

高温对水稻开花期剑叶抗氧化酶活性及基因表达的影响

王艳^{1,2}, 高鹏², 黄敏², 陈浩², 杨志荣¹, 孙群^{1*}

(1. 四川大学生命科学学院, 成都 610064; 2. 四川省原子能研究院, 成都 610066)

摘要: 以杂交水稻‘Ⅱ优838’为研究材料, 检测了高温胁迫下‘Ⅱ优838’开花期剑叶中叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性及SOD、CAT、POD基因的表达水平。结果显示, 高温胁迫使‘Ⅱ优838’剑叶中叶绿素含量及叶绿素a和叶绿素b含量的比值(Chl a/Chl b)降低且下降幅度显著低于‘冈优725’(对照); SOD和POD活性增高且增幅显著大于‘冈优725’, 但CAT活性降低且降幅显著小于‘冈优725’; 热胁迫使‘Ⅱ优838’剑叶中SOD、CAT和POD基因的表达量显著增加。说明‘Ⅱ优838’在开花期遭遇高温胁迫后能保持较高的光合效率, 并通过提高抗氧化保护酶的基因表达水平以维持较高的活性来应答高温胁迫, 这为深入剖析水稻高温胁迫下的生理反应和适应机理提供了参考。

关键词: 水稻; ‘Ⅱ优838’; 高温胁迫; 抗氧化酶; 实时荧光定量RT-PCR

中图分类号: Q945.78; S511

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2015)03-0355-07

Effects of High Temperature on the Activity and Expression of Antioxidative Enzymes in Rice Flag Leaves during the Flowering Stage

WANG Yan^{1,2}, GAO Peng², HUANG Min², CHEN Hao², YANG Zhi-Rong¹, SUN Qun^{1*}

(1. College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China;

2. Sichuan Institute of Atomic Energy, Chengdu 610066, China)

Abstract: We determined the chlorophyll content, activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD), as well as the gene expression of SOD, CAT and POD in rice flag leaves during the flowering stage under high temperature stress. We used real-time RT-PCR to disclose the mechanism of the physiological responses and adaptation of ‘Ⅱ YOU 838’ to heat stress. Upon heat treatment, the decline in chlorophyll content and the Chl a/Chl b ratio in ‘Ⅱ YOU 838’ was to a lesser degree than that of ‘Gang YOU 725’, and the activity of SOD and POD increased by a higher degree and the activity of CAT declined by a lower degree during the flowering stage. The expressions of the three antioxidative enzyme genes in ‘Ⅱ YOU 838’ were significantly higher than those in ‘Gang YOU 725’. These results implied that ‘Ⅱ YOU 838’ may have higher tolerance to heat stress by maintaining higher photosynthetic metabolism and improving protective antioxidant activity and expression.

Key words: Rice; ‘Ⅱ YOU 838’; High temperature stress; Antioxidases; qRT-PCR

中国是世界上最大的水稻生产国, 同时也是稻米消费大国, 水稻产量直接影响着我国的社会稳定和粮食安全^[1]。近年来极端高温天气频繁出现,

我国水稻遭遇高温热害的情况时常发生, 尤其是1994年、2003年、2010年的高温热害导致水稻减产最为严重^[2]。抽穗开花期是水稻对高温最敏

收稿日期: 2014-10-27, 退修日期: 2014-11-30。

基金项目: 国际原子能机构(IAEA)支持项目(16592); 四川省应用基础研究计划项目(2014JY0052)。

作者简介: 王艳(1982-), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向为植物分子遗传学(E-mail: wangry82@aliyun. com)。

* 通讯作者(Author for correspondence): 孙群(1967-), 女, 博士生导师, 研究方向为生物技术(E-mail: qunsun@scu. edu. cn)。

感的时期,若开花期遭遇高温热害可导致田间大面积减产,因此开展优良种质资源的耐热性研究及选育耐热优良水稻品种是战胜高温自然灾害的最有效途径^[3]。籼稻‘Ⅱ优838’是以母本‘Ⅱ-32A’与辐照育种父本‘辐恢838’配组育成的杂交水稻^[4],其耐热性较好且优于包括‘冈优725’在内的许多水稻品种^[5,6]。‘Ⅱ优838’是我国出口东南亚地区的主要水稻品种,同时随着在我国高温区域的大面积推广,‘Ⅱ优838’耐高温热害的优点逐渐显现出来,成为水稻耐热性研究的理想材料^[7]。目前,对‘Ⅱ优838’的耐热性研究还停留在田间观测阶段,未见从生理生化水平和分子水平上对其耐热机理进行深入分析的报道。

叶片光合效率降低是光合作用响应高温胁迫的主要表现,而与光合速率密切相关的叶绿素含量则可作为反映受胁迫程度的重要指标^[8]。水稻受到热胁迫时内源活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平会大大升高,ROS大量积累将对体内的核酸、脂质、蛋白质等生物大分子产生伤害。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是植物用来清除体内ROS的重要抗氧化酶,其活性水平决定了细胞膜脂过氧化反应的程度^[9,10]。通过分析胁迫条件下SOD、CAT和POD基因的转录水平及其酶活性的变化动态,可以进一步了解水稻在逆境条件下的适应性机制,评价其耐受性^[11]。本研究以‘Ⅱ优838’为材料,采用实时荧光定量RT-PCR检测在开花期遭遇热胁迫后水稻剑叶的抗氧化保护酶基因SOD、CAT和POD的表达水平,并分析不同持续时间的热胁迫对‘Ⅱ优838’与‘冈优725’开花期剑叶的SOD、CAT和POD酶活性和叶绿素含量的影响,以期从分子水平和生理生化水平上探究‘Ⅱ优838’水稻开花期剑叶在热胁迫条件下的生理反应及适应机理,为耐热性水稻品种的选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

水稻‘Ⅱ优838’(简称‘Ⅱ838’)和对照‘冈优725’(简称‘G725’)种子由四川省原子能研究院提供。其中,‘Ⅱ优838’在1994年全国南方稻区区

试中平均亩产604.33 kg,比对照增产3.76%,1999年成为国家审定品种,并在2005年被国家农业部确定为杂交水稻中籼迟熟组对照组合,现已被大面积推广种植^[12];‘冈优725’是四川省常用的中籼迟熟组对照品种。

1.2 实验处理

2013年4月10日采用常规方法进行水稻播种育秧,当其生长至孕穗期(7月15日)时,选取长势一致的‘Ⅱ838’和‘G725’各12株,带土移栽入塑料钵中,每钵3株,随机分为热处理组和对照组,每组2钵;继续培养至开花当日,将热处理组移入日平均气温为37℃(8:00~19:00,42℃;19:00~翌日8:00,32℃)的光照培养箱中进行热处理,同时将对照组放入日平均气温为26℃(8:00~19:00,32℃;19:00~翌日8:00,22℃)的光照培养箱中。光照培养箱型号均为PGX-300B,容积320 L,参数设置为:光照强度600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光周期为11 h光照/13 h黑暗,湿度80%。两组的非实验栽培管理及环境条件一致。在热处理第0、1、3、5、7 d的19:00分别采集‘Ⅱ838’和‘G725’热处理组和对照组材料的剑叶,液氮冷冻保存以用于叶绿素含量及抗氧化保护酶活性测定。同期,将‘Ⅱ838’和‘G725’的田间植株用农用塑料膜围成1 m²的简易温室进行7 d的增温处理,并保持温室内日平均温度36℃(白天极端最高温度42±2℃),温室内湿度过均在70%左右;而常温对照组(‘Ⅱ838’和‘G725’的其他田间植株)日平均温度为29℃。在热处理的第7 d采集‘Ⅱ838’和‘G725’田间材料的开花穗剑叶,液氮冷冻保存用于实时荧光定量RT-PCR检测实验。以不同稻株的3个剑叶作为3个生物学重复,实验设置3次技术性重复。

1.3 抗氧化酶活性和叶绿素含量测定

SOD、CAT和POD酶活性分别用购自南京建成生物工程研究所的超氧化物歧化酶测试盒(目录号:A001-1)、过氧化氢酶测试盒(目录号:A007)和过氧化物酶测试盒(目录号:A084-3)进行检测。叶绿素含量测定参照杨敏文^[13]的方法并加以改良。

1.4 实时荧光定量RT-PCR检测

提取水稻剑叶总RNA(TIANGEN RNAsimple

总 RNA 提取试剂盒, 目录号: DP419), 并将 A_{260}/A_{280} 比值介于 1.8 ~ 2.0 之间且琼脂糖凝胶电泳后 28S 和 18S 条带清晰的高质量 RNA 用于后续实验。取约 1 μg 总 RNA, 经 DNase I 处理后反转录成 cDNA(TIANGEN 的 Quant cDNA 第一链合成试剂盒, 目录号: KP103-04), 反转录反应体系为 30 μL , 包含 3 μL 10 \times RT mix、3 μL dNTP 混合液(2.5 mmol/L each)、3 μL Oligo-dT₁₅、1.5 μL Quant Reverse Transcriptase、1 μg 总 RNA 模板和 18.5 μL RNase-free ddH₂O。基于笔者所在课题组从‘Ⅱ优 838’的两个亲本中获得的 SOD、CAT 和 POD 基因序列^[14], 采用 primer premier 5.0 软件设计这 3 个抗氧化酶基因的 qRT-PCR 扩增引物, 并由 Invitrogen 公司合成。以水稻的 rRNA 18S 作为内参基因来校正并定量分析 SOD、CAT 和 POD 基因的表达水平。4 个基因的 qRT-PCR 扩增引物序列为: rRNA 18S-F: 5'-CGTCCCTGCCCTTGTACAC-3', rRNA 18S-R: 5'-CGAACACTCACCGGATCATT-3'; SOD-F: 5'-CCCTTCCACTCGCTCCG-3', SOD-R: 5'-GGTGACGACTCCCTAACCTG-3'; CAT-F: 5'-CATCCAGACCATCGACCCCC-3', CAT-R: 5'-TGAGCACCATCCTCCCCAC-3'; POD-F: 5'-GTGCTGCTCAGCTCCACCG-3', POD-R: 5'-CAGCTTCGCCT-TCACCC-3'。qRT-PCR 反应体系为 20 μL , 包含 1 μL cDNA 模版、上下游引物各 0.5 μL 、9 μL 2.5 \times RealMasterMix/20 \times SYBR solution(目录号: FP202-01)预混工作液。PCR 扩增反应结束后用 iQ⁵ 2.1 Standard Edition Optical System Software V2.1.94.0617 软件分析数据, 相对基因表达量计算采用 Pfaffl 的方法^[15]。

1.5 数据分析

采用软件 SPSS Statistics 17.0 和 Excel 2007 进行数据分析和绘图, 采用单因素方差分析的最小显著差法(LSD)对实验数据进行显著差异性分析($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对水稻剑叶叶绿素含量的影响

叶绿素含量常作为叶片反映光合效率的重要指标。由表 1 可见, 持续 7 d 的高温胁迫使‘G725’和‘Ⅱ838’剑叶叶绿素含量降低, 且‘Ⅱ838’的降幅小于‘G725’; 热胁迫处理第 7 d, 两品种剑叶叶绿素含量降幅最大, ‘G725’和‘Ⅱ838’分别下降了 42.2% 和 15.4%; 从第 3 d 开始, ‘Ⅱ838’热处理组叶绿素含量显著高于‘G725’($P < 0.05$), 而两品种对照组剑叶叶绿素含量则无显著差异。此外, ‘Ⅱ838’经过第 1 d 的热处理后剑叶叶绿素含量没有减少反而明显增多, 并与对照组间存在显著性差异, 推测这可能是‘Ⅱ838’比‘G725’更适应热胁迫的原因之一。

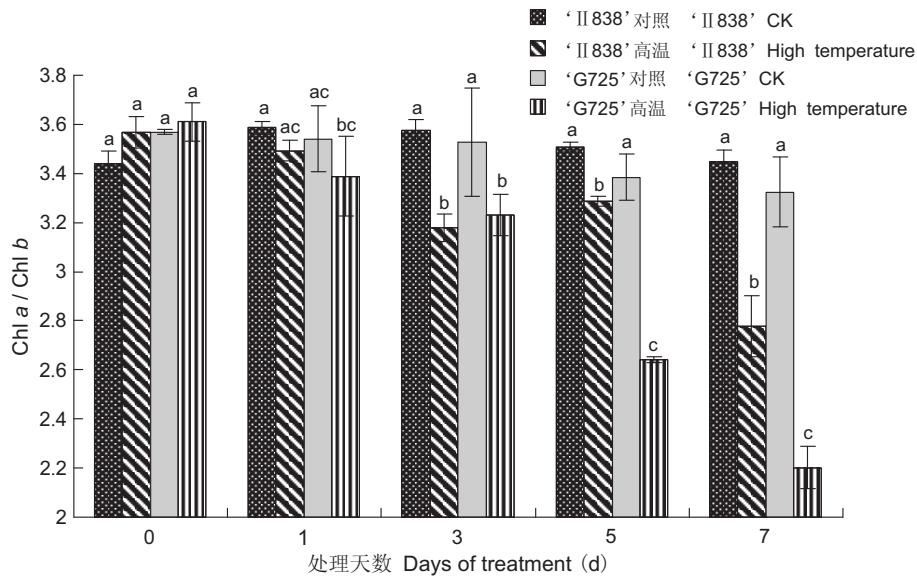
高温胁迫下, 水稻剑叶叶绿素 *a* 容易降解, 而叶绿素 *b* 含量相对较稳定, 从而导致叶绿素 *a* 和叶绿素 *b* 含量的比值($\text{Chl } a/\text{Chl } b$)降低^[16]。由图 1 可见, 随着高温胁迫天数的增加, $\text{Chl } a/\text{Chl } b$ 比值呈持续下降趋势。两品种未经胁迫(对照组)的剑叶中 $\text{Chl } a/\text{Chl } b$ 比值无显著差异, 但从高温胁迫处理第 3 d 开始‘Ⅱ838’和‘G725’热处理组剑叶的 $\text{Chl } a/\text{Chl } b$ 比值均显著低于其对照组; 热胁迫处理第 5 d, ‘Ⅱ838’的 $\text{Chl } a/\text{Chl } b$ 比值降幅显著小于‘G725’($P < 0.05$)。

表 1 热胁迫对水稻剑叶叶绿素含量的影响
Table 1 Effect of high temperature on chlorophyll content of rice flag leaves

品种 Cultivars	处理 Treatment	叶绿素含量 Chlorophyll content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)				
		0 d	1 d	3 d	5 d	7 d
‘Ⅱ838’	对照 CK	4.49 \pm 0.25 a	4.40 \pm 0.35 a	4.55 \pm 0.20 a	4.50 \pm 0.21 a	4.36 \pm 0.17 a
	高温 High temperature	4.14 \pm 0.40 a	5.14 \pm 0.01 b	4.11 \pm 0.16 b	3.77 \pm 0.23 b	3.69 \pm 0.06 b
‘G725’	对照 CK	5.10 \pm 0.24 b	4.92 \pm 0.20 bc	4.81 \pm 0.23 a	4.52 \pm 0.31 a	4.72 \pm 0.29 a
	高温 High temperature	5.11 \pm 0.16 b	4.73 \pm 0.35 ac	3.39 \pm 0.27 c	3.13 \pm 0.07 c	2.73 \pm 0.33 c

注: 表中数据以平均值 \pm 标准误差表示, $n=3$; 同列不同小写字母表示在 0.05 水平上具显著差异。

Notes: Each value is the mean \pm standard deviation, $n=3$. Different normal letters in the same column indicate significant difference at the $P < 0.05$ level.



不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平上具显著差异。下同。

Different normal letters indicate significant difference at the 0.05 level among treatments. Same below.

图 1 热胁迫对水稻剑叶叶绿素 *a* 和叶绿素 *b* 含量比值的影响
Fig. 1 Effect of high temperature on Chl *a*/Chl *b* of rice flag leaves

2.2 高温胁迫对水稻剑叶抗氧化酶活性的影响

SOD 是植物体内清除活性氧自由基的关键酶, 其活性的强弱与植物抗氧化能力密切相关。由图 2: A 可见, 高温胁迫下 ‘II 838’ 和 ‘G725’ 剑叶中 SOD 活性升高, 而两品种对照组的 SOD 活性无显著差异; 高温胁迫处理第 7 d, 两品种的热处理组剑叶 SOD 活性增幅最大, 且 ‘II 838’ 的增幅比 ‘G725’ 显著高 45% ($P < 0.05$)。

POD 可催化 H_2O_2 转化为活性较低的 H_2O , 从而使植物体免受过氧化伤害, 这对细胞维持正常的新陈代谢活动具有重要作用。由图 2: B 可见, 热胁迫使 ‘II 838’ 和 ‘G725’ 的剑叶 POD 活性升高, 而两品种对照组的剑叶 POD 活性较稳定; 高温胁迫处理第 3 d, 两品种热处理组的剑叶 POD 活性增幅最大, 且 ‘II 838’ 的增幅比 ‘G725’ 显著高 42% ($P < 0.05$); 从高温胁迫处理第 3 d 开始 ‘II 838’ 热处理组的剑叶 POD 活性显著高于 ‘G725’ ($P < 0.05$)。

CAT 对 H_2O_2 具有较高的亲和力, 可清除线粒体电子传递和脂肪酸氧化过程中产生的 H_2O_2 , 故 CAT 在维持 H_2O_2 的动态平衡中具有重要作用。由图 2: C 可见, 热胁迫使 ‘II 838’ 和 ‘G725’ 剑叶中

CAT 活性均降低, 但热胁迫下 ‘II 838’ 的 CAT 活性高于 ‘G725’; 高温胁迫处理第 5 d, ‘II 838’ 和 ‘G725’ 剑叶中 CAT 活性最低(相比对照 ‘II 838’ 和 ‘G725’ 的 CAT 活性分别下降了 27.7% 和 55.3%), 且两品种间存在显著差异 ($P < 0.05$); 高温胁迫处理第 7 d 时, ‘II 838’ 和 ‘G725’ 剑叶中 CAT 活性相对第 5 d 有小幅回升, 且两品种间差异达到最大 ($P < 0.05$)。

2.3 高温胁迫对 *SOD*、*CAT* 和 *POD* 基因表达的影响

内参基因 rRNA 18S 及 *SOD*、*CAT*、*POD* 引物的扩增效率分别为 88.8%、92.0%、86.5%、86.8%, 反应标准曲线线性程度的 R^2 值均大于阈值 0.980, 分别为 0.999、1.0、0.994、0.999, 表明绘制的 4 个基因的标准曲线是可信的。以水稻内源 rRNA 18S 作为内参基因, 并将 ‘G725’ 的对照组表达量设为参照, 分析热胁迫对 ‘II 838’ 和 ‘G725’ 剑叶中 *SOD*、*CAT* 和 *POD* 基因表达水平的影响(图 3)。发现高温胁迫处理使 ‘II 838’ 剑叶 *SOD*、*CAT* 和 *POD* 基因的表达量显著升高 ($P < 0.05$), 而使 ‘G725’ 剑叶中 *SOD*、*CAT* 和 *POD* 基因的表达量降低; 高温胁迫后 ‘II 838’ 剑叶中 *SOD*、

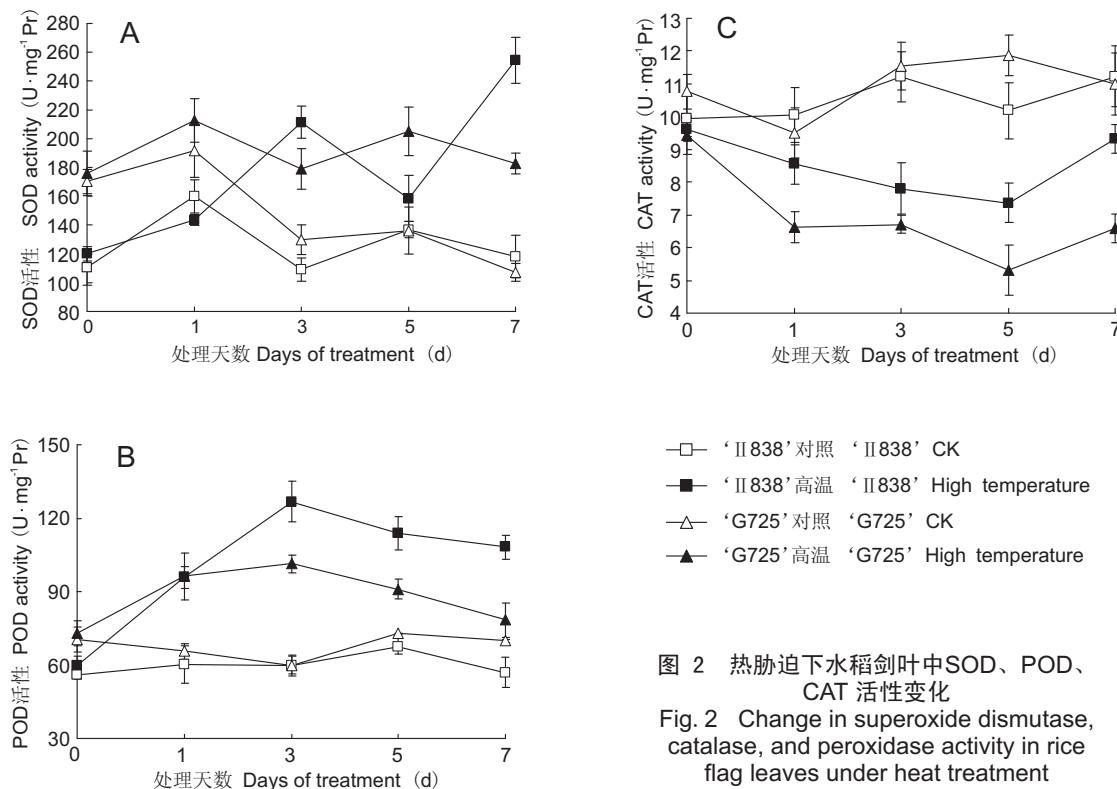


图 2 热胁迫下水稻剑叶中 SOD、POD、CAT 活性变化

Fig. 2 Change in superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activity in rice flag leaves under heat treatment

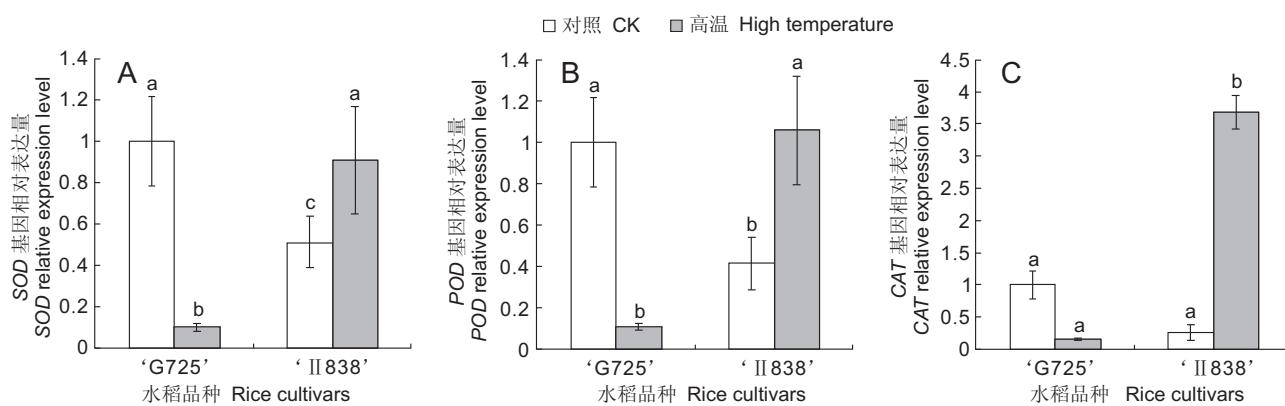


图 3 热胁迫下水稻剑叶中 SOD、CAT 和 POD 基因相对表达量

Fig. 3 Gene expression of SOD, CAT and POD in rice flag leaves under heat treatment

CAT 和 POD 基因的表达水平显著高于 'G725' ($P < 0.05$)。

3 讨论

光合效率降低通常被认为是光合作用对高温胁迫响应的主要表现, 叶绿素含量和 Chl *a*/Chl *b* 比值都是反映植物光合效率高低的重要生理指标。本研究高温胁迫处理期间(7 d), 'II 838' 的叶绿素含量和 Chl *a*/Chl *b* 比值的下降幅度均小于

'G725', 且相同热胁迫程度下 'II 838' 的叶绿素含量和 Chl *a*/Chl *b* 比值大于 'G725', 表明 'II 838' 光合系统受到高温胁迫的影响较小, 比 'G725' 更能适应高温胁迫。张桂莲等^[17]也发现水稻剑叶叶绿素含量和 Chl *a*/Chl *b* 比值均随高温胁迫时间延长呈下降趋势, 且耐热品种下降幅度相对较小, 对高温适应性更强。

SOD、POD 和 CAT 能够清除水稻植株内因热胁迫损伤产生的过量 ROS, 保护膜结构, 使水稻

对热胁迫产生一定程度的适应^[18]。本研究热胁迫下‘Ⅱ838’剑叶中 SOD、POD 和 CAT 酶活性显著大于‘G725’，表明‘Ⅱ838’的抗氧化酶保护系统比‘G725’更为活跃，可以更有效的清除热胁迫产生的 ROS，减少膜脂过氧化伤害，延缓功能叶衰老。水稻剑叶功能叶的衰老速率与其产量是呈正相关的，这与苏鹏等^[19]的研究结果(‘Ⅱ838’遭遇高温胁迫后的结实率和产量显著高于‘G725’)相同，同时也在生理生化水平上证明了‘Ⅱ838’的耐热性。随着热胁迫时间的延长，SOD 和 POD 酶活性的变化趋势与前人报道^[16]基本一致，但因水稻品种和热处理方式的不同，研究结果也存在一些差异。高温胁迫使‘Ⅱ838’和‘G725’剑叶中 CAT 活性降低，说明水稻剑叶内的 H₂O₂并不完全由 CAT 清除，其他清除机制也可能起着重要作用。高俊杰等^[20]和 Noctor 等^[21]认为 CAT 不足时，植物叶绿体中 H₂O₂主要依赖于抗坏血酸过氧化物酶(APX)及相应的抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统(AsA-GSH)来清除。

SOD、POD 和 CAT 都是典型的诱导酶，其转录水平在一定程度上能反映植株受胁迫程度，可以作为耐热性筛选指标^[22]。实时荧光定量 RT-PCR 的主要优点是能准确地确定初始模板量，具有很高的灵敏度和较宽的动态范围^[23]。本实验高温胁迫使‘Ⅱ838’剑叶 SOD、POD 和 CAT 这 3 个基因的表达量显著升高，表明‘Ⅱ838’遭受热胁迫后能激性的提高这些抗氧化保护酶 mRNA 转录水平，通过这些基因的上调表达来缓解 ROS 伤害。在分子水平上上调 SOD、POD 和 CAT 基因表达量来激活 SOD、POD 和 CAT 酶活性，能有效减少体内 ROS 积累，维持较好的细胞膜稳定性及植物的生理代谢平衡^[24]。相同热胁迫条件下，‘Ⅱ838’的 SOD、POD 和 CAT 基因的相对表达量均高于‘G725’，表明‘Ⅱ838’较‘G725’更能适应热胁迫压力，表现出更好的耐受性。虽然热胁迫在转录水平上提高了‘Ⅱ838’剑叶 CAT 基因的表达量，但其变化趋势与 CAT 酶活性的变化并不同步，表明水稻剑叶中 CAT 酶活性并不完全取决于 CAT 基因的表达水平，还取决于该基因翻译后的修饰调控。梁国庆等^[25]也认为高钙胁迫可能导致 CAT 产生翻译

后蛋白修饰，使酶的活性与基因的表达量不同步。

4 结论

本研究从分子水平和生理生化水平上分析了 2 个杂交水稻品种在开花期遭遇高温胁迫后其剑叶的适应性反应，证明了水稻品种‘Ⅱ优 838’的耐热性优于‘冈优 725’，为揭示水稻耐高温机制提供了理论依据；将 SOD、CAT 和 POD 作为热胁迫的响应指标，通过实时荧光定量 RT-PCR 方法分析 SOD、CAT 和 POD 基因的表达量变化可快速检测出水稻受热害胁迫的程度。

参考文献：

- [1] 朱德峰, 程式华, 张玉屏, 林贤青, 陈惠哲. 全球水稻生产现状与制约因素分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(3): 474-479.
- [2] 段骅, 杨建昌. 高温对水稻的影响及其机制的研究进展[J]. 中国水稻科学, 2012, 26(4): 393-400.
- [3] 李飞, 卓壮, U. A. Kapila Siri Udwawela, 高用明, 石英尧. 水稻高温热害发生机理与耐高温遗传基础研究[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(1): 97-103.
- [4] 邓文敏, 邓达胜, 吴万义, 杨成明, 刘勇强, 杨东情, 陈丽华. 杂交水稻恢复系辐恢 838 的选育与应用[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2005, 23(2): 125.
- [5] 黄智敏, 成尚廉, 李成尧, 邓贻仁, 万守纯, 李祖伦, 张正涛. Ⅱ优 838 作中稻栽培的结实率与耐高温性状[J]. 湖北气象, 1998(1): 21-23.
- [6] 雷东阳, 陈立云, 李稳香, 姜琴, 张桂莲. 杂交水稻抽穗扬花期高温对结实率及相关生理特性的影响[J]. 杂交水稻, 2006, 21(3): 68-71.
- [7] 黄智敏, 成尚廉, 李成尧. 杂交中稻Ⅱ优 838 耐高温性分析[J]. 杂交水稻, 1998, 13(4): 34-35.
- [8] 王复标, 黄福灯, 程方民, 李兆伟, 胡东维, 潘刚, 毛渝婵. 水稻生育后期叶片早衰突变体的光合特性与叶绿体超微结构观察作物学报[J]. 作物学报, 2012, 38(5): 871-879.
- [9] 韦金池, 杨海灵. 水稻谷胱甘肽过氧化物酶基因 Os-GPX3 和 OsGPX4 的分子特性研究[J]. 植物科学学报, 2013, 31(1): 64-72.
- [10] Mittal D, Madhyastha DA, Grover A. Gene expression analysis in response to low and high temperature and oxidative stresses in rice: Combination of stresses evokes different transcriptional

- changes as against stresses applied individually [J]. *Plant Sci*, 2012, 197: 102–113.
- [11] Shah K, Nahakpam S. Heat exposure alters the expression of SOD, POD, APX and CAT isozymes and mitigates low cadmium toxicity in seedlings of sensitive and tolerant rice cultivars [J]. *Plant Physiol Bioch*, 2012, 57: 106–113.
- [12] 邓达胜, 陈浩, 邓文敏, 冯磊, 杨学锋, 马安禄, 刘明海. 水稻恢复系辐恢838及其衍生系的选育和应用[J]. 核农学报, 2009, 23(2): 175–179.
- [13] 杨敏文. 快速测定植物叶片叶绿素含量方法的探讨 [J]. 光谱实验室, 2002, 19(4): 478–481.
- [14] 黄敏, 王艳, 潘琳, 杨成明, 孙群, 高鹏, 伍玲, 杜晓颖, 雷庆. 杂交水稻中耐热基因的筛选和验证[J]. 西南农业学报, 2009, 22(5): 1199–1203.
- [15] Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29(9): 2002–2007.
- [16] 张桂莲, 陈立云, 张顺堂, 刘国华, 唐文邦, 贺治洲, 王明. 抽穗开花期高温对水稻剑叶理化特性的影响 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(7): 1345–1352.
- [17] 杜尧东, 李键陵, 王华, 唐湘如, 胡飞. 高温胁迫对水稻剑叶光合和叶绿素荧光特征的影响 [J]. 生态学杂志, 2012, 31(10): 2541–2548.
- [18] Ueda Y, Uehara N, Sasaki H, Kobayashi K, Yamakawa T. Impacts of acute ozone stress on superoxide dismutase (SOD) expression and reactive oxygen species (ROS) formation in rice leaves [J]. *Plant Physiol Bioch*, 2013, 70: 396–402.
- [19] 苏鹏, 冯慧, 陈浩, 杨成明, 吴孝波, 黄强. 杂交水稻在自然高温胁迫下的耐热性研究 [J]. 西南农业学报, 2013, 26(4): 1387–1391.
- [20] 高俊杰, 秦爱国, 于贤昌. 低温胁迫下嫁接对黄瓜叶片 SOD 和 CAT 基因表达与活性变化的影响 [J]. 应用生态学报, 2009, 20(1): 213–217.
- [21] Noctor G, Foyer CH. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control [J]. *Ann Rev Plant Physiol Mol Biol*, 1998, 49: 249–279.
- [22] Morita S, Nakatani S, Koshiba T, Masumura T, Ogihara Y, Tanaka K. Differential expression of two cytosolic ascorbate peroxidases and two superoxide dismutase genes in response to abiotic stress in rice [J]. *Rice Sci*, 2011, 18(3): 157–166.
- [23] 李婷, 韩莹琰, 范双喜, 任月. 叶用莴苣荧光定量 PCR 体系的优化 [J]. 中国农学通报, 2013, 29(13): 106–113.
- [24] 梁国庆, 孙静文, 周卫, 王秀斌. 钙对苹果果实超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性及其基因表达的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(2): 438–444.
- [25] 赵士诚, 孙静文, 马有志, 汪洪, 梁国庆, 周卫. 镉对玉米幼苗活性氧代谢、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其基因表达的影响 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3025–3032.

(责任编辑: 刘艳玲)