

水稻两优培九与汕优 63 苗期 Cd 毒害下抗性差异的研究

王贵民, 陈国祥, 王习达, 吴国荣, 马广岳, 吴晓慧

(南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210097)

摘 要: 以三叶期的水稻幼苗为材料, 比较了 Cd 污染对两优培九、汕优 63 的光系统 II (PS II) 电子传递活性、丙二醛 (MDA) 含量、光合速率、过氧化物酶 (POD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响。结果表明, 镉污染条件下, 与汕优 63 相比较, 两优培九幼叶光合速率和 PS II 电子传递活性降低幅度较小, 丙二醛含量升高幅度较小; 两优培九保护酶系统活性较高。结论: 与汕优 63 相比较, 两优培九抗重金属 Cd^{2+} 毒害的能力较强。

关键词: 两优培九; 汕优 63; 镉; 抗性差异

中图分类号: X503. 231 文献标识码: A 文章编号: 1672 – 2043(2004)02 – 0217 – 04

Resistance Differences Between Two Cultivars Liangyiupeiuiu and Shanyou63 Under Cd^{2+} Stress

WANG Gui-min, CHEN Guo-xiang, WANG Xi-da, WU Guo-rong, MA Guang-yue, WU Xiao-hui

(College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: The effects of Cd^{2+} stress on the protective enzyme, the content of MDA, the photosynthetic characters of rice at the three – leaf stage were studied. The results showed that under Cd^{2+} stress, the electron activity of PS II and the photosynthesis rate decreased, the content of MDA increased and the activities of protective enzymes of Shanyou63 increased at first and decreased afterwards. The activities of protective enzymes of Liangyiupeiuiu increased steadily with lower accumulation rate of MDA and less decrease of the photosynthetic rate and electron transport activities of PS II than Shanyou63. From the experiment, we concluded that Liangyiupeiuiu had the stronger resistance to Cd^{2+} pollution than that of Shanyou63.

Keyword: Liangyiupeiuiu; Shanyou 63; Cd^{2+} ; resistance differences between cultivars

自从 1968 年日本报道发生“痛痛病”是由重金属污染环境造成的公害病以来, 对 Cd 污染水稻的研究越来越受到人们重视。但以往的研究主要集中在水稻对 Cd 的吸收及稻米 Cd 的含量上^[1]。本实验选用两系法杂交稻“两优培九”和三系法杂交稻“汕优 63”为材料, 研究它们对重金属毒害所呈现的抗性差异特性, 探讨造成不同品种间抗性差异的原因, 最终为植物抗性育种及种植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

两系法杂交稻两优培九, 三系法杂交稻汕优

63。

1.2 培养方法

选健壮饱满的种子, 用 1% 的 H_2O_2 溶液消毒 1 h。充分漂洗后, 28 °C 浸种 36 h, 然后在黑暗条件下于 30 °C 催芽 48 h。待露白后, 挑选长势良好的种子播种于盛有蛭石的白瓷盘中, 在具有光照装置的培养箱中培养。培养条件: 28 °C / 22 °C (昼/夜)。培养过程中, 每隔 2 d 更换 1 次木村 B 培养液。待幼苗长至 3 叶 1 心, 用含 Cd (以纯镉计) 2, 5 和 10 $mg \cdot L^{-1}$ 的木村 B 培养液处理, 并设一个空白对照组, 实验重复 3 次。处理 5 d 后取倒数第 2 片叶测定各项生理指标。取 3 次测定的平均值 (均以鲜重折算) 进行统计分析。

1.3 测定方法

类囊体膜的制备: 参照 Dunahay^[3] 的方法制备具光化学活性的类囊体膜。类囊体膜 PS II (光系统 II) 电子传递活性的测定: 参照 Coombs 等^[4] 的方法。SOD

收稿日期: 2003 – 08 – 05

基金项目: 国家自然科学基金 (02KJ180006)

作者简介: 王贵民 (1973—), 男, 南京师范大学硕士研究生, 主要从事植物生化的研究。E – mail: wanggui01@163.com

联系人: 陈国祥

(超氧化物歧化酶)、POD(过氧化物酶)、CAT(过氧化氢酶)测定: 参照张志良等^[5]的方法。丙二醛(MDA)含量按李伯林和梅慧生^[6]的方法。光合速率参照李德耀^[7]的方法, 用薄膜氧电极测定叶片的光合速率, 以叶碎片放氧的速率表示。POD 同工酶电泳分析采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳法, 分离胶为 7.5%, 浓缩胶为 2.8%^[15]。

2 实验结果

2.1 Cd 对水稻叶片 PS II放氧活性的影响

表 1 显示, Cd 对两优培九和汕优 63 类囊体膜光系统 II有抑制作用。其中 Cd 对汕优 63 光系统 II的抑制作用明显强于其对两优培九的抑制作用。10 mg · L⁻¹ 处理时, 两优培九 PS II放氧活性为对照的 79.1%, 而汕优 63PS II放氧活性为对照的 53.6%。

表 1 Cd 对 PS II电子传递活性的影响

Cd ²⁺ 浓度 /mg · L ⁻¹	对 PSII 电子传递活性的影响 H ₂ O→Fecy	
	两优培九/%	汕优 63/%
0	100	100
2	97.58	84.468
5	94.154	74.03
10	79.13	53.69

2.2 Cd 对水稻光合速率的影响

从图 1 可以看出, 三叶期水稻幼苗中, 两优培九在光合速率上未表现出优势; 水稻受 Cd 毒害后, 光合速率呈下降趋势, 但降幅不同; 10 mg · L⁻¹ 处理时, 汕优 63 的降低幅度为 47.3%, 两优培九的降低幅度为 14.8%。

2.3 Cd 对水稻 POD 活性的影响

从图 2 可以看出, 正常培养条件下, 实验样品的 POD 活性不同, 这可能是水稻品种的原因。但在 Cd 胁迫下, 试验品种水稻的 POD 活性变化不同: 随着 Cd 浓度的升高, 两优培九呈上升趋势, 而汕优 63 呈下降趋势。这显示 POD 在水稻抗 Cd 胁迫中发挥重要作用; 高浓度 Cd 胁迫下, 两优培九的 POD 活性高于

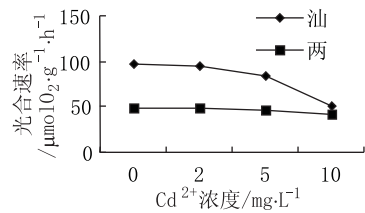


图 1 Cd 胁迫对光合速率的影响

Figure 1 Effect of Cd²⁺ on the rates of photosynthesis

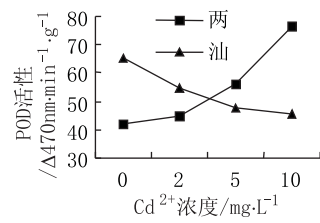


图 2 Cd 胁迫对两种水稻 POD 活性的影响

Figure 2 Effect of Cd²⁺ on the POD activities of seedlings from two rice cultivars

汕优 63。

2.4 Cd 对水稻 SOD 活性的影响

从图 3 可以看出, 正常培养条件下, 两优培九的 SOD 活性大于汕优 63。在相同浓度的 Cd 胁迫下, 试验品种水稻的 SOD 活性变化不同: 两优培九 SOD 活性一直呈上升趋势; 而汕优 63 的 SOD 活性在低浓度 Cd 胁迫下, 呈上升趋势, 在高浓度 Cd 胁迫下, 呈下降趋势。10 mg · L⁻¹ Cd 胁迫条件下, SOD 的活性与对照相比上升 42.3%。研究结果显示, 两优培九在 Cd 胁迫下, SOD 活性较强。

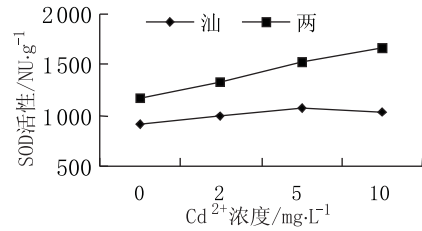


图 3 Cd 胁迫对两种水稻 SOD 活性的影响

Figure 3 Effect of Cd²⁺ on the SOD activities of seedlings from two rice cultivars

2.5 Cd 对水稻 CAT 活性的影响

从图 4 可以看到, 在正常条件下, 汕优 63 比两优培九 CAT 活性高, 但在 Cd 胁迫下两优培九持续上升, 而汕优 63 在低浓度下稍有上升, 高浓度下又下降。高浓度 Cd 胁迫, 两优培九 CAT 活性约为汕优 63 的 130%。

2.6 Cd 对水稻 MDA 含量的影响

图 5 显示, 在实验栽培条件下, 汕优 63 的叶片细胞 MDA 含量略高于两优培九。随 Cd 浓度升高, 水稻叶片的 MDA 含量总体呈上升趋势, 10 mg · L⁻¹ Cd 胁迫下, 水稻叶片的 MDA 含量急剧升高, 说明此时水稻叶片的膜脂过氧化程度加剧, 严重破坏水稻叶片的膜结构。汕优 63 上升幅度为 45.5%, 两优培九上升幅度为 30%。说明 Cd 胁迫对汕优 63 叶片膜结构的影

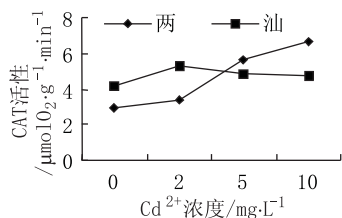


图 4 Cd 胁迫对两种水稻 CAT 活性的影响

Figure 4 Effect of Cd^{2+} on the CAT activities of seedlings from two rice cultivars

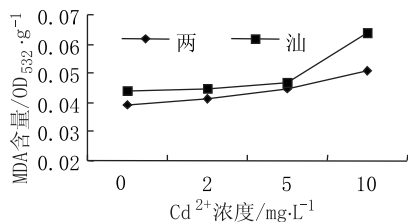


图 5 Cd 胁迫对 MDA 含量的影响

Figure 5 Effect of Cd^{2+} on the content of MDA of rice seedlings

响大于两优培九。

2.7 10 mg · L⁻¹ Cd 对 POD 同工酶的影响

从图 6 中可以看出, 10 mg · L⁻¹ Cd 胁迫下, 两优培九和油优 63 具相同的 POD 同工酶条带, 但某些同工酶的活性提高。两优培九 Rf 值最大的同工酶条带明显比油优 63 活性要高得多。扫描结果显示, 两优培九同工酶谱中 Rf 值最大的条带约为油优 63 同工酶谱中 Rf 值最大的条带的 2.588 倍。两优培九与油优 63 的 POD 活性比为 1.68。可见对 POD 同工酶谱的研究结果支持 POD 活性的变化。

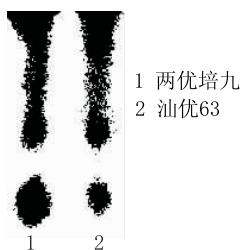


图 6 Cd 胁迫对两种水稻 POD 同工酶的影响

Figure 6 Effect of Cd^{2+} on POD isoenzymes of two rice cultivars

3 讨论

类囊体膜在植物光合作用过程中具有能量转化的功能。PS II 颗粒位于类囊体膜内侧, 具有光化学功能, 在植物的光合作用过程中起着重要作用。本实验结果表明, PS II 是重金属作用的敏感部位, 杨丹慧^[16]

的工作支持这一结论。与油优 63 相比较, 根据 PS II 降低的降幅, 说明两优培九的 PS II 对 Cd 抗性较强。

SOD、POD、CAT 等是植物的重要保护酶, 它们协同作用, 保护细胞的膜系统。在重金属胁迫下, 植物体会自动调整自身的 SOD、POD、CAT 等保护酶的活性, 从而使植物在一定程度上忍耐、减缓或抵抗逆境胁迫。但这种维持作用是有一定限度的, 当植物细胞发生实质损伤时, 其活性会发生不可逆的降低。本实验结果显示, 两优培九保护酶 SOD、POD、CAT 活性都呈上升趋势, 而油优 63 保护酶活性呈先上升后下降趋势。可见两优培九细胞未出现实质的损伤, 具有较强的抗性, 能够在较高浓度 Cd 胁迫下短时生存。

对 POD 同工酶的研究结果表明, 在 Cd 胁迫下, 两优培九和油优 63 的 POD 同工酶主要谱带数无差别, 但两优培九的某些同工酶活性较大, 这支持了 POD 的研究结果。可以推测, 相同浓度 Cd 处理可使不同水稻品种相应的基因表达量不同, 合成相关蛋白质及酶量不同, 进而抵御 Cd 胁迫的能力不同。至于实验品种如何启动同工酶基因表达的差别有待于下一步的研究。

植物保护酶系统活性与膜系统 MDA 含量存在着较为密切的关系, SOD、POD、CAT 等能把植物体内具潜在危害的活氧歧化, 如 O_2^- 活性氧能够导致膜脂过氧化产生 MAD。植物细胞膜系统 MDA 含量升高, 膜的空隙变大, 通透性增加, 导致植物的代谢紊乱, 甚至能导致植物死亡。活性氧含量的增加是逆境胁迫下的一个普遍现象, 它是诱发细胞凋亡 (PCD) 的重要因素之一^[13]。在重金属毒害下, MDA 产生速率随 Cd^{2+} 污染浓度的增加而逐渐升高。

植物光合速率的高低受许多因素影响, 如: 细胞膜的完整性, 叶绿素的含量, 光系统的转化效率等。Van Assche 等^[10]认为由于 Cd 抑制原叶绿素酸酯还原酶活性引起叶绿素含量降低, 叶绿素是植物进行光合作用的主要色素, 其含量的高低直接影响植物光合效率的强弱。施国新等^[8]认为叶绿体在 Cd 胁迫下, 叶绿体类囊体基粒和片层出现明显膨胀, 基粒垛叠结构解体。Stobart^[14]等认为叶绿素含量降低与合成叶绿素所需酶受重金属破坏有关。本实验中水稻叶片膜系统受损, PS II 活性受抑制可能是光合速率降低的部分原因。

综合本次实验结果可得出以下结论: 在相同浓度 Cd 条件下, 两优培九对 Cd 污染的抗性比油优 63 强, 两系法杂交稻对重金属的抗性较三系法杂交稻强。其

抗性机理尚有待深入研究,但对在 Cd 污染区域选择种植水稻品种时,具有参考价值。

参考文献:

- [1] Adirao D C. Trace Elements in the Terrestrial Environment [M]. New York: Springer - Verlag, Inc. 1986. 1 - 21, 107 - 154.
- [2] 吴启堂, 陈 卢, 王广寿. 水稻不同品种对 Cd 吸收累积的差异和机理研究[J]. 生态学报, 1999, (1): 104 - 107.
- [3] Dunahay T G, Staehelin L - A, Serbert M. Structural biochemical and biophysical characterization of four oxygen evolving photo system preparation from spinach [J]. *BBA*, 1984 (764): 179 - 1193.
- [4] Cooms J, Hall D O, Long S P, et al. Techniques in biopductivity and photosynthesis [M]. Oxford: Pergamon Press, 1985.
- [5] 张志良. 植物生理学实验指导(第 2 版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 1990. 154 - 157.
- [6] 李伯林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氢代谢的关系 [J]. 植物生理学报, 1989, 15: 6 - 12.
- [7] 李德耀, 叶济宇. 薄膜氧电极的制作与呼吸或光合控制的测定 [J]. 植物生理学, 1980, (1): 35 - 40.
- [8] 施国新, 杜开和, 解凯彬, 丁小余, 等. 汞、镉污染对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究 [J]. 植物学报, 2000, 42 (4): 373 - 378.
- [9] 周建华, 王永锐. 硅营养缓解水稻幼苗 Cd^{2+} 、Cr 毒害的生理研究 [J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5 (1): 106 - 112.
- [10] Van Asschef, Clustersh. Effects of heavy metal on enzyme activity in plants [J]. *Plant cell Environ*, 1990, 13: 195 - 206.
- [11] 孙赛初, 王焕校, 李启任. 水生维管束植物受镉污染后的生理变化及受害机制初探 [J]. 植物生理学报, 1985, 11 (2): 113 - 121.
- [12] Levine A, Tenhaken R, Dixon R, et al. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response [J]. *Cell*, 1994, 79 (4): 583 - 593.
- [13] Leital, Nobilmd, Cescos. Analysis of finter cellular cadmium in root and leaves of bush bean [J]. *J Plant Nutr*, 1996, 19 (3 - 4): 527 - 533.
- [14] Stobartak, Griffiths W T, Ameen ukhari I. The effect of Cd^{2+} on the biosynthesis of chlorophyllin leaves of barley [J]. *Physiol Plant*, 1985, 63: 293 - 298.
- [15] 胡能书, 万国贤. 同工酶技术及其应用 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985. 110 - 112.
- [16] 杨丹慧. 重金属离子对高等植物光合膜结构与功能的影响 [J]. 植物学通报, 1991, 8 (3): 26 - 29.