

不同药剂处理对水稻幼苗抗寒性的影响

李海林 罗斌 (1. 湖南农业大学, 湖南长沙410128)

摘要 研究3种药剂对水稻幼苗抗寒性生理生化指标的影响。结果表明: 给水稻幼苗喷施适宜浓度的氯化钙加双氧水、复配硝酚钠和诱抗剂溶液能不同程度地减缓低温胁迫下细胞膜的损伤, 提高水稻幼苗的抗寒力; 试验还发现, 不同保护剂之间的效果存在较大差异, 喷施诱抗剂溶液的效果明显好于其他两种药剂。

关键词 水稻幼苗; 保护剂; 低温胁迫; 抗寒性

中图分类号 Q945 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)22-5909-03

Study on Cold Resistance Effects of Several Chemicals Spraying on Rice Seeding

LI Hai-lin et al (Crop Physiology and Molecular Biology Laboratory, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128)

Abstract Rice seeding was treated by three chemical complexes, $\text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$, Sodium Nitrophenolate Complex and inducer, and its physiological characteristics was studied. The results showed that all solutions with appropriate concentration could alleviate the damage of low temperature stress to cell membrane and thus improve cold resistance of rice seeding. And different solution showed distinct effects, inducer solution had the best effect than others.

Key words Rice seeding; Chemicals; Low temperature stress; Cold resistance

寒害是水稻生产上的一大威胁, 常造成巨大的经济损失^[1], 通常用一、两种药剂提高水稻抗寒力, 但始终未能解决大田生产问题。在防寒和抗寒栽培中, 药剂处理是提高水稻抗寒力的一个重要方面。许多研究表明, 施用多效唑(PP333、氯丁唑)、脱落酸(ABA)可提高过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性以及脯氨酸(pro)、可溶性糖含量, 降低丙二醛(MDA)含量和电导率, 从而提高水稻抗寒性^[2-5]。黄凤连等用诱抗剂处理水稻幼苗发现, 处理水稻的电解质渗漏较对照有明显减缓, 过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性较对照增加, 细胞粘度增大, 游离脯氨酸积累增加^[2]。简令成等研制了水稻育秧抗寒剂, 能有效提高秧苗的抗寒力和增加作物产量^[6]。武孟祥等研制的植物低温保护剂对多种作物有同样的作用^[7-9]。

1 材料与试验方法

1.1 试验材料 供试材料为粳稻WD1, 由衡阳市农业科学研究所提供。

1.2 试验设计 试验材料采用砂土培养的种植方式。在温度为(25±2)℃的人工气候箱中培养, 光照12 h/d、光强4 000 lx, 当生长到2叶1心时喷洒不同药剂, 整株喷施以叶片上下表面湿透为准, 间隔1天1次, 共2次, 以喷洒蒸馏水为对照。试验设3次重复, 均匀喷施, 不同对照和处理见表1。幼苗低温处理方法: 将供试材料分为2组, 一组于原培养箱中继续生长, 另一组移至(5±1)℃低温冰柜进行低温胁迫处理48 h, 然后移回原培养箱恢复生长2 d, 分别于低温处理前、低温处理后、处理恢复生长2 d后取材, 测定生理生化指标。

表1 WD1 幼苗的不同药剂处理

样品	方法
常温对照	喷洒蒸馏水, 不进行低温胁迫
低温对照	喷洒蒸馏水, 进行低温胁迫
处理1	喷洒100 ng/L 诱抗剂
处理2	喷洒100 ng/L 复配硝酚钠
处理3	喷洒1.5 mmol/L $\text{CaCl}_2 + 0.1 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$

1.3 项目测定

1.3.1 电导率的测定。将苗期细长的叶片用剪刀剪成1 cm长的小段, 用天平准确称取0.3 g材料, 对应放入装有30 ml无离子水已编号的三角瓶中, 在振荡器上浸泡90 min, 电导率采用DDS-11A型电导仪测定。根据细胞伤害率 $E_c = L_1/L_2 \times 100\%$ 进行计算, 其中 L_1 为煮沸前的电导率, L_2 为煮沸冷却后的电导率。

1.3.2 游离脯氨酸含量测定。采用磺基水杨酸提取、茚三酮比色的方法进行测定^[10], 含量以 $\mu\text{g/g}$ 表示。

1.3.3 过氧化物酶(POD)活性测定。在50 ml 0.1 mol/L、pH=6.0的磷酸缓冲液中加入愈创木酚28 μl 、30% H_2O_2 19 μl 组成反应液, 以每分钟增加1个A470的酶量为一个酶活力单位; 酶活性以 $\text{OD}_{470\text{nm}}(\text{min}^{-1}\text{g}^{-1})$ 鲜重表示。

1.3.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定。采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法, 以抑制NBT光化还原的50%为1个酶活性单位。酶活性以 $\text{U}(\text{min}^{-1})$ 表示。

1.3.5 丙二醛(MDA)含量测定。采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定, 酶活性以 $\mu\text{mol/L}$ 表示。

1.3.6 过氧化氢酶(CAT)活性测定。采用碘量滴定法测定, 酶活性以 $\text{ng}(\text{min}^{-1}\text{g}^{-1})$ 表示。

1.4 数据处理 试验数据统计分析在Excel 2003、SPSS、DPS等软件上进行。

2 结果与分析

2.1 不同药剂处理对低温胁迫下WD1幼苗电导率的影响 低温引起膜结构的破坏是导致植物寒害和死亡的重要原因, 增强膜结构的稳定性是提高植物抗寒性的关键措施之一^[11]。由图1可知, 低温胁迫前喷施诱抗剂和复配硝酚钠不会引起WD1幼苗电导率的变化; 喷洒 $\text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ 可使WD1幼苗的电导率增加, 从2.67%上升至9.81%。低温胁迫后, 低温对照苗的电导率比常温对照苗增加了89.40%, 说明低温使细胞膜透性有很大程度的破坏。处理1和处理2的WD1幼苗的电导率相对于低温对照分别下降55.63%和19.66%, 而处理3却增加了6.85%, 表明处理1和处理2能减缓低温胁迫下相对电导率的升高, 维持细胞膜的完整性, 减少电解质外渗, 以处理1的效果最为明显。处理3使WD1

幼苗的电导率增加,可能是由于 H_2O_2 浓度过高,对幼苗产生了毒害作用。处理恢复生长2 d后,低温对照苗和3种不同药剂处理苗的电导率都有不同程度的降低,表示幼苗逐渐从损伤中恢复。

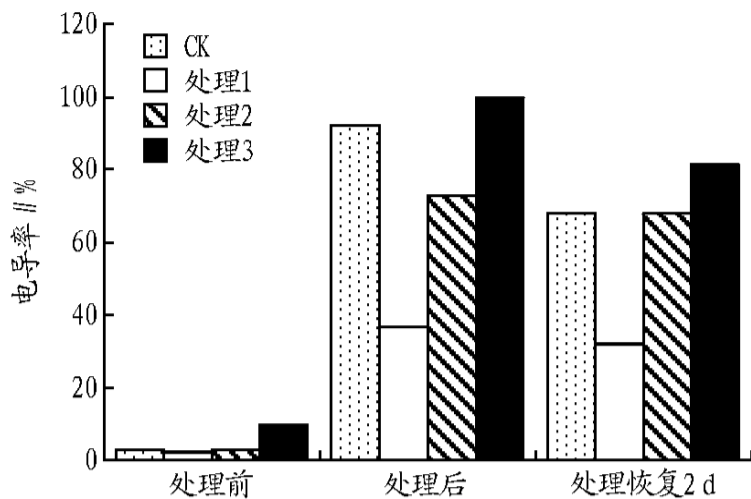


图1 不同药剂处理对WDI幼苗低温胁迫前后电导率的影响

2.2 不同药剂处理对低温胁迫下WDI幼苗脯氨酸含量的影响 由图2可看出,不同药剂处理的WDI幼苗在低温胁迫后脯氨酸含量都有所增加。喷洒蒸馏水的WDI幼苗低温胁迫后电导率比常温对照增加了100.1%,处理1、2和处理3分别较常温对照升高了300.2%、219.7%和110.2%。3种处理之间存在明显差异,处理1和处理2脯氨酸含量明显增加,比低温对照分别增加了99.7%和58.7%;处理3脯氨酸含量增加幅度较小,仅增加4.9%。从测定结果可以看出,WDI幼苗在低温胁迫后细胞膜的稳定性遭到破坏,脯氨酸含量明显增加,用适宜浓度的诱抗剂、复配硝酸钠和 $CaCl_2 + H_2O_2$ 溶液处理均能不同程度的增加WDI幼苗体内脯氨酸的含量,使其能够保持水势,维持细胞膜的稳定性。

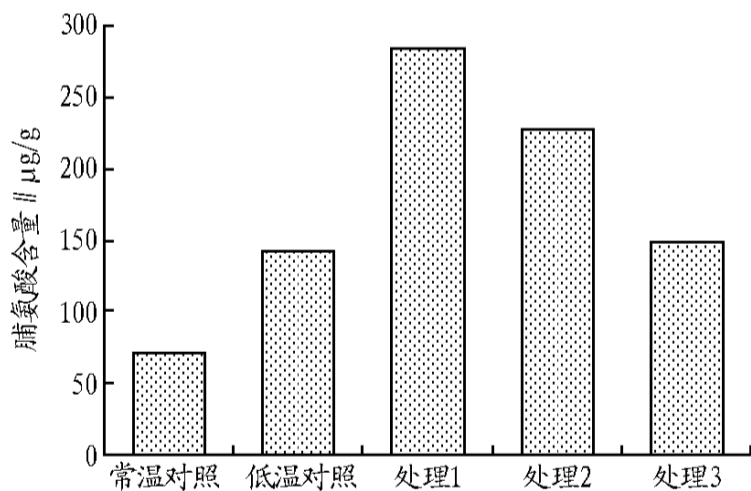


图2 不同药剂处理对低温胁迫后WDI幼苗脯氨酸含量的影响

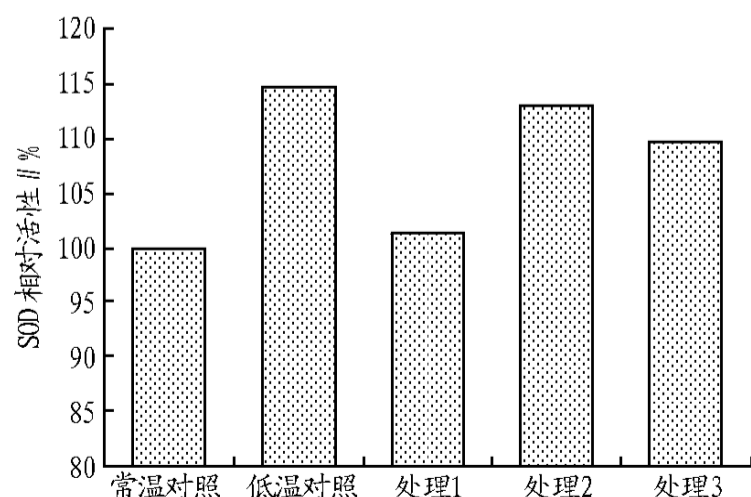


图3 不同药剂处理对低温胁迫后WDI幼苗SOD活性的影响

2.3 不同药剂处理对低温胁迫下WDI幼苗保护酶活性的影响 由图3可知,低温胁迫后,低温对照苗和药剂处理苗的SOD活性都有所增加,与常温对照相比,喷施诱抗剂溶液的

WDI幼苗的SOD活性增加了1.35%,喷施复配硝酸钠溶液后SOD活性增加了12.87%,喷施 $CaCl_2 + H_2O_2$ 溶液后SOD活性增加了9.54%。与低温对照相比,3种药剂处理WDI幼苗的SOD活性分别降低11.69%、1.67%和4.77%,表明不同药剂处理WDI幼苗受低温伤害程度低于低温对照苗。

由图4可知,用适宜浓度的诱抗剂、复配硝酸钠和 $CaCl_2 + H_2O_2$ 溶液处理后,低温胁迫下WDI幼苗的POD活性相对于常温对照分别增加了14.35%、28.17%和29.76%,相对于低温对照分别降低了21.71%、7.07%和5.91%。

由图5可知,低温胁迫后,对不同药剂处理苗的CAT活性测定结果表明,低温胁迫使幼苗的CAT活性都有所增加。药剂处理后,处理1、2、3使WDI幼苗的CAT活性相对于喷洒蒸馏水的低温对照分别降低52.17%、46.78%和51.65%,说明3种药剂均能不同程度延缓低温胁迫对WDI幼苗的伤害。

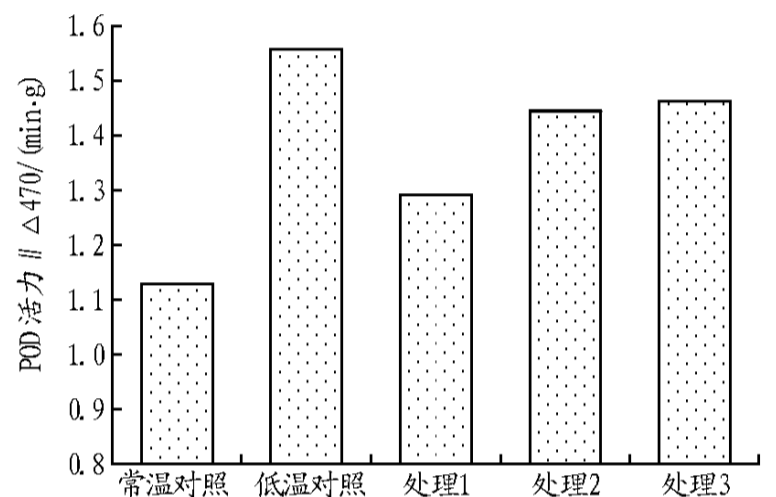


图4 不同药剂处理对低温胁迫后WDI幼苗POD活性的影响

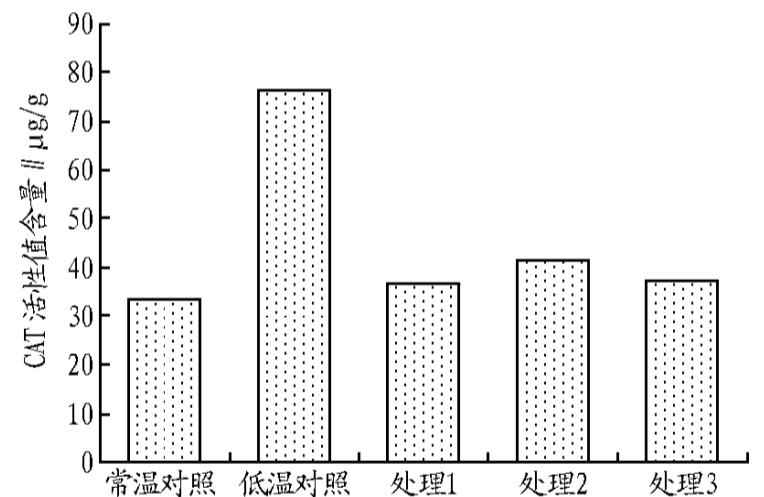


图5 不同药剂处理对低温胁迫后WDI幼苗CAT活性的影响

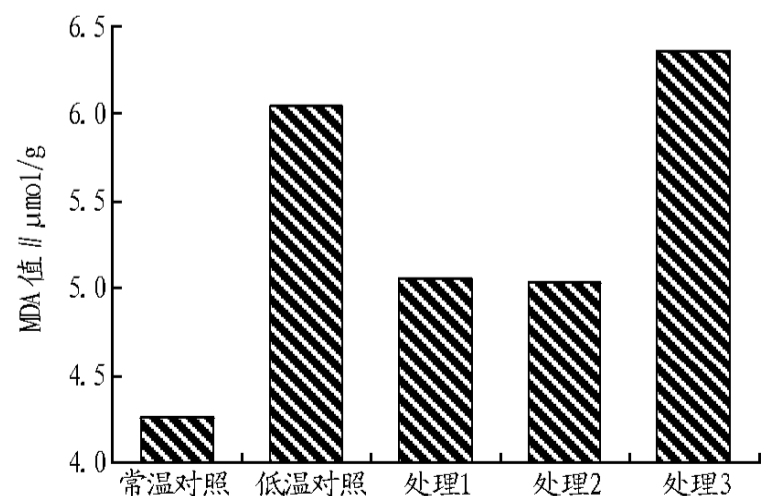


图6 不同药剂处理对低温胁迫后WDI幼苗MDA含量的影响

由图3~5可以看出,经过适宜浓度的诱抗剂、复配硝酸钠以及 $CaCl_2 + H_2O_2$ 溶液处理后,低温胁迫后WDI幼苗的SOD、POD和CAT活性的变化规律几乎一致,3种保护酶活性都有一定程度的升高,但都低于低温对照水平。说明3种药剂处理均能不同程度减缓低温胁迫下氧自由基对细胞膜的

损伤,同时不同处理间也有较大差异,经分析比较诱抗剂的抗寒效果明显好于复配硝酸钠和 $\text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ 溶液。

2.4 不同药剂处理对低温胁迫下 WD1 幼苗 MDA 含量的影响 MDA 含量是植物是否受到损伤及损伤程度的重要指标。由图6可知,低温胁迫后 WD1 幼苗体内的 MDA 含量明显增高。低温对照苗的 MDA 含量相对于常温对照增加 42.02%,处理1 和处理2 幼苗的 MDA 含量相对于低温对照苗有明显降低且降幅几乎相同,而处理3 幼苗的 MDA 含量还略高于低温对照苗,显示一定的毒害作用。

3 讨论与小结

3.1 诱抗剂对植物抗寒性的影响 植物诱抗剂的开发是在植物信号系统和冷驯化等研究基础上发展起来的。 Ca^{2+} 、乙酰胆碱等是植物传递环境胁迫信号的重要信使^[3]。植物冷激蛋白基因是一类调节基因,它不仅可感受环境低温的信号,还可感受干旱、ABA、盐渍等多种信号因子^[6,13-14]。上述物质为主要成分的诱抗剂对提高植物抗寒能力具有明显效果。诱抗剂具有较大的水溶性,能调节渗透势,但不进入蛋白质的水化膜内,从而发挥稳定细胞蛋白质结构、防止酶失活的作用。试验发现,用诱抗剂处理过的 WD1 幼苗的电导率、保护酶活性以及 MDA 含量较低温对照苗减少,细胞粘度增大,脯氨酸积累较低温对照苗增加,从而大大降低和延缓低温胁迫对质膜的损害,稳定了膜结构和细胞骨架,显著提高了水稻幼苗的抗寒性。

3.2 复配硝酸钠对植物抗寒性的影响 复配硝酸钠对植物抗寒性的形成有一定作用,在冷胁迫条件下,复配硝酸钠通过影响几种抗氧化酶的活性来影响与膜有关的一系列生理生化反应,从而降低植物的受冷害程度。但这方面的研究报道尚不多见。该研究表明,复配硝酸钠可在一定程度上提高 WD1 幼苗抵抗低温胁迫的能力。用复配硝酸钠溶液处理后,减缓了 WD1 幼苗低温胁迫下 MDA 含量的增加,抑制了 MDA 积累引起的膜脂过氧化作用,从而导致 SOD、POD 和 CAT 活性低于低温对照苗,保护了膜结构的稳定性。

3.3 $\text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ 对植物抗寒性的影响 钙是生物膜的稳定剂,在维持植物细胞膜结构的稳定性与完整性方面起重要作用^[7]。在低温胁迫下, Ca^{2+} 可以通过2 个方面对膜结构起稳定作用:一是通过束缚带电荷的磷脂来诱导类脂更紧密的排列,减少电解质渗漏;二是在接受低温信号后通过调节 POD、SOD、 Mg^{2+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶等活性,增加物质氧化

还原系统的冷稳定性,清除冷胁迫下积累的活性氧,减轻膜脂过氧化伤害的程度^[8]。

H_2O_2 是过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)作用的底物,作为一种氧化胁迫因子,在高浓度条件下, H_2O_2 可破坏细胞的抗氧化系统,导致细胞死亡;而低浓度的 H_2O_2 可以激活细胞的抗氧化系统,提高生物体内 CAT 和 POD 的活性,从而提高植物的抗寒力^[9]。

该研究用适宜浓度的 CaCl_2 与 H_2O_2 溶液混合处理水稻幼苗,测定结果表明: CaCl_2 与 H_2O_2 溶液的喷施减缓了 WD1 幼苗低温胁迫下 MDA 含量和细胞渗透率的升高;SOD、POD 和 CAT 活性明显低于低温对照苗;使脯氨酸的积累增加;减轻了低温胁迫引起的膜脂过氧化对膜的伤害。

参考文献

- [1] 刘祖琪,王洪春.植物耐寒性及防寒技术[M].北京:学术书刊出版社,1990.
- [2] 黄凤连,戴良英,罗宽.药剂诱导稻苗抗寒机制研究[J].作物学报,2000,26(1):92-97.
- [3] 江福英,李延,翁伯琦.植物低温胁迫及抗性生理[J].福建农业学报,2002,17(3):190-195.
- [4] 吴楚,王政权.脱落酸及其类似物与植物抗寒性之间的关系[J].植物生理学通讯,2000,36(6):562-567.
- [5] 李智念,王光明,曾之文.水稻等作物抗寒中ABA的相关研究[J].耕作与栽培,2003(3):17-19.
- [6] 简令成,孙龙华.早稻育秧抗寒剂的研制[J].植物学通报,1991,21(3):60-61.
- [7] 武孟祥,郝联芳.PL TPA 提高植物细胞抗寒力的生理生化基础[J].西北植物学报,1995,15(7):32-36.
- [8] 武孟祥,郝联芳.植物低温保护剂对番茄黄瓜幼苗抗寒力的影响[J].园艺学报,1995,22(3):305-307.
- [9] 武孟祥,刘生荣,王小蝉.植物低温保护剂对喷药棉苗抗寒力及产量的影响[J].棉花学报,1997,9(3):154-157.
- [10] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2002.
- [11] 简令成.植物抗寒机理研究的新进展[J].植物学通报,1992(3):17-22.
- [12] 杨洪强,贾文锁,张大鹏.植物水分胁迫信号识别与转导[J].植物生理学报,2001,37(2):149-154.
- [13] 刘强,张勇,陈受宜.干旱、高盐及低温诱导植物的蛋白激酶基因[J].科学通报,2000,45(6):561-566.
- [14] 沈曼,王明麻,黄敏仁.植物抗寒机理研究进展[J].植物学通报,1997,14(2):1-8.
- [15] 王红,孙德兰,卢存福.抗寒锻炼对冬小麦幼苗质膜 Ca^{2+} -ATPase 的稳定作用[J].植物学报,1998,40(12):1098-1101.
- [16] MONROY A F,SAHAN F,DHINSA R S.Cold-induced changes in freezing tolerance,protein phosphorylation,and gene expression evidence for a role of calcium[J].Plant Physiol,1993,102:1227-1234.
- [17] 李美茹,刘鸿先,王以柔.氧化胁迫对水稻幼苗抗冷力的影响[J].热带亚热带植物学报,1999,7(47):323-328.