

根际 pH 对高产杂交稻幼苗根系抗氧化系统的影响

刘少华¹ 吴宣潼¹ 陈国祥² 徐国华¹ 王仁雷¹

(1. 江苏教育学院生命科学与化学学院, 江苏 南京 210013)

(2. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210046)

[摘要] 采用砂培法培养, 模拟不同土壤 pH(4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0) 的胁迫环境, 研究根际 pH 对“两优培九”幼苗根系的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性, 丙二醛(MDA)、抗坏血酸(AsA)、谷胱甘肽(GSH)的含量, 超氧阴离子产生速率的影响。实验结果表明, 不同 pH 培养条件下, 水稻幼苗根部 3 种抗氧化酶活性、AsA 与 GSH 的含量、MDA 含量和超氧阴离子的产生速率存在较为明显的差异。当 pH 为 6.0 时, 超氧阴离子的产生速率最弱, MDA 含量最低, 而 SOD 与 CAT 活性最大, AsA 与 GSH 含量均最高; pH 低于或高于 6.0 时, 上述各生理指标均与对照组(pH6.0)之间存在显著差异。可见, 从根系抗氧化系统特性的角度来看, “两优培九”幼苗生长的最适土壤 pH 应为 6.0。

[关键词] 杂交稻 根际 pH 抗氧化系统 活性氧

[中图分类号] Q942. 5; Q945. 78 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2011)04-0102-04

Effects of Rhizosphere pH on Root Antioxidant System of the Super-Hybrid Rice Seedlings

Liu Shaohua¹, Wu Xuanton¹, Chen Guoxiang², Xu Guohua¹, Wang Renlei¹

(1. Faculty of Life Sciences and Chemistry, Jiangsu Institute of Education, Nanjing 210013, China)

(2. School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

Abstract: The effects of different rhizosphere pH (4.0, 5.0, 6.0, 7.0 and 8.0) on the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), the contents of malondialdehyde (MDA), ascorbic acid (AsA) and Glutathione (GSH), and the production rate of superoxide anion were studied in roots of the hybrid rice "Liangyoupei-jiu" seedlings with sandy culture. The results showed that, compared with the other groups, in the roots of the control (pH6.0), the production rate of $O_2^{\cdot-}$ and contents of MDA were the lowest, whereas the activities of SOD and CAT were the strongest, and the contents of AsA and GSH were the highest. When the pH < 6.0 or pH > 6.0, there was significant difference between the control and the other groups in the above physiological indexes. Therefore, the rhizosphere pH 6.0 is the most optimal for seedling growth of the hybrid rice "Liangyoupei-jiu".

Key words: hybrid rice, rhizosphere pH, antioxidant system, reactive oxygen species

土壤 pH 是植物生长过程中不可忽视的影响因素, 因为异常土壤 pH 是一种环境胁迫^[1]。研究表明, 土壤 pH 不仅影响作物正常的生长发育, 而且影响作物对营养元素的吸收利用^[2-5]。我国耕地土壤 pH 一般在 4.0~8.0 之间, 水稻秧苗的生长素质必然存在差异, 这种差异就很可能影响水稻生育后期的生长和发育。但在以往的常规育秧技术中, 很少有人关注水稻秧苗生长发育和土壤 pH 的关系, 而且由于实验材料、处理方法与时间以及生理指标测定等不同, 往往产生不同的实验结果。全松华等^[6]研究表明, 苗床土壤 pH 为 5.0 时, 秧苗百株干重大、秧苗素质好、耐低温能力较强, 是水稻苗床的适宜 pH。而我们的研究显示, 在根际 pH6.0 的培养环境下, “两优培九”幼苗的叶绿素含量、叶绿素 a/b、光合速率、电子传递活性等光合特性方面总体表现最好, 有利于秧苗的生长发育^[7]。

由于根系是直接接触土壤的重要器官, 其生理活性的强弱必然会对植株后续的生长发育产生广泛而

收稿日期: 2011-10-04.

通讯联系人: 王仁雷 教授, 研究方向: 植物光合作用与逆境生理. E-mail: wr13501988@163.com

深刻的影响. 目前,有关作物根系的生理活性与根际 pH 的关系已有报道^[5-8],但杂交稻幼苗根系抗氧化系统特性与根际 pH 的关系却未见报道. 因此,本研究在以往研究的基础上^[7],以具有“超级稻”美誉的两系杂交稻“两优培九”为实验材料,采用砂培法培养,模拟土壤的不同 pH 环境,研究了根际 pH 对根系抗氧化系统的影响,以期对杂交水稻秧苗的培育提供一定的理论参考.

1 材料与方法

1.1 实验材料

高产杂交稻“两优培九”购自江苏省农业科学院粮食与作物研究所.

1.2 材料培养与 pH 处理

稻种用自来水冲洗干净,再经 0.1% HgCl₂ 消毒处理 10 min,蒸馏水冲洗干净,25℃ 浸种 36 h 后,在铺有 6 层湿吸水纸的搪瓷盆中黑暗催芽 48 h (30℃). 待稻种露白后分别挑选萌发程度一致的种子播于盛有蛭石的塑料盆中,置于光照培养箱内用木村 B 营养液培养,每天补充培养液. 试验设 pH (4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0) 共 5 个水平,以 pH6.0 为对照组,每组重复 3 次. 以后隔天更换已用稀 HCl 或稀 NaOH 溶液调整好相应 pH 的培养液,以保持每个试验组 pH 的稳定. 15 d 后取根系进行相关试验.

1.3 测定方法

超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生速率的测定:参照李光忠等^[9]方法进行. 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性,以及抗坏血酸(AsA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)的含量测定:参照萧浪涛等^[10]方法进行.

2 结果与分析

2.1 不同根际 pH 对活性氧及其氧化产物的影响

实验结果表明,在不同的根际 pH 影响下,“两优培九”幼苗根系 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率随 pH 的升高而先降后升(图 1). 实验组(pH4.0)的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率最大,为 $0.002 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,是对照组(pH6.0)的 3.3 倍. 其次是 pH8.0,而 pH 5.0 与 pH7.0 之间差异不明显,但均明显高于对照组(pH6.0).

如图 2 所示,在不同的根际 pH 处理下,根系 MDA 含量表现出与 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率相似的变化趋势. 其中对照组(pH6.0)的 MDA 含量最低,为 $0.092 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$. pH 过低或过高,丙二醛含量都显著增大,表明幼苗受胁迫程度也增大.

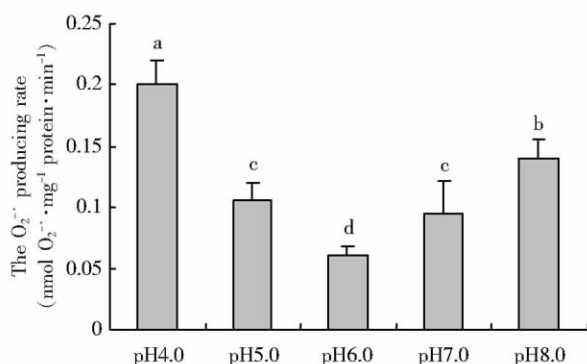


图 1 不同根际 pH 对 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的影响

Fig.1 Effect of rhizosphere pH on the $O_2^{\cdot-}$ production rate of root

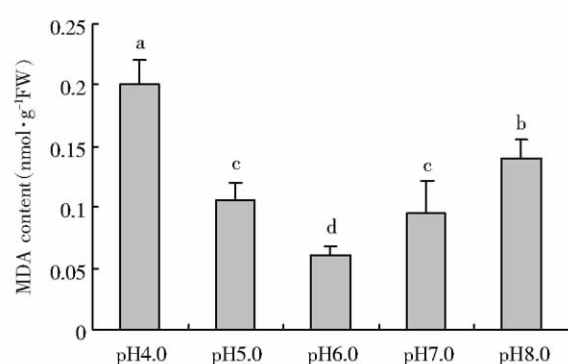


图 2 不同根际 pH 对丙二醛含量的影响

Fig.2 Effect of rhizosphere pH on MDA content of root

2.2 不同根际 pH 对抗氧化酶活性的影响

SOD 是生物体内最重要的抗氧化酶,其活性的高低可反映出植物对所处环境的适应性. 如图 3 所示,在不同 pH 的处理下,“两优培九”幼苗根系超氧化物歧化酶(SOD)活性差异显著. 在 pH = 6.0 时, SOD 的活性最大,为 $0.292 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$. 而 pH = 4.0 时 SOD 的活性为最低,约为对照组(pH6.0)的 1/3,其余实验组均显著低于对照组. 可见,不适宜的 pH 可引起 SOD 活性的降低.

POD 和 CAT 都是植物体内 H_2O_2 等活性氧的清除酶,它们与 SOD 协同作用维持体内活性氧代谢平

衡.如图4所示,实验组(pH4.0与pH8.0)的POD活性均显著高于其他3个实验组,而在pH5.0时的POD活性最低,但与pH6.0及pH7.0的POD活性差异不显著.推测过酸或过碱条件有利于杂交稻幼苗POD活性增强,从而发挥应有的功能,其具体机制还有待于进一步研究.

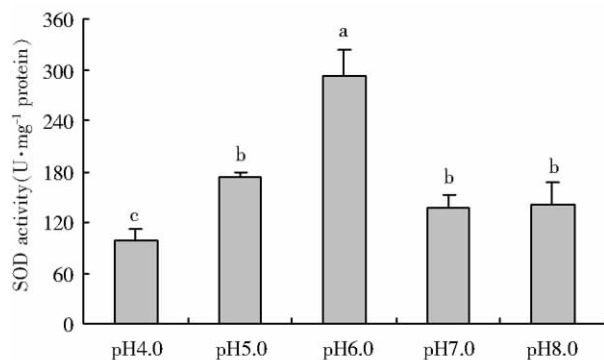


图3 不同根际 pH 对 SOD 活性的影响

Fig.3 Effect of rhizosphere pH on SOD activity of root

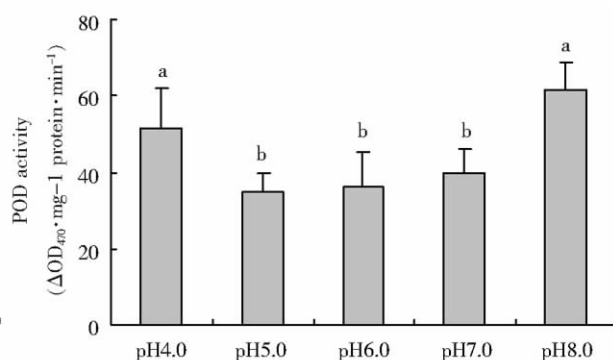


图4 不同根际 pH 对 POD 活性的影响

Fig.4 Effect of rhizosphere pH on POD activity of root

图5显示,CAT活性对根际pH的反应和SOD具有类似的变化趋势.其中对照组(pH6.0)的CAT的活性最大,为 $3.4 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,均显著高于pH4.0($1.8 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)与pH5.0($1.6 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$).随着根际pH的升高,CAT的活性也大幅度降低.

2.3 不同 pH 对抗氧化剂含量的影响

本研究中,两种抗氧化剂的含量随pH升高而呈现先上升后下降的变化趋势(图6、7).无论AsA还是GSH,对照组(pH6.0)的含量均最高,分别为 $68.84 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 和 $9.48 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$.当pH小于6.0时,二者的含量明显降低,其中以实验组(pH4.0)的含量为最低,其次是pH5.0.如在根际pH4.0处理下,AsA与GSH的含量分别为对照组(pH6.0)含量的2%与31%左右.当pH大于6.0时,二者的含量均大大降低.从图上还可以看出,碱性条件下的AsA与GSH含量总体上明显高于酸性条件,推测高pH的环境可能更有利于抗氧化剂的合成.

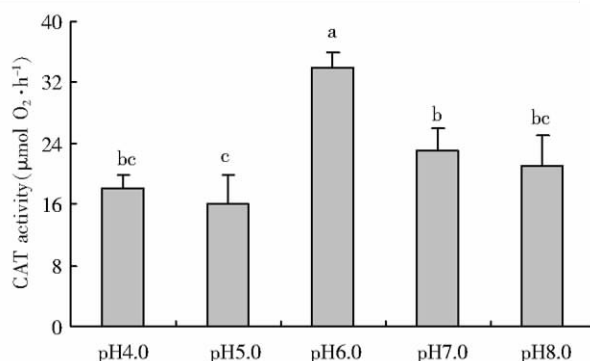


图5 不同根际 pH 对 CAT 活性的影响

Fig.5 Effect of rhizosphere pH on CAT activity of root

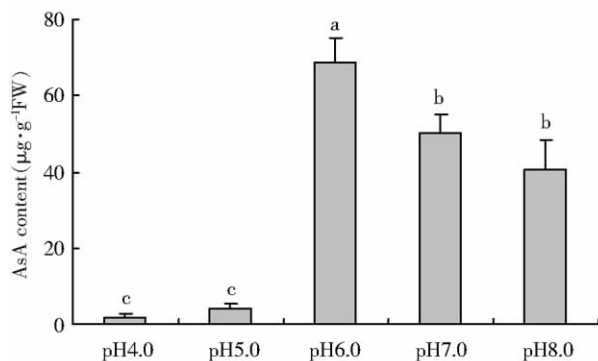


图6 不同根际 pH 对 AsA 含量的影响

Fig.6 Effect of rhizosphere pH on AsA content of root

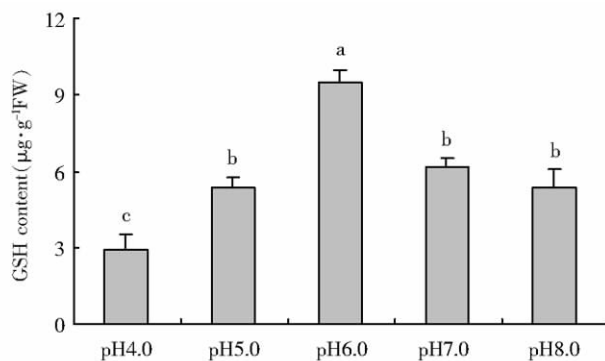


图7 不同根际 pH 对 GSH 含量的影响

Fig.7 Effect of rhizosphere pH on GSH content of root

3 讨论

研究表明,不良环境对植物造成伤害的重要原因之一是植物体内活性氧($\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 及 $\cdot\text{OH}$ 等)的产生与清除机制失衡^[11].本实验结果表明,不适宜的根际pH大大促进了“两优培九”幼苗根系内活性氧

的产生. 实验组(pH4.0) 的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率最大, 其次是实验组(pH8.0) , 均显著高于对照组(pH6.0) . 而对照组(pH6.0) 的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率最低(图 1) . 这表明过低或过高的 pH 促进了胞内自由基含量的大量积累, 破坏了活性氧产生与清除机制的平衡, 从而对植物造成氧化伤害. 丙二醛作为活性氧胁迫的产物, 其含量的高低反映了植物体受胁迫程度的大小. 我们的实验结果表明, 丙二醛含量的变化趋势与 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的变化是一致的(图 2) . 这进一步说明异常的根际 pH 会促进植物体内活性氧自由基的大量产生, 进而使丙二醛的含量大幅度增加, 最终加剧了植物受逆境胁迫的程度.

众所周知, SOD、CAT 和 POD 是植物体内对活性氧自由基直接起作用的重要的抗氧化酶类, 在植物遭受氧化胁迫时会表现出相应的应激反应^[12]. 本次实验中, 各实验组之间的 SOD 与 CAT 活性比较, 均为对照组(pH6.0) 的活性最高, 其他实验组的酶活性均明显降低(图 3、5) . 这与马成仓^[3]、张秋娟等^[4]的研究结果是一致的. 而 POD 活性的变化则刚好相反, 对照组(pH 6.0) 与实验组(pH5.0) 的酶活性最低, 而实验组(pH7.0) 则略高, 但 3 组之间没有显著性差异. 过酸或过碱的环境则大幅度增强了 POD 的活性(图 4) . 推测 POD 在逆境或衰老后期可能参与了活性氧的生成、叶绿素的降解, 并能引发膜脂过氧化作用, 表现为伤害效应, 是植物体的衰老指标^[13]. 总之, 作为植物体内活性氧清除系统中的关键酶, SOD 与 CAT 的高活性有利于细胞及时而有效地清除 $O_2^{\cdot-}$ 与 H_2O_2 等活性氧自由基的产生, 减少氧化胁迫带来的伤害, 从而保护植物. 至于 POD 的活性在对照组(pH6.0) 处理下为何表现最弱, 其具体机制尚有待于从生物化学及分子生物学等水平作进一步探讨.

AsA 和 GSH 是植物体内普遍存在的两种重要的抗氧化剂, 直接或间接清除 $O_2^{\cdot-}$ 与 H_2O_2 ^[14]. 本试验结果显示, 当根际 pH 低于或高于 6.0 时, AsA 和 GSH 的含量均明显下降. 其中以实验组(pH4.0) 的下降幅度最大(图 6、7) . 这表明过酸或过碱的根际 pH 均抑制了抗氧化物质的合成, 从而减弱了细胞对逆境产生的活性氧自由基的清除能力, 最终可能导致细胞结构破坏乃至死亡.

综合以上分析证明, 无论是 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率, 丙二醛含量, 还是抗氧化酶活性以及抗氧化剂含量等方面, “两优培九”幼苗根系在根际 pH6.0 的培养下, 各项生理指标综合表现最好. 其次是 pH5.0 和 pH7.0, 而在 pH4.0 与 pH8.0 的根际环境下, 各项生理指标综合表现最差. 因此, 从根系抗氧化系统特性的角度来说, pH6.0 最适于杂交稻“两优培九”幼苗的生长发育.

[参考文献]

- [1] 张福锁. 环境胁迫与植物营养[M]. 北京: 农业出版社, 1993.
- [2] 王三根, 周小华. 培养液 pH 对白菜幼苗吸收营养元素的影响[J]. 云南农业大学学报, 1993, 8(4): 338-342.
- [3] 马成仓. pH 对油菜幼苗细胞膜及细胞保护系统的影响[J]. 中国油料, 1997, 19(1): 27-31.
- [4] 张秋娟, 李淑玲, 冯建灿, 等. pH 胁迫对喜树苗期生长及生理指标的影响[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(2): 193-195.
- [5] 郭培国, 陈建军, 李荣华. pH 对烤烟根系活力及烤后烟叶化学成分的影响[J]. 中国农业科学, 2000, 33(1): 39-45.
- [6] 全松华, 汪永国, 罗绍球, 等. 苗床土壤 pH 对水稻秧苗素质的影响[J]. 杂交水稻, 2004, 19(4): 45-46.
- [7] 刘少华, 陈国祥, 吕川根, 等. 根际 pH 对杂交稻幼苗光能转化特性的影响[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(3): 244-248.
- [8] 陈冬梅, 司江英, 封克. 介质 pH 和氮形态对玉米苗期根系发育的影响[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2006, 27(2): 36-39.
- [9] 李光忠, 龚明. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进[J]. 云南植物研究, 2005, 27(2): 211-216.
- [10] 萧浪涛, 王三根. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [11] 吴志华, 曾富华, 马生健, 等. 水分胁迫下植物活性氧代谢研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2004, 33(2): 77-80.
- [12] Dong J G, Olson D, Silverstone A. Sequence of a cDNA coding for a 1-aminocyclopropan-1-carboxylate oxidase homolog from apple fruit [J]. Plant Physiol, 1992, 98: 1530-1531.
- [13] Lidon F C, Teixeira M G. Oxy radicals production and control in the chloroplast of Mn-treated rice [J]. Plant Science, 2000, 152(1): 7-15.
- [14] Zhang J X, Kirkham M B. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species [J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35(5): 785-791.

[责任编辑: 黄 敏]