

镧对酸雨胁迫下水稻种子可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响*

张一波 丁爽 陶丽华 周 青**

(工业生物技术教育部重点实验室, 江南大学环境与土木工程学院, 无锡, 214122)

摘 要 分别采用 pH 值为 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 和 5.0 的模拟酸雨和 La(浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理水稻种子, 测定不同酸雨胁迫下 La 对水稻种子可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响。结果表明, 当酸雨胁迫 7d 时, 随胁迫强度的增加 (pH 5.0—2.0), 可溶性蛋白含量逐渐降低, 而脯氨酸含量逐渐升高。La 可缓解 pH 5.0—3.0 胁迫的伤害; 但对 pH 2.5—2.0 无明显防御作用。pH 4.0 时, 解除酸雨胁迫 ($t=5\text{d}$ — 3d) 后可溶性蛋白含量即时提升 (第 6 天和第 4 天), La 处理亦可提高可溶性蛋白含量, 对脯氨酸含量均无明显影响。pH 2.5 处理过长时 ($t\geq 5\text{d}$), 对水稻种子造成不可逆伤害, 可溶性蛋白含量小于对照, 而脯氨酸含量大于对照, La 处理无明显效应; 当酸雨处理 3d 时, 可溶性蛋白与脯氨酸含量均显著大于对照, 经 La 处理后均有所提高, 表明 La 对酸雨胁迫下水稻种子萌发有一定防御作用。

关键词 镧, 酸雨, 可溶性蛋白, 脯氨酸。

稀土可提高植物防御酸雨、UV-B 辐射、重金属和过量臭氧等污染的胁迫伤害; 洪法水、方能虎等研究^[1-3]发现, 稀土可提高水稻种子呼吸速率和水解酶的活性。

本研究以 La ($1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 溶液浸种, 考察 La 对酸雨胁迫下水稻种子可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响, 从细胞总代谢水平和渗透调节的视角探讨 La 能否减轻度酸雨对水稻种子的胁迫伤害。

1 实验部分

1.1 模拟酸雨配制及种子预处理

首先配制 pH 1.0 的酸雨母液, 其中硫酸根和硝酸根的体积比为 4:7:1。将母液调制成 pH 2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 和 5.0 酸雨。

用 0.1% HgCl_2 溶液消毒水稻种子 (宁粳 1 号) 15 min, 自来水冲洗数次, 再用去离子水冲洗 3 次, 将水稻种子分为两组, 一组用 pH 6.5 的去离子水浸种, 另一组用 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 LaCl_3 溶液浸种, 浸种时间为 24h。

1.2 静态试验

取 30 粒大小一致、均匀饱满的水稻种子, 均匀排列在直径 12 cm、垫有 2 层滤纸的培养皿中, 以 pH 2.0—5.0 的酸雨进行胁迫处理, 标为 AR 组, 对照 (CK) 是与母液离子成分相同的中性溶液 (pH 6.5), 置常温下培养, 每个处理 3 皿, 每天更换溶液, 萌发 7d, 测定可溶性蛋白含量和脯氨酸含量。

1.3 动态试验

在静态试验的基础上, 选择高强度 (pH 2.5) 和中等强度 (pH 4.0) 的酸雨进行动态试验。第一组为酸雨连续胁迫 3d 后转正常培养 (水培) (表示为 3AR + 4W); 第二组为酸雨连续胁迫 5d 后转正常水培 (表示为 5AR + 2W); 第三组为酸雨连续胁迫 7d (表示为 7AR), CK 处理的动态试验同静态实验, 每个处理 3 皿, 每天测定至萌发期结束。

采用考马斯亮蓝法和磺基水杨酸法分别测定可溶性蛋白含量和脯氨酸含量。

2 结果与讨论

2.1 La 与酸雨胁迫强度对稻种萌发的影响

2008 年 6 月 16 日收稿。

* 江苏省教育厅“高等学校大学生实践创新训练 (20070730)”项目。 ** 通讯联系人, E-mail: zhouqec@ yahoo. com. cn

La增强了可溶性蛋白的合成, 为修复伤害提供了相应的物质与能量; 可提高植物代谢酶活并减少渗透胁迫. 图 1(A)表明, 随酸雨胁迫强度增强 (pH 5.0—3.0), 可溶性蛋白含量呈先升后降的变化, 酸雨单一处理组均高于对照组; 经 La处理的可溶性蛋白与酸雨单一处理组相比均有所增加. 表明种子受 pH 5.0—3.0酸雨胁迫时, 稻种应激反应启动, La可缓解 pH 5.0—3.0的酸雨伤害, 尤其是La处理对 pH 4.5—3.5的伤害有明显缓解作用. 在 pH 2.5—2.0酸雨胁迫下, 可溶性蛋白含量下降, 与对照组差异显著; 而对应 La处理组可溶性蛋白含量略有升高, 但仍低于对照组. 表明此时稻种应激反应不足以抵抗高强度酸雨伤害; 而 La对长时间 (7d) 高胁迫强度下的稻种亦无明显缓解作用.

脯氨酸积累在逆境胁迫初期可减轻其伤害, 后期是细胞凋亡的表现^[4]. 图 1(B)显示, 随酸雨强度的增强脯氨酸含量逐渐升高. 脯氨酸含量在 pH 5.0—3.5的酸雨下上升平缓, 而在 pH 3.0—2.0酸雨下急剧上升. 此时 La处理组脯氨酸含量与酸雨单一处理组相比均有所增加, 并于 pH 3.0时与对照达显著差异; 表明受 pH 5.0—3.0的酸雨胁迫时, 稻种应激反应启动, 通过增强脯氨酸合成减少渗透胁迫伤害; La可增加脯氨酸积累, 适度提高稻种缓解酸雨 (pH 5.0—3.0) 的伤害能力, 其中对 pH 3.0的酸雨伤害防御作用显著. 而 pH 2.5—2.0酸雨胁迫下, 脯氨酸急剧上升, 与对照差异显著; 对应 La处理组脯氨酸含量高于酸雨单一处理组, 并与对照差异显著.

酸雨胁迫时间一定时 (7d), 稻种可溶性蛋白含量因酸雨强度的增强 (pH 5.0—2.0) 呈先升后降的变化, 脯氨酸含量逐渐升高. 可溶性蛋白与脯氨酸含量间具有一定负相关特性^[5]. pH 4.5时酸雨使可溶性蛋白升至最大值, 这可能与较弱的酸雨有利于种皮吸水软化、酶活化, 以及植物蛋白负调控作用有关^[6]. 在 pH 4.5—3.0的酸雨胁迫下, 可溶性蛋白下降、脯氨酸含量升高, 但均高于对照. La处理组 2项指标与酸雨单一处理组相比均有所增加. 说明酸雨强度接近或超过稻种伤害阈值 (pH < 3.5) 时, 应激反应可减小酸雨胁迫伤害. La对 pH 5.0—3.0酸雨伤害有一定防御作用, 可能与 La提高植物体内酶活性等机制有关, 如 La促进谷氨酸-丙酮酸转氨酶和谷氨酸脱氢酶活性, 增强植物对氮吸收及氮代谢^[7], 因而有利于可溶性蛋白合成. 其中 La处理对 pH 3.0时的胁迫伤害有明显缓解作用, 暗示 La使稻种伤害阈值有可能从 pH 3.5—3.0提升至 pH 3.0—2.5之间. 随酸雨增强至 pH 2.5—2.0时, 可溶性蛋白含量下降并低于对照, 脯氨酸含量高于对照. 结合水稻种子萌发完全受抑的表象推测, 由于酸雨胁迫强度过高、胁迫时间过长引发种子胚细胞膜破裂、代谢酶降解、脯氨酸外渗增加. 此时La未能发挥其防御作用.

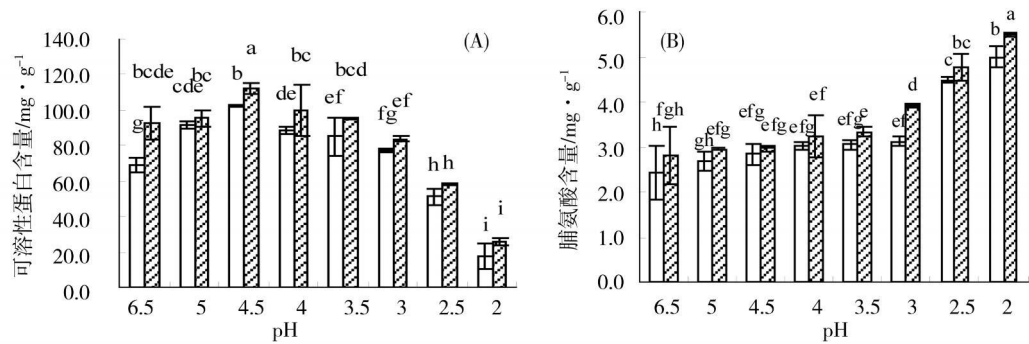


图 1 La与酸雨胁迫强度对水稻种子的影响

□ AR: 单一酸雨处理; ▨ La+ AR: 镧和酸雨复合处理. 不同字母为不同处理间的差异显著性 ($P < 0.05$), 下同.

Fig 1 Effects of La and the intensity of intimation on the germination of rice seeds

2.2 La对酸雨胁迫 7d时种子萌发的影响

图 2(A)说明, 当胁迫强度一定时, 各组可溶性蛋白含量随水稻种子萌发进程呈“先升后降再升”变化. 除第 6天外, pH 4.0的酸雨处理组可溶性蛋白含量均显著高于对照组; 经 La处理的可溶性蛋白与酸雨单一处理组相比均有所增加, 且于 $t \leq 3d$ 时两者差异显著, $t \geq 4d$ 时两者趋同. 表明 pH 4.0的酸雨下萌发初期应激反应即已启动, 以修复酸雨胁迫伤害; La对萌发初期的酸雨胁迫伤害有显著缓解作用, 但随胁迫时间延长, 这种缓解作用明显削弱. 与对照组相比, pH 2.5的酸雨下可溶性蛋白含量于 $t \leq 4d$ 与对照组相近, $t \geq 5d$ 时显著小于对照组; La+ 酸雨处理组的可溶性蛋白含量与

酸雨单一处理组相比均有所增加, 且两者在整个 7 天萌发过程中均差异显著. 表明当 pH2.5 的酸雨持续胁迫较短时 ($t \leq 4\text{d}$), 水稻种子应激反应尚能修复其胁迫伤害, La 的缓解作用显著; 但长时胁迫 ($t \geq 5\text{d}$) 下, 酸雨给水稻种子造成了不可逆伤害, La 的缓解作用也明显减弱.

图 2(B) 显示, 当胁迫强度一定时, 各组脯氨酸含量随胁迫时间的增加呈现“缓升-骤升-趋于平缓”的变化. pH4.0 酸雨处理组脯氨酸含量变化趋势与对照近同, 仅第 6 天显著低于对照; La 处理组脯氨酸含量比酸雨单一处理组略有提高, 且于第 5 天差异显著. 表明 pH4.0 酸雨对脯氨酸含量影响不明显; La 通过增加脯氨酸含量缓解酸雨伤害, 并于第 5 天时发挥修复作用. pH2.5 酸雨组脯氨酸含量在 $t \leq 3\text{d}$ 与对照差异不明显, 但于 $t \geq 4\text{d}$ 时急速提升, 与对照有显著差异; 与单一处理组比较, La 处理组脯氨酸含量于 $t \leq 4\text{d}$ 时略有上升, $t \geq 5\text{d}$ 时显著上升. 表明 pH2.5 的酸雨胁迫较短 ($t \leq 4\text{d}$) 时, 水稻种子应激反应增加脯氨酸含量, 修复其渗透胁迫伤害; 但长时胁迫下, 细胞膜发生破裂, 对细胞造成不可逆伤害. La 虽在 pH2.5 的酸雨短时胁迫时, 促使脯氨酸累积以抵抗酸雨的胁迫伤害, 但对酸雨长时胁迫无明显缓解作用.

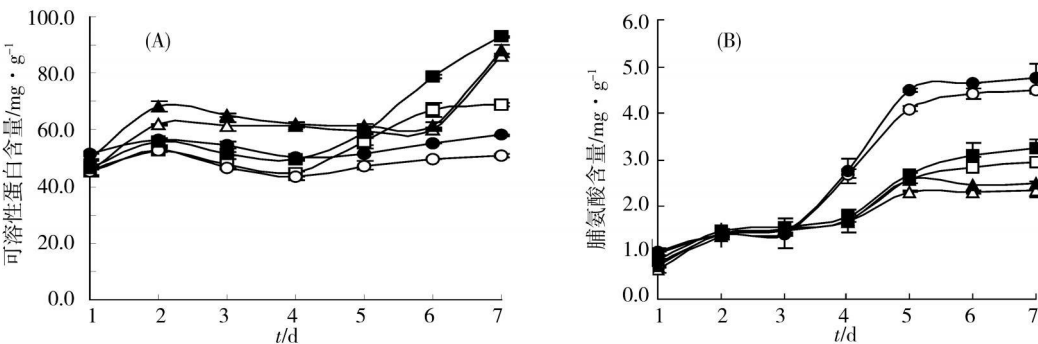


图 2 La 与酸雨胁迫 7d 对水稻种子萌发的动态影响
—□—CK —△—pH 4.0 —○—pH 2.5 —■—La —▲—La+4.0 —●—La+2.5 (下同)

Fig 2 Dynamic effects of La and 7 days' acid rain stress on the germination of rice seeds

2.3 La对酸雨胁迫 5d 时种子萌发的影响

图 3(A) 显示, 与胁迫 7d 对应组相比, pH4.0 酸雨组第 6 天 ($t = 5\text{d}$) 可溶性蛋白含量均有所增加, 其中第 6 天的可溶性蛋白含量接近对照组; La 介入使其可溶性蛋白含量有所增加. 表明 pH4.0 酸雨解除后, 稻种萌发进入自修复过程, 以消除酸雨伤害, La 对此过程有促进作用. pH2.5 酸雨组与胁迫时间 7d 对应组相比, 可溶性蛋白含量第 6 天仍低于对照, 而第 7d 略高于对照; La 介入使其可溶性蛋白含量略有增加. 表明 pH2.5 酸雨虽已解除, 但因胁迫时间过长, 不可逆伤害难以完全修复; 结合稻种发芽率、异状发芽率等指标分析, La 介入也未能防御 pH2.5 酸雨的不可逆伤害.

图 3(B) 表明, 与胁迫 7d 对应组相比, pH4.0 酸雨组第 6 天 ($t = 5\text{d}$) 脯氨酸含量有所增大, 但第 7 天时含量仍低于对照, 表明脯氨酸累积可参与清除渗透胁迫自由基反应, 清除自由基危害, 防止渗透胁迫对植物的伤害^[8-9]; La 介入使 pH4.0 酸雨组脯氨酸含量有所增加, La 对此酸雨胁迫解除后脯氨酸恢复有促进作用. pH2.5 酸雨组脯氨酸第 7 天时接近对照, 但第 6 天仍显著高于对照; La 介入使脯氨酸含量也大于 pH2.5 酸雨组. 表明因 pH2.5 酸雨胁迫时间过长, La 无法逆转酸雨对稻种的伤害.

2.4 La对酸雨胁迫 3d 时种子萌发影响

图 4(A) 显示, 与对照相比, pH4.0 酸雨组自第 4 天 ($t = 3\text{d}$) 可溶性蛋白含量升至最大值, 此时应激反应已经启动, 清除酸雨造成的伤害, 而后变化趋势则与 $t = 7\text{d}$ 对应组近同; La 介入使其可溶性蛋白含量有所增加. 表明 pH4.0 酸雨解除后, 可溶性蛋白快速增加, 有利于稻种消除酸雨伤害, La 促进此修复过程. pH2.5 组第 4—5 天显著高于对照, 与胁迫 7d 对应组相近; La 介入使其可溶性蛋白含量增幅增大, 结合种子萌发指标^[10] 可知, 由于尽早解除了高强度酸雨胁迫, 稻种在一定程度上修复了过强酸雨的胁迫伤害, La 同样对强酸雨胁迫伤害有一定防御作用.

图 4(B)指出, 与对照相比, pH 4.0 酸雨组自第 4 天 ($t=3\text{d}$) 脯氨酸即时增大, 其后较 $t=7\text{d}$ 对应组更趋近对照, 但总体与对照差异不明显; La 介入使其脯氨酸含量均有所增加, 除第 4 天作用显著外, 总体作用不明显. 表明萌发早期解除 pH 4.0 酸雨胁迫对稻种脯氨酸的影响不大, La 防御作用也不显著. pH 2.5 组脯氨酸含量自第 4 天始总体显著高于对照; La 处理组脯氨酸含量显著高于 pH 2.5 对照单一组. 结合种子萌发指标^[10]可知, 高强度酸雨在萌发第 4 天及时解除后, 稻种自修复作用一定程度上缓解了强酸雨的伤害, 且 La 也表现了一定的防御效应.

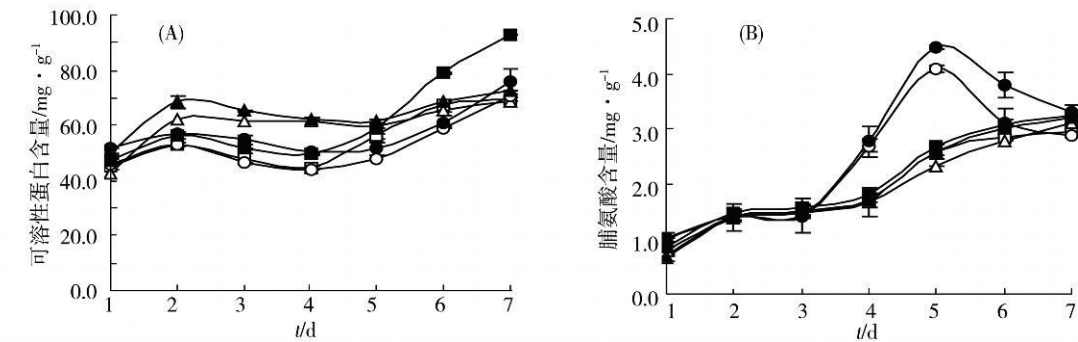


图 3 La 与酸雨胁迫 5d 对水稻种子萌发的动态影响
Fig 3 Dynamic effects of La and 5 days' acid rain stress on the germination of rice seeds

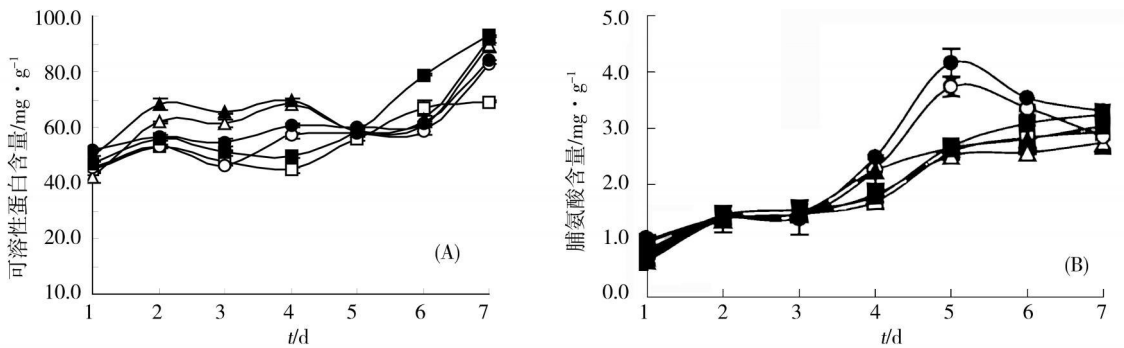


图 4 La 与酸雨胁迫 3d 对水稻种子萌发的动态影响
Fig 4 Dynamic effects of La and 3 days' acid rain stress on the germination of rice seeds

3 结论

- (1) 当酸雨胁迫时, 随胁迫强度的增加 (pH 5.0—2.0), 可溶性蛋白含量逐渐降低, 脯氨酸含量逐渐升高. La 可缓解 pH 5.0—3.0 酸雨胁迫伤害, 但对 pH 2.5—2.0 的酸雨胁迫无明显作用.
- (2) pH 4.0 时, 解除酸雨胁迫 ($t=5\text{d}$ $t=3\text{d}$) 后, 可溶性蛋白含量即时提升 (第 6 天, 第 4 天), La 处理亦可提高可溶性蛋白含量, 对脯氨酸含量无显著影响.
- (3) pH 2.5 时, 胁迫时间过长时 ($t\geq 5\text{d}$), 对水稻种子造成不可逆伤害, 可溶性蛋白含量小于对照, 脯氨酸含量大于对照, La 处理对水稻种子无明显防御效应.
- (4) 当解除 pH 2.5 $t=3\text{d}$ 的酸雨胁迫后, 可溶性蛋白与脯氨酸含量均显著大于对照, 经 La 处理后 2 项指标均有所提高, 表明 La 对此酸雨胁迫下水稻种子萌发有一定防御作用.

参 考 文 献

[1] 洪法水, 方能虎, 顾月华等, 硝酸钾对水稻种子活力和萌发期间酶活性的影响 [J] . 稀土, 1999, 20 (3) : 45—47
[2] 方能虎, 洪法水, 赵贵文, 稀土元素对水稻种子萌发初期呼吸速率动态变化的影响及其定位初探 [J] . 稀土, 2000, 21 (5) : 41—43
[3] 方能虎, 洪法水, 赵贵文, 稀土元素对水稻种子萌发初期的酶活性和内源激素含量的动态影响 [J] . 稀土, 2001, 22 (1) :
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

31—34

[4] 李惠芬, 高玉葆, 张强等, 不同种群羊草幼苗对土壤干旱胁迫的生理生态响应 [J] . 南开大学学报, 2004, 37 (4) : 105—110

[5] 杜长霞, 李娟, 郭世荣等, 外源亚精胺对盐胁迫下黄瓜 幼苗生长和可溶性蛋白表达的影响 [J] . 西北植物学报, 2007, 27 (6) : 1179—1184

[6] 尹锐, 柴友荣, 植物蛋白负调控因子 [J] . 植物生理学通讯, 2008, 44 (1) : 159—168

[7] 吴兆明, 王全球, 高小霞等, 镧、铈对谷丙转氨酶和谷氨酸脱氢酶活性的影响 [J] . 植物学通报, 1997, 14 (增刊) : 64—67

[8] Blum A, Ebercon A, Genotypic Responses in Sorghum to Drought Stress. III. Free Proline Accumulation and Drought Resistance [J] . *Crop Science*, 1976, 16 : 428—431

[9] Ahmad I, Hellebust J A, The Relationship between Inorganic Nitrogen Metabolism and Proline Accumulation in Osmoregulatory Responses of Two Euryhaline Microalgae [J] . *Plant Physiol* , 1988, 88 (2) : 348—354

[10] 曾庆玲, 黄晓华, 周青, 酸雨对水稻、小麦和油菜种子萌发的影响 [J] . 环境科学, 2005, 26 (1) : 181—184

EFFECTS OF La ON SOLUBLE PROTEIN CONTENT AND PROLINE CONTENT UNDER ACID RAIN STRESS

ZHANG Yi-bo DING Shuang TAO Li-hua ZHOU Qing

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

ABSTRACT

The effect of lanthanum on the germination of rice seeds was studied under simulated acid rain solutions of pH 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 and one control (pH = 6.5). Rice seeds pretreated by Lanthanum ($1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) were placed in culture dishes and kept in normal temperature. The content of soluble protein and proline were investigated under different acid rain stress. The result showed that the content of soluble protein decreased gradually while the content of increased gradually with the increase of the acid rain stress, when time of the imitination was same. Lanthanum could alleviate the harm of the acid rain when the rice seeds was under the condition of pH 5.0 to pH 3.0 but when pH values of the acid rain was from 2.5 to 2.0, lanthanum did not have an obvious function of resistance. When pH value of the acid rain was 4.0 the content of soluble protein increased instantly when the acid rain stress was released on the third day and the fifth day, however, they did not have effect on the content of proline. When pH value of the acid rain was 2.5, the acid rain did irreversible harm to the rice seeds because of the long time of imitination (over 5d); the content of soluble protein was lower than that of the control group (pH 6.5) while the content of proline was higher than that of the control group, which showed that rice seeds pretreated by lanthanum did not have an obvious effect of resistance, but when the acid rain stress was released on the third day, the content of soluble protein and proline is much higher than those of the control group, and these two index also increased when rice seeds were pretreated by lanthanum, which showed that lanthanum had an obvious effect of resistance under this condition.

Keywords lanthanum, acid rain, rice seed, soluble protein, proline