

文章编号: 1003-8701(2015)06-0021-05

# 孕穗期低温胁迫对寒地粳稻功能叶片 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

韩 涛, 赵宏伟\*, 贾 琰, 赵振东, 谷海东, 刘 洋, 邹德堂

(东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 试验选用耐冷性不同的 3 个寒地粳稻品种东农 428、松粳 10 和龙稻 7 为材料, 研究孕穗期冷水胁迫处理后功能叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的变化规律。试验结果表明: 冷水胁迫后, 3 个品种功能叶片 SOD、POD 和 CAT 活性随着处理天数增加均呈现先升高后下降的趋势, 品种间酶活性差异较大; 胁迫后 3 个品种 SOD、POD、CAT 活性均降低, 叶片表现出明显的冷害症状, 但耐冷性较强的东农 428 具有相对较高的 CAT 活性; 恢复期 SOD 和 POD 活性各处理间无显著变化, 耐冷性最弱的松粳 10 和耐冷性中等的龙稻 7 的 CAT 活性在胁迫后仍然较高, 而东农 428 的 CAT 活性则较低。

**关键词:** 寒地粳稻; 孕穗期; 冷水胁迫; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 过氧化物酶

中图分类号: S511.01

文献标识码: A

## Effect of Low Temperature Stress during Booting Stage on SOD, POD and CAT Activity in Functional Leaves of Japonica Rice in Cold Region

HAN Tao, ZHAO Hong-wei\*, JIA Yan, ZHAO Zhen-dong, GU Hai-dong, LIU Yang, ZOU De-tang

(College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150010, China)

**Abstract:** Three japonica cultivars with different cold tolerances in cold region, 'Dongnong 428', 'Songjing 10' and 'Longdao 7', were used as materials to study the change rules of SOD, POD and CAT activity in functional rice leaves after cold stress during booting stage. The results showed that SOD, POD and CAT activity in functional leaves of the three cultivars all presented the tendency of rising at first then declining as the increasing of stress day. There were a larger variance of enzymatic activity among cultivars. SOD, POD and CAT activity of the three cultivars all reduced after stress, and obvious cold injury symptoms appeared in the leaves. 'Dongnong 428' with the better cold tolerance had higher CAT activity. SOD and POD activity during recovery phase had no significant changes between each treatment. The CAT activity of 'Songjing 10' with the weakest cold tolerance and 'Longdao 7' with moderate cold tolerance were all higher after stress but 'Dongnong 428' were lower.

**Key words:** Cold japonica rice; Booting stage; Cold stress; Superoxide dismutase; Catalase; Peroxidase

水稻是世界上主要的粮食作物, 也是我国播种面积最大和总产量最高的商品粮食作物, 其高产和稳产对保证我国的粮食安全具有重要意义。水稻为喜温作物, 生长发育过程中对热量条件要求较高。黑龙江省地处欧亚大陆东北, 属于高纬度大陆季风气候, 热量资源不足, 在水稻的

孕穗-抽穗-开花期, 冷空气活动频繁, 容易造成障碍型冷害的发生, 冷害严重年份可使水稻减产高达 50% 以上<sup>[1]</sup>, 已成为水稻安全生产的重要农业气象灾害之一。近年来, 全球气候有变暖趋势, 但只是冬季变暖趋势强, 夏季发生冷害的频率仍较高<sup>[2]</sup>。因此, 对水稻孕穗期障碍型冷害的研究仍具有重要的现实意义。

近年来, 对水稻孕穗期冷害的生理机制做了深入的研究, 发现水稻结实率的影响因素包括分化的小孢子数、可育花粉率和柱头上花粉的受精效果, 其中分化小孢子数和可育花粉率起着主导因素<sup>[3]</sup>; 低温导致不结实主要是由于生殖器官受

收稿日期: 2015-06-25

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划项目(2013BAD20B04); 科技部科技攻关项目(2011BAD35B02-01); 科技部科技支撑项目(2011BAD16B11)

作者简介: 韩 涛(1988-), 男, 在读硕士, 从事水稻栽培生理研究。

通讯作者: 赵宏伟, 女, 博士, 教授, E-mail: hongweizhao@163.com

冷害损伤引起的,花药中的花粉不充实,使花药不能裂开,散粉受精明显下降,从而造成一些小穗不能受精、籽粒败育,影响水稻结实。

张泽煌<sup>[4]</sup>、彭昌操<sup>[5]</sup>、马翠兰<sup>[6]</sup>等对多种植物研究认为在低温胁迫期间,SOD能以超氧阳离子为基质进行歧化反应,清除植物组织和细胞内的超氧阳离子自由基,减缓氧自由基对细胞膜的损伤;CAT可以分解H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;POD促降解H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,解除细胞内有害自由基。水稻也同样具有这样的保护酶系统,但在通常情况下,水稻植株体内产生的活性氧不足以使其受到伤害,因为植株体内有一套行之有效的抗氧化系统可以清除产生的活性氧自由基,只有自由基过剩才能引发或加剧膜脂过氧化作用。所以在正常情况下,植物细胞中产生的活性氧与其清除系统保持平衡,而当环境胁迫长期作用于植株,产生的活性氧超出了活性氧清除系统的能力时,就会引起活性氧累积产生氧化伤害<sup>[7]</sup>。在低温下,由于活性氧的代谢平衡受到破坏,活性氧的增加对作物起到伤害作用。植株体内抗氧化酶SOD、POD、CAT等清除植物体内过量的活性氧,使植株免受或少受活性氧伤害,因此它们是植物重要的耐冷保护酶系统<sup>[8]</sup>。

本试验以耐冷性不同的3个寒地粳稻品种为对象,研究孕穗期冷水胁迫对功能叶片SOD、POD、CAT活性以及恢复率的影响,以期揭示孕穗期冷水胁迫下寒地粳稻功能叶片抗氧化酶活性的变化规律,为进一步研究水稻孕穗期的耐冷机理提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

选取3个寒地粳稻品种东农428(活动积温2520℃·d左右,耐冷性鉴定空壳率为7.93%)、松粳10(活动积温2500℃·d左右,耐冷性鉴定空壳率为14.98%)和龙稻7(活动积温2500℃·d左右,

耐冷性鉴定空壳率为11.01%)为试验材料。

### 1.2 试验设计

试验于2012年在东北农业大学实验实习基地进行。4月20日播种,5月20日插秧,插秧规格:30 cm×10 cm,每穴3苗,小区行长5 m,7行区。采用裂区设计,自孕穗期(幼穗长度为1 cm左右时)开始灌溉,对照正常灌溉,处理以地下水灌溉(通过进水速度及进水口位置调节各个区水层深度均维持在10 cm左右,水温控制在17℃左右)分别对不同冷水处理区施以3,6,9,12,15 d的灌溉,3次重复,其他管理同大田。

### 1.3 取样方法

各处理自冷水胁迫处理完成后当天开始每隔7 d取样,于9:00~10:30,将处理及相应的对照各取3穴,每穴各取标记的功能叶片,用于酶活性测定。

### 1.4 测定方法

酶液的提取:称取0.5 g水稻叶片放入研钵中,加5 mL 10 mmol/L PBS(pH=7.0,含4%(W/V)PVP),冰浴研磨,匀浆倒入离心管中,冷冻离心20 min(10 000 r/min),上清液即为粗酶液,置于0~4℃下保存待用。

SOD活性的测定:采用氮蓝四唑(NBT)法测定<sup>[9]</sup>。

POD活性的测定:采用Velikova等<sup>[10]</sup>的方法。

酶活性的恢复率=各处理下酶活性值/对照酶活性值

### 1.5 数据处理与分析

采用Microsoft Excel 2003和SPSS v18.0进行数据处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻功能叶片SOD酶的变化规律

#### 2.1.1 孕穗期不同天数冷水处理对SOD活性以及SOD恢复率的影响

表1 孕穗期不同冷水处理天数对水稻功能叶片SOD活性以及恢复率的影响

		3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
东农428	处理	5.15	5.72	6.08	5.59	5.34
	对照	4.82	4.75	4.82	4.78	4.67
	恢复率	1.07	1.20	1.26	1.17	1.13
松粳10	处理	5.66	6.43	7.13	6.57	6.05
	对照	5.00	5.02	5.04	4.96	5.06
	恢复率	1.13	1.28	1.41	1.32	1.20
龙稻7	处理	5.43	5.89	6.57	5.96	5.64
	对照	4.90	4.76	4.74	4.82	4.96
	恢复率	1.11	1.24	1.39	1.24	1.14

如表1所示,在各处理冷水胁迫结束当天,不同天数冷水处理SOD活性和SOD恢复率均发生了较大变化,并且各品种间也有较大的差异,但大体上均呈先升后降的趋势,于9 d冷水处理处达到最大值,叶片SOD活性及恢复率的大小与水稻品种的耐冷性高低表现出相反的趋势,均表现为:松粳10>龙稻7>东农428。

### 2.1.2 孕穗期冷水胁迫处理后SOD恢复率的变化规律

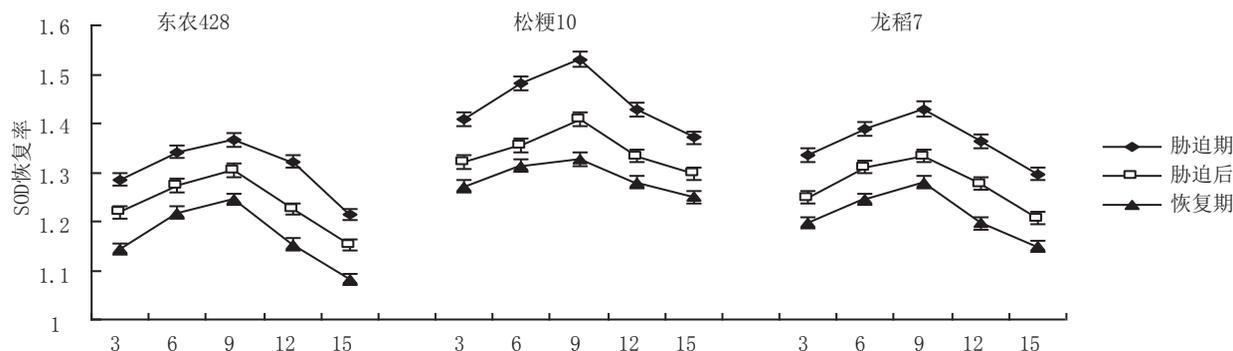


图1 低温胁迫过程后水稻叶片SOD活性的变化

## 2.2 水稻叶片POD酶的变化规律

### 2.2.1 孕穗期不同天数冷水处理对POD活性以及POD恢复率的影响

如表2所示,在各处理冷水胁迫结束当天,不同天数冷水处理POD活性及恢复率均发生较大变

化,并且各品种间也有差异,但大体上均呈先升后降的趋势,于9 d处理达到最大值,叶片POD的活性及恢复率与水稻品种的耐冷性高低表现出相同的趋势,均表现为东农428>龙稻7>松粳10。

化,并且各品种间也有差异,但大体上均呈先升后降的趋势,于9 d处理达到最大值,叶片POD的活性及恢复率与水稻品种的耐冷性高低表现出相同的趋势,均表现为东农428>龙稻7>松粳10。

表2 孕穗期不同冷水处理天数对水稻叶片POD活性的影响

		3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
东农428	处理	4.82	5.23	5.83	5.31	4.90
	对照	3.11	3.13	3.09	3.13	3.22
	恢复率	1.55	1.67	1.89	1.70	1.52
松粳10	处理	2.81	3.26	3.81	3.32	3.09
	对照	2.26	2.25	2.30	2.29	2.32
	恢复率	1.24	1.45	1.66	1.45	1.33
龙稻7	处理	4.00	4.30	4.90	4.37	3.81
	对照	2.75	2.79	2.76	2.77	2.81
	恢复率	1.45	1.54	1.78	1.58	1.36

### 2.2.2 孕穗期冷水胁迫处理后POD恢复率的变化规律

如图2所示,3品种随着处理后时间的延长POD酶恢复率均呈下降趋势:胁迫期>胁迫后>恢复期;品种间也具有较大差异,POD酶恢复率与品种耐冷性呈正相关,表现为:松粳10>龙稻7>东农428,且各品种均在胁迫期恢复率最强,胁迫后恢复率有所下降,恢复期降到最低值。

## 2.3 水稻叶片CAT酶的变化规律

### 2.3.1 孕穗期不同天数冷水处理对CAT活性以及CAT恢复率的影响

如表3所示,在各处理冷水胁迫结束当天,不同天数冷水处理CAT活性及恢复率均发生较大变化,并且各品种间也有差异,但大体上均呈先升后降的趋势,于9 d处理达到最大值,与此同时叶片CAT的活性大小及恢复率与水稻品种的耐冷性高低表现出相同的趋势,表现为:东农428>龙稻7>松粳10。

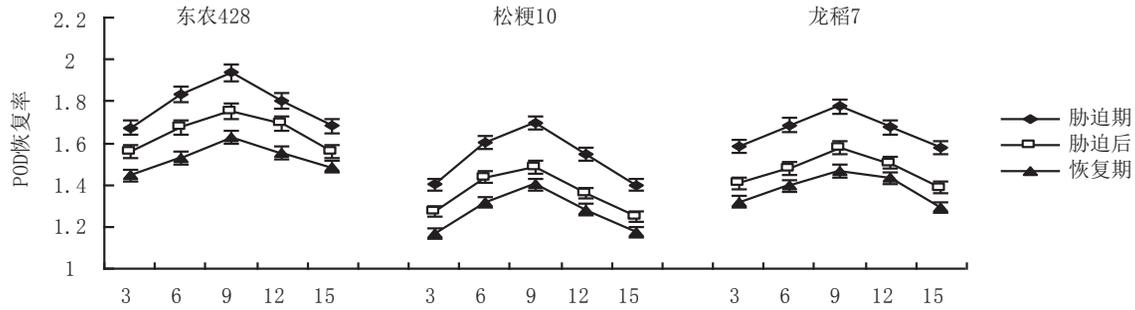


图2 低温胁迫过程后水稻叶片 POD 活性的变化

表3 孕穗期不同冷水处理天数对水稻叶片 CAT 活性的影响

U/mg Pro

		3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
东农 428	处理	0.27	0.31	0.36	0.34	0.29
	对照	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16
	恢复率	1.80	2.07	2.40	2.27	1.81
松粳 10	处理	0.15	0.17	0.22	0.20	0.17
	对照	0.12	0.12	0.13	0.14	0.14
	恢复率	1.25	1.42	1.69	1.43	1.21
龙稻 7	处理	0.20	0.22	0.26	0.23	0.20
	对照	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14
	恢复率	1.54	1.69	2.00	1.64	1.43

2.3.2 孕穗期冷水胁迫处理后 CAT 恢复率的变化规律

如图3所示,3品种随着处理后时间的延长东农428于胁迫期CAT恢复率最高,之后下降幅度最大,龙稻7次之,松粳10最慢,恢复期东农428

的CAT恢复率达到最小值,低于松粳10和龙稻7;品种间CAT恢复率在胁迫期差异较大而在胁迫后和恢复期间差异较小具体表现为:胁迫期和胁迫后CAT酶恢复率东农428>龙稻7>松粳10,恢复期松粳10>龙稻7>东农428。

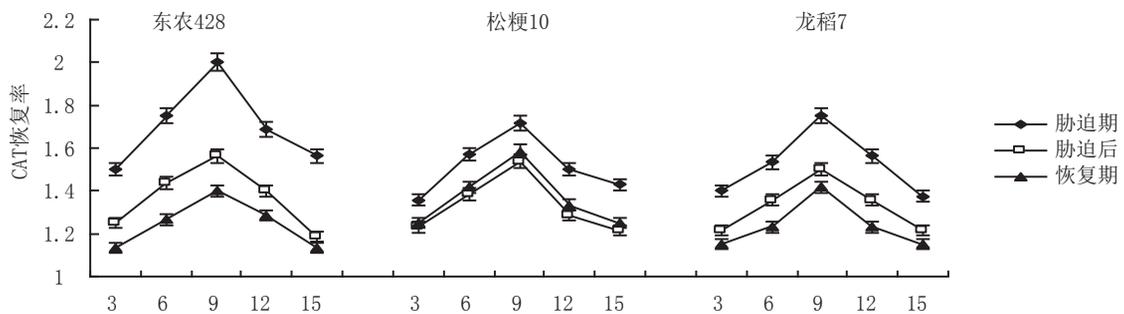


图3 低温胁迫过程后水稻叶片 CAT 活性的变化

3 讨论

保护酶系统是植物抗逆性的基础,直接反映了植株的抗性强弱,保护酶系统易受低温胁迫的影响<sup>[11]</sup>,徐田军等<sup>[12]</sup>研究表明,低温降低了水稻的保护酶活性。SOD是活性氧清除反应过程中第一个发挥作用的关键抗氧化酶,能将超氧化物阴离

子自由基快速歧化为过氧化氢和分子氧。CAT存在于细胞的过氧化物体内,可促使H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>分解为分子氧和水,清除体内的过氧化氢,从而使细胞免于遭受H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的毒害,是生物防御体系的重要关键酶之一<sup>[13]</sup>。POD也能催化细胞内的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>分解,氧化其底物所产生的过氧化物<sup>[4]</sup>。

从本试验结果可以看出,水稻叶片的保护酶

在低温胁迫下的变化趋势与蔡汉等<sup>[14]</sup>的研究结果一致。低温胁迫下SOD、POD和CAT活性均呈现先上升后下降的趋势,保护酶系统活性上升,分解胁迫过程产生的有害产物,避免了活性氧等各种自由基的大量积累,减轻了膜脂过氧化作用,防止膜系统受到损伤。但随着低温胁迫时间的延长,SOD、POD和CAT酶活性都表现出下降的趋势,表明低温可能积累了过量的活性氧,使活性氧和防御系统的动态平衡遭到了破坏,从而加剧了膜脂过氧化作用。

Lee等<sup>[15]</sup>认为SOD活性的增加会引起H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(过氧化氢)的积累,东农428在低温胁迫时具有较低的SOD恢复率和较高的CAT、POD恢复率,既防止了H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累,又避免了O<sub>2</sub><sup>·-</sup>(超氧阴离子)和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>反应生成毒性更强的羟基自由基,从而减轻了活性氧对植株的伤害。

低温胁迫后3个水稻品种的CAT、POD、SOD活性都受到抑制,也说明了胁迫后的环境条件对植物的伤害更大。Hariyadi和Parkin<sup>[16]</sup>也认为膜脂的过氧化出现在低温胁迫后的恢复期而不是低温胁迫期间。Lee等研究发现,尽管低温胁迫期间H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量增加,但胁迫后的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>仍要高于胁迫期间,这也就造成了胁迫后叶片的冷害症状明显。但胁迫后东农428的CAT活性显著高于其他2个品种,说明东农428具有较强的活性氧清除能力,这也是东农428耐冷性强的主要原因。

CAT是植物体内重要的活性氧清除酶,植物组织中高浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>主要靠CAT分解并加以清除<sup>[17]</sup>。胁迫后东农428的SOD和POD活性与松粳10和龙稻7相比均无明显差异,而CAT的差异却比较大,这说明CAT在水稻叶片的耐冷机制中起着更重要的作用。在此阶段,松粳10和龙稻7的CAT活性都上升,其作用是清除过量的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>残留,而东农428的CAT活性下降,说明植株体内过量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的含量很少,对植株没有造成伤害。

#### 参考文献:

- [1] 佟超,丁善友,陈书强,等.黑龙江省水稻低温冷害的早期诊断及防御措施[J].垦殖与稻作,2006(3):36-38.
- [2] 马树庆,王琪,王连敏,等.水稻开花不育评估模式的试验研究[J].气象学报,2000,58(增):954-955.
- [3] 戴陆圆,刘屋国,叶昌国,等.水稻耐冷性研究Ⅱ.云南稻种资源耐冷性评价[J].西南农业学报,2002,15(3):47-52.
- [4] 张泽煌,黄碧琦,陈钟佃,等.低温胁迫对茄子的伤害及茄子抗寒机理[J].福建农业学报,2000,15(1):40-42.
- [5] 彭昌操,孙中海.低温锻炼期间柑桔原生质体SOD和CAT酶活性的变化[J].华中农业大学学报,2000,19(4):384-387.
- [6] 马翠兰,刘星辉,胡有厘.柚品种间的耐寒性及其机理[J].福建农业学报,1998,27(2):83-84.
- [7] 赵丽英,邓西平,山仑.活性氧清除系统对干旱胁迫的响应机制[J].西北植物学报,2005,25(2):413-418.
- [8] 刘慧英,朱祝军,吕国华.低温胁迫对嫁接西瓜耐冷性和活性氧清除系统的影响[J].应用生态学报,2004,15(4):659-662.
- [9] 李合生.植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [10] Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain-treated bean plants: protective roles of exogenous polyamines[J]. Plant Sci, 2000, 151(1): 59-66.
- [11] Prasad T K. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings[J]. Plant Physiol, 1997(114): 1369-1376.
- [12] 徐田军,董志强,兰宏亮.低温胁迫下聚糖萜合剂对玉米幼苗光合作用和抗氧化酶活性的影响[J].作物学报,2012,38(2):352-359.
- [13] 王北艳,殷奎德.低温胁迫对转ICE1基因水稻抗氧化酶系统的影响[J].安徽农业科学,2013,41(5):1902-1904.
- [14] 蔡汉,李卫东,熊作明,等.低温胁迫下水杨酸预处理对茉莉幼苗活性氧及保护酶的影响[J].中国农学通报,2007(7):290-294.
- [15] Lee D H, Lee C B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber:in gelyzyme activity assays [J]. Plant Science, 2000, 159(1): 75-85.
- [16] Hariyadi, Parkin K. Chilling-induced oxidative stress in cucumber fruits[J]. Postharvest Biol. Technol, 1991, 1(1): 33-45.
- [17] 金明红,冯宗炜.臭氧对冬小麦叶片膜保护系统的影响[J].生态学报,2000,20(3):444-447.

(责任编辑:范杰英)