

高华健,王玉祯,侯 丹,等. 锌调节镉胁迫水稻幼苗根系生长的生理机制[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):49-52.

锌调节镉胁迫水稻幼苗根系生长的生理机制

高华健,王玉祯,侯 丹,闫智璐,韩晓敏,张传超,李 伟,赵风云

(山东理工大学生命科学院,山东淄博 255049)

摘要:以水稻(*Oryza sativa* L.)品种中花 11 号为材料,分析了 0.08 mmol/L $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 、0.4 mmol/L $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 和 0.4 mmol/L $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 + 0.08 \text{ mmol/L Cd}(\text{NO}_3)_2$ 处理对水稻幼苗根系生长、CAT 活性、SOD 活性、活性氧产生、细胞死亡及生长素积累分布的影响。结果表明,3 种处理均促进了总根数的增加;3 种处理总根长度也增加,但三者之间差异不显著。 $\text{Zn} + \text{Cd}$ 处理的 CAT 活性、SOD 活性明显高于其他处理, H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的产生和细胞死亡明显少于单一 Cd 处理。 Zn 和 Cd 互作使生长素的积累和分布与单一 Cd 或 Zn 不同,由此可见,Zn 对 Cd 胁迫水稻根系生长的调节与其减少 ROS 产生并诱导生长素积累和分布的变化有密切关系。

关键词:锌;镉;活性氧;生长素;水稻根系

中图分类号: S511.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0049-03

锌是植物生长必需的微量元素,对植物的生长发育有重要作用。缺 Zn 导致植株生长缓慢或停止^[1],但过量的锌则抑制植物根系和地上部分的生长发育^[2]。锌诱导根系生长的变化与葡萄糖和蔗糖水平有关^[3-4]。镉胁迫影响植物根系的生长发育。中度镉胁迫引起植物生长重新定向^[5]。低浓度镉抑制杂交水稻幼苗地上部分的生长,但能促进根的伸长生长^[6]。宋新华等的研究也得到类似结果^[7]。镉影响生长素的分布^[8],镉胁迫下添加 1~10 nmol/L NAA 能在一定程度上改善镉胁迫水稻的生长^[9]。镉胁迫下合理施用锌肥能缓解镉对植物的毒害,改善植物的生长;过量的锌则加重镉毒害^[10-11]。有研究表明,锌通过诱导或激活抗氧化酶(如 SOD、POD、APX 和 CAT)维持细胞氧化还原状态平衡,从而减轻镉造成的氧化损伤^[12-13]。锌还能通过抑制 ROS 产生并减少镉的吸收,从而抵抗镉诱导的氧化损伤^[11]。但也有相反的研究结果,即镉和锌相互作用抑制抗氧化酶(如 SOD、POD 和 CAT)的活性,从而加重氧化伤害^[10]。笔者利用转 *GST* 和 *CAT1* 双抗氧化酶基因水稻进行研究,结果显示,锌镉互作条件下转基因水稻与非转基因水稻的生长差异与其抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统的变化有关^[14]。本试验旨在研究锌调节镉胁迫水稻幼苗根系生长的生理机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料 with 处理

以水稻品种中花 11 号为材料,挑选籽粒饱满的种子去壳后消毒:75% 乙醇(30 s)、0.1% 氯化汞(15 min)、2% 次氯酸钠(20 min),用无菌水冲洗 6 次以上。然后,将种子分别转入含 0.4 mmol/L $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (Zn 处理)、0.08 mmol/L

$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (Cd 处理)和 0.4 mmol/L $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 + 0.08 \text{ mmol/L Cd}(\text{NO}_3)_2$ (Cd + Zn 处理)的 MS 培养基上,置于培养箱内[白天 14 h 光照,光照强度 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,温度 26 $^{\circ}\text{C}$;夜间 10 h,温度 20 $^{\circ}\text{C}$ 。相对湿度为 50%~60%]培养 11 d。设空白对照(CK),每处理至少重复 3 次,每次 3 个重复,每个重复 50~60 株。

1.2 根系生长统计

初生根的长度:共统计 60 株(每个重复 20 株);初生根上侧根的数量:只统计 1 mm 以上的,共统计 60 株;初生根上侧根的长度:每株只测量 5 条最长的,共统计 60 株。

不定根的数量:只统计 1 cm 以上的,共统计 60 株;不定根的长度:每株只测量 5 条最长的,共统计 60 株;不定根上侧根的长度和数量:每株只测量或统计 5 条最长的不定根上的侧根,每条不定根上只测量 5 条最长的侧根,共统计 60 株,每条不定根上侧根的数量只统计 1 mm 以上的,共统计 60 株。

1.3 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的定性和定位测定

H_2O_2 (DAB 染色法)和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ (NBT 染色法)的定性和定位测定参照陈振华等的方法^[4]进行,每处理至少用 20 株。

1.4 抗氧化酶活性测定

CAT、SOD 的活性测定分别参照 Rao 等^[15]和 Zhao 等^[16]的方法,每处理至少用 20 株。

1.5 细胞完整性(细胞死亡)测定

细胞完整性(细胞死亡)(Evans Blue 染色法)定性测定参照 Zhao 等的方法^[17],每处理至少用 20 株。

1.6 生长素分布和积累的测定

利用转 *DR5-GUS* 基因水稻对生长素的分布和积累进行测定,参照 Petersson 等的方法^[18]。转基因水稻种子在 MS 培养基萌发生长 7 d 后转入 Hoagland 营养液,分别添加 0.4 mmol/L $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (Zn 处理)、0.08 mmol/L $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (Cd 处理)和 0.4 mmol/L $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 + 0.08 \text{ mmol/L Cd}(\text{NO}_3)_2$ (Cd + Zn 处理),在上述同样条件下处理 24 h,每处理至少用 20 株进行 GUS 活性检测。

1.7 数据处理

用 Excel 进行原始数据的处理,取 3 次重复试验的平均

收稿日期:2013-04-20

基金项目:国家自然科学基金(编号:30671126);山东省淄博市科技发展计划(编号:109036、111089)。

作者简介:高华健(1992—),男,山东日照人,本科生。

通信作者:赵风云,博士,教授,主要从事分子生物学研究。E-mail: zfy1226@126.com。

值。用单因子方差分析法分析每种处理与对照之间以及不同处理之间的差异, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 镉、锌及镉锌互作对水稻幼苗总根数量和长度的影响

图 1-A 显示, Cd、Zn 和 Cd + Zn 处理均诱导总根数增加, 其中 Cd + Zn 处理的增幅最大 ($P < 0.01$), 比单一 Cd 处理总根数增加了 78%, 主要是初生根的侧根数显著增多。与对照相比, Cd、Zn 和 Cd + Zn 处理都促进了根系的伸长生长 ($P < 0.05$), 但三者之间差异不显著 ($P > 0.05$) (图 1-B)。

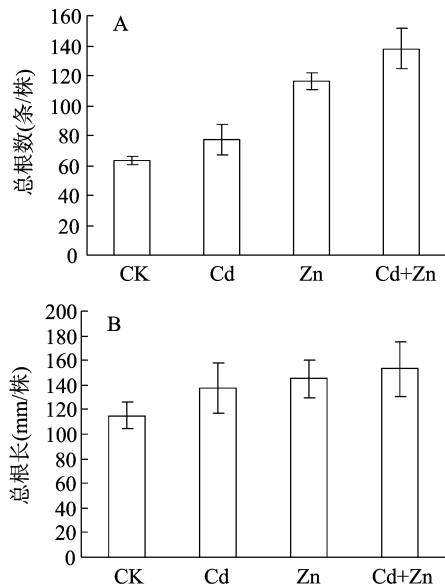


图1 Cd和Zn对水稻幼苗总根数(A)和总根长度(B)的影响

2.2 镉、锌及镉锌互作条件下水稻根系 CAT、SOD 活性变化

为进一步了解镉、锌及镉锌互作条件下根系生长的变化是否与抗氧化酶活性有关, 测定了根系中 CAT、SOD 的活性。结果显示, 在单一 Cd 处理条件下 CAT 活性低于对照 ($P < 0.05$); 单一 Zn 处理条件下 CAT 活性略高于对照, 但差异不显著 ($P > 0.05$); Cd + Zn 处理的 CAT 活性显著高于对照 ($P < 0.05$), 比单一 Cd 处理的增加了 61.9% (图 2-A)。单

一 Cd 或 Zn 处理时, SOD 活性与对照差异不显著 ($P < 0.05$), Cd + Zn 处理的 SOD 活性显著高于单一 Cd 或 Zn 处理 ($P < 0.05$) (图 2-B)。

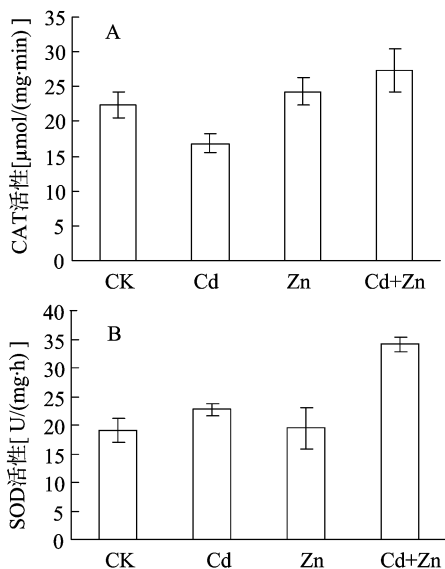


图2 Cd和Zn对水稻幼苗根系CAT(A)和SOD(B)活性的影响

2.3 镉、锌及镉锌互作对水稻根系 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 积累的影响

CAT 和 SOD 分别分解 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$, 本试验进一步定性测定了镉、锌及镉锌互作条件下 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 在初生根根尖中的积累。图 3-A 显示, 与对照相比, 单一 Cd 处理的 H_2O_2 明显增加, 单一 Zn 处理的 H_2O_2 略有增加, 而 Cd + Zn 处理产生的 H_2O_2 明显少于 Cd 处理。在这些处理中 H_2O_2 的变化趋势与其 CAT 活性的变化基本一致 (图 2-A)。与 H_2O_2 的产生类似, 单一 Cd 处理也使 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 在初生根根尖中的积累增加, Cd + Zn 处理中产生的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 明显少于 Cd 处理 (图 3-B), 这与其显著增加的 SOD 活性有密切关系。此外, 由图 3 可见, 本试验条件下 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的产生部位不同, 前者主要分布在成熟区, 而后者主要分布在分生区。 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 在根尖中的积累变化情况与初生根的类似 (数据略)。

2.4 镉、锌及镉锌互作对水稻根细胞完整性的影响

细胞完整性 (细胞死亡) 是检测氧化胁迫程度的重要指

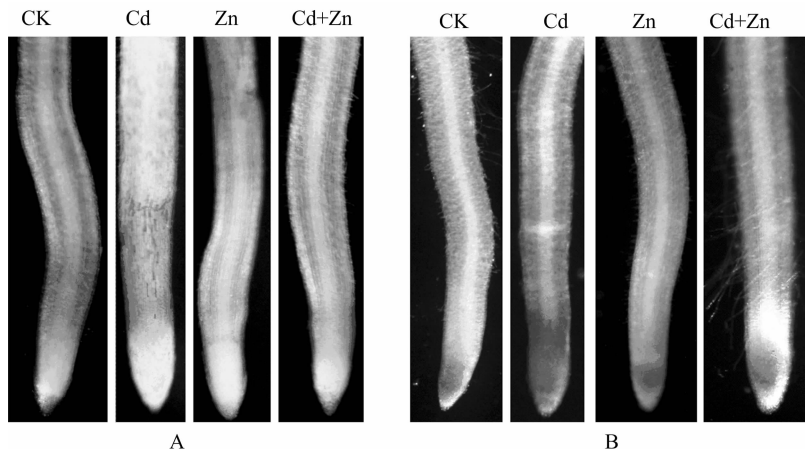


图3 Cd和Zn对水稻幼苗初生根根尖 H_2O_2 (A)和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ (B)积累的影响

标之一,它与活性氧的积累有密切关系。为进一步了解镉、锌及镉锌互作条件下 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot -}$ 的产生是否与细胞完整性有关,利用 Evans Blue 染色法定性测定了细胞完整性的变化。图 4 显示,单一 Cd 处理的染色明显比其他处理的深,说明其细胞受损程度最重,而 Cd + Zn 处理的染色明显比单一 Cd 的浅,说明 Cd 处理条件下添加 Zn 能减少细胞死亡。本试验条件下不同处理中细胞完整性的变化与其 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot -}$ 的积累有密切相关性。定量测定结果与定性结果一致(数据略)。

2.5 镉、锌及镉锌互作对水稻根系生长素积累和分布的影响

生长素是调节根系生长的重要信号分子之一,为了解 Zn 调节 Cd 胁迫水稻根系的生长是否与生长素有关,利用转 *DR5-GUS* 基因水稻对不同处理中根系生长素的分布和积累进行了测定(图 5)。不定根中 Cd + Zn 处理生长素的积累和分布与对照类似(图 5-A,图 5-C),Cd 处理的生长素积累和分布和 Zn 处理类似,二者都使生长素在根尖的积累减少。与对照比,Cd 诱导生长素在初生根伸长区和维管束内的积累

明显增加,Zn 处理使初生根分生区和伸长区生长素积累增加,而 Cd + Zn 处理使初生根根尖生长素减少(图 5-B)。

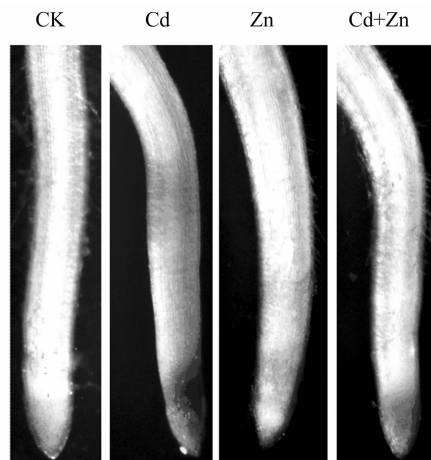


图4 Cd和Zn对水稻幼苗初生根根尖细胞完整性的影响

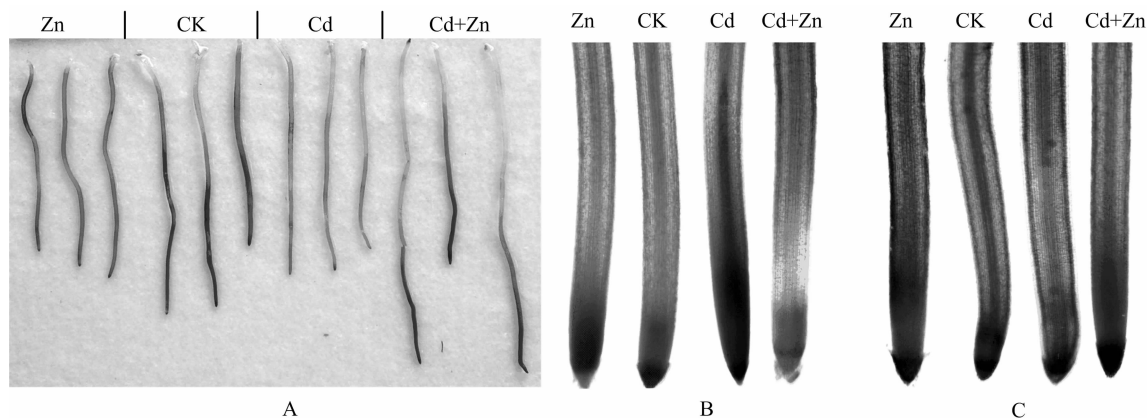


图5 Cd 和 Zn 对生长 7 d 幼苗处理 24 h 后整个不定根(A)、初生根根尖(B)和不定根根尖(C)生长素积累和分布的影响

3 讨论

本试验中尽管单一 Cd 处理的幼苗生长未受明显的抑制,甚至促进了根系的生长,但在内部生理上已经发生了明显的变化,即活性氧和细胞死亡增加。有研究表明,Zn 通过诱导 SOD、POD、APX 和 CAT 活性的增加维持细胞氧化还原状态平衡^[12-13]。Zn 还能通过抑制 ROS 产生并减少 Cd 的吸收而抵抗 Cd 诱导的氧化损伤^[11]。本研究得到类似结果。Zn 调节 Cd 胁迫水稻幼苗根系的生长与其减少 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 的产生有关,而 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 的减少可能是因为 Zn 诱导 Cd 胁迫水稻幼苗根系 SOD 活性和 CAT 活性增加。Cd 处理条件下添加 Zn 能减少细胞的死亡,这与 Zn 减少 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 的产生是一致的。生长素是调节根系生长的关键信号分子,它与 ROS 相互作用调节根系的生长。前期的研究表明, $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 对水稻根系生长素的积累和分布都有明显的调节作用^[8,19]。本试验条件下 Cd 影响生长素在根中的积累与分布,而 Zn 和 Cd 互作使生长素的积累和分布与单一 Cd 或 Zn 处理时不同,这种变化可能是 Zn 减少了 Cd 胁迫下 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 的产生的结果。此外,本试验中相同处理下生长素在初生根和不定根中的分布有一定差异,可能与其生长发育状态有关,因为不定根的生长较初生根滞后。综上所述,Zn 对 Cd

胁迫水稻根系生长的调节作用与其减少 ROS 的产生并诱导生长素积累和分布的变化有密切关系。

参考文献:

- [1] Song W Y, Choi K S, Kim D Y, et al. *Arabidopsis* PCR2 is a zinc exporter involved in both zinc extrusion and long-distance zinc transport[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(7): 2237-2252.
- [2] Madhava R K V, Sresty T V. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] in response to Zn and Ni stresses[J]. *Plant Science*, 2000, 157(1): 113-128.
- [3] 张承仁, 徐小利, 冯永永, 等. 蔗糖和锌对水稻根系生长的调节[J]. *农业科学与技术*, 2012, 13(1): 174-178.
- [4] 陈振华, 冯婷婷, 刘乐雨, 等. 葡萄糖在镉诱导水稻根系生长中的作用[J]. *农业科学与技术*, 2011, 12(9): 1334-1337, 1341.
- [5] Potters G, Pasternak T P, Guisez Y, et al. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble[J]. *Trends in Plant Sci*, 2007, 12(3): 98-105.
- [6] 石贵玉, 邓欢爱, 王金花. 镉对杂交水稻幼苗毒害效应的研究[J]. *广西师范大学学报:自然科学版*, 2005, 23(3): 74-77.
- [7] 宋新华, 王凯, 赵风云. ABA 对 Cd 胁迫水稻根系生长发育的调节研究[J]. *农业科学与技术*, 2010, 11(6): 15-17, 21.

周新伟,邱业先,沈明星,等. 茶多酚与尿素配合施用对水稻产量及土壤氮含量的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):52-54.

茶多酚与尿素配合施用对水稻产量及土壤氮含量的影响

周新伟¹, 邱业先², 沈明星¹, 朱兴连¹, 陆长婴¹, 王海候¹, 施林林¹, 陈凤生¹

(江苏太湖地区农业科学研究所/农业部苏州水稻土生态环境重点野外科学观测试验站,江苏苏州 215155;

2. 苏州科技学院,江苏苏州 215011)

摘要:研究了脲酶抑制剂茶多酚对水稻产量及氮肥农学利用率的影响。以水稻为供试作物,采用田间小区试验,研究了茶多酚与尿素配合施用,对水稻产量、氮肥农学利用率及土壤氮素含量的影响。茶多酚加入含尿素的土壤后可抑制尿素迅速水解的速度。相同茶多酚 3 750 g/hm² 与不同量尿素配合施用对水稻产量及氮肥农学利用率的影响不同,与不施茶多酚、施氮量 300.0 kg/hm² 的常规处理相比,施用茶多酚 3 750 g/hm² 后减施尿素氮 37.5%、25% 仍可提高水稻产量 7.46%、7.73%,茶多酚施用 3 750 g/hm² 配合施氮 225 kg/hm² 产量最高。茶多酚不同施用量与施用方法对水稻产量、氮肥农学利用率的影响不大,但茶多酚延迟于尿素 2 d 施用能促进穗数、千粒重、成穗率的提高。脲酶抑制剂茶多酚具有提高水稻氮肥农学利用率、节省化肥的作用,并与尿素施用量有关,低施氮量的效果优于高施氮量。

关键词:茶多酚;脲酶抑制剂;水稻;产量;氮

中图分类号:S511.06 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)12-0052-03

尿素是中国施用最多的一种氮肥,每年施用量占中国化学氮肥的 50% 以上。然而,尿素施入土壤后,经土壤脲酶的作用,易被水解,造成 NH₃ 的挥发,带来巨大的经济损失和环境污染。脲酶抑制剂通过延缓尿素的水解,延长施肥点处尿素

的扩散时间,降低了土壤溶液中 NH₄⁺ 和 NH₃ 的浓度,能够减少氨的挥发损失^[1]。目前脲酶抑制剂的种类已经有 100 多种,包括脲类、酰胺类、多元酸、多元酚、腐殖酸、甲醛等。应用较为广泛的是 N-正丁基硫代磷酰三胺(NBPT)和氢醌(HQ),NBPT 在碱性土壤、通气性较好的条件下对 NH₃ 的挥发损失抑制较好,HQ 不仅能够延缓尿素的水解,进而减少 NH₃ 的挥发,更重要的是影响了尿素水解产物的进一步转化^[2],由于 HQ 的价格比较昂贵,影响了其在农业生产上使用^[3-5]。重金属 Hg 和 Ag 的碘盐被证实也是比较有效的脲酶抑制剂,但由于重金属对农田会造成污染,因而不适宜在农业生产上使用。近年,邱业先等研究发现茶多酚具有较高的抑制稻田脲酶活性的作用^[6],并且茶多酚为天然植物产品,没有对环境的污染问题。

收稿日期:2013-05-14

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2010388);江苏省苏州市科技支撑计划社会发展项目(编号:SS201025)。

作者简介:周新伟(1971—),男,江苏苏州人,副研究员,主要从事农业资源与环境研究。Tel:(0512)65385097;E-mail:zxw0512@163.com。

通信作者:邱业先,博士,教授,主要从事蛋白质和酶研究。E-mail:qyx542@163.com。

[8] Zhao F Y, Han M M, Zhang S Y, et al. Hydrogen peroxide-mediated growth of the root system occurs via auxin signaling modification and variations in the expression of cell-cycle genes in rice seedlings exposed to cadmium stress[J]. Journal of Integrative Plant Biology 2012, 54(12): 991-1006.

[9] 韩明明,胡凡,王凯,等. 不同外源生长素对镉胁迫水稻根系生长的影响[J]. 农业科学与技术,2010,11(7):45-48.

[10] 艾伦弘,汪模辉,李鉴伦,等. 镉及镉锌交互作用的植物效应[J]. 广东微量元素科学,2005,12(12):6-11.

[11] Aravind P, Prasad M N V, Malec P, et al. Zinc protects *Ceratophyllum demersum* L. (free-floating hydrophyte) against reactive oxygen species induced by cadmium[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2009, 23(1): 50-60.

[12] Aravind P, Prasad M N V. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte[J]. Plant Physiol Biochem, 2003, 41: 391-397.

[13] Köleli N, Eker S, Cakmak I. Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil[J]. Environ Pollut, 2004, 131(3): 453-459.

[14] 胡凡,徐忠俊,韩明明,等. 转基因水稻抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统对镉锌互作的应答[J]. 种子,2010,29(8):6-10.

[15] Rao M V, Paliyath G, Ormrod D P, et al. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes[J]. Plant Physiol, 1997, 115(1): 137-149.

[16] Zhao F Y, Wang X Y, Zhao Y X, et al. Transferring the *Suaeda salsa* glutathione S-transferase and catalase genes enhances low temperature stress resistance in transgenic rice seedlings[J]. J Plant Physiol Mol Biol, 2006, 32(2): 231-238.

[17] Zhao F Y, Hu F, Zhang S Y, et al. MAPKs regulate root growth by influencing auxin signaling and cell cycle-related gene expression in cadmium-stressed rice[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2013, 20(8): 5449-5460.

[18] Petersson S V, Johansson A I, Kowalczyk M, et al. An auxin gradient and maximum in the *Arabidopsis* root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of IAA distribution and synthesis[J]. Plant Cell, 2009, 21(6): 1659-1668.

[19] 任静,冯婷婷,陈振华,等. 超氧阴离子对水稻根系生长和生长素分布的影响[J]. 农业科学与技术,2012,13(8):41-43,49.