

砷胁迫对超级稻根系保护酶活性和渗透调节物质的影响

赵天宏 裴 超 赵艺欣 曹 莹 郭 俊 马殿荣

(沈阳农业大学 辽宁 沈阳 110866)

摘要:探讨砷胁迫对超级稻抗氧化能力的响应机理。在盆栽条件下,以沈农 265 超级稻品种为供试试材,研究砷对超级稻根系活性氧代谢和渗透调节程度的影响。结果显示,随着砷浓度的提高,超级稻根系超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化物酶(POD)活性呈先上升后下降的趋势,膜脂过氧化产物(MDA)含量增加,相对电导率增大,可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸都呈现出先升高后降低的趋势。超级稻在分蘖期、孕穗期和灌浆期均表现出同样的趋势。在低浓度砷胁迫下,水稻自身会出现自我保护的现象,高浓度砷对超级稻表现出伤害效应。

关键词:超级稻;砷胁迫;根系;保护酶;渗透调节

中图分类号:S511.01 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2012)02-0152-05

Effects on Protective Enzymes and Osmotic Regulation Substances to Arsenic Stress in Super Rice Roots

ZHAO Tian-hong, PEI Chao, ZHAO Yi-xin, CAO Ying, GUO Jun, MA Dian-rong

(Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Arsenic stress on the antioxidant capacity of super rice response mechanism. In the pot conditions, the Shennong 265 super rice varieties to try the material for the study of super rice roots arsenic active oxygen metabolism and osmotic adjustment extent. With the increased concentration of arsenic, MDA content in super rice roots upward trend, which As-20 and As-40 increased and reached a significant level ($P < 0.05$) compared with control; and As-60 with the next MDA content in tillering and grain filling stage to a significant differences ($P < 0.05$). Compared with the control, the relative conductivity of As-60, As-40, As-20 increased by 55.33% - 95.77%, 31.64% - 65.42% and 21.17% - 29.30%. With the extension of rice growing period, different concentrations of arsenic-treated rice roots under the SOD content increased at first and then decreased, showing As-20 > CK > As-40 > As-60. Compared with the control, As-20 with the next increase of POD content 17.5% - 48.98%, reaching a significant levels ($P < 0.05$); and As-40, As-60 treatment under the POD activity decreased, but were not significant level ($P > 0.05$). Different concentrations of arsenic-treated under the super rice proline content showed a trend from high to low first. Compared with the control, As-20 with the next super rice root proline content increased by 7.83% - 9.58%, to a significant levels ($P < 0.05$). In the boot stage, As-40 with the next super rice root proline content increased by 2.97%, to a significant level ($P < 0.05$); As-60 with the next super rice proline content decreased 3.14% to significantly levels ($P < 0.05$). In the tillering and grain filling stage, As-40, As-60 two treatment compared with control, failed to meet a significant level ($P > 0.05$). Soluble protein content was first increased and then decreased, the As-20 > As-40 > As-60 > CK. Compared with the control, As-20 with the next super-soluble protein content of rice increased by 19.22% - 29.77%, reaching a significant level ($P < 0.05$); As-40 with the next super rice root soluble protein content, compared with the control, was downward trend, but did not reach significant level ($P > 0.05$); and As-60 with the next super-soluble protein content of rice decline of 13.44% - 21.23%, reac-

收稿日期:2011-11-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30500069);教育部北方粳稻遗传育种重点实验室开放项目(2009005)

作者简介:赵天宏(1972-),男,辽宁义县人,副教授,博士,主要从事植物生理生态研究。

通讯作者:曹 莹(1973-),女,辽宁沈阳人,副教授,博士,主要从事农业生态学研究。

hing a significant levels($P < 0.05$). The soluble sugar content showed a trend from high to low before the specific performance of $As-20 > CK > As-40 > As-60$. Compared with the control ,As-20 with the next super rice root soluble sugar content increased 36.48% –60.56% ,reaching a significant level($P < 0.05$); As-40 with the next super rice root soluble protein content ,in addition to filling stage outside ,were significant level($P < 0.05$); As-60 with the next super rice root soluble sugar content reached only in the tillering stage significantly levels($P < 0.05$). At the low concentrations of arsenic stress ,the rice itself will be the phenomenon of self-protection ,high concentrations of arsenic on the performance of the damage of super rice.

Key words: Rice; Arsenic stress; The root system; Protective enzyme; Osmotic regulation

砷(As) 是一种常见的环境毒物和人类致癌物 , 大量存在于许多矿产中 ,对动植物具有强烈的毒害作用^[1]。砷化物常被用于制造药品、化妆品、农药 (如除草剂、灭菌剂、木材防腐剂、灭鼠剂) 以及猪和禽的促生长剂^[2-4]。As 污染在全世界(尤其在东南亚) 已成为一个严峻的环境问题 , 目前已有数百万人口遭受到 As 中毒^[5]。

国内外相继开展了砷对农作物的危害、农作物对砷的吸收和累积规律方面的研究。研究结果表明 , 少量砷化物对湖南省常宁县出产的白沙柑子和生姜的生长有刺激作用 ,并能提高这 2 种作物的品质^[6]。研究发现 ,水稻对于砷的同化吸收能力高于其他谷物^[7]。经温室土壤培养试验表明 ,水稻秸秆中的砷与籽粒中的砷在生长期存在线性相关关系 , 且秸秆中砷含量大约为籽粒的 15 倍^[8]。Sun^[9] 等通过测定来自中国及孟加拉国的水稻籽粒中的砷含量 ,发现总砷富集规律: 米糠 > 糙米 > 大米 ,且米糠、糙米、大米中砷含量及砷形态的关系比较复杂。由于含 As 灌溉水的大量使用 ,导致农田土壤 As 高度积累 ,大面积的水稻田已经遭受 As 污染 ,而且水稻比其他农作物更易积累 As^[10] ,因此 ,研究水稻砷污染已成为当今全球热点问题之一。在土壤污染物与作物的关系中 ,最直接的受害部位是作物的根系。本试验重点研究砷胁迫对超级稻根系活性氧代谢和渗透调节程度的影响 ,旨在为探讨砷污染的伤害机理和生物监测提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试品种为超级稻沈农 265 号(由沈阳农业大学水稻研究所提供)。

1.2 试验设计

试验于 2010 年 5 – 10 月在沈阳农业大学农学院试验基地进行 ,采用盆栽试验。利用高 30 cm、直径 28 cm 的聚乙烯桶 ,每桶装过筛土壤 12 kg 5 月初直播 ,每盆 4 穴 ,每穴 2 株 ,待超级稻苗期时施入

亚砷酸钠。试验设置 4 个处理: CK(不施入亚砷酸钠) ,As-20(砷浓度为 20 mg/kg) 、As-40(砷浓度为 40 mg/kg) 、As-60(砷浓度为 60 mg/kg) ,重复 3 次。氮肥 50% 基肥、50% 分蘖期施用 ,磷肥(以 P_2O_5 计 , 105 kg/hm²) 和钾肥(以 K_2O 计 , 90 kg/hm²) 均以基肥形式施用。分别于分蘖期、孕穗期和灌浆期取水稻根系测定相关指标。

1.3 生理测定及方法

1.3.1 膜脂过氧化程度 丙二醛(MDA) 含量的测定参照李合生等^[11]的硫代巴比妥酸(TBA) 比色法; 外渗电导率用 DDS-11A 型电导率仪测定 ,以相对电导率(%) 表示^[11]。

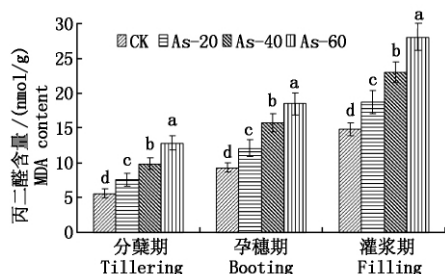
1.3.2 抗氧化酶活性 超氧化物歧化酶(SOD) 活性的测定采用 NBT 光氧化还原法 ,以抑制 NBT 光氧化还原 50% 的酶量为一个酶活性单位^[12]; 过氧化物酶(POD) 活性的测定采用愈创木酚法 ,将每分钟 OD₄₇₀ 增加 0.01 定义为一个酶活力单位^[13]。

1.3.3 渗透调节物质 可溶性糖采用蒽酮法测定^[14]; 可溶性蛋白采用考马斯亮蓝法测定^[14]; 游离脯氨酸采用磺基水杨酸法测定^[14]。

2 结果与分析

2.1 砷胁迫对超级稻根系膜脂过氧化程度的影响

2.1.1 砷胁迫对超级稻根系丙二醛(MDA) 含量的影响 图 1 表明 ,随生育期的延长 ,各处理超级稻根系内的 MDA 含量均呈升高趋势 ,在同一生育时期内 ,其余处理随砷浓度的提高 ,MDA 含量增加 ,分蘖期、孕穗期、灌浆期各生育时期表现出相同的趋势 ,如不同生育时期 MDA 含量升高的幅度不同。As-20 处理下超级稻根系丙二醛含量的增幅为 26.21% ~ 35.54% ,达到了显著差异($P < 0.05$); 与对照相比 , As-40 处理下超级稻丙二醛的增幅为 54.68% ~ 76.24% ,达到了显著水平($P < 0.05$); 而 As-60 处理下超级稻根系丙二醛含量在分蘖期与灌浆期达到显著($P < 0.05$) 或极显著差异($P < 0.01$)。



小写字母表示不同处理间差异达 0.05 显著水平。图 2~7 同。
Different small letters in the rows show the significance of different treatments at $P < 0.05$ levels respectively. The same as Fig. 2~7.

图 1 不同生育时期超级稻根系 MDA 含量

Fig.1 Different growth periods super rice root MDA content

2.1.2 砷胁迫对超级稻根系外渗电导率的影响

图 2 表明,水稻根系质膜透性随土壤中砷浓度的增加而增大。与对照相比,As-60、As-40、As-20 3 个处理下的超级稻根系相对电导率值增幅分别为 55.33%~95.77%、31.64%~65.42%、21.17%~29.30%。3 个处理与对照相比,均达到显著差异($P < 0.05$)。上述结果表明,高浓度的砷处理可以使超级稻根系质膜相对透性增加,并且随着浓度的增加,质膜相对透性增加幅度逐渐增大。

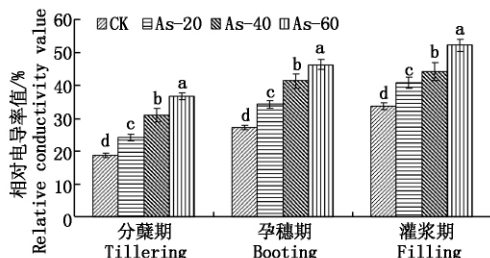


图 2 不同生育时期超级稻根系相对电导率值

Fig. 2 Different growth periods super rice relative conductivity vale of root system

2.2 砷胁迫对超级稻根系抗氧化酶活性的影响

2.2.1 砷胁迫对超级稻根系超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响 从图 3 可以看出,随着超级稻生育期的延长,不同浓度砷处理下超级稻根系超氧化物歧化酶含量(以鲜质量计)呈现先升高后降低的趋势,表现为 As-20 > CK > As-40 > As-60。与对照相比,As-20 处理下超级稻根系超氧化物歧化酶

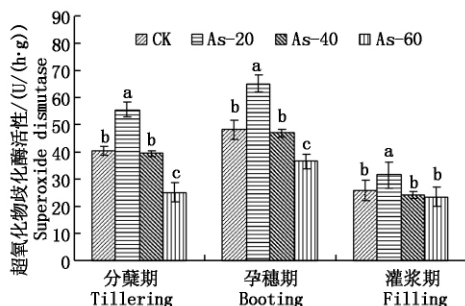


图 3 不同生育时期超级稻根系 SOD 活性

Fig.3 Different growth periods super rice root SOD activity

含量增加幅度为 26.01%~37.04%,达到了显著差异($P < 0.05$);而 As-40 处理下的超级稻根系超氧化物歧化酶活性呈下降趋势,但未达到显著差异($P > 0.05$);As-60 处理下超级稻根系超氧化物歧化酶活性降幅为 9.68%~37.82%,并在分蘖期与孕穗期达到了显著差异($P < 0.05$)。

2.2.2 砷胁迫对超级稻根系过氧化物酶(POD)活性的影响

由图 4 可知,随超级稻生育期的延长,不同浓度砷处理下超级稻过氧化物酶含量(以鲜质量计)呈先升高后降低趋势,且各时期过氧化物酶表现为 As-20 > CK > As-40 > As-60。与对照相比,As-20 处理下超级稻根系过氧化物酶含量的增幅为 17.5%~48.98%,达到了显著差异($P < 0.05$);而 As-40、As-60 处理下的超级稻根系过氧化物酶活性呈下降趋势,但均未达到显著差异($P > 0.05$)。

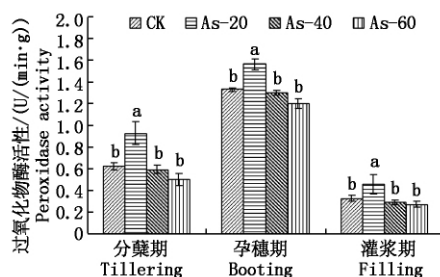


图 4 不同生育时期超级稻根系 POD 活性

Fig.4 Different growth periods super rice root POD activity

2.3 砷胁迫对超级稻根系渗透调节物质的影响

2.3.1 砷胁迫对超级稻根系游离脯氨酸含量的影响

如图 5 所示,在整个生育期内,不同浓度砷处理下的超级稻脯氨酸含量呈现先高后低的趋势。与对照相比,As-20 处理下的超级稻根系脯氨酸含量的增幅为 7.83%~9.58%,达到了显著差异($P < 0.05$)。在孕穗期,As-40 处理下超级稻根系脯氨酸含量增加了 2.97%,达到了显著差异($P < 0.05$);As-60 处理下的超级稻脯氨酸含量降低了 3.14%,达到了显著差异($P < 0.05$)。在分蘖期与灌浆期,As-40、As-60 这两个处理与对照相比,均未达到显著差异($P > 0.05$)。

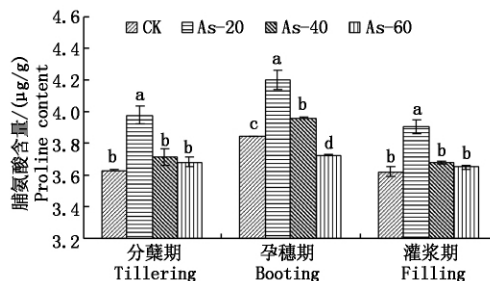


图 5 不同生育时期超级稻脯氨酸含量

Fig.5 Different growth periods super rice proline content

2.3.2 砷胁迫对超级稻根系可溶性蛋白含量的影响

响 在各个不同生育期内,不同浓度砷处理下,超级稻可溶性蛋白含量呈先升高后降低的趋势(图6),即 $As-20 > As-40 > As-60 > CK$ 。与对照相比, $As-20$ 处理下超级稻可溶性蛋白含量增幅为 19.22% ~ 29.77%,达到显著差异($P < 0.05$); $As-40$ 处理下超级稻根系可溶性蛋白含量,与对照相比,呈下降趋势,但未达到显著差异($P > 0.05$);而 $As-60$ 处理下超级稻可溶性蛋白含量降幅为 13.44% ~ 21.23%,达到显著差异($P < 0.05$)。

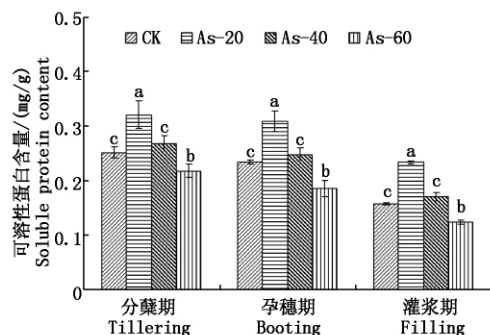


图6 不同生育时期超级稻根系可溶性蛋白含量

Fig. 6 Different growth periods super rice root soluble protein content

2.3.3 砷胁迫对超级稻根系可溶性糖含量的影响

由图7可知,超级稻在整个生育期内,可溶性糖含量呈现先高后低的趋势,具体表现为 $As-20 > CK > As-40 > As-60$ 。与对照相比, $As-20$ 处理下超级稻根系可溶性糖含量的增幅为 36.48% ~ 60.56%,达到了显著差异($P < 0.05$);而 $As-40$ 处理下超级稻根系可溶性蛋白含量,除灌浆期外,均达到显著差异($P < 0.05$); $As-60$ 处理下超级稻根系可溶性糖含量只在分蘖期达到显著差异($P < 0.05$)。

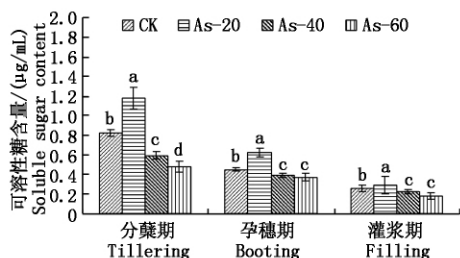


图7 砷胁迫对超级稻根系可溶性糖含量的影响

Fig. 7 Arsenic stress on the super rice root the content of soluble sugar influence

3 结论与讨论

3.1 对膜脂过氧化程度的影响

丙二醛是多不饱和脂肪酸过氧化物的降解产物。生物体内,自由基作用于脂质发生过氧化反应,氧化终产物为丙二醛,会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,且具有细胞毒性。在砷胁迫下,玉

米叶中MDA含量也随砷浓度升高而增加,且与砷浓度显著正相关。低剂量砷也导致玉米体内MDA积累,其积累随砷浓度的增加而升高,低剂量砷对玉米细胞膜有所损伤^[15]。王晨阳等研究表明,随生育期的推进,小麦根系内的MDA含量均呈升高趋势,在同一生育时期内,除50 mg/kg处理MDA含量与对照相差不大外,其余处理均随砷浓度的提高,MDA含量增加,越冬、拔节、灌浆各生育时期表现出相同的趋势^[16]。通过本试验的研究,证实了随砷处理浓度的增加,超级稻根系组织丙二醛含量增加,表明了砷对根系细胞的毒害作用加强。

朱云集等试验结果表明,小麦根系质膜透性随土壤中砷浓度的增加而增大,二者呈显著的正相关。且随着砷浓度的增加小麦根系质膜相对透性的绝对值较大^[16]。本试验表明,随着砷处理浓度的增加,超级稻根系相对电导率呈逐渐增加的趋势,表明高浓度的砷对超级稻根系细胞的破坏作用较大,植株的抗逆能力减弱,砷胁迫必加速超级稻根系的衰老。

3.2 对抗氧化酶活性的影响

超氧化物歧化酶和过氧化物酶是一类广泛存在于生物体内的金属酶,是生物体内一种重要的氧自由基清除剂,从而避免当机体内超氧阴离子自由基浓度过高时引起的不良反应^[17]。杨桂娣研究表明,不同浓度无机砷处理水稻秧苗后,水稻组织保护酶—超氧化物歧化酶、过氧化物酶明显受到抑制并且不同价态无机砷处理后显著影响水稻秧苗保护酶活性。进一步分析发现,无机砷处理后对水稻秧苗根部保护酶活性的抑制作用较叶部强,而不同价态无机砷则以As(III)处理后对水稻秧苗保护酶活性的抑制作用较大^[18]。

董树亭等^[15]研究表明,随砷胁迫浓度增大,玉米叶片POD活性降低,根系POD活性增高。本试验结果表明,随着砷浓度的增加,超级稻根系组织POD、SOD活性出现先上升后下降的趋势,在低浓度($As-20$)处理下,超级稻根系活性上升,但高浓度砷处理后,活性受到较强的抑制。可见,高浓度无机砷处理下超级稻的抗氧化系统受到严重破坏,进而导致其清除氧自由基的能力下降。

3.3 对渗透调节物质的影响

在逆境下,许多植物体内脯氨酸大量积累,积累的脯氨酸除了作为植物细胞质内渗透调节物质外,还在稳定生物大分子结构、降低细胞酸性、解除氨毒以及作为能量库调节细胞氧化还原势等方面起重要作用^[19]。试验结果表明,随着超级稻生育时期的延长, $As-20$ 处理下脯氨酸含量明显上升,而 $As-40$ 和

As-60 处理下脯氨酸含量变化较小,说明低浓度砷处理能够提高水稻根系的脯氨酸含量,增强其抗性。

有研究表明,砷胁迫使玉米根叶可溶性蛋白的含量增加,叶片的可溶性蛋白活性大于根系^[15]。本试验结果表明,随着砷浓度的增加,超级稻根系的可溶性蛋白呈现出 As-20 > As-40 > CK > As-60 的趋势,表明低浓度的砷离子溶液会导致可溶性蛋白含量增加,增加细胞渗透浓度和功能蛋白的数量,有助于维持细胞正常代谢,可能是植物抵抗砷毒害的一种解毒机制,但高浓度砷对蛋白质的合成起破坏作用。

在逆境条件下植株的可溶性糖含量表现出升高的趋势,其原因不仅在于可溶性糖参与细胞的渗透调节作用,更重要的可能在于许多可溶性碳水化合物是植物适应环境的信号物质。在砷胁迫下,随着砷浓度的增加,超级稻根系的可溶性糖含量呈现出先升后降的趋势,这可能与生育后期生长中心由营养生长向生殖生长转移、同化物利用率高和物质运转快有关。

综上所述,随着砷浓度的增加,超级稻根系膜脂过氧化程度增强,细胞膜受到破坏。低浓度砷处理下水稻表现出一定的自我保护能力,在高浓度砷处理下,保护酶活性降低,渗透调节物质含量下降,导致水稻根系生理代谢紊乱,最终影响植物生长。

参考文献:

- [1] Tripathi R D, Srivastava S, Mishra S *et al.* Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation bplants [J]. Trends in Biotechnology 2007 25(4): 158 – 165.
- [2] 王 薇,徐炎华. 水体中砷污染和治理概况 [J]. 微量元素与健康研究 2005 22(5): 59 – 61.
- [3] 蒋成爱. 土壤中砷污染研究进展 [J]. 土壤 2004 36(3): 264 – 270.
- [4] 常思敏,马新明,蒋媛媛,等. 土壤砷污染及其对作物的毒害研究进展 [J]. 河南农业大学学报 2005 39(2): 161 – 165.
- [5] Bhattacharya P, Welch A H, Stollenwerk K G *et al.* Arsenic in the environment: Biology and chemistry [J]. Science of the Total Environment 2007 379: 109 – 120.
- [6] 王晨阳,马元喜. 土壤渍水对冬小麦根系活性氧代谢及生理活性的影响 [J]. 作物学报 1996 22(6): 712 – 719.
- [7] 王永杰,郑祥民,周立旻. 稻米砷研究进展 [J]. 中国超级稻科学 2010 24(3): 329 – 334.
- [8] Xu X Y, McGrath S P, Meharg A A *et al.* Growing rice aerobically markedly decreases arsenic accumulation [J]. Environ Sci Technol 2008 42(15): 5574 – 5579.
- [9] Sun G X, Williams P N, Anne-Marie C *et al.* Inorganic arsenic in rice bran and its products are an order of magnitude higher than in bulk grain [J]. Environ Sci Technol, 2008 48(19): 7542.
- [10] Heikens A. Arsenic contamination of irrigation water, soil and crops in Bangladesh: Risk implication for sustainable agriculture and food safety iAsia [M]//Food and Agricultural Organization of the United Nations. Regional Office for Asia and the Pacific 2006.
- [8] 刘更另,陈福兴. 土壤中砷对植物生长的影响南方“砷毒田”的研究 [J]. 中国农业科学 1985 18(4): 9 – 16.
- [10] 王爱国,罗广华. 几种检测超氧化物歧化酶活性反应的比较 [J]. 植物生理学通讯 1983(5): 46 – 49.
- [11] Li H S, Sun Q, Zhao S J *et al.* Plant Physiology Biochemistry Principle and Experimental Technique [M]. Beijing: Higher Education Press 2004: 260 – 261.
- [12] Hao J J, Liu Y J. Experimental Technique on Plant Physiology [M]. Second edition. Shenyang: Liaoning Technology Press 2001: 162 – 189.
- [13] Chen J X, Wang X F. Experimental Manual on Plant Physiology [M]. Second edition. Guangzhou: South China University Press 2006: 72 – 73.
- [14] 赵世杰,史国安,董新纯. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业科技出版社 2002
- [15] 董树亭,张新荣. 玉米对砷污染的生理生态响应 [J]. 应用与环境生物学报 2008 6(1): 90 – 98.
- [16] 朱云集. 砷胁迫对小麦根系生长及活性氧代谢的影响 [J]. 生态学报 2000 7(4): 707 – 710.
- [17] 任安芝,刘 爽. 植物中的超氧化物歧化酶(SOD)对逆境的反应 [J]. 河南科学 1999(17): 151.
- [18] 杨桂娣,牛变红. 水稻秧苗响应无机砷胁迫的生理特性分析 [J]. 中国生态农业学报 2009 11(7): 1187 – 1190.
- [19] 武丕武,董 琳,王国桢,等. 山西省重要农产品汞、砷、铬和镉含量背景值的研究与应用 [J]. 山西农业科学 2008 36(8): 21 – 22.