

硝酸镧对镉胁迫下水稻种子萌发的缓解效应

周国强¹,何俊瑜¹,任艳芳¹,杨良静¹,王阳阳¹,丁杰²

(1. 贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 浙江万里学院 生物与环境学院, 浙江 宁波 315100)

摘要:以水稻为试验对象,研究不同浓度硝酸镧(Pr^{3+})对镉胁迫下水稻种子萌发的效应及其生理生化变化。结果表明,低浓度镧处理能够促进镉胁迫下水稻种子的萌发状况,增加幼苗根质量和芽质量,增强超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性并且降低了膜脂过氧化产物 MDA 含量,从而缓解了镉的毒害效应,其中以 40 mg/L 镧处理效果最好。但随着镧浓度的增大,镧对镉胁迫的缓解效应逐渐减弱,当镧浓度达到 200 mg/L 时,加剧了镉对水稻幼苗的毒害,表现为协同效应。

关键词:硝酸镧;镉;水稻;萌发;抗氧化酶

中图分类号:S511.01 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2009)03-0112-05

Alleviating Effects of Pr^{3+} on the Cadmium Stress in Rice Seeds Germination

ZHOU Guo-qiang¹, HE Jun-yu¹, REN Yan-fang¹, YANG Liang-jing¹,
WANG Yang-yang¹, DING Jie²

(1. College of Agronomy, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Faculty of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China)

Abstract: An experiment with Neixiangyou No. 8518 rice seeds was carried out to study the effects of Pr on the seed germination and physiological and biochemical changes of the seedlings under cadmium stress. The results showed that low Pr concentration, specially for 40 mg/L Pr, was beneficial to alleviate the harmful effects of Cd stress on germination and seedling, which promoted seed germination, increased the weight of seedlings and the activities of SOD and G-POD, and reduced the MDA content. However, the alleviated actions of Pr to Cd faded away with the advancement of Pr concentration. When the concentration of Pr came to 200 mg/L, the Pr cooperated with the Cd to aggravate the poisoning action of the rice seedling.

Key words: Praseodymium nitrate; Cadmium; Rice; Germination; Antioxidative enzyme

农业、采矿业以及工业生产活动使大量的镉(Cd)进入环境中^[1,2],并随着污泥农用及污灌的应用等,越来越多的Cd进入土壤,造成土壤Cd污染日趋加重,农作物Cd毒害现象时有发生。土壤一旦遭受重金属污染就不易治理恢复^[3]。当Cd毒害达到一定程度,就会抑制作物根系生长,降低其光合作用和叶绿素含量,干扰碳、氮代谢及水分状况和养分吸收,破坏作物体内保护酶系统,使质膜透性加大等,表现出明显的中毒症状,如生长迟缓、植株矮小、叶片褪绿等,严重影响产量^[4-6]。更为严重的是,Cd在作物中,特别是可食部分的大量积累,可以通

过食物链传递富集,从而危害人体健康,大大提高Cd的危害性。日本的骨痛病就是镉米所致。因此,缓解Cd对农作物的伤害,降低Cd在农作物中的富集已受到广泛的关注。我国稀土储量丰富,约占世界储量的43%。近年来随着稀土化合物广泛用于农业生产,稀土的生物学效应得到广泛研究。稀土农用研究发现,在酸雨^[7]、臭氧^[8]及重金属污染^[9]胁迫下稀土元素镧在宏观上可提高作物种子萌发,改善苗期素质,增强植物抗逆能力,并能减少重金属进入食物链^[10];微观上可以增强光合作用,激活植物体内大量的保护性酶等^[11,12]。Pr是一种稀土元素,

收稿日期:2008-12-28

基金项目:贵州省自然科学基金(20072058);贵州大学人才基金(X060036)

作者简介:周国强(1983-),男,湖南长沙人,在读硕士,主要从事重金属污染方面的研究。

通讯作者:何俊瑜(1975-),男,山西河曲人,副教授,博士,主要从事环境生理生态方面的研究。

迄今尚未见 Pr 对重金属胁迫下水稻种子萌发的防护效应的研究。本试验采用模拟 Cd 污染的方法,选择作物对环境胁迫较为敏感的苗期作为试验时段,研究不同浓度稀土 Pr 处理对 Cd 胁迫下水稻种子萌发、幼苗生长及生理特性的影响,探讨其缓解 Cd 污染的毒害作用,旨在为确定 Pr 处理对水稻种子萌发及幼苗生长抗 Cd 胁迫的最佳作用浓度,客观评价稀土 Pr 诱导植物抗重金属污染的应用价值提供理论参考和实践依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试水稻品种为内香优 8518。Pr(NO₃)₃·6H₂O 为国产分析纯,CdCl₂ 为国产分析纯。

1.2 试验设计

我们前期的试验表明,当 Cd 浓度达到 0.1 mmol/L 时,其对水稻种子萌发的抑制作用达到显著性水平。

精选健康饱满的水稻种子经 5 % 的次氯酸钠溶液消毒 10 min,去离子水反复冲洗干净,30 ℃ 恒温催芽 24 h 后,均匀播于铺有双层滤纸、含有 0.1 mmol/L Cd 和不同浓度 Pr (0,20,40,60,80,100,200 mg/L,以 Pr(NO₃)₃·6H₂O 计)直径为 12 cm 的培养皿中,每皿 40 粒种子。以去离子水处理为对照。于 30 ℃ 下恒温培养 7 d,培养箱内保持相对湿度 85 % ~ 90 %。各处理均设 3 个重复,每天更换相应培养液。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 萌发指标测定 种子萌发期间,每日观察萌发种子数。第 3 天统计发芽势。培养 7 d 后,测定芽长、根长、芽鲜质量、根鲜质量,并统计发芽势、发

芽率、发芽指数。
$$\text{发芽势} = 3 \text{ d 发芽种子数} / \text{供试验种子数} \times 100 \%$$
$$\text{发芽率} = 7 \text{ d 发芽的种子数} / \text{供试验种子数} \times 100 \%$$
$$\text{发芽指数} = \sum G_t / \sum D_t \text{ (} G_t \text{ 是 } t \text{ 时间内的发芽数, } D_t \text{ 是相应的发芽天数)}$$

1.3.2 生理指标测定 生理指标有超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化氢酶(APX)、愈创木酚过氧化物酶(G-POD)和丙二醛(MDA)。MDA 测定方法参考张志良等^[13]的方法,G-POD、APX、CAT 和 SOD 测定:SOD 活性的测定用 Gannopolitis^[14] 等的方法;G-POD 活性的测定用 Klapheck 等^[15] 的方法;APX 活性的测定用 Nakano 等^[16] 的方法;CAT 活性的测定用 Aebi^[17] 的方法。以 A_{560 nm} 下抑制 NBT 还原的 50 % 所需的酶量为 SOD 的一个酶活单位(unit);在一级反应范围内,分别以每分钟内 A₄₇₀,A₂₉₀ 和 A₂₄₀ 变化 0.01 为 G-POD、APX 和 CAT 的一个酶活单位(unit),用 U/g 表示。

1.4 数据计算及处理

所有数据均取 3 次重复平均值,采用 Microsoft Excel 2003 和 DPS7.55 统计分析软件进行数据分析及差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 Pr 对 Cd 胁迫下水稻种子萌发的影响

从表 1 可以看出,0.1 mmol/L Cd 处理对水稻种子发芽率无明显影响,但发芽势和发芽指数明显降低。低浓度的 Pr 处理对 Cd 毒害下种子的发芽率和发芽势以及发芽指数的影响不明显,但是高浓度的镧(200 mg/L)处理会降低发芽势和发芽指数。

表 1 Pr 处理对 Cd 毒害下水稻种子发芽率、发芽势和发芽指数的影响

Tab.1 Effects of Pr on germination percentage,germination potential and germination index of rice seeds under Cd stress			
处理/ (mg/L) Treatment	发芽率/ % Germination percentage	发芽势/ % Germination potential	发芽指数 Germination index
CK	93.84 ±2.79a	93.84 ±2.71a	20.47 ±0.56a
0	93.84 ±2.58a	63.10 ±1.91b	15.98 ±0.21b
20	94.51 ±2.61a	63.89 ±1.53b	16.92 ±0.47b
40	92.51 ±2.72a	71.88 ±2.78b	17.37 ±0.27b
60	93.48 ±2.35a	65.89 ±3.57b	16.82 ±0.46b
80	91.85 ±1.80a	67.89 ±2.26b	15.77 ±0.44bc
100	93.18 ±2.01a	63.87 ±1.76b	15.54 ±0.23bc
200	91.58 ±3.31a	49.92 ±1.54c	13.98 ±0.38c

注:不同小写字母者表示差异达 0.05 的显著水平。
Note:Different small letter following the data in a column indicate significance at the level of 0.05.

2.2 Pr 对 Cd 毒害下水稻种胚生长的影响

从图 1 可以看出,0.1 mmol/L Cd 毒害对萌发水稻种子根长和芽长产生明显影响。Pr 处理对 Cd 毒

害下种子的根长存在低浓度促进,高浓度抑制的现象。20 mg/L Pr 处理即起到促进作用,40 mg/L Pr 处理时达到最高,与单 Cd 处理相比,胚根长提高了

48.2%。继续提高 Pr 浓度,胚根长逐渐降低,当 Pr 浓度达到 200 mg/L 时,与单 Cd 处理相比,胚根的生长明显被抑制,根长只达到单 Cd 处理的 64.2%,差异达到极显著水平。与根长相比,Pr 处理芽长的影响均不明显(图 1)。

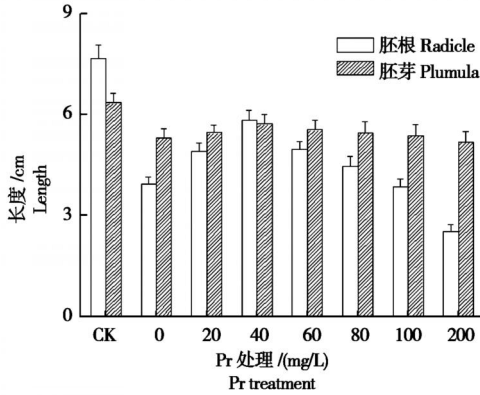


图 1 Pr 处理对 Cd 毒害下水稻种子胚根长和胚芽长的影响

Fig. 1 Effects of Pr on radicle length and plumula length of rice seeds under Cd stress

Pr 对 Cd 毒害下水稻种子胚根质量、胚芽质量的影响分别与其对根长、芽长的影响相似(图 2)。

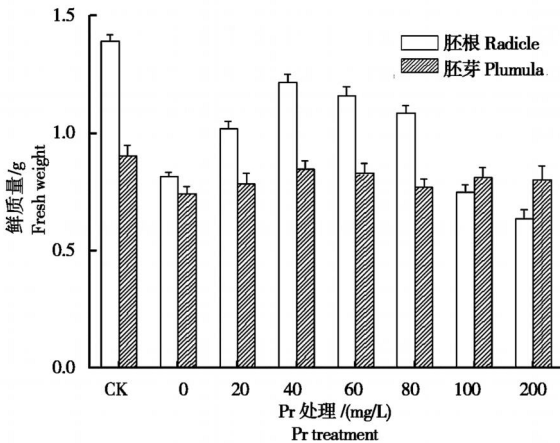


图 2 Pr 处理对 Cd 毒害下发芽种子胚芽和胚根鲜质量的影响

Fig. 2 Effects of Pr on radicle fresh weight and plumula fresh weight of rice seeds under Cd stress

2.3 Pr 对 Cd 毒害下水稻种子萌发过程中 MDA 含量的影响

MDA 是植物器官在逆境下发生膜脂过氧化作用的产物之一,通常将 MDA 作为膜脂过氧化指标,用于表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。由图 3 可知,低浓度 Pr 处理降低了胚芽和胚根中 MDA 的含量(以鲜质量计),40 mg/L Pr 处理的降幅最大,与单 Cd 处理相比,在根、芽中分别下降了 33.1%,25.1%,但仍然比 CK 高。但是随着 Pr 浓度的提高,MDA 含量也随之提高,当 Pr 浓度达到 200 mg/L 时,胚根和胚芽中 MDA 含量超过了单 Cd 处理,特别是胚根中 MDA 含量增加了 15.8%,达

到显著水平,可见已经产生了毒害作用。

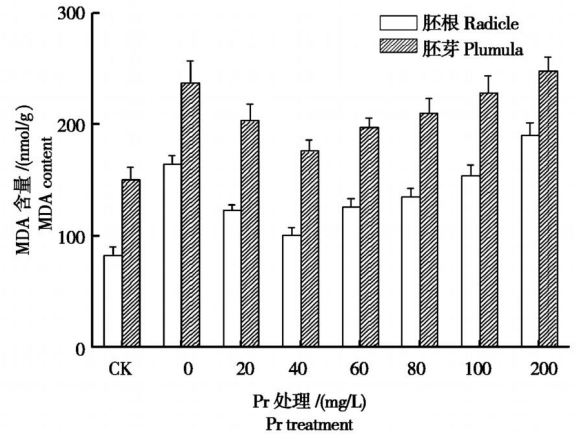


图 3 Pr 对 Cd 毒害下水稻胚根和胚芽中 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effects of Pr on MDA content in radicle and plumula of rice seedlings under Cd stress

2.4 Pr 对 Cd 毒害下水稻胚根、胚芽中抗氧化酶活性的影响

SOD 广泛分布于细胞各组成部分,催化 O_2^- 或 HO_2^- 歧化为 H_2O_2 ,一定程度上控制着 ROS 的含量,但其活性又受 ROS 的影响。图 4 表明,Cd 胁迫会降低幼苗中 SOD 活性(以鲜质量计),胚根和胚芽中分别下降了 38.65%和 27.25%。随着稀土 Pr 的加入,其活性呈先上升后下降的趋势。当稀土 Pr 处理为 40 mg/L 时,胚根和胚芽中的 SOD 活性达到最大值,分别达到了 CK 的 86.87%和 88.03%,比单 Cd 处理分别提高了 25.52%和 15.28%,达到显著性差异。继续提高稀土 Pr 浓度,活性降低,200 mg/L 时,胚根和胚芽中的 SOD 活性明显低于单 Cd 处理。

在植物体内,G-POD、APX 和 CAT(以鲜质量计)都有降解 H_2O_2 的能力,在防止自由基伤害中起着重要的作用。图 4 表明,胚根、胚芽中的 G-POD 的变化与 SOD 类似。其最适 Pr 浓度也是 40 mg/L。与 G-POD 相比,单 Cd 胁迫使胚根、胚芽中 APX 活性受到抑制,Pr 处理后,APX 活性会随着 Pr 浓度的提高呈现先增加后降低的趋势,在 40 mg/L Pr 处理时芽中 APX 活性最大,但是与单 Cd 处理相比未达到显著水平。对于 CAT 来说,单 Cd 胁迫降低了胚根和胚芽中 CAT 的活性,但随着 Pr 浓度的增加,CAT 活性也逐渐降低,当 Pr 浓度分别达到 80 mg/L 和 100 mg/L 时,胚根、胚芽中的 CAT 活性与单 Cd 处理间的差异达到显著水平。可见幼苗中的 CAT 比较敏感,容易受害。

3 讨论

种子的萌发和幼苗的建成是作物生长的关键时

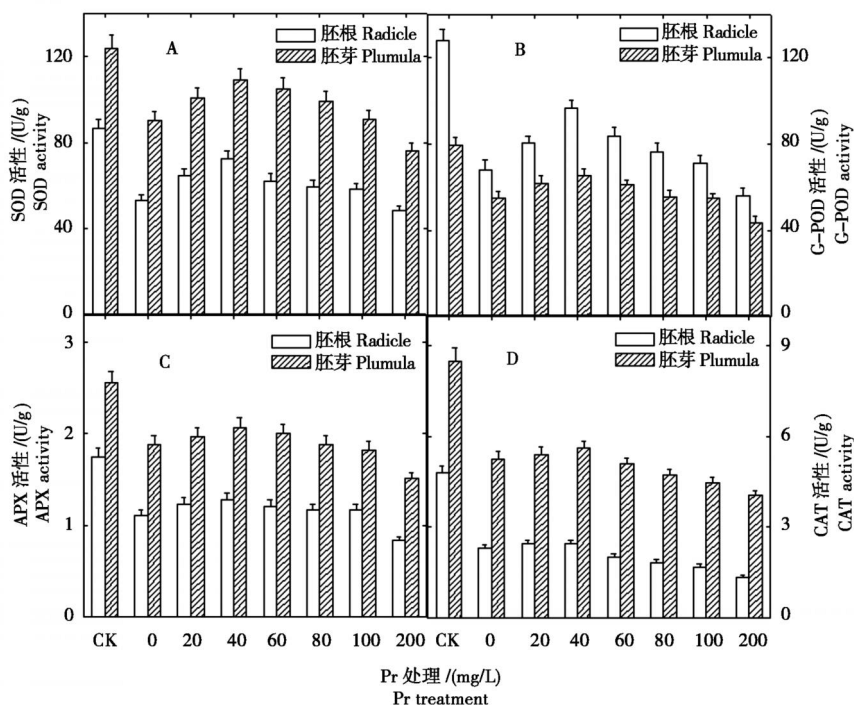


图4 Pr对Cd毒害下水稻幼苗中抗氧化物酶系活性的影响

Fig. 4 Effects of Pr under Cd stress on anti-oxidative enzyme system of rice seedlings

期。Cd对种子萌发的生理生态效应以及有关稀土镧、铈对Cd毒害下种子萌发的影响已有较多报道^[18]。而稀土Pr处理对Cd毒害下种子萌发的影响未见报道。本研究结果表明,不同浓度Pr对Cd毒害下水稻种子萌发与胚根、胚芽生长的影响表现出不同的效应。从形态学看,Pr处理对Cd毒害下水稻种子萌发存在“低促高抑”现象。较低浓度的Pr处理后水稻种子的萌发状况比单一Cd毒害下好,发芽率、发芽势、发芽指数、胚根、胚芽生长表现趋势不同,其中发芽率、发芽势和发芽指数3个指标较对照虽然有上升趋势,但未达到显著水平。这与刘恩侠^[19]、张杰等^[20]的试验结果类似。而胚根与对照相比差异达显著水平,如40 mg/L Pr处理能够刺激发育较多的新根,而且根系相对于其他处理的根系颜色较白,柔韧性好。可能是一方面较低的Pr能够提高种子萌发和生长发育中相关酶的活性,从而加快大分子物质的代谢,提供种子萌发时所需的能量和养分^[21,22];另一方面,也可能是Pr处理下种子根尖细胞核的结构在某种程度上受到了保护,从而避免了Cd的破坏。继续提高稀土Pr浓度,水稻的种子萌发状况反而更差,发芽势、发芽指数、根长、芽长、根质量及芽重均受到不同程度的抑制。这是因为稀土本身也是具有一定毒性的重金属元素,超过一定量后就达到有毒有害水平^[23]。总的看来,高浓度Pr对种子发芽率的影响不明显,而对胚根的影响

较大。这可能与重金属的作用特点及种子结构有关。种子萌发阶段,胚根首先突破颖壳快速伸长以吸收水分,这个使得胚根在受到Cd胁迫的时间进程上要先于胚芽;另一方面,重金属可诱导根系产生逆境乙烯,并向胚芽输导。逆境乙烯对细胞很强伤害作用首先会发生在根部^[24]。

Talanova等^[25]认为重金属Cd离子对植物毒害是由于Cd离子诱发活性氧自由基。正常条件下,植物体内活性氧的产生和清除处于相对动态平衡,但在逆境下体内活性氧自由基产生的速度超出了植物清除自由基的能力,就会引起伤害。活性氧自由基不仅会引发或加剧膜脂过氧化作用,而且还会使蛋白质脱氢而产生蛋白质自由基,使蛋白质发生链式聚合反应,从而损伤细胞膜系统。丙二醛(MDA)作为植株体内脂类过氧化的最终产物,其含量水平通常可反映植株遭受氧化胁迫的水平。本试验结果表明0.1 mmol/L Cd胁迫下水稻幼苗体内SOD、G-POD、APX、CAT的活性下降,MDA含量明显增加。说明在Cd胁迫下,水稻幼苗体内产生了高氧化性的氧自由基(ROS),ROS在细胞中引起生物膜的过氧化损伤,造成叶绿体与线粒体等细胞器的功能受损,最终导致细胞凋亡^[26,27]。加入Pr处理后,MDA含量明显降低,同时SOD、G-POD的活性均有所上升,这说明在Cd胁迫下,Pr使植物活性氧清除系统中的重要保护酶调整了其活性,增强了水稻幼苗对

自由基的清除能力,以清除体内过多的活性氧,使与此相关的生理活动能够协调进行,从而表现出防护作用,可能是 Pr 缓解 Cd 抑制种子萌发的内在基础之一。这与洪法水等^[18]的研究结果类似。但是一定浓度的 Pr 处理并不能达到 CK 处理的水平,特别是较高浓度 Pr 处理,SOD、G-POD 活性显著降低,MDA 含量显著提高,这说明 Pr 对植物在 Cd 胁迫下的调节能力是有一定限度的,而且随着 Pr 浓度的增大反而表现出毒害效应,加重了 Cd 的毒害。至于使用 Pr 能否影响水稻幼苗对 Cd 的吸收,有待于继续作深入研究。

参考文献:

- [1] 赵其国,周炳中,杨浩.江苏省环境质量与农业安全问题研究[J].土壤,2002(1):1-8.
- [2] 谷巍,施国新,张超英,等. Hg^{2+} , Cd^{2+} 和 Cu^{2+} 对菹草光合系统及保护酶系统的毒害作用[J].植物生理与分子生物学学报,2002,28(1):69-74.
- [3] 蔡美芳,党志,文震,等.矿区周围土壤中重金属危害性评估研究[J].生态环境,2004,13(1):6-8.
- [4] 黄玉山,罗广华. Cd 诱导植物的自由基过氧化损伤[J].植物学报,1997,39(6):522-526.
- [5] Das P, Samantaray S, Rout G R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review[J]. Environ Pollution, 1998, 98:29-36.
- [6] 张磊,于燕玲,张磊.外源镉胁迫对玉米幼苗光合特性的影响[J].华北农学报,2008,23(1):101-104.
- [7] 高利利,张晨,邱琳,等.酸雨胁迫下镉对冬小麦种子萌发的影响[J].麦类作物学报,2008,28(1):129-133.
- [8] 安黎哲,王勋陵.臭氧对春小麦生长的影响及稀土的防护效应[J].生态学报,1994,14(3):95-98.
- [10] 周青,黄晓华,张剑华,等. La-Gy 对 Pb 胁迫下大豆幼苗生理生化特性的影响[J].中国稀土学报,1999,17(4):381-384.
- [11] 周青,张辉,黄晓华,等. La 对 Cd 胁迫下菜豆幼苗生长的影响[J].环境科学,2003,24(4):48-53.
- [12] 张焱如,赵存虎,郑基禄.稀土对作物生理活性的影响[J].内蒙古农业科技,1990(4):20-21;19.
- [13] 张志良,瞿伟.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,1980:67-70;123-124;274-276.
- [14] Gannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 1997, 59:309-314.
- [15] Klapheck S, Zimmer I, Cosse H. Scavenging peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* peroxidase[J]. Plant Cell Physiol, 1990, 31:1005-1013.
- [16] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol, 1981, 22:867-880.
- [17] Aebi H. Catalase in vitro[J]. Method Enzymol, 1984, 105:121-126.
- [18] 洪法水,魏正贵,赵贵文.硝酸镉对水稻老化种子活力影响的作用机制[J].中国稀土学报,2001,19(1):75-79.
- [19] 刘恩侠.稀土对向日葵种子萌发与根系生长的影响[J].稀土,1996(3):64-66.
- [20] 张杰,刘登义,黄永杰,等.镉浸种对水稻种子萌发及幼苗生长的影响[J].生态学杂志,2005,24(8):893-896.
- [21] 洪法水,方能虎,赵贵文.镉提高水稻种子活力的生理生化基础研究[J].西北植物学报,1999,19(4):585-591.
- [22] 何俊瑜,任艳芳.镉胁迫对水稻种子萌发、幼苗生长和淀粉酶活性的影响[J].华北农学报,2008,23(增刊):131-134.
- [23] 周青,陆敢超,张辉,等.稀土 La 对 Cd 胁迫下玉米幼苗生长影响[J].农业环境科学学报,2004,23(1):18-21.
- [24] 季玉鸣,李振国,余叔文.镉引起小麦苗逆境乙烯的产生及其和镉的吸收分布[J].植物生理学报,1989,15(2):159-166.
- [25] Talanova V V, Titov A F, Boeva N P. Effect of increasing concentrations of heavy metals on the growth of barley and wheat seedlings[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2001, 48(1):119-123.
- [26] 张义贤,雷晓波,阎继耀.重金属镉、镍、汞对大麦过氧化物酶同工酶的影响[J].华北农学报,2000,15(1):27-31.
- [27] 邵国胜, Muhammad J H, 章秀福,等.镉胁迫对不同水稻基因型植株生长和抗氧化酶系统的影响[J].中国水稻科学,2004,18(3):239-244.