

## 过氧化氢对镉胁迫下水稻种子萌发的缓解效应

杨波<sup>1</sup>, 何俊瑜<sup>2,\*</sup>, 任艳芳<sup>2,\*</sup>, 王艳玲<sup>1</sup>, 田丹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>贵州大学农学院, 贵阳550025

<sup>2</sup>常州大学环境与安全工程学院, 江苏常州213164

**摘要:** 为了探讨外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对镉胁迫下水稻种子萌发受抑的缓解作用, 以水稻品种‘中优169’为材料, 通过培养皿滤纸发芽法, 研究不同浓度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对200 μmol·L<sup>-1</sup>镉胁迫下水稻种子萌发、幼苗生长及相关生理指标的影响。结果表明, 在200 μmol·L<sup>-1</sup>镉胁迫下, 水稻种子的萌发和幼苗生长表现出明显的抑制现象, 发芽势、发芽指数、活力指数及幼苗的根长、芽长和可溶性蛋白含量均显著降低, MDA含量显著增加, POD活性上升, SOD、APX及CAT的活性显著受到抑制。较低浓度(≤10 μmol·L<sup>-1</sup>) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理能不同程度地增加幼苗的根长、芽长、根鲜重和芽鲜重, 提高镉胁迫下水稻种子的发芽指数和活力指数, 增强SOD、POD和APX活性并降低MDA含量, 从而缓解镉的毒害效应。其中5 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浸种处理对镉胁迫下水稻种子萌发和幼苗生长的缓解作用最好。高H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度对镉胁迫的缓解作用逐渐减弱, 当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度达到50 μmol·L<sup>-1</sup>时, 会加重镉胁迫的毒性。表明适宜浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以提高水稻幼苗抗氧化能力, 缓解镉胁迫伤害。

**关键词:** 水稻; 镉; 过氧化氢; 种子萌发; 生理特性

镉(Cd)是植物生长发育的非必需元素, 不参与水稻的新陈代谢活动, 但它容易被水稻所吸收, 通过转运和积累的过程在水稻体内富集, 对水稻的生长发育、生理代谢产生影响, 当Cd在水稻体内富集, 并达到水稻自身无法承受的程度时, 就会导致水稻的生理代谢失调, 从而对水稻整个生长过程形成威胁, 最终致使水稻的产量降低, 严重的会导致绝收(时萌等2016; Dalcorsio等2008)。目前, 有关Cd在水稻体内的迁移、分布规律和存在形态, 及其对水稻的伤害阈值及毒害机理等方面研究较多(曾翔等2007; 时萌等2016)。

过氧化氢(hydrogen peroxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)是一种结构简单、易于扩散的小分子, 是植物体中生理代谢后的副产物。同时, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>也是植物体内重要的信号分子, 参与调节众多细胞应答过程, 包括生长发育、向地性生长、胁迫应答、激素信号等(蔡凤香等2016)。已有研究表明, 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>预处理能减轻铝对大豆幼苗的毒害作用(宋洪明等2014), 增强敏感型黑豆的抗铝能力(王琳等2013)。外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>也能有效缓解大麦幼苗的盐胁迫(Fedina等2009)。同时, 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>还能够激发植物体内的酶系统, 提高植物的呼吸速率, 增加植物体内的糖代谢, 缓解或阻止低温诱导的氧化损伤, 从而提高植物的抗寒能力(韩娜等2009)。

水稻是我国最主要的粮食作物, 我国大约60%的人口以水稻为主食(张艳超等2017)。水稻

萌发时期幼苗的生长状况对其日后的生长及产量有重要的影响, 因而提高水稻种子在萌发时期对Cd的耐受性, 缓解Cd对水稻种子萌发的毒害作用就显得尤为重要。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为信号分子参与植物对多种外界胁迫的应答反应。就目前研究来看, 有关外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理缓解Cd胁迫的相关报道甚少。鉴于此, 本实验研究不同浓度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对镉胁迫下水稻种子萌发和幼苗生理特性的影响, 筛选出Cd胁迫下水稻种子萌发和幼苗生长的最佳H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度, 旨在为客观评价H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导植物对重金属的抗性作用, 以及利用适合浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>减缓镉对水稻的毒害效应提供一定的科学依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

供试水稻品种为‘中优169号’(*Oryza sativa* L. cv. ‘Zhongyou No. 169’), 购自贵州大学农学院种子销售中心。

#### 1.2 实验设计

##### 1.2.1 镉浓度的筛选

精选均一饱满的健康水稻种子, 经浓度为5%

收稿 2017-12-08 修定 2018-05-15

资助 国家自然科学基金(31460100、31660477、31360413和41261095)。

\* 共同通讯作者: 何俊瑜(junyue0303@sina.com)、任艳芳(gzdx2006@126.com)。

的NaClO溶液浸泡消毒20 min后,用去离子水反复冲洗3~4次,然后将其置于蒸馏水中浸泡24 h后,将种子均匀地分别播种于铺有双层滤纸的培养皿中,每皿50粒,向每个培养皿中加9 mL Cd溶液(使用 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 配制),其中Cd设置6个浓度,分别为0(蒸馏水)、100、150、200、250和300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,每处理均设5个重复。将种子统一置于 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度85%~90%的恒温培养箱培养7 d。在水稻种子萌发期间,每天观察记录萌发种子数,定时补充相应的Cd溶液。在种子培养第3天的时候,统计发芽的种子数,并得出种子的发芽势;在种子培养第7天完成时,计算种子的发芽率、发芽指数和活力指数,精确测量其根长。

### 1.2.2 $\text{H}_2\text{O}_2$ 浸种处理

根据1.2.1节实验结果,选用200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd溶液处理水稻种子。精选均一饱满的健康水稻种子,经浓度为5%的NaClO溶液浸泡消毒20 min后,将水稻种子用去离子水反复冲洗3~4次,用滤纸小心的将水稻种子表面水分吸干,分别用0、1、5、10、20、30和50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 溶液浸泡种子24 h后,将其整齐摆放在放有2层滤纸的培养皿中,每皿50粒。在每个培养皿中加9 mL 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的Cd溶液(使用 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 配制),以蒸馏水处理作对照,实验共设8个处理,具体见表1,每处理均设5个重复。将处理后的种子统一放置于相对湿度为85%~90%、温度为 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的恒温培养箱培养7 d。在水稻种子萌发期间,每天观察记录萌发种子数,定时补充Cd溶液,在种子培养第3天的时候,统计种子的发芽数,计算其发芽势;种子培养第7天,精确的测量其根长、芽长、根鲜重和芽鲜重,计算种子的发芽率、发芽指数、活力指数,并分别取水稻的根和芽样品测定相关生理指标。

## 1.3 测定项目与方法

### 1.3.1 萌发指标的计算

水稻种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数等萌发指标计算选用何俊瑜等(2008)的方法。种子发芽势=(第3天时的种子发芽数/种子总数) $\times 100\%$ ;种子发芽率=(第7天时的种子发芽总数/种子总数) $\times 100\%$ ;种子发芽指数(GI)= $\sum(G_t/D_t)$ ;种子活力指数(VI)=GI $\times S = \sum(G_t/D_t) \times S$ 。其中, $G_t$ 表示第 $t$ 天的发芽种子数, $D_t$ 表示相应的种子发芽天数, $S$ 表示水稻幼苗的根长。

表1 实验设计

Table 1 Design of experiment

缩写	处理
CK	蒸馏水
Cd	200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd溶液
Cd+H1	200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd溶液+1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{O}_2$
Cd+H5	200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd溶液+5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{O}_2$
Cd+H10	200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd溶液+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{O}_2$
Cd+H20	200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd溶液+20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{O}_2$
Cd+H30	200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd溶液+30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{O}_2$
Cd+H50	200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd溶液+50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{O}_2$

### 1.3.2 根和芽的长度和鲜重的测量

在水稻种子萌发至第7天结束后,将幼苗用蒸馏水清洗干净,然后小心用滤纸将其表面残留水分吸取干净。随机选取15株水稻幼苗,用0.01 mm的上量游标卡尺测量其胚根和胚芽的长度,用千分之一的分析天平称其胚根和胚芽的重量,取其平均值,5次重复。

### 1.3.3 丙二醛、抗氧化酶及可溶性蛋白含量的测定

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的测定选用硫代巴比妥酸比色法(张志良和瞿伟菁2003),超氧化物歧化酶活性(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性、可溶性蛋白含量的测定参照周国强等(2009)的方法。

### 1.3.4 灰色关联度计算测定

外源 $\text{H}_2\text{O}_2$ 浓度与各指标间的灰色关联度计算测定参照Su等(2017)的方法。

## 1.4 数据处理

所有数据采用Microsoft Excel 2016和SPSS 19统计分析软件进行分析及差异显著性检验。

## 2 实验结果

### 2.1 Cd胁迫对水稻种子萌发的影响

从表2可以看出,在不同浓度的Cd胁迫下,水稻种子萌发受到不同程度的抑制。与对照相比,在100和150  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd胁迫下,水稻种子的发芽率、发芽势和发芽指数均有所降低,但差异均不显著;200、250和300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd胁迫显著抑制水稻种子的发芽率、发芽势和发芽指数( $P < 0.05$ )。不同浓度Cd胁迫对水稻种子萌发阶段活力指数和根长均有明显的抑制作用( $P < 0.05$ ),与对照相比,在

表2 不同浓度Cd胁迫对水稻种子萌发状况的影响

Table 2 Effects of different concentrations of Cd stress on germination of rice seeds

Cd浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数	活力指数	根长/cm
0 (CK)	95.20±4.14 <sup>a</sup>	79.20±2.68 <sup>a</sup>	34.99±1.08 <sup>a</sup>	328.96±28.84 <sup>a</sup>	9.32±0.56 <sup>a</sup>
100	93.60±3.65 <sup>a</sup>	78.00±4.00 <sup>a</sup>	33.81±1.09 <sup>a</sup>	271.57±28.75 <sup>b</sup>	8.10±0.58 <sup>b</sup>
150	91.00±2.24 <sup>a</sup>	74.20±4.48 <sup>ab</sup>	33.42±0.83 <sup>a</sup>	188.01±22.34 <sup>c</sup>	5.70±0.60 <sup>c</sup>
200	86.60±2.41 <sup>b</sup>	70.40±3.85 <sup>c</sup>	31.81±0.79 <sup>b</sup>	145.21±11.46 <sup>d</sup>	4.61±0.25 <sup>d</sup>
250	70.00±3.16 <sup>c</sup>	54.80±4.60 <sup>d</sup>	26.53±1.86 <sup>c</sup>	99.84±11.19 <sup>e</sup>	3.76±0.08 <sup>e</sup>
300	61.60±3.85 <sup>d</sup>	43.20±2.28 <sup>e</sup>	20.95±1.00 <sup>d</sup>	70.36±6.89 <sup>e</sup>	3.30±0.14 <sup>e</sup>

表中数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异性显著( $P<0.05$ )。下表同此。

100、150、200、250和300  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd处理下水稻种子活力指数分别下降了17.45%、42.85%、55.86%、69.65%和78.61%; 根长分别降低了13.09%、38.84%、50.54%、59.66%和64.59% ( $P<0.05$ )。综合来看, 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd胁迫显著抑制发芽率、发芽势和发芽指数, 且对水稻种子萌发期间活力指数和根长的抑制程度约为50%, 因此选用200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd溶液处理水稻种子。

## 2.2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻种子萌发的影响

从表3可以看出, 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd对水稻种子的发芽势、发芽指数和活力指数产生了显著的抑制作用。较低浓度( $\leq 5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浸种处理可不同程度地提高Cd胁迫下水稻种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数。其中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度为5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 其发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数分别比单独Cd处理显著提高了5.91%、8.57%、7.30%和45.87%。随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度增加, 其对Cd胁迫的缓解作用逐渐降低, 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理对Cd胁迫下水稻种子萌发有抑制作用, 种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数分别比单独Cd处理降

低了15.00%、8.57%、6.98%和10.38%。可见, 适宜浓度的外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可有效缓解Cd胁迫对水稻种子萌发的抑制作用, 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的缓解效果最为明显(表3)。

## 2.3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻幼苗根和芽生长的影响

从表4可以看出, 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd对水稻幼苗的根长和芽长产生了显著的抑制作用。而较低浓度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( $\leq 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )处理能够不同程度地促进Cd胁迫下萌发后水稻幼苗根和芽的生长, 其中5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的作用效果最为明显, 与单独Cd处理相比, 分别提高了38.41%和23.97%, 差异达显著水平( $P<0.05$ )。但是50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下水稻根长和芽长反而低于单独Cd处理, 分别下降3.00%和5.90%。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻幼苗根鲜重、芽鲜重的影响与根长、芽长的影响基本相似。

## 2.4 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻幼苗根和芽中MDA含量的影响

由图1可知, 在200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd胁迫下水稻幼苗体内的MDA含量较CK显著增加。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度 $\leq 30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浸种处理可不同程度地降低Cd胁迫

表3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理对Cd胁迫下水稻种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数的影响Table 3 Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on germination percentage, germination potential, germination index and vigour index of rice seeds under Cd stress

处理	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数	活力指数
CK	95.20±3.63 <sup>a</sup>	78.40±2.61 <sup>a</sup>	35.10±1.00 <sup>a</sup>	328.70±28.34 <sup>a</sup>
Cd	88.00±3.16 <sup>c</sup>	70.00±2.00 <sup>c</sup>	31.64±0.44 <sup>c</sup>	147.06±12.28 <sup>d</sup>
Cd+H1	89.60±3.29 <sup>bc</sup>	73.20±4.15 <sup>bc</sup>	33.07±0.94 <sup>b</sup>	185.56±3.71 <sup>c</sup>
Cd+H5	93.20±4.60 <sup>ab</sup>	76.00±3.16 <sup>ab</sup>	33.95±0.26 <sup>ab</sup>	214.52±6.28 <sup>b</sup>
Cd+H10	87.60±3.85 <sup>cd</sup>	73.20±2.28 <sup>bc</sup>	33.19±0.98 <sup>b</sup>	187.37±6.98 <sup>bc</sup>
Cd+H20	82.80±3.03 <sup>de</sup>	69.60±2.97 <sup>c</sup>	31.56±0.84 <sup>c</sup>	150.43±25.62 <sup>d</sup>
Cd+H30	79.20±4.15 <sup>ef</sup>	68.80±4.15 <sup>c</sup>	30.63±1.43 <sup>c</sup>	140.92±10.24 <sup>d</sup>
Cd+H50	74.80±4.15 <sup>f</sup>	64.00±4.24 <sup>d</sup>	29.43±1.03 <sup>d</sup>	131.79±13.76 <sup>d</sup>

表4 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理对Cd胁迫下水稻幼苗根长、芽长、根鲜重与芽鲜重的影响Table 4 Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on root length, shoot length, root fresh weight and shoot fresh weight of rice seedlings under Cd stress

处理	根长/cm	芽长/cm	根鲜重/g	芽鲜重/g
CK	9.35±0.63 <sup>a</sup>	7.84±0.20 <sup>a</sup>	0.62±0.08 <sup>a</sup>	0.74±0.05 <sup>a</sup>
Cd	4.66±0.39 <sup>e</sup>	5.59±0.12 <sup>cd</sup>	0.30±0.06 <sup>cd</sup>	0.58±0.04 <sup>cd</sup>
Cd+H1	5.58±0.14 <sup>cd</sup>	5.90±0.25 <sup>e</sup>	0.40±0.08 <sup>bc</sup>	0.61±0.03 <sup>bcd</sup>
Cd+H5	6.45±0.31 <sup>b</sup>	6.93±0.20 <sup>b</sup>	0.44±0.05 <sup>b</sup>	0.66±0.03 <sup>b</sup>
Cd+H10	5.64±0.26 <sup>c</sup>	5.88±0.20 <sup>e</sup>	0.36±0.05 <sup>bcd</sup>	0.64±0.05 <sup>bc</sup>
Cd+H20	4.84±0.84 <sup>de</sup>	5.84±0.41 <sup>cd</sup>	0.32±0.08 <sup>cd</sup>	0.58±0.02 <sup>bcd</sup>
Cd+H30	4.75±0.42 <sup>de</sup>	5.73±0.46 <sup>cd</sup>	0.30±0.05 <sup>cd</sup>	0.55±0.05 <sup>d</sup>
Cd+H50	4.52±0.27 <sup>e</sup>	5.26±0.51 <sup>d</sup>	0.27±0.03 <sup>d</sup>	0.45±0.03 <sup>e</sup>

下水稻幼芽和幼根中的MDA含量;当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度为5 μmol·L<sup>-1</sup>时,水稻幼苗体内的MDA含量下降幅度达最大,与单独Cd处理相比,水稻幼苗根中的MDA含量下降了25.71%,芽中的MDA含量下降了37.50%,差异均达显著水平( $P<0.05$ )。在高于5 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下,水稻幼苗体内的MDA含量会随着外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的增加而增加;当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度达到50 μmol·L<sup>-1</sup>时,根中MDA含量较单独Cd处理显著增加了14.29%,可见高浓度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理会产生更严重的毒害作用。

## 2.5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻幼苗根和芽中抗氧化酶活性的影响

由图2可知,200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫下水稻幼苗根和芽中SOD活性较CK相比分别显著降低了42.86%和47.06% ( $P<0.05$ )。随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的增加,SOD活性表现出先升高后降低的趋势,当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度为5 μmol·L<sup>-1</sup>时,水稻幼苗根和芽中SOD活性最高,分别是单独Cd处理的1.55和1.67倍,差异显著( $P<0.05$ )。之后SOD活性会随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的升高而降低,当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度达50 μmol·L<sup>-1</sup>时,根和芽中SOD活性分别较单独Cd处理降低24.98%和11.11%。

图2表明,与CK相比,200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd处理提高了水稻根和芽中的POD的活性,POD的活性随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的增加,表现出先降低后升高的趋势。当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度为5 μmol·L<sup>-1</sup>时,水稻幼苗根和芽中POD活性降幅最大,与单独Cd处理相比,根、芽的POD活性降低了44.05%和36.98%。随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度增加,POD的活性升高,当H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度为50 μmol·L<sup>-1</sup>,根和芽中的POD活性均高于单独Cd处理。

Cd及H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下CAT和APX活性的变化与SOD活性基本相似,即200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫显著降

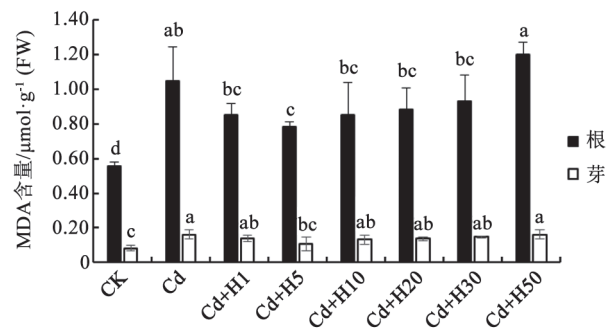


图1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理对Cd胁迫下水稻幼苗根和芽中MDA含量的影响

Fig.1 Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on MDA content in root and shoot of rice seedlings under Cd stress

不同小写字母表示同一部位不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。下图同此。

低水稻根和芽中的CAT和APX活性, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理可提高CAT和APX的活性,并且5 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理的增幅最大,根和芽中APX活性分别是单独Cd处理的1.78和2.48倍,同时根和芽中的CAT活性分别提高了1.32和1.28倍(图2)。

## 2.6 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻幼苗根和芽中可溶性蛋白含量的影响

由图3可知,200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd处理水稻幼苗体内可溶性蛋白质含量较对照显著降低( $P<0.05$ ),幼苗根和芽的可溶性蛋白含量较对照分别降低了37.08%和38.56%;200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd处理下,可溶性蛋白含量随H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的增加大致呈现先上升后降低的趋势,5 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理的根和芽中的可溶性蛋白含量分别比单独Cd处理显著提高了37.50%和53.46%。

## 2.7 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度与Cd胁迫下水稻种子萌发及幼苗生理指标间灰色关联度分析

根据表5来看,Cd胁迫下水稻种子萌发及幼苗

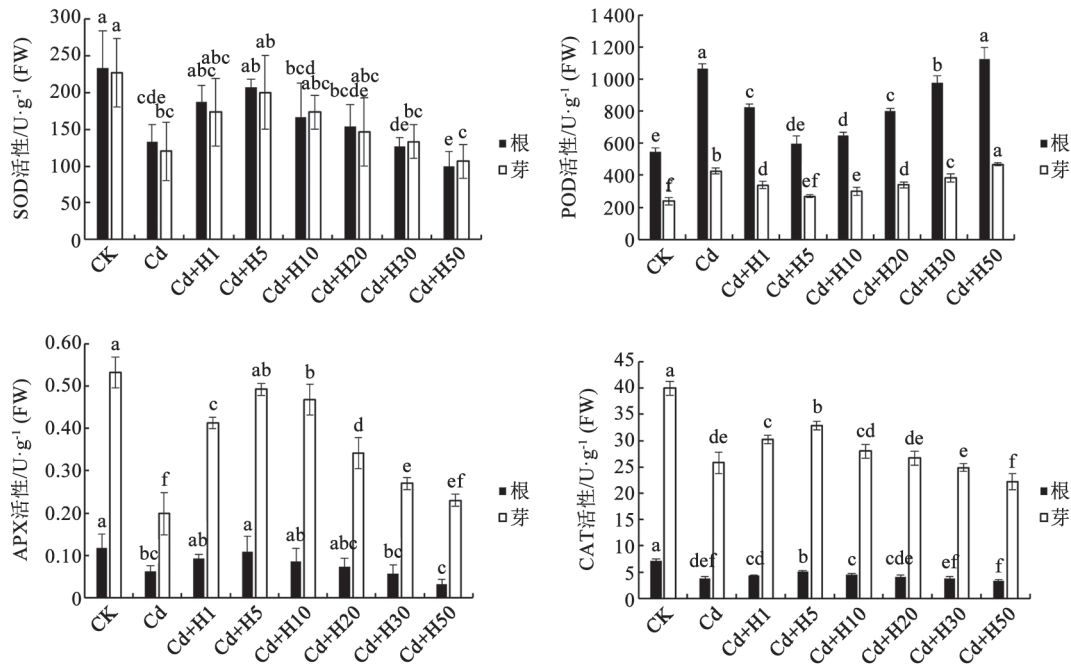


图2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理对Cd胁迫下水稻幼苗根和芽中抗氧化酶活性的影响

Fig.2 Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on the activities of anti-oxidative enzymes in root and shoot of rice seedlings under Cd stress

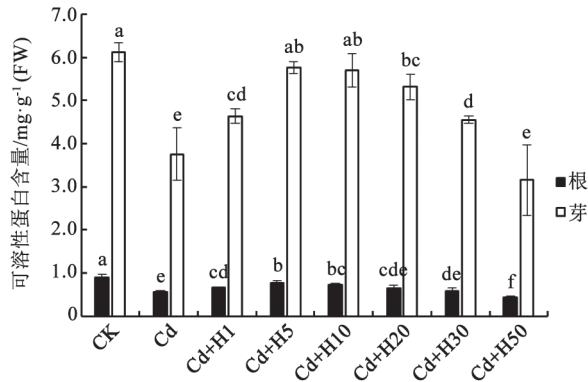


图3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理对Cd胁迫下水稻幼苗根和芽中的可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on soluble protein content in root and shoot of rice seedlings under Cd stress

生理指标与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浸种浓度关联度大小顺序依次为: POD (根)>POD (芽)>MDA (芽)>可溶性蛋白 (芽)>MDA (根)>发芽指数>芽长>发芽势>可溶性蛋白(根)>发芽率>芽鲜重>CAT (根)>CAT (芽)>SOD (根)>根长>SOD (芽)>根鲜重>活力指数>APX (芽)>APX (根), 说明幼苗体内的POD、MDA、可溶性蛋白等指标是水稻幼苗体内抗氧化系统的综合表现, 与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的施用浓度密切相关, 能作为衡量

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻种子萌发阶段缓解效应的指示指标。此外, 发芽指数和发芽势也能较明显反应H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻种子萌发幼苗的缓解作用。芽长和芽鲜重是水稻幼苗生长情况的综合表现, 也能明显反应出H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下植株的缓解作用。总体来看, 水稻幼苗体内POD与外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的灰色关联度最高, 从而表明POD是最能评价H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫缓解效果的指标。

### 3 讨论

Cd属植物的非营养元素, 对植物生长具有毒害作用, 植物大量的积累Cd将会抑制其生长, 严重的将会导致其死亡(Yue等2017)。本研究结果表明, 水稻‘中优169号’种子的萌发和幼苗生长在200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫下表现出明显的抑制状态, 种子的发芽势、发芽指数、活力指数和根长均表现出显著的降低。可能的原因是水稻受到Cd毒害后, 种子吸胀萌动, 胚根快速吸水伸长并最先突破种皮, 这使根在Cd的积累量上、在受Cd胁迫的时间进程上大于芽(曾翔等2007)。此外, 研究表明Cd可诱导根系产生逆境乙烯, 并向地上部输导, 逆境乙烯对细胞有很强伤害作用, 而这种伤害也首先发生在

表5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度与Cd胁迫下水稻种子萌发和幼苗生理指标的灰色关联度分析Table 5 Grey correlation analysis between the concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and rice seed germination and seedling physiological indexes under Cd stress

指标	与H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 浓度的关联度	排序	指标	与H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 浓度的关联度	排序
POD (根)	0.3329	1	芽鲜重	0.2697	11
POD (芽)	0.3143	2	CAT (根)	0.2691	12
MDA (芽)	0.3053	3	CAT (芽)	0.2690	13
可溶性蛋白(芽)	0.2992	4	SOD (根)	0.2614	14
MDA (根)	0.2971	5	根长	0.2596	15
发芽指数	0.2820	6	SOD (芽)	0.2591	16
芽长	0.2791	7	根鲜重	0.2583	17
发芽势	0.2763	8	活力指数	0.2572	18
可溶性蛋白(根)	0.2716	9	APX (芽)	0.2551	19
发芽率	0.2714	10	APX (根)	0.2436	20

根部(季玉鸣等1989; 曾翔等2007)。随着Cd处理浓度的提高, 过多的Cd进入细胞与核酸相结合, 降低了RNA和DNA的活性, 引起核酸裂解, 从而影响有丝分裂过程(何俊瑜等2008)。有丝分裂的异常直接影响细胞的分裂和生长, 从而在宏观上表现为对胚根伸长的抑制及形态的改变, 呈现明显的Cd中毒症状(何俊瑜等2008)。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为一种信号分子, 参与了植物体内的多种生理过程。在维持植物体内细胞中的氧化还原平衡上, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>起到了重要的作用, 适当浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能有效缓解不同胁迫环境中对植物体的伤害(Li等2009)。本实验结果表明, 不同浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对水稻种子在200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫下萌发和幼苗生长的影响是双重的, 即低浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能缓解镉胁迫对水稻种子萌发和幼苗生长的抑制, 其中5 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>缓解作用最为明显; 然而高浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>表现出一定的抑制作用, 甚至会加剧Cd的毒害作用, 说明H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在缓解植物抗重金属方面表现出了“低促进, 高抑制”的浓度效应。这和外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对缓解小麦重金属胁迫上的研究结果基本一致(郭彦等2009)。

植物在Cd胁迫下会导致抗氧化系统受损, 引起氧化胁迫, 使植物体内的活性氧(ROS)、单线态氧(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)、羟基自由基(·OH)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)等含量增加。Cd胁迫引起的氧化应激主要包括活性氧代谢产物的产生和清除, 使其处于动态平衡状态。在200 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫下, 水稻幼苗体内的SOD、CAT、APX活性和可溶性蛋白含量显著降低, POD活性上升, MDA含量显著增加, 说明在Cd胁迫下, Cd通过干扰植物细胞内抗氧化酶的活性, 间接导

致水稻幼苗活性氧自由基大量积累, 从而造成膜脂过氧化, 而Cd胁迫下降低了可溶性蛋白的含量, 产生这种现象的原因可能与重金属诱导活性氧的产生进一步导致细胞脂质过氧化及蛋白质破碎。一定浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理后, 特别是5 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SOD、CAT、APX的活性和可溶性蛋白含量较单独Cd处理均表现出上升趋势, 同时POD的活性和MDA的含量显著降低, 这说明在Cd胁迫下, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以通过增强水稻幼苗根和芽抗氧化酶系统的活性, 降低膜脂过氧化的程度, 并通过调节细胞与外界渗透压的平衡, 从而维持细胞的正常代谢, 达到缓解Cd造成的危害。这也许是外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>缓解Cd胁迫下水稻种子萌发和幼苗生理特性影响的内在机理之一。SOD、CAT和APX的活性上升, POD活性下降可能是由于H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为信号分子提高了植物体内与抗逆境相关的抗氧化酶基因的表达(Bright等2006)。这与在水稻、玉米、土豆等植物上外源过氧化氢会通过调节植物体内的抗氧化酶系统(APX、POD、SOD和APX等)活性来缓解冷害, 高温和盐胁迫对植物体内引起的损伤研究结果一致(Uchida等2002)。

作物对Cd胁迫的综合反应结果是作物抗Cd性各种性状指标的综合反应。本实验结果表明: 发芽率、根系鲜重、发芽势和根长可以很好地反映外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对镉胁迫的缓解作用。陈秀兰等(2012)也发现NO与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>有相同的作用, 都可缓解Cd胁迫对水稻种子萌发的抑制。除了水稻种子的萌发指标外, 从外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫下水稻种子萌发及幼苗各生理指标间灰色关联度分析, 水稻幼苗体内

POD与外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的灰色关联度最高, 从而表明POD是最能评价H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对Cd胁迫缓解效果的指标。

### 参考文献(References)

- Bright J, Desikan R, Hancock JT, et al (2006). ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> synthesis. *Plant J*, 45 (1): 113–122
- Cai FX, Chen DD, Yang F, et al (2016). Regulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> literal on growth and physiology of rice seedlings. *Jiangsu Agr Sci*, 44 (3): 74–77 (in Chinese with English abstract) [蔡凤香, 陈豆豆, 杨飞等(2016). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对水稻幼苗生长和生理的调节. *江苏农业科学*, 44 (3): 74–77]
- Chen XL, He JY, Ren YF, et al (2012). Effect of nitroprusside on seed germination and seedling physiological characteristics of rice under cadmium stress. *J Hunan Agr Univ (Nat Sci)*, 38 (1): 36–40 (in Chinese with English abstract) [陈秀兰, 何俊瑜, 任艳芳等(2012). 外源硝普钠对镉胁迫下水稻种子萌发和幼苗生理特性的影响. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 38 (1): 36–40]
- Dalcorso G, Fadnati S, Maistd S, et al (2008). How plants cope with cadmium: staking all on metabolism and gene expression. *J Integr Plant Biol*, 50 (10): 1268–1280
- Fedina IS, Nedeva D, Çiçek N (2009). Pre-treatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induces salt tolerance in barley seedlings. *Biol Plant*, 53 (2): 321–324
- Guo Y, Yang HS, Hou LZ (2009). Effects of salicylic acid and hydrogen peroxide on the growth and physiological activities of wheat seedlings under chromium stress. *Jiangsu Agr Sci*, (2): 90–91 (in Chinese with English abstract) [郭彦, 杨洪双, 侯连真(2009). 水杨酸、过氧化氢对铬胁迫下小麦幼苗生长与生理活性的影响. *江苏农业科学*, (2): 90–91]
- Han N, Feng HQ, Li YH, et al (2009). Regulation of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on cold resistance of rice seedlings. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 29 (6): 1214–1219 (in Chinese with English abstract) [韩娜, 冯汉青, 李燕鸿等(2009). 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对水稻幼苗抗寒性的调节作用. *西北植物学报*, 29 (6): 1214–1219]
- He JY, Ren YF, Zhu C, et al (2008). Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and amylase activity of different rice varieties. *Chin J Rice Sci*, 22 (4): 399–404 (in Chinese with English abstract) [何俊瑜, 任艳芳, 朱诚等(2008). 镉胁迫对不同水稻品种种子萌发、幼苗生长和淀粉酶活性的影响. *中国水稻科学*, 22 (4): 399–404]
- Ji YM, Li ZG, Wu DS, et al (1989). Stress ethylene production induced by cadmium in wheat seedlings and its relation to cadmium uptake and distribution. *J Plant Physiol*, 15 (2): 159–166 (in Chinese with English abstract) [季玉鸣, 李振国, 吴敦肃等(1989). 镉引起小麦苗逆境乙烯的产生及其和镉的吸收分布的关系. *植物生理学报*, 15 (2): 159–166]
- Li SW, Xue LG, Xu SJ, et al (2009). Hydrogen peroxide acts as a signal molecule in the adventitious root formation of mung bean seedlings. *Environ Exp Bot*, 65 (1): 63–71
- Shi M, Wang FR, Wang PT (2016). Research advances in the tolerance mechanism of plant response to heavy metal cadmium stress. *Chin Bull Life Sci*, (4): 504–512 (in Chinese with English abstract) [时萌, 王芙蓉, 王棚涛(2016). 植物响应重金属镉胁迫的耐性机理研究进展. *生命科学*, (4): 504–512]
- Song HM, Xing CH, Wu K, et al (2014). Mitigating effects of NO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on aluminum toxicity in soybean seedlings and their interactions. *Res Environ Sci*, 27 (9): 1061–1066 (in Chinese with English abstract) [宋洪明, 邢承华, 吴坤等(2014). NO和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对大豆幼苗铝毒害的缓解效应及其相互作用. *环境科学研究*, 27 (9): 1061–1066]
- Su DW, Mei L, Lin H (2017). Grey correlation analysis of physiological traits related to drought tolerance in *Pennisetum* sp. *Agr Sci Tech*, 18 (7): 1158–1163
- Uchida A, Jagendorf AT, Takabe T (2002). Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci*, 163 (3): 515–523
- Wang L, Chen Q, Wu KH, et al (2013). Physiological mechanism of pretreatment with hydrogen peroxide enhancing the capacity of sensitive black soybean resistance to Al stress. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 33 (2): 336–342 (in Chinese with English abstract) [王琳, 陈奇, 武孔焕等(2013). 过氧化氢预处理增强敏感型黑豆抗铝能力的生理机制. *西北植物学报*, 33 (2): 336–342]
- Yue J, Zhang X, Liu N (2017). Cadmium permeates through calcium channels and activates transcriptomic complexity in wheat roots in response to cadmium stress. *Genes Genom*, 39 (2): 183–196
- Zeng X, Zhang YZ, Wang KR, et al (2007). Effect of cadmium on seed germination of rice. *Chin J Appl Ecol*, 18 (7): 1665–1668 (in Chinese with English abstract) [曾翔, 张玉焯, 王凯荣等(2007). 镉对水稻种子萌发的影响. *应用生态学报*, 18 (7): 1665–1668]
- Zhang YC, Ren YF, Lin X, et al (2017). Effects of different irrigation methods on growth and yield of rice under cadmium pollution. *Jiangsu Agri Sci*, 45 (2): 51–54 (in Chinese with English abstract) [张艳超, 任艳芳, 林肖等(2017). 不同灌溉方式对镉污染下水稻生长和产量的影响. *江苏农业科学*, 45 (2): 51–54]
- Zhang ZL, Qu WJ (2003). *Plant Physiology Instruction*. Beijing: Higher Education Publishing, 274–277 [张志良, 瞿伟菁(2003). *植物生理学指导*. 北京: 高等教育出版社]
- Zhou GQ, He JY, Ren YF, et al (2009). Alleviating effects of Pr<sup>3+</sup> on the cadmium stress in rice seeds germination. *Acta Agri Boreali Sin*, 24 (3): 112–116 (in Chinese with English abstract) [周国强, 何俊瑜, 任艳芳等(2009). 硝酸锶对镉胁迫下水稻种子萌发的缓解效应. *华北农学报*, 24 (3): 112–116]

## Alleviating effect of hydrogen peroxide on seed germination of rice under cadmium stresses

YANG Bo<sup>1</sup>, HE Jun-Yu<sup>2,\*</sup>, REN Yan-Fang<sup>2,\*</sup>, WANG Yan-Ling<sup>1</sup>, TIAN Dan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China

<sup>2</sup>School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou, Jiangsu 213164, China

**Abstract:** In order to explore the ameliorating role of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) on inhibition of seed germination caused by cadmium, the effects of different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on seed germination, seeding growth and physiological characteristics of rice ('Zhongyou No. 169') were studied under 200 μmol·L<sup>-1</sup> cadmium stress. The results showed that 200 μmol·L<sup>-1</sup> cadmium stress inhibited rice seed germination and seeding growth. Germination potential, germination index, vigor index, root length, shoot length and soluble protein content were decreased significantly. MDA content and POD activity were increased significantly. However, the activities of SOD, APX and CAT were inhibited obviously. Low concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (≤10 μmol·L<sup>-1</sup>) could alleviate the inhibition effects of cadmium, and the germination index, vigor index, root length, shoot length, root and shoot fresh weight, the activities of SOD, POD and APX of rice seedlings increased and the MDA content was significantly inhibited. The seed germination and seeding growth of rice under cadmium stress can be significantly improved by soaking 5 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. However, the mitigation effect of cadmium stress is gradually weakened with the increase of hydrogen peroxide concentration, and 50 μmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> will aggravate the toxicity of cadmium stress. The appropriate concentration of hydrogen peroxide can improve the antioxidant ability of rice seedlings, promote rice growth and alleviate cadmium stress injury.

**Key words:** rice; cadmium; hydrogen peroxide; seed germination; physiological characteristics

Received 2017-12-08 Accepted 2018-05-15

This study was supported by the National Natural Sciences Foundation of China (31460100, 31660477, 31360413 and 41261095).

\*Co-corresponding authors: He JY (junyuhe0303@sina.com), Ren YF (gzdx2006@126.com).