

干旱条件下水稻幼苗的保护酶活性 及其与耐旱性关系

卢少云¹ 郭振飞¹ 彭新湘¹ 李宝盛¹ 李明启¹ 黎用朝²

(1 华南农业大学生物技术学院, 广州 510642 2 湖南省水稻研究所)

摘要 对干旱条件下 3 种不同耐旱性的水稻幼苗相对含水量(RWC)、丙二醛含量及保护酶活性进行了比较研究。耐旱品种超氧化物歧化酶(SOD)活性在水分胁迫下降低幅度较小, 不耐旱品种酶活性降低幅度较大。在轻度水分胁迫下耐旱品种过氧化物酶(POD)活性提高, 不耐旱品种 POD 活性无变化, 3 个品种的过氧化氢酶(CAT)活性均提高, 耐旱性越强, 活性提高幅度越大。严重水分胁迫下 POD 和 CAT 活性均降低, 耐旱性越强, 活性降低幅度越小。

关键词 水稻; 耐旱性; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 过氧化氢酶

中图分类号 Q 945.17

近年来对植物活性氧代谢与抗逆性关系的研究证明, 逆境对植物伤害是由于自由基产生与清除平衡的破坏, 导致自由基积累, 造成对膜的伤害和生物大分子的破坏(陈少裕, 1989; 蒋明义等, 1996)。植物在干旱条件下耐旱强的品种比耐旱弱的品种往往具有较高的保护酶活性和抗氧化剂含量(Dhindsa et al, 1981; Larson, 1988; Smirnoff, 1993)。水稻栽培需要充足水分, 对水稻的耐旱机理研究甚少。蒋明义等(1991)研究过 PEG—6000 渗透胁迫对抗旱性不同品种水稻幼苗的膜脂过氧化及保护系统影响。本文以蛭石栽培水稻, 研究逐渐干旱条件下水稻幼苗的保护酶活性与耐旱性关系, 以探讨水稻的耐旱机理。

1 材料与方法

1.1 材料及培养

选择 3 个水稻(*Oryza sativa* L.)品种: 湘中粳 2 号(耐旱性较强, 简称 2 号)、湘早粳 12 号(耐旱性较弱, 简称 12 号)和青珍 8 号(耐旱性未知, 简称 8 号), 2 号、12 号由湖南省水稻研究所提供。8 号由广东省农科院水稻研究所提供。萌发后的种子播种于盛蛭石(干重 50 g)、底部穿孔的塑料盆(d 14 cm), 每盆同时种 3 个品种, 共 100 粒。培养于人工气候箱, 光照强度 $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, 温度 25°C , 湿度 $70\% \sim 80\%$, 每天照光 16 h。幼苗 10 d 龄时以木村营养液将蛭石饱和, 以后停止供水。测定停止供水后 0 ~ 15 d 的各项指标, 实验重复 3 次。

1.2 酶液的提取

0.5 g 水稻幼苗地上部, 加入 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8), 研磨, 4°C 下 15 000 r/min 离心 15 min。上清液定容至 5 mL, 用于以下测定。

1996—06—28 收稿 1997—06—25 收修改稿 卢少云, 女, 30 岁, 讲师, 学士

* 广东省自然科学基金和农业部“八五”应用基础研究项目资助课题

1.3 丙二醛(MDA)测定

按赵世杰等(1994)方法进行,用每克干重作分母计算 MDA 含量。

1.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定

按 Giannopolitis 等(1977)方法进行,用每克干重作分母计算酶活性。

1.5 过氧化物酶(POD)活性测定

按 Kraus 等(1994)方法进行, H_2O_2 8.5 mmol/L, 愈创木酚 16 mmol/L, 用每克干重作分母计算酶活性。

1.6 过氧化氢酶(CAT)活性测定

按 Kraus 等(1994)方法进行, H_2O_2 33 mmol/L, 用每克干重作分母计算酶活性。

2 实验结果

2.1 干旱条件下不同品种水稻幼苗的耐旱性

相对含水量(RWC)和(MDA)含量常用以鉴别植物耐旱性大小,前者反映植物失水程度,而后者是膜脂过氧化产物,可反映植物受伤害程度。图 1 表明,停止供水 6 d 内试验的 3 个品种水稻幼苗 RWC 均维持在正常水平,9 d 时 2 号(耐旱性强)和 8 号 RWC 仍维持正常水平,而耐旱性较弱的 12 号品种 RWC 有轻微降低,为 88%。12 d 以后 3 品种 RWC 均降低,但 2 号较高,12 号最低,8 号介于二者之间。

MDA 含量表现出类似变化,在停止供水 6~12 d,2 号的 MDA 含量仅提高了 22.6%,8 号提高了 43.6%,12 号则提高了 77.2%;15 d 时 2 号和 8 号的 MDA 含量提高,接近 12 号水平(图 2)。在供水正常条件下生长的水稻幼苗 RWC 和 MDA 含量变化较小(图 1, 2)。结果说明,2 号耐旱性最强,干旱条件下仍保持较高的 RWC,膜脂过氧化程度亦较轻;12 号耐旱性较差,干旱条件下 RWC 降低较多,膜脂过氧化程度严重。8 号居二者之间,也较耐旱。

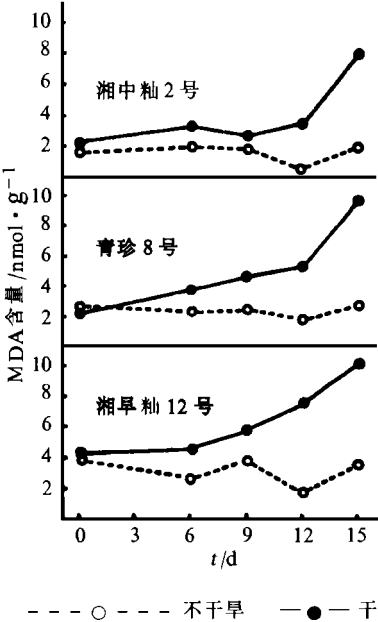
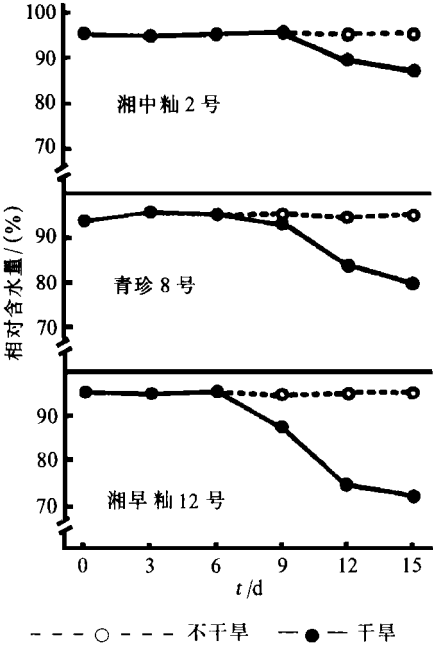


图 1 停止供水后水稻幼苗的相对含水量变化

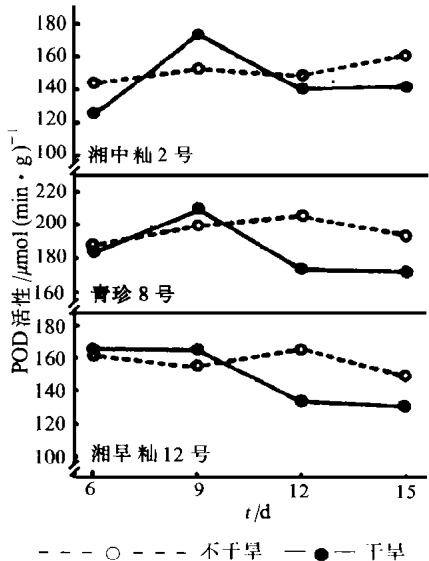
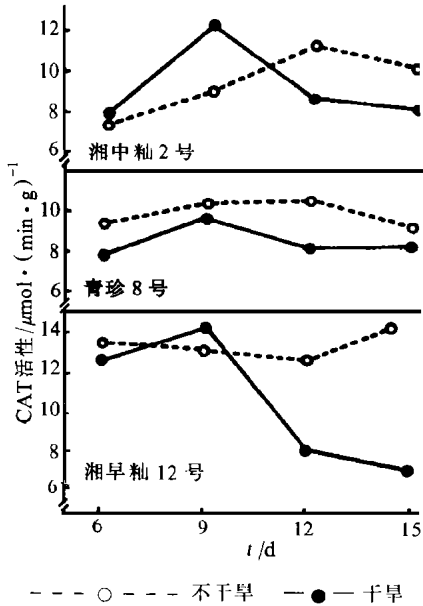
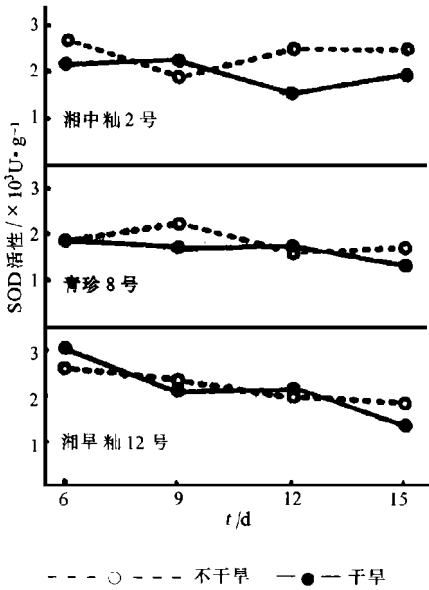
图 2 停止供水后水稻幼苗的丙二醛含量变化

1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

2.2 干旱条件下水稻幼苗的保护酶活性变化

2.2.1 SOD 活性 停止供水后 9 d, 水稻幼苗仅受到轻度水分胁迫, 此时 3 个品种的 SOD 活性表现出不同变化: 耐旱性弱的 12 号 SOD 活性比 6 d 时降低了 29.9%, 而耐旱性较强的 2 号和 8 号变化不大。以后几天随着水分胁迫加深, 3 个品种的 SOD 活性均降低, 第 15 d 时 2 号、8 号和 12 号分别比 6 d 时降低 8.2%、23.4% 和 52.7%, 耐旱性越强, SOD 活性降低幅度越大(图 3)。而且, 图 3 还表明耐旱性强的 2 号 SOD 活性在 15 d 时反而比 12 d 时略有回升。蒋明义等(1991)也观察到耐旱性强品种水稻在严重水分胁迫时 SOD 活性回升的现象。3 个品种在不干旱条件下 SOD 活性随苗龄变化较小, 维持较稳定水平。

2.2.2 CAT 活性 在停止供水 6~12 d 期间, 不耐旱的 12 号 CAT 活性一直比其它 2 个耐旱品种的高, 但在 15 d 时则降至比 2 号和 8 号低。停止供水后 9 d, 轻度的水分胁迫引起了 3 个品种 CAT 活性均比 6 d 时提高; 2 号、8 号和 12 号分别提高了 54.9%、23.1% 和 13.3%。以后随着水分胁迫日益严重, CAT 活性降低, 但 15 d 时, 2 号和 8 号 CAT 活性仍比 6 d 时高, 而 12 号仅为 6 d 时的 58.6%(图 4)。在不干旱条件下 2 号 CAT 活性随苗龄逐渐增大, 8 号和 12 号 CAT 活性随苗龄变化较小。



2.2.3 POD 活性 停止供水后 9 d, 耐旱性较强的 2 号和 8 号 POD 活性分别比 6 d 时提高 39.4% 和 14.9%, 而耐旱性弱的 12 号在 9 d 时未见提高。以后几天随着水分胁迫加深, POD 活性均降低。在此期间 3 个品种在不干旱条件下 POD 活性维持在较稳定水平。

3 讨论

将自由基伤害理论应用于植物抗旱性机理研究, 多以小麦、玉米等旱地作物为对象(王宝山等, 1987; 王振镒等, 1989; Malan et al, 1990; Pastori et al, 1992; Del Longo et al, 1993; Baisak et al, 1994), 对水稻的研究很少。蒋明义等(1991)比较了两个不同抗旱性品种的水稻对 PEG-6000 渗透胁迫下的 SOD、POD、CAT 活性及抗坏血酸与胡萝卜素含量与抗性关系。在 -0.8 MPa 条件下, 两个品种 SOD 和 CAT 活性均降低, 而不抗旱品种下降幅度较大; 不抗旱品种在 -0.8 MPa 处理后 POD 活性不断降低, 而抗旱品种在处理 24 h 后活性上升, 以后又降低。而且 SOD、POD、CAT 活性总是抗旱品种高于不抗旱品种。本研究以耐旱性强的湘中粳 2 号、青珍 8 号和耐旱性弱的湘早粳 12 号为材料, 观察到在停止供水 6 d 内幼苗生长正常, 未受干旱伤害。停止供水 9 d 时 3 个品种的 RWC 和 MDA 含量开始出现差异, 12 d 时差异更大(图 1, 2)。结果表明, 耐旱性强的 2 号较少受到伤害, 不耐旱的 12 号伤害最大, 8 号介于两者之间, 也较耐旱。停止供水后 9 d, 植物受到轻度水分胁迫, 不同品种的保护酶活性变化趋势不同: 耐旱性较强的 2 号和 8 号 SOD 活性变化不大, 不耐旱的 12 号 SOD 活性降低了 29.9%(图 3); 3 个品种的 CAT 活性在开始时均提高, 但耐旱性越强的品种, 活性提高幅度越大(图 4); 耐旱性较强的 2 号和 8 号 POD 活性分别比 6 d 时提高 39.4% 和 14.9%, 不耐旱的 12 号品种的 POD 活性变化不大(图 5)。以后几天, 3 个品种的 SOD、CAT、和 POD 活性均降低, 但耐旱品种降低幅度较小(图 3~5)。耐旱品种 2 号 SOD 活性在 15 d 时反而回升(图 3), 与蒋明义等(1991)对水稻和王振镒等(1989)对玉米的研究结果一致。

关于水分胁迫对 SOD、CAT 和 POD 活性影响, 不同作者在不同植物上的研究结果颇为不同。Dhindsa 等(1981)发现耐旱品种的苔藓在缓慢干旱和快速干旱过程中 SOD 和 CAT 活性上升, 而不耐旱品种活性下降。王振镒等(1989)对玉米的研究表明, 随土壤水势下降, 抗旱性玉米 SOD 活性明显提高, 而不抗旱玉米变化不大; 两类品种玉米的 POD 活性均上升, 但不抗旱品种上升幅度小。王宝山等(1987)发现小麦无论在轻度和严重干旱胁迫下, POD 和 CAT 活性均呈上升趋势, 抗旱品种上升幅度大。但 Baisak 等(1994)观察到 -0.5 ~ -1.5 MPa 的渗透胁迫引起了小麦离体叶片 CAT 活性降低, SOD 活性提高, 而且证明 SOD 是由于酶蛋白的重新合成。作者在水稻上的工作与蒋明义等(1991)的结果较类似, 看来水分胁迫下保护酶活性的变化与研究材料关系很大。本研究结果表明, 耐旱品种水稻在干旱初期或轻度水分胁迫下具有更大幅度提高保护酶活性的能力, 不耐旱品种酶活性提高较少或降低, 严重水分胁迫下两类品种保护酶活性均降低, 耐旱性越差品种, 降低幅度更大。

参 考 文 献

- 王宝山, 赵思齐. 1987. 干旱对小麦幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的影响. 山东师范大学学报(自然科学版), 2(1): 29~39
- 王振镒, 郭蔼光, 罗淑平. 1989. 水分胁迫对玉米 SOD 和 POD 活力及同工酶的影响. 西北农业大学学报, 17(1): 45~49
- 陈少裕. 1989. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫. 植物学报, 6(4): 211~217
- 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 1994. 植物组织中丙二醛测定方法的改进. 植物生理学通讯, 30(3): 207

- 蒋明义, 荆家海, 王韶唐. 1991. 渗透胁迫对水稻幼苗膜脂过氧化及体内保护系统的影响. 植物生理学报, 17(1): 80~84
- 蒋明义, 郭绍川. 1996. 水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用. 植物生理学通讯, 32(2): 144~150
- Baisak R, Rana D, Acharya P B B, et al. 1994. Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. Plant Cell Physiol, 35(3): 489~495
- Del Longo O T, Gonzalez C A, Pastori G M, et al. 1993. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. Plant Cell Physiol, 34(7): 1023~1028
- Dhindsa R S, Matowe W. 1981. Drought tolerance in two mosses; correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. J Exp Bot, 32: 79~91
- Giannopoulou C N, Ries S K. 1977. Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol, 59: 309~314
- Kraus T E, Fletcher R A. 1994. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury. Is detoxification of active oxygen involved? Plant Cell Physiol, 35(1): 45~52
- Larson R A. 1988. The antioxidants in higher plants. Phytochem, 27: 969~978
- Malan C, Greyling M, Gressel J. 1990. Correlation between Cu—Zn superoxide dismutase and glutathione reductase, and environmental and xenobiotic stress tolerance in maize inbreds. Plant Sci, 69: 157~166
- Pastori G M, Trippi V S. 1992. Oxidative stress induce high rate of glutathione reductase synthesis in a drought—resistant maize strain. Plant Cell Physiol, 33: 957~961
- Smirnoff N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytol, 125: 27~58

THE ACTIVITIES OF PROTECTIVE ENZYMES OF RICE SEEDLINGS SUBJECTED TO DROUGHT AND THEIR RELATIONSHIP TO DROUGHT TOLERANCE

Lu Shaoyun¹ Guo Zhenfei¹ Peng Xinxiang¹ Li Baosheng¹ Li Mingqi¹ Li Yongchao²

(¹ College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642;

² Hunan Institute of Rice Research,)

Abstract

The alterations in relative water contents(RWC) , malondialdehyde(MDA) contents and activities of protective enzymes were comparatively investigated among three different drought tolerant rice cultivars. The results showed that superoxide dismutase activities declined slightly in two drought—tolerant cultivars, but decreased significantly in the drought—sensitive cultivar under drought conditions. Peroxidase activities increased in drought—tolerant cultivars, but altered little in drought—sensitive cultivar under slight drought. In contrast, increases of catalase activities of three different cultivars under were observed slight drought, with greater increases in two drought—tolerant cultivars. Under severe drought conditions, activities of peroxidase and catalase in three cultivars all declined, but more slowly in tolerant cultivars.

Key words rice(*Oryza sativa* L.); drought tolerance; superoxide dismutase; peroxidase; catalase