

钙对盐胁迫下水稻幼苗抗氧化酶活性和膜脂过氧化作用的影响*

朱晓军^{1, 2, 4} 梁永超^{1, 3†} 杨劲松² 娄运生¹

(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

(2 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

(3 中国农业科学院土壤肥料研究所, 农业部植物营养与肥料重点实验室, 北京 100081)

(4 江苏省产品质量监督检验中心, 南京 210029)

摘要 研究了外源 Ca^{2+} 对盐胁迫下耐盐性不同的两个水稻品种(武育粳 3 号和 IR36)几种抗氧化酶活性及膜脂过氧化的影响。结果表明:适量的 Ca^{2+} 供应能有效提高水稻叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)以及抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性,使之维持在较高的水平上,并降低了丙二醛(MDA)含量和细胞膜透性。此外,外源 Ca^{2+} 还增加了抗坏血酸(AsA)的含量,增强了水稻幼苗的根系活力。这表明适量的外源 Ca^{2+} 供应提高水稻耐盐性的原因之一,在于其增强了植株的活性氧清除能力以及对细胞膜的稳定作用。

关键词 钙; 盐胁迫; 水稻; 酶; 膜脂过氧化

中图分类号 Q 945 **文献标识码** A

土壤盐渍化是影响农业生产以及生态环境的一个全球性问题,它也是目前制约着我国农业增产的两大土壤因素之一^[1]。众多研究已表明,植物在盐逆境条件下,细胞内活性氧产生与清除之间的平衡遭到破坏,膜脂过氧化作用增强,从而导致了细胞质膜透性增大、离子平衡失调、代谢紊乱^[2],植物体内产生的 O_2^- 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 等自由基是引发细胞这种逆境伤害的重要原因。盐胁迫造成了植物细胞中能够清除活性氧自由基的保护酶系,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等活性的降低,以及膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量的增加。一些研究发现^[3, 4],施用谷胱甘肽、水杨酸等也能有效提高植物体内活性氧清除系统中SOD、POD等的活性,降低细胞的膜脂过氧化水平,提高植物耐盐性。Liang等^[5]的研究发现,外源硅显著提高大麦耐盐性的一种可能机理是硅提高了盐胁迫大麦根系中SOD、POD、CAT和谷胱甘肽还原酶(GR)活性以及谷胱甘肽(GSH)的含量,降低MDA累积量和电解质的渗漏率。

钙是细胞内生理生化反应的第二信使偶联外信号,同时也是一种很好的膜保护剂,它对维持细胞壁、细胞膜以及膜结合蛋白的稳定性,调节无机离子运输,调控多种酶活性等起着重要的作用。近年来的研究表明,钙能提高植物组织或细胞的多种抗性,如抗冷性、抗热性、抗盐性以及抗多种矿质元素毒害胁迫等^[6-9]。但有关钙如何影响盐胁迫下水稻幼苗多种生物酶的活性及其相互之间协调作用以缓解盐害方面的报道还不甚多见。本文研究了外源钙对盐胁迫下水稻幼苗几种生物酶活性以及膜脂过氧化的影响,以期为进一步探讨钙对植物逆境伤害的缓解机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物的培养与处理

供试材料为耐盐性不同的两个水稻品种,即武育粳 3 号(较耐盐)和 IR36(盐敏感)。种子用 0.1% 的 HgCl_2 消毒 10 min,自来水充分冲洗,然后用蒸馏

* 国家重点基础研究发展规划项目(G1999011803)资助

† 通讯作者, Tel: 010-68918657, E-mail: liangyichao@yahoo.com

作者简介:朱晓军(1978~),男,江苏泰兴人,硕士,主要从事植物抗逆营养生理研究。E-mail: xjzhunji@163.com

收稿日期:2004-04-27;收到修改稿日期:2004-08-24

水浸种 24 h, 萌发后播种于盛有石英砂的周转箱中, 用木村 B 营养液培养(表 1), 置于人工气候室生长, 昼夜温度分别为 28℃和 20℃, 每天光照 10 h。选取生长一致的三叶一心期的幼苗, 转移到 1 L 塑料烧杯(外裹遮光黑布)中, 每杯植苗 4 株。每 4 d 换一次营养液, 待主茎第 6 叶全展后开始处理。试验设

如下 4 种处理: (1) CK; (2) T1(100 mmol L⁻¹ NaCl); (3) T2(100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂); (4) T3(100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂)。CK、T1 继续换用木村 B 完全营养液配制, 其他处理(T2、T3)用不含 Ca²⁺ 的木村 B 营养液配制。处理期间每 2 d 换一次营养液, 1 周后采样测定各指标。

表 1 木村 B 营养液配方

Table 1 Composition of Kimura B nutrient solution

成分 ¹⁾ Composition	浓度(mg L ⁻¹) Concentration	成分 ¹⁾ Composition	浓度(mg L ⁻¹) Concentration
(NH ₄) ₂ SO ₄	48.2	Ca(NO ₃) ₂	59.9
MgSO ₄	65.9	K ₂ SO ₄	15.9
KNO ₃	18.5	柠檬酸铁 Fe citrate	—
KH ₂ PO ₄	24.8	微量元素 Trace element	—

1) 柠檬酸铁用 Fe-EDTA 代替, 微量元素用 Arnon 营养液。每天调节营养液 pH 为 5.0 Fe-EDTA was used instead of Fe citrate. The trace element come from the Arnon solution. Culture solution pH was maintained at 5.0 and check daily

1.2 分析方法

1.2.1 细胞质膜透性的测定 利用相对电导率法^[10]。

1.2.2 MDA 含量的测定 采用赵世杰等方法测定^[11]。

1.2.3 根系活力的测定 采用 TTC 法^[12]。

1.2.4 酶活性测定 SOD 采用 NBT 光化还原法测定^[11], 以抑制光还原 NBT50% 为一个酶活性单位; POD 采用愈创木酚法^[13]; CAT 参照 Chance 和 Maehly^[14]的方法; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)与抗坏血酸(AsA)参照赵会杰的方法^[11]。

2 结果与分析

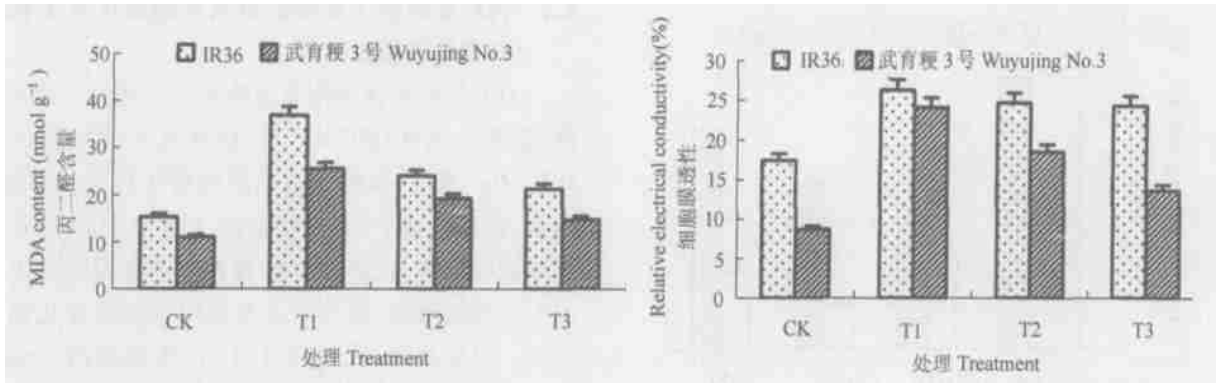
2.1 钙对盐胁迫下水稻幼苗 MDA 含量及细胞质膜透性的影响

MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一, 其含量的高低和细胞质膜透性的变化是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标^[15]。如图 1 所示, 盐胁迫使耐盐性不同的两个水稻品种叶片 MDA 含量均显著增加, 但耐盐品种(武育粳 3 号)的叶片 MDA 含量明显低于盐敏感品种, 这表明 NaCl 对耐盐水稻膜脂过氧化作用较小。加 Ca²⁺ 处理明显降低了叶片 MDA 含量, 就耐盐品种来讲, 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理的幼苗在胁迫后 MDA 含量较对照增加了 73.45%, 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理后幼苗 MDA 较对照仅增加了 33.15%; 另外, 与单纯 NaCl 胁迫的处理

(T1) 相比 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 和 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理的 MDA 含量分别降低了 24.81% 和 42.28%。该结果表明, Ca²⁺ 具有降低膜脂过氧化作用, 减轻膜脂过氧化对植物细胞的伤害, 并且以 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理的效果要好。在盐胁迫下, 水稻幼苗 MDA 含量的变化趋势与细胞膜透性变化相似, 不同耐性水稻品种两者的相关性系数分别为 0.9217(武育粳 3 号)、0.9976(IR36), 均达极显著水平($p < 0.01$)。表明盐胁迫下水稻幼苗膜透性的增加与膜脂过氧化程度之间表现出显著的正相关关系, 且与 MDA 相似, Ca²⁺ 处理抑制了细胞电解质的渗漏。

2.2 钙对盐胁迫下水稻幼苗根系活力的影响

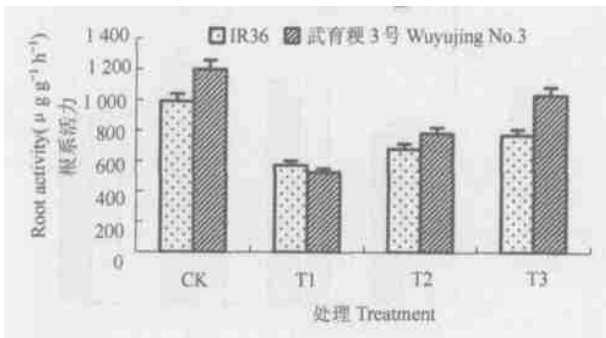
根系活力反映了植物根系的生长发育状况, 是根系生命力的综合评定指标。如图 2 所示, 未受盐胁迫的处理(CK)其根系活力显著高于受过盐胁迫的处理(T1、T2、T3)。在相同的盐胁迫条件下, 加钙处理(T2、T3)其根系活力相对于未加钙处理要高, 且 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理对提高水稻幼苗的根系活力要比 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理明显。单就耐盐品种(武育粳 3 号)来讲, 两个加钙处理较单纯 NaCl 胁迫处理(T1)分别增加了 48.95% 和 96.85%, 而较对照(CK)则分别降低了 34.90% 和 13.95%。这一结果说明盐胁迫造成了水稻幼苗根系活力的下降, 加钙在一定程度上抑制了根系活力的降低, 且由图 2 可以看出, 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理比 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理效果明显, 耐盐品种(武育粳 3 号)比盐敏感品种(IR36)的处理效果也更为明显。



CK: 对照 Control; T1: 100 mmol L⁻¹ NaCl; T2: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂; T3: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂

图1 不同浓度 Ca²⁺ 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗叶片 MDA 含量、细胞质膜透性的影响

Fig. 1 Effect of concentration of Ca²⁺ on MDA content and permeability of cell membrane in leaves of rice seedlings under NaCl stress



CK: 对照 Control; T1: 100 mmol L⁻¹ NaCl; T2: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂; T3: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂

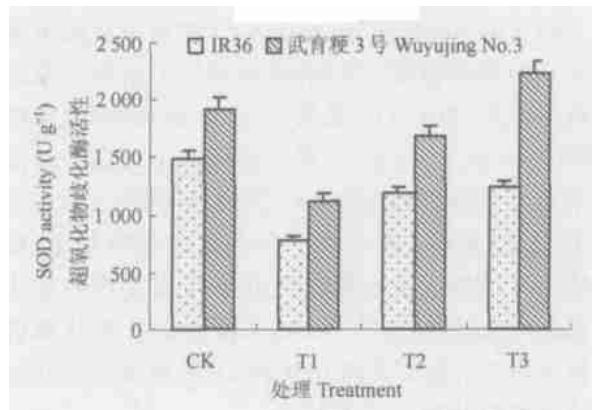
图2 不同浓度 Ca²⁺ 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗根系活力的影响

Fig. 2 Effect of Ca²⁺ concentration on root activity of rice seedlings under NaCl stress

2.3 钙对盐胁迫下水稻幼苗保护酶活性的影响

SOD 是清除超氧自由基酶系统中最重要的一种酶,当植物体处在胁迫环境中时,这种酶活性通常显著降低。如图 3 所示,在盐胁迫条件下,水稻幼苗 SOD 酶活性较对照明显降低,钙处理后有效抑制了其活性的降低,其中以 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理的效果较好,这表明钙能有效提高 SOD 酶的活性,减少活性氧物质的累积量从而降低植物细胞内活性氧自由基对质膜和膜脂过氧化作用水平的伤害,维持细胞膜的稳定性和完整性。由图中不难看出,在相同的胁迫条件下,耐盐性不同的两个水稻品种在施加钙处理后 SOD 的活力较未加钙的处理均有所增加,但其中耐盐品种(武育梗 3 号)增加的幅度显然要高于盐敏感品种(IR36)。此外,无论是 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理还是 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理对提高盐敏感品种的 SOD 活力均很有限,这表明盐胁迫对盐敏感品种已

造成了严重伤害,单纯的钙处理对盐害的缓解作用有限,同时也说明钙在调控修复植物逆境胁迫伤害中的能力有限度。

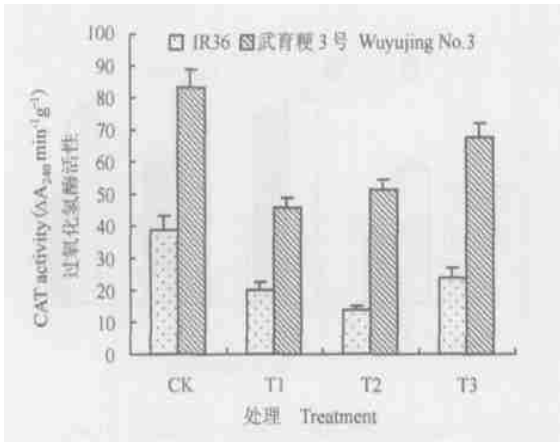


CK: 对照 Control; T1: 100 mmol L⁻¹ NaCl; T2: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂; T3: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂

图3 不同浓度 Ca²⁺ 对 NaCl 胁迫下水稻 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effect of Ca²⁺ concentration on SOD activity in rice seedlings under NaCl stress

由图 4 可知,在盐胁迫下耐盐性不同的两个水稻品种 CAT 活力均比对照有不同程度的下降,适量的钙处理在一定范围内抑制了其下降的趋势。单就耐盐品种来讲,盐胁迫下,未加钙处理(T1) CAT 活力比对照下降了 45.15%,而加钙的两个处理(T2、T3)则分别下降了 38.52% 和 18.88%,这说明盐胁迫下适量的 Ca²⁺ 较好地诱导了 CAT 活性的上升,从而清除了由于胁迫而在叶片中积累的 H₂O₂,提高了水稻有效抗拒盐胁迫的能力。与 SOD 一样,在本试验中两个浓度的 Ca²⁺ 处理均未能有效提高盐胁迫下盐敏感品种(IR36)的 CAT 活性,减轻其受到的胁迫伤害。

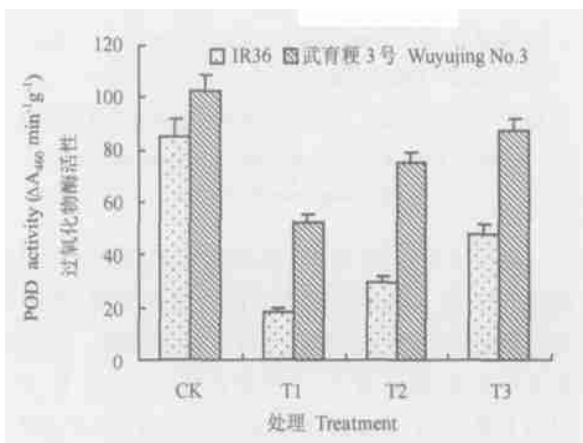


CK: 对照 Control; T1: 100 mmol L⁻¹ NaCl; T2: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂; T3: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂

图4 不同浓度 Ca²⁺ 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗 CAT 活性的影响

Fig. 4 Effect of Ca²⁺ concentration on CAT activity of rice seedlings under NaCl stress

与上述两种酶一样, 外源 Ca²⁺ 提高了盐胁迫条件下 POD 酶的活性, 不同程度地减轻了水稻幼苗的盐胁迫伤害(如图 5)。盐胁迫下, 耐盐品种(武育梗 3 号) 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理与 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理的 POD 活性分别较未加 Ca²⁺ 的处理增加 42.74% 和 66.04%, 效果均十分明显。与各自的对照相比, 盐敏感品种(IR36) 各处理的 POD 下降幅度都明显比耐盐品种(武育梗 3 号) 大, 这也恰恰说明 WYJ 抵御盐胁迫伤害的能力要比 IR36 强, 从而保证了其在盐逆境下要较 IR36 生长良好。



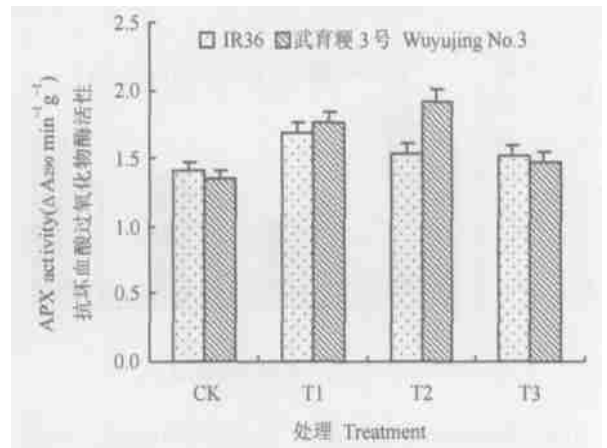
CK: 对照 Control; T1: 100 mmol L⁻¹ NaCl; T2: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂; T3: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂

图5 不同浓度 Ca²⁺ 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗 POD 活性的影响

Fig. 5 Effect of Ca²⁺ concentration on POD activity of rice seedlings under NaCl stress

2.4 钙对盐胁迫下水稻幼苗氧化酶活性及抗氧化剂含量的影响

APX 是叶绿体中清除活性氧自由基的一种关键酶, 它通过 ASA-GSH-NADPH 循环来清除细胞内的 H₂O₂、O₂⁻ 等, 从而避免活性氧的潜在伤害。如图 6 所示, 在盐胁迫下, 水稻幼苗的 APX 活性相对对照有增加的趋势, 且加 Ca²⁺ 处理在一定范围内促进了 APX 活性的增加, 这与上述几种保护酶的变化趋势不同。耐盐品种(武育梗 3 号) 在外源施用 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理后其 APX 的活性较对照和单纯 NaCl 胁迫处理(T1) 分别增加了 42.86% 和 9.09%, 而 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理却反而使其活性降低。

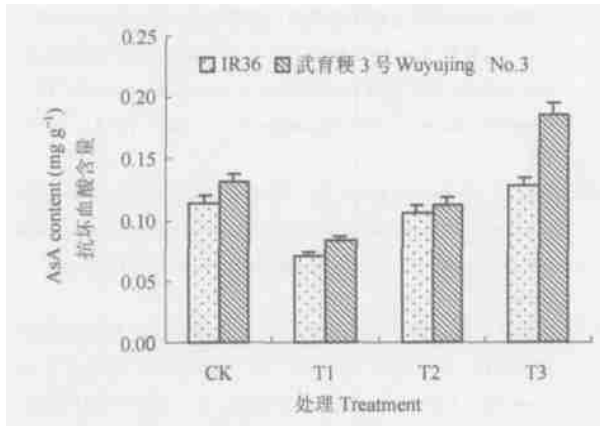


CK: 对照 Control; T1: 100 mmol L⁻¹ NaCl; T2: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂; T3: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂

图6 不同浓度 Ca²⁺ 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗 APX 活性的影响

Fig. 6 Effect of Ca²⁺ concentration on APX activity of rice seedlings under NaCl stress

盐胁迫下, 植物体内活性氧生成量增加, 活性氧清除系统通过控制细胞中活性氧的浓度来保护细胞, AsA 作为植物体内的一种抗氧化剂能清除 O₂⁻ 歧化生成的 H₂O₂。如图 7 所示, 盐胁迫明显降低了水稻叶片中 AsA 的含量, 耐盐性不同的两个水稻品种(武育梗 3 号、IR36) 其单纯 NaCl 胁迫处理(T1) 较各自对照分别下降 36.85% 和 37.93%。外源 Ca²⁺ 的加入均显著增加了水稻叶片中 AsA 的含量, 其中以 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理的增幅最为明显, 分别为对照的 142.04% 和 112.26%, 且均已超过各自对照的水平。在相同处理条件下, 耐盐品种(武育梗 3 号) AsA 的增加量高于盐敏感品种(IR36), 这也从另一方面证明了其更为耐盐的原因。两个品种均显示出 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理对 AsA 的增加效应要比 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理的强。



CK: 对照 Control; T1: 100 mmol L⁻¹ NaCl; T2: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 5 mmol L⁻¹ CaCl₂; T3: 100 mmol L⁻¹ NaCl + 10 mmol L⁻¹ CaCl₂

图7 不同浓度 Ca²⁺ 对 NaCl 胁迫下水稻叶片 AsA 含量的影响

Fig 7 Effect of Ca²⁺ concentration on AsA content in leaves of rice seedlings under NaCl stress

3 讨论

在正常情况下, 植物细胞内自由基的产生与清除处于动态平衡, 而当植物一旦处于盐胁迫下, 这种平衡遭到破坏, 导致了 O₂[•]、•OH 等自由基的大量累积, 自由基启动膜脂过氧化作用, 膜内拟脂双分子层中含有的不饱和脂肪酸链被过氧化分解, 从而造成膜的损伤和破坏, 膜系统的完整性丧失, 进而引起电解质外渗^[7], 严重时导致植物死亡。此外, 自由基对含有饱和双键的生物功能分子如叶绿素、核酸等也有破坏作用^[16]。MDA 是膜脂过氧化的末端产物, 其含量高低是判断膜脂过氧化程度的重要指标^[16], 电解质渗漏率也是反映细胞膜受伤害程度的直接指标。钙是生物膜的稳定剂, 在维持细胞膜结构稳定性和功能方面有重要的作用。本研究结果表明, 适当浓度的 Ca²⁺ 降低了盐胁迫下水稻幼苗的电解质渗漏率和 MDA 含量(图 1), 维持了细胞质膜的完整性, 保证了植物体各种代谢循环的正常进行。其原因可能是 Ca²⁺ 与膜磷脂的极性头部相连接, 发生交联作用, 从而使得膜脂上的蛋白质和磷脂结合紧密, 降低膜透性^[9]。在单纯 NaCl 胁迫处理条件下(T1), 耐盐水稻(武育粳 3 号)叶片中 MDA 含量明显低于盐敏感品种(IR36), 这表明 NaCl 对耐盐水稻的膜脂过氧化作用相对较小。

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官, 它直接影响植物地上部的生长状况。根系活力的大小影响着植物对养分的吸收和植物体内的代谢作用, 是

一项客观反映根系生命活动的生理指标。本研究结果显示, 盐胁迫使得耐盐性不同的两个水稻品种根系活力都有所下降(图 2), 施用一定量的钙均不同程度提高两个水稻品种的根系活力, 但耐盐品种(武育粳 3 号)较盐敏感品种(IR36)增加的幅度更大。根系活力的提高促进了植物在盐逆境条件下对营养物质的正常吸收、运输和转化以及地上部的良好生长。

SOD、CAT、POD 和 APX 等保护酶类在植物体内协同作用, 在逆境胁迫中清除过量的活性氧, 维持活性氧的代谢平衡, 保护膜结构, 从而使植物在一定程度上忍耐、减缓或抵御逆境胁迫伤害^[5]。SOD 催化 O₂[•] 发生歧化反应进而解除其毒性伤害, 而歧化反应过程中所产生的 H₂O₂ 则由 CAT、POD、APX 等来清除^[8, 12]。本实验结果表明, 适量的 Ca²⁺ 提高了盐胁迫下水稻叶片 SOD、CAT、POD 的活性, 且 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理较 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理更为有效地诱导了这三种保护酶活性的增强(图 3、图 4、图 5), 甚至使其恢复到接近非盐胁迫的水平(耐盐品种)。而 APX 却有着不同的结果, 在单纯 NaCl 胁迫下耐盐性不同的两个水稻品种其活性均较对照有所增加, 而 5 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理则提高了其增加的幅度, 这与 Mittal 等^[17]的研究结果相似, 盐胁迫在一定范围内提高了 APX 的活性。维持盐胁迫条件下较高的 APX 活性, 可以及时清除 H₂O₂, 进而避免由于 H₂O₂ 和 O₂[•] 相互作用产生•OH, 直接启动膜脂过氧化, 对膜系统造成更大的伤害。同上述三种酶(SOD、CAT、POD)不同的是, 10 mmol L⁻¹ Ca²⁺ 处理反而降低了 APX 的活性, 这可能是由于该浓度的 Ca²⁺ 未能有效调控 APX 的活性, 甚至对植物组织细胞形成了新的离子伤害, 其具体原因还有待于进一步的研究。本试验中, 耐盐水稻品种(武育粳 3 号)的几种生物酶活性均较同等处理条件下的盐敏感品种(IR36)要高, 而活性氧水平则相对较低, 对膜系统的伤害也就小, 因而能维持细胞膜正常的代谢功能, 这可能就是其更为耐受盐胁迫伤害的原因之一。AsA 是植物体内普遍存在的一种活性氧清除剂, 能清除 O₂[•]、¹O₂ 和 H₂O₂, 抑制膜脂过氧化, 而且与防止活性氧抑制 CO₂ 固定有关^[18]。本研究中, Ca²⁺ 处理显著提高盐胁迫条件下水稻叶片 AsA 含量, 清除了在逆境胁迫积累的部分自由基, 减轻了质膜的损伤, 有效缓解水稻幼苗的盐胁迫伤害, 保证其正常的生长。

参 考 文 献

- [1] Liang Y C, Yang C G, Shi H H. Effects of silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminium. *Journal of Plant Nutrition*, 2001, 24: 229~ 243
- [2] 刘友良, 毛才良, 汪良驹. 植物耐盐研究进展. *植物生理学通讯*, 1987, (4): 1~ 7. Liu Y L, Mao C L, Wang L J. Advances in salt tolerance in plants (In Chinese). *Commun Plant Physiology*, 1987, (4): 1~ 7
- [3] 陈沁, 刘友良. 谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用. *作物学报*, 2000, 26(3): 365~ 371. Chen Q, Liu Y L. Effect of glutathione on active oxygen scavenging system in leaves of barley seedlings under salt stress (In Chinese). *Acta Agronomica Sinica*, 2000, 26(3): 365~ 371
- [4] 余小平, 贺军民, 张键, 等. 水杨酸对盐胁迫下黄瓜幼苗生长抑制的缓解效应. *西北植物学报*, 2002, 22(2): 401~ 405. She X P, He J M, Zhang J, *et al.* Mitigative effect of salicylic acid on salt stress induced growth inhibition in cucumber seedling (In Chinese). *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*, 2002, 22(2): 401~ 405
- [5] Liang Y C, Chen Q, Liu Q, *et al.* Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160: 1 157~ 1 164
- [6] Ji B H, Zhu S Q, Jiao D M. Photochemical efficiency of PS II and membrane lipid peroxidation in leaves of *Indica* and *Japonica* rice (*Oryza sativa*) under chilling temperature and strong light stress conditions. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(2): 139~ 146
- [7] 宰学明, 吴国荣, 陆长梅, 等. Ca^{2+} 对花生幼苗耐热性和活性氧代谢的影响. *中国油料作物学报*, 2001, 23(1): 46~ 50. Zai X M, Wu G R, Lu C M, *et al.* Effect of Ca^{2+} on the heat tolerance and active oxygen metabolism of peanut seedlings (In Chinese). *Chinese Journal of Crop Sciences*, 2001, 23(1): 46~ 50
- [8] 陈华新, 李卫军, 安沙舟, 等. 钙对 NaCl 胁迫下杂交酸模幼苗叶片光抑制的减轻作用. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(5): 449~ 454. Chen H X, Li W J, An S Z, *et al.* The role of calcium in alleviating photoinhibition in NaCl stressed leaves of *Rumex K-1* seedlings (In Chinese). *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2003, 29(5): 449~ 454
- [9] 蔡妙珍, 罗安程, 林咸永, 等. Ca^{2+} 对过量 Fe^{2+} 胁迫下水稻保护酶活性及膜脂过氧化的影响. *作物学报*, 2003, 29(3): 447~ 451. Cai M Z, Luo A C, Lin X Y, *et al.* Effect of Ca^{2+} on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in rice under excessive Fe^{2+} stress (In Chinese). *Acta Agronomica Sinica*, 2003, 29(3): 447~ 451
- [10] Yang G, Rhodes D, Joly R J. Effects of high temperature on membrane stability and chlorophyll fluorescence in glycinebetaine deficient and glycinebetaine containing maize lines. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1996, 23: 437~ 443
- [11] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 12. Institute of Shanghai Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences. ed. *Experimental Guide book of Modern Plant Physiology* (In Chinese). Beijing: Science Press, 1999. 12
- [12] 邹绮. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000. Zou Q. *Experimental Guide book of Plant Physiology* (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2000
- [13] 李美茹, 刘鸿先, 王以柔. 钙对水稻幼苗抗冷性的影响. *植物生理学报*, 1996, 22(4): 379~ 384. Li M R, Liu H X, Wang Y R. Effect of calcium on the cold resistance of rice seedlings (In Chinese). *Acta Phytophysiological Sinica*, 1996, 22(4): 379~ 384
- [14] Chance B, Maehly A C. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 1955, 2: 746~ 755
- [15] 李明, 王根轩. 干旱胁迫对甘草幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响. *生态学报*, 2002, 22(4): 503~ 507. Li M, Wang G X. Effect of drought stress on activities of cell defense enzymes and lipid peroxidation in *Glycyrrhiza walensis* seedlings (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(4): 503~ 507
- [16] Liang Y C, Hu F, Yang M C, *et al.* Antioxidative defenses and water deficit induced oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.) growing on non flooded paddy soils with ground mulching. *Plant and Soil*, 2003, 257: 407~ 416
- [17] Mittal R, Dubey R S. Influence of sodium chloride salinity on polyphenol oxidase, indole 3 acetic acid oxidase and catalase activities in rice seedlings differing in salt tolerance. *Tropical Science*, 1995, 35(2): 141~ 149
- [18] Sanchez M, Queijeiro E, Revilla G. Changes in ascorbic acid levels in apoplastic fluid during growth of pine hypocotyls. Effect on peroxidase activities associated with cell walls. *Physiol. Plant*, 1997, 101: 815~ 820

EFFECT OF EXOGENOUS CALCIUM ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY AND LIPID PEROXIDATION OF RICE SEEDLINGS UNDER SALT STRESS

Zhu Xiaojun^{1, 2, 4} Liang Yongchao^{1, 3†} Yang Jingsong² Lou Yunsheng¹

(1 Department of Plant Nutrition, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(3 Institute of Soils and Fertilizers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

(4 Jiangsu Provincial Supervising & Testing Center for Production Quality, Nanjing 210029, China)

Abstract Two contrasting rice (*Oryza sativa* L.) cultivars, i. e. Wuyujing No. 3 (salt-tolerant) and IR36 (salt sensitive), were used for investigating effects of exogenous calcium (Ca) on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in leaves of rice growing hydroponically under salt stress. The results show that content of malondialdehyde (MDA) as well as membrane permeability were enhanced under salt stress. Salt stress decreased activities of antioxidant enzymes and contents of antioxidants. Addition of Ca significantly enhanced activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX) in the leaves of salt-stressed rice but reduced concentration of MDA and permeability of cell membrane. Furthermore, exogenous Ca enhanced ascorbic acid (AsA) content and root activity. Treatment with higher Ca ($10 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$) was observed to have better alleviating effect than that with lower Ca ($5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$) in the two contrasting rice cultivars differing in salt tolerance, but the reverse was observed in the experiment of APX activity. The degree of increase or decrease in the above mentioned parameters was smaller in salt-tolerant cultivar than in salt sensitive one under single NaCl stress. The results seem to suggest that the elimination of active oxygen species (AOS) and maintenance of membrane stability accounted to some extent for the mechanisms of Ca-mediated enhancement of salt tolerance in rice growing under salt stress.

Key words Calcium; Salt stress; Rice; Enzyme; Lipid peroxidation