

硒对镉胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响

陈平, 余土元, 陈惠阳, 周厚高

(仲恺农业技术学院, 广东广州 510225)

摘要: 采用溶液培养, 研究不同浓度的硒和镉处理对稻苗的株高、叶片干重、叶绿素、还原糖、叶片丙二醛含量以及保护酶SOD、POD、CAT活性的影响。结果表明, 镉胁迫下稻苗矮化, 镉毒害使叶片失绿, 干重降低, 还原糖含量下降, 叶片MDA含量增加, POD活性增强, 而SOD、CAT活性降低; 硒可减轻镉对水稻的毒害, 表现为: 减轻镉胁迫对株高增加的抑制, 提高叶绿素含量, 增加叶片干物质积累, 提高叶片还原糖含量(Cd 0.5 mg/L加Se 0.10~0.50 mg/L例外), 降低MDA含量与POD活性, 提高SOD、CAT活性。

关键词: 硒; 镉; 水稻; 生理特性

中图分类号: Q946.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)03-0277-06

Effects of Se on growth and some physiological characteristics of rice seedling under Cd stress

CHEN Ping, YU Tu-yuan, CHEN Hui-yang, ZHOU Hou-gao

(Zhongkai Agrrotechnical College, Guangzhou 510225, China)

Abstract: The nutrient solution culture experiment was conducted to study physiological effects of Se on the plant height, chlorophyll, dry weight and reducing sugar content of leaves, malondialdehyde concentration and activities of superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) and guaiacol peroxidase(POD) in rice (*Oryza sativa* L.) seedling under Cd stress. The results indicated that plants under Cd stress without Se supply showed wilt, chlorosis, necrosis in leaves and black in roots, decreased in biomass, SOD and CAT activities of leaves and increase in seedling height, malondialdehyde concentration and POD activities in leaves. The addition of Se to solution with Cd could increase the dry matter weight of leaves, retard the inhibition of Cd to the increase of seedling height and alleviate the Cd toxicity, increase chlorophyll and reducing sugar content (except Cd 0.5 mg/L plus Se 0.10~0.50 mg/L), decrease MDA concentration and POD activities, enhance SOD and POD activities in leaves.

Key words: selenium; cadmium; rice; physiological characteristics

随着工业发展, 环境污染日益严重, 重金属污染尤其是镉的污染不容忽视。镉为非营养元素, 对植物具有明显的毒害作用, 而且会通过食物链危及人体健康。如何缓解或抑制植物镉毒害, 已经引起人们的广泛关注。植物营养学家曾对 Fe⁽¹⁾、Si⁽²⁾、

Ca⁽³⁾等元素缓解镉毒害进行了研究。硒是动物和人体营养的必需微量元素, 硒对高等植物的生长有重要作用, 是植物生长发育的一种有益元素^(4~6)。作者曾报道硒硅共施对水稻具有良好的生理效应^(7,8)。值得注意的是 Francis 等(1973)发现, 提高溶液中硒水

收稿日期: 2001-05-15

作者简介: 陈平(1968-), 男, 江苏如东人, 硕士, 主要从事植物生理教学与研究工作。

平,能明显降低植物体内的镉浓度^[4]。本试验以水稻为材料,通过溶液培养,旨在探讨硒对镉胁迫下水稻幼苗生长和生理特性的影响,以探讨硒能否抑制或缓解镉对水稻的毒害。

1 材料与方法

1.1 植株培养

1 水稻(*Oryza sativa* L.)品种澳青占由广东省农业科学院水稻所提供。选用饱满种子,用去离子水浸种 48 h,在 30 ± 1 °C 催芽 24 h,萌发后播于装有石英砂的方盆中育苗,选取健壮、均一的 3 片叶龄秧苗移植于盛有 Yoshida (1976) 营养液的塑料盆 (33 cm×23 cm×7 cm) 中。每盆栽植 12 穴,每穴 1 株,培养液体积为 4 L。培养 1 周后,用含 CdCl_2 及 H_2SeO_3 的 Yoshida 营养液培养,Cd 浓度为 0、0.5、1.0、5.0、10.0 mg/L,并分别加入 Se,浓度为 0、0.10、0.25、0.50 mg/L,共 20 个处理,重复 3 次,每 2 d 调 pH5.1~5.5,每天用去离子水补充水分蒸发部分,每周更换营养液 1 次。于玻璃网室内自然光照及温度下培养。

1.2 指标测定方法

(1) 植株生长量测定:分别测定硒镉处理前与

处理 9 d 秧苗的高度变化,以秧苗高度增加量及处理 34 d 水稻主茎倒 3 叶片干重(30 株的平均值)表示植株生长量。(2) 叶绿素含量测定:处理 27 d 时水稻植株倒 2 叶片,以 80% 丙酮研磨^[9]测定。(3) 还原糖含量测定:处理 34 d 时水稻植株倒 3 叶片,以 3,5-二硝基水杨酸法^[10]测定。(4) 酶液制备:处理 22 d 时水稻植株倒 1 叶片 0.5 g,加入 10 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.8),加少量石英砂冰浴研磨。匀浆以 10 000 r/min 冷冻离心 20 min,上清液定容至 10 mL,用于酶活性和 MDA 含量测定。(5) MDA 含量测定:按李柏林、梅慧生^[11]改进的方法,采用 Beckman DU640 分光光度计测定。(6) SOD 活性测定:按李柏林、梅慧生^[11]改进的方法进行,以抑制 NBT 光化还原 50% 为 1 个酶活性单位。(7) POD 活性测定:用愈创木酚氧化法^[12],以 470 nm 波长下光密度每分钟升高 1.0 为 1 个酶活性单位。(8) CAT 活性测定:参照罗华建等^[13]方法,并作适当改进。反应液为 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.8), H_2O_2 0.01 mol/L,测定时取 0.1 mL 酶液加 5 mL 反应液,反应 3 min,加 3 mL 1.8 mol/L H_2SO_4 终止反应。CAT 活性以 240 nm 波长下光密度每分钟降低 1.0 为一个酶活性单位。

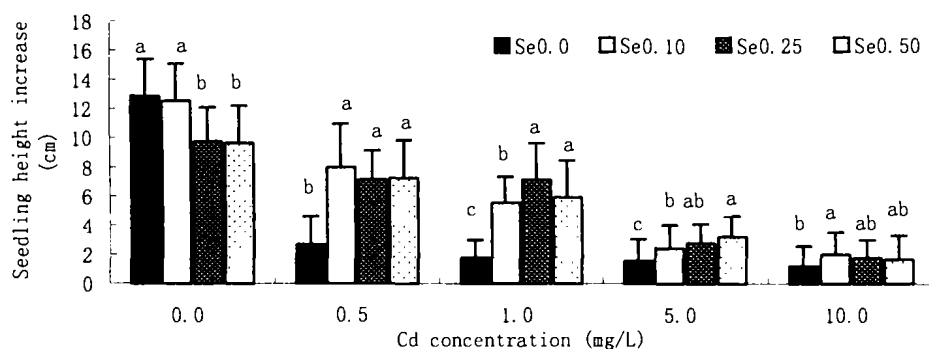


图 1 不同硒镉处理对水稻幼苗株高的影响

Fig. 1 Effects of Se and Cd treatments on the height of rice seedlings

有关数据在统计软件 STATISTIA 处理。

2 结果与分析

2.1 不同硒镉处理对苗期水稻生长的影响

经不同浓度硒镉处理 9 d,通过统计分析研究 Cd 和 Se 处理对株高的主效应,Se 和 Cd 的互作效应,结果表明,三个效应对水稻幼苗高度生长影响具有极显著的差异,其 F 值分别是 $447.6915 > F$

$(0.01) = 3.26, 26.463 > F(0.01) = 3.49$ 和 $21.022 > F(0.01) = 2.69$ 。对于单一 Cd 和单一 Se 处理,苗高增加量随着浓度的增加明显减少,其相关系数 r 分别是 -0.514 和 -0.888,为负相关。其中,水稻经镉培养 1 周后,10.0 mg/L Cd 处理,老叶失绿,萎缩,出现坏死斑,幼叶严重黄化,根发黑,苗高增加量仅为对照的 10.78%。Se 和 Cd 复合处理后的苗高增加量都比相应单一 Cd 处理高,Se 减轻 Cd 对水

稻植株生长的抑制作用。

在不同 Cd 浓度处理下, Se 的不同浓度水平对株高影响的多重比较 (Duncan 检验) 结果表明, 不同浓度水平具有显著差异 (图 1)。

表 1 表明, 水稻受 Cd 毒害后, 倒 3 叶片干重降

低, 5.0 mg/L、10.0 mg/L Cd 处理的植株倒 3 叶片干重仅为对照的 39.60%、26.17%。加 Se 后, 除 1.0 mg/L Cd 加 0.50 mg/L Se 浓度处理外, 倒 3 叶片干重皆比相应 Cd 浓度处理 (未加 Se) 的高。镉胁迫下, 水稻植株叶片的干物质积累明显减少, 硒可以减轻

表 1 不同硒镉处理对水稻幼苗叶片生长的影响 (单位: mg DW/leaf)

Table 1 Effects of Se and Cd treatments on the biomass in leaves of rice seedlings

处理 Treatment	Cd 0	Cd 0.5	Cd 1.0	Cd 5.0	Cd 10.0
Se 0.0	83.47(100)	54.59(65.40)	56.39(67.56)	33.05(39.60)	21.84(26.17)
Se 0.10	69.38(83.12)	69.52(83.27)	59.03(70.52)	47.91(57.40)	30.31(36.31)
Se 0.25	72.64(87.03)	78.94(94.57)	80.11(95.97)	41.46(49.67)	31.11(37.27)
Se 0.50	60.13(72.04)	64.57(77.36)	56.00(67.09)	46.13(55.27)	26.59(31.86)

注: 括号内为百分数 (以未加 Se、Cd 为对照)。Note: The number in the bracket is percentage.

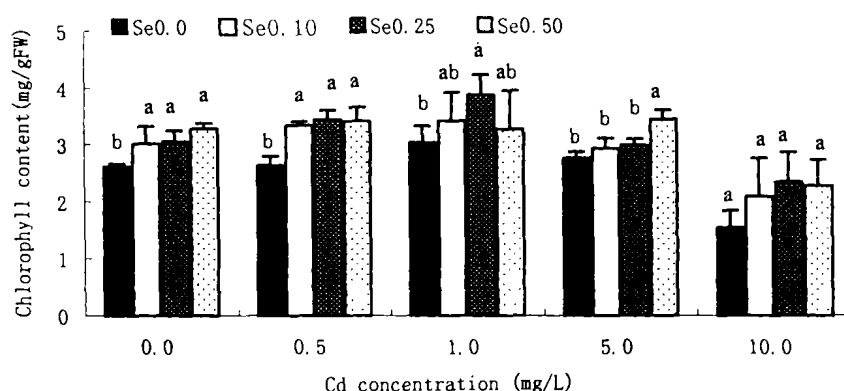


图 2 不同硒镉处理对水稻幼苗叶片叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of Se and Cd treatments on the chlorophyll content in leaves of rice seedlings

镉胁迫水稻植株叶片干重积累的减少。

2.2 不同硒镉处理对苗期水稻叶片叶绿素含量的影响

由图 2 可看出, 单一 Cd 处理在 (0~5.0 mg/L) 叶绿素呈上升趋势, 而后下降, 其中 5.0、10.0 mg/L 处理的叶绿素含量分别为对照的 105.3% 和 58.77%, 这与周建华、王永锐^[2] 报告较高浓度的 Cd²⁺ 处理可使叶绿素含量降低而低浓度处理却提高的结果一致。而单一 Se 处理, 随着浓度的上升水稻植株叶绿素含量显著增加, 其相关系数 $r=0.899$, 为极显著正相关。Se 和 Cd 复合处理后叶绿素含量均高于相应单一 Cd 处理, 与单一处理相差极显著 ($|t|$ 分别为 4.964、5.029、6.271 $> t(0.01) = 4.604$), 可以看出加 Se 可缓解 Cd 胁迫水稻幼苗叶片叶绿素含量下降, 有利于植株生长。

2.3 不同硒镉处理对苗期水稻叶片还原糖含量的影响

由图 3 可以看出, 单一 Cd 处理, 随着 Cd 浓度

的上升, 水稻叶片还原糖含量降低, 其 $F=709.514 > F(0.01)=3.26$, 差异明显, 5.0、10.0 mg/L Cd 浓度处理的水稻倒 3 叶还原糖含量仅为对照的 35.56%、32.00% (相关系数 $r=-0.785$)。单一 Se 处理在 (0~0.25 mg/L) 呈下降趋势, 在 0.50 mg/L 则增加, 其 $F=32.786 > F(0.01)=3.49$, 差异明显。在 Se 和 Cd 复合处理下, 除在各 Se 处理中加入 0.5 mg/L Cd 外, 其它组合都比相应单一 Cd 处理的还原糖含量高, 其 $F=51.104 > F(0.01)=2.69$, 差异明显。水稻受 Cd 毒害可以显著降低还原糖含量, 加 Se 后可以提高还原糖含量。

2.4 不同硒镉处理对水稻叶片膜脂过氧化作用的影响

由图 4 可以看出, 单一 Cd 处理, MDA 含量 (脂质过氧化作用) 随着浓度上升呈显著增加趋势, 其相关系数 $r=0.986$, 为极显著正相关。加 Se 可有效降低膜脂过氧化水平。单一 Se 处理则随着浓度的增加, MDA 含量逐渐减少, 其相关系数 $r=-0.985$,

为极显著负相关。在 Se 和 Cd 复合处理下,MDA 含量均比相应单一 Cd 处理低,在各 Cd 处理中加入 Se 的变化趋势与单一 Cd 处理一样,但其相关系数 r 分别是 0.752、0.808 和 0.973,为不显著正相关,而单一 Cd 处理为极显著正相关。加 Se 可有效降低膜脂过氧化水平。

2.5 镉加硒对水稻叶片 SOD、CAT、POD 活性影响

由图 5 可以看出,单一 Cd 处理,SOD 活性随着浓度的上升呈下降趋势,其相关系数 $r = -0.838$,为极显著负相关。而单一 Se 处理下,SOD 活性在 0.10 mg/L 出现抗性峰,而后下降,但仍高于对照,分别为对照的 108.36%、105.64%和 105.02%,其

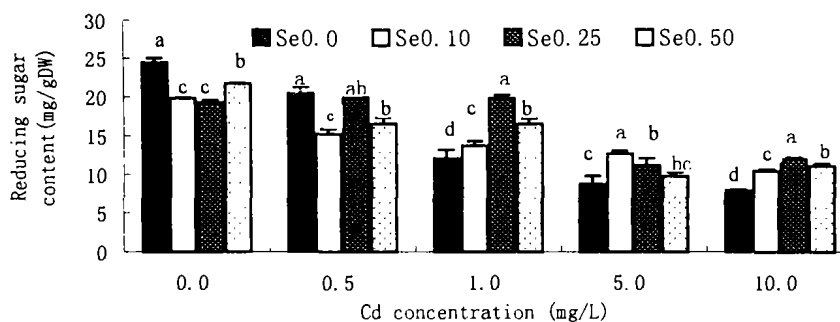


图 3 不同硒镉处理对水稻幼苗叶片还原糖含量的影响

Fig. 3 Effects of Se and Cd treatments on reducing sugar content in leaves of rice seedlings

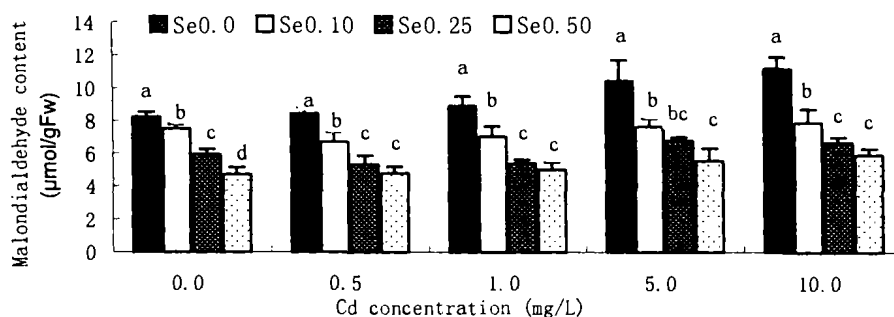


图 4 不同硒镉处理对苗期水稻幼苗叶片 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effects of Se and Cd treatments on malondialdehyde content in leaves of rice seedlings

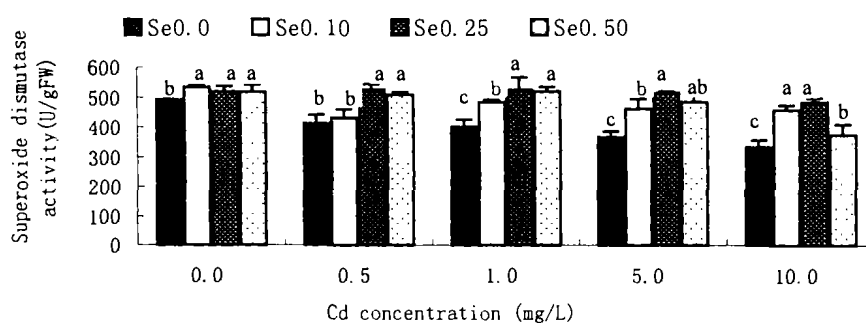


图 5 不同硒镉处理对苗期水稻幼苗 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effects of Se and Cd treatments on superoxide dismutase activity in leaves of rice seedlings

$F = 102.236 > F(0.01) = 3.49$,差异明显。Se 和 Cd 复合处理下,其组合 SOD 活性都高于相应单一 Cd 处理,其中在各 Cd 处理中分别加入 0.10、0.50 mg/L Se 的 SOD 活性与单一 Cd 处理相差显著 ($|t| = 3.744$ 和 $4.041 > t(0.05) = 2.776$),而在各 Cd 处理中加入 0.25 mg/L Se 则与单一 Cd 处理相差极显著

($|t| = 5.032 > t(0.01) = 4.064$)。

由图 6 可以看出,单一 Cd、Se 处理 CAT 活性都是随着浓度的上升而呈下降趋势,其相关系数 r 分别是 -0.963 和 -0.9775 ,为负相关和极显著负相关。Se 和 Cd 复合处理下,除 0.10 mg/L 加 0.5 mg/L Cd 处理外,其它组合的 CAT 活性都高过相

应单一 Cd 处理, 其中在各 Cd 处理中分别加入 0.25、0.50 mg/L Se 的酶活性随着 Cd 浓度的增加而上升, 其 $F=23.913 > F(0.01)=2.69$, 差异明显。

由图 7 可以看出, 单一 Cd 处理, 随着浓度的增加, POD 活性升高, 其相关系数 $r=0.9225$, 为极显著正相关。单一 Se 处理在 (0~0.25 mg/L) 有一抗

性峰, 而后下降, 但仍高过对照。Se 和 Cd 复合处理下, 除在各 Se 处理中加入 0.5 mg/L Cd 外, 其它组合的 POD 活性都低于相应单一 Cd 处理。

SOD 是重要的活性氧防御酶, 它催化反应 $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, CAT 能催化 H_2O_2 分解成水和氧, POD 催化 H_2O_2 与酚类的反应。CAT 活性

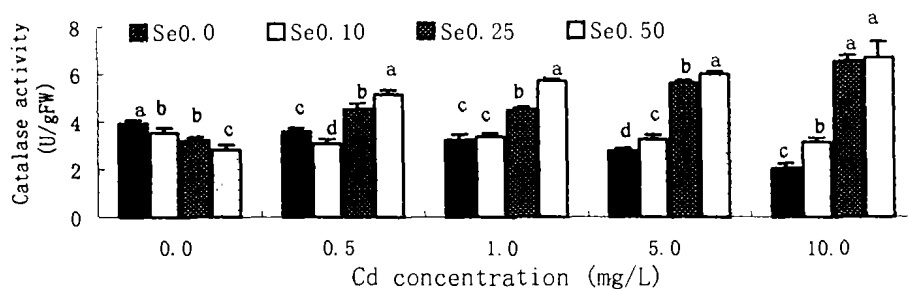


图 6 不同硒镉处理对苗期水稻叶片过氧化氢酶(CAT)活性的影响

Fig. 6 Effects of Se and Cd treatments on catalase activity in leaves of rice seedlings

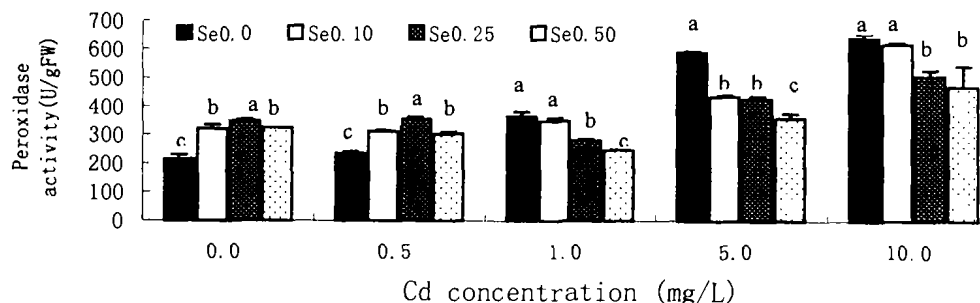


图 7 不同硒镉处理对苗期水稻叶片过氧化物酶(POD)活性的影响

Fig. 7 Effects of Se and Cd treatments on peroxidase activity in leaves of rice seedlings

的提高, 能更有效地清除 H_2O_2 , SOD 和 POD 的共同作用能把体内具潜在危害的 O_2^- 和 H_2O_2 转化为无害的 H_2O 和 O_2 , 并能减少羟自由基 ($\cdot OH$) 的形成, POD 和 CAT 共同作用催化 H_2O_2 形成水, 三种活性氧防御酶共同作用, 可有效地阻止 O_2^- 和 H_2O_2 在植物体内积累^[12]。受 Cd 毒害的水稻幼苗体内过氧化作用剧烈进行, POD 活性显著升高, SOD 和 CAT 活性降低。加入 Se 后可抑制水稻幼苗过氧化作用的剧烈进行, 使 POD 活性降低, SOD 和 CAT 活性升高。

3 讨论

前人研究表明, 镉过多对植物产生严重损害, 可以强烈抑制细胞和整个植株的生长^[14], 细胞内的重金属离子不仅能与酶活性中心或蛋白质中的巯基结合, 而且还能取代金属蛋白中的必需元素 (Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Fe^{2+}), 导致生物大分子构象改

变、酶活性丧失及必需元素缺乏, 干扰细胞的正常代谢过程^[15]。镉毒害引起植物失绿和叶绿素总量下降^[16], Van Assche F 和 Clijsters H 认为, 是由于镉抑制原叶绿素酸酯还原酶活性引起的^[15]。本试验说明, 镉毒害使水稻植株矮小, 失绿, 叶片干重下降, 还原糖含量降低; 加 Se 培养, 镉胁迫水稻毒害症状减轻。可能是由于高浓度 Cd 使水稻幼苗吸收及分布 K、Ca、Mg、Fe 等元素减少, 阻碍叶绿素形成及其含量增加, 也严重阻碍光合产物的运输、分布, 加速叶片衰老、提早死亡^[2]。而在生理浓度范围内, 硒在总体上可以促进植物对 P、K、Ca、Mg、S、Fe、Mn、Cu、Zn 和 Mo 的吸收^[4]。作者亦报道低浓度硒可促进水稻幼苗对 ^{32}P 的吸收^[7]。这些元素的吸收可能有助于改善镉胁迫水稻叶绿体结构与功能。而对酶活性的维持也是必需的^[15]。硒和重金属等污染元素之间多表现为拮抗关系, 硒可降低小麦、莴苣、菜豆对

镉的吸收^[6]。本试验中硒缓解镉对水稻幼苗的毒害,是否由于硒抑制了水稻对镉的吸收,有待进一步探讨。

镉可诱导植物的自由基过氧化损伤,加剧植物体内膜脂过氧化作用^[17]。孔祥生等研究表明,随着 Cd^{2+} 浓度的增加和 Cd^{2+} 毒害时间延长,玉米叶片MDA含量上升,SOD和CAT活性下降,POD活性增加^[18]。本试验也得到类似结果。生物体内的活性氧和自由基的产生与清除作用的平衡,受保护酶类及小分子抗氧化剂两类物质的调控^[19],硒可以通过酶促和非酶促系统两种机制产生抗氧化功能,硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性中心,可以诱导GSH-Px活性,亦通过GSH-Px活性的变化而影响植株内整个保护酶系统,此外,无机硒及有机硒对自由基亦有清除作用^[4-6],作者曾报道,硒可降低月季离体叶片MDA含量^[19]。本试验结果说明,镉胁迫水稻加硒培养后,叶片MDA含量下降,POD活性降低,SOD和CAT活性提高。硒可以抑制镉诱导自由基对水稻植株的伤害,亦是其缓解水稻镉毒害机制之一。

形成金属螯合蛋白可能是植物对镉毒害耐性的可能机制。高等植物中的植物螯合肽(phytochelatins,pc)广泛存在于植物界。它是以GSH为底物,由PC合成酶(phytochelatin synthesis)即 γ -谷氨酰半胱氨酸二肽转移酶催化而成的金属螯合肽^[20],随着镉浓度增加,该酶在瞬间被激活,还可被多种多原子阴离子如(SeO_4^{2-} , SeO_3^{2-} , 和 AsO_4^{3-})激活^[14-21]。硒可能参与调控PCs活性,缓解镉对水稻的毒害。

参考文献:

- [1] 李元,王焕校,吴玉树. Cd、Fe及其复合污染对烟草叶片几项生理指标的影响[J]. 生态学报, 1992, **12**(2): 147—153.
- [2] 周建华,王永锐. 硅营养缓解水稻幼苗Cd、Cr毒害的生理研究[J]. 应用与环境生物学报, 1999, **5**(1): 11—15.
- [3] 汪洪,周卫,林葆. 钙对镉胁迫下玉米生长及生理特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2001, **7**(1): 78—87.
- [4] 陈铭,刘更另. 高等植物的硒营养及在食物链中的作用(二)[J]. 土壤通报, 1996, **27**(4): 185—188.
- [5] 尚庆茂,李平兰. 硒在高等植物中的生理作用[J]. 植物生理学通讯, 1998, **34**(4): 284—288.
- [6] 吴军,刘秀芳,徐汉生. 硒在植物生命活动中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1999, **35**(5): 417—423.
- [7] 王永锐,陈平. 水稻对硒吸收、分布及硒与硅共施效应[J]. 植物生理学报, 1996, **22**(4): 344—348.
- [8] 陈平,王鸿博,王永锐. 水稻幼穗发育期硒与硅共施效应[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1997, **10**(1): 24—28.
- [9] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社, 1990. 51—54.
- [10] 张龙翔,张庭芳,李令媛. 生化实验方法和技术[M](第二版). 北京:高等教育出版社, 1997. 1—3.
- [11] 李柏林,梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系[J]. 植物生理学报, 1989, **15**(1): 6—12.
- [12] 罗广华,王爱国,邵从本,等. 高浓度氧对水稻幼苗的伤害与活性氧的防御酶[J]. 中国科学院华南植物研究所集刊, 1989, **4**: 169—176.
- [13] 罗华建,刘星辉,谢厚钗. 水分胁迫对枇杷叶片活性氧代谢的影响[J]. 福建农业大学学报, 1999, **28**(1): 33—37.
- [14] 苏玲,章永松,林咸永,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.
- [15] Van Assche F, Clijsters H. Effects of metal on enzyme activity in plants[J]. *Plant Cell Environ.* 1990, **13**: 195—206.
- [16] 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.
- [17] 黄玉山,罗广华,关荣文. 镉诱导植物的自由基过氧化损伤[J]. 植物学报, 1997, **39**(6): 522—526.
- [18] 孔祥生,郭秀璞,张妙霞. 镉胁迫对玉米幼苗生长及生理生化的影响[J]. 华中农业大学学报, 1999, **18**(2): 111—113.
- [19] 陈平,张伟锋,蓝振,等. 硒对月季离体叶片衰老的影响[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2000, **13**(1): 36—39.
- [20] Rauser W E. Phytochelatins and related peptides[J]. *Plant Physiol*, 1995, **109**: 1 141—1 149.
- [21] Salt D E, Prince R C, Pickering I J, et al. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian Mustard [J]. *Plant Physiol*, 1995, **109**: 1 427 — 1 443.