

低温胁迫对水稻幼苗不同叶龄叶片 叶绿素荧光特性的影响

王春萍^{1,2}, 雷开荣^{1,①}, 李正国², 林清¹, 吴红¹

(1. 重庆市农业科学院生物技术研究中心 逆境农业研究重庆市市级重点实验室, 重庆 401329; 2. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044)

摘要: 以‘蜀恢 162’(‘Shuhui 162’), ‘糯 89-1’(‘Nuo 89-1’), ‘蜀恢 162/糯 89-1’(‘Shuhui 162/Nuo 89-1’), ‘奇妙香’(‘Qimiaoxiang’)和早黄矮(‘Zaohuang’ ai’) 5 个水稻(*Oryza sativa* L.) 品种(系)为研究对象, 采用叶绿素荧光成像系统研究了低温(4 ℃)胁迫对水稻 3 叶期幼苗不同叶龄叶片叶绿素荧光特性的影响。结果表明: 经低温胁迫处理后, 5 个水稻品种(系)幼苗 3 个叶龄叶片的各叶绿素荧光参数变化有明显差异, 其中第一叶的各项参数均降至 0。经低温处理后 5 个水稻品种(系)幼苗 3 片叶片的 PS II 最大光化学量子产量(F_v/F_m)均明显小于对照(25 ℃), 其中第一叶的降低幅度最大, 第三叶最小。经低温胁迫处理后, 5 个水稻品种(系)幼苗第三叶的非光化学淬灭系数(qN)均显著大于对照, 耐冷性品种‘糯 89-1’幼苗第二叶的 qN 较对照显著增大, 而其他水稻品种(系)幼苗第二叶的 qN 均显著小于对照; ‘糯 89-1’幼苗第二叶的光化学淬灭系数(qP)较对照略有增大, 第三叶的 qP 显著大于对照; ‘早黄矮’幼苗第三叶的 qP 也大于对照但差异不显著, 而其余水稻品种(系)幼苗第二叶和第三叶的 qP 均显著小于对照。经低温胁迫后 5 个水稻品种(系)幼苗 3 片叶片的 PS II 最大相对电子传递速率($rETR_{max}$)和半饱和光强(I_k)均显著小于对照; 除‘糯 89-1’幼苗第三叶外, 5 个水稻品种(系)幼苗 3 片叶片的快速光响应曲线初始斜率(α)也均显著小于对照, 总体上第一叶的 $rETR_{max}$ 、 I_k 和 α 下降幅度最大, 第三叶最小。研究结果揭示: 受低温胁迫后, 叶片自身生理差异是导致水稻幼苗不同叶龄叶片受伤害程度不同的主要因素。

关键词: 低温胁迫; 水稻; 叶片; 叶龄; 叶绿素荧光参数

中图分类号: Q945.78; S511 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)03-0038-06

Effects of chilling stress on chlorophyll fluorescence characteristics of seedling leaves with different leaf ages of *Oryza sativa* WANG Chun-ping^{1,2}, LEI Kai-rong^{1,①}, LI Zheng-guo², LIN Qing¹, WU Hong¹ (1. Chongqing Key Laboratory of Adversity Agriculture, Biotechnology Research Center, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China; 2. Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(3): 38-43

Abstract: Taking five cultivars (lines) of *Oryza sativa* L. including ‘Shuhui 162’, ‘Nuo 89-1’, ‘Shuhui 162/Nuo 89-1’, ‘Qimiaoxiang’ and ‘Zaohuang’ ai’ as the research objects, the effect of chilling stress (4 ℃) on chlorophyll fluorescence characteristics of leaves with different leaf ages at three-leaf stage seedling was studied by chlorophyll fluorescence imaging system. The results show that after chilling stress, all of chlorophyll fluorescence parameters of leaves with three leaf ages of five cultivars (lines) have obvious variations, in which, all parameters of the first leaf decrease to 0. After chilling stress, the maximal photochemical quantum yield of PS II (F_v/F_m) of three leaves of five cultivars (lines) is obviously lower than that of the control (25 ℃), in which, decreasing range of F_v/F_m of the first leaf is the largest while that of the third leaf is the smallest. After chilling stress, non-photochemical quenching coefficient (qN) of the third leaf of five cultivars (lines) is significantly larger than that of the control. And qN of the second leaf of cold-resistance cultivar ‘Nuo 89-1’ is significantly larger while that of other cultivars (lines) is significantly smaller than that of the control. Comparing to the control,

收稿日期: 2011-11-02

基金项目: 重庆市农业科学院基本科研业务费专项; 重庆市重点攻关项目(CSTC2010AA1019); 重庆市博士后科研项目特别资助项目(渝xm201103002)

作者简介: 王春萍(1980—), 女, 河南商丘人, 博士, 主要从事植物抗非生物逆境生理生态和基因工程研究。

①通信作者 E-mail: leikairong@126.com

photochemical quenching coefficient (qP) of the second leaf of 'Nuo 89-1' increases slightly and that of its third leaf increases significantly after chilling stress, and that of the third leaf of 'Zaohuang' ai' is also larger than that of the control but without significant difference, while qP of the second and third leaf of other cultivars (lines) is significantly smaller than that of the control. After chilling stress, the maximum relative electron transport rate of PS II ($rETR_{max}$) and semi-saturation light intensity (I_k) of three leaves of five cultivars (lines) all are significantly smaller than those of the control. Except the third leaf of 'Nuo 89-1', the initial slope of rapid light curve (α) of three leaves of five cultivars (lines) after chilling stress all are significantly smaller than that of the control. In general, the decrease range of $rETR_{max}$, I_k and α of the first leaf is the largest and that of the third leaf is the smallest. It is revealed that the self-physical difference of leaves is a main factor inducing to injury degree variation among different leaves with different leaf ages of *O. sativa* seedlings after chilling stress.

Key words: chilling stress; *Oryza sativa* L.; leaf; leaf age; chlorophyll fluorescence

水稻(*Oryza sativa* L.)是高温短日作物,在全球热带、亚热带和温带等地区均有种植。水稻性喜温暖,温度低于15℃时,其种子萌发、幼苗生长、幼穗分化、开花受精及灌浆结实等生长发育进程均会受到影响,并最终影响产量。因此,低温冷害是影响水稻生产的主要因素之一。每年因低温冷害造成全球水稻平均减产5%~10%,严重时达到20%~40%^[1]。中国长江中下游水稻主产区以幼苗生长期冷害最为严重,双季稻区早稻幼苗生长期的温度一般低于20℃,尤其3月份和4月份的倒春寒天气,常常导致水稻生长迟缓甚至腐烂,严重影响了早稻和晚稻的生产计划。

光合系统II(PS II)是植物光合作用过程中进行光反应的重要结构,逆境胁迫对植物造成的最大的生理伤害是导致PS II电子传递和光能转化效率降低^[2-3]。叶绿素荧光与光合作用中的各个反应过程都紧密相关,能够反映PS II的生理过程。采用叶绿素荧光技术能精确测定和研究光合作用的动态变化,能灵敏探测各种外界因子对光合作用造成的影响,具有灵敏、简便、快速和无损伤检测等优点,在植物各种抗性生理研究中显示出多方面的应用前景^[3]。然而,该技术在水稻苗期抗逆性研究中的应用还处于初级阶段,研究方法还有待不断完善。

作者选取'蜀恢162'('Shuhui 162')、'糯89-1'('Nuo 89-1')、'蜀恢162/糯89-1'('Shuhui 162/Nuo 89-1')、'奇妙香'('Qimiaoxiang')和'早黄矮'('Zaohuang' ai')5个耐冷特性不同的水稻品种(系)作为研究材料,应用调制叶绿素荧光成像系统对低温(4℃)胁迫后不同叶龄叶片的叶绿素荧光特性进行分析,以期丰富水稻苗期耐冷性光合机制的研究数据,并完善叶绿素荧光技术在水稻苗期抗逆研究中的运用方法。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为重庆市农业科学院生物中心保存的'蜀恢162'、'糯89-1'、'蜀恢162/糯89-1'、'奇妙香'和'早黄矮'5个水稻品种(系),其中,'糯89-1'为强抗冷性地方品种,能通过腋芽抵御低温越冬,多年萌发再生^[4];'蜀恢162/糯89-1'为'蜀恢162'与'糯89-1'杂交后经多代选育获得的稳定品系,耐冷特性未知;恢复系'蜀恢162'及'奇妙香'和'早黄矮'2个品种的耐冷特性也未知。

1.2 方法

1.2.1 水稻幼苗培养与处理 选取健康饱满的水稻种子,用去离子水浸泡10 min,再用体积分数70%乙醇消毒3 min,用去离子水清洗3次后在蒸馏水中浸泡24 h,直接播于装有营养土的培养穴盘中,每穴播1粒种子;置于温度25℃、空气相对湿度80%、光照强度200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照时间14 $\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$ 的条件下培养。待幼苗生长至3叶期时移入人工气候箱中,于4℃处理24 h(空气相对湿度80%);全程采用无光照处理,每处理重复3次。对照组幼苗则在原培养条件下生长。

1.2.2 叶绿素荧光动力学参数测定 将水稻幼苗暗适应20 min后剪下全部叶片,在25℃条件下采用调制叶绿素荧光成像系统IMAGING-PAM(德国WALZ公司)进行叶绿素荧光参数测定。叶片按照叶龄从大到小的顺序依次命名为第一叶、第二叶和第三叶。仪器工作参数为:检测光强度0.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光化光强度81 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,饱和脉冲强度2700 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,脉冲光0.8 s,每隔20 s打开1次。

设定参数后,首先测叶绿素荧光动力学曲线,获得初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、PS II 最大光化学量子产量(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(qP)和非光化学淬灭系数(qN)等叶绿素荧光参数。在 IMAGING-PAM 的快速光响应曲线(rapid light curve)窗口设置光合有效辐射(PAR)梯度为0、1、186、396、531、701、801、1 076、1 251 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,相邻2个梯度间隔20 s,然后直接测定快速光响应曲线,获得PS II 最大相对电子传递速率($rETR_{\text{max}}$)等参数。

1.3 数据处理

PS II 相对电子传递速率($rETR$)计算公式为: $rETR = [(F_m' - F_t) / F_m'] \times \text{PAR} \times 0.5 \times 0.84$,式中: F_m' 代表光适应的样品打开饱和和脉冲时得到的最大荧光产量; F_t 为实时荧光产量;PAR为入射到样品的光合有效辐射;常数0.5是假设植物吸收的光被2个光系统均分;常数0.84是植物的经验性吸光系数。用公式“ $P_m \times [1 - \exp(-\alpha \times \text{PAR} / P_m)] \times \exp(-\beta \times \text{PAR} / P_m)$ ”拟合快速光响应曲线,式中: P_m 为无光抑制时的 $rETR_{\text{max}}$; α 是快速光响应曲线的初始斜率; β 为快速光响应曲线在高光强下下降部分的斜率^[5]。半饱和和光强(I_k)的计算公式为: $I_k = P_m / \alpha$ 。

在数据处理过程中利用AIO选项中的多边形(polygon)选择整片叶片,获得的参数是整片叶片的平均值。采用Excel 2003和SPSS 13.0统计分析软件进行数据分析,各参数数值为3次重复的平均值。

2 结果和分析

2.1 低温对水稻幼苗不同叶龄叶片 F_v/F_m 的影响

经低温(4℃)胁迫后水稻幼苗不同叶龄叶片的 F_v/F_m 见表1。对照(25℃)条件下,不同品种(系)不同叶片间的 F_v/F_m 为0.780~0.799,差异不显著。经低温胁迫后,各品种(系)的3片叶片的 F_v/F_m 均不同程度的下降。经低温胁迫后,所有品种(系)第一叶的 F_v/F_m 全部降为0,表明低温伤害使其失去活力;同时失去活力的还有‘蜀恢162’和‘奇妙香’的第二叶,因此,在叶绿素荧光图像中检测不到这些叶片的图像;‘糯89-1’、‘蜀恢162/糯89-1’和‘早黄矮’第二叶的 F_v/F_m 分别较对照降低了3.2%、59.6%和32.1%,均差异显著;经低温处理第三叶的 F_v/F_m 为0.696~0.782,其中‘奇妙香’第三叶的 F_v/F_m 最低,比对照下降12.9%,差异显著;‘糯89-1’第三叶的 F_v/F_m 最高,较对照仅降低了0.6%,差异不显著。

2.2 低温对水稻幼苗不同叶龄叶片 qP 和 qN 的影响

经低温(4℃)胁迫处理后水稻幼苗不同叶龄叶片的 qP 和 qN 见表2。与 F_v/F_m 情况一致,低温胁迫后所有品种(系)的第一叶以及‘蜀恢162’和‘奇妙香’的第二叶的 qP 和 qN 都因叶片失活而降为0。与对照(25℃)相比,经低温处理后‘糯89-1’第二叶和

表1 低温胁迫对水稻幼苗不同品种(系)不同叶龄叶片PS II最大光化学量子产量(F_v/F_m)的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾
Table 1 Effect of chilling stress on maximal photochemical quantum yield of PS II (F_v/F_m) of leaves with different leaf ages of different cultivars (lines) of *Oryza sativa* L. seedling ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

品种(系) Cultivar (line)	处理温度/℃ Treatment temperature	不同叶龄叶片的 F_v/F_m F_v/F_m of leaf with different leaf ages		
		第一叶 The first leaf	第二叶 The second leaf	第三叶 The third leaf
糯89-1 Nuo 89-1	25(CK)	0.785±0.009	0.780±0.003a	0.787±0.006a
	4	0.000±0.000	0.755±0.013b	0.782±0.004a
蜀恢162 Shuhui 162	25(CK)	0.791±0.005	0.784±0.008	0.787±0.004a
	4	0.000±0.000	0.000±0.000	0.706±0.006b
蜀恢162/糯89-1 Shuhui 162/Nuo 89-1	25(CK)	0.783±0.007	0.785±0.008a	0.795±0.003a
	4	0.000±0.000	0.317±0.016b	0.732±0.004b
奇妙香 Qimiaoxiang	25(CK)	0.789±0.004	0.795±0.003	0.799±0.001a
	4	0.000±0.000	0.000±0.000	0.696±0.190b
早黄矮 Zaohuang'ai	25(CK)	0.795±0.006	0.787±0.001a	0.788±0.008a
	4	0.000±0.000	0.534±0.027b	0.737±0.004b

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一品种(系)对照与处理间差异显著($P=0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference between the control and treatment groups of same cultivar (line) ($P=0.05$).

表2 低温胁迫对水稻幼苗不同品种(系)不同叶龄叶片光化学淬灭系数(qP)和非光化学淬灭系数(qN)的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
 Table 2 Effect of chilling stress on photochemical quenching coefficient (qP) and non-photochemical quenching coefficient (qN) of leaves with different leaf ages of different cultivars (lines) of *Oryza sativa* L. seedling ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

品种(系) Cultivar (line)	处理温度/℃ Treatment temperature	不同叶龄叶片的 qP qP of leaf with different leaf ages			不同叶龄叶片的 qN qN of leaf with different leaf ages		
		第一叶 The first leaf	第二叶 The second leaf	第三叶 The third leaf	第一叶 The first leaf	第二叶 The second leaf	第三叶 The third leaf
		糯 89-1	25 (CK)	0.625±0.030	0.600±0.016a	0.810±0.007b	0.706±0.110
Nuo 89-1	4	0.000±0.000	0.613±0.004a	0.860±0.008a	0.000±0.000	0.711±0.030a	0.685±0.018a
蜀恢 162	25 (CK)	0.694±0.023	0.796±0.006	0.782±0.031a	0.627±0.002	0.612±0.092	0.533±0.005b
Shuhui 162	4	0.000±0.000	0.000±0.000	0.665±0.008b	0.000±0.000	0.000±0.000	0.728±0.027a
蜀恢 162/糯 89-1	25 (CK)	0.450±0.007	0.582±0.036a	0.653±0.007a	0.653±0.032	0.526±0.004a	0.476±0.032b
Shuhui 162/Nuo 89-1	4	0.000±0.000	0.186±0.009b	0.602±0.034b	0.000±0.000	0.411±0.006b	0.774±0.006a
奇妙香	25 (CK)	0.562±0.126	0.512±0.015	0.682±0.043a	0.543±0.006	0.525±0.121	0.432±0.006b
Qimiaoxiang	4	0.000±0.000	0.000±0.000	0.637±0.016b	0.000±0.000	0.000±0.000	0.691±0.017a
早黄矮	25 (CK)	0.706±0.012	0.668±0.122a	0.761±0.012a	0.563±0.056	0.456±0.013a	0.616±0.033b
Zaohuang'ai	4	0.000±0.000	0.534±0.012b	0.786±0.042a	0.000±0.000	0.327±0.005b	0.757±0.009a

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一品种(系)对照与处理间差异显著($P=0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference between the control and treatment groups of same cultivar (line) ($P=0.05$).

第三叶的 qP 分别增大了 2.2% 和 6.2%, ‘早黄矮’第三叶的 qP 增大了 3.3%, 其他品种(系)第二叶和第三叶的 qP 则均显著减小。

与对照相比,低温处理后,‘糯 89-1’第二叶的 qN 显著增大,而‘蜀恢 162/糯 89-1’和‘早黄矮’第二叶的 qN 显著减小,表明后两者的光保护系统已受到低温的严重伤害,不能行使正常的保护机制。经低温处理后,5 个水稻品种(系)第三叶的 qN 均显著增大,表明在低温胁迫下这些品种(系)幼苗的第三叶都通过提高非荧光淬灭来降低低温对 PS II 造成的伤害。

2.3 低温对水稻幼苗不同叶龄叶片快速光响应特性的影响

快速光响应曲线反映叶片在不同光合有效辐射(PAR)下各叶绿素荧光参数特征,经低温(4℃)胁迫处理后水稻幼苗不同叶龄叶片的 $rETR_{max}$ 、 α 和 I_k 见表 3。根据低温胁迫后各品种(系)的快速光响应曲线可分析其 PS II 变化情况。

经低温胁迫后,随着 PAR 的不断增强,5 个水稻品种(系)幼苗不同叶龄 3 片叶片的 PS II 相对电子传递速率($rETR$)均明显低于对照(25℃)。对快速光响应曲线进行拟合,结果表明:低温胁迫后所有水稻幼苗叶片的 $rETR_{max}$ 和 I_k 均较对照显著减小,其中第一叶的 $rETR_{max}$ 和 I_k 均为 $0 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。经低温处理后,除‘糯 89-1’第三叶的 α 较对照减小但差异不显著外,所有品种(系)水稻幼苗不同叶龄叶片的 α 均

较对照显著下降。按 $rETR_{max}$ 、 I_k 和 α 减小程度从高至低不同叶龄叶片依次排序为第一叶、第二叶、第三叶。

3 讨 论

由于受测定系统(如 PAM)性能的限制,以往的叶绿素荧光动力学研究只能测定植物叶片部分面积的数据,不能反映整片叶片的生理状况。因植物不同叶片以及同一叶片不同部位的光合特性存在差异,仅研究某片叶片甚至叶片上某个点的叶绿素荧光动力学参数会造成较大误差。叶绿素荧光成像系统能够测定整片甚至多片叶片的叶绿素荧光参数,并能提供各参数对应的叶绿素荧光图像,研究者能通过整片叶片的图像与数值对其叶绿素荧光特性进行全面准确的分析。Ehlert 等^[6]以拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] 为实验对象对 2 种方法的比较研究结果也证实了叶绿素荧光成像系统的优势。

水稻苗期耐冷机制较复杂,不同品种间耐冷特性存在差异,因而,低温胁迫后水稻的叶绿素荧光参数表现出不同特征^[7]。目前,采用叶绿素荧光技术进行水稻耐冷机制研究时主要测定某片叶片甚至叶片上的某个点的叶绿素荧光参数^[8-9],但关于植株全部叶片的整体分析还未见报道。作者利用叶绿素荧光成像系统测定了不同耐冷性水稻品种(系)3 叶期幼苗全部叶片的叶绿素荧光特性,以期对低温(4℃)胁迫

表3 低温胁迫对水稻幼苗不同品种(系)不同叶龄叶片的PS II最大相对电子传递速率($rETR_{max}$)、快速光响应曲线初始斜率(α)和半饱和光强(I_k)的影响($\bar{X}\pm SD$)¹⁾
 Table 3 Effect of chilling stress on maximum relative electron transport rate of PS II ($rETR_{max}$), initial slope of rapid light curve (α) and semi-saturation light intensity (I_k) of leaves with different leaf ages of different cultivars (lines) of *Oryza sativa* L. seedling ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

品种(系) Cultivar (line)	叶片 ²⁾ Leaf ²⁾	不同处理组的 $rETR_{max}/\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ $rETR_{max}$ of different groups		不同处理组的 α α of different groups		不同处理组的 $I_k/\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ I_k of different groups	
		25 °C (CK)	4 °C	25 °C (CK)	4 °C	25 °C (CK)	4 °C
		糯89-1	No. 1	49.7±3.4	0.0±0.0	0.162±0.006	0.000±0.000
Nuo 89-1	No. 2	55.6±6.7a	16.4±3.9b	0.121±0.012a	0.062±0.005b	459.5±10.5a	221.0±8.7b
	No. 3	54.2±2.0a	23.2±1.8b	0.123±0.007a	0.113±0.018a	440.7±5.9a	205.3±6.4b
蜀恢162	No. 1	38.8±1.6	0.0±0.0	0.120±0.017	0.000±0.000	323.3±9.3	0.0±0.0
Shuhui 162	No. 2	43.9±5.1	0.0±0.0	0.108±0.002	0.000±0.000	406.5±6.1	0.0±0.0
	No. 3	45.9±2.0a	24.6±4.0b	0.116±0.011a	0.074±0.007b	395.7±11.3a	332.4±7.5b
蜀恢162/糯89-1	No. 1	49.5±3.6	0.0±0.0	0.128±0.005	0.000±0.000	386.7±1.9	0.0±0.0
Shuhui 162/Nuo 89-1	No. 2	52.6±2.9a	4.6±0.0b	0.112±0.025a	0.054±0.017b	469.6±12.3a	85.2±2.1b
	No. 3	57.2±6.0a	21.3±2.0b	0.122±0.017a	0.095±0.010b	468.9±7.5a	329.5±5.5b
奇妙香	No. 1	37.5±0.9	0.0±0.0	0.154±0.010	0.000±0.000	243.5±4.5	0.0±0.0
Qimiaoxiang	No. 2	33.4±5.3	0.0±0.0	0.208±0.037	0.000±0.000	160.6±7.2	0.0±0.0
	No. 3	34.1±1.4a	17.5±2.6b	0.183±0.033a	0.142±0.008b	186.3±6.5a	123.2±4.6b
早黄矮	No. 1	45.3±1.7	0.0±0.0	0.105±0.003	0.000±0.000	431.4±5.3	0.0±0.0
Zaohuang' ai	No. 2	42.5±2.8a	9.8±1.3b	0.138±0.004a	0.037±0.004b	308.0±7.9a	264.9±5.7b
	No. 3	47.8±1.1a	29.3±4.9b	0.135±0.008a	0.083±0.013b	351.8±14.5a	272.3±7.9b

¹⁾ 同行中不同的小写字母表示同一品种(系)对照与处理间差异显著($P=0.05$) Different small letters in the same row indicate the significant difference between the control and treatment groups of same cultivar (line) ($P=0.05$).

²⁾ No. 1: 第一叶 The first leaf; No. 2: 第二叶 The second leaf; No. 3: 第三叶 The third leaf.

后不同叶片PS II的变化情况进行比较。

F_v/F_m 反映了PS II反应中心潜在光能转化效率,即PS II反应中心处于开放状态时的量子产量。正常生长的植物的 F_v/F_m 值通常约为0.8^[10],当植物受到干旱^[11]、极端温度^[12-13]和盐胁迫^[14]等逆境胁迫后 F_v/F_m 值会不同程度下降,因此, F_v/F_m 是逆境生理研究的重要指示性参数。 qP 反映了PS II天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额, qP 值越大,PS II电子传递活性越大。 qN 反映了PS II天线色素吸收的光能以热耗散的形式耗散掉的部分,当植物受到逆境胁迫时PS II反应中心利用光能的效率降低并积累了过量的光能,如不能及时耗散将造成光合机构失活或破坏,因此植物通过不断增加的 qN 来形成自我保护机制^[15]。多数研究表明:植物受到逆境胁迫后 F_v/F_m 和 qP 下降,而 qN 增加^[7,16]。本研究中,经低温胁迫后,水稻幼苗3片叶片 F_v/F_m 的降低程度不同,体现了不同叶片受低温伤害程度的差异。供试的5个水稻品种(系)幼苗的第三叶在低温胁迫后都通过增加 qN 来耗散剩余光能,耐冷性品种‘糯89-1’第二叶的 qN 也显著增大,而其他品种(系)幼苗第二叶

的 qN 却显著减小甚至为0,表明这些品种(系)幼苗第二叶的天线系统受到了严重伤害以至于热耗散保护机能下降。

已有报道证实低温光照会使PS II同时受到低温和光抑制双重伤害^[8-9]。快速光响应曲线中叶绿素荧光参数的变化可以更详细地提供植物受伤害后的光合作用信息^[17],通过快速光响应曲线不仅能够判断当前状态下植物的光合作用能力,而且能够评估环境中各种光照强度对植物潜在光合作用能力的影响^[18]。本研究结果表明:低温胁迫后,水稻幼苗3片叶片的 $rETR_{max}$ 明显减小,说明低温对其光能利用能力造成了影响。低温伤害也造成水稻幼苗叶片半饱和光强(I_k)下降,叶片光强耐受能力下降,叶片在较低的光强下即达到光饱和,在较强光照下则更容易产生过剩光能而对PS II产生伤害。受低温胁迫后‘糯89-1’第三叶的 α 值变化不显著,表明其受低温胁迫后自我调节方式的特殊性。与低温胁迫后水稻幼苗3片叶片的 F_v/F_m 、 qP 和 qN 变化情况类似,3片叶片中的 $rETR_{max}$ 、 I_k 和 α 减小幅度也有差异。

水稻叶片的自身生理差异可能是受低温伤害后

不同叶片产生差异的主要因素。王强等^[19]研究了抽穗期水稻冠层5片叶片的叶绿素荧光特性,结果显示:不同叶片间叶绿素荧光特性差异与其衰老程度相关。本研究结果显示:3叶期水稻幼苗同样存在衰老程度的差异。第三叶叶龄最小,处于生长发育阶段,内部光合生理系统也都处于最佳状态,自我调节能力强,因此耐低温能力最强;第一叶衰老程度最严重,内部结构处于衰退过程,自我调节能力差,因此低温胁迫后很容易受到伤害;第二叶衰老程度介于第三叶和第一叶之间,低温对第二叶大多数叶绿素荧光参数的影响也介于二者之间。在不同水稻品种(系)中第二叶耐低温能力差异最大,‘糯89-1’第二叶受低温伤害程度最低,‘糯89-1/蜀恢162’的杂交后代其次,‘早黄矮’、‘蜀恢162’和‘奇妙香’的第二叶受伤害最严重,暗示对于3叶期的水稻幼苗而言,第二叶的耐冷性与水稻耐冷特性的相关性可能比其他2片叶片更高,更适合作为区分耐冷性与非耐冷性水稻品种(系)的参考依据。或者将第二叶与第三叶的耐冷特性综合作为水稻品种(系)的耐冷性鉴定依据,对此,有必要针对更多的水稻品种(系)进行进一步的研究和验证。另外,因衰老而造成水稻幼苗叶片光合系统的变化以及这些变化与低温伤害的关系还有待于进一步研究。

综上所述,低温对水稻幼苗不同叶龄叶片造成的伤害程度不同,不同耐冷性品种(系)间第二叶受低温伤害程度的差异最大。目前,叶绿素荧光成像系统技术还存在受测试植物体积和叶片面积限制等局限性,需不断改进以使其应用更加灵活广泛。

参考文献:

- [1] OLIVER S N, VAN DONGEN J T, ALFRED S C, et al. Cold-induced repression of the rice anther-specific cell wall invertase gene *OSINV4* is correlated with sucrose accumulation and pollen sterility [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28: 1534-1551.
- [2] JEONG S W, CHOI S M, LEE D S, et al. Differential susceptibility of photosynthesis to light-chilling stress in rice (*Oryza sativa* L.) depends on the capacity for photochemical dissipation of light [J]. *Molecules and Cells*, 2002, 13: 419-428.
- [3] WOO N S, BADGER M R, POGSON B J. A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence [J]. *Plant Methods*, 2008, 4: 27-40.
- [4] 赵正武,王述民,李世平,等.珍稀稻种资源越冬糯稻89-1研究初报[J].杂交水稻,2000,15(3):3-4,30.
- [5] PLATT T, GALLEGOS C L, HARRISON W G. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton [J]. *Journal of Marine Research*, 1980, 38: 687-701.
- [6] EHLERT B, HINCHA D K. Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in *Arabidopsis* leaves [J]. *Plant Methods*, 2008, 4: 12.
- [7] 王国莉,郭振飞.低温对水稻不同耐冷品种幼苗光合速率和叶绿素荧光参数的影响[J].中国水稻科学,2005,19(4):381-383.
- [8] SUZUKI K, NAGASUGA K, OKADA M. The chilling injury induced by high root temperature in the leaves of rice seedlings [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2008, 49: 433-442.
- [9] 李平,李晓萍,陈贻竹,等.低温光抑制胁迫对不同抗冷性的籼稻抽穗期剑叶叶绿素荧光的影响[J].中国水稻科学,2000,14(2):88-92.
- [10] GOVINDJEE R. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence [J]. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1995, 22(2): 131-160.
- [11] KARAVATAS S, MANETAS Y. Seasonal patterns of photosystem 2 photochemical efficiency in evergreen sclerophylls and drought semi-deciduous shrubs under Mediterranean field conditions [J]. *Photosynthetica*, 1999, 36(1): 41-49.
- [12] MAURO S, DAINESI P, LANNOYE R, et al. Cold-resistant and cold-sensitive maize lines differ in the phosphorylation of the photosystem II subunit, CP29 [J]. *Plant Physiology*, 1997, 115: 171-180.
- [13] WANG P, DUAN W, TAKABAYASHI A, et al. Chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco leaves functions in alleviation of oxidative damage caused by temperature stress [J]. *Plant Physiology*, 2006, 141: 465-474.
- [14] NETONDO G W, ONYANGO J C, BECK E. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress [J]. *Crop Science*, 2004, 44: 806-811.
- [15] 张守仁.叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J].植物学通报,1999,16(4):444-448.
- [16] FRACHEBOUD Y, HALDIMANN P, LEIPNER J, et al. Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1999, 50: 1533-1540.
- [17] VAN KOOTEN O, SNEL J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology [J]. *Photosynthesis Research*, 1990, 25: 147-150.
- [18] RALPH P J, GADMANN R. Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity [J]. *Aquatic Botany*, 2005, 82(3): 222-237.
- [19] 王强,温晓刚,卢从明,等.超高产杂交稻‘华安3号’冠层不同衰老程度叶片的光合功能[J].植物生态学报,2004,28(1):39-46.