

镧对酸雨胁迫下水稻萌发种子 CAT 的影响

邱 琳^{1 3} 周 青^{1 2*}

(1 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡, 214122 2 江南大学环境与土木工程学院环境科学教研室, 无锡, 214122
3 浙江省环境科学保护设计研究院生态工程中心, 杭州, 310007)

摘 要 以水稻 (宁粳 1 号) 为试材, 以萌发种子过氧化氢酶 (CAT) 活性、丙二醛 (MDA) 和 H₂O₂ 含量为测定指标, 研究镧对水稻种子受酸雨胁迫的缓解作用. 研究表明, 1 mg · L⁻¹ 的 LaCl₃ 溶液浸种处理后, 水稻种子受酸雨伤害作用有所缓解, 种子 MDA 含量和 H₂O₂ 含量 La (III) 组低于 CK, CAT 活性 La (III) > CK, 表明 La (III) 提高了 CAT 活性, 加强了清除活性氧自由基的能力, 使 MDA 含量和 H₂O₂ 含量降低; 同时, MDA 含量和 H₂O₂ 含量 pH 2.5 > La (III) + pH 2.5 > pH 4.0 > La (III) + pH 4.0 > CK, 表明酸雨胁迫使种子内部活性氧积累增加, 过氧化程度加重. La (III) 处理有效缓解了其过氧化程度和活性氧的积累, 且 CAT 活性 La (III) + pH 4.0 > pH 4.0 > La (III) + pH 2.5 > pH 2.5. 表明酸雨胁迫使 CAT 活性应激升高, 但高强度酸雨因其强度过大, 使得酶活性下降或部分失活, La (III) 处理后缓解酶活的下降, 提高酸雨胁迫下 CAT 活性, 从而提高对 H₂O₂ 的代谢能力, 最终减轻种子膜脂过氧化程度, 缓解酸雨对种子伤害.

关键词 La (III), 酸雨, 胁迫, 水稻种子, CAT.

大量研究显示^[1-4], 酸雨能够明显抑制木本与草本 (含作物) 植物种子萌发, 且机理复杂. 在酸雨抑制种子萌发的诸多途径中, 酸雨降低植物细胞内保护酶 (如过氧化氢酶等) 活性, 导致自由基积累, 过量自由基攻击细胞质膜中不饱和脂肪酸, 引发膜脂过氧化损伤, 细胞质膜破损及膜上物质与能量代谢异常, 是其抑制植物种子萌发和幼苗生长的重要原因之一^[5-6].

在前期工作中, 本研究室已发现稀土镧 [La (III)] 具有提高水稻种子萌发及过氧化物酶活性等效应, 并得出最适水稻种子萌发的 La 处理剂量. 酸雨胁迫能诱发种子细胞活性氧代谢失衡、膜脂质过氧化加剧, 使植物生物量降低, 萌发受抑^[4-7].

本文考察了水稻种子过氧化氢酶 (CAT) 对酸雨胁迫伤害的应激响应及 La (III) 对抗氧化酶的调控作用, 寻求 La (III) 减轻酸雨伤害的环境生物学效应, 为进一步诠释稀土增强水稻抗御酸雨能力的内在原因提供一定的参考.

1 实验部分

1.1 模拟酸雨配制

模拟酸雨 (以下简称酸雨) 配制参照文献 [6], 先配制 pH 1.0 的酸雨母液, 其中硫酸根和硝酸根体积比为 4.7:1. 以蒸馏水将母液调制成 pH 2.5 和 4.0 的模拟酸雨, 并经 HHS-29A 酸度计校准.

1.2 实验方法

用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒均匀饱满的水稻 (宁粳 1 号) 种子 10 min, 去离子水清洗. 将种子均匀排列在直径 12 cm、垫有 2 层滤纸的培养皿中, 每皿 50 粒. 酸雨胁迫实验设置 2 个酸雨强度和 1 个对照处理 (CK, pH 7.0), 种子处理方法同前; 稀土处理实验采用前期实验得出的最适处理剂量 1 mg · L⁻¹ LaCl₃ 溶液浸种, 处理时间为 24 h, 再进行酸雨胁迫处理, 28 ± 1℃ 恒温培养箱培养, 每 1 d 更换相应强度的酸液, 萌发 1 周 (7 d) 结束, 测定相关指标. 动态影响指标测定为酸雨胁迫 1 d 起, 每天取样, 测定 CAT 活性、H₂O₂ 含量、丙二醛 (MDA) 含量.

2008 年 6 月 14 日收稿.
* 通讯联系人, E-mail: zhouqiong@yahoo.com.cn
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果与讨论

2.1 La(III)对酸雨胁迫下水稻种子 H₂O₂含量、MDA 含量和 CAT 活性的即时影响

H₂O₂等活性氧分子在植物体中可作为伤害信号分子，引起植物对逆境胁迫产生响应。当植物受到逆境胁迫时，其内源 H₂O₂含量会迅速升高^[8-9]。表 1 可见，酸雨胁迫下，随着胁迫强度的增加，H₂O₂含量不断上升，即 CK (0.21μmol·g⁻¹) < pH4.0 (0.29μmol·g⁻¹) < pH2.5 (0.56μmol·g⁻¹)，经过 La(III)处理后，H₂O₂含量明显降低。La(III)，La(III) + pH4.0 和 La(III) + pH2.5 处理的 H₂O₂含量分别较相应的酸雨处理降低 4.07%，23.68% 和 68.98%。

MDA 含量是作为膜脂氧化的主要指标，其对植物的生长发育和细胞分裂有明显的毒害作用^[10]。表 1 数据显示，MDA 含量随着酸雨胁迫强度的增加而逐渐上升，CK (4.79mmol·l⁻¹·g⁻¹) < pH4.0 (5.20mmol·l⁻¹·g⁻¹) < pH2.5 (6.91mmol·l⁻¹·g⁻¹)，pH4.0 和 pH2.5 分别较 CK 上升 8.61% 和 44.28%，均达到差异显著。经过 La(III)处理后，MDA 含量显著降低，La(III) (4.06mmol·l⁻¹·g⁻¹) < La(III) + pH4.0 (4.66mmol·l⁻¹·g⁻¹) < CK (4.79mmol·l⁻¹·g⁻¹) < pH4.0 (5.20mmol·l⁻¹·g⁻¹) < La(III) + pH2.5 (5.73mmol·l⁻¹·g⁻¹) < pH2.5 (6.91mmol·l⁻¹·g⁻¹)。La(III) + pH4.0 处理效果显著，相比 pH4.0 处理降低 0.54mmol·l⁻¹·g⁻¹，且低于 CK 2.57%。La + pH2.5 处理仍高于 CK，但与 pH2.5 处理相比，MDA 含量降低了 1.18mmol·l⁻¹·g⁻¹，达到差异显著。

CAT 是植物体内重要的抗氧化酶之一，具有代谢活性氧 H₂O₂的功能，可防止细胞内过量活性氧对生物大分子与质膜的破坏。表 1 数据显示，酸雨全程胁迫时，CAT 活性随胁迫强度的上升先升后降，pH4.0 时应激升高，增幅为 66.58%，pH2.5 时显著下降，降至低于 CK，降幅为 18.08%，表明高强度酸雨长时间胁迫时，水稻种子体内酶活受到抑制。经过 La(III)处理后，各个处理时 CAT 活性均高于相应酸雨处理，表明 La(III)能够提高种子抗氧化酶的活性，且缓和酸雨胁迫伤害导致的 CAT 变化幅度。pH2.5 时，La(III)预处理后 CAT 活性较 pH2.5 酸雨处理时显著上升，表明 La(III)处理减缓了高强度酸雨导致的 CAT 活性骤降，维持酶活性，保证其有效清除体内自由基的作用。

表 1 La 对酸雨胁迫下水稻种子 H₂O₂ 含量、MDA 含量及 CAT 活性的影响

Table 1 Effect of lanthanum on H₂O₂ content, MDA content and CAT activities of rice seeds under acid rain stress

处理	H ₂ O ₂ 含量 /μmol·g ⁻¹	MDA 含量 /mmol·l ⁻¹ ·g ⁻¹	CAT /mg·g ⁻¹
CK	0.21±0.01c (100.0)	4.79±0.15d (100.0)	210.46±1.79d (100.0)
La(III)	0.19±0.01c (95.93)	4.06±0.92e (84.76)	242.89±1.38c (115.41)
pH4.0	0.29±0.03bc (118.92)	5.20±1.92c (108.61)	350.59±8.22b (166.58)
La(III) + pH4.0	0.19±0.01c (95.24)	4.66±1.15d (97.43)	378.46±7.03a (179.81)
pH2.5	0.56±0.04a (224.33)	6.91±0.00a (144.28)	172.42±3.81e (81.92)
La(III) + pH2.5	0.37±0.03b (155.35)	5.73±0.00b (119.76)	260.29±13.12c (123.61)

注：表中数据均为平均数，括号内为相对值。同行中不同字母表示不同处理间差异显著 (P < 0.05)；下同。

2.2 La(III)对酸雨胁迫下水稻种子 H₂O₂ 含量的动态影响

研究认为，酸雨胁迫能够改变植物体内活性氧代谢系统平衡^[11-12]，破坏和降低 CAT 等抗氧化酶活性，导致种子细胞内活性氧 (ROS)代谢平衡失调，ROS 大量积累，细胞膜脂质过氧化产生有害物质 MDA 产生并积累，触发质膜中不饱和脂肪酸的自由基链式自降解反应^[4]，引起膜的过氧化和蛋白质破坏。

图 1(a)显示的是 6 种处理水稻种子 H₂O₂ 含量的动态变化趋势。La(III)组 H₂O₂ 含量在整个胁迫阶段始终低于 CK，表明 La(III)能提高种子抗氧化系统清除活性氧自由基的能力，使 H₂O₂ 含量降低。pH4.0 和 La(III) + pH4.0 组 H₂O₂ 含量均呈现先升后降态势，在胁迫第 4 天达到最大值。La(III) + pH4.0 组曲线始终在 pH4.0 组下方，且在第 4 天后降幅大于后者，在胁迫末期 (6—7d) 降至 CK 水平。pH2.5 和 La(III) + pH2.5 组 H₂O₂ 含量从胁迫第 4 天开始不断上升。La(III) + pH2.5 组 H₂O₂ 含量始终

低于 pH2.5 组, 且上升幅度 La(III) + pH2.5 < pH2.5. 表明 La(III)处理后, 水稻种子体内 H₂O₂含量得到有效的降低.

2.3 La(III)对酸雨胁迫下水稻种子 MDA 含量的动态影响

图 1(b)显示酸雨胁迫下水稻种子 MDA 含量的动态变化. La(III)组 MDA 含量变化趋势与 H₂O₂含量相近, 在整个胁迫阶段始终低于 CK. 酸雨组和 La(III) + 酸雨组 MDA 含量均呈现先升后降态势, 比较可得, pH2.5 组的伤害效应大于 pH4.0 组, La(III) + 酸雨组的曲线走势同酸雨组, 但曲线的位置均低于酸雨组, 且 La(III) + pH2.5 > La(III) + pH4.0. 表明在整个胁迫时段 La(III)均可降低活性氧等对细胞膜系统中不饱和脂肪酸的攻击, 抑制膜系统自氧化链式反应发生.

2.4 La(III)对酸雨胁迫下水稻种子 CAT 活性的动态影响

CAT 具有催化 H₂O₂ 分解, 遏制 Haber-Weiss 反应产生 ·OH 的作用. 图 1(c)显示, La(III)组 CAT 活性 > CK, 这与 La(III)对 CAT 有促进作用有关. 酸雨组和 La(III) + 酸雨组 CAT 变化规律相近, 胁迫前期 (1—5d) 变化缓慢, 胁迫后期 (6—7d) 上升, 其中前者增幅小于后者, 且 pH2.5 增幅 < pH4.0. La(III) + pH2.5 < La(III) + pH4.0. 酸雨组于胁迫期间 CAT 应激反应启动, 随胁迫时间延长内部 H₂O₂ 含量增加. 适量 La(III)处理后, 种子或种芽中抗氧化酶 CAT 等提高, 清除活性氧自由基的能力增强, 使种子内 H₂O₂ 含量得到有效降低, 有效维持活性氧代谢系统平衡, 细胞膜脂过氧化伤害得到缓解, MDA 含量下降. 同时, 适量 La(III)处理还能改善种子细胞大分子物质代谢, 种子呼吸强度和生理代谢活动得到改善, 使种子、种芽萌发所需能量和养分供给趋于正常^[8]. La(III)可以有效调控 CAT 等抗氧化酶, 这与 La(III)³⁺ 有较强配位能力, 易与细胞内生物大分子和内膜系统的相关靶位相络合有关^[12]. 由此造成酸雨胁迫下, 种子细胞内 ROS 积累减少, 细胞膜脂过氧化伤害减轻, MDA 含量下降, 萌发生理得到改善, 萌发抑制作用缓解, 植物对酸雨胁迫的抗性增强. La + pH2.5 < La(III) + pH4.0 是由于 pH2.5 酸雨时强度过大, H⁺ 大量输入种子细胞, 胞内 pH 值下降, 由此引起酶活性降低.

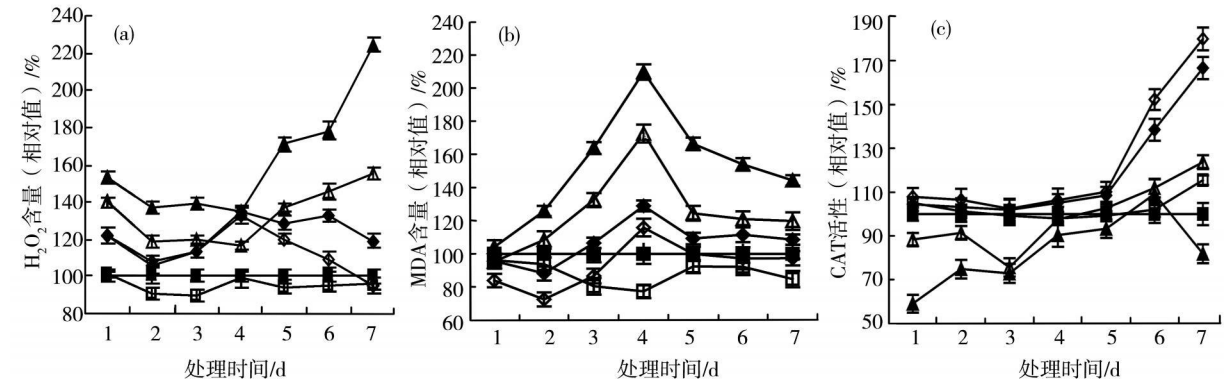


图 1 La(III)对酸雨胁迫下水稻种子 H₂O₂ 含量 (a)、MDA 含量 (b) 和 CAT 活性 (c) 的影响
■ CK ◆ pH4.0 ▲ pH2.5 □ La(III) ◇ pH4.0 + La(III) △ pH2.5 + La(III)

Fig. 1 Effect of lanthanum on H₂O₂ content, MDA content and CAT activity of rice seeds under acid rain stress

3 结论

适量 La(III)溶液浸种 24 h 能缓解酸雨胁迫对水稻种子萌发的抑制作用; La(III)减轻酸雨抑制水稻种子萌发的机理与 La(III)淬灭 ROS、调节 CAT 活性, 减少 H₂O₂ 积累, 减轻 ROS 诱发的膜脂过氧化伤害相关.

参 考 文 献

[1] 谭洁艳, 吴天龙, 关于酸雨的新理解 [J]. 环境科学动态, 2002, (3) : 13—14
[2] LiW, Gao JX. Acid Deposition and Integrated Zoning Control in China [J]. Environmental Management, 2002, 30 (2) : 169—

- [3] 马尚耀, 严福忠, 成慧娟, 高粱的研究现状与展望 [J] . 内蒙古农业科技, 2002 (6) : 8—9
- [4] 黄晓华, 陆天虹, 周青, 酸雨伤害植物机理与稀土调控研究 [J] . 中国生态农业学报, 2004 12: 116—118
- [5] Lee J S, Lee Y S, Choi M J et al, Effects of Simulated Acid Rain on Seed Germination and Growth of China aster [J] . *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, 1996 37 (3) : 455—461
- [6] 周青, 曾庆玲, 黄晓华等, 三类抗性种子萌发对酸雨胁迫响应 [J] . 生态学报, 2004 24 (9) : 2029—2036
- [7] 闫生荣, 周青, 张显等, 镧对 UV-B 胁迫下大豆幼苗膜脂过氧化影响: I 对 CAT 和 POD 的影响 [J] . 农业环境科学学报, 2006 25 (4) : 841—845
- [8] N, S. Smimoff Antioxidant Systems and Plant Response to the Environment [M] . In Environment and Plant Metabolism, BDS Scientific Publishers Oxford UK, 1995, 217—243
- [9] 刘家忠, 龚明, 植物抗氧化系统研究进展 [J] . 云南师范大学学报, 1999 19 (6) : 1—11
- [10] 史萍, 曾福礼, 邓汝温, 镧对黄瓜幼苗叶片细胞透性及膜脂的影响 [J] . 中国稀土学报, 2004, 22 (2) : 271—274
- [11] 严重玲, 洪业汤, 王世杰等, 稀土元素对酸雨胁迫小麦活性氧清除系统响应的作用 [J] . 作物学报, 1999, 25 (4) : 504—507
- [12] Huang X H, Zhou Q, Zhang G S, Advances on Rare Earth Application in Pollution Ecology [J] . *Journal of Rare Earths*, 2005 23 (1) : 5—11

CATALASE EFFECTS OF LANTHANUM ON RICE SEED UNDER ACID RAIN STRESS

QIU Lin^{1 3} ZHOU Qing^{1 2}

(1 The Key Laboratory of Industrial Biotechnology Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

2 Laboratory of Environmental Science, School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

3 Environmental Science Research & Design Institute of Zhejiang Province, Hangzhou, 310007, China)

ABSTRACT

Rice of “Ningjing No. 1” was used as the experimental material and the protective effects of lanthanum on catalase (CAT) activities, the malondialdehyde (MDA) and the H₂O₂ content of rice seed under acid rain stress were investigated. The results showed that parts of CAT activities decrease MDA and H₂O₂ content of rice seeds were strengthened after soaked with 1 mg • L⁻¹ LaCl₃ solution compared with control (CK). Under the acid rain stress, the amplitude of the change in the content of MDA and H₂O₂ was that pH 2.5 > La+ pH 2.5 > pH 4.0 > La+ pH 4.0 > CK, and the change in the activity of CAT was that La+ pH 4.0 > pH 4.0 > La+ pH 2.5 > pH 2.5. It showed that the ability of removing the excessive free-radicals was strengthened after soaked with LaCl₃ solution, while the MDA and H₂O₂ content were decreased. Under acid rain of pH 2.5, CAT activity was inhibited. However, La (III) can effectively adjust the stability of CAT and eliminate ROS so that it alleviated the harm to seeds by acid rain stress. The regulative effect of La (III) on antioxidant enzymes such as CAT could strengthen their capacities to scavenge reactive oxygen species, improve the metabolism of ROS and decrease H₂O₂ contents. At the same time, it improved the proportion of membrane lipid fatty acids, decrease MDA contents. Consequently, membrane lipid peroxidation was abated.

Keywords lanthanum, acid rain, stress, rice seeds, CAT.