

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

☒ 成果報告

☐ 期中進度報告

氮素同化作用與水稻幼苗鎘耐性上間關係之研究

計畫類別：☒ 個別型計畫 ☐ 整合型計畫

計畫編號：NSC92-2313-B-002-095

執行期間： 92 年 08 月 01 日至 93 年 07 月 31 日

計畫主持人：高景輝

共同主持人：

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：☒ 精簡報告 ☐ 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

☐ 赴國外出差或研習心得報告一份

☐ 赴大陸地區出差或研習心得報告一份

☒ 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

☐ 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

☐ 涉及專利或其他智慧財產權，☐ 一年☐ 二年後可公開查詢

執行單位：國立台灣大學農藝系

中 華 民 國 93 年 8 月 10 日

行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告

計劃編號：NSC92-2313-B-002-095

執行期限：92 年 8 月 1 日至 93 年 7 月 31 日

主持人：高景輝 執行機構及單位名稱：台大農藝系

一、中文摘要

本研究係以水稻幼苗台中在來一號 (*Oryza sativa* cv. Taichung Native 1, TN1) 及台農六十七號 (*Oryza sativa* cv. Tainung 67) 為試驗材料，探討氮素同化作用與 TN1 及 TNG67 幼苗鎘毒害耐性間之關係。

TN1 水稻幼苗葉片對鎘毒害不具耐性，但 TNG67 幼苗葉片對鎘毒害具有耐性。處理氯化鎘，TN1 幼苗葉片銨離子累積，總胺基酸含量增加，glutamine synthetase (GS) 活性下降、protease 活性增加，但 TNG67 則無明顯變化。TN1 幼苗前處理 ABA，減緩鎘之毒害與銨離子之累積以及 GS 活性之降低。TNG67 幼苗處理 ABA 合成抑制劑 fluridone，降低 ABA 含量與對鎘之耐性，增加銨離子含量以及降低 GS 活性。除了 methionine 外，鎘處理 TN1 葉片會導致葉片各種胺基酸含量之增加，但鎘對 TNG67 葉片則沒有明顯之影響。鎘處理會降低 TN1 葉片 methionine 之含量。

關鍵詞：水稻、鎘耐性、銨離子、胺基酸

Abstract

Cd-tolerant and Cd-sensitive rice cultivars were used to study the effect of CdCl_2 on nitrogen assimilation. On treatment with CdCl_2 , NH_4^+ content increased and glutamine synthetase (GS)

decreased rapidly in the leaves of the Cd-sensitive cultivars (cv. Taichung Native 1, TN1) but not in the Cd-tolerant cultivar (cv. Tainung 67). Pretreatment with abscisic acid (ABA) enhanced Cd tolerance, reduced Cd-induced NH_4^+ accumulation, and decrease in GS activity in leaves of TN1 seedlings. Exogenous application of the ABA biosynthesis inhibitor, fluridone, decreased ABA content, reduced Cd tolerance, increased NH_4^+ content, and decreased GS activity in leaves of TNG67. Evidence is presented to show that Cd-induced NH_4^+ accumulation in TN1 leaves is attributable to a decrease in GS activity. Following treatment with CdCl_2 , protein content decreased with a progressive and substantial increase of protease activity and total amino acids in TN1 leaves, but not in TNG67 leaves. The pattern of individual amino acids in Cd-treated leaves of both cultivars were examined and, only in TN1 seedling leaves a substantial increase in the content of all amino acids analysed, except for methionine, was recorded. The decrease in methionine content in TN1 leaves treated with CdCl_2 was observed.

Key words: *Oryza sativa* L., Cd tolerance, ammonium ion, amino acids

二、緣由與目的

鎘是一種二價陽離子之重金屬，且為重金屬中，毒性很強之一種重金屬。鎘會引起植物形態、生理、生化與構造上之變化。鎘對植物氮素同化作用之影響甚少研究。鎘會降低 GS 活性。GS 活性之降低是引起銨離子累積原因之一。銨離子為氮素同化作用中一重要之中間產物，然而過多之銨離子會造成植物細胞之毒害。很少研究探討鎘對銨離子累積之影響。同時也很少研究探討銨離子累積與鎘毒害間之關係。因此，銨離子與鎘毒害間之關係，應是一值得探討之問題。

由鎘對葉綠素、蛋白質、蛋白質水解酵素活性、脂質過氧化作用之影響，一般相信，鎘會造成葉片之老化。環境逆境造成胺基酸累積是一常見之反應。環境逆境常被發現可造成脯胺酸之累積。此外，環境逆境亦可造成其他胺基酸(如 asparagine, isoleucine, leucine, methionine 與 valine)之累積。然而，很少研究探討鎘對植物各種胺基酸之影響。

在台灣鎘污染是造成水稻生產的一個嚴重問題。因此，水稻耐鎘之機制急待瞭解。我們的研究，顯示台農 67 號水稻幼苗對鎘逆境之耐性較台中在來 1 號水稻幼苗為高。這兩個品種是探討水稻耐鎘機制的一個很好系統。本計畫即在探討這兩個種在鎘逆境下，銨離子、蛋白質及各種胺基酸含量，GS 及蛋白質水解酵素活性與蛋白質質的變化。期望能瞭解這些變化是否與鎘耐性有關。

三、結果與討論

以葉綠素與蛋白質含量之降低作為鎘毒害之指標，可發現 TN1 幼苗較 TNG67 幼苗不耐鎘(圖 1)。TN1 幼苗經鎘處理後，明顯的銨離子累積與 GS 活性降低，而 TNG67 經鎘處理後則無此現象(圖

2)。TN1 幼苗經 ABA 前處理後降低鎘毒害，減輕銨離子含量增加及 GS 活性之降低(圖 3)。而以 ABA 合成抑制劑 fluridone 處理 TNG67 幼苗，降低 ABA 含量、增加鎘之毒害、銨離子累積同時降低 GS 活性(表 1)。因此，銨離子之累積是造成水稻幼苗鎘毒害之一種原因。

鎘處理 TN1 幼苗，亦可增加 protease 活性與總胺基酸含量，但對 TNG67 則無此影響(圖 4)。我們也檢定了鎘對各種胺基酸含量變化之影響，發現除了 methionine 之外，鎘處理都會增加 TN1 幼苗葉片每一種胺基酸含量(圖 5 與圖 6)。鎘處理會降低 TN1 葉片之 methionine 含量(圖 7)。我們過去的研究顯示 methionine 處理水稻葉片可延緩葉綠素含量之降低(Kao 1980)，此似乎說明 methionine 之降低很可能與鎘毒害有關。

四、計劃成果與自評

整個計劃執行，達到預期之成果。計劃結果對於鎘與水稻幼苗氮素代謝間關係能有深入的了解。

五、參考文獻

- Hsu, Y.T. & Kao, C.H. (2003) Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Cell Environment* 26, 867-874.
- Kao, C.H. (1980) Senescence of rice leaves IV. Influence of benzyladenine on chlorophyll degradation. *Plant Cell Physiology* 21, 1255-1262.
- Mifflin, B.J. & Lea, P.J. (1976) The pathway of nitrogen assimilation in plants. *Phytochemistry* 15, 873-885.

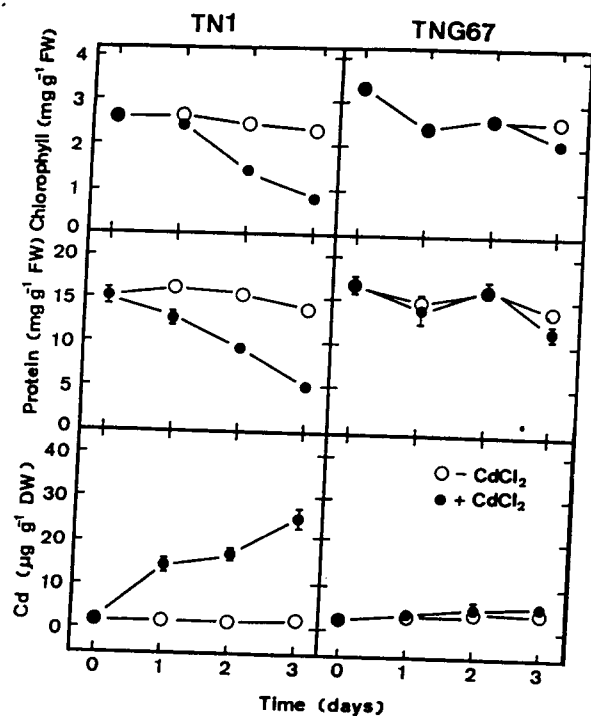


Figure 1. Changes in chlorophyll, protein and Cd contents in the second leaves of rice seedlings either untreated or treated with CdCl₂ (0.5 mM). Vertical bars represent standard errors (n = 4)

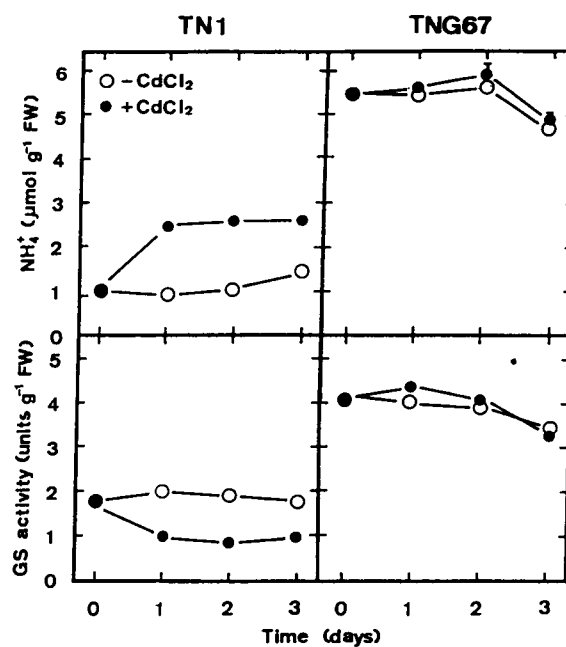


Figure 2. Changes in NH₄⁺ and GS activity in the second leaves of rice seedlings either untreated or treated with CdCl₂ (0.5 mM). Vertical bars represent standard errors (n = 4)

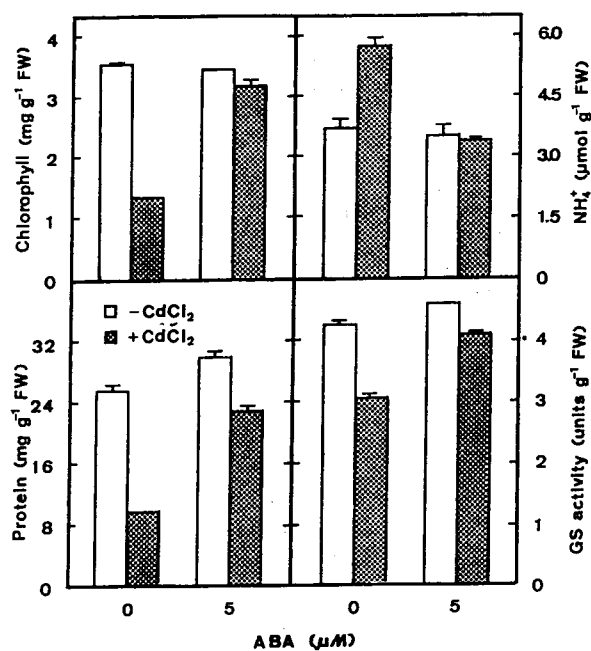


Figure 3. Effect of ABA-pretreatment on the contents of chlorophyll, protein, NH₄⁺ and the activity of GS in the third leaves of TN1 rice seedlings. TN1 rice seedlings were pretreated with ABA for 2 d and then either untreated or treated with CdCl₂ (1.5 mM) for 2 d. Vertical bars represent standard errors (n = 4)

Table 1. Effect of fluridone on the contents of ABA, chlorophyll, protein and NH_4^+ and the activity of GS in the second leaves of TNG67 rice seedlings.

Treatment		ABA	Chlorophyll	Protein	NH_4^+	GS activity
CdCl ₂	Fluridone	(pmol g ⁻¹ FW)	(mg g ⁻¹ FW)	(mg g ⁻¹ FW)	($\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	(units g ⁻¹ FW)
-	-	538.6 $\pm$ 30.6	3.3 $\pm$ 0.46	12.4 $\pm$ 1.0	4.7 $\pm$ 0.41	3.2 $\pm$ 0.24
-	+	252.0 $\pm$ 34.9	3.1 $\pm$ 0.10	12.6 $\pm$ 0.41	4.4 $\pm$ 0.40	3.3 $\pm$ 0.17
+	-	991.4 $\pm$ 117.8	2.8 $\pm$ 0.21	12.5 $\pm$ 0.31	4.3 $\pm$ 0.39	2.8 $\pm$ 0.21
+	+	548.8 $\pm$ 111.9	2.2 $\pm$ 0.07	8.0 $\pm$ 0.79	6.1 $\pm$ 0.86	2.1 $\pm$ 0.02

CdCl₂ (0.5 mM) or fluridone (0.2 mM) was added to the culture solution for 2 d. The data represent mean values $\pm$ standard errors, $n = 4$.

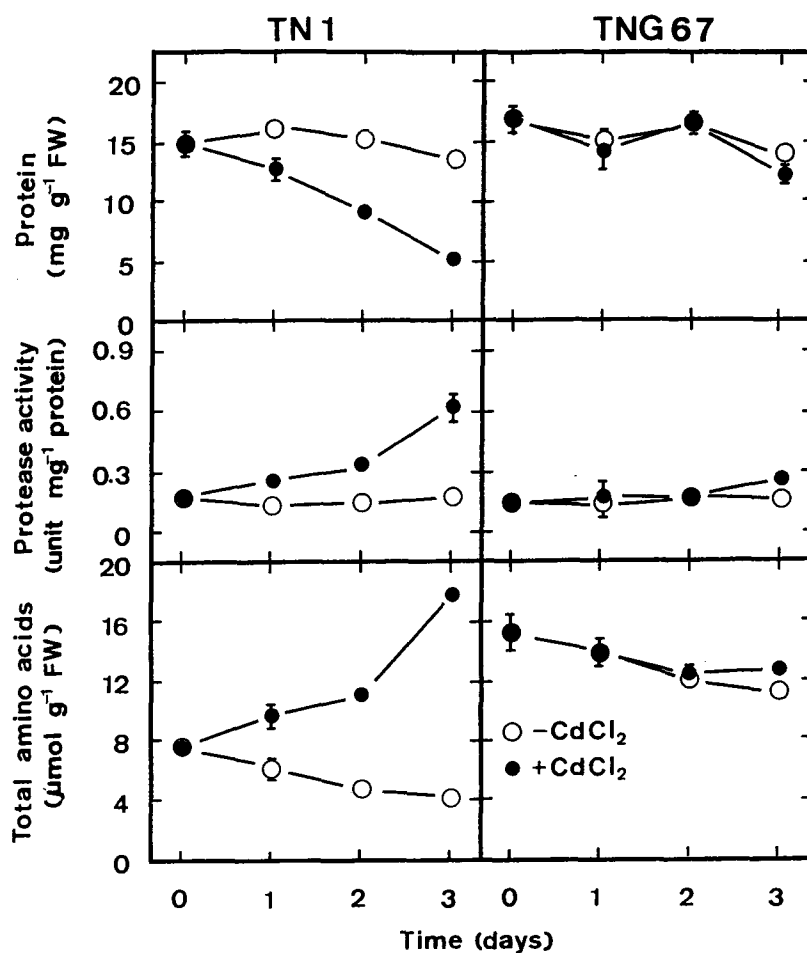


Figure 4. Changes in the contents of protein and total amino acids, and the activity of protease in the second leaves of rice seedlings untreated or treated with CdCl₂ (0.5 mM). Vertical bars represent S.E. ($n = 3$).

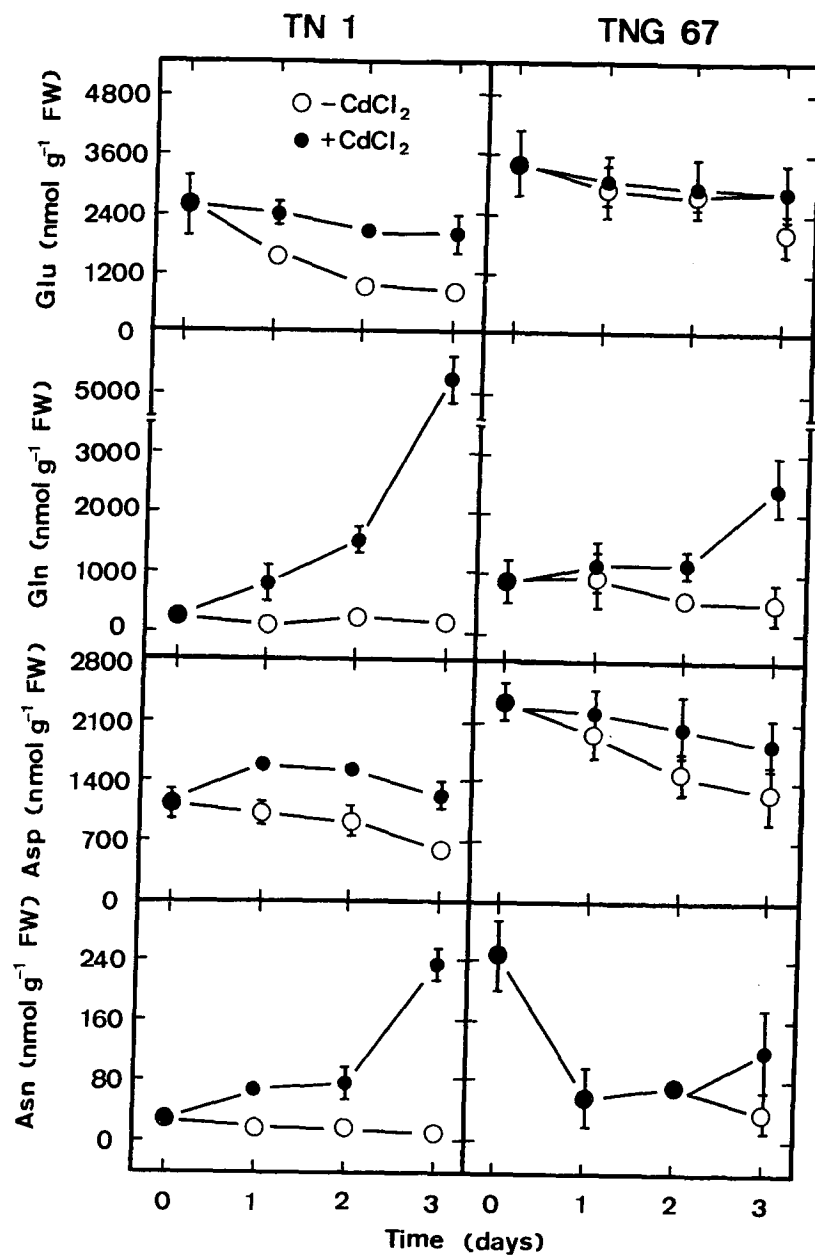


Figure 5. Changes in the contents of glutamic acid (Glu), glutamine (Gln), aspartic acid (Asp), and asparagine (Asn) in the second leaves of rice seedlings untreated or treated with CdCl_2 (0.5 mM). Vertical bars represent S.E. ($n = 3$).

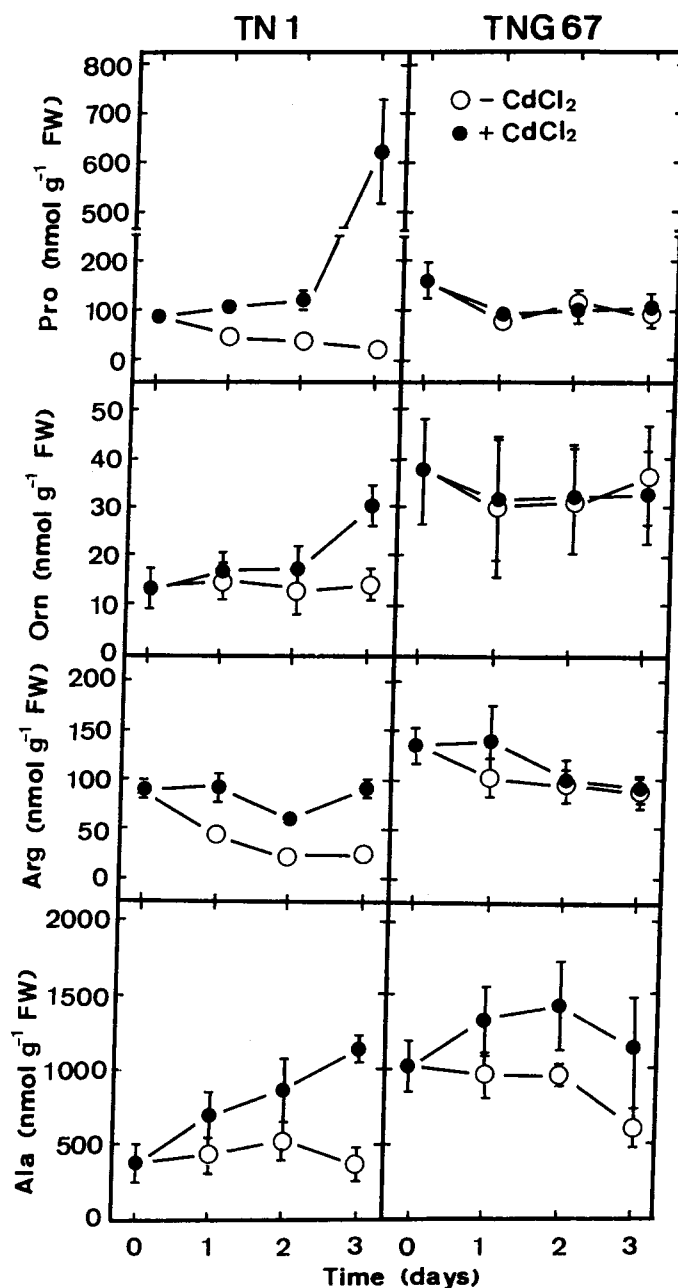


Figure 6 Changes in the contents of proline (Pro), ornithine (Orn), arginine (Arg), and alanine (Ala) in the second leaves of rice seedlings untreated or treated with CdCl_2 (0.5 mM). Vertical bars represent S.E. ($n = 3$).

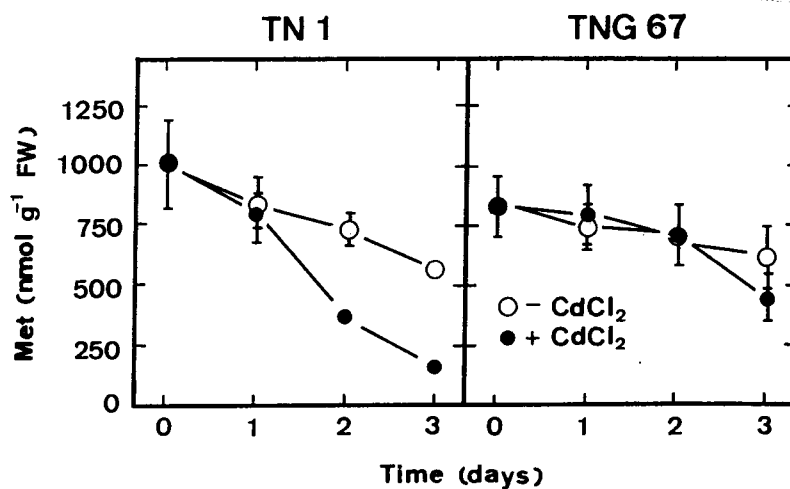


Figure 7 Changes in the content of methionine (Met) in the second leaves of rice seedlings untreated or treated with CdCl_2 (0.5 mM). Vertical bars represent S.E. ($n = 3$).