

没顶淹水对敏感性水稻幼苗生长及抗氧化酶活性的影响

马丽峰^{1,2}, 李佐同^{1,2,*}, 杨克军^{1,2}, 赵长江^{1,2,*}, 徐晶宇^{1,2}, 杨荣斌³, 于高波^{1,2}, 赵莹¹, 石新新¹, 许艳梅¹, 刘承¹, 闫博巍¹

¹黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江大庆163319; ²黑龙江省教育厅寒地作物种质改良与栽培重点实验室, 黑龙江大庆163319; ³北大荒垦丰种业股份有限公司北安分公司, 黑龙江黑河164000

摘要: 以水稻品种‘空育131’为材料, 进行2、4、6、8 d没顶淹水处理并恢复3 d, 研究不同程度淹水对水稻生长及抗氧化酶活性的影响。结果表明, 随淹水处理时间的延长, 叶片和节间显著伸长, 导致水稻徒长; 光合色素及相对含水量下降; 过氧化氢(H₂O₂)含量逐渐升高, 丙二醛(MDA)含量先升后降, 在没顶淹水4 d时达到顶点; 超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性先升后降, 在没顶淹水6 d时分别增加80.91%和51.54%, 过氧化氢酶(CAT)活性在没顶淹水8 d比对照增加66.59%, 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性相对稳定, 谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性先升后降, 在淹水4 d时增加78.82%。去水恢复后水稻幼苗仍倒伏, 所有处理的地上和地下部干重均增加, 淹水2和4 d后恢复的水稻根冠比上升, 淹水6和8 d后恢复的水稻根冠比下降; MDA和H₂O₂含量持续增加, 促使CAT和APX活性相应增加, 以参与活性氧的清除。结果表明, 淹水导致光合色素含量和植株相对含水量下降, 酶促和非酶活性氧防卫系统急剧开启, 根冠比失调、植株营养失衡, 全株徒长和去水倒伏; 恢复期通过提高CAT和APX活性, 清除不断增加的活性氧, 淹水处理的程度不同, 根冠比变化不同, 恢复机制也不同。

关键词: 水稻; 淹水; 抗氧化酶活性

Effects of Submergence on Growth and Antioxidant Enzymes Activities of Sensitive Rice (*Oryza sativa*) Seedlings

MA Li-Feng^{1,2}, LI Zuo-Tong^{1,2,*}, YANG Ke-Jun^{1,2}, ZHAO Chang-Jiang^{1,2,*}, XU Jing-Yu^{1,2}, YANG Rong-Bin³, YU Gao-Bo^{1,2}, ZHAO Ying¹, SHI Xin-Xin¹, XU Yang-Mei¹, LIU Cheng¹, YANG Bo-Wei¹

¹College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; ²Key Laboratory of Crop Germplasm Improvement and Cultivation in Cold Regions of Heilongjiang Province Education Department, Daqing, Heilongjiang 163319, China; ³Beidahuang Kenfeng Seed Company Limited Beian Branches, Heihe, Heilongjiang 164000, China

Abstract: In this study, rice (*Oryza sativa*) ‘Kongyu 131’ was used as experimental material, 2, 4, 6, 8-day submergence treatments and a subsequent 3-day recovery were conducted, and the impacts of different degrees of submergence on the growth and antioxidant parameters of rice were investigated. The results showed that the significant elongation of leaves and internodes resulted in overgrowth of rice seedlings; photosynthetic pigments and relative water content decreased; hydrogen peroxide (H₂O₂) content increased gradually, while malondialdehyde (MDA) content first increased and then decreased, reaching its peak on the fourth day of treatment. The activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) also first increased and then decreased, rising 80.91% and 51.54% on the sixth day of treatment respectively; catalase (CAT) activity increased 66.59% on the eighth day of treatment compared to the control; ascorbate peroxidase (APX) activity was relatively stable, while glutathione peroxidase (GPX) activity increased at first (reached a high level of 78.82% on the fourth day) and then decreased. The subsequent 3-day recovery was not able to restore the lodging phenotype of rice seedlings, and both above-ground and underground dry weights increased under all treatments. The root/shoot ratio of rice seedlings recovered from 2 or 4 days of submergence treatment increased, while the one recovered from 6 or 8 days of submergence treatment decreased. MDA and reactive oxygen species (ROS) con-

收稿 2015-01-23 修定 2015-06-26

资助 国家自然科学基金项目(31101429)、黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511360)、黑龙江八一农垦大学引进人才科研启动基金项目(2011)、黑龙江八一农垦大学研究生创新项目(YJSCX2014-Y10)、黑龙江省教育厅大学生创新创业训练计划项目(12511360)。

* 通讯作者(E-mail: lxx6401999@163.com, Tel: 0459-6819001; E-mail: zhaocj15@126.com, Tel: 0459-6819185)。

tents continued to increase, prompting the activities of CAT and APX to increase, subsequently participating in scavenging ROS. Our results indicated that submergence resulted in decrease in photosynthetic pigments and relative water content, and quickly triggered the operation of enzymatic and non-enzymatic ROS scavenging system, leading to root/shoot imbalance, nutritional deficiency of rice seedlings, the whole plant overgrowth and lodging during the subsequent recovery. During the recovery, CAT and APX activities were triggered for the removal of the increasing ROS, and different submergence severity resulted in different root/shoot ratio changes, implying different recovery mechanisms.

Key words: rice; submergence; antioxidant enzyme activity

随着全球气候的变化, 水文波动的频率和幅度呈现不规律变化, 洪涝灾害范围逐年扩大, 发生频率不断提高, 暴雨及洪涝灾害等极端降水导致粮食减产(Kukao等2011)。Bailey-Serres等(2010)研究发现全世界约30%的稻田在低海拔和农田灌溉区, 由于长期降雨或不能及时排涝, 导致水稻处于淹没状态下生长。近年来, 水稻的有机栽培对水稻淹水理论和应用提出了新的更高要求。若水稻较田间杂草耐淹, 在不影响产量和品质的前提下, 适当的淹水可以起到抑制或消除杂草的作用, 能够代替农药使用, 不仅减少农药带来的环境问题, 还可以节约成本。

Catlin将耐淹水稻定义为在经过10~14 d没顶淹水后, 植株仍然可以成活, 退水之后能够恢复生长的水稻, 并且淹水期间茎秆不快速伸长(Sauter 2000)。淹水侵袭后由于氧气、光照供应不足, 使叶片萎蔫、卷曲、失绿(李翔和赵金萍2010)。已有研究表明淹水导致玉米(*Zea mays*)、乌桕(*Sapium sebiferum*)等多种植物处于低氧、弱光、高CO₂的环境下, 引起植物形态学及生理学的变化(僧珊珊等2012; Mittler等2004)。Aziz等(2005)研究发现淹水导致水稻株高、分蘖数增加及根冠比失衡。淹水还使水稻叶片失绿, 叶绿素含量降低, 光合能力下降, 影响长势及产量, 造成严重的经济损失(徐鹏等2013); 淹水还导致气孔关闭, 阻碍气体交换和CO₂同化, 引起质膜损伤, 积累大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS) (Yordanova等2004)。对水分胁迫下高产杂交稻功能叶的研究表明, 淹水能够增强叶片过氧化物酶(peroxidase, POD)和抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)等相关酶活性, 以提高植物保护能力(刘少华等2004)。此外, Hattori等(2009)发现, 淹水胁迫下含有*snorkell* (*SK1*和*SK2*)基因的水稻通过不停地快速生长来获

取充足的氧气而使其生存; Xu等(2006)研究也发现含有*submergence 1 (SUB1)*基因的水稻品种, 通过抑制伸长生长节约碳水化合物的消耗使新叶在解除涝害时能正常生长, 然而只有少数水稻品种才具有这类基因。目前, 关于不含有上述两类基因的水稻品种的研究较少, 只关注了水稻短时间淹水后的形态和生理生化的变化, 这在一定程度上制约了对水稻涝害机理的了解。本试验以黑龙江省大面积栽培的不含耐淹基因的水稻品种‘空育131’为材料, 研究不同淹水时间对水稻幼苗生长及抗氧化酶活性的影响, 以期筛选耐涝基因及培育新品种提供理论依据, 也为改善涝渍地区生态环境、保障粮食安全提供参考。

材料与方法

1 植物材料与处理

通过没顶淹水处理评价24个黑龙江省主要粳稻品种, 选择淹水敏感的(不耐淹)水稻(*Oryza sativa* L.)品种‘空育131’进行淹水处理。精选籽粒饱满、大小一致的水稻种子, 用10%次氯酸钠消毒, 蒸馏水冲洗后置于28 °C培养箱内暗培养催芽, 挑选长势一致的种子置于排列在泡沫漂浮板上的1.5 mL离心管(剪掉底部)中, 确保种子根穿过离心管底部的小孔, 侵入下方用于培养的蒸馏水, 每2 d更换一次蒸馏水。水稻幼苗生长至二叶一心期时, 加入蒸馏水进行没顶淹水处理, 确保水面高于叶尖5 cm。淹水处理2、4、6、8 d (S2、S4、S6、S8)后分别取样, 淹水处理后恢复3 d (R2、R4、R6、R8)再取样, 处理期间均2 d更换一次蒸馏水。培养条件为: 昼夜温度为(25±2) °C/(18±2) °C, 白天光照12 h, 光强为1 000 μmol·m⁻²·s⁻¹, 相对湿度为60%~80%。每个处理重复3次。

2 方法

2.1 生长指标及地上部相对含水量的测定

每个处理取10株幼苗,测株高、根长、二叶和心叶及不同节间的长度。将地上部和地下部分离,分别测定地上部和地下部鲜重及干重(105 °C烘箱中杀青15 min, 80 °C烘干至恒重)。按以下公式计算:根冠比=地下部干重/地上部干重;地上部相对含水量=[(鲜重-干重)/鲜重]×100%。

2.2 过氧化氢(H₂O₂)含量及超氧阴离子(O₂⁻)染色

参照Velikova等(2000)方法测定H₂O₂含量。采用氮蓝四唑(nitrotetrazolium blue chloride, NBT)和二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)染色法测定O₂⁻(Fukao等2011)。取经不同淹水处理及恢复3 d的水稻叶片,分别进行NBT (染色液含0.5 mg·mL⁻¹ NBT、10 mmol·L⁻¹磷酸钾, pH 7.6)和DAB (染色液含1 mg·mL⁻¹ DAB、50 mmol·L⁻¹ Tris醋酸盐, pH 5.0)染色, 25 °C暗下染色24 h后,取出叶片置于95%乙醇沸水浴20 min,脱色后于40%甘油中保存。

2.3 光合色素含量的测定

将叶片剪碎后置于试管中,并加入5 mL 95%乙醇, 28 °C培养箱中浸提2~3 d,以95%乙醇溶液作为参比溶液,用分光光度计测定提取液在663、

645、470 nm下的光密度值。测定类胡萝卜素(carotenoid, Car)、叶绿素a (chlorophyll a, Chla)和叶绿素b (chlorophyll b, Chlb)含量。

2.4 抗氧化酶活性和MDA含量的测定

参照Giannopolitis和Ries (1977)的方法测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和POD活性;参照Nakano和Asada (1981)的方法测定APX活性;参照Egley等(1983)的方法测定谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)活性;参照Aebi (1984)的方法测定过氧化氢酶(catalase, CAT)活性;参照Kramer等(1991)的方法测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。

2.5 数据分析

采用Excel 2003进行数据整理,SPSS 19.0软件进行方差分析,采用Duncan检验法进行多重比较及显著性分析。图表中的数据均为3次重复的平均值。

实验结果

1 淹水处理对水稻生长的影响

1.1 淹水处理对水稻株高、根长、干重、根冠比及相对含水量的影响

表1显示,不同淹水处理对水稻生长指标的影

表1 不同淹水处理对水稻株高、根长、干重及根冠比的影响

Table 1 Effects of different submergence treatments on plant height, root length, dry weight and root/shoot ratio of rice

处理	株高/cm	根长/cm	地上部干重/g	地下部干重/g	根冠比	
淹水	SC2	27.29±0.05 ^{hi}	8.90±0.02 ⁱ	0.113±0.00 ^{ef}	0.046±0.00 ^f	0.407±0.02 ^g
	S2	25.53±0.00 ⁱ	9.13±0.02 ^{gh}	0.174±0.00 ^d	0.047±0.00 ^f	0.270±0.02 ⁿ
	SC4	27.54±0.40 ^h	9.83±0.01 ^f	0.264±0.00 ^{ab}	0.083±0.00 ^{dc}	0.314±0.02 ^m
	S4	30.45±0.01 ^{ef}	10.15±0.01 ^e	0.250±0.00 ^b	0.089±0.00 ^{dc}	0.356±0.04 ^k
	SC6	29.65±0.00 ^{fg}	11.23±0.00 ^d	0.231±0.00 ^c	0.101±0.00 ^c	0.348±0.02 ^l
	S6	31.49±0.00 ^d	11.18±0.00 ^d	0.163±0.00 ^{dc}	0.144±0.00 ^a	0.437±0.02 ⁱ
	SC8	32.46±0.02 ^b	12.51±0.30 ^a	0.271±0.00 ^a	0.140±0.00 ^a	0.516±0.00 ^c
	S8	32.89±0.04 ^b	11.15±0.00 ^d	0.113±0.02 ^{ef}	0.095±0.00 ^d	0.772±0.02 ^b
淹水后恢复	RC2	30.84±0.02 ^e	9.35±0.03 ^g	0.191±0.00 ^{cd}	0.087±0.00 ^{dc}	0.455±0.02 ^g
	R2	28.09±0.01 ^g	9.04±0.01 ^h	0.065±0.00 ^g	0.051±0.00 ^{ef}	0.784±0.03 ^a
	RC4	28.12±0.02 ^g	10.35±0.03 ^c	0.210±0.02 ^c	0.102±0.00 ^c	0.485±0.05 ^f
	R4	30.82±0.70 ^e	10.23±0.00 ^{ef}	0.144±0.00 ^e	0.072±0.00 ^e	0.500±0.26 ^{dc}
	RC6	29.82±0.60 ^f	11.64±0.02 ^c	0.246±0.00 ^{ab}	0.121±0.00 ^b	0.491±0.04 ^{ef}
	R6	31.57±0.01 ^d	12.06±0.53 ^b	0.220±0.00 ^c	0.097±0.00 ^d	0.440±0.15 ^h
	RC8	33.92±0.02 ^a	12.61±0.02 ^a	0.279±0.02 ^a	0.141±0.04 ^a	0.505±0.12 ^{dc}
	R8	32.12±0.02 ^{cd}	11.35±0.05 ^{cd}	0.196±0.01 ^{cd}	0.097±0.00 ^d	0.494±0.03 ^e

表中数值为3次重复均值±标准差;根据Duncan检验,同一列数据后的不同字母表示在0.05水平上差异显著。S2、S4、S6、S8表示淹水2、4、6、8 d的处理,SC2、SC4、SC6、SC8表示各淹水处理的同期对照;R2、R4、R6、R8表示经2、4、6、8 d淹水后恢复3 d的处理,RC2、RC4、RC6、RC8表示各淹水处理后恢复的同期对照。表2、图2同此。

响显著。与非淹水处理的同期生长对照相比, 淹水2 d的株高下降, 其他3个淹水处理株高均增加, 随着淹水时间的延长, 株高增幅递减, 分别与对照相比增加10.56%、6.20%和1.32%。淹水2和4 d处理导致幼苗根长增加显著, 比对照分别增加2.58%和3.25%; 淹水6和8 d处理使根长缩短, 其中处理8 d水稻根长比对照降低10.87%。地上部干重的变化趋势与株高相近, 即淹水2 d干重增加, 其余淹水处理干重均降低; 6 d淹水处理的地下部干重比对照增加42.57%, 而淹水8 d的地下干重显著下降, 与对照相比降低32.14%。此外, 只有淹水2 d的水稻幼苗根冠比低于对照, 其余淹水处理的根冠比均增加, 分别比对照增加13.26%、25.56%和49.49% (表1)。随淹水处理的持续, 地上部相对含水量呈下降趋势, 比对照分别降低5.7%、1.75%、19.48%和26.12% (图1)。结果表明, 没顶淹水2 d是水稻幼苗忍受淹水生长调控的拐点, 长时间淹水导致水稻根冠比增大, 地上和地下部营养生长失衡。

不同淹水处理经恢复3 d后, 与恢复期对照相比, 株高有不同程度的恢复(除淹水2 d); 淹水6 d的根长比对照增加3.6%; 各淹水处理的地上和地下部干重显著低于对照。与淹水处理相比, 淹水8 d恢复后的地上部干重得到较好恢复, 比对照增加73.45%; 根冠比变化趋势不尽相同, 只有淹水8 d恢

复后的根冠比降低对照的35.93%, 其他淹水处理后水稻根冠比显著增加(表1)。此外, 淹水处理均导致水稻地上部相对含水量降低, 引起恢复期倒伏(图1)。总体而言, 各淹水处理恢复后的根冠比与淹水相比均发生显著变化。

1.2 淹水处理对水稻二叶、心叶及不同节间长度的影响

由表2可见, 与对照相比, 淹水处理导致水稻

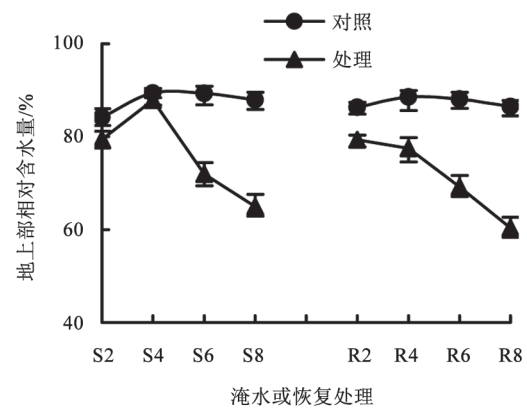


图1 不同淹水处理对水稻地上部相对含水量的影响
Fig.1 Effects of different submergence treatments on shoot relative water content in rice

S2、S4、S6、S8表示淹水2、4、6、8 d的处理; R2、R4、R6、R8表示经2、4、6、8 d淹水后恢复3 d的处理。图3、5~7同此。

表2 不同淹水处理对水稻二叶和心叶及不同节间长度的影响

Table 2 Effects of different submergence treatments on rice 2-leaf, heart-leaf and different internodes length

处理		二叶长/cm	心叶长/cm	第一节间长/cm	第二节间长/cm	第三节间长/cm
淹水	SC2	7.62±0.02 ^b	4.98±0.04 ⁱ	3.16±0.02 ^f	3.23±0.00 ⁱ	2.65±0.00 ^g
	S2	8.10±0.00 ^c	9.06±0.01 ^g	3.36±0.00 ^{gh}	3.26±0.00 ^{hi}	2.70±0.00 ^f
	SC4	7.75±0.07 ^e	8.26±0.01 ^h	3.40±0.03 ^g	3.56±0.07 ^g	3.55±0.02 ^e
	S4	8.49±0.01 ^b	11.39±0.02 ^e	4.00±0.00 ^d	3.98±0.00 ^f	3.56±0.41 ^e
	SC6	8.12±0.01 ^c	11.05±0.33 ^{ef}	4.10±0.01 ^c	3.92±0.00 ^{fg}	3.80±0.00 ^e
	S6	8.90±0.08 ^a	11.63±0.00 ^d	4.30±0.00 ^b	4.94±0.02 ^a	4.52±0.04 ^a
	SC8	8.50±0.15 ^b	13.75±0.00 ^c	4.20±0.05 ^b	4.10±0.00 ^e	3.83±0.00 ^{cd}
	S8	7.86±0.03 ^f	24.05±0.02 ^a	4.50±0.02 ^a	4.72±0.00 ^b	4.03±0.00 ^c
淹水后恢复	RC2	7.74±0.03 ^e	5.60±0.04 ⁱⁱ	3.50±0.01 ^f	3.83±0.00 ^{fg}	3.83±0.02 ^c
	R2	8.23±0.00 ^d	9.07±0.08 ^g	3.52±0.02 ^e	3.30±0.03 ^h	3.77±0.19 ^c
	RC4	7.97±0.00 ^e	8.75±0.01 ^h	3.60±0.04 ^{ef}	4.06±0.01 ^{ef}	3.66±0.00 ^d
	R4	8.55±0.06 ^b	11.73±0.31 ^d	4.00±0.03 ^d	4.21±0.00 ^d	3.69±0.11 ^d
	RC6	8.37±0.03 ^c	11.13±0.06 ^{ef}	4.10±0.02 ^c	4.12±0.00 ^e	3.67±0.03 ^d
	R6	8.95±0.05 ^a	16.61±0.01 ^b	4.20±0.03 ^{bc}	4.52±0.00 ^c	4.17±0.00 ^b
	RC8	8.55±0.01 ^b	13.73±0.15 ^{cd}	4.24±0.06 ^b	4.18±0.14 ^d	3.68±0.03 ^d
	R8	7.84±0.02 ^f	24.07±0.02 ^a	4.21±0.06 ^b	4.69±0.01 ^b	4.08±0.01 ^{bc}

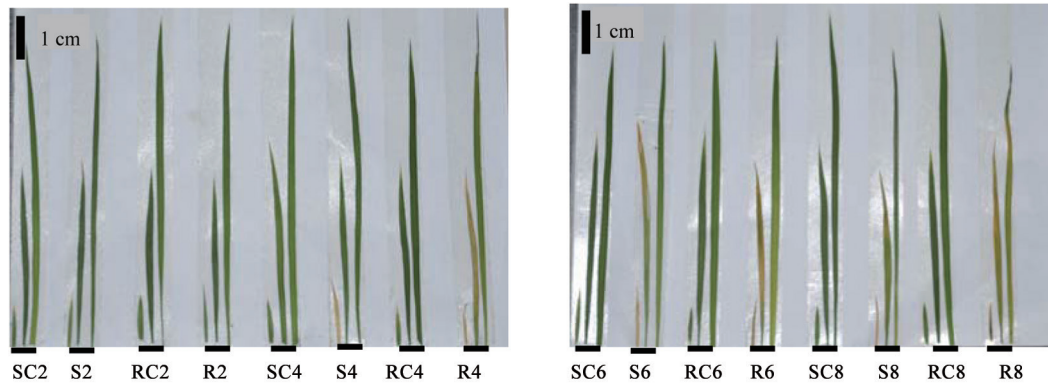


图2 不同淹水处理对水稻叶片的影响
Fig.2 Effects of different submergence treatments on rice leaves

光合叶片伸长。其中,淹水2、4和6 d的心叶和二叶长度比对照增加显著,淹水8 d的心叶比对照增加78.77%,二叶生长受到抑制,比对照降低7.52%。与对照相比,淹水引起水稻第一、二、三节间长度增加,淹水处理对节间长度响应不同。淹水2 d的第一个节间比对照增加3.22%,淹水4 d的第一节间和第二节间比对照增加17.64%和11.79%,淹水6和8 d引起3个节间显著伸长。结果表明,水稻第一、第二节间长度在3个淹水处理下(除淹水2 d外)显著增加,对淹水最敏感。

此外,由表2还可知,淹水2和4 d恢复后对水稻叶片长度和节间伸长影响显著,均高于对照;淹水处理时间不同,恢复程度也不同,淹水2 d的心叶及第一、第三节间恢复效果显著,比淹水时增加1.6%、4.76%和39.62%,淹水4 d恢复后的心叶及第二、第三节间比淹水时增加2.98%、3.21%和3.65%,而淹水6和8 d恢复的效果不显著。可见,2和4 d轻度淹水促进心叶、二叶及节间伸长生长,而重度淹水后恢复的效果不显著。

2 淹水处理对水稻中光合色素含量的影响

与对照相比,随淹水处理时间的延长,水稻不同部位叶片失绿明显,淹水6和8 d的叶片明显黄化(图2)。图3显示,淹水2 d导致叶片Car含量比对照下降32%,淹水6 d处理的Car含量相对稳定,但淹水处理8 d导致Car进一步大幅降低,比对照降低53%,表明Car对淹水较为敏感。Chla和Chlb含量经淹水2 d处理后未发生明显变化,淹水4和6 d处理的Chla含量比对照降低4.18%和22.07%,淹水8 d出

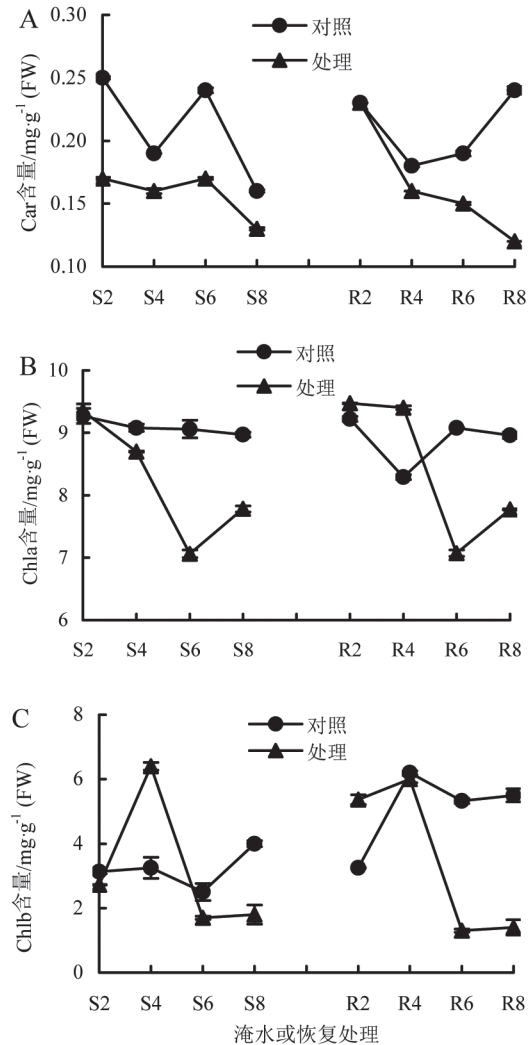


图3 不同淹水处理对水稻中Car、Chla和Chlb含量的影响
Fig.3 Effects of different submergence treatments on Car, Chla and Chlb contents in rice

现回升,但仍低于对照。经淹水4 d处理,Chlb含量出现跃升,比对照增加68%;淹水处理6 d,Chlb含量比对照降低44%。淹水处理恢复后,仅有淹水2和4 d的Car、Chla和Chlb含量恢复程度趋于对照;随淹水处理的持续,光合色素含量显著低于对照,无法恢复。由此可见,没顶淹水6 d是水稻幼苗叶片中Car、Chla和Chlb含量变化的拐点,长时间淹水导致光合色素含量显著下降,严重影响水稻光合作用。

3 淹水处理对水稻中 H_2O_2 、 O_2^- 和MDA含量的影响

DAB和NBT染色结果显示,与对照相比,随淹水处理时间的延长,水稻叶片蓝色、棕色斑点逐渐扩大加深,表明淹水导致水稻叶片中 O_2^- 和 H_2O_2 含量逐渐增加(图4)。 H_2O_2 含量分析结果与染色结果一致,即随淹水时间的延长 H_2O_2 含量稳步升高,淹水6 d处理比对照增加66.59%,达到显著水平(图5-A)。此外,MDA含量的测定结果显示,与对照相

比,经淹水处理的MDA含量表现为先升后降的变化趋势,处理2、4、6 d均导致MDA含量增加,处理8 d比对照降低25.47%,表明淹水处理使水稻质膜受损严重(图5-B)。淹水处理恢复后,除淹水2 d处理外,叶片中 O_2^- 和 H_2O_2 含量仍增加,这与恢复期MDA含量显著增加的结果相互佐证(图4和5),表明ROS的稳态可能是植物恢复的信号。

4 淹水处理对水稻中抗氧化酶活性的影响

图6显示,与对照相比,淹水处理导致水稻叶片中SOD和POD活性呈先升后降的变化趋势;除淹水2 d处理的SOD活性降低外,其他均高于对照,淹水6 d处理的SOD活性比对照增加80.91%,POD活性比对照增加51.54%。可见,没顶淹水6 d是水稻幼苗叶片中SOD和POD活性的峰点。不同淹水处理的水稻叶片中CAT活性呈现逐渐升高的趋势,均显著高于对照。

不同淹水处理恢复3 d后,叶片中SOD、POD

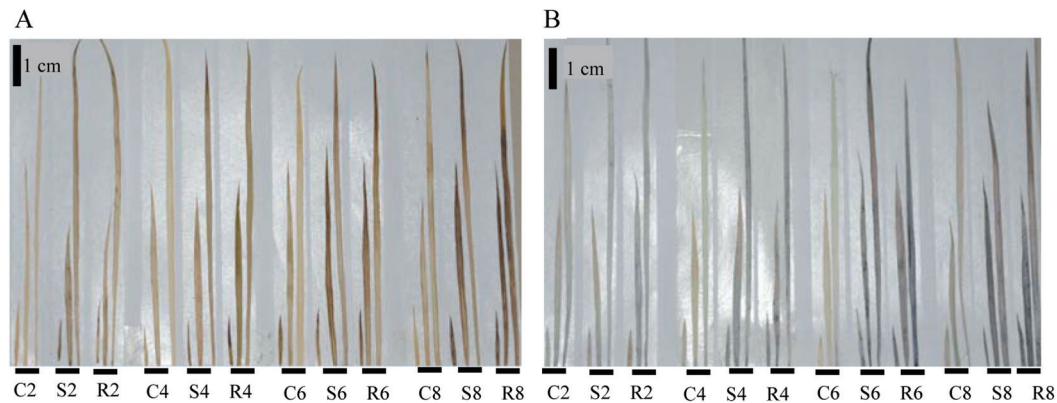


图4 水稻叶片的DAB (A)和NBT (B)染色
Fig.4 DAB (A) and NBT (B) staining on leaves of rice

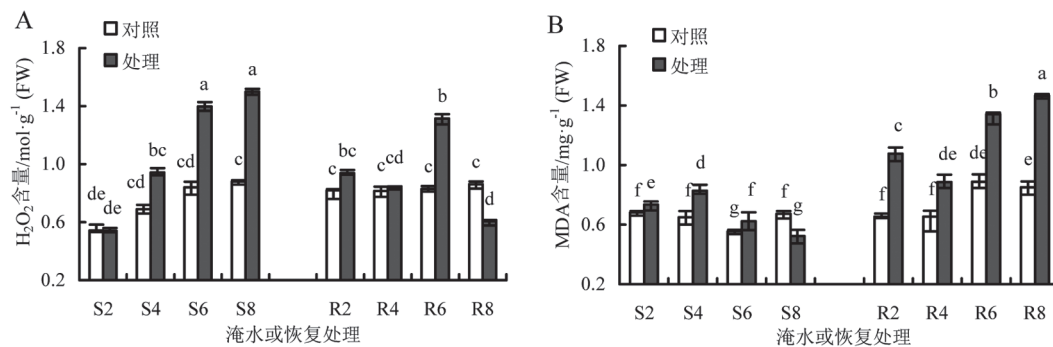


图5 不同淹水处理对水稻中 H_2O_2 和MDA含量的影响
Fig.5 Effects of different submergence treatments on H_2O_2 and MDA contents in rice

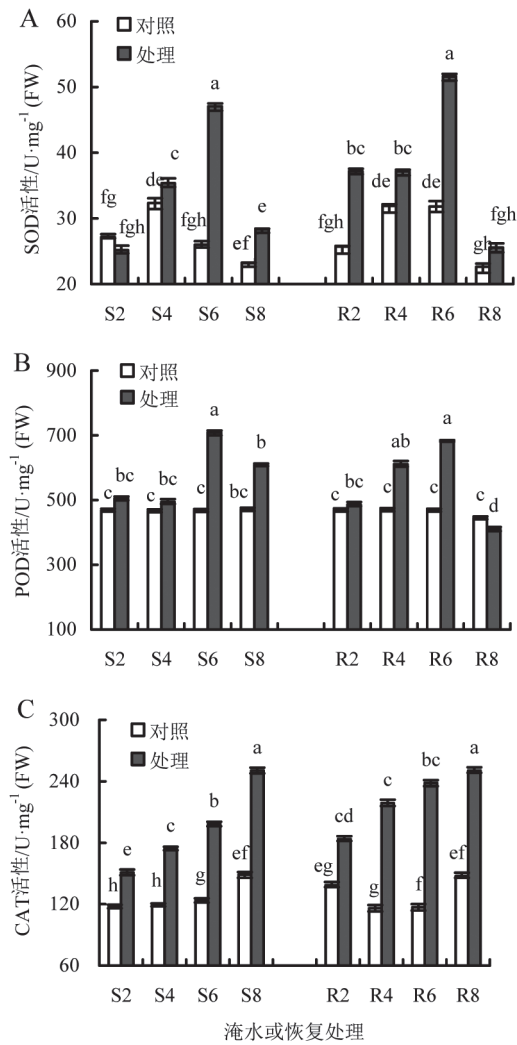


图6 不同淹水处理对水稻叶片中SOD、POD和CAT活性的影响

Fig.6 Effects of different submergence treatments on the SOD, POD and CAT activities in rice leaves

及CAT活性变化各异。除淹水8 d恢复后的POD活性比对照降低19.69%外,其他处理的POD、SOD及CAT活性均高于对照。淹水2和4 d后恢复的SOD活性与淹水处理相比呈增加趋势,表明短期淹水恢复后清除ROS的能力增强,而淹水处理8 d恢复后的POD活性降低,清除ROS能力减弱(图6)。

由图7可见,与对照相比,各淹水处理和恢复后均引起水稻叶片APX和GPX活性增加,在淹水处理过程中APX活性相对稳定;GPX活性呈升-降-升的波动变化,淹水4 d处理比对照增加78.8%。不同淹水(除淹水2 d外)恢复后,APX活性比淹水处理增加6.74%、19.89%和23.09%;GPX活性变化则与APX活性变化趋势相反,淹水4、6和8 d恢复后的GPX活性比淹水时降低32.58%、19.41%和24.09%。结果表明:APX活性对淹水较为敏感,对淹水强度响应能力较弱;在恢复过程中,GPX活性减弱,而APX活性逐渐增强,说明AsX-GSH循环在淹水逆境中起到清除ROS的作用。

讨论

水稻苗期生长状况是决定水稻产量的重要因素。本研究表明,淹水导致水稻幼苗地上和地下部干重降低,没顶淹水2 d是水稻幼苗调节淹水胁迫的转折点,长时间(8 d)淹水导致水稻根冠比增大,同时促进心叶、二叶及各节间伸长;这与王征宏等(2013)研究小麦幼苗淹水获得的结论相似。

光合色素不仅反映了植物处于特定环境下承受潜在光胁迫的程度,而且Car具有清除活性氧自由基的功能(Caldwell和Britz 2006; Ohtsuka等

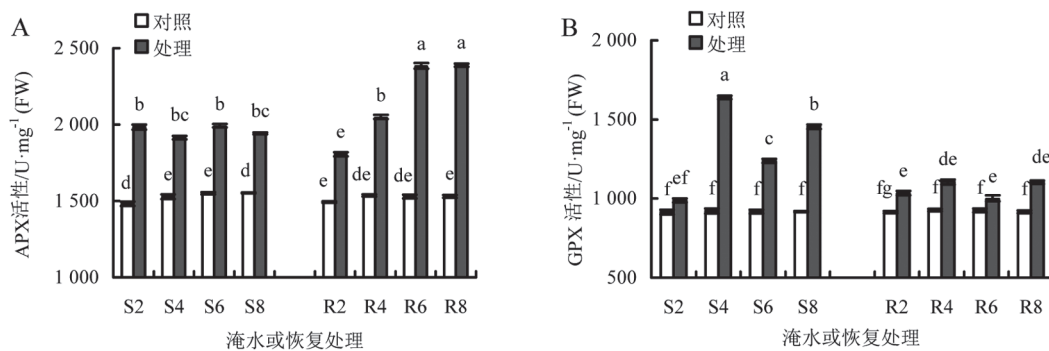


图7 不同淹水处理对水稻叶片中APX和GPX活性的影响

Fig.7 Effects of different submergence treatments on APX and GPX activities in rice leaves

1997)。本研究结果表明, 淹水处理明显降低水稻叶片中Car和叶绿素等光合色素的含量, 这与卜令铎等(2010)对玉米及李昌晓等(2005)对落羽杉幼苗淹水的研究结果一致。本研究中Car含量在淹水处理2 d时下降最显著, 随淹水处理时间的延长基本保持相对稳定, 可能与其参与清除ROS钝化失活有关。

各种逆境对细胞的影响, 尤其是对ROS的损伤首先作用于质膜。本研究表明不同淹水处理导致水稻叶片中 O_2^- 和 H_2O_2 含量逐渐增加, 而质膜受损的指标——MDA含量却表现出先升高后降低的变化, 这可能是淹水使植物ROS过量积累从而导致蛋白质功能及质膜结构受损所致。

逆境下植物体内氧自由基含量的增加会诱导SOD活性上升, 经歧化反应形成 O_2^- 和 H_2O_2 , H_2O_2 再被POD和CAT等抗氧化酶催化清除(赵天宏等2008)。本研究发现, 淹水胁迫下水稻叶片中SOD和POD活性呈先升后降的变化趋势, 随淹水处理时间的延长, 胁迫加重而活性降低, 这与水分胁迫下玉米、芝麻和喜树幼苗研究结果相一致(葛体达等2005; 闫永奎等2011; 贾虎森和李德全2001; 蒋丽娜等2012)。但是本研究中CAT活性在淹水及恢复期间均表现出持续增加的趋势, 与上述研究结果不尽相同, 可能与不同保护酶针对不同逆境而采取不同策略协调分工保护质膜有关(王芳等2014)。

APX和GPX是AsX-GSH循环中的关键酶, 是有效清除植物体内ROS的另一条重要途径(Nathan和Ding 2010)。本文结果表明, 随淹水处理的持续, APX和GPX活性比对照显著增加, 而且两者在淹水和恢复期间的变化正好相反。表明增加SOD和POD等保护酶活性不足以消除淹水所积累过量的ROS, 需要提高APX和GPX活性协同抵抗伤害(王俊刚等2002); 这与陆燕元和邓西平(2010)在马铃薯淹水研究中的结果相似, 即淹水诱导AsX-GSH循环中相关酶活性。

值得一提的是, 不同淹水处理恢复后对水稻根冠比的影响不尽相同, 轻度淹水处理后恢复的水稻根冠比增加, 而重度淹水处理恢复后的降低。此时, O_2^- 和 H_2O_2 的含量也表现出不断增加的趋势, 而且恢复期可能仅有CAT和APX参与清除不

断增加的ROS, 导致清除ROS的能力下降, 在一定程度上累积ROS, 可能与建立ROS稳态, 启动不同的恢复机制密切相关(林植芳和刘楠2012)。

参考文献

- 卜令铎, 张仁和, 常宇, 薛吉全, 韩苗苗(2010). 苗期玉米叶片光合特性对水分胁迫的响应. 生态学报, 30 (5): 1184~1191
- 葛体达, 隋方功, 白莉萍, 吕银燕, 周广胜(2005). 水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响. 中国农业科学, 38 (5): 922~928
- 贾虎森, 李德全(2001). 水分胁迫下苹果叶片的 H_2O_2 代谢. 植物生理学报, 27 (4): 321~324
- 蒋丽娜, 徐娜, 常江, 郜红建, 章力干(2012). 持续淹水对小麦养分吸收动态和产量的影响. 中国农学通报, 28 (27): 113~117
- 李昌晓, 钟章成, 刘芸(2005). 模拟三峡库区消落带土壤水分变化对落羽杉幼苗光合特性的影响. 生态学报, 25 (8): 1953~1959
- 李翔, 赵金萍(2010). 连续淹水对毛桃幼苗形态及部分生理指标的影响. 现代农业科技, (15): 129~133
- 林植芳, 刘楠(2012). 活性氧调控植物生长发育的研究进展. 植物学报, 47 (1): 74~86
- 刘少华, 陈国祥, 胡艳, 吕川根, 吴国荣, 杨艳华(2004). 高产杂交稻“两优培九”功能叶抗氧化系统对水分胁迫的响应. 作物学报, 30 (12): 1244~1249
- 陆燕元, 邓西平(2010). 转入Cu/Zn SOD和APX基因对甘薯旱后复水的恢复作用. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 38 (1): 67~74
- 曾珊珊, 王群, 张永恩, 李潮海, 刘天学, 赵龙飞, 刘怀攀(2012). 外源亚精胺对淹水处理玉米的生理调控效应. 作物学报, 38 (6): 1042~1050
- 王芳, 孙周平, 刘义玲(2014). 缺氧及氧恢复对马铃薯块茎线粒体中活性氧及抗氧化酶的影响. 植物生理学报, 50 (3): 283~289
- 王俊刚, 陈国仓, 张承烈(2002). 水分胁迫2种生态型芦苇(*Phragmites communis*)的可溶性蛋白含量、SOD、POD、CAT活性. 西北植物学报, 22 (3): 561~565
- 王征宏, 赵威, 郭秀璞, 吕淑芳, 王春平, 邓西平(2013). 不同倍性小麦种子萌发特征及其对水分胁迫敏感性的差异. 植物生理学报, 49 (8): 817~823
- 徐鹏, 顾晓鹤, 孟鲁闽, 邱贺, 王慧芳(2013). 洪涝胁迫的水稻叶面积指数变化及其光谱响应研究. 光谱学与光谱分析, 33 (12): 3298~3302
- 闫永奎, 郝卫平, 梅旭荣, 白清俊, 刘琳(2011). 拔节期水分胁迫-复水对冬小麦干物质积累和水分利用效率的影响. 中国农业气象, 32 (2): 190~195
- 赵天宏, 孙加伟, 付宇(2008). 逆境胁迫下植物活性氧代谢及外源调控机理的研究进展. 作物杂志, (3): 10~13
- Aebi H (1984). Catalase *in vitro*. Methods Enzymol, 105: 121~126
- Aziz KA, Masaaki S, Muhammad Z, Safdar BM, Khalid N, Inayatullah A (2005). Effect of seedling age and water depth on morphological and physiological aspects of transplanted rice under high temperature. J Zhejiang Univ Sci, 6B (5): 389~395
- Bailey-Serres J, Fukao T, Ronald P, Ismail A, Heuer S, Mackill D (2010). Submergence tolerant rice: *SUB1*'s journey from landrace to modern cultivar. Rice, 3: 138~147

- Caldwell CR, Britz SJ (2006). Effect of supplemental ultraviolet radiation on the carotenoid and chlorophyll composition of green house-grown leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars. *J Food Compos Anal*, 19 (6): 637~644
- Egley GH, Paul RN Jr, Vaughn KC, Duke SO (1983). Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. *Planta*, 157: 224~232
- Fukao T, Yeung E, Bailey-Serres J (2011). The submergence tolerance regulator *SUB1A* mediates crosstalk between submergence and drought tolerance in rice. *Plant Cell*, 23: 412~427
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 59 (2): 309~314
- Hattori Y, Nagai K, Furukawa S, Song XJ, Kawano R, Sakakibara H, Wu JZ, Matsumoto T, Yoshimura A, Kitano H (2009). The ethylene response factors *SNORKEL1* and *SNORKEL2* allow rice to adapt to deep water. *Nature*, 460: 1026~1030
- Kramer GF, Norman HA, Krizek DT, Mirecki RM (1991). Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipid in cucumber. *Phytochemistry*, 30 (7): 2101~2108
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Breusegem FV (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci*, 9: 490~498
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22 (5): 867~880
- Nathan C, Ding A (2010). SnapShot: reactive oxygen intermediates (ROI). *Cell*, 140: 952
- Ohtsuka T, Ito H, Tanaka A (1997). Conversion of chlorophyll b to chlorophyll a and the assembly of chlorophyll with apoproteins by isolated chloroplasts. *Plant Physiol*, 113 (1): 137~147
- Sauter M (2000). Rice in deep water: "How to take heed against a sea of troubles". *Naturwissenschaften*, 87: 289~303
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci*, 151: 59~66
- Xu K, Xu X, Fukao T, Canlas P, Maghirang-Rodriguez R, Heuer S, Ismail AM, Bailey-Serres J, Ronald PC, Mackill DJ (2006). *Sub1A* is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice. *Nature*, 442: 705~708
- Yordanova RY, Christov KN, Popova LP (2004). Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environ Exp Bot*, 51: 93~101