

# 镉胁迫对水稻种子萌发、幼苗生长和淀粉酶活性的影响

何俊瑜, 任艳芳

(贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘要:**以水稻秀水 11 为材料, 采用室内培养方法, 研究了不同浓度镉对水稻种子萌发、幼苗生长和淀粉酶活性的影响。结果表明, 镉对水稻种子萌发的影响较小, 只有在高浓度镉胁迫下发芽率才受到明显影响。随着镉胁迫浓度的提高, 发芽指数、活力指数、根长、淀粉酶活性明显降低。镉胁迫对水稻种子根生长的抑制作用大于芽,  $\alpha$ -淀粉酶大于  $\beta$ -淀粉酶。

**关键词:** 镉; 水稻; 根伸长; 萌发; 淀粉酶

中图分类号: X173; S511.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2008)增刊-0131-04

## Effect of Cadmium on Seed Germination, Seedling Growth and Amylolytic Activity of Rice

HE Jun-yu, REN Yan-fang

(College of Agronomy, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** The effects of different cadmium concentrations on seed germination, seedling growth and amylolytic activity of rice cultivar Xiushui 11 (*Oryza sativa* L. cv. Xiushui 11) were studied. The results showed that cadmium had little effect on germination rate except seeds were treated under high concentration of cadmium. However, germination index, vigour index, root length and amylolytic activity were significantly reduced with the increase of cadmium. The inhibition of cadmium on root growth was more obviously than that on plumula, and the inhibition on the activity of  $\alpha$ -amylase was more seriously than that on  $\beta$ -amylase.

**Key words:** Cadmium; Rice; Germination; Root length; Amylase

随着全球经济的迅速发展, 重金属污染已成为土壤污染的一个重要方面。目前, 由于人类活动, 如采矿、冶炼、污灌、施用污泥及磷肥等影响, 重金属进入土壤的速度加快。世界各国的土壤都存在不同程度的重金属污染, 我国仅因污灌受重金属污染的耕地面积近 2 000 万  $\text{hm}^2$ , 约占总耕地面积的 20%。其中镉污染耕地 1 133 万  $\text{hm}^2$ , 因此, 重金属镉污染已经成为一个重要的环境问题<sup>[1]</sup>。镉作为一种有害元素, 前人对其在植物体内迁移途径、分布规律、毒害机理等方面已进行了大量的研究<sup>[2-5]</sup>, 形成了较为清晰的 Cd 生态生理效应, 但对 Cd 在植物生活周期中不同生育阶段效应的研究尚不多见。种子萌发既是植物生活周期的起点, 也是植物感知外界环境的

最初生命阶段。水稻是我国主要粮食作物之一, 水稻种子萌发时期生长状况直接影响作物以后的生长和产量, 因此, 在当前重金属污染日益严重的情况下研究种子在萌发阶段受重金属污染的影响显得尤为重要, 它可揭示镉对水稻生长的危害, 也为预防粮食减产和镉中毒提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料及处理

供试水稻品种为秀水 11 (*Oryza sativa* L. cv. Xiushui 11) 种子由中国水稻所孙宗修研究员惠赠。

选取健康饱满的种子用 5% NaClO 消毒 10 min, 去离子水反复冲洗干净, 蒸馏水浸种 24 h 后, 均匀

收稿日期: 2007-11-18

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

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

播于铺有 2 层滤纸的培养皿中, 每皿 50 粒种子。分别用 1, 5, 10, 25, 75, 200  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CdCl}_2$  (以  $\text{Cd}^{2+}$  浓度计) 溶液来浸润种子, 对照种子用去离子水培养。置于  $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$  培养箱中暗培养, 各处理均重复 3 次。培养 7 d 后统计发芽率, 测量根长、根鲜质量、芽长、芽鲜质量、淀粉酶活性, 并统计发芽率、发芽指数和活力指数。

1.2 测定方法

发芽率、发芽指数和活力指数参照周青<sup>[6]</sup>的方法。

淀粉酶活性测定采用 3, 5-二硝基水杨酸(DNS)测定淀粉酶和  $\alpha$ -淀粉酶活性<sup>[7]</sup>。 $\beta$ -淀粉酶活性根据淀粉酶和  $\alpha$ -淀粉酶活性的差值计算而得。

1.3 数据分析

所有的数据均为 3 次试验的平均值, 采用 SPSS 10.0 统计分析软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 镉对水稻种子萌发的影响

不同浓度镉对水稻秀水 11 萌发的影响见表 1。除高浓度镉(75 和 200  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理下发芽率明显下降外, 秀水 11 的发芽率受镉浓度的影响不显著。与发芽率相比, 随着镉浓度的增加, 发芽指数和活力指数明显下降, 特别是活力指数。发芽指数和活力指数分别在镉浓度达到 10, 5  $\mu\text{mol/L}$  时产生显著抑制作用。这说明镉能在一定程度上抑制水稻种子的正常萌发, 但最主要的伤害是影响萌发后幼苗的活力, 而且随着镉浓度的增加, 萌发后幼苗的活力降低更为明显。

表 1 不同浓度镉处理对秀水 11 发芽率、发芽指数和活力指数的影响

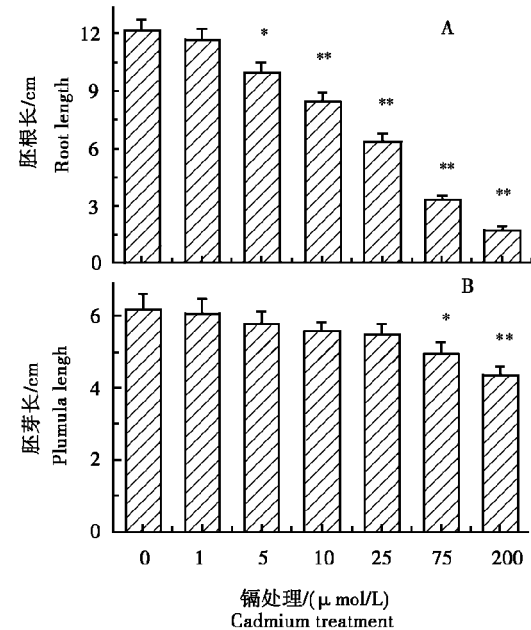
Tab.1 Effect of Cd on germination rate, germination index and vigour index of Xiushui 11			
Cd / ( $\mu\text{mol/L}$ )	发芽率 / % Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigour index
0	98.6 aA	16.1 aA	196.4 aA
1	98.2 aA	15.8 aA	185.4 aA
5	96.1 aA	15.1 aAB	151.1 bB
10	94.0 aA	13.7 bBC	117.2 cC
25	91.3 abA	12.3 cC	78.9 dD
75	89.2 bAB	11.0 dCD	37.5 eE
200	85.1 cB	9.1 eE	16.9 fE

注: 不同字母者表示差异显著, 大小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 的显著水平。  
Note: Values followed by a different capital and small letter indicate the significance at 0.01 and 0.05 level, respectively.

2.2 镉对水稻种胚生长的影响

虽然种子的发芽率受镉的影响不是很显著, 但

是种子萌发后其根伸长和芽生长均受到镉处理的显著影响, 如图 1 所示。当镉大于 5  $\mu\text{mol/L}$  时, 水稻秀水 11 种子胚根长度随镉处理浓度的增加而明显降低( $p < 0.05$ )。随着镉浓度升高, 胚根生长畸形, 呈现变短变粗的趋势, 根尖受害更重。当镉处理浓



\* , \*\* 分别表示差异显著性  $p < 0.05, 0.01$   
\* and \*\* mean significant difference at 0.05 and 0.01 level, the same as below

图 1 不同浓度镉处理对秀水 11 胚根长 (A) 和胚芽长 (B) 的影响

Fig. 1 Effect of Cd on root length and plumula length of Xiushui 11

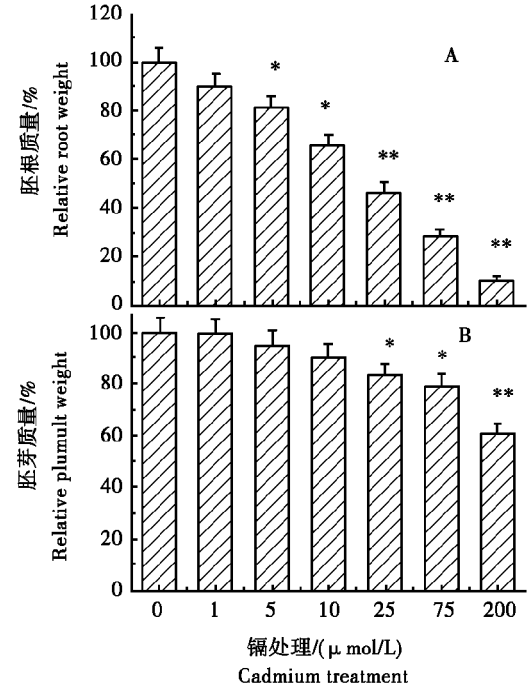


图 2 不同浓度镉处理对秀水 11 胚根质量和胚芽质量的影响

Fig. 2 Effect of Cd on root weight and plumula weight of Xiushui 11

度为 200  $\mu\text{mol/L}$  时, 虽然种子能够萌发, 但是胚根僵硬, 根尖变黑腐烂。

与胚根相比, 胚芽生长的最适镉浓度要高很多, 受抑浓度也相对较高。当镉处理浓度达到 75  $\mu\text{mol/L}$  时, 胚芽长度减少达显著水平 ( $p < 0.05$ )。这些结果表明在水稻种子萌发过程中, 胚根生长对镉的反应要比胚芽敏感。

Cd 对水稻胚根质量、胚芽质量的影响, 总的趋势分别与胚根长、胚芽长呈现相似的规律(图 2)。

### 2.3 镉对水稻种子萌发中淀粉酶活性的影响

水稻种子中贮藏着大量的淀粉, 当种子萌发时, 它在淀粉酶的作用下被水解为简单的有机物, 并运送到正在生长的胚中去, 作为幼胚生长的营养物质的来源。因此, 水解酶活性的高低关系到种子萌发和幼苗生长的速度。水稻种子中存在多种淀粉酶, 其中起主要作用的是  $\alpha$  淀粉酶和  $\beta$  淀粉酶。为了明确种子萌发过程中镉对淀粉酶受体的影响及镉引起的根生长抑制是否与能量供应有关, 我们对总淀粉酶、 $\alpha$  淀粉酶和  $\beta$  淀粉酶活性的进行了测定(图 3)。

浓度处理下  $\beta$  淀粉酶活性变化与总淀粉酶基本相似(图 3C)。

与淀粉酶和  $\beta$  淀粉酶相比,  $\alpha$  淀粉酶的活性受镉抑制的程度更大。即使在较低浓度镉处理下,  $\alpha$  淀粉酶就明显受到抑制。在 1, 5, 10, 25, 75, 200  $\mu\text{mol/L}$  镉处理下, 秀水 11 种子淀粉酶活性分别下降了 5.5%, 21.5%, 32.0%, 50.8%, 70.4% 和 85.2%(图 3B)。

## 3 讨论

镉污染会对作物造成危害, 也可通过食物链使人类在日常生活中过多摄入镉而导致各种疾病的产生。水稻作为主要粮食作物, 探明镉对种子萌发的影响具有重要的生产意义。

种子萌发吸水的第一阶段是吸胀作用。种子直接在镉溶液中吸胀, 可能会破坏细胞膜, 种子萌发受阻<sup>[8]</sup>。种子经蒸馏水吸胀后再进行镉胁迫处理, 可以排除镉对种子吸胀过程的影响作用, 便于直接了解镉对种子萌发过程的影响。本试验的结果表明, 不同浓度镉对水稻种子的萌发状况有显著影响。随着镉浓度的增加, 发芽率、发芽指数、活力指数、根长、芽长、根质量及芽质量均受到不同程度的抑制作用。在上面的几个指标中, 镉对水稻种子发芽率的影响最小, 而对幼苗根长及活力指数影响最为显著, 说明幼苗初期的生长状况比种子萌发更能体现镉毒性的。与胚芽相比, 胚根对镉更敏感, 这可能与镉的作用特点及种子结构有关。种子吸胀萌动后, 胚根快速吸水伸长并最先突破种皮, 这使胚根在镉的积累量上、在受镉胁迫的时间进程上大于胚芽, 从而表现为受害更深。镉进入植株后, 大多数积累在根的生长部位, 并将镉离子固定在其的吸附位点上, 从而阻止镉离子进一步向地上部分转移。此外, 研究表明镉可诱导根系产生逆境乙烯, 并向地上部输导, 逆境乙烯对细胞有很强伤害作用, 而这种伤害也首先发生在根部<sup>[9]</sup>。因此, 根是植物体中最重要的络合重金属的部位, 也是最易受重金属毒性影响的部位<sup>[10]</sup>。随着镉处理浓度的提高, 过多的镉进入细胞与核酸相结合, 降低了 RNA 和 DAN 的活性, 引起核酸裂解, 从而影响有丝分裂过程<sup>[11]</sup>。有丝分裂的异常直接影响细胞的分裂和生长, 从而在宏观上表现为对胚根伸长的抑制及形态的改变, 呈现明显的镉中毒症状。

此外, 种子萌发所需要的物质和能量完全来源于贮存物质通过氧化分解而释放的能量。贮存物质的分解需要水解酶的参与。淀粉是水稻等禾谷类作

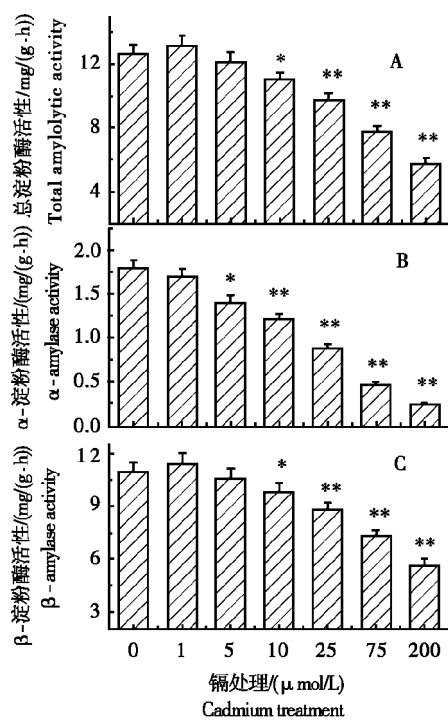


图 3 不同浓度镉处理对秀水 11 萌发种子总淀粉酶(A)、 $\alpha$  淀粉酶(B)和 $\beta$  淀粉酶(C)活性的影响

Fig.3 Effect of Cd on total amylolytic activity (A),  $\alpha$ -amylase activity (B) and  $\beta$ -amylase activity (C) in germinating rice seeds of Xiushui 11

从图 3 A 可知, 在较低镉浓度处理下, 总淀粉酶活性与对照相比无明显差异, 当镉浓度大于 10  $\mu\text{mol/L}$ , 总淀粉酶活性明显受到抑制。在 10, 25, 75, 200  $\mu\text{mol/L}$  镉处理下, 秀水 11 种子总淀粉酶活性分别下降了 12.9%, 23.1%, 38.6% 和 54.1%。不同镉

物种子的主要储藏物质,相应地淀粉酶是水稻种子萌发过程中最重要的水解酶<sup>[12]</sup>,同时,淀粉酶活性与胚乳消耗速率也成正相关<sup>[13]</sup>。本试验的结果表明,随着镉胁迫浓度的增加,水稻种子中淀粉酶的活性受到了明显的抑制,从而降低了淀粉的水解速度,使得种子萌发和幼苗生长过程中物质和能量供应不足,从而抑制了种子的正常萌发和幼苗生长。作物体内的淀粉酶主要有 $\alpha$ -淀粉酶和 $\beta$ -淀粉酶<sup>[14]</sup>。随着镉处理浓度的提高,水稻秀水11萌发种子内 $\beta$ -淀粉酶的活性受镉胁迫的影响相对较小,但 $\alpha$ -淀粉酶活性下降的速度十分迅速。这与葛才林等<sup>[15]</sup>在粳稻上的研究结果相一致。由于 $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶是含 $\text{Ca}^{2+}$ 的金属酶,进入萌发种子内的镉离子可能会通过取代 $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶中的 $\text{Ca}^{2+}$ 或使 $\text{Ca}^{2+}$ 与 $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶解离,或引起 $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶空间构型的改变使酶活性降低<sup>[16]</sup>。Karrer等<sup>[17]</sup>的研究结果表明水稻种子内 $\alpha$ -淀粉酶的表达具有组织特异性。因此镉胁迫下不同部位淀粉酶的活性及较高浓度的镉引起水稻萌发种子中 $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶活性下降的确切机理还值得进一步探讨。

## 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] 杨居荣,贺建群,张国祥,等. 作物对 Cd 毒害的耐性机理探讨[J]. 应用生态学报, 1995, 6(1): 87– 91.
- [3] 张玉秀,张延红,高 华,等. 菜豆泛肽基因在生物和非生物胁迫下的表达[J]. 西北植物学报, 2002, 22: 505– 511.
- [4] Das P, Samantaray S, Rout G R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review[J]. Environ Pollu, 1998, 98: 29– 36.
- [5] Milone M T, Sgherri C, Clijsters H. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium[J]. Environ Exp Bot, 2003, 50: 265– 276.
- [6] 周 青,黄晓华,张 一. 镉对种子萌发的影响[J]. 农业环境保护, 2000, 19(3): 156– 158.
- [7] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 123– 124.
- [8] 赵檀方,闫先喜,胡延吉. 盐胁迫对大麦种子吸胀萌发及根尖细胞结构的影响[J]. 大麦科学, 1994(4): 17– 20.
- [9] 季玉鸣,李振国,余叔文. Cd引起小麦苗逆境乙烯的产生及其和Cd的吸收分布[J]. 植物生理学报, 1989, 15(2): 159– 166.
- [10] 蒋光月,崔德杰. 重金属Cr对小白菜种子萌发及生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(增刊): 76– 79.
- [11] Eun S, Young H S, Lee Y. Cadmium disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*[J]. Physiol Plantarum, 2000, 110: 357– 365.
- [12] 赵玉锦,王 台. 水稻种子萌发过程中 $\alpha$ -淀粉酶与萌发速率关系的分析[J]. 植物学通报, 2001, 18(2): 226– 230.
- [13] 陆定志,施天生,陈龙飞. 杂交水稻及其亲本三系种子萌发过程中淀粉酶活性与胚乳物质消长的关系[J]. 杂交水稻, 1987(3): 21– 25.
- [14] Misunaga S, Kawakam O, Numata T, *et al.* Polymorphism in rice amylases at an early stage of seed germination[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001, 65(3): 662– 665.
- [15] 葛才林,杨小勇,孙锦荷,等. 重金属胁迫对水稻萌发种子淀粉酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2002, 30(3): 47– 52.
- [16] Mikami B, Adachi M, Kage T, *et al.* Structure of raw starch digesting *Bacillus cereus* beta-amylase complexed with maltose[J]. Biochemistry, 1999, 38(22): 7050– 7061.
- [17] Karrer E E, Lits J C, Rodriguez R L. Differential expression of alpha-amylase genes in germinating rice and barley seeds[J]. Plant Mol Biol, 1991, 16(5): 797– 805.