *Theoretical and Applied Genetics*, **101**, 494-502. <https://doi.org/10.1007/s001220051508>
- [11] Gao, L.Z., Schaal, B.A., Zhang, C.H., Jia, J.Z. and Dong, Y.S. (2002) Assessment of Population Genetic Structure in Common Wild Rice *Oryza rufipogon* Griff. Using Microsatellite and Allozyme Markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **106**, 173-180. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1027-9>
- [12] Yeo, M.E., Yeo, A.R. and Flowers, T.J. (1994) Photosynthesis and Photorespiration in the Genus *Oryza*. *Journal of Experimental Botany*, **45**, 553-560. <https://doi.org/10.1093/jxb/45.5.553>
- [13] 杨相勇. 普通野生稻与栽培稻杂交后代光合特性分析[M]//作物栽培与生理学研究进展. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 225-229.
- [14] Zhao, M., Lafitte, H.R., Sacks, E., Dimayuga, G. and Botwright Acuna, T.L. (2008) Perennial *O. sativa* × *O. Rufipogon* Interspecific Hybrids: I. Photosynthetic Characteristics and Their Inheritance. *Field Crops Research*, **106**, 203-213. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.12.005>
- [15] Masumoto, C., Ishii, T., Kataoka, S., Hatanaka, T. and Uchida, N. (2004) Enhancement of Rice Leaf Photosynthesis by Crossing Between rice, *Oryza sativa*, and Wild Rice Species, *Oryza rufipogon*. *Plant Production Science*, **7**, 252-259. <https://doi.org/10.1626/pps.7.252>
- [16] 冯世康, 陈成斌. 特种稻种桂 D1 号的高光效特性[J]. 广西农业科学, 1992(4): 151-152.
- [17] 赵秀琴, 赵明, 肖俊涛, 张文绪, 关东明, 王美云, 陆军, 臧宁. 栽野稻远缘杂交高光效后代及其亲本叶片的气孔特性[J]. 作物学报, 2003, 29(2): 216-221.
- [18] Mo, X. and Xu, M.L. (2016) The Photosynthetic Characteristics in Chaling Common Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) under the Cold Stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, **44**, 404-410. <https://doi.org/10.15835/nbha44210274>
- [19] 王玮. 叶绿素含量的测定[M]//李合生, 主编. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 134-137.