

张海洋,黄安,余流,等. 开花期极端自然高温对水稻花药生理特性的影响[J]. 江苏农业科学,2025,53(15):103-108.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.15.014

开花期极端自然高温对水稻花药生理特性的影响

张海洋,黄安,余流,黄玉珍,何永明

(江西农业大学作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室/江西省作物生理生态与遗传育种重点实验室,江西南昌 330045)

摘要:为了在探究水稻花药在开花结实期遭受自然高温时的生理响应机制。通过比较自然高温和自然适温条件下野生型水稻中花 11 在开花前 18、4、2、0 h 4 个时间点花药的多种生理指标数据,揭示自然高温对水稻花药及结实率的影响。结果表明,极端自然高温条件下水稻结实率降低至 20.49%,远低于自然适温下的 95.17%。与自然高温相比,自然适温条件下花药中过氧化氢含量和过氧化物酶活性在开花前 18、4 h 显著提升。高温下颖花中丙二醛、游离脯氨酸含量均显著增加,而适温下的含量变化波动不大。在抗氧化酶活性方面,自然高温下花药超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶、多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶、脂氧合酶活性在水稻临近开花时刻相较于自然适温下均有显著提升。在维持细胞还原势方面,自然高温下花药中谷胱甘肽、抗坏血酸含量大幅增加,谷胱甘肽还原酶活性在开花前 4 h 达到峰值。综上,自然高温条件下开花时刻的颖花中保持较多的渗透调节物质、较高的还原势以及较低的过氧化氢含量,是水稻抵抗自然高温胁迫的生理基础。

关键词:自然高温;自然适温;水稻花药;生理特性;酶活性;细胞还原势

中图分类号:S511.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)15-0103-06

水稻作为全球重要的粮食作物,其生长发育和产量受多种环境因素的影响。受全球气候变暖影响,极端高温事件频发,高温已成为世界上许多国

家和地区影响作物生长的主要胁迫因子^[1]。高温影响水稻整个发育过程,其中以抽穗期、扬花期、灌浆初期较为敏感。开花期是水稻生长过程中最为关键和敏感的阶段,若抽穗扬花期日平均温度高于 32 ℃且日最高温度高于 35 ℃,花粉活力、花药开裂、花粉萌发和花粉管伸长都会受到影响,导致受精结实率下降^[2-3]。开花期连续遭遇超过 35 ℃的高温天气,将会导致田间大面积减产,因此解析自然高温对水稻花药生理特性的影响具有重要意义^[4-5]。近年来,大量研究集中在水稻花药应对模

收稿日期:2024-09-04

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360295);江西省自然科学基金(编号:20212BAB205006)。

作者简介:张海洋(2000—),男,湖北枣阳人,硕士研究生,主要从事水稻对白叶枯病的抗性生理机制的研究。E-mail:2356404830@qq.com。

通信作者:何永明,博士,副教授,主要从事植物生理生态、植物激素的研究。E-mail:hymcom@126.com。

[23] 国家烟草专卖局. 烟草及烟草制品 淀粉的测定 连续流动法:YC/T 216—2013[S]. 北京:中国标准出版社,2014.

[24] 国家烟草专卖局. 烟草及烟草制品 水溶性糖的测定 连续流动法:YC/T 159—2002[S]. 北京:中国标准出版社,2002.

[25] 国家烟草专卖局. 烟草及烟草制品 总氮的测定 连续流动法:YC/T 161—2002[S]. 北京:中国标准出版社,2002.

[26] 国家烟草专卖局. 烟草及烟草制品 总植物碱的测定 连续流动法:YC/T 160—2002[S]. 北京:中国标准出版社,2002.

[27] Li X P, Zhao X Q, He X, et al. Haplotype analysis of the genes encoding glutamine synthetase plastic isoforms and their association with nitrogen-use and yield-related traits in bread wheat[J]. *New Phytologist*, 2011, 189(2):449-458.

[28] 魏星,武云杰,阚洪赢,等. 不同烤烟品种烟叶衰老特性与内源激素的关系[J]. *烟草科技*, 2020, 53(2):1-7.

[29] 黄树永,陈良存. 烟草碳氮代谢研究进展[J]. *河南农业科学*, 2005, 34(4):8-11.

[30] 张森,许自成,李京京,等. 烟草碳氮代谢及其调控技术研究进展[J]. *生物技术进展*, 2016, 6(5):312-318.

[31] 刘心亚,陈小龙,冯亚克,等. 黔西南州烟区烤烟高可用性上部叶适宜采收期研究[J]. *作物杂志*, 2022(4):227-235.

[32] 陈吉珩,喻会平,郜军艺,等. 新引品种烟叶成熟过程碳氮代谢分析[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(10):3395-3401.

[33] 吴飞跃,申燕,杨振智,等. 不同施肥对烤烟中部叶碳氮代谢及基因表达的影响[J]. *中国农业科技导报*, 2018, 20(10):21-28.

[34] 吴薇,韩相龙,郑璞帆,等. 移栽方式与施氮量对烤烟生长发育和产质量的影响[J]. *植物营养与肥科学报*, 2018, 24(2):535-543.

[35] 席奇亮,杨铁钊,周方,等. 水肥一体化条件下烤烟氮素营养高效利用研究[J]. *中国烟草学报*, 2018, 24(2):74-83.

[36] 徐茜,吴平,高文霞,等. KCl 对烤烟光合作用、碳氮代谢主要酶活性的影响[J]. *热带作物学报*, 2014, 35(12):2431-2436.

拟高温胁迫时的生理响应机制,研究认为花粉活力、萌发率等与胁迫温度的高低及持续时间长短相关^[6]。高温可破坏花药细胞膜生理功能,进而影响花粉活力和萌发率^[7]。然而,关于水稻在开花前短时间内对极端自然高温的生理响应机制鲜有报道,为此,本研究分析了极端自然高温对水稻开花前18、4、2 h及开花时(0 h)花药的生理生化指标、抗氧化酶活性、防御相关酶活性等理化特性的影响,旨在探明水稻花器官对极端自然高温的适应机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料与样品的采集

试验材料为野生型水稻中花11,采用常规水肥管理,种植于江西农业大学科技园。通过定株定时调查,本试验条件下稻穗抽出1 d后才开始开花,颖花开花高峰时段约为11:00—11:15。自然高温材料于2022年5月10日播种,在7月26—28日进行取样;自然适温材料于7月12日播种,在9月13—15日取样。在水稻同一开花时期,距离开花前18 h(记为-18 h)、开花前4 h(记为-4 h)、开花前2 h(记为-2 h)和开花时刻(记为0 h)分别选取成熟颖花,立即放入液氮中速冻,随后进一步剥取花药,样品于-80℃冰箱保存备用^[8]。

1.2 测定项目和方法

1.2.1 结实率的测定 随机选取10个主穗,计算其总粒数和实粒数。结实率计算公式如下:水稻结实率=实粒数/总粒数×100%。

1.2.2 防御酶活性测定 粗酶液的提取:取0.5 g花药,加入相对应的提取缓冲液[含7 mmol/L 巯基乙醇、1%聚乙烯吡咯烷酮(PVP)]5 mL,加入少量石英砂,在冰浴研钵中研磨至匀浆,将研磨液在4℃条件下以12 000 r/min离心10 min,取上清液,即为粗酶提取液。其中,苯丙氨酸解氨酶(PAL)的提取

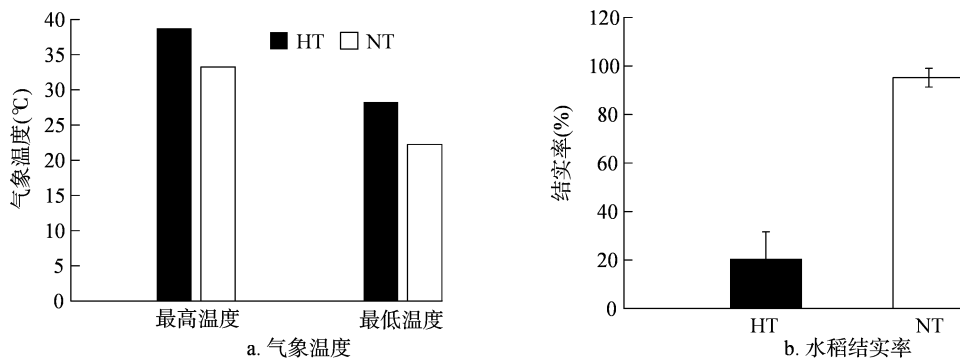
缓冲液为硼酸缓冲液(pH值为8.8),过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、脂氧合酶(LOX)、谷胱甘肽还原酶(GR)的提取缓冲液用磷酸缓冲液(pH值为7.8),多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)的提取缓冲液用磷酸缓冲液(pH值为6.0),丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、抗坏血酸(AsA)、可溶性糖、还原型谷胱甘肽(GSH)、过氧化氢(H₂O₂)的提取缓冲液用预冷的1%三氯乙酸(TCA)溶液。

1.2.3 酶活性等生理指标的测定 SOD、POD、CAT、PPO、APX、PAL、LOX、GR活性的测定,分别采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化还原法、愈创木酚显色法、紫外吸收法、邻苯二酚氧化法、AsA氧化法、苯丙氨酸脱氨法、亚油酸钠氧化法、氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原法。操作方法参考《植物生理实验指导》^[9]。MDA、H₂O₂、Pro、GSH、ASA含量的测定,分别使用硫代巴比妥酸法、碘化钾(KI)法^[10]、磺基水杨酸提取法、DTNB测定法^[11]、二联吡啶法^[12]。

2 结果与分析

2.1 自然高温对结实率的影响

2022年极端高温事件自6月13日开始持续至8月15日,共计64 d,为1961年以来持续时间最长的高温过程。本试验统计了采样时间前后共5 d的气象温度,分别选取7月24—28日、9月12—16日作为极端自然高温材料、自然适温材料的平均气象温度观测期。由图1-a可知,自然高温条件下的最高平均气温达到38.6℃,最低平均气温为28.4℃;自然适温条件下最高平均气温为33.4℃,最低平均气温为22.2℃。由图1-b可知,自然高温条件下水稻结实率为20.49%,而自然适温条件下的结实率为95.17%。这表明自然高温对水稻颖花的结实率有明显的负面影响。

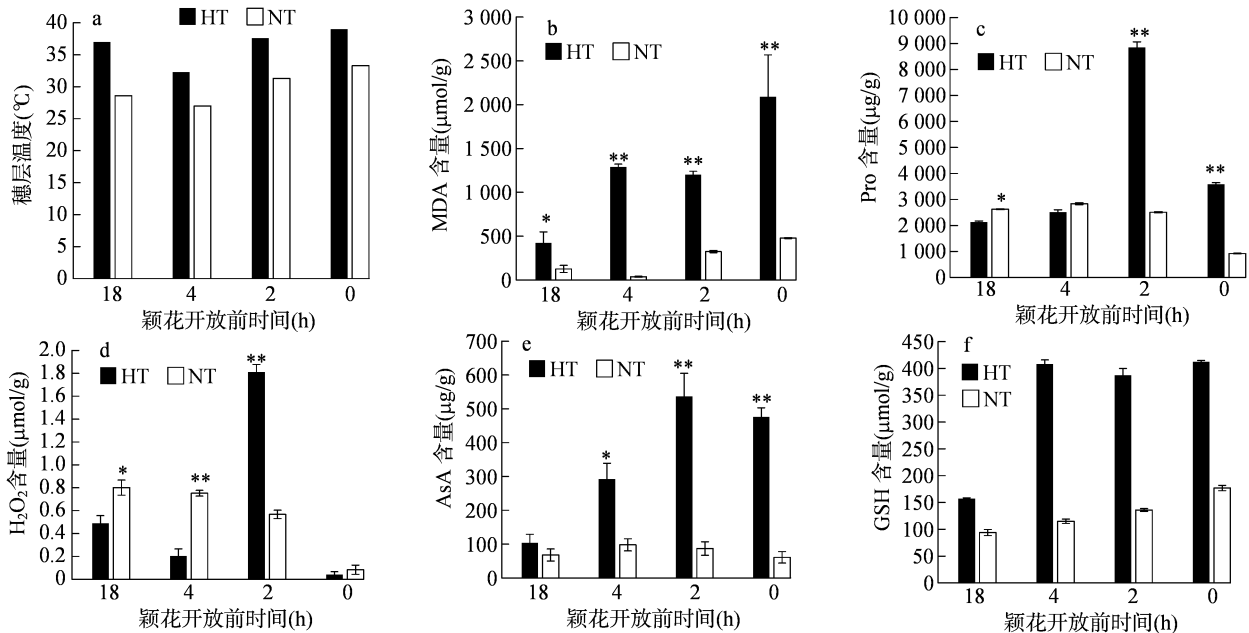


HT—自然高温; NT—自然适温。下同
图1 自然高温和自然适温下的气象温度、水稻结实率

2.2 自然高温对花药 MDA 及抗性相关物质的影响

图 2 - a 为试验材料取样时间对应的平均穗层温度,其中自然高温条件下花药取样温度均高于 32.3 ℃,且除开花前 4 h 外,其余取样时间点均高于 37.0 ℃;自然适温条件下花药仅在颖花开放时刻高于 33.0 ℃。由图 2 - b 可知,自然高温条件下的 MDA 含量在临近开花前的 18、4、2 h 和开花时刻分别较自然适温提高 2.35、33.62、2.71、3.37 倍,其中开花前 4 h 的含量差异最大,其次是开花时刻。由图 2 - c 可知,自然适温条件下的 Pro 含量在开花前 18、4 h 的含量略高于自然高温,分别较自然高温提高 0.23、0.13 倍;但自然高温条件下的 Pro 含量在开花前 2 h 和开花时刻分别较自然适温增加

2.53、2.89 倍。由图 2 - d 可知,自然适温条件下 H_2O_2 含量随着开花时刻的临近而逐渐降低,同时 H_2O_2 含量在开花前 18、4 h 分别较自然高温提高 0.63、2.70 倍,差异显著;自然高温条件下的 H_2O_2 含量在开花前 2 h 较自然适温提高 2.19 倍,差异显著。由图 2 - e 可知,自然高温条件下 AsA 含量随开花时刻的临近逐渐上升,且在 4 个时间点的含量分别较自然适温提高 0.53、1.98、5.17、6.80 倍。其中在开花时刻的差异最大,其次开花前 2 h。由图 2 - f 可知,自然适温条件下 GSH 含量随开花时刻的临近变化不明显,自然高温条件下 GSH 含量在 4 个时间点分别较自然适温提高 0.67、2.55、1.85、1.33 倍,其中在开花前 4 h 的差异最大,其次是开花前 2 h。



*、** 分别表示在 0.05、0.01 水平上存在显著、极显著差异;图 3、图 4 同

图 2 自然高温胁迫与自然适温下穗层温度以及丙二醛、脯氨酸、过氧化氢、抗坏血酸、谷胱甘肽含量的变化

2.3 自然高温对花药抗氧化酶 SOD、CAT、APX、GR 的影响

由图 3 - a 可知,在自然高温条件下 4 个时间点的 SOD 活性均显著高于自然适温,分别较后者提高 0.53、1.81、1.80、2.34 倍,其中开花时刻的差异最显著。由图 3 - b 可知,自然高温和自然适温条件下的 CAT 活性在开花前 4 h 至开花前 2 h 逐渐增加,但在开花时刻降低。其中,自然高温条件下开花时刻的 CAT 活性较自然低温提高 1.33 倍,两者差异显著。由图 3 - c 可知,自然高温条件下的 APX 活性在开花前 2 h 达到峰值,且其活性较自然适温提

高 1.52 倍。由图 3 - d 可知,自然高温条件下的 GR 活性在开花前 18、4、2 h 及开花时刻分别较自然适温提高 0.20、1.13、2.50、1.23 倍,其中在开花前 2 h 的差异最大,其次是开花时刻。

2.4 自然高温对花药 PPO、POD、PAL、LOX 活性的影响

由图 4 - a 可知,自然高温条件下的 PPO 活性在开花前 2 h 和开花时刻分别较自然适温提高 2.02、1.01 倍,其中开花前 2 h 差异最显著,其次是开花时刻。由图 4 - b 可知,自然适温条件下临近开花前 18、4 h 的 POD 活性较自然高温条件下提高

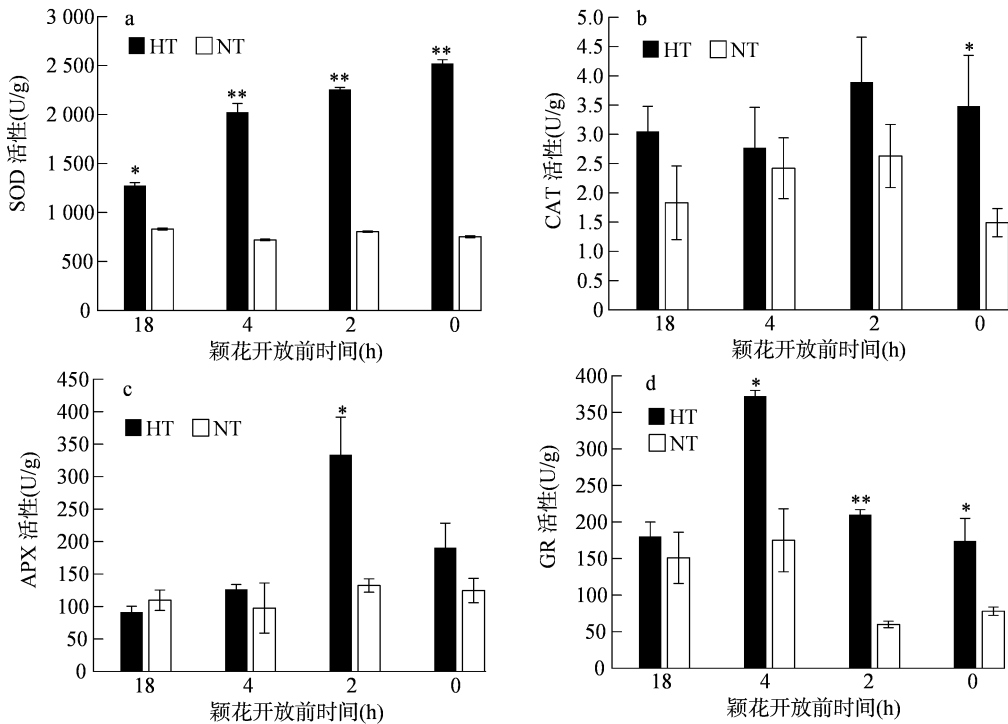


图3 自然高温胁迫与自然适温下超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶活性的变化

5.11、0.35 倍。而在开花时刻自然高温条件下的 POD 活性较自然适温提高 14.10 倍,差异最为显著。同时自然适温条件下的 POD 活性在开花前 2 h 即降至较低水平,而在开花时刻二者间的活性均降

低且差异不显著。由图 4 - c 可知,自然高温条件下的 PAL 活性在开花前 18、4、2 h 及开花时刻分别是自然适温条件下的 1.29、1.12、2.65、2.89 倍。虽然其在开花时刻有所下降,但仍极显著高于自然适

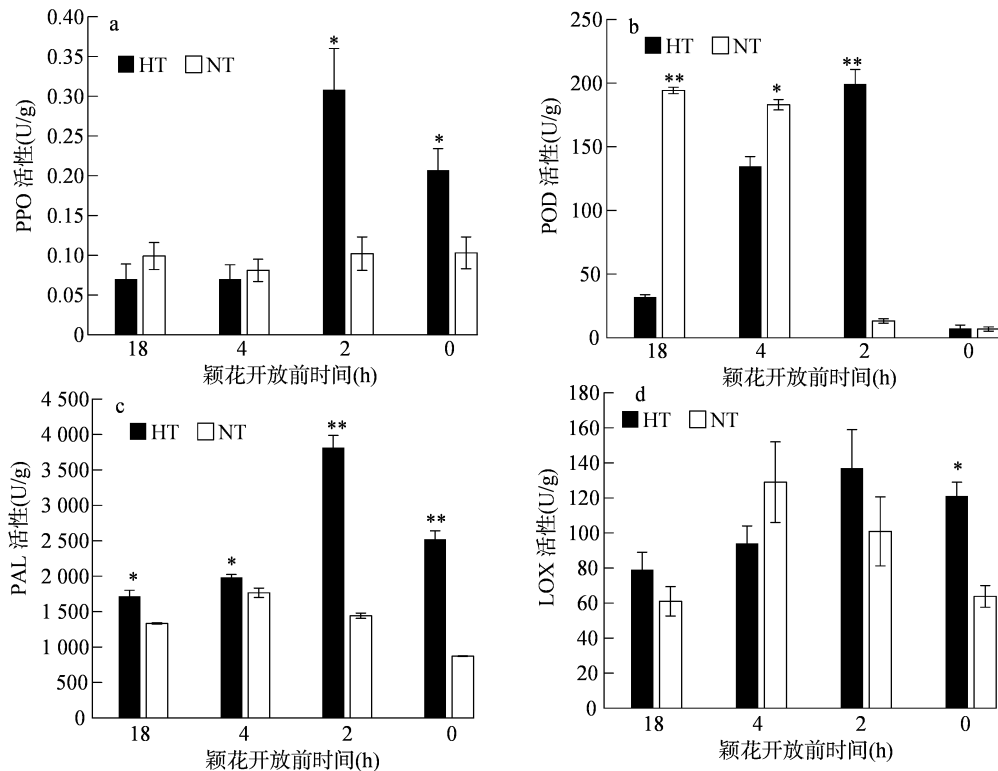


图4 自然高温胁迫与自然适温下多酚氧化酶、过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶、脂氧合酶活性的变化

温,且自然适温条件下的 PAL 活性变化较小。由图 4-d 可知,自然高温条件下,LOX 活性在开花前 2 h 达到最高值,并在开花时刻有小幅下降且较自然适温条件下提高 1.90 倍。自然适温条件下,LOX 活性在开花前 4 h 达最大值,其他时间点较为稳定。

2.5 聚类分析

将颖花 13 类生理指标和颖花开放时间数据进行聚类分析,使同一类别内的对象相似,而不同类别间的对象存在差异。结果(图 5)表明,13 类生理指标可聚集为 2 类:第 1 类包括 POD 和 H_2O_2 ;第 2 类可分为 GR 和其他指标(LOX、CAT、AsA、PAL、Pro、APX、PPO、GSH、SOD、MDA)。8 个开花前时间点可聚集为 2 类,第 1 类包括自然适温下开花前 18、4、2 h 及自然高温下开花前 2 h;第 2 类包括自然高温下开花前 18、4 h 和开花时刻以及自然适温下开花时刻。

3 讨论与结论

3.1 讨论

MDA 是膜脂过氧化作用的产物,其含量升高会破坏细胞膜的稳定性,表明细胞膜受到严重氧化损伤,导致膜结构破坏和功能失调^[13]。Pro 作为植物体内的渗透调节剂,其增加有助于植物在自然高温条件下保持细胞内的水分平衡和减少氧化损伤^[14-15]。本研究结果表明,自然高温使水稻花药中 MDA 含量在开花前 4 h 就开始大幅增加,而 Pro 含量则是在开花前 2 h 大幅增加,说明开花前 2 h 花药中 MDA 积累造成了伤害,这与汤日圣等的研究结果^[13]一致。MDA 含量在开花时刻达到极值,但相应的 Pro 含量却下降,说明开花时刻花药细胞膜受损加剧从而影响其生理生化机能。与之对应的,自然适温条件下 Pro 含量在开花前 18 h 明显高于自然高温条件,说明自然适温条件下 Pro 含量足以应对开花时刻花药的氧化损伤。

SOD 是抗氧化酶系统的第一道防线,负责清除超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$),其活性变化意味着植物受胁迫程度的变化^[5]。本试验结果表明,在自然高温条件下,随着开花时刻的临近,花药中 SOD、CAT、APX 活性逐渐增加,活性氧清除能力较高;当到达开花时刻时,除 SOD 外的酶活性均下降但仍保持较高水平,证明仍有一定的活性氧清除能力。同时,LOX、PPO、PAL 活性的变化趋势也与 CAT、APX 活性保持高度相似。自然适温条件下,这 8 种酶活

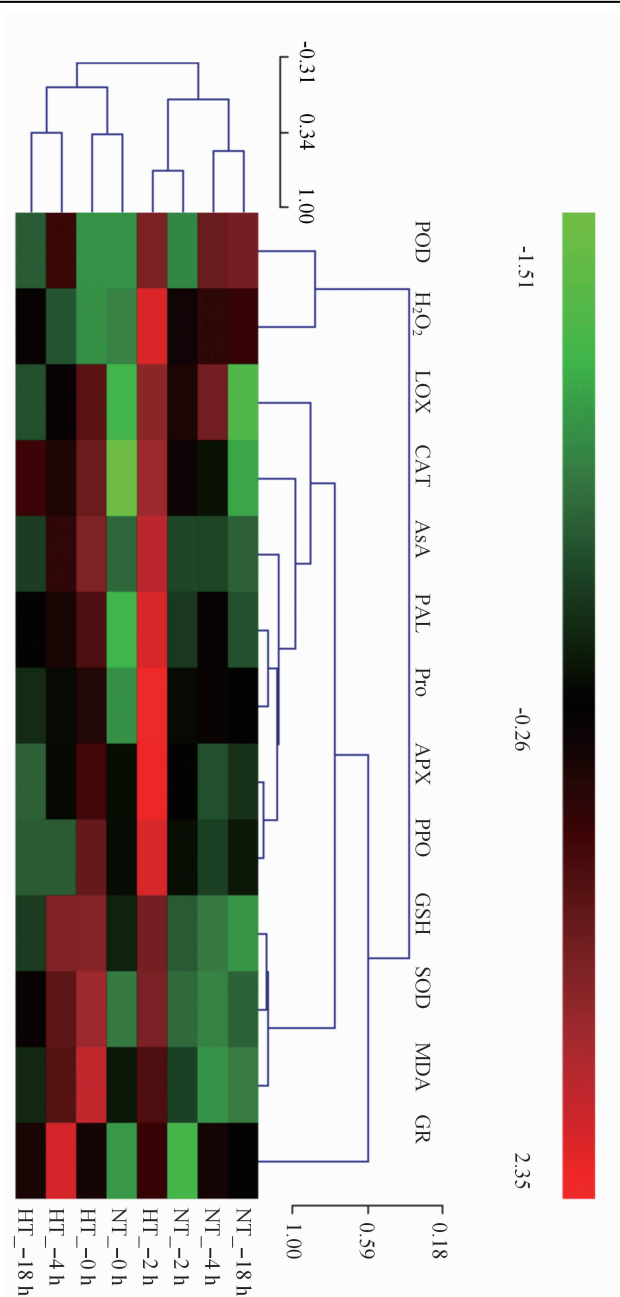


图5 自然高温与自然适温下花药 13 类生理指标聚类分析结果

性的变化除 LOX 在开花前 4 h 含量较高,GR、POD 活性在开花前 18 h 和开花前 4 h 含量较高外,其他酶活性在颖花开放前波动不大。LOX 参与脂质过氧化和茉莉酸的生成,后者在植物胁迫响应中起信号传导作用,说明花药在开花前 4 h 就会对即将到来的高温作出反应。自然高温条件下,PPO、PAL 是酚类化合物合成的关键酶,参与植物酚类化合物的氧化及次生代谢和防御反应。PPO、PAL 活性在开花前 2 h 与自然适温相比显著增加,表明花药在自然高温胁迫下通过增强次生代谢和酚类化合物的合成来提高抗胁迫能力。

AsA、GSH 则是植物体内有效的内源抗氧化剂,对膜系统具有保护功能,而 GR 活性的高低又间接反映出细胞内酶活性的状态^[16],对于维持细胞内较高的还原势有很大意义。在本试验中,与自然适温条件相比,自然高温条件下的花药 GR 活性也在开花前 4 h 增加到极值,AsA、GSH 含量在开花前 4 h 开始增加并维持在一个较高水平,说明高温胁迫破坏了花药细胞内的还原势,为了应对胁迫,花药在开花时刻保持较高水平的 GSH 含量^[17]。

POD 利用过氧化氢参与酚类化合物的聚合以增强细胞壁稳定性。 H_2O_2 作为活性氧种类之一,在适量时可以作为信号分子参与植物应答,但过量则可能导致细胞损伤^[18]。本试验中,自然适温条件下 H_2O_2 含量在开花前 18、4 h 显著高于自然高温条件,表明此时适量的 H_2O_2 促进花药细胞的生理响应。自然高温条件下花药 POD 活性在开花前 2 h 显著高于自然适温,表明植物在高温胁迫下通过增强细胞壁的稳定性来抵御胁迫;同时在开花前 18、4 h,自然适温条件下的花药 POD 活性高于自然高温,这可能提高了自然适温条件下花粉的育性。

3.2 结论

综上所述,极端自然高温条件下水稻的结实率降低至 20.49%,远低于自然适温下的 95.17%。高温胁迫增加了花药中 MDA 含量,即使渗透调节物质 Pro 含量和抗氧化酶(SOD、CAT、APX)活性增加也难以抵消这种伤害,与次生代谢有关的 PPO、PAL 活性,以及起信号转导作用的 LOX 活性的增加,也给花药带来了较大的能量消耗以应对胁迫。同时高温胁迫下花药 GR 活性和 AsA、GSH 含量仍能保持较高水平,以清除自由基、维持还原势。自然适温条件下开花前较高水平的花药 POD 活性和 H_2O_2 含量可能促进了花粉育性。这为深入解析水稻花药在极端自然高温条件下的生理响应机制提供了理论基础。

参考文献:

- [1] 兰旭,顾正栋,丁艳菲,等. 花期高温胁迫对水稻颖花生理特性的影响[J]. 中国水稻科学,2016,30(6):637-646.
- [2] 陈建珍,闫浩亮,刘科,等. 大穗型水稻品种抽穗开花期遭遇高温后的结实表现[J]. 中国农业气象,2018,39(2):84-91.
- [3] 郭品心,曾文智,周宝津,等. 开花期高温胁迫对不同水稻品种花粉萌发和结实的影响[J]. 华南农业大学学报,2010,31(2):50-53.
- [4] 胡秋倩,闫娜,崔克辉. 水稻颖花育性的高温伤害机理及其栽培调控措施[J]. 植物生理学报,2020,56(6):1177-1190.
- [5] 张桂莲,张顺堂,肖浪涛,等. 花期高温胁迫对水稻花药生理特性及花粉性状的影响[J]. 作物学报,2013,39(1):177-183.
- [6] 周建霞,张玉屏,朱德峰,等. 高温下水稻开花习性对受精率的影响[J]. 中国水稻科学,2014,28(3):297-303.
- [7] 李飞,卓壮,Udawela K S,等. 水稻高温热害发生机理与耐高温遗传基础研究[J]. 植物遗传资源学报,2013,14(1):97-103.
- [8] 张芳,陆涵,何永明. 水稻雄蕊发育晚期赤霉素生物合成特性分析[J]. 江西农业大学学报,2022,44(1):21-28.
- [9] 高俊山,蔡永萍. 植物生理学实验指导[M]. 2版. 北京:中国农业大学出版社,2018:93-115.
- [10] Wang M Y, Qiu S Y, Yang H Y, et al. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in water with peroxidase-catalyzed oxidation of potassium iodide and its applications to hydroxylamine-involved Fenton and Fenton-like systems[J]. Chemosphere,2021,270:129448.
- [11] Rahman I, Kode A, Biswas S K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method[J]. Nature Protocols,2006,1:3159-3165.
- [12] Hewitt E J, Dickes G J. Spectrophotometric measurements on ascorbic acid and their use for the estimation of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plant tissues[J]. The Biochemical Journal, 1961,78(2):384-391.
- [13] 汤日圣,郑建初,陈留根,等. 高温对杂交水稻籽粒灌浆和剑叶某些生理特性的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报,2005,31(6):657-662.
- [14] 刘书仁,郭世荣,孙锦,等. 脯氨酸对高温胁迫下黄瓜幼苗活性氧代谢和渗透物质含量的影响[J]. 西北农业学报,2010,19(4):127-131.
- [15] 黄友明,曾晓春. 茉莉酸甲酯对高温下抽穗扬花期水稻叶片生理特性的影响[J]. 江苏农业科学,2023,51(2):66-71.
- [16] 高伟,张明才,段留生. 谷胱甘肽及其类似物对小麦耐热性的影响[J]. 科技导报,2012,30(12):32-36.
- [17] 郭丽红,陈善娜,龚明. 氯化钙浸种对玉米幼苗抗逆性的影响及其与谷胱甘肽还原酶的关系[J]. 云南植物研究,2004,26(1):111-117.
- [18] 杨再强,朱静,张波,等. 高温处理对结果期草莓叶片衰老特征的影响[J]. 中国农业气象,2012,33(4):512-518.