

EDTA 对重金属镉胁迫下玉米种子发芽率的影响

邓本良, 田 静, 高晓晓, 王玉倩 (洛阳师范学院生命科学学院, 河南洛阳 471934)

摘要 [目的]研究 EDTA 对镉胁迫下玉米种子发芽的促进作用, 为在污染土壤环境下进行作物种子发芽提供理论和技术支持。[方法]在砂土盆钵里进行玉米种子发芽试验, 分别用不同浓度氯化镉以及 EDTA+氯化镉处理观察种子发芽率。[结果]高浓度氯化镉显著抑制玉米种子发芽, 但是添加 EDTA 后能显著提高镉胁迫下种子发芽率。药理学试验证明, EDTA 增强的发芽能力与镉诱导的活性氧毒害有密切关系。[结论]EDTA 与镉整合后可减轻镉的活性氧毒害, 从而提高种子发芽率。

关键词 EDTA; 镉胁迫; 玉米种子; 双氧水
中图分类号 S513; Q945.78 **文献标识码** A
文章编号 0517-6611(2020)19-0043-02
doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.19.012



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of EDTA on Maize Seed Germination under Cd Stress
DENG Ben-liang, TIAN Jing, GAO Xiao-xiao et al (College of Life Science, Luoyang Normal University, Luoyang, Henan 471934)
Abstract [Objective] To investigate the effects of EDTA on maize seed germination under Cd stress, and to provide theoretical and technical support for the seed germination operation under contaminated soil environment. [Method] The seed germination test was carried out in sand basin. Treatments of different cadmium chloride concentrations and EDTA + cadmium chloride were adopted for seed germination rate. [Result] Cadmium chloride at high concentration could significantly inhibit the seed germination of maize, but adding EDTA could significantly enhance the seed germination rate under Cd stress. Pharmacological tests proved that germinating ability improvement by EDTA was closely related to the reactive oxygen toxicity induced by Cd. [Conclusion] EDTA mediated seed germination improvement under Cd stress can be partly attributed to the attenuation of ROS levels by formation of Cd-EDTA complex.
Key words EDTA; Cd stress; Maize seed; H₂O₂

重金属胁迫能显著抑制作物种子发芽, 如镉离子和铅离子能显著抑制小麦种子发芽^[1-2]。为提高作物种子在重金属胁迫下的发芽率, 采用不同保护剂进行处理取得了较好的效果, 如对镉盐或砷盐胁迫下的作物种子用一氧化氮处理能显著提高这 2 种重金属胁迫下的发芽率^[3-4]。重金属抑制植物种子发芽一种可能的机理是重金属诱导产生的大量活性氧, 从而抑制了种子发芽^[5-8]。EDTA 作为一种重金属螯合剂, 能促进植物对重金属的吸收, 同时能帮助其在重金属污染的环境下更好地生长而得到广泛应用^[9-10]。然而, 目前鲜见重金属螯合剂对重金属胁迫下的植物种子发芽影响的研究。鉴于此, 笔者对高浓度镉离子胁迫下的玉米种子采用 EDTA 处理, 研究 EDTA 在高浓度镉胁迫环境下对玉米种子发芽的促进作用, 并从活性氧毒害角度对其机理进行了探讨。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 试验选用的玉米种子为香甜糯 2015, 购自淘宝网。

1.2 试验方法 在种子发芽盒中加入事先用不同浓度氯化镉(0、1、10 和 100 mmol/L)润洗的粗砂(直径约 2~3 mm, 模拟污染环境), 然后将自来水浸泡 2 h 的玉米种子半埋入砂子中, 并分成若干组。对照组用自来水喷洒, 处理组包括用不同浓度(0、1、10 和 100 mmol/L) EDTA、二甲基硫脲(DMTU, 10 mmol/L)、咪唑(10 mmol/L)、双氧水(H₂O₂, 10 mmol/L)等或其组合进行处理, 观察这些试剂处理后对玉米种子发芽率的影响。每天分 2 次检查种子发芽情况, 连续检查 72 h。当露白 0.5 mm 即视为发芽。每个试验设定 3 个重复。

1.3 数据处理 采用 SPSS 软件对检测结果进行分析; 采用 Duncan's 多重比较进行分析; 采用 Excel 2007 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 镉盐对玉米种子发芽率的影响 由图 1 可知, 水对照处理在 24、48 和 72 h 的玉米种子发芽率依次为 45%、93% 和 95%($P<0.05$)。与水对照相比, 低浓度(1 mmol/L) CdCl₂ 能显著加快玉米种子发芽。处理 24、48 和 72 h 的玉米种子发芽率分别为 57%、96% 和 96% ($P<0.05$)。而高浓度(100 mmol/L) CdCl₂ 润洗后的砂子则能显著抑制玉米种子发芽率, 如处理 24、48 和 72 h 发芽率分别是 21%、25% 和 26% ($P<0.05$)。与水对照相比, 100 mmol/L CdCl₂ 处理后玉米种子发芽率最终(处理 72 h)降低了 73% ($P<0.05$), 说明只有高浓度镉处理才能有效抑制玉米种子发芽。

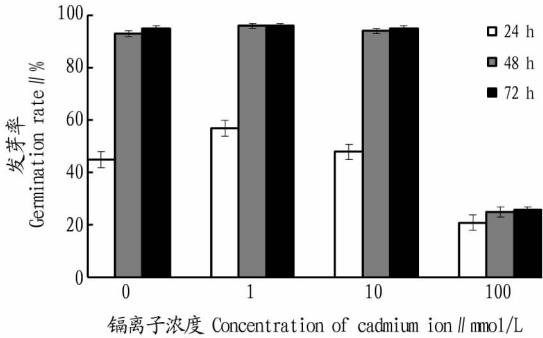


图 1 不同浓度的镉离子对玉米种子发芽率的影响 ($n=3$)

Fig.1 Effects of cadmium ion concentrations on the seed germination of maize

2.2 EDTA 浓度对玉米种子发芽率的影响 采用 4 个浓度梯度(0、1、10 和 100 mmol/L)的 EDTA(实际使用其钠盐)来

检测其对玉米种子在 72 h 内的发芽能力的影响。由图 2 可知,不同浓度 EDTA 都能不同程度地抑制玉米种子发芽能力,并呈现一种浓度梯度关系:浓度越高则抑制效果越强。与水对照相比,100 mmol/L EDTA 处理 24、48 和 72 h 发芽率分别降低了 76%、62%和 60% ($P<0.05$)。与高浓度 EDTA 强烈抑制最终发芽率相比,低浓度 EDTA 处理主要是延缓发芽率,并不明显影响最终(处理 72 h)发芽率。与水对照相比,处理 24 h 时 1、10 mmol/L EDTA 处理的玉米发芽率分别降低 5%和 31% ($P<0.05$)。

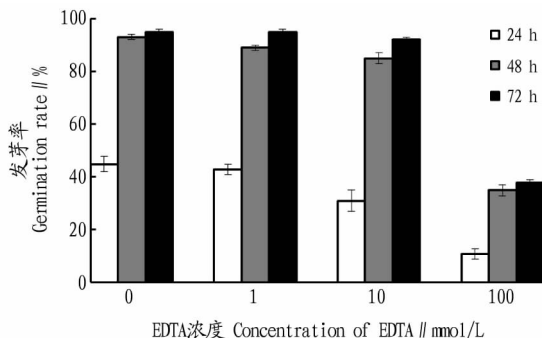


图 2 不同浓度的 EDTA 对玉米种子发芽率的影响 ($n=3$)

Fig. 2 Effects of different EDTA concentrations on the seed germination of maize

2.3 氧还试剂对高浓度镉盐胁迫下玉米种子发芽率的影响 图 3 为 100 mmol/L EDTA 及相关氧还试剂 (H_2O_2 、DMTU 和 IMZ) 对高浓度 (100 mmol) 镉盐胁迫下玉米种子发芽率的影响。由图 3 可知,EDTA 处理显著增强了玉米种子在镉盐胁迫下的发芽率:EDTA 在 24、48 和 72 h 时均提高了玉米种子在镉盐胁迫下的发芽率,分别达到 67%、244%和 233% ($P<0.05$)。然而 EDTA 处理增强的发芽率可被氧化剂 H_2O_2 削弱:10 mmol/L H_2O_2 处理 24、48 和 72 h 均可降低玉米发芽率,分别降低了 14%、12%和 10% ($P<0.05$)。与氧化剂 H_2O_2 相比,抗氧化剂 DMTU 处理能进一步提高 EDTA 对镉胁迫下的玉米种子发芽率:10 mmol/L DMTU 处理 24、48 和 72 h 均可提高玉米发芽率,分别降低了 23%、8%和 9% ($P<0.05$)。与 DMTU 相比,咪唑处理也能进一步增强 EDTA 提高的镉盐胁迫下的玉米种子发芽率:10 mmol/L 咪唑处理 24、48 和 72 h 可提高玉米发芽率,分别为 26%、9%和 10% ($P<0.05$)。

3 结论与讨论

该研究结果显示,用高浓度镉离子和 EDTA 单独处理都能显著抑制玉米种子发芽,前者(氯化镉)可能是其诱导的活性氧含量过高导致玉米种子发芽受到抑制,这与前人用镉离子处理小麦种子的结论一致^[1]。而单独用 EDTA 处理,尤其在低浓度下也能显著抑制玉米种子发芽,这可能是因为 EDTA 能螯合种子中某些关键离子(如钙离子),从而阻止种子进一步发芽。镉离子胁迫下的玉米种子用高浓度 EDTA 处理后能显著逆转镉离子的抑制效果,显著促进玉米种子发芽。对于这一现象,一个可能的机理是 EDTA 螯合镉离子后,减轻了镉离子对玉米种子的活性氧毒害作用。为了部分

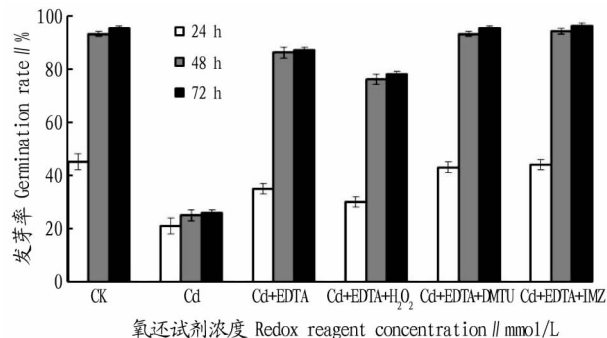


图 3 氧还试剂对 EDTA-镉处理后的玉米种子发芽率的影响 ($n=3$)

Fig. 3 Effects of oxygen reagent on the germination rate of maize seed after EDTA-Cd treatment

验证这一猜测,笔者使用了对 Cd+EDTA 处理的玉米外施 H_2O_2 和特异性活性氧清除剂 DMTU 以及 NADPH 氧化酶特异性抑制剂咪唑后,发现 H_2O_2 能降低 EDTA 对镉胁迫下的玉米种子的保护作用;相反,DMTU 和咪唑能进一步提高 EDTA 对镉离子胁迫下的玉米种子的保护作用,这是因为 DMTU 能直接清除一部分 EDTA-Cd 螯合物诱导的活性氧,从而有利于种子发芽。类似地,咪唑能部分抑制植物体内 1 个能产活性氧的主要酶,即 NADPH 氧化酶^[11],从而降低了 EDTA-Cd 螯合物诱导的活性氧含量,这也说明 NADPH 氧化酶也是镉离子的 1 个靶点,这与前人报道类似^[12],同时也符合“oxidative window for germination”假说^[13]。该假说认为,种子只在一定的活性氧浓度范围内才能促进种子发芽,浓度过高或过低都会抑制种子发芽。前人报道均显示,只有处于合适范围内的活性氧才能促进作物种子发芽^[6-8]。该研究结果显示,EDTA 能不同程度地延缓,甚至抑制玉米种子的发芽;高浓度镉离子抑制的玉米种子发芽能被 EDTA 逆转;EDTA 提高的镉离子胁迫下的玉米种子发芽率与活性氧水平有密切关系。此外,EDTA 促进的镉离子胁迫下的玉米种子发芽可能还有其他原因,这需要今后进一步从生理生化和遗传学角度去深入研究其机理。

参考文献

- [1] AHMAD I, AKHTAR M J, ZAHIR Z A, et al. Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars [J]. Pakistan journal of botany, 2012, 44 (5): 1569–1574.
- [2] YANG Y L, WEI X L, LU J, et al. Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2010, 73 (8): 1982–1987.
- [3] HE J Y, REN Y F, CHEN X L, et al. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress [J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2014, 108: 114–119.
- [4] ISMAIL G S M. Protective role of nitric oxide against arsenic-induced damages in germinating mung bean seeds [J]. Acta physiologiae plantarum, 2012, 34 (4): 1303–1311.
- [5] KRANNER I, COLVILLE L. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination [J]. Environmental and experimental botany, 2011, 72 (1): 93–105.
- [6] DENG B L, YANG K J, ZHANG Y F, et al. The effects of temperature on the germination behavior of white, yellow, red and purple maize plant seeds [J]. Acta physiologiae plantarum, 2015, 37 (8): 174–184.

(下转第 47 页)

表 3 山西省小麦区域试验品种锈病抗性品种数据比较

区组 Group	条锈病 Stripe rust					叶锈病 Leaf rust				
	R	MR	LS	MS	S	R	MR	LS	MS	S
南部水地 SI	1	4	11	30	0	0	0	2	41	3
南部旱地 SD	0	0	0	28	4	0	0	1	29	2
中部水地 CI	0	0	2	23	2	0	0	2	25	0
中部旱地 CD	0	0	2	21	1	0	0	2	22	0
合计 Total	1	4	15	102	7	0	0	7	117	5

注:R 表示近免疫;MR 表示中抗;LS 表示轻感;MS 表示中感;S 表示高感
Note:R indicated immunization;MR indicated moderate resistance;LS indicated light susceptibility,MS indicated moderate susceptibility;S indicated high susceptibility

3 结论与讨论

3.1 小麦区域试验品种的品质 近 3 年山西省区域试验小麦品种的蛋白质含量、湿面筋含量相对较高。4 项区试品质指标达中强筋以上比例由大到小依次为蛋白质含量(100%)>湿面筋含量(94.9%)>吸水率(81.8%)>稳定时间(5.8%);按达中筋以上标准划分,排序依次为蛋白质含量(100%)=湿面筋含量(100%)>吸水率(92.0%)>稳定时间(25.5%)。因此,达标小麦比例低的第一限制因素是稳定时间较低。整体分析表明,3 个年度供试的 137 个品种均没有符合弱筋小麦标准的品种,圣麦 104、临研 16、运旱 139-1 和临旱 5115 共 4 个品种达优质中强筋以上优质小麦标准,圣麦 101、ZM148、临研 151 和旱优 6 号等 22 个品种(去除年度重复品种)达到优质中筋小麦标准,可用作高产、优质育种亲本。这与 2015—2016 年度山西省小麦区域品种品质结果类似,以中筋小麦达标较多^[15]。

根据国家农作物品种审定委员会 2017 年 7 月印发的《主要农作物品种审定标准(国家级)》,符合优质小麦品质标准(区试 4 项:粗蛋白质含量、湿面筋含量、吸水率和稳定时间)的参试品种还需进行最大拉伸阻力和拉伸面积的检测,满足上述 6 项相关指标要求的方能最终定为强筋、中强筋、中筋小麦优质品种。

3.2 小麦区试品种的条锈、叶锈病抗性 对山西省小麦区域试验参试品种进行条锈病和叶锈病的鉴定,但不鉴定秆锈病抗性。结果表明,近年参加山西省小麦区域试验的品种对条锈、叶锈病的抗性较差,没有兼抗条锈和叶锈病的品种,所有品种均感小麦叶锈病,绝大多数(96.12%)的品种感条锈病。5 个抗条锈病品种中,京麦 5379 虽中抗条锈病,但其为杂交种,因此仅长 5656(近免疫)、临麦 7006(中抗)、伊麦 158(中抗)和运麦 1521(中抗)可用做抗条锈病育种亲本。

综合来看,所有供试材料均不是优质且抗病的品种。今后应加快分析近年山西省小麦区域试验新品系(后备品种和高代品系)高分子量谷蛋白亚基组成,筛选优质和特异亚基。同时选用条锈、叶锈病的功能标记或连锁标记,明确其抗性基因组成,为山西省小麦品质与抗病育种和研究提供科学参考,以提高稳定时间作为主攻方向,培育高产、抗病、优质专用品种。

参考文献

[1] 杨丽雯,张永清,张定一,等. 山西省小麦生产的现状、问题与对策分析[J]. 麦类作物学报,2010,30(6):1154-1159.
[2] 郭美芳,温辉芹,裴自友,等. 山西省近年小麦病虫害发生特点及综合防控对策[J]. 农业网络信息,2017(2):107-111.
[3] 原宗英,武英鹏,夏宏,等. 山西小麦品种和育种材料抗锈病、白粉病鉴定[J]. 中国植保导刊,2017,37(2):15-18.
[4] 温辉芹,程天灵,裴自友,等. 山西省近年来审定小麦品种的综合性状分析[J]. 作物杂志,2018(4):32-36.
[5] 刘志勇,王道文,张爱民,等. 小麦育种行业创新现状与发展趋势[J]. 植物遗传资源学报,2018,19(3):430-434.
[6] 刘万才,刘振东,黄冲,等. 近 10 年农作物主要病虫害发生危害情况的统计和分析[J]. 植物保护,2016,42(5):1-9.
[7] 胡学旭,孙丽娟,周桂英,等. 2000—2015 年国家黄淮和北部冬麦区域试验品种品质分析[J]. 中国农业科学,2016,49(24):4677-4686.
[8] 王君,张振永,齐双丽,等. 黄淮南片小麦品种(系)品质现状分析[J]. 天津农业科学,2019,25(9):34-37.
[9] 曹颖妮,余大杰,赵光华,等. 2006—2016 年河南省小麦区域试验品种(系)的品质性状分析[J]. 麦类作物学报,2018,38(8):893-899.
[10] 赵倩,孙茂浩,姜守林,等. 近 6 年山东省小麦区试苗头品系品质性状分析[J]. 山东农业科学,2015,47(7):16-20.
[11] 刘天国,邱军,周益林,等. 中国冬小麦区域试验品种抗病性评价[J]. 中国农业科学,2015,48(15):2967-2975.
[12] 李娟,王文立,王峭,等. 2009—2018 年陕西省小麦区试品种(系)抗主要病害趋势分析[J]. 麦类作物学报,2019,39(12):1443-1449.
[13] 国家农作物品种审定委员会. 国家农作物品种审定委员会关于印发《主要农作物品种审定标准(国家级)》的通知[J]. 种子科技,2017(10):8-13.
[14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 小麦品种品质分类:GB/T 17320—2013[S]. 北京:中国标准出版社,2013.
[15] 程天灵,温辉芹,裴自友,等. 2015—2016 年度山西省冬小麦区域试验品种品质分析[J]. 种子,2018,37(7):130-133.

(上接第 44 页)

[7] DENG B L,YANG K J,ZHANG Y F,et al. Can heavy metal pollution defend seed germination against heat stress? Effect of heavy metals (Cu²⁺, Cd²⁺ and Hg²⁺) on maize seed germination under high temperature[J]. Environmental pollution,2016,216:46-52.
[8] ZHANG Y F,DENG B L,LI Z T. Inhibition of NADPH oxidase increases defense enzyme activities and improves maize seed germination under Pb stress[J]. Ecotoxicology and environmental safety,2018,158:187-192.
[9] GRČMAN H,VELIKONJA-BOLTA Š,VODNIK D,et al. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: Metal accumulation, leaching and toxicity[J]. Plant and soil,2001,235(1):105-114.
[10] LIPHADZI M S,KIRKHAM M B,MANKIN K R,et al. EDTA-assisted

heavy-metal uptake by poplar and sunflower grown at a long-term sewage-sludge farm[J]. Plant and soil,2003,257(1):171-182.
[11] HAO F S,WANG X C,CHEN J. Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in nickel-induced oxidative stress in roots of wheat seedlings[J]. Plant science,2006,170(1):151-158.
[12] JAKUBOWSKA D,JANICKA-RUSSAK M,KABAŁA K,et al. Modification of plasma membrane NADPH oxidase activity in cucumber seedling roots in response to cadmium stress[J]. Plant science,2015,234:50-59.
[13] BAILLY C,EL-MAAROUF-BOUTEAU H,CORBINEAU F. From intracellular signaling networks to cell death: The dual role of reactive oxygen species in seed physiology[J]. Comptes rendus biologies,2008,331(10):806-814.