

开花期低温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响

邓化冰^{1,2}, 史建成¹, 肖应辉¹, 唐文帮¹, 盘毅¹, 陈立云^{1*}

(1.湖南农业大学 水稻科学研究所, 湖南 长沙 410128; 2.袁隆平农业高科技股份有限公司, 湖南 长沙 410001)

摘 要:以耐冷水稻品系 996 和冷敏感水稻品系 4628 为材料,在抽穗开花期采用人工气候室进行连续 7 d 低温(06:00—08:00, 19 °C; 08:00—10:00, 21 °C; 10:00—16:00, 23 °C; 16:00—19:00, 21 °C; 19:00—23:00, 19 °C; 23:00—06:00, 17 °C)和适温(06:00—08:00, 24 °C; 08:00—10:00, 26 °C; 10:00—16:00, 30 °C; 16:00—19:00, 26 °C; 19:00—23:00, 24 °C; 23:00—06:00, 22 °C)处理,研究低温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响。结果表明:低温胁迫下水稻剑叶中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POX)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POX)活性呈先升后降趋势;随低温胁迫时间延长,膜脂过氧化产物硫代巴比妥酸反应产物(TBARS)和过氧化氢(H₂O₂)、超氧阴离子(O₂^{·-})含量迅速上升,膜透性增加;品系 996 在低温胁迫下其剑叶中保护酶类活性显著高于品系 4628,而 O₂^{·-}、H₂O₂ 和 MDA 含量和膜透性却显著低于品系 4628;低温胁迫下水稻剑叶保护类酶维持较高的活性,降低 O₂^{·-}、H₂O₂、TBARS 含量和膜透性,是品系 996 耐低温的生理基础。

关 键 词: 水稻; 开花期; 低温胁迫; 剑叶; 保护酶; 膜透性

中图分类号: S511.01 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2011)06-0581-05

Effect of low temperature on protective enzyme activities and membrane permeability in flag leaves of rice at flowering stage

DENG Hua-bing^{1,2}, SHI Jian-cheng¹, XIAO Ying-hui¹, TANG Wen-bang¹, PAN Yi¹, CHEN Li-yun^{1*}

(1.Rice Research Institute, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2.Yuanlongping High-Tech Agriculture Co. Ltd., Changsha 410001, China)

Abstract: The experiments were carried out in growth chambers to investigate the effects of low temperature stress during flowering period on protective enzyme activities and membrane permeability of flag leaves using two rice cultivars including low-temperature tolerant cultivar 996 and low-temperature sensitive cultivar 4628. Optimal temperature(06:00-8:00, 24 °C; 08:00-10:00, 26 °C; 10:00-16:00, 30 °C; 16:00-19:00, 26 °C; 19:00-23:00, 24 °C; 23:00-06:00, 22 °C)and low temperature(06:00-8:00, 19 °C; 08:00-10:00, 21 °C; 10:00-16:00, 23 °C; 16:00-19:00, 21 °C; 19:00-23:00, 19 °C; 23:00-06:00, 17 °C)were respectively treated for seven days as two treatments after heading. The results showed that the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX) and ascorbic acid-peroxidase (AsA-POX) in flag leaves of two rice cultivars increased at early stage of low temperature stress, then decreased. The contents of thiobarbituric acid reaction substance(TBARS) and hydrogen peroxide(H₂O₂), superoxide anion(O₂^{·-}) and the membrane permeability were increased remarkably as the period of exposure to low temperature lengthened. The protective enzyme activities in the cultivar 996 were higher while the contents of O₂^{·-}, H₂O₂ and TBARS and the membrane permeability were lower than those in the cultivar 4628 under low temperature stress. Therefore, higher protective enzyme activities, which may resulted in lower contents of H₂O₂, O₂^{·-} and TBARS and lower membrane permeability in rice flag leaf were the physiological basis of low-temperature tolerant rice cultivar.

收稿日期: 2011-07-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31101134); 湖南省自然科学基金项目(10JJ3091); 湖南农业大学作物种质创新与资源利用国家重点实验室培育基地开放基金项目(10KFXM10); 湖南农业大学作物栽培学与耕作学学科青年基金项目

作者简介: 邓化冰(1973—), 女, 湖南新邵人, 博士, 副教授, 主要从事水稻遗传育种和生理研究, denghuabing@126.com; *通信作者, chenliyun996@163.com

Key words: rice; flowering stage; low temperature stress; flag leaf; protective enzyme; membrane permeability

水稻对温度最敏感的时期为孕穗期至抽穗扬花期,此时期如遇日平均气温低于 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、日最高气温低于 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温或“寒露风”,开花就会减少,或虽开花而不授粉,形成空壳,从而降低产量^[1]。中国江南红壤丘陵地区因寒露风造成籼稻减产较重的年份的概率为60%,严重年份概率为11.4%^[2]。湖南省籼稻低温危害主要出现在9月,其出现概率达62%,日平均气温连续3 d或3 d以上低于 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$,会发生轻度冷害;日平均气温连续4 d或4 d以上低于 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$,会发生重度冷害;日平均气温连续4 d或4 d以上低于 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$,且降水50 mm以上时会发生严重冷害^[3]。刘娟等^[4]认为,2000—2007年长江以南的江西、浙江和湖南大部分地区晚稻抽穗至灌浆期极端低温天气持续的时间有小幅度增加;因此,提高水稻抽穗开花期的耐冷能力,开展水稻抽穗期耐冷性生理机理的研究,将有助于水稻高产稳产。

相关研究^[5]表明,细胞膜系统是植物受低温伤害的初始部分和敏感部位,低温处理后膜特性的变化是衡量植物抗冷性的一个指标。王萍等^[6]认为,夜间低温引起水稻剑叶类囊体膜脂过氧化加剧,脂肪酸不饱和度上升。施大伟等^[7]认为抽穗期杂交水稻剑叶光合色素含量和抗氧化酶活性与其耐冷性紧密相关,温度越低对水稻剑叶伤害越大。目前,关于低温对水稻膜透性、细胞保护酶类活性和产量的影响及低温如何导致细胞功能的降低的系统研究还少有报道,且水稻的耐冷性研究多集中于对幼苗期耐冷性的研究^[8-10]。笔者以开花期耐冷性差异显著的两个籼稻品系996(低温下结实率高、耐冷性强)和4628(低温下结实率低、耐冷性弱)为材料^[11],通过人工气候室模拟低温胁迫,研究低温胁迫和适温下两品系剑叶保护酶活性和膜透性的变化及差异,探讨水稻耐冷的生理机理,旨在为耐冷水稻新品种的选育提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为抽穗期遇低温结实率高、耐冷性强

的籼稻品系996和抽穗期遇低温结实率低、耐冷性弱的籼稻品系4628,均由湖南农业大学水稻科学研究所提供。

1.2 试验设计

大田试验于2009年在湖南农业大学实验田进行。水稻品系4628于2009年5月1日播种,5月26日移栽;水稻品系996于2009年5月7日播种,6月1日移栽,2个品系的始穗期基本一致。低温处理前15 d选择生长发育进程基本一致的植株带泥移栽于盆钵(内径为266 mm,高度为190 mm)中,每盆3株,每个品系各20盆。当每株有3个分蘖穗抽出剑叶1 cm左右时进行处理,用纤维绳标记稻穗。于2009年7月21日将供试材料移入人工气候室的中间位置(面积为 10.36 m^2)分别进行适温和低温处理(每个品系各10盆)。适温处理:06:00—08:00, $24\text{ }^{\circ}\text{C}$; 08:00—10:00, $26\text{ }^{\circ}\text{C}$; 10:00—16:00, $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 16:00—19:00, $26\text{ }^{\circ}\text{C}$; 19:00—23:00, $24\text{ }^{\circ}\text{C}$; 23:00—06:00, $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。低温处理:06:00—08:00, $19\text{ }^{\circ}\text{C}$; 08:00—10:00, $21\text{ }^{\circ}\text{C}$; 10:00—16:00, $23\text{ }^{\circ}\text{C}$; 16:00—19:00, $21\text{ }^{\circ}\text{C}$; 19:00—23:00, $19\text{ }^{\circ}\text{C}$; 23:00—06:00, $17\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。光照度 $15\ 000\text{ lx}$,日光照时间 13.5 h ,相对湿度为75%左右。连续处理7 d后,将处理材料移到室外让其自然生长。分别于处理后0、48、96、144和192 h取标记稻穗的剑叶进行各项生理指标测定,每处理重复3次。

1.3 测定项目与方法

SOD活性的测定参照文献[12]中的方法;POX活性的测定参照文献[13]中的方法;CAT活性相对电导率的测定参照文献[14]中的方法;AsA-POX活性的测定参照文献[15]中的方法;硫代巴比妥酸反应产物(TBARS)测定参照文献[16]中的方法;超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)相对含量测定参照文献[17]中的方法;过氧化氢(H_2O_2)含量测定参照文献[18]中的方法。

1.4 数据分析

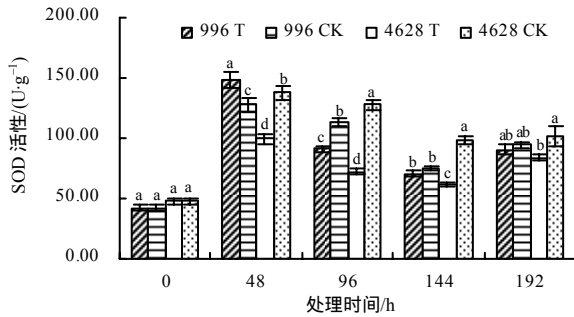
数据处理采用Microsoft Excel 2003软件;方差分析采用DPS软件;差异显著性检验采用Duncan新复极差法。

2 结果与分析

2.1 开花期低温胁迫和适温条件下水稻剑叶氧化酶类活性的变化

2.1.1 水稻剑叶 SOD 活性的变化

从图 1 可以看出, 品系 996 和 4628 在低温胁迫和适温条件下, SOD 活性均呈先升后降再升高趋势, 且都于处理后 48 h 达到最大值。在未进行温度处理时(0 h), 996 与 4628 间 SOD 活性差异不显著; 低温胁迫期间(48 ~ 144 h)996 的 SOD 活性显著高于 4628, 4628 的 SOD 活性显著低于其适温对照。



T 示低温胁迫; CK 为适温对照。下同。

图 1 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶的 SOD 活性
Fig. 1 Dynamic changes of SOD activity in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

2.1.2 水稻剑叶 POX 活性的变化

从图 2 可以看出, 适温下 996 和 4628 剑叶 POX 活性均呈先升后降再升高趋势。996 POX 活性在低温胁迫下的变化趋势与在适温条件下相同。两品系适温下剑叶 POX 活性差异不显著, 但从低温胁迫 96 h 起 996 的 POX 活性显著高于 4628。

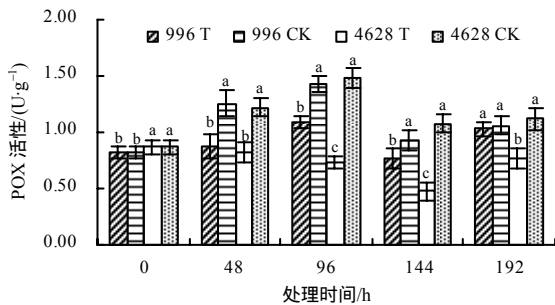


图 2 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶的 POX 活性
Fig.2 Dynamic changes of POX activity in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

2.1.3 水稻剑叶 CAT 活性的变化

从图 3 可以看出, 996 和 4628 在未进行温度处理(0 h)时剑叶的 CAT 活性差异不显著, 低温胁迫 48 h CAT 活性均急剧上升, 达到峰值; 低温胁迫期间(48 ~ 144 h)996 剑叶的 CAT 活性均显著高于 4628; 低温胁迫 48 h 和处理结束时(192 h), 996 和 4628 剑叶的 CAT 活性显著高于其适温对照; 低温胁迫中后期(96 ~ 144 h)两品系剑叶的 CAT 活性均低于其适温对照, 适温条件下(0 ~ 192 h)996 和 4628 剑叶的 CAT 活性变化不大。

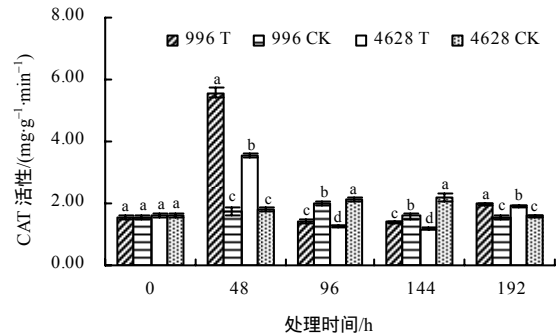


图 3 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶的 CAT 活性
Fig. 3 Dynamic changes of CAT activity in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

2.1.4 水稻剑叶 AsA-POX 活性的变化

从图 4 可以看出, 996 和 4628 在低温胁迫的初、中期(0 ~ 96 h), 剑叶 AsA-POX 活性均有不同程度的增加; 996 低温胁迫期间(48 ~ 144 h)和处理结束时(192 h)剑叶的 AsA-POX 活性均显著高于 4628; 适温条件下除 144 h 时 996 剑叶的 AsA-POX 活性显著低于 4628 外, 其余时间两品系的 AsA-POX 活性差异不显著, 说明低温胁迫下 996 剑叶 AsA-POX 活性的增加幅度大于 4628。

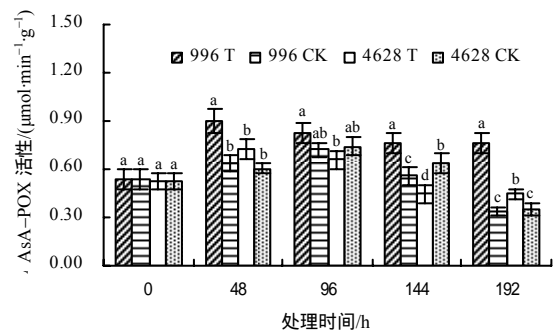


图 4 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶的 AsA-POX 活性
Fig.4 Dynamic changes of AsA-POX activity in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

2.2 开花期低温胁迫和适温条件下水稻剑叶过氧化物的变化

2.2.1 水稻剑叶 H₂O₂ 含量的变化

从图 5 可以看出,996 和 4628 在低温胁迫与适温条件下,剑叶中的 H₂O₂ 含量均呈上升趋势,但在低温胁迫下增加的幅度更大;低温胁迫的中、后期及处理结束时(96~192 h),4628 剑叶的 H₂O₂ 含量均显著高于其适温对照;低温胁迫初、中期(48~96 h)996 剑叶的 H₂O₂ 含量与其适温对照差异不显著,至处理的 144 h 和处理结束时(192 h),H₂O₂ 含量显著高于其适温对照,处理中、后期至结束(96~192 h)时 996 剑叶的 H₂O₂ 含量显著低于 4628。适温条件下 996 剑叶的 H₂O₂ 含量与 4628 差异不显著。

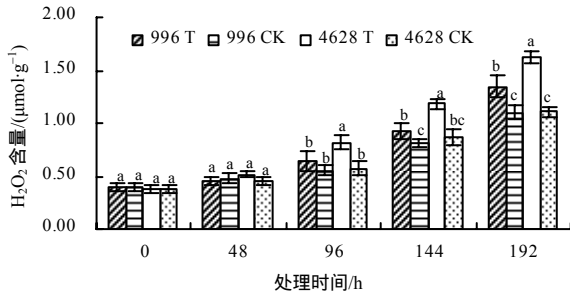


图 5 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶的 H₂O₂ 含量
Fig.5 Dynamic changes of H₂O₂ content in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

2.2.2 水稻剑叶 O₂⁻ 产生速率的变化

从图 6 可以看出, O₂⁻ 产生速率的变化规律与 H₂O₂ 含量的变化规律相似,低温胁迫与适温条件下,996 和 4628 剑叶中的 O₂⁻ 含量均呈上升趋势,但低温胁迫下上升的幅度更大;低温胁迫下 996 的 O₂⁻ 产生速率显著低于 4628 的,随低温胁迫时间的延长,996 的 O₂⁻ 产生速率上升的幅度也小于 4628。

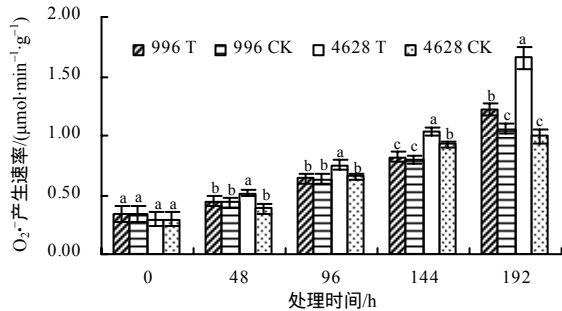


图 6 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶 O₂⁻ 的产生速率
Fig.6 Dynamic changes of O₂⁻ production rate in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

2.3 开花期低温胁迫和适温条件下水稻剑叶膜透性的变化

2.3.1 水稻剑叶 TBARS 含量的变化

从图 7 可以看出, TBARS 含量的变化趋势与 O₂⁻ 的产生速率相似,低温胁迫使 996 和 4628 剑叶中的 TBARS 含量增加,且随着低温处理时间的延长, TBARS 含量的增幅变大。996 和 4628 在适温条件下剑叶中的 TBARS 含量差异不显著;低温胁迫期间(48~192 h),996 剑叶中的 TBARS 含量显著低于 4628,说明低温胁迫下 996 剑叶 TBARS 含量的增加幅度显著低于 4628。

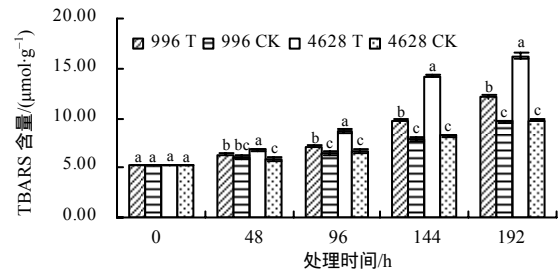


图 7 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶的 TBARS 含量
Fig.7 Dynamic changes of TBARS content in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

2.3.2 水稻剑叶膜透性的变化

电解质外渗率是目前用于评价细胞膜透性的一种常用指标,而电解质外渗率常用相对电导率表示,相对电导率越高说明膜透性越高。从图 8 可以看出,随低温胁迫时间延长,996 和 4628 剑叶的膜透性逐渐升高,其中,996 的膜透性和其低温胁迫下膜透性的增幅均显著低于 4628,这与 TBARS 含量、O₂⁻ 产生速率的变化趋势相一致。

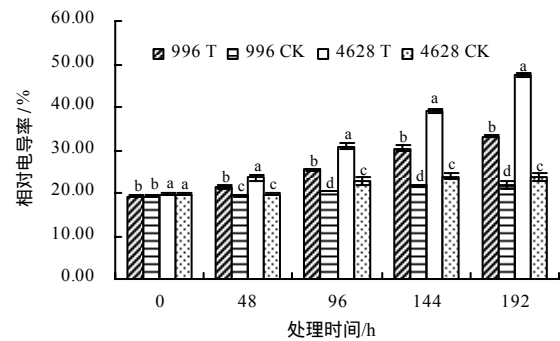


图 8 低温和适温条件下 996 和 4628 剑叶的相对电导率
Fig.8 Dynamic changes of cell membrane permeability in flag leaf under low temperature and optimal temperature in rice cultivars 996 and 4628

3 小结与讨论

本研究结果表明,耐冷水稻品系 996 和冷敏感水稻品系 4628 剑叶中 SOD、POX、CAT 和 AsA-POX 4 种保护酶类活性在低温胁迫初期增加,这与前人研究结果^[19-22]基本一致。由此说明,在逆境胁迫下植物体内保护类酶活性增加可能是植物对逆境的一种应答机制,这种应答机制有利于保持其体内自由基的产生和清除之间的平衡,避免造成膜脂过氧化。996 剑叶中的这 4 种酶活性均显著高于 4628,说明 996 对低温逆境的应答更迅速,因此其耐冷性能力强。

本研究结果显示,随低温胁迫时间延长,996 和 4628 剑叶中的 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 浓度与 TBARS 含量呈显著正相关(996 相关系数分别为 0.991 2^{**}、0.995 1^{**}; 4628 相关系数分别为 0.961 9^{**}、0.982 8^{**}),其中,996 剑叶的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率、 H_2O_2 和 TBARS 含量均显著低于 4628,说明 996 对低温逆境的应答更迅速,能在低温胁迫下保持较高的保护类酶活性,因此,其剑叶中 TBARS 的积累较慢,电解质渗漏率较低,细胞膜结构较稳定,而 4628 在低温胁迫下其细胞膜结构却受到较大的破坏。笔者分析认为,耐冷水稻品系 996 对低温逆境的应答更迅速,在低温胁迫下细胞膜结构较稳定,细胞功能较正常,是 996 在低温胁迫下结实率仍较高,耐冷性强的生理基础。

参考文献:

- [1] 李训贞,梁满中,周广洽,等.水稻开花时的环境条件对花粉活力和结实的影响[J].作物学报,2002,28(3):417-420.
- [2] 刘洪顺.江南红黄壤丘陵区水稻生产中的几个农业气候问题[J].中国农业气象,1994,15(5):22-25.
- [3] 孔佳良,余冬林.低温冷害对湖南晚稻危害特点及调控技术[J].湖南农业科学,2009(7):67-69.
- [4] 刘娟,杨沈斌,王主玉,等.长江中下游水稻生长季极端高温和低温事件的演变趋势[J].安徽农业科学,2010,38(25):13881-13884.
- [5] 江福英,李延,翁伯琦.植物低温胁迫及其抗性生理[J].福建农业学报,2002,17(3):190-195.
- [6] 王萍,张成军,陈国祥,等.低温对水稻剑叶膜脂过氧化和脂肪酸组分的影响[J].作物学报,2006,32(4):568-572.
- [7] 施大伟,张成军,陈国祥,等.低温对高产杂交稻抽穗期剑叶光合色素含量和抗氧化酶活性的影响[J].生态与农村环境学报,2006,22(2):40-44.
- [8] 王萍,张成军,陈国祥,等.低温对水稻幼苗类囊体膜脂肪酸组分和膜脂过氧化的影响[J].中国水稻科学,2006,20(4):401-405.
- [9] 王静,孙磊,张成军,等.杂交稻幼苗期对低温胁迫的生理反应[J].作物学报,2006,32(7):1049-1056.
- [10] 李霞,戴传超,焦德茂,等.光照条件下低温对水稻籼粳亚种幼苗抗氧化物质含量的影响[J].植物生理与分子生物学学报,2006,32(3):345-353.
- [11] 邓化冰,肖应辉,唐文帮,等.两系杂交早稻父本 996 孕穗期和开花期耐冷性评价[J].杂交水稻,2009,24(6):62-65.
- [12] 李合生,孙群,赵世杰,等.植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:167-169.
- [13] Scebbba F, Sebastiani L, Vitagliano C. Protective enzymes against activated oxygen species in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling: Response to cold acclimation[J]. Plant Physiol, 1999, 155: 762-768.
- [14] 张宪政.作物生理研究法[M].北京:农业出版社,1992:197-198,201-212.
- [15] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol, 1981, 22: 867-880.
- [16] Health R L, Pakcer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I: Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Arch Biochem Biophys, 1968, 125: 189-198.
- [17] 王爱国,罗广华.植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J].植物生理学通讯,1990(6):55-57.
- [18] Patterson B D, Macrae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium(IV) [J]. Anal Biochem, 1984, 134: 487-492.
- [19] 张素勤,程智慧,耿广东.低温胁迫对茄子幼苗生理特性的影响[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2006,32(4):393-396.
- [20] 邵继荣,刘永胜,周仕春,等.冷锻炼对提高水稻幼苗抗寒性及其细胞器膜结构稳定性的影响[J].作物学报,1999,25(5):569-574.
- [21] 邓化冰,王天顺,肖应辉,等.低温对开花期水稻颖花保护酶活性和过氧化物积累的影响[J].华北农学报,2010,25(增刊):62-67.
- [22] 张桂莲,陈立云,张顺堂,等.高温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响[J].作物学报,2006,32(9):1306-1310.

责任编辑:杨盛强