

根际 pH 与镉共同胁迫下对超高产杂交稻幼苗 光合特性的影响

陈 利¹, 陈国祥¹, 周泉澄¹, 刘传平², 吕川根³, 马晶晶¹

(1. 南京师范大学 生命科学学院, 江苏 南京 210097; 2. 南京农业大学, 江苏 南京 210095; 3. 江苏省农业科学院 粮食作物研究所, 江苏 南京 210014)

摘 要:通过测定 Cd²⁺ 与根际 pH 双重胁迫下对高产杂交稻两优培九幼苗叶片的有关光合参数, 探讨了 Cd²⁺ 与根际 pH 值对植物毒害的关系。结果表明, 随着 pH 值的升高, 叶片中 Cd²⁺ 和叶绿素的含量、类囊体膜的室温吸收和发射光谱的峰值均下降, 而光合速率、呼吸速率和类囊体膜的光合电子传递活性为先升后降, 以 pH6.0 时最高。类囊体膜的多肽组分分析表明, 各 pH 梯度的类囊体膜蛋白多肽组分降解程度较为一致。Cd²⁺ 和 pH 的双重胁迫并没改变单一 pH 作用下的变化趋势。因此, 在胁迫早期(10 d), pH 值对杂交稻幼苗光合特性的影响起主导作用。

关键词:镉胁迫; 根际 pH 值; 水稻; 光合特性

中图分类号:X503.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1672 – 2043(2005)01 – 0012 – 05

Effect of Cd²⁺ and Different pH in Rhizosphere on Photosynthetic Characteristics of Super High – yielding Hybrid Rice (*Oryza sativa L.*) Seedlings

CHEN Li¹, CHEN Guo-xiang¹, ZHOU Quan-cheng¹, LIU Chuan-ping², LU Chuan-gen³, MA Jing-jing¹

(1. College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China; 2. Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Institute of Food Crop, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China)

Abstract: To elucidate the influence of rhizosphere pH on Cd²⁺ toxicity to rice, the photosynthetic characteristics of Liangyoupeijiu seedlings, a newly developed super high – yielding hybrid rice (*Oryza sativa L.*) were investigated. The seedlings were grown in culture solutions with Cd²⁺ (10 mg · L⁻¹) and varied pH, from 5.0 to 8.0. The results showed that Cd²⁺ content in leaves decreased with the increasing pH value at rhizosphere and leaves accumulated higher amounts of Cd²⁺ at pH5.0 than at other pH values. At the early stage of stress, the photosynthetic characteristics were complex in character. The chlorophyll contents of leaves decreased under the stress of pH (5.0 ~ 8.0) and Cd²⁺ (10 mg · L⁻¹), while, the chlorophyll a/b ratio of leaves firstly increased with pH from 5.0 to 6.0, then declined at pH7.0 and significantly increased at pH8.0. At pH 8.0, the leaves accumulated the least Cd²⁺ and the ratio of chlorophyll a/b was the largest. The photosynthetic rate and respiration rate increased at first and then decreased, with a maximum value at pH 6.0. Electron transfer activities of thylakoid membrane and fluorescence emission spectrum of thylakoid membrane at room temperature showed a similar changing pattern with photosynthetic rate and respiration rate. Cd²⁺ had greater effect on PS II and all – electronic transfer activity than PSI electron transfer activity. Absorption spectrum of thylakoid membrane at room temperature decreased with increasing of rhizosphere pH value. Analysis on polypeptide compositions also indicated that thylakoid membrane polypeptide compositions were degraded by Cd²⁺, but the degradations under the different pH values were almost similar, implying that the Cd²⁺ content in chloroplast might differ from that in leaves and the Cd²⁺ contents at different pH values had no much difference at the early stage of stress. The addition of Cd²⁺ did not alter the photosynthetic changing pattern induced only by rhizosphere pH at early stage. These suggested that rhizosphere pH might play the primary role in the photosynthetic inhibition of rice seedlings at early stage of stress.

Keywords: cadmium stress; rhizosphere pH value; rice; photosynthetic characteristics

收稿日期: 2004 – 05 – 10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270792); 江苏省高校自然科学研究计划项目(02KJB180006)

作者简介: 陈 利(1976—), 女, 硕士研究生。E – mail: ttenis@126.com

联 系 人: 陈国祥

重金属特别是镉(Cd²⁺)对农作物造成的毒害已越来越引起人们的重视。镉能抑制作物生长,引起早衰^[1],降低产品质量,危害人体健康^[2]。目前大部分的研究主要集中在单纯 Cd²⁺作用下对作物幼苗的生长^[3~5]及抗性变化的影响^[6,7]等。然而,植物通过根系吸收土壤中的 Cd²⁺,土壤中许多因素必然影响到 Cd²⁺的胁迫效应及其生物毒性作用。在众多的土壤因素中,土壤的 pH 值是重要因素之一^[2]。而在不同土壤 pH 条件下,镉对作物的胁迫效应,特别是对高产杂交稻幼苗期光合膜光能转化特性的影响尚未见报道。本文通过模拟土壤条件,选取对水稻生长和发育不会产生严重不良影响的 pH 值范围(pH5.0~8.0)^[8],将根际 pH 值与重金属镉 2 种影响因素结合起来,从光合特性方面分析在不同土壤条件下镉离子对杂交稻幼苗的影响机制,旨在为粮食安全生产减轻重金属的污染提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料培养与处理

试验材料为籼型杂交稻两优培九(由江苏省农业科学院提供),稻种经 0.1% HgCl₂ 溶液表面灭菌 15 min 后,用自来水冲洗干净,再用双蒸水冲洗 2~3 次,暗中浸种 36 h[(28±2)℃]后,在铺有 4 层纱布的瓷盆中催芽 48 h。待稻种露白后挑取萌发程度一致的种子播于盛有蛭石的盆中,置于光照培养箱内培养,隔天补充木村 B 培养液(pH4.9~5.1)。培养液的配方如下。

- (NH₄)₂SO₄: 48.2 mg·L⁻¹
- KH₂PO₄: 24.8 mg·L⁻¹
- KNO₃: 18.5 mg·L⁻¹
- K₂SO₄: 15.9 mg·L⁻¹
- Ca(NO₃)₂: 59.9 mg·L⁻¹
- MgSO₄: 65.9 mg·L⁻¹
- 柠檬酸铁: 1 mL·L⁻¹
- 微量元素: 1 mL·L⁻¹
- 硅酸钠溶液: 0.2 g·L⁻¹
- pH 值: 4.5~6

待长至一叶一心后进行胁迫处理,10 d 后测定各项生理指标。

1.2 胁迫处理

试验设 pH5.0、6.0、7.0、8.0 共 4 个 pH 水平(用 HCl 或 NaOH 调节培养液的 pH 值, pH 计测定),在培养液中加入一定量的 CdCl₂,使其中 Cd²⁺含量达

到 10 mg·L⁻¹。3 次重复,随机排列,培养条件同上。隔天更换一次含有 Cd²⁺的培养液,加入量为 80 mL,以确保培养过程中培养液的 pH 值及 Cd²⁺含量的稳定。

1.3 试验方法

1.3.1 叶绿素含量的测定

按 Arnon^[9] 的方法,用 UV-754 型分光光度计测定,以 mg·g⁻¹ 表示。

1.3.2 光合速率与呼吸速率的测定

参照李德耀^[10] 和高守疆^[11] 等方法,采用 Chlorolab-2 型液相氧电极(英国)测定叶片光合速率和呼吸速率,以叶片放氧和吸氧速率表示。

1.3.3 类囊体膜的制备

参照 Dunahay^[12] 的方法制备具光化学活性的类囊体膜。

1.3.4 类囊体膜 PS I、PS II 及全电子链传递活性的测定

按照 Coombs 等^[13] 的方法,分别测定 PS I、PS II 及全电子链的活性。

1.3.5 类囊体膜室温吸收光谱的测定

用 UV-754 型分光光度计测定类囊体膜室温吸收光谱,测定时叶绿素含量为 10 μg·mL⁻¹。

1.3.6 类囊体膜室温荧光发射光谱的测定

用岛津 RF-540 测定室温条件下类囊体膜室温荧光发射光谱,测定时激发光波长为 480 nm,狭缝为 10 nm,测定时样品的叶绿素含量为 4 μg·mL⁻¹。

1.3.7 类囊体膜多肽组分分析

参照 Laemmli^[14] 的方法分离类囊体膜多肽组分,用 SDS-PAGE 电泳分析多肽组分。

1.3.8 叶片 Cd²⁺含量测定

Cd²⁺含量的测定用高氯酸-硝酸消化法处理样品^[15],火焰原子形式分光光度计(GBC-932AA 型澳大利亚产)测定。

2 结果与分析

2.1 不同 pH 条件下叶片中 Cd²⁺的含量

由表 1 可见,根际 pH 值对叶片中 Cd²⁺的含量有较大的影响。在 pH 为 5.0 时叶片中的 Cd²⁺含量最高,为 16.15 mg·kg⁻¹,随着 pH 值的逐渐升高,叶片

表 1 不同根际 pH 条件下叶片中 Cd²⁺的含量(mg·kg⁻¹)
Table 1 Cd²⁺ contents of leaves at different rhizosphere pH values

pH 值	pH5.0	pH6.0	pH7.0	pH8.0
Cd ²⁺ 含量	16.15	1.42	0.22	0.087

中 Cd^{2+} 的含量也逐渐降低,以 pH8.0 时为最低。

2.2 不同 pH 条件下 Cd^{2+} 对叶片叶绿素含量的影响

在不同 pH 条件下 Cd^{2+} 对叶片叶绿素含量的影响见图 1。其结果表明,随 pH 值增高,叶片叶绿素含量呈下降趋势,各实验组中以 pH5.0 时叶绿素含量较高。可能是由于在胁迫早期(10 d),酸性环境更有利于提高植物根系活力或硝酸还原酶的活性,有利于氮素营养的吸收和利用^[16]。但从图 2 可见,叶绿素 a/b 在胁迫条件下表现出比较复杂的情况。基本上呈现出先升后降再升的趋势(其比值分别为 2.16, 2.19, 2.1, 2.6)。尤以 pH8.0 时叶绿素 a/b 值最高。 Cd^{2+} 是光合作用的抑制剂,在影响到光合功能之前,首先影响光合色素,使叶绿素 a/b 的比例下降^[17]。因而在 pH8.0 叶片镉离子含量较少时,其叶绿素 a/b 的比值最大。

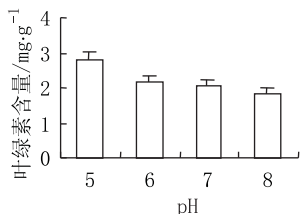


图 1 不同 pH 条件下镉对叶片叶绿素含量的影响

Figure 1 Effect of Cd^{2+} on the chlorophyll content of rice leaves at different pH values

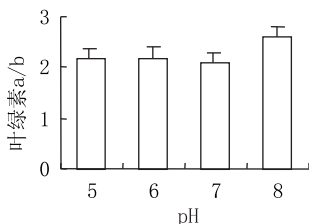


图 2 镉在不同 pH 条件下对叶绿素 a/b 值的影响

Figure 2 Effects of Cd^{2+} on the chlorophyll a/b ratio of rice leaves at different pH values

2.3 不同 pH 条件下 Cd^{2+} 对叶片光合速率和呼吸速率的影响

在不同 pH 条件下,镉对光合速率和呼吸速率有不同的影响。由图 3 可知,在 2 种外界因素的胁迫之下,各试验组的光合速率以 pH6.0 时居高,而呼吸速率较为接近,且各组的光合速率比呼吸速率高出 8~10 倍。可能在胁迫早期(10 d),虽然根的生长受抑制,对叶片的毒害作用却不大,结果使光合作用增加,并引起蔗糖浓度增大、渗透势降低等一系列生理反应^[17]。

2.4 不同 pH 条件下 Cd^{2+} 对类囊体膜 PS I、PS II 及全电子链传递活性的影响

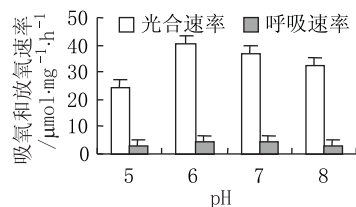


图 3 镉在不同 pH 条件下对叶片光合速率和呼吸速率的影响

Figure 3 Effects of Cd^{2+} on the photosynthetic and respiration rate of rice leaves at different pH values

以 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 和 MV 作为电子受体,测定 PS I 的还原能力、PS II 光合放氧速率及全电子链的传递活性。图 4 的结果表明, $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 的加入对类囊体膜两个光系统的光化学活性均有影响,但其影响作用并未随叶片中 Cd^{2+} 含量的上升而加强,而是先升再降,并以中性 pH6.0 时试验组 PS II 光合放氧速率及全电子链的传递活性最高。而且从图 4 中可见 PS II 活性的下降远远大于 PS I,说明 PS II 更易受胁迫条件的影响。全电子链传递活性的变化主要受控于 PS II,因此表现出与其相类似的变化趋势。

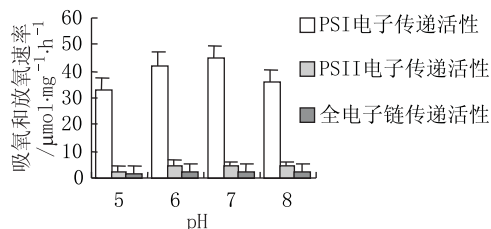


图 4 镉在不同 pH 值条件下对类囊体膜电子传递活性的影响

Figure 4 Effects of Cd^{2+} on photosynthetic electron transfer activity of thylakoid membrane at different pH values

2.5 不同 pH 条件下 Cd^{2+} 对类囊体膜室温吸收光谱的影响

在等叶绿素的情况下,不同 pH 条件时,各试验组类囊体膜室温吸收光谱的带形较为相似,见图 5。在 430 nm 和 680 nm 处各有一个吸收峰。从图 5 还可看出,试验组 pH5.0 其吸收峰在红光区和蓝光区均高

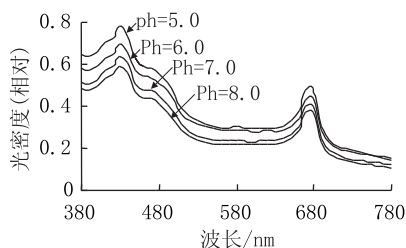


图 5 镉在不同 pH 值时对类囊体膜室温吸收光谱的影响

Figure 5 Effects of Cd^{2+} on absorption spectrum of thylakoid membrane at room temperature and different pH values

于其它各组,依次为 pH5.0、pH6.0、pH7.0、pH8.0。可能是较高 Cd^{2+} 的含量对类囊体膜的结构产生了一定的破坏作用,为适应这种胁迫环境而对自身的膜结构做出相应的调整,以增强吸光能力,维持生长。

2.6 不同 pH 条件下 Cd^{2+} 对类囊体膜室温荧光发射光谱的影响

在室温条件下,植物类囊体膜的荧光几乎全部来自于 PS II^[18]。从图 6 可见,在胁迫条件下,各试验组类囊体膜在 685 nm 处的荧光发射峰均有下降,且以 pH8.0 试验组下降的尤为明显。依次为 pH6.0、pH5.0、pH7.0、pH8.0。

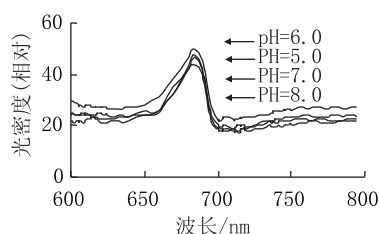


图 6 镉在不同 pH 条件下对类囊体膜室温荧光发射光谱的影响

Figure 6 Effects of Cd^{2+} on fluorescence emission spectrum of thylakoid membrane at room temperature and different pH values

2.7 不同 pH 条件下 Cd^{2+} 对类囊体膜多肽组分的影响

采用 SDS-PAGE 将类囊体膜多肽组分进行分离并作分析,结果如图 7 所示,各试验组类囊体肽组分发生了降解。说明 Cd^{2+} 的存在对类囊体膜的蛋白组分有损伤作用。然而从图 7 可见,各试验组多肽组分的降解情况基本一致,暗示早期叶绿体中 Cd^{2+} 的含量并不与叶片中的含量相一致。

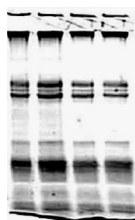


图 7 镉在不同 pH 条件下对类囊体膜多肽组分的影响

Figure 7 Effects of Cd^{2+} on polypeptide compositions of thylakoid membrane at different pH values

3 讨论

刘少华等^[8]曾研究了不同根际 pH 值对杂交稻幼苗光能转换特性的影响。显示在不同 pH 值的影响下, pH6.0 实验组明显高与其他实验组。本试验结果

表明, pH 与 Cd^{2+} 胁迫 10 d, 叶片中 Cd^{2+} 含量与根际 pH 直接负相关, 随 pH 下降而显著上升。这与 Eriksson^[19]、He 和 Sing^[20]的研究结果一致。本试验结果同时还显示, 和单一 pH 胁迫下相关光合指标降低程度^[8]比较, 在双重胁迫下, 叶片的光合速率、呼吸速率、类囊体膜及全电子链活性、室温荧光发射光谱等数据虽有所降低, 而叶片光合特性的总体规律仍与 pH 作用下的结果较为一致, 说明胁迫早期 Cd^{2+} 对水稻幼苗的光合特性影响不大; 在光合速率、电子传递活性方面, pH6.0 组均高于其他试验组, 这表明可能在 Cd^{2+} 与 pH 共同作用的早期 (10 d), 叶片中的大部分的 Cd^{2+} 分布在细胞的液泡中和细胞壁上^[21], 细胞叶绿体中的 Cd^{2+} 较少且差别不大 (从类囊体膜多肽组分电泳结果也可证明)。微量的 Cd^{2+} 虽使得幼苗在叶绿素含量等光合指标有所下降, 但从结果可见根际 pH 条件对光合特性有更为明显的影响。

陈宏^[22]等人的研究表明, Cd^{2+} 伤害的原因之一是由于植物体在逆境条件下体内自由基积累, 加剧了膜脂过氧化, 使膜的结构和功能遭受破坏, 进而引起一系列生理生化代谢紊乱, 导致伤害发生。而在适宜的 pH 条件下, 细胞的 SOD、POD、CAT 的活性较高, 组织可溶性蛋白的含量高^[23], 能减少叶绿体中微量的 Cd^{2+} 对光合膜造成的伤害, 影响其生物学毒性的发挥。本次的试验结果支持上述观点, 也就是说, 在 Cd^{2+} 与根际 pH 双重作用的早期 (10 d), Cd^{2+} 对水稻幼苗的毒害直接受根际 pH 值的影响, pH 值对杂交稻幼苗光合特性的影响起到了决定性的作用。

参考文献:

- [1] Ouzounidou G, Moustakas, Elothoriou E P. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1997, 32 (2): 154 - 160.
- [2] 刘青松. 土壤污染的类型及危害[J]. 环境导报, 2000, 5.
- [3] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 等. 土壤重金属污染对蔬菜生长的抑制作用及其生态毒性[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(1): 13 - 15.
- [4] 陈平, 张伟峰, 余土元, 等. 镉对水稻幼苗生长及部分生理特性的影响[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2001, 14(4): 18 - 21.
- [5] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 重金属对土壤中小麦种子发芽与根伸长抑制的生态毒性[J]. 应用生态学报, 2002, 13(4): 459 - 462.
- [6] 施农农. 镉中毒水稻苗期体内总蛋白量和 POD、CAT 活性的变化[J]. 土壤, 2000, 3: 125 - 129.
- [7] 王贵民, 陈国祥. 两优培九与汕优 63 苗期对 Cd^{2+} 毒害抗性差异的研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(3): 48 - 51.
- [8] 刘少华, 陈国祥, 吕川根, 等. 根际 pH 值对杂交稻幼苗光能转化特性的影响[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(3): 244 - 248.

- [9] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in Bete bulgaris[J]. *Plant Physical*, 1949, 24: 1 – 5.
- [10] 李德耀. 氧电极法测叶片光合作用技术探讨[J]. *植物生理学通讯*,1982,(5):23 – 25.
- [11] 高守疆,陈升枢,李明启. 断光后的急骤耗氧现象及其与光呼吸的关系[J]. *植物生理学报*,1988,14(4):313 – 317.
- [12] Dunahay T G, Staehelin L A, Seibert M Structure. Biochemical and biophysical characterization of four oxygen evolving photosystem preparation from spinach[J]. *BBA*, 1984:764, 179 – 193.
- [13] Coombs J, Hall D O, Long S P, et al. Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis[M]. New Yoke: Pergamon.
- [14] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins duringthe assembly of the head of facteriophage T4[J]. *Nature*, 1970, 227: 680 – 685.
- [15] 《环境污染分析方法》科研协作组. 环境污染分析方法(第二版) [M]. 北京:科学出版社,1987. 135 – 136.
- [16] 林建明,汤玉玮. 低 pH 时水稻黄化叶片硝酸还原酶活性暗诱导的调节[J]. *植物生理学报*,1986,12(4):307 – 313.
- [17] 苏玲,章永松,林威永,等. 维管植物的镉毒和耐性机制[J]. *植物营养与肥料学报*,2000,6(1):106 – 112.
- [18] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis[J]. *The basics. Ann Rev Plant Mol Bio*, 1991, 42:313 – 349.
- [19] Enkisson, JE. The influence of pH, soil type and time on adsorption and uptake by plants of Cd added to the soil[J]. *Water, Air and Soil Pollut*, 1989, 48: 317 – 335.
- [20] He Q B, Sing BR. Crop uptake of cadmium from phosphorus fertilizers. I Yield and cadmium content[J]. *Water, Air and Soil Pollut*, 1994, 74: 251 – 265.
- [21] Carrier P, Baryla A, Havaux M. Cadmium distribution and microlocalization in oilseed rape (Brassica napus) after long – term growth on cadmium – contaminated soil[J]. *Planta*, 2003, 216(6): 939 – 950.
- [22] 陈宏,徐秋曼,王藏. 镉对小麦幼苗脂质过氧化和保护酶活性的影响[J]. *西北植物学报*,2000,20(3):399 – 403.
- [23] 马成仓. pH 值对油菜幼苗细胞膜及细胞保护系统的影响[J]. *中国油料*,1997,19(1):27 – 31.



中国科技期刊引证报告——《农业环境科学学报》

《农业环境科学学报》(原《农业环境保护》)自 1996 年开始被中国科学引文数据库列为来源期刊,连续进入“被引频次最高的中国科技期刊 500 名排行表”内。据 2004 年统计,《农业环境科学学报》影响因子为 0.500,总被引频次为 641 次,在中国科技期刊总排序中按被引频次排在第 226 位。本刊 2003 年共发稿 198 篇,参考文献量 2252 篇,平均引文数为 11.37,论文来自全国 24 个地区,83 个研究机构,基金论文比为 77%。引用刊数为 162,扩散因子 25.3,被引半衰期为 5.11,他引总引比为 83%,国际论文比为 3%。

在此我们对长期支持本刊的广大作者和读者深表谢意,让我们携起手来,共同办好刊物,为农业环境科学的繁荣与发展做出更大的贡献!

(摘自《中国科技期刊引证报告》2004 年版)