

文章编号 :1003-8701(2014)01-0025-05

盐胁迫对两种杂交水稻萌芽中酶活性的影响

杨俊年,胡廷章,刘仁华,龙江,李绪鹏

(重庆三峡学院生命科学与工程学院,重庆 万州 404000)

摘要:为了弄清盐胁迫对水稻萌芽过程中的酶活性的影响,本试验对两个杂交水稻品种在萌芽过程中的发芽率、淀粉酶、超氧化物歧化酶、硝酸还原酶、过氧化氢酶和过氧化物酶 6 个指标在 4 个盐胁迫水平上的酶活性进行了 7 d 的测定。结果表明:1、两种水稻在相同的胁迫下的变化趋势较一致,但呈现出一定的种间差异;2、发芽率、淀粉酶和过氧化氢酶活性随盐胁迫浓度上升而显著地下降,随萌芽时间增加而上升;3、两个品种的超氧化物歧化酶、硝酸还原酶和过氧化物酶活性随萌芽时间有较大变化,在不同胁迫组间没有显著的差异。

关键词:杂交水稻;盐胁迫;酶活性;萌芽;趋势

中图分类号: S511.01

文献标识码: A

Influence of Salt Stress on Enzyme Activity on Two Kinds of Germinated Hybrid Rice

YANG Jun-nian, HU Ting-zhang, LIU Ren-hua, LONG Jiang, LI Xu-peng

(School of Life Science and Engineering, Chongqing Three Gorges University, Wanzhou 404000, China)

Abstract: In order to find out the influence of salt stress on enzyme activity in the process of rice germination, six indicators such as germination detected germination percentage, amylase, superoxide dismutase, nitrate reductase, catalase and peroxidase were determined in the test of two hybrid rice in seven days of seed germination at four salt stress level. The results showed that change trends of two kinds of rice were the same, but a certain difference existed between varieties. The germination percentage, amylase and catalase activity decreased significantly with salt stress concentration increasing, and they increased as germination time prolonged. Activity of superoxide dismutase, nitrate reductase and peroxidase of two kinds of rice changed greatly with germination time, but no significant differences were found in different stress groups.

Keywords: Hybrid rice; Salt stress; Enzyme activity; Germination; Trend

水稻对盐胁迫中度敏感^[1],盐渍化是严重制约水稻种植面积和产量的主要因素之一。全世界盐渍化土壤面积大约有 10 亿 hm^2 ^[2],我国约有 1 亿 hm^2 盐渍土地。由于自然与人为因素的影响,盐渍化形成与变化复杂却得不到及时治理^[3],土壤盐渍化程度还将进一步加深,预计到 2050 年,将会有超过 50% 的农业用地会被盐渍化^[1]。高浓度的钠离子会破坏作物生物膜,使作物直接或间接受到渗

透胁迫、离子失衡和营养缺乏,扰乱植物各种正常的生理生化代谢活动,最终导致植物生长发育迟缓乃至生命活性的停止^[4]。植物在长期进化过程中发展出一系列生理生化上的适应机制来抵御各种胁迫的影响。

本试验对两个杂交水稻品种在盐胁迫下的发芽率和 5 种酶共 6 个指标随胁迫浓度上升和萌芽时间延长而呈现的动态变化趋势进行了详尽的研究,为从分子水平上进一步揭示这些适应机理奠定科学基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

收稿日期:2013-07-04

基金项目:重庆市教委科技项目(KJ121106);重庆市科委自然科学基金计划资助项目(cstc2012jjA80009)

作者简介:杨俊年(1974-),男,硕士,讲师,研究方向:作物遗传育种。

供试两个水稻品种为:杂交水稻中优 117,属湖南金健种业有限公司;杂交水稻瑞优 5 号为重庆市为天农业有限责任公司。

1.2 研究方法

1.2.1 材料处理

选取均匀、饱满的水稻种子若干,均分 5 份装入大小相同的 5 个培养皿中并贴好标签。设 5 个浓度梯度(0 mmol/L、50 mmol/L、100 mmol/L、150 mmol/L 和 200 mmol/L)的氯化钠溶液浸种,不同浓度组分别用 0、1、2、3、4 组来表示,0 组即为对照组。在恒温箱中设 35℃条件下催芽 12 h。在各自的处理条件下,每个培养皿中各放 400 粒,种子直接在 12 mL 的处理液中分别进行滤纸皿床发芽试验,每天定时观察、补水,2 d 后开始连续 7 d 不间断的记录种子发芽数并取出研磨后测定 5 种酶的活性。

1.2.2 测定指标

发芽率测定按照:发芽率(%)=(发芽数/试验种子总数)×100

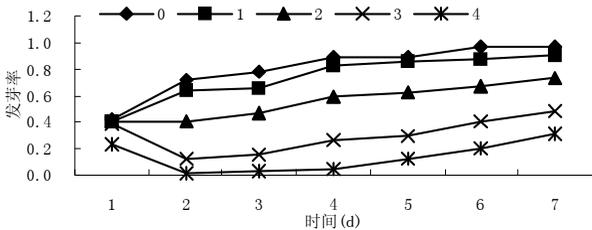


图 1 不同盐胁迫对中优 117 发芽率的影响

对两种杂交水稻发芽率的统计分析显示:中优 117 品种对照组的发芽率极显著($P<0.01$)高于各不同胁迫浓度组;瑞优 5 号则表现为对照组的发芽率极显著($P<0.01$)高于 2, 3, 4 组,但与 1 组的差异不显著($P>0.05$)。

两个品种的 2 组和 3 组之间的差异极显著

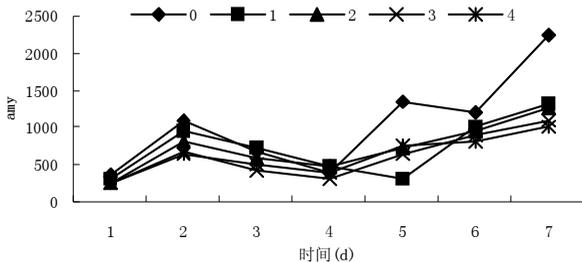


图 3 不同盐胁迫对中优 117 淀粉酶活性的影响

对两种杂交水稻萌芽过程中淀粉酶活性测定的结果显示:两个品种对照组的酶活性都最高,其余各胁迫组酶活性随胁迫浓度上升而下降;对照

淀粉酶(amylase Amy)的测定参照由王学奎等的淀粉酶活性的测定实验法^[5],超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定采用邻苯三酚自氧化法^[6],过氧化氢酶(catalase, CAT)参照碘量滴定法测定^[7],硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)的测定采用磺胺比色法^[8],过氧化物酶(Peroxidase, POD)采用愈创木酚法^[5]。

1.2.3 数据处理

对水稻种子各种浓度处理后的萌发率和 5 种酶活性的趋势用 excel 2003 绘制折线图,对各浓度梯度盐胁迫处理与 0 组(对照组)的比较用 SPSS13.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同盐浓度胁迫对两种水稻发芽率的影响

两个品种的萌芽率变化曲线中对照组的发芽率最高,其余各组均表现为随着盐胁迫浓度的上升发芽率下降,随着萌芽时间延长发芽率上升的特征。

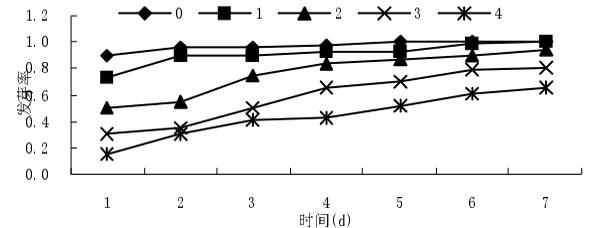


图 2 不同盐胁迫对瑞优 5 号发芽率的影响

($P<0.01$),从折线图也有较明显的表现。当盐胁迫浓度达到 150 mmol/L 以上中优 117 的发芽率为 48%,不足 50%,而瑞优 5 号则为 80%,表现为明显的种间差异。

2.2 不同盐浓度胁迫对两种水稻淀粉酶(Amy)活性的影响

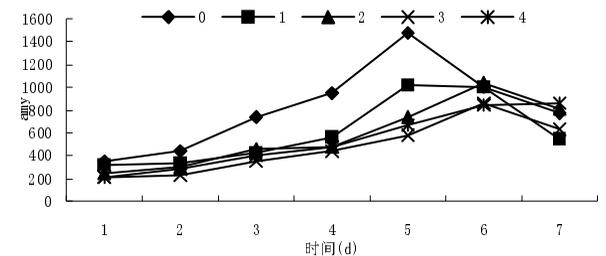


图 4 不同盐胁迫对瑞优 5 号淀粉酶活性的影响

组与 1 组间的变化最大并且变化最为剧烈,即淀粉酶活性在有胁迫与无胁迫组间的变化很大,说明此酶对有无盐胁迫极为敏感;2, 3, 4 组随胁迫

浓度上升变化幅度减小,变化趋势也相同,各胁迫浓度间的差异不显著,即盐胁迫浓度达到 100 mmol/L(2 组)后,各胁迫组的淀粉酶活性差异很小,此时测定淀粉酶已经没有意义。

两品种各胁迫浓度组淀粉酶活性的统计学分

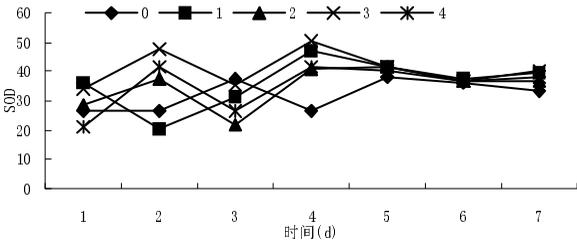


图 5 不同盐胁迫对中优 117 SOD 活性的影响

两个品种的超氧化物歧化酶活性的变化趋势因品种而不同,不同浓度胁迫下两个杂交品种都没有显示明显的上升或下降趋势,总体上呈现上下波动;中优 117 各胁迫组在萌芽前 5 d 表现较为杂乱,后 2 d 的变化幅度则趋于一致,瑞优 5 号各组在萌发开始前 4 d 表现杂乱,之后变化幅度趋于一致,说明在萌芽前期该酶对盐胁迫浓度的变化较为

敏感,在后期(具体时间因品种而异)则相反。

2.3 不同盐浓度胁迫对两种水稻超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

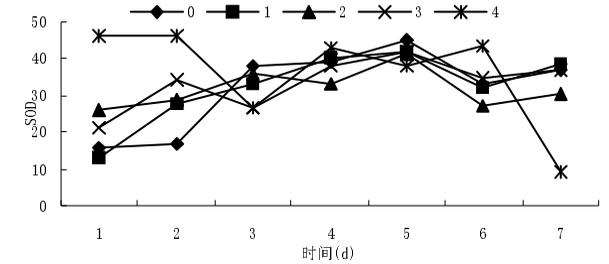


图 6 不同盐胁迫对瑞优 5 号 SOD 活性的影响

统计学分析显示:两个品种的对照组与各个胁迫浓度之间的酶活性差异都不显著($P>0.05$)。中优 117 的 2 组和 3 组间差异显著 ($P<0.05$),而瑞优 5 号则不显著。

2.4 不同盐浓度胁迫对两种水稻硝酸还原酶(NR)活性的影响

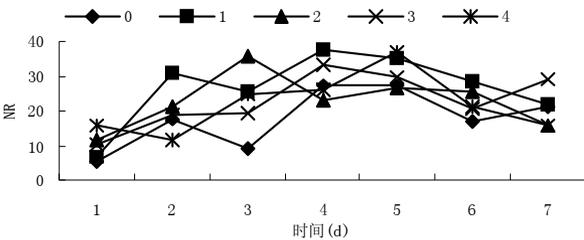


图 7 不同盐胁迫对中优 117 NR 活性的影响

在盐胁迫对两个品种萌芽过程中硝酸还原酶活性影响的研究中发现:中优 117 变化最为剧烈的是 1 组,瑞优 5 号变化最为剧烈的是 0 组即对照组。对照组在萌芽时间上呈现较大幅度的变化,但在胁迫浓度上呈现的变化幅度较小,在第 6 d 各胁迫组间差异最小。说明此酶无论胁迫与否都会呈现较为剧烈的变化,这种变化与是否受胁迫关系不大,而与萌芽时间有关。两种水稻的酶活性

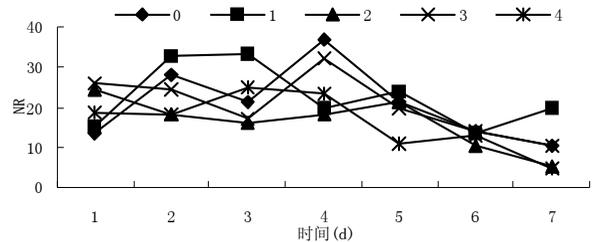


图 8 不同盐胁迫对瑞优 5 号 NR 活性的影响

随着萌芽时间的延长总体上呈现先上升后下降趋势,两品种间呈现一定的变化。

中优 117 的酶活性比较显示:对照组与 1 组和 3 组统计分析均差异极显著($P<0.01$),而瑞优 5 号则差异都不显著($P>0.05$)。

2.5 不同盐浓度胁迫对两种水稻过氧化氢酶(CAT)活性的影响

在对过氧化氢酶活性的研究中发现:两个品

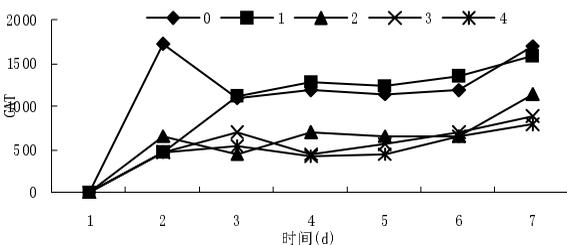


图 9 不同盐胁迫对中优 117 CAT 活性的影响

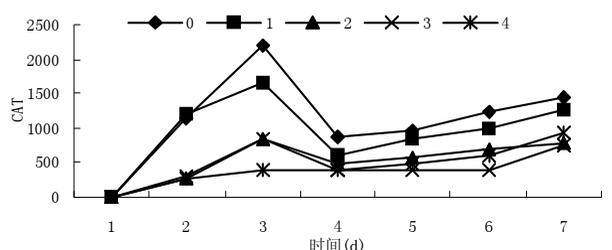


图 10 不同盐胁迫对瑞优 5 号 CAT 活性的影响

种均表现为对照组的酶活性最高,随着胁迫浓度上升酶活性逐渐下降,4组的过氧化氢酶活性最低。在刚萌发到3或4d内对照组都出现一个高峰期,之后逐渐变为随胁迫时间而缓慢上升。

中优117对照组的过氧化氢酶活性都极显著地高于第2,3,4组($P<0.01$);瑞优5号对照组的活性显著高于第2,4组($P<0.05$),而极显著地高

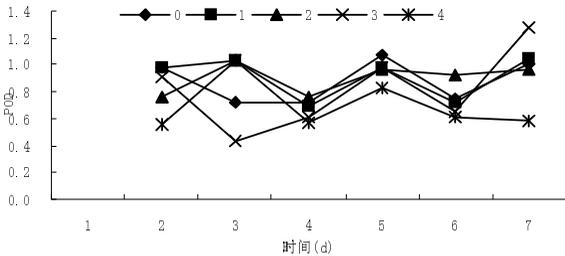


图 11 不同盐胁迫对中优 117 POD 活性的影响

在对过氧化物酶活性因胁迫浓度和萌芽时间而变化的试验中发现:对照和 1 组的变化趋势较为一致,统计分析显示差异不显著($P>0.05$),随萌芽时间酶活性的变化时高时低,说明此酶在萌芽过程中受萌芽时间因素的变化较大。2,3,4 组与 0,1 组之间呈现一定的差异,说明此酶受盐胁迫也呈现一定的变化,但与对照组间的差异不显著,各胁迫组组间的差异也不显著($P>0.05$)。

两品种间的变化趋势表现为种间差异较大,两个品种对照组与各个胁迫浓度组间酶活性的差异均不显著($P>0.05$)。

3 讨论

淀粉酶几乎存在于所有植物中,在萌发的禾谷类种子中淀粉酶活性最强。研究表明种子的萌发与淀粉酶呈高度正相关,淀粉酶活性越高,种子的萌发力越强^[9],这与本试验研究的两个杂交水稻品种所呈现的结果相一致。试验显示不同品种间的发芽率和淀粉酶的变化有一定程度的差异,这可能是由于不同品种的基因型不同,因此在应对同一生理过程和同样胁迫时基因表达的程度不同或基因间的协作程度不同所致。在植株内,因萌芽而需要启动一系列程序性的复杂的生理生化反应,许多活性物质如蛋白质、酶、激素等需要合成,这些合成反应都需要能量,因此淀粉酶通过提高活性来加大水解储存的淀粉生成糖类来满足植株细胞内的这种需要。随着盐胁迫程度的加重,引起植株内质膜功能的改变,质膜损伤加重,淀粉酶的活性受到抑制,相应地萌芽率也呈现因胁迫浓度

于第 3 组($P<0.01$),说明此酶对盐胁迫极为敏感,一旦受到盐胁迫其活性就呈现较大幅度的降低。1 组与 2,3,4 组之间差异大,而 2,3,4 组间差异不大,表明在盐浓度达到 100 mmol/L(即 2 组)以上,过氧化氢酶活性的变化则趋于一致。

2.6 不同盐浓度胁迫对两种水稻过氧化物酶(POD)活性的影响

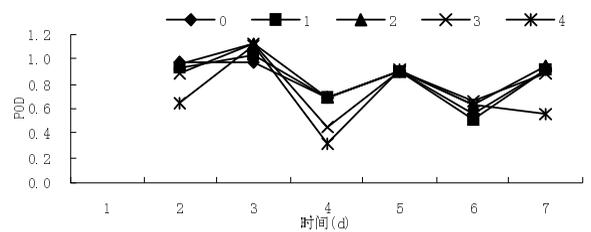


图 12 不同盐胁迫对瑞优 5 号 POD 活性的影响

加重而降低的趋势。

超氧化物歧化酶是清除机体内自由基、超氧阴离子的一种非常重要的酶。本试验中在萌芽时间因素上各胁迫组的酶活性呈现前期敏感后期趋于平稳,说明在萌芽前期,体内生化反应变化剧烈,从无到有,产生的自由基和超氧阴离子较多,需要此酶较高的活性来应对。随着各种反应有序启动,各类有害离子逐渐降低,加上前期较高的酶活性清除大量萌芽启动所产生的自由基和超氧负离子,超氧化物酶活性也相应逐步降低。在不同胁迫浓度因素上,各组与对照组的差异不显著,这显示各胁迫组盐浓度的上升并没有显著地增加有害基团,或者各胁迫组均抑制了细胞活跃的代谢活动,从而表现为酶活性在对照组与各胁迫组间没有显著差异。

硝酸还原酶是硝酸盐同化中的第一个酶,也是硝态氮同化过程中的限速酶^[10]。能将植物体内的硝酸盐还原成亚硝酸盐,促进植物体吸收和利用氮素^[11],从而影响植物体总氮和蛋白氮水平。本试验中在萌芽时间因素上,两个品种均显示先上升后降低的总体趋势,这与整个萌芽过程的前后时期植株内需要不等量的含氮类物质(蛋白质、酶、激素和细胞分裂所需要的大量碱基)的生理状态相适应。在不同胁迫浓度因素上,由于胁迫程度加重,导致质膜受损数目增多,细胞内外含氮类物质的质量增加,需要增加该酶活性来相适应。当胁迫浓度上升到一定浓度后,因细胞严重受损此酶表达受损而活性下降。

过氧化氢酶几乎存在于所有的生物机体内。

植物在逆境或衰老时,体内活性氧代谢产生氧化性极强的过氧化氢,进而生成氢氧自由基可直接或间接地氧化细胞内核酸、蛋白质等生物大分子,损害细胞膜,破坏性极强。过氧化氢酶能将机体代谢过程中产生的具损害性的过氧化氢快速催化分解成水和氧气,从而为机体细胞提供稳定的内环境以及维护细胞的正常生活,它的活性高低与植物的抗逆性密切相关^[6]。本试验中在萌芽时间因素上,此酶在萌芽前3~4 d出现一个高峰,然后缓慢上升。这与上述超氧化物歧化酶的生理机制相适应。在胁迫浓度因素上,随着胁迫程度加深,各类生化反应受到抑制,从而过氧化氢的产量降低,因此该酶活性也逐步降低。

过氧化物酶是植物体内普遍存在的一种活性较高的酶,它与植物代谢及抗逆性都有密切关系。具双重性,在可逆境或衰老初期表达中表现为保护效应而在后期的表达则参与活性氧的生成,是植物体衰老到一定阶段的产物,甚至可作为衰老指标。本试验中此酶受萌芽时间延长表现不定的变化,这与细胞生长的不同阶段产生过氧化物酶的多少相适应。随胁迫程度加重没有表现显著的差异,这可能是随着胁迫加深细胞代谢活动受到一定抑制,产生的过氧化物量减少,需要此酶的活性降低。

4 结 论

4.1 两种杂交水稻在相同的盐胁迫下的变化趋势较一致,但呈现出一定的种间差异,即不同品种

对相同胁迫的耐受程度不同。

4.2 发芽率、淀粉酶和过氧化氢酶活性随盐胁迫浓度上升而显著地下降,随萌芽时间增加而上升。

4.3 两个品种的超氧化物歧化酶、硝酸还原酶和过氧化物酶活性随萌芽时间有较大变化,在不同胁迫浓度间无显著差异。

参考文献:

- [1] 符秀梅,朱红林,李小靖,等.盐胁迫对水稻幼苗生长及生理生化的影响[J].广东农业科学,2010(4):19-21.
- [2] 称海涛,苏展,曹萍,等.NaCl和Na₂CO₃胁迫对水稻粳粳杂交后代群体发芽与幼苗生育的影响[J].沈阳农业大学学报,2010,41(1):73-77.
- [3] 江红南.基于3S技术的干旱区土壤盐渍化时空演变研究[D].新疆大学,2007(6):1-19.
- [4] 鄂志国,张丽靖.水稻盐胁迫应答的分子机制[J].杂交水稻,2010,25(2):1-5.
- [5] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006:174-176.
- [6] 国占生.超氧化物歧化酶样活性的测定方法[J].衡水师专学报,2001,3(2):39-41.
- [7] 古映莹,李丹.碘量法和铈量法测定过氧化氢的研究[J].湖南理工学院学报(自然科学版),2005,18(3):55-58.
- [8] 南芝润,范月仙.植物过氧化氢酶的研究进展[J].安徽农学通报,2008,14(5):27-29.
- [9] 陈丽珍,叶剑秋,王荣香.水稻盐胁迫的研究进展[J].热带农业科学,2011,31(3):87-90.
- [10] 徐书果.小麦不同发育阶段硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性的遗传分析[D].河南农业大学,2006:4-45.
- [11] May Sandar Kyaing,顾立江,程红梅.植物中硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的作用[J].生物技术进展,2011,1(3):159-164.
- [12] 李德发,李德发,李德发,等.盐胁迫对水稻幼苗生理特性的影响[J].福建农业学报,2000,15(4):45-50.
- [13] 战伟龔,邱念伟,赵方贵,等.盐和水分胁迫对不同荞麦品种生理特性的影响[J].中国农学通报,2009,25(17):129-132.
- [14] 战伟龔,张学杰,杨德翠,等.NaCl和等渗PEG对荞麦SOD及APX活性的影响[J].江苏农业科学,2009(5):101-102.
- [15] 马德源,李发良,朱剑锋,等.6个荞麦品种耐盐性的比较[J].现代农业科技,2009(3):157-158.
- [16] 李锦树,王洪春,王文英,等.干旱对玉米叶片细胞膜透性及膜脂的影响[J].植物生理学报,1983,9(3):223-229.
- [17] 林植芳,李双顺,林桂珠,等.水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J].植物学报,1984,26(6):605-615.
- [18] 李文卿,潘廷国,柯玉琴,等.土壤水分胁迫对甘薯苗期活性氧代谢的影响[J].福建农业学报,2000,15(4):45-50.
- [19] 李杰,陈康,唐静,等.NaCl胁迫下玉米幼苗中一氧化氮与茉莉酸积累的关系[J].西北植物学报,2008,28(8):1629-1636.
- [20] 郭启芳,马千全,孙灿,等.外源甜菜碱提高小麦幼苗抗盐性的研究[J].西北植物学报,2004,24(9):1680-1686.
- [21] Kalir A, Poljakoff-Mayber A. Changes in activity of malate dehydrogenase, catalase, peroxidase and superoxide dismutase in leaves of *Halimione portulacoides* (L.) aellen exposed to high sodium chloride concentrations[J]. Annals of Botany, 1981, 47 (1): 75-85.
- [22] 钟新榕,郁继华,颜建明,等.NaCl胁迫及外源ABA和GA₃对黄瓜幼苗抗氧化酶活性的影响[J].甘肃农业大学学报,2005,40(4):467-470.

(上接第15页)