

聚乙二醇模拟干旱对耐低钾水稻幼苗丙二醛、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶活性的影响

戴高兴^{1,2} 彭克勤^{1,*} 萧浪涛¹ 邓国富²

(¹ 湖南农业大学 植物激素与生长发育重点实验室, 湖南 长沙 410128; E-mail: gxdai0402@hotmail.com; ² 广西农业科学院 水稻研究所, 广西南宁 530007; * 通讯联系人)

Effect of Drought Stress Simulated by PEG on Malonaldehyde, Proline Contents and Superoxide Dismutase Activity in Low Potassium Tolerant Rice Seedlings

DAI Gao xing^{1,2}, PENG Ke qin^{1,*}, XIAO Lang tao¹, DENG Guo fu²

(¹ Hunan Provincial Key Laboratory of Phytohormones and Growth Development, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; E-mail: gxdai0402@hotmail.com; ² Rice Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China;

* Corresponding authors)

Abstract: Malonaldehyde (MDA) content, proline content, superoxide dismutase (SOD) activity and relative permeability of plasma membrane were measured in seedlings of rice variety Guibao 8 and its low potassium tolerant mutant progeny under 20% PEG 6000 simulated drought stress. MDA content, proline content and relative permeability of plasma membrane in rice seedling increased rapidly after drought stress, and MDA, proline levels were much higher in Guibao 8 than those in its mutants. SOD activity in rice seedling firstly increased and then rapidly dropped after drought stress and it was always higher in the mutant progeny than that in Guibao 8. These results suggested that the drought resistance of the mutant progeny was stronger than that of Guibao 8. Correlation analysis showed that there were significantly positive correlations between proline content, and MDA content, and relative permeability of plasma membrane in rice, however, proline content was negatively related to SOD activity to a certain extent.

Key words: rice; drought stress; low potassium tolerance; drought resistance; malonaldehyde; superoxide dismutase; proline; membrane permeability

摘要: 以早稻品种瑰宝 8 号及其耐低钾变异后代为材料, 用 20% PEG6000 模拟干旱胁迫, 测定丙二醛 (MDA) 含量、脯氨酸 (Pro) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性及质膜相对透性。模拟干旱胁迫后, MDA、Pro 含量和质膜相对透性呈急剧上升的趋势, 瑰宝 8 号中的 MDA、Pro 含量显著高于它的变异后代; SOD 活性先迅速上升后急剧下降, 变异后代的 SOD 活性始终高于瑰宝 8 号。相关性分析表明, Pro 含量与 MDA 含量和质膜相对透性呈显著正相关, 而与 SOD 活性呈一定程度的负相关。

关键词: 水稻; 干旱胁迫; 耐低钾性; 抗旱性; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 脯氨酸; 质膜透性

中图分类号: Q945.78; S311; S511.01

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2006)05-0557-03

干旱是农业生产的巨大障碍, 对作物造成的减产超过其他自然逆境减产之和。大量研究表明, 干旱导致植物细胞膜脂过氧化^[1], 活性氧产生量增加, 膜脂过氧化终产物丙二醛 (MDA) 含量增多^[2], 质膜相对透性加大^[3]。为适应干旱胁迫, 植物体自身产生一系列反应。超氧化物歧化酶 (SOD) 作为一种清除活性氧的保护酶, 在干旱胁迫下, 其活性发生相应的变化。一般来说, SOD 活性与植物抗氧化能力呈正相关^[4]。抗旱性强的品种较抗旱性弱的品种能维持较高的 SOD 活性^[5]。干旱胁迫下植物体内积累脯氨酸 (Pro) 具有一定普遍性, Pro 可作为渗透调节物质及自由基清除剂而起保护作用从而增强作物的抗旱性^[6]。

钾作为作物生长发育所必需的营养元素之一, 与作物的抗旱性关系极为密切^[7]。钾离子是植物水分代谢系统中最主要的渗透物质, 对干旱条件下作物自身的水分代谢有直接的影响。它能促进植株对氮、磷的吸收和转运, 降低叶水势, 提高叶片持水能力。已有研究表明, 干旱胁迫下合理施用钾肥可改善作物体内的钾素营养状况, 提高水分利用效率, 增强抗逆性, 增加作物产量和改善作物品质^[8]。

耐低钾水稻是湖南农业大学植物激素与生长发育重点实验室利用现代分子生物学技术, 将空心莲子草总 DNA 导入早稻品种瑰宝 8 号后选育出来的变异后代, 它能在低钾环

境中吸收正常生长所需的钾素^[9], 改善水稻钾素营养, 目前已经繁殖到 D₄ 代, 性状已经稳定^[10]。本实验在不增施钾肥的情况下, 通过比较耐低钾水稻与其亲本瑰宝 8 号在干旱条件下的生理生化指标的变化, 找出耐低钾水稻是否具有较亲本明显的抗旱性及其可能原因, 从而为从种质资源方面探索水稻的抗旱性提供一定的理论依据和实践基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为早稻品种瑰宝 8 号及其导入空心莲子草总 DNA 选育而成的耐低钾水稻。

1.2 研究方法

1.2.1 材料培养与处理

用 0.1% 氯化汞消毒种子 10 min, 25℃ 下浸种 1 d, 28℃ 下催芽 1 d 后播于上覆有尼龙网框的搪瓷盘上, 置于人工培养室中, 昼夜温度控制为 28℃ 和 20℃, 用去离子水培养 3 d 后再用吉田昌一营养液培养至 3 叶 1 心期, 然后移栽至外刷

收稿日期: 2006-02-12; 修改稿收到日期: 2006-05-26。

基金项目: 湖南省计委资助项目 [湘计科 (1994) (352-6)]。

第一作者简介: 戴高兴 (1975-), 男, 硕士, 助理研究员。

有黑色油漆、容积为4 L并装满营养液的聚乙烯桶中,桶上用带孔硬质塑料板和海绵固定植株,每桶3莖,每莖3株。用加入聚乙二醇(PEG6000)的吉田昌一营养液模拟干旱处理,PEG6000浓度设为20%,与之相对应的水势约为-0.75 MPa。pH值调到5.5,每天充分供氧,隔天调节pH值并补充去离子水,每7 d换1次营养液。于胁迫的0、2、4、6、8 d时以顶部向下第2完全展开叶为材料进行各种测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 MDA含量的测定

参照李合生的方法,用双组分分光光度法测定^[11]。

1.3.2 Pro含量的测定

采用茚三酮比色法^[11]。

1.3.3 SOD活性的测定

采用氮蓝四唑(NBT)光还原比色法^[12],以每单位时间内光化还原50% NBT为1个酶活性单位。

1.3.4 质膜相对透性的测定

参照张志良的方法^[12]。

1.4 数据统计分析

实验设3个重复,采用SPSS12.0进行数据处理及分析。

2 结果与分析

2.1 PEG6000模拟干旱对水稻幼苗MDA含量的影响

如图1-A所示,20%PEG6000处理的瑰宝8号和耐低钾

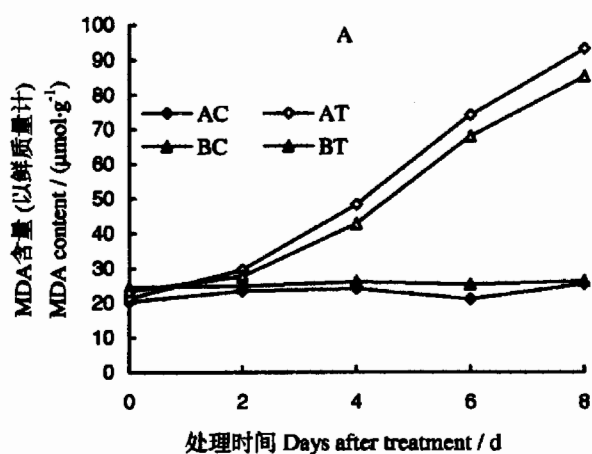


图1 PEG6000模拟干旱对水稻幼苗MDA和Pro含量的影响

Fig. 1. Effect of drought stress simulated with PEG6000 on MDA and proline contents in rice seedling.

AC—瑰宝8号对照; AT—20%PEG6000处理的瑰宝8号; BC—变异后代对照; BT—20%PEG6000处理的变异后代。图2同。

AC, CK of Guibao 8; AT, Guibao 8 treated with 20% PEG6000; BC, CK of mutant progeny; BT, Mutant progeny treated with 20% PEG6000. The same as in Fig. 2.

变异后代的MDA含量变化剧烈,随着胁迫时间的延长而呈增长趋势。在胁迫2 d时,瑰宝8号与耐低钾变异后代的MDA含量(以鲜质量计)分别为29.6 μmol/g和27.8 μmol/g,且差异达到显著水平($P < 0.05$)。在处理过程中,正常供水材料的MDA含量基本保持稳定。

2.2 PEG6000模拟干旱对水稻幼苗Pro含量的影响

图1-B表明,随着胁迫时间的延长,20%PEG6000处理的瑰宝8号与耐低钾变异后代的Pro含量呈现初期急剧增长、后期缓慢增长的趋势。瑰宝8号在整个胁迫过程中,具有比耐低钾变异后代高的Pro含量,且差异达到极显著水平($P < 0.01$)。正常供水材料的Pro含量基本保持稳定。

2.3 PEG6000模拟干旱对水稻幼苗SOD活性的影响

如图2-A所示,20%PEG6000处理的瑰宝8号和耐低钾变异后代的SOD活性呈先上升后下降的趋势。在胁迫处理2 d时,瑰宝8号和耐低钾变异后代的SOD活性急剧增加,达到最高值,随后急剧下降。耐低钾变异后代比瑰宝8号有更高的SOD活性,且差异极显著($P < 0.01$)。正常处理的材料SOD活性变化幅度不大。

2.4 PEG6000模拟干旱对水稻幼苗质膜透性的影响

如图2-B所示,在水分胁迫下,水稻幼苗质膜相对透性呈现明显的上升趋势。在整个处理过程中,瑰宝8号质膜相对透性极显著($P < 0.01$)高于耐低钾变异后代,说明耐低钾变异后代质膜的受伤害程度比瑰宝8号轻,具有更好的抗水

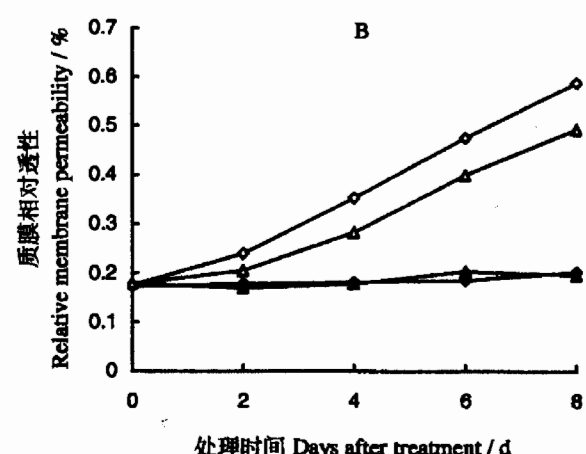
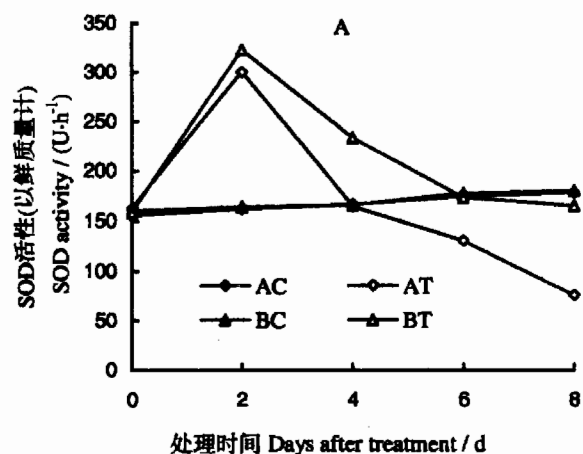
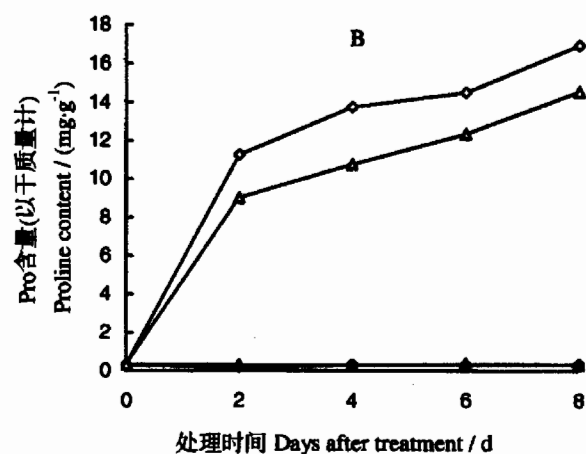


图2 PEG6000模拟干旱对水稻幼苗SOD活性和质膜相对透性的影响

Fig. 2. Effect of drought stress simulated with PEG6000 on SOD activity and relative membrane permeability of rice seedling.

表 1 PEG6000 模拟干旱下水稻幼苗 MDA 含量、Pro 含量、SOD 活性和质膜透性的相关性

Table 1 Correlation analysis among MDA and proline contents, SOD activity and relative permeability of plasma membrane under drought stress simulated with PEG6000.

指标 Index	MDA 含量 MDA content	Pro 含量 Proline content	SOD 活性 SOD activity	质膜透性 Membrane permeability
MDA 含量 MDA content	1.00	0.81**	-0.74**	0.99**
Pro 含量 Proline content		1.00	-0.27	0.81**
SOD 活性 SOD activity			1.00	-0.74**
质膜透性 Membrane permeability				1.00

** 达 0.01 显著水平。

** Significant at 0.01 level.

分胁迫的能力。

2.5 PEG6000 模拟干旱下水稻 MDA 含量、Pro 含量、SOD 活性和质膜透性的相关性

如表 1 所示,MDA 含量与 Pro 含量以及质膜相对透性呈极显著线性正相关,而与 SOD 活性为极显著负相关。Pro 含量与质膜相对透性呈极显著正相关,与 SOD 活性呈负相关,但未达显著水平。SOD 活性与质膜相对透性呈极显著负相关。

3 讨论

实验结果表明,在 PEG6000 模拟干旱胁迫下,水稻幼苗 MDA 含量和 Pro 含量及质膜相对透性均显著增加,耐低钾变异后代比其亲本瑰宝 8 号的增加幅度小。SOD 活性在胁迫初期均急剧增加,但随胁迫时间延长而明显降低,在整个过程中,变异后代的 SOD 活性始终显著高于瑰宝 8 号。这说明变异后代的抗旱能力强。

SOD 作为一种受底物 O_2^- 诱导的保护酶,是消除 O_2^- 等自由基的较重要的酶类。本实验研究表明,在胁迫的初期水稻 SOD 活性大为增强(图 2),MDA 的含量在胁迫 2 d 的时候维持在较低水平(图 1),但随着胁迫时间的延长,SOD 活性急剧下降,MDA 的含量显著上升,它们呈显著的负相关($R = -0.74$),这表明较高的 SOD 活性能有效抑制 MDA 生成,维持质膜的相对稳定性,但在胁迫后期 SOD 已无力担当清除活性氧的任务了。这可能是由于一定程度的干旱胁迫通过增加 SOD 合成水平或减少其降解来提高 SOD 活性水平,而长时间胁迫又可能破坏了 SOD 的结构,阻碍其合成,从而降低其活性,使得活性氧代谢大大加强,但其机理还有待于进一步研究。

Pro 是植物在水分胁迫下最为有效的渗透调节物质^[13],它与植物的抗旱性有密切关系^[14]。但关于水分胁迫下 Pro 累积和植物抗旱性的关系以及是否可以作为抗旱指标尚存在争论,有学者认为 Pro 含量可作为抗旱的指标^[15],或者是伤害程度的指标^[16],而刘娥娥等^[17]认为 Pro 含量应该作为胁迫敏感指标。本实验结果表明,干旱胁迫下水稻体内 Pro 迅速累积,并且随着胁迫时间延长,累积的总量逐步增加,这与前人的结论一致^[18]。耐低钾变异后代的 Pro 含量上升幅度比亲本瑰宝 8 号小,依据本实验中 Pro 含量与质膜相对透性($R = 0.81$)、Pro 含量与 MDA 含量($R = 0.81$)的相关性来看,Pro 含量变化应该作为反映逆境胁迫下植物受害程度的一种指标,这与 Cakmak 等的结论一致^[19]。变异后代累积的 Pro 含量少,说明变异后代受伤害程度轻。

本研究表明,在模拟干旱胁迫下,耐低钾变异后代比亲本瑰宝 8 号的抗旱能力强。其原因可能是植物正常生长期所需钾素含量在干旱胁迫下变得不足,而耐低钾水稻能在干旱条件下吸收正常生长所需钾素,利用钾素来改善自身的营养,增强抗逆性。这说明从种质资源方面改善水稻的钾素营养特性从而提高水稻抗旱性具有一定应用前景。

参考文献:

- [1] Gigon A, Matos A R, Laffray D, et al. Effect of drought stress on lipid metabolism in the leaves of *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia). *Ann Bot*, 2004, 94: 345-351.
- [2] 孙骏威, 杨勇, 黄宗安, 等. 聚乙二醇诱导水分胁迫引起水稻光合下降的原因探讨. *中国水稻科学*, 2004, 18(6): 539-543.
- [3] 张宪政. 作物生理研究法. 北京: 中国农业出版社, 1992: 207-208.
- [4] 蒋明义, 荆家海, 王邵唐. 水分胁迫与植物膜脂过氧化. *西北农业大学学报*, 1991, 19(2): 88-92.
- [5] 周瑞莲, 王刚. 水分胁迫下豌豆保护酶活力变化及脯氨酸积累在其抗旱中的作用. *草业学报*, 1997, 6(4): 39-43.
- [6] Yamada M, Morishita H, Urano K, et al. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. *J Exp Bot*, 2005, 56(417): 1975-1981.
- [7] 洪世奇, 庞宁菊. 富钾区旱作农田施钾对玉米抗旱性的影响. *干旱地区农业研究*, 1997, 15(3): 37-41.
- [8] 张立新, 李生秀. 氮、钾、甜菜碱对减缓夏玉米水分胁迫的效果. *中国农业科学*, 2005, 38(7): 1401-1407.
- [9] 彭志红, 彭克勤, 胡家金, 等. 富钾植物 DNA 导入水稻变异后代苗期耐低钾种质的筛选. *湖南农业大学学报*, 2002, 28(6): 463-466.
- [10] 胡家金, 萧浪涛, 彭克勤, 等. 富钾植物 DNA 导入早稻变异后代的 RAPD 分析. *科学技术与工程*, 2005, 5(2): 73-76.
- [11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [12] 张志良. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1998.
- [13] Liang J, Zhang J, Wong M H. Stomatal conductance in relation to xylem sap ABA concentration in two tropical trees, *Acacia confusa* and *Litsea glutinosa*. *Plant Cell Environ*, 1996, 19: 93-100.
- [14] 苏梦云, 范铭庆. 渗透胁迫和钙处理对杉木幼苗膜脂过氧化及保持酶活性的影响. *林业科学研究*, 2000, 13(4): 391-396.
- [15] Hanson A D, Neison C F, Peersen A R, et al. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implication for breeding for drought resistance. *Crop Sci*, 1979, 19: 489-493.
- [16] Liu J, Zhu J K. Proline accumulation and salt stress induced gene expression in a salt hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 1997, 114: 591-596.
- [17] 刘娥娥, 宗会, 郭振飞, 等. 干旱、盐和低温胁迫对水稻幼苗脯氨酸含量的影响. *热带亚热带植物学报*, 2000, 8(3): 235-238.
- [18] 肖用森, 王正直, 郭绍川. 渗透胁迫下稻苗体内游离脯氨酸积累与膜脂过氧化关系. *武汉植物学研究*, 1996(4): 16-20.
- [19] Cakmak I, Horst W J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean. *Physiol Plant*, 1991, 83: 463-468.