

# 锗对水稻萌芽期的生理效应<sup>①</sup>

连玉武 段鹏程 王艳丽

(厦门大学生物学系 厦门 361005)

**摘要** 将水稻 (*Oryza sativa* L.) 种子浸于从 0 到  $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  不同浓度梯度的  $\text{GeO}_2$  溶液中, 测量其生理指标: 呼吸强度, 可溶性糖含量, 淀粉酶活性等。发现在浸种的前期,  $\text{GeO}_2$  对以上各项生理指标均有促进作用, 而随着浸种时间的延长, 促进逐渐减弱并转为抑制, 淀粉酶同工酶电泳则表明, 植物体内复杂多样的同工酶系统在一定范围内对  $\text{GeO}_2$  的毒害作用有某种程度的适应与调节能力。

**关键词**  $\text{GeO}_2$ , 水稻, 萌芽, 淀粉酶同工酶

## The Physiological Effects of Germanium Dioxide on the Germinating Rice Seeds

LIAN Yu-Wu DUAN Peng-Cheng WANG Yan Li

(Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract** Rice seeds were soaked in solutions with different concentrations of  $\text{GeO}_2$  ranged from 0 to  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Respiratory intensity, quantity of soluble sugar and activity of amylase were tested during germination. It was shown that  $\text{GeO}_2$  promoted all the indexes in the first stage of germination, but the promotive effect was decreasing late and at last  $\text{GeO}_2$  became inhibitive. Isoenzyme of amylase was analyzed by PAGE. The results showed that the newly appeared isoenzyme of amylase in the germinating rice seed can relieve the toxicity of  $\text{GeO}_2$ .

**Key words** Rice, Germanium dioxide, Germination, Isoenzyme of amylase

### 1 前言

尽管至今尚不能确定锗是人体必需的微量元素, 但由于许多种中药的医疗保健作用被认为与相对丰富的有机锗含量相关, 故近来有关锗的生物效应的研究日益受重视。

据国外有关的研究, 锗对植物体的作用, 大致有两方面: 一是正效应即促进生长。如把谷物种子置于含  $\text{GeO}_2$  水中浮育, 发现可促进生长。另据报道, 锗促进植物生长作用成下列序列: 稻谷, 木贼属植物比其它谷物明显, 菜豆则强于马铃薯。杨宁生等(1994)报道在绞股蓝愈伤组织培养中,  $\text{Ge-132}$  可促进其愈伤组织的生长和皂苷的积累。二是负效应即抑制生长。 $\text{GeO}_2$  在一定浓度时即抑制硅藻生长。Azam 等(1973)报道了锗、硅竞争作用影响硅藻生长。Wemer 和 Roth 在《植物的无机营养》一书中指出, 当  $\text{GeO}_2$  的浓度为  $0.15 \sim 0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 几个科的植物的生长均受到抑制, 如浮萍 (*Lemna minor*, 浮萍科); 烟草 (*Nicotiana tabacum*, 茄科); 紫露草 (*Tradescantia* sp.) 鸭跖草科; 黑麦 (*Secale cereale*, 早熟禾

① 收稿日期: 1998-05-04 接受日期: 1998-11-24 责任编辑: 姜联合

科) (Lauchhi, 1992)。

## 2 材料和方法

### 2.1 水稻种子的处理

实验材料为水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种‘佳禾七号’ (水稻种子由厦门大学生物学系提供)。用蒸馏水配制  $\text{GeO}_2$  溶液, 浓度分别为:  $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。挑选籽粒饱满均匀, 色泽金黄色的优质水稻种子在  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  下浸种于培养皿中 48 h 待处理。

### 2.2 测试方法

**2.2.1 水稻种子呼吸强度** 采用 pH 计比色法测定。pH 计为国产 PHS-3C 精密酸度计 (华东师范大学, 1981)。

**2.2.2 可溶性糖含量** 采用蒽酮比色法测定。蒽酮试剂配制为 1.5 g 蒽酮溶于浓硫酸。用光电比色计比色。

**2.2.3  $\alpha$ -淀粉酶活性测定** (华东师范大学, 1981) I-KI 显色法, 淀粉酶活性单位按下式计算:  $U_a = 60/t \times 20 \times 1\% \times f$  ( $f$  为稀释倍数,  $t$  为反应时间) (薛应龙, 1983)。

**2.2.4 淀粉酶同功酶的凝胶电泳** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定 (袁晓华, 1983)。

### 2.3 数理统计方法

聚类分析, 采用系统聚类法中最短距离法进行聚类分析, 其中数据标准化公式为:

$$x = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}}{S_x}$$

$x$  = 标准化数据;  $\bar{x}_i$  = 生理指标  $i$  的各次测量值;  $\bar{x}$  = 生理指标  $i$  的各次测量值之平均值  
 $S_x$  = 生理指标  $i$  测量值之均方差 (M°肯德尔, 1983)。

## 3 结果与讨论

### 3.1 $\text{GeO}_2$ 溶液浸种处理对水稻萌发的影响

在  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  条件下, 按  $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  六个浓度用  $\text{GeO}_2$  溶液对水稻种子进行浸种处理, 每 24 h 测定一次呼吸强度和可溶性糖含量的变化, 每 48 h 测量一次  $\alpha$ -淀粉酶活性的变化, 结果见 (表 1, 2)。

**3.1.1 对呼吸强度的影响** 表 1 表明, 在浸种前三天, 各浓度  $\text{GeO}_2$  溶液与水稻种子的萌发时呼吸强度的大小呈显著的相关性。但随着浸种时间的延长, 促进作用和相关性都有所减弱 (见表 1)。第一天,  $\text{GeO}_2$  浓度梯度对呼吸强度促进作用最佳, 相关作用拟合直线斜率为 0.024, 同时, 两者相关性极显著, 相关系数为  $0.931^{**}$ , 第三天,  $\text{GeO}_2$  浓度梯度虽继续促进水稻的呼吸强度, 但两者相关性已不显著 ( $r=0.74$ ), 拟合直线斜率 0.007。到第四天,  $\text{GeO}_2$  浓度梯度对水稻种子的呼吸强度已转为抑制作用, 且这种抑制作用极其显著 ( $r=-0.894^{**}$ ) 由以上分析可知,  $\text{GeO}_2$  浓度梯度对水稻种子呼吸影响趋势: 浸种初期具有一定促进作用, 但这种促进性随浸种时间的增加而递减, 最终转为抑制作用。

**3.1.2 对可溶性糖和  $\alpha$ -淀粉酶活性的影响** 从表 2 图 1 可发现  $\text{GeO}_2$  浓度梯度对水稻种子可溶性糖含量及  $\alpha$ -淀粉酶活性的影响与分析  $\text{GeO}_2$  对水稻种子呼吸强度影响所得到的结果是基本一致的, 即浸种初期  $\text{GeO}_2$  对水稻上述两个生理指标起促进作用, 后期则转变

为抑制作用。其中高浓度处理组在浸种第一天常表现出较大的促进作用,但这种促进作用随浸种时间的延长较中、低浓度组快速减弱,需强调的是表 2 中,对 6 个浓度处理组全面考虑时,只在浸种第五天,表现出  $\text{GeO}_2$  溶液浓度与可溶性糖含量呈相关性 ( $r=0.882^*$ ),第 1~4 天上述关系均不显著。 $\text{GeO}_2$  对水稻种子萌发不同时间各生理指标的影响差异较大,在浸种的第一、三天,  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处理组的呼吸强度,  $\alpha$ -淀粉酶活性,分别为  $0.1772 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $0.1421 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  和  $156.69 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,  $216.38 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  两者是  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组的 139%, 112% 和 106%, 96.12%。显然,浸种的第一天高浓度锆有一定促进作用,第三、五天,表现抑制作用。由于水稻种子呼吸作用要消耗大量胚乳中储存的及  $\alpha$ -淀粉酶水解淀粉得到的可溶性糖,使  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组的可溶性糖含量低于  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组,致使  $\text{GeO}_2$  浓度梯度与可溶性糖含量相关性不明显。

表 1 不同浓度  $\text{GeO}_2$  对水稻种子萌发时呼吸强度影响 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )

天 \ $\text{GeO}_2$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0	0.02	0.2	0.5	0.8	1.0	3.0
1	0.0919	0.1068	0.1148	0.1348	0.1157	0.1272	0.1774
2	0.1113	0.1185	0.1234	0.1173	0.1202	0.1304	0.1330
3	0.1118	0.1233	0.1316	0.1327	0.1242	0.1266	0.1421
4	0.1381	0.1356	0.1233	0.1326	0.1277	0.1247	0.1096
5	0.1517	0.1441	0.1253	0.1296	0.1272	0.1178	0.1080

表 2 不同浓度  $\text{GeO}_2$  对水稻种子萌发时可溶性糖含量的影响 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )

天 \ $\text{GeO}_2$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0	0.02	0.2	0.5	0.8	1.0	3.0
1	0.511	0.685	0.590	0.614	0.700	0.724	0.708
2	0.559	0.456	0.637	0.716	0.747	0.787	0.700
3	0.637	0.582	0.551	0.386	0.354	0.543	0.496
4	0.661	0.674	0.275	0.134	0.283	0.205	0.275
5	0.612	0.556	0.393	0.414	0.456	0.378	0.268

**3.1.3 对  $\text{GeO}_2$  浸种溶液浓度的 Q 型聚类分析** 由于植物体各生理指标对外界刺激反应不一致,应综合分析  $\text{GeO}_2$  各浓度对水稻种子萌发三个生理指标的影响效果,本文采用系统聚类分析法对浸种第一天,第五天的生理指标进行 Q 型聚类分析。结果见(图 2, 3)。

从图 2 可知,在浸种第一天,各浓度  $\text{GeO}_2$  溶液对水稻种子上述三个生理指标均表现促进作用,程度优于对照组,而对照组与各浓度处理组距离较远自成一类。在  $\text{GeO}_2$  处理组中,高浓度的  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处理组促进效果显著,独立于其余浓度梯度而成一组类。 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ — $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处理组促进程度一般,成一组类。其中  $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处理组效果较相似,成两个小类。

从图 3 可见,在浸种第五天,  $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组对水稻种子影响轻微与对照组较相似而明显区别于其余浓度组,故成一类。在其余浓度处理组中,  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组对水稻种子抑制作用较相近,成为处理组的核心,而  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的抑制作用距离该核心逐渐增大,从图 2~3 分析可知,  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组的抑

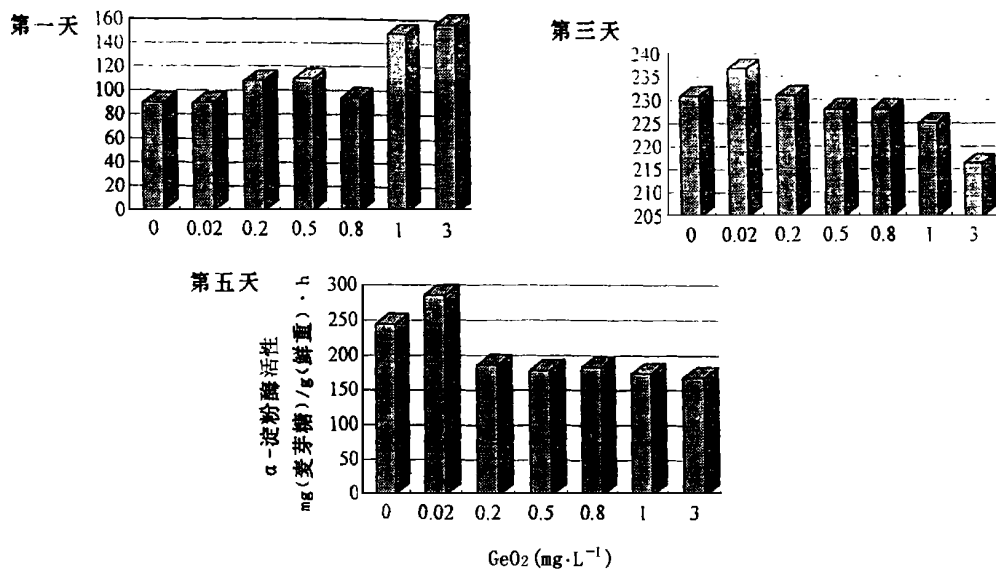


图1 不同浓度  $CeO_2$  对水稻种子萌发时  $\alpha$ -淀粉酶活性的影响

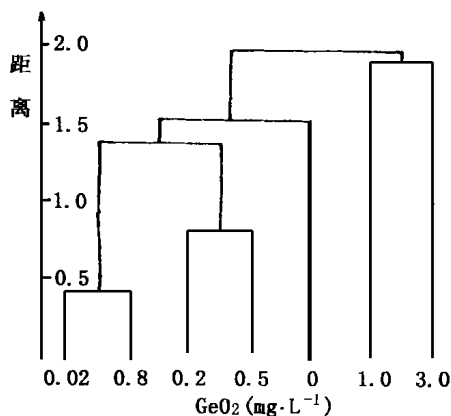


图2  $CeO_2$  浸种第一天效果聚类

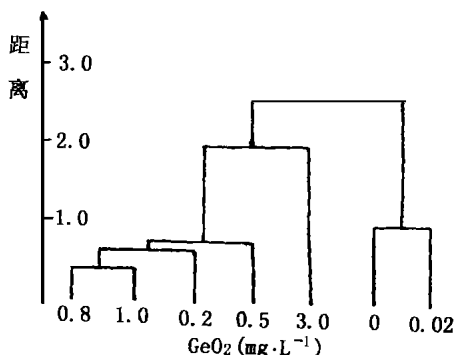


图3  $CeO_2$  浸种第五天效果聚类

制效果小于核心处理组。而  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组的抑制程度远大于核心处理组，位于整个浓度组边缘。

**3.1.4 淀粉酶同功酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳分析**  $\alpha$ -淀粉酶是水稻种子萌发过程中最重要的水解酶类。水稻种子萌发过程中，淀粉酶活性与胚乳消耗速率呈正相关(陆定志等, 1987)。

为研究  $GeO_2$  溶液浸种处理下淀粉酶特性，将在  $20^\circ\text{C}$  条件下，于  $GeO_2$  各浓度溶液浸种 5 d, 10 d, 15 d 的水稻种子，经聚丙烯酰胺凝胶电泳，结果见图 4。

在浸种第五天的淀粉酶同功酶电泳照片中只有一条酶带，且带中各酶点面积随  $GeO_2$  浓度的升高而缩减，表明淀粉酶活性受到  $GeO_2$  抑制，这与在第五天得到的  $\alpha$ -淀粉酶活性与  $GeO_2$  浓度的一元相关方程： $y = 222.12 - 24.5x$  ( $r = 0.581$ ) 相符。

在第 10 天，第 15 天的同功酶电泳中，得到两条酶带，表明：随培养时间的增加，水稻

种子生成新一类淀粉酶,从而使淀粉酶活性得以进一步加强。在第 15 天电泳照片中,现象较为特殊,新类型淀粉酶的酶点随  $\text{GeO}_2$  浓度梯度而扩增,而最初出现的淀粉酶酶点则随  $\text{GeO}_2$  浓度梯度而缩减。相对同一  $\text{GeO}_2$  浓度梯度,两种淀粉酶同功酶表现出不同发展趋势,显示着新酶带的产生与  $\text{GeO}_2$  浸种对种子的刺激作用有关。其可能机理在于;由于  $\text{GeO}_2$  对萌发种子最初产生的淀粉酶形成毒害,抑制了稻种正常的生理功能,随后所形成新的同功酶补偿了部分抑制的原淀粉酶所丧失的功能。所以新类型淀粉酶同功酶的活性因  $\text{GeO}_2$  的毒害作用超出种子对环境刺激的反应范围。这说明了生物体具备大量的各种类型同功酶,从而提高了对环境适应能力的生物学意义,但  $\text{GeO}_2$  对淀粉酶同功酶的刺激作用需更广范围和更深入的研究。

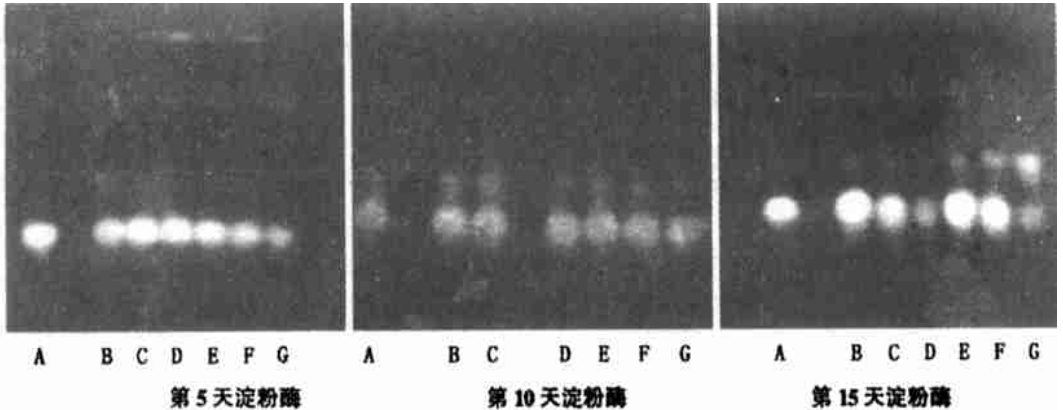


图 4 淀粉酶同功酶聚丙烯酰胺凝胶电泳图(A 为对照 B C ……G 浓度依次升高)

### 3.2 结论

1. 在  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下,分别用  $0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.02\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{GeO}_2$  对水稻进行浸种处理。结果表明:在浸种后三日内,各浓度  $\text{GeO}_2$  溶液对水稻种子萌发均有促进作用,其中,在浸种第一天以  $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度的  $\text{GeO}_2$  促进作用较大。在浸种后期,这种促进作用逐渐减弱,并最终转化为抑制作用,且抑制程度的大小与浸种溶液中  $\text{GeO}_2$  浓度成正相关。

2. 淀粉酶同功酶电泳表明:在一定范围内,水稻种子对  $\text{GeO}_2$  的毒害表现出一定的适应和调节能力。表现在:在用  $\text{GeO}_2$  溶液培养水稻种子第十五天,所进行的淀粉酶电泳中,新一类淀粉酶同功酶活性明显随溶液中  $\text{GeO}_2$  浓度的提高而增高。

### 参 考 文 献

- 王菱, 1992. 生命科学中微量元素, 北京:中国计量出版社, 第 510~535 页  
 华东师范大学, 1981. 植物生理学实验指导, 上海:人民教育出版社, 第 224~230 页  
 杨宁生等, 1994. 植物生理学通讯, 30(4):313~315  
 陆定志等, 1987. 植物生理学报, 13(4):418~421  
 袁晓华等, 1983. 植物生理学实验, 北京:高等教育出版社, 第 233~247 页  
 薛应龙, 1983. 植物生理学实验手册, 上海:上海科技出版社, 第 10~48 页  
 Azam F, Hemmingse n B B, Volcani B E. Germanium incorporation into the silica of diatom cell walls, 1973, 92 :11~20  
 Lauchhi(美), 1992. 植物的无机营养, 北京:农业出版社, 第 378~385 页  
 M. 肯德尔(美), 1983. 多元分析, 北京:科学出版社, 第 38~59 页