

# 旱作转甜菜碱醛脱氢酶基因水稻开花后根系衰老生理特性研究

孙耀中, 东方阳

(河北科技师范学院生命科学系, 河北 昌黎 066600)

**摘要:** 采用田间试验与盆栽试验相结合的方法, 研究了旱作条件下转甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因水稻开花后根系生理特性的变化。结果表明: 在旱作条件下, 转 BADH 基因水稻开花后根系能保持较高的 SOD、POD 活性; 膜脂过氧化产物 MDA 含量较低; 可溶性糖含量较高; 在干旱胁迫下根系活力高于受体亲本(中花 8 号), 表明转 BADH 基因水稻生育后期能够有效地调节根系细胞的渗透势, 减少有害离子对根系的伤害, 从而延缓根系衰老, 使根系在产量形成期维持较强的生理活性。

**关键词:** 水稻; 转 BADH 基因; 旱作; 根系; 生理特性

**中图分类号:** S511.034 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2007)04-0221-04

世界范围的干旱问题日趋严重, 水资源匮乏已成为制约农业生产可持续发展的主要因子。水稻是我国的主要粮食作物, 也是耗水量较多的作物, 因此, 研究水稻对旱作环境的生理响应和适应性显得尤为重要。根系作为水稻生命活动中的重要器官, 与植株对干旱环境的适应能力和稻谷产量的形成有着密切的关系, 因此, 弄清水稻在旱作条件下根系衰老的生理特性具有重要意义。近年来, 根系研究作为进一步提高水稻生产潜力的一个基础性科研课题, 越来越引起人们的重视。但是, 有关水稻根系对干旱环境生理响应的研究相对较少<sup>[1~4]</sup>。

本研究对旱作条件下转 BADH 基因水稻开花后根系的保护酶活性、膜脂过氧化作用、可溶性糖含量及根系活力等一系列生理指标进行了测定与分析, 旨在明确转 BADH 基因水稻根系的耐旱生理基础, 为转 BADH 基因水稻抗旱品种选育和改良提供理论依据。

## 1 材料与方 法

供试品种(系): 转 BADH 基因水稻品系 52-7, 受体亲本中花 8 号(简称中 8, ck1), 当地推广旱稻品种白珍珠(ck2)。52-7 和中花 8 号均由中国科学院遗传研究所陈受宜研究员提供。

本试验在河北科技师范学院农学试验站进行, 试验地土壤类型为潮褐土, 质地为中壤, 有机质含量 23.32 g/kg, 速效磷含量 67.25  $\mu\text{g/g}$ , 速效钾含量

94.58  $\mu\text{g/g}$ , 全氮含量 1.42 g/kg。

### 1.1 试验设计

1.1.1 田间试验 采用小区试验, 小区面积 10  $\text{m}^2$ , 3 个品种(系)按随机区组排列, 3 次重复, 旱直播, 幼苗长到三叶一心时定苗。在苗期、分蘖期、孕穗期各灌水 1 次, 在分蘖期和孕穗期结合灌水各追施尿素 6 kg/667 $\text{m}^2$ 、硫酸钾 8 kg/667 $\text{m}^2$ , 抽穗开花后控制灌水。

各供试品种(系)在开花当日一次标记同日开花、生长整齐的植株, 以后每隔 8 d 取样一次, 每次随机选取 5 个代表性的植株, 挖取 20 cm 耕层的根系, 带回室内用水冲洗干净, 剪下所有的根, 充分混匀, 测定 SOD 酶活性、POD 酶活性、MDA 含量和可溶性糖含量等 4 个生理指标。

1.1.2 盆栽试验 在有防雨设施的网室中进行。供试品种(系): 转 BADH 基因水稻品系 52-7 和受体亲本中花 8 号(ck1)。具体方法: 取上述试验地耕作层土壤, 混和均匀, 过筛后分别装入 20 个聚乙烯塑料桶(直径 30 cm×高 40 cm)内, 每个塑料桶内装土 20 kg, 同时施入尿素和硫酸钾各 2 g。当上述田间试验小区幼苗长到分蘖期时, 选取长势一致的幼苗移栽到塑料桶中, 每个塑料桶中移栽 3 株, 土壤含水量保持田间最大持水量的 80%~85%, 每个品种(系)设置 10 次重复。自抽穗开花当日(测得此时土壤重量含水量为 18.5%)起开始控水, 之后不再灌水, 直到植株地上部叶片全部枯黄为止(测得此时土

收稿日期: 2006-02-20

基金项目: 河北省教育厅项目

作者简介: 孙耀中(1958—), 男, 河北乐亭县人, 教授, 主要从事生物统计学教学与作物遗传育种研究工作。

壤重量含水量为 12.4%)。从处理后第 5 天开始,每隔 1 d 取样一次,每次随机取 2 株,带回室内,把根系用水冲洗干净后,剪下、混匀,测定根系活力。

## 1.2 测定方法

1.2.1 丙二醛(MDA)含量的测定 采用硫代巴比妥酸比色法<sup>[5~6]</sup>。

1.2.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定 采用氮蓝四唑(NBT)光还原比色法<sup>[5~6]</sup>。

1.2.3 过氧化物酶(POD)活性的测定 采用愈创木酚比色法<sup>[5~6]</sup>。

1.2.4 可溶性糖含量的测定 采用蒽酮法<sup>[5~6]</sup>。

1.2.5 根系活力的测定 采用 TTC 法测定<sup>[6]</sup>。

## 2 结果与分析

方差分析表明,开花后根系的 SOD 酶活性、POD 酶活性、MDA 含量和可溶性糖含量等 4 个生理指标,在 52-7、中花 8 号和白珍珠 3 个品种(系)间的差异达到了极显著水平,并且品种(系)与开花后天数存在极显著的互作效应。表明开花后不同品种(系)间 4 个生理指标的变化均存在极显著差异,并且同一品种(系)各项生理指标的变化在开花后不同天数均具有不一致性。开花后 8~40 d 3 个品种(系)根系的 SOD 酶活性、POD 酶活性、MDA 含量、可溶性糖含量等 4 个生理指标的差异显著性见表 1。

表 1 3 个品种开花后根系生理指标的差异显著性

Table 1 Differential significance in physiological characteristics for the three strains in different days after flowering

开花后天数 Days after flowering (d)	品种(系) Strains	可溶性糖 Soluble sugar (%)	丙二醛 (MDA) ( $\mu\text{mol/g}$ )	超氧化物歧化酶 (SOD) [ $\text{U}/(\text{h}\cdot\text{g})$ ]	过氧化物酶 (POD) [ $\text{OD}_{470}/(\text{g}\cdot\text{min})$ ]
8	52-7	0.21±0.03aA	0.64±0.06aA	769.67±225.19aA	2.33±0.11aA
	中花 8 号 Zhonghua8	0.13±0.02bB	0.86±0.06bB	622.16±24.55aA	1.13±0.09cC
	白珍珠 White pearl	0.08±0.01cB	1.01±0.20cC	340.63±20.50aA	1.80±0.14bB
16	52-7	0.30±0.03aA	1.15±0.01bB	1378.81±21.00aA	3.49±0.14bB
	中花 8 号 Zhonghua8	0.17±0.04bB	1.34±0.12aA	1281.02±11.79abA	1.43±0.07cC
	白珍珠 White pearl	0.27±0.03cB	1.22±0.04bB	1083.64±10.20bB	4.20±0.66aA
24	52-7	0.26±0.04aA	1.29±0.01bB	24000.00±300.15aA	4.82±0.10aA
	中花 8 号 Zhonghua8	0.11±0.01bB	1.49±0.04aA	1544.63±144.76cB	2.75±0.11bB
	白珍珠 White pearl	0.13±0.04bB	1.42±0.02aA	2165.29±134.74bA	4.53±0.06aA
32	52-7	0.25±0.001aA	1.33±0.04bB	1596.25±202.94aA	3.65±0.04aA
	中花 8 号 Zhonghua8	0.11±0.01bB	1.56±0.10aA	866.67±30.76bB	2.13±0.10cC
	白珍珠 White pearl	0.08±0.04bB	1.47±0.04bB	713.82±58.81bB	2.88±0.06bB
40	52-7	0.21±0.01aA	1.25±0.03bB	777.12±8.60aA	4.58±0.20aA
	中花 8 号 Zhonghua8	0.11±0.02bB	1.62±0.06aA	340.63±20.50bB	4.46±0.28aAB
	白珍珠 White pearl	0.13±0.01bB	1.37±0.001aA	461.13±30.69bB	4.01±0.11bB

注:小写英文字母表示 5% 水平的差异显著性,大写表示 1% 水平的差异显著性

Note: The small letters show the difference is significant at 5%, while the capital at 1%

### 2.1 供试品种(系)根系 SOD 和 POD 酶活性变化的比较

超氧化物歧化酶(SOD)是生物防御活性氧伤害的重要保护酶之一,过氧化物酶(POD)是活性氧清除系统的另一种酶,它用以清除逆境和衰老过程中产生的活性氧以减轻活性氧对细胞的伤害。

由表 1 看出,3 个品种(系)根系 SOD 酶活性与 POD 酶活性都是呈先升后降趋势,在开花后 24 d 两种酶活性达到最高。开花后 8 d 和 16 d,52-7 与中花 8 号的 SOD 酶活性差异不显著;16 d 后,52-7 的 SOD 酶活性极显著高于中花 8 号和白珍珠。开

花后 8~40 d,52-7 的 POD 酶活性始终高于中花 8 号,并且差异达到极显著水平;52-7 与白珍珠的 POD 酶活性除开花后 24 d 差异未达到显著外,其它各时期的差异均达到极显著水平。由此可见,在旱作条件下转 BADH 基因水稻生育后期比受体亲本中花 8 号和当地推广品种白珍珠具有较强的清除根部氧自由基的能力。

水稻开花后 20 d 左右是籽粒中淀粉积累迅速增加的时期,此时 52-7 根系中两种保护酶保持较高的活性,有利于保护细胞膜免受植物体内活性氧的损伤,能更好地抵御逆境对它的伤害,延缓植物衰

老,从而对产量的形成起到重要作用。

## 2.2 供试品种(系)根系 MDA 含量的变化

丙二醛(MDA)为膜脂过氧化产物,其含量反映了膜脂过氧化程度。MDA 作为过氧化产物又可强烈与细胞内各种成分发生反应,使多种酶和膜系统遭受严重损伤。MDA 含量升高标志着植株转向衰老。由表 1 看出,开花后 8~40 d,3 个品种(系)根系 MDA 含量均呈现逐渐上升的趋势,但 52-7 根系 MDA 含量始终低于中花 8 号和白珍珠;在开花后 24 d,52-7 与中花 8 号差异达到极显著水平;在开花后 32~40 d,52-7 与白珍珠根系 MDA 含量呈缓慢下降的趋势,而中花 8 号根系 MDA 含量则呈继续上升趋势。这恰好表明 52-7 在生育后期由于 SOD、POD 两种保护酶活性较高而使细胞膜损伤程度降低,根系细胞中积累 MDA 的量较少。

## 2.3 供试品种(系)可溶性糖含量的变化

可溶性糖是植物体内主要的渗透调节物质,主要由蔗糖、葡萄糖、果糖和半乳糖构成,可溶性糖含量可调节整个细胞的渗透势,减少干旱对根系的伤害。根系中可溶性糖含量较高,有利于根系通过渗透调节降低植株水势,提高组织吸水、保水能力,从而维持水分平衡和阻止生理失水。由表 1 看出,在开花后 8~40 d,52-7 根系中可溶性糖含量的变化较平稳,并且极显著地高于其它两个品种。说明 BADH 基因的导入能够增强根系的渗透调节能力,更好地维持体内水分平衡,从而起到延缓衰老的作用。

## 2.4 供试品种(系)根系活力的变化

根系活力与抗旱性有密切关系。地上部的早衰与根系的生理变化有密切的关系,随着根系的逐渐

老化,根系的吸收能力将逐渐减弱,使根系活力下降。根系 TTC 还原量通常作为衡量根系活力大小的有效指标。由图 1 看出,在干旱胁迫处理初期,转 BADH 基因品系 52-7 和中花 8 号的根系活力都有所增强,持续一段时间后,当干旱胁迫超过其自身忍耐力时,根系活力迅速下降。在干旱胁迫处理的 5~13 d 内,52-7 比中花 8 号能够维持较高的根系活力。说明在干旱环境下转 BADH 基因水稻比其受体亲本更能维持根系的活力,延缓根系的衰老,以维持后期植株的正常生长。

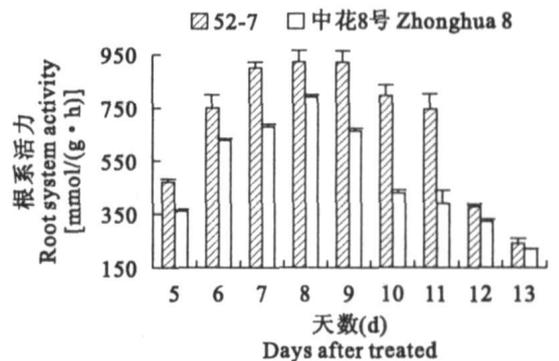


图 1 2 个品种开花后根系活力变化

Fig. 1 Changes of activity on root from two varieties after flowering

## 2.5 供试品种(系)产量构成因素的比较

由表 2 看出,转 BADH 基因水稻 52-7 的主穗长、穗粒数、结实率 3 个性状与中花 8 号和白珍珠差异均未达到显著水平;52-7 的千粒重显著高于中花 8 号,但显著低于白珍珠;52-7 的稻谷产量极显著高于中花 8 号和白珍珠,表明在旱作条件下 52-7 比中花 8 号和白珍珠都更具增产潜力。

表 2 旱作条件下 3 个品种(系)的稻谷产量及其构成因素

Table 2 Yield and its constituent factors for the three strains under drought stress

品种(系) Strains	主穗长 Length of main ear (cm)	穗粒数 Grains per ear	结实率 Seeding rate (%)	千粒重 1000-grain weight (g)	稻谷产量 Rice Yield (kg/667hm <sup>2</sup> )
白珍珠 White pearl	19.73±1.08 <sub>a</sub>	113.73±9.83 <sub>a</sub>	85.80±2.64 <sub>a</sub>	27.35±1.45 <sub>aAB</sub>	392.26±12.47 <sub>bB</sub>
中花 8 号 Zhonghua <sup>8</sup>	18.31±1.17 <sub>a</sub>	133.6±19.39 <sub>a</sub>	89.83±3.16 <sub>a</sub>	22.43±0.75 <sub>cC</sub>	412.20±42.84 <sub>bB</sub>
52-7	20.75±0.11 <sub>a</sub>	137.2±5.13 <sub>a</sub>	87.55±2.14 <sub>a</sub>	25.01±1.03 <sub>bBC</sub>	598.12±46.31 <sub>aA</sub>

注:小写英文字母表示 5% 水平的差异显著性,大写表示 1% 水平的差异显著性

Note.: The lowercase letters show the difference is significant at 5%, while the uppercases at 1%

## 3 结论与讨论

水稻开花后是产量形成的重要时期,也是叶片、

根系等器官逐渐进入功能衰退的时期。SOD 酶活性、POD 酶活性、MDA 含量是反映根系抗衰老能力的主要生理指标。开花后 24~40 d,3 个供试品种

(系)根系的 SOD 酶活性、POD 酶活性都呈明显下降趋势,MDA 含量则呈明显上升趋势,说明随着根系组织的逐渐衰老,根系自身清除活性氧自由基的能力下降,从而导致了细胞内活性氧的积累,膜质过氧化引起细胞膜损伤加重,这是最终造成植株地上部衰老的原因之一。

根系活力泛指根系的吸收、合成、氧化和还原能力等,是一种客观地反映根系生命活动的生理指标,根系活力的下降将会导致植株地上部早衰,影响籽粒灌浆,最终导致产量下降。试验表明,在干旱胁迫条件下转 BADH 基因品系 52-7 比受体亲本(中花 8 号)能够维持较强的根系活力。究其原因,主要是由于开花后 8~40 d 转 BADH 基因品系 52-7 根系始终保持较高的可溶性糖含量,从而使根系的渗透调节能力增强,更好地维持体内水分平衡,从而起到了延缓衰老的作用。这也是转 BADH 基因品系 52-7 在旱作条件下之所以能够获得较高籽粒产量的生理基础。

甜菜碱是一类季胺类化合物的总称,化学名为 N-甲基代氨基酸,它由胆碱经两步氧化而成,中间产物是甜菜碱醛。在高等植物中甜菜碱的生物合成是在植物叶绿体中进行的,这一过程涉及的第一个酶是胆碱单氧化物酶(CMO),第二个酶是甜菜碱醛脱氢酶(BADH)。许多高等植物如禾本科的大麦、玉米和藜科的菠菜、甜菜等,在盐、干旱和低温胁迫下积累甜菜碱,以维持胁迫下细胞的正常膨压和正常代谢功能<sup>[7]</sup>。目前已有多个例将甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因导入植物后,植株耐逆性得到提高的报道,郭岩等将山菠菜的 BADH 基因导入水稻(中花 8 号),得到了能耐 1.5% NaCl 的转 BADH 基因株系,并从中已筛选出了适于旱作的转 BADH 基因水稻品系 52-7<sup>[8~11]</sup>。本研究结果进一步表明,甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因的导入,可以使转 BADH 基因水稻品系在旱作条件下根系的 SOD 酶和 POD 酶能够保持较高的活性,使活性氧对细胞膜的伤害程度减弱,根系细胞膜的渗透调节能力增强,

从而能维持较强的根系活力,最终获得较高的籽粒产量。

**致谢:**本研究得到河北科技师范学院生命科学系 2005 届毕业生狄瑞环、李涛、魏红霞、王俊海、康彩虹的大力协助,谨致谢忱。

#### 参 考 文 献:

- [1] 潘晓华,王永锐,傅家瑞.水稻根系生长生理的研究进展[J].植物学通报,1996,13(2):13-20.
- [2] 孙静文,陈温福,臧春明,等.水稻根系研究进展[J].沈阳农业大学学报,2002,33(6):466-470.
- [3] 滕 胜,曾大力,钱 前,等.水稻根系活力的遗传分析[J].中国水稻科学,2002,16(2):119-122.
- [4] 蔡永萍,杨其光,黄义德.水稻水作与旱作对抽穗后剑叶光合特性、衰老及根系活性的影响[J].中国水稻科学,2000,14(4):219-224.
- [5] 白宝璋,王景安,孙玉霞,等.植物生理学测试技术[M].北京:中国科学技术出版社,1993.
- [6] 赵士杰,刘华山,董新纯.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业科学技术出版社,1998.
- [7] 沈义国,杜保兴,张劲松,等.山菠菜胆碱单氧化物酶基因(CMO)的克隆与分析[J].生物工程学报,2001,1:1-6.
- [8] 郭 岩,张 莉,肖 岗.甜菜碱醛脱氢酶基因在水稻中的表达及转基因植株的耐盐性研究[J].中国科学(C 辑),1997,27(2):151-155.
- [9] 东方阳,孙耀中,郭学民,等.旱作条件下转甜菜碱醛脱氢酶基因水稻品系的综合评价[J].干旱地区农业研究,2004,22(2):47-52.
- [10] 张艳敏,郭北海,蒋春志.转甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因小麦的耐盐耐旱性[J].华北农学报,2003,18(1):29-32.
- [11] 骆爱玲,刘家尧,马德钦,等.转甜菜碱醛脱氢酶基因烟草叶片中抗氧化酶活性增高[J].科学通报,2000,45(8):1953-1957.
- [12] 王空军,董树亭,胡昌浩.我国玉米品种更替过程中根系生理特性的演进:根系保护酶活性及膜脂过氧化作用的变化[J].作物学报,2002,28(3):384-388.
- [13] 李春香,王 玮,李德全,等.长期水分胁迫对小麦生育中后期根叶渗透调节能力、渗透调节物质的影响[J].西北植物学报,2001,21(5):924-930.
- [14] 徐孟亮,姜孝成,周广洽.干旱对水稻根系活力与结实性状的影响[J].湖南师范大学自然科学学报,1998,(8):64-69.

(英文摘要下转第 234 页)

- [13] 田庆久, 闵祥军. 植被指数研究进展[J]. 地球科学进展, 1998, 13(4): 327—333.
- [14] 王正兴, 刘 闯, H Alfredo. 植被指数研究进展: 从 AVHRR—NDVI 到 MODIS—EVI[J]. 生态学报, 2003, 23(5): 979—987.
- [15] 牛志春, 倪绍祥. 青海湖环湖地区草地植被生物量遥感监测模型[J]. 地理学报, 2003, 58(5): 695—702.
- [16] 弋良朋, 尹林克, 王雷涛. 基于 RDVI 的尉犁绿洲植被覆盖动态变化研究[J]. 干旱区资源与环境, 2004, 18(6): 66—71.
- [17] 薛利红, 曹卫星, 罗卫红, 等. 光谱植被指数与水稻叶面积指数相关性的研究[J]. 植物生态学报, 2004, 28(1): 47—52.

## Correlation analysis of canopy reflectance and coverage of rape in semi-wet rainfed agriculture area

WANG Jing, GUO Ni, WANG Xiao-ping, DENG Chao-ping, GUO Hai-ying,  
HUANG Bin, ZHANG Mou-cao, WANG Yin-zhen

(Lanzhou Institute of Arid Meteorology, CMA, Key Laboratory of Arid Climatic Change and Reducing Disaster,  
Key open laboratory of arid climate change and disaster reduction of CMA, Lanzhou, Gansu 730020, China)

**Abstract:** The relationship between coverage and canopy reflectance of rape in seedling, budding and early flowering stage in Xifeng district of Qingyang City was studied. The result showed that rape coverage had a distinct correlation with the spectral reflectance of 450, 550, 650, 850 and 1 650 nm band. And especially in budding stage, this correlation was very significant. In addition, the correlations of ten normal vegetation indexes with coverage were proved, which are more significant than those with single band reflectance. By using the best two VI monitoring models about coverage were constructed, and the fitting degrees are better. But in seedling stage the differences of linear and non-linear regression models are indistinct, in budding stage the linear equation is better, and in early flowering stage the exponential equation is better.

**Key words:** rape; reflectance spectra; coverage; vegetation index; correlation

(上接第 224 页)

## The study on physiological characteristics of root system in transgenic(BADH) rice under dry cultivation

SUN Yao-zhong, DONG Fang-yang

(Dept. of Life Sciences, Hebei Normal University of Science & Technology, Changli, Hebei 066600, China)

**Abstract:** Experiment was conducted in combining the field cultivation and the indoor cultivation in a pot method to study the physiological characteristics of root system in transgenic(BADH) rice after flowering. The result indicated that the transgenic rice has obvious advantages under dry cultivation, and can keep higher SOD and POD activation, while malondialdehyde(MDA) content declines; the high soluble sugar content can adjust the whole cell osmotic potential of cell and reduce the injury to the root system of harmful ion; the root activity in transgenic rice after flowering by water stress is higher than its parents Zhonghua8, which proved that transgenic(BADH) rice can slow down the aging of the root system. These characteristics might be helpful for the maintenance of root physiological activity during the graining filling period of varieties of transgenic(BADH) rice genotype—52—7.

**Key words:** rice; transgenic rice; dry cultivation; root system; physiological characteristic