

镉对小麦种子萌发、幼苗生长及抗氧化酶活性的影响

何俊瑜, 任艳芳, 任明见, 王阳阳

(贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 为了防止重金属毒害的发生和在环境监测中对重金属的评价, 以小麦为试验对象, 采用室内培养方法, 研究了不同浓度镉胁迫对小麦种子萌发和幼苗生长、丙二醛及抗氧化酶系统的影响, 结果表明, 较低浓度镉胁迫对种子发芽率、发芽势、芽生长的抑制效应较小。随着镉胁迫浓度的提高, 发芽指数、活力指数及根生长明显受抑制, 且镉胁迫浓度越大, 抑制作用越大。随着镉浓度的增加, 幼苗根、芽中的 MDA 含量、G-POD 明显增加, SOD 活性呈现先增加后降低的趋势, 其中根的 SOD 活性在 1 000 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫下略低于对照, 而 CAT、APX 活性总体呈下降趋势, 且浓度越高下降幅度越大, 表明遭受了氧化胁迫和膜脂过氧化损伤, 这可能是镉胁迫下小麦幼苗根生长受阻的重要原因。

关键词: 镉; 小麦; 萌发; 幼苗生长; 抗氧化酶

中图分类号: S143.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2009)05-0135-05

Effect of Cadmium Stress on Seed Germination, Seedling Growth and the Activities of Antioxidant Enzymes of Wheat

HE Jun-yu, REN Yan-fang, REN Ming-jian, WANG Yang-yang

(College of Agronomy, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Cadmium (Cd) was a highly toxic and persistent environmental poison, its increasing level in soil environment exerted a wide range of adverse effects on plants and even the health of human beings by food chains. In the study, the effects of Cd at different concentrations on wheat seeds germination, seedlings growth and the activities of antioxidant enzymes were studied. The results showed the germination percentage, germination potential and shoot growth were not significantly inhibited by cadmium, especially at low Cd concentrations. However, germination index, vigor index, root growth were restrained evidently with the increase of Cd stress. The content of MDA and activities of G-POD in root and shoot increased significantly with the increasing of Cd concentration. The activities of SOD first increased and then decreased as the Cd concentration increased and it was slightly lower than that of control in root under 1 000 $\mu\text{mol/L}$ Cd stress. However, the activities of CAT and APX were decreased with concentration-dependent manner, i.e., the higher concentration of cadmium, the greater changes the enzyme activities, suggesting oxidative damage and membrane lipid peroxidation occurred in seedlings, and it might be the important reason for the growth inhibition of roots subjected to cadmium stress.

Key words: Cd stress; Wheat; Germination; Seedling growth; Antioxidant enzymes

重金属污染是当今污染面积最广、危害最大的环境问题之一, 我国受重金属污染的耕地面积近 2 000 万 hm^2 , 约占总耕地面积的 1/5。由于重金属污染毒理机制和生物效应的复杂性, 重金属污染问题一直是国内外的研究热点^[1]。其中镉 (Cd) 由于其高移动性和高毒害性尤为人们所关注^[2], 已被公认为是对人类最具威胁的主要有毒重金属之一。据不完全统计, 我国受 Cd 污染的农田面积达到 2.8×10^5

hm^2 。每年生产 Cd 含量超标农产品 1.46×10^{10} kg, 严重危害着农业生态环境和人民的生活质量^[1-4]。土壤一旦遭受重金属镉污染, 就会不断积累, 不易治理恢复。然而矿产资源大量开发利用、污泥农用、污灌等工农业生产及城市的迅猛发展, 使得越来越多的 Cd 进入农作物生产系统^[1]。当 Cd 在环境中含量达到或超过伤害阈值时, 可引起植物生理生化代谢紊乱, 表现出生长迟缓、植株矮小、褪绿等中毒症

收稿日期: 2009-05-04

基金项目: 贵州省科技厅成果推广计划 (200880); 贵州省农业厅动植物育种专项项目 (2007003); 贵州省自然科学基金 (20072058)

作者简介: 何俊瑜 (1975-), 男, 山西河曲人, 副教授, 博士, 主要从事环境生理生态方面的研究。

状,严重影响产量和质量^[5,6],而且通过食物链富集危害人体健康,对人类健康构成严重威胁。

镉作为一种有害重金属元素,前人对其在植物体内迁移途径、分布规律、毒害机理等方面已进行了大量的研究^[5-7],形成了较为清晰的 Cd 生态生理效应,但对 Cd 在植物生活周期中不同生育阶段效应的研究尚不多见。种子萌发既是植物生活周期的起点,也是植物感知外界环境的最初生命阶段,因而,研究种子在萌发阶段受重金属污染的影响具有重要的现实意义。已有研究表明,Cd 对植物的伤害首先会表现在种子的萌发和幼苗生长的变化上^[8-10]。植物种子发芽毒性试验较其他毒性试验方法有两大优点:一是方法简单,持续时间短;二是这种方法对毒物毒性比较敏感。国际上一些组织如美国 EPA、FDA 以及 OECD 等建议使用种子萌发进行生理毒性试验^[10]。小麦是我国主要粮食作物之一,小麦种子萌发时期生长状况直接影响作物以后的生长和产量,因此,在当前重金属污染日益严重的情况下研究种子在萌发阶段受重金属污染的影响显得尤为重要。本研究采用模拟 Cd 污染的试验方法,以小麦作为研究材料,探讨 Cd 胁迫对小麦种子萌发及部分生理特性的影响,为农业生产早期预报重金属对小麦的毒害效应,防止重金属毒害的发生和在环境监测中对重金属污染的评价,提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试小麦品种为丰优 2 号 (*Triticum aestivum* L. cv. Fengyou No. 2)。

1.2 试验设计与处理

选取健康饱满的种子用 5 % NaClO 消毒 10 min,去离子水反复冲洗干净,蒸馏水浸种 24 h 后,均匀播于铺有 2 层滤纸的培养皿中,每皿 50 粒种子。分别用 1, 5, 10, 25, 75, 200, 500, 1 000 $\mu\text{mol/L}$ CdCl₂ (以 Cd²⁺ 浓度计) 溶液来浸润种子,以去离子水处理为对照。于 25 °C 培养箱中培养,培养箱内保持相对湿度 85 % ~ 90 %,各处理均重复 3 次,每隔 1 d 更换相应培养液。培养 7 d 后测定萌发指标,并取样保存于低温冰箱中用于生理指标的测定。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 萌发指标测定 种子萌发期间,每日观察萌发种子数。第 3 天统计发芽势。培养 7 d 后,测定芽长、根长、芽鲜质量、根鲜质量,并统计发芽率、发芽指数和活力指数。

$$\text{发芽率 (GR)} = G/T \times 100 \%$$

$$\text{发芽势 (GP)} = G/T \times 100 \%$$

$$\text{发芽指数} = G/Dt$$

$$\text{活力指数} = \text{活力指数 (VI)} = S \times GI$$

式中 G_t 为在 t 日的发芽数 (发芽率为 7 d, 发芽势为 3 d); Dt 为相应的发芽天数; T 为种子总数; S 为胚根长。

1.3.2 生理指标测定 丙二醛 (MDA) 含量和 SOD 活性测定参考张志良等^[11]的方法; 愈创木酚过氧化物酶 (G-POD) 活性测定参考 Klapheck 等^[12]的方法; 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性测定参考 Nakano 和 Asada^[13]的方法; 过氧化氢酶 (CAT) 活性测定参考 Aebi^[14]的方法。以 $A_{560 \text{ nm}}$ 下抑制 NBT 还原的 50 % 所需的酶量为 SOD 的一个酶活单位; 在一级反应范围内, 分别以每分钟内 A_{470} 、 A_{290} 和 A_{240} 变化 0.01 为 G-POD、APX 和 CAT (以鲜质量计) 的一个酶活单位, 用 U/g 表示。

1.4 数据分析

所有数据均取 3 次重复平均值, 采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS10.0 统计分析软件进行数据分析及差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同浓度镉胁迫对小麦种子萌发的影响

图 1 表明, 1 ~ 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 Cd 胁迫使小麦种子的发芽率略微降低, 当 Cd 浓度达到 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 发芽率显著降低, 为对照的 78 %。比较各处理的发芽势 (图 1-B), 1 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫对发芽势有轻微的刺激作用; 随着 Cd 浓度的增加, 发芽势逐渐降低, 当 Cd 浓度高于 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, 发芽势明显降低。

发芽指数的变化趋势与发芽率基本相同 (图 1-A, C), 高于 75 $\mu\text{mol/L}$ 的 Cd 胁迫使得种子发芽指数显著降低 ($P < 0.05$), 且浓度越高抑制程度越大, 表明小麦种子的发芽速度随着 Cd 胁迫程度的加剧而减慢。

活力指数的高低可以显示出种子萌发后的长势质量。图 1-D 结果表明, 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 Cd 浓度对种子的活力指数有轻微的促进作用, 随着 Cd 胁迫浓度增加, 活力指数逐渐降低。在 10 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫下活力指数明显降低 ($P < 0.05$), 当 Cd 浓度达到 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 活力指数降至对照的 4.1 %。说明镉对小麦种子萌发最主要的伤害是影响萌发后幼苗的活力, 而且随着镉浓度的增加, 萌发后幼苗的活力降低更为明显。

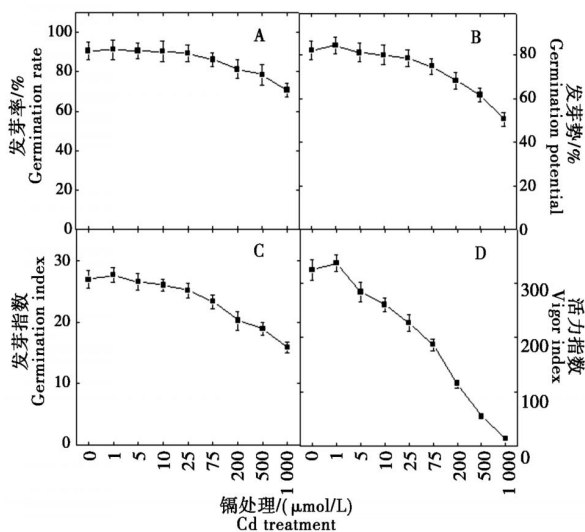


图1 Cd胁迫对小麦种子发芽率(A)、发芽势(B)、发芽指数(C)和活力指数(D)的影响

Fig.1 Effects of Cd on germination rate (A), germination potential (B), germination index (C) and vigor index (D) of wheat

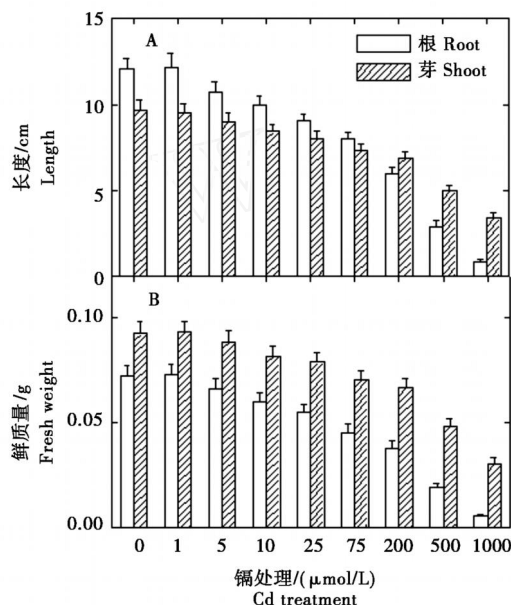


图2 Cd胁迫对小麦幼苗根、芽生长的影响

Fig.2 Effects of Cd on root and shoot growth of wheat seedlings

2.2 镉对小麦幼苗的根和芽生长的影响

不同浓度的Cd胁迫对小麦幼苗根和芽的生长存在着不同程度的影响。图2-A结果表明:1 μmol/L Cd对根的生长有轻微的刺激作用,但差异不显著。之后随着Cd胁迫浓度的增加,Cd对根的生长产生了抑制作用,根呈现变短变粗的趋势。在10 μmol/L Cd胁迫下,根的长度受到明显的抑制($P < 0.05$),与对照相比,在10,25,75,200,500和1000 μmol/L Cd胁迫下,根长分别下降了17.0%,25.1%,41.0%,57.2%,75.8%和93.2%。与根相比,低浓

度Cd胁迫对芽生长无明显影响,75 μmol/L Cd胁迫明显抑制芽的生长($P < 0.05$),当Cd浓度增至1000 μmol/L时,芽长仅为对照的35.1%。相比而言,根的生长对Cd胁迫的反应比芽更加敏感。

Cd对小麦幼苗根质量、芽质量的影响,总的趋势是分别与根长、芽长呈现相似的规律(图2-B)。

2.3 Cd对小麦幼苗中MDA含量的影响

MDA是植物器官在逆境下发生膜脂过氧化作用的产物之一,通常将MDA作为膜脂过氧化指标,用于表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。由图3可知,随着Cd胁迫浓度的增加,根中MDA含量逐渐增加,当Cd处理浓度大于5 μmol/L时,MDA含量明显增加,表明随Cd浓度的增大,根膜脂过氧化水平的提高,膜系统的稳定性下降,膜受到伤害加剧。与根中一致,芽中MDA含量也是随着Cd胁迫浓度的增加而呈增加的趋势,但增加幅度较小,与CK相比,只在大于10 μmol/L Cd胁迫下才达到明显差异。

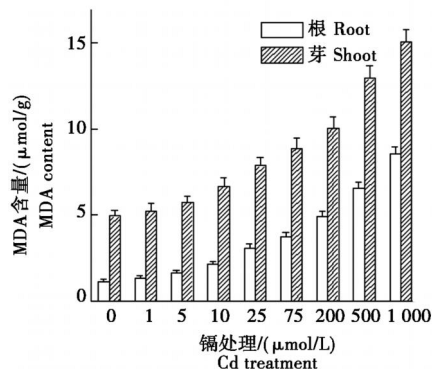


图3 Cd胁迫对小麦幼苗根、芽中MDA含量的影响

Fig.3 Effects of Cd on the content of MDA in root and shoot of wheat seedlings

2.4 镉对小麦幼苗中抗氧化酶的影响

SOD广泛分布于细胞各组成部分,催化 O_2^- 或 HO_2^- 歧化为 H_2O_2 ,一定程度上控制着ROS的含量,但其活性又受ROS的影响。图4表明,随着Cd胁迫浓度的增高,SOD活性(以鲜质量计)呈先上升后下降的趋势。在10 μmol/L Cd胁迫下,根中SOD活性显著高于对照,当Cd浓度达到75 μmol/L时,根中SOD活性达到最大值,比CK增加了77.4%;此后,继续提高Cd浓度,SOD活性有所降低,在1000 μmol/L时,根中SOD活性略低于对照。对于芽来说,当Cd浓度高于25 μmol/L时,SOD活性显著高于对照,在500 μmol/L Cd胁迫下达到最大。说明在镉处理下,小麦幼苗产生了大量的氧自由基,SOD是氧自由基的清除剂,可清除耗氧生物活细胞的 O_2^- ,防止生物膜脂质过氧化,对生物膜起保护作用。黄

玉山等^[15]认为 SOD 活性的提高是相当于增加氧气清除氧自由基。急性解毒措施,即小麦受 Cd 污染后,SOD 可迅速

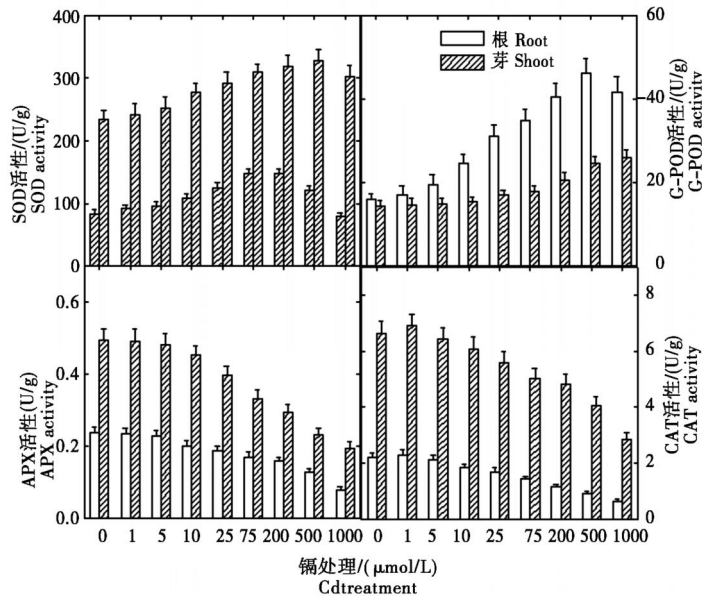


图4 Cd胁迫对小麦幼苗根、芽中SOD、G-POD、APX和CAT活性的影响

Fig. 4 Effects of Cd on SOD, G-POD, APX and CAT enzyme activities in root and shoot of wheat seedlings

过氧化物酶和过氧化氢酶具有清除植物体内活性氧自由基、维持细胞膜稳定性的功能。图4结果表明,随着Cd胁迫浓度的增加,根中的G-POD活性(以鲜质量计)基本上呈现出逐渐增加的趋势。与对照相比,除1 μmol/L的Cd胁迫下,根中G-POD活性没有明显增加外,5, 10, 25, 75, 200, 500和1 000 μmol/L的Cd胁迫下,G-POD活性分别比对照增加了22.5%, 54.4%, 94.4%, 117.7%, 154.0%, 188.3%和159.6%,显著高于对照。而根中的CAT活性和APX活性的变化趋势正好与G-POD活性变化趋势相反,即随着Cd胁迫浓度的增加,CAT和APX活性总体呈现出逐渐降低的趋势。但是在1 μmol/L的Cd处理下,根中CAT的活性比对照略有增加,在10 μmol/L Cd胁迫下明显低于对照。

随着Cd胁迫浓度的增加,芽中G-POD、APX、CAT活性的变化趋势与根中基本相似,除SOD外,只有在75 μmol/L Cd胁迫下才达到明显差异。

3 讨论

种子的萌发和幼苗的建成是作物生长的关键时期,种子发芽质量好坏直接影响农作物生长和经济效益,因此镉对种子萌发作用的影响受到许多学者的关注。Cd是植物非必需元素,Cd进入植物体内并积累到一定程度,就会表现出毒害症状。已有研究发现,根系往往是最直接、最严重的受害器官之一,用Cd处理水稻、青菜、白菜、紫花苜蓿种子,可以显著抑制根系的伸长生长,且随Cd处理浓度增

大而加剧^[8-10,16]。本试验表明,不同浓度镉对小麦种子的萌发状况有显著影响。随着Cd处理浓度的增加,发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数、根长、芽长、根质量及芽质量均受到不同程度的抑制作用。在萌发指标中,对活力指数的影响最大,此外,Cd对根生长的抑制程度大于芽。这与在水稻、青菜、紫花苜蓿等植物上的研究结果相一致^[8,9,16,17],这可能与Cd的作用特点及种子结构有关。Cd²⁺进入植物体后,大多积累在根的生长部位,主要破坏细胞核内染色体和核仁^[17]。随着植株体内Cd含量的增加,对染色体和核仁的破坏加重,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^[18],这可能是抑制根生长的主要原因之一。也有研究表明根生长抑制与Cd²⁺的加入会干扰植物Ca²⁺代谢,导致Ca²⁺在细胞中的异常分布及Ca²⁺稳态的破坏有关^[19]。

本试验结果表明,一定浓度的镉抑制小麦种子萌发,严重伤害根的生长,降低幼苗质量。罗立新等^[20]的研究认为这可能与镉改变或破坏膜结构有关,镉可能与膜蛋白的巯基结合(形成-S-Cd-S-),也可能与膜脂中的磷酸酯乙醇胺和磷酸酯丝氨酸反应。在镉的胁迫下,干扰了正常代谢,因而导致伤害作用。本试验结果表明,根和芽中,特别是根中的MDA含量随着处理浓度的增加而逐渐增加,表明膜伤害程度加大。这与Cd对植株幼苗生长的影响相一致。

环境胁迫使植物细胞中积累大量的活性氧,从

而导致蛋白质、膜脂、DNA 及其他细胞组分的严重损伤^[6,7,20,21]。在正常情况下,植物体内活性氧的产生与清除处于平衡状态,不会导致植物细胞受到伤害。SOD、G-POD、APX 和 CAT 为植物体内的自由基清除系统,它们能清除植物体内因各种原因胁迫而导致自由基代谢失衡后所产生的大量自由基,减轻自由基对生物膜系统所产生的伤害作用,保护生物膜^[20,21]。本试验研究结果表明:G-POD 活性随着镉胁迫强度的增加而增强,SOD 活性呈现先增加后降低的趋势,而 CAT 和 APX 活性随着胁迫强度的增加而降低,说明较高浓度的镉胁迫引起小麦幼苗体内的保护酶系统发生了变化。与对照相比,胚根中的 4 个酶活性变化较明显,幅度大。这与在水稻、苜蓿等上的研究结果一致^[21,22]。SOD 是保卫植物细胞免受自由基伤害的第一道防线。SOD 活性的增加是细胞受到胁迫的应激反应,是酶蛋白的从头合成过程^[15,21]。G-POD 活性升高的原因可能是因为植物体内 Cd 达到一定浓度时,膜脂过氧化作用增强,而使体内过氧化物浓度增加,即增加了 G-POD 的底物浓度,从而使 G-POD 活性上升^[23]。APX 和 CAT 活性降低可能是由于 Cd²⁺ 胁迫下活性氧持续积累,一方面加剧了膜脂的过氧化,另一方面过多的活性氧反过来抵制了酶活性,影响酶的合成或酶亚单位组装^[21]。也可能是 Cd²⁺ 和膜蛋白的巯基(-SH)交联,或直接抑制膜中的一些关键酶,如 H⁺-ATP 酶的活性等^[6],但其确切的原因还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 顾继光,林秋奇,胡 韧,等. 土壤-植物系统中重金属污染的治理途径及其研究展望[J]. 土壤通报,2005,36(1):128-133.
- [2] 王树会,黄成江. 烤烟对不同土壤类型中的镉的吸收及其分配[J]. 内蒙古农业科技,2008(3):40-42,108.
- [3] Wang K R. Tolerance of cultivated plants to cadmium and their utilization in polluted farmland soils[J]. Acta Biotechnologica,2002,21:189-198.
- [4] He J Y,Zhu C,Ren Y F, et al. Genotypic variation in grain cadmium concentration of lowland rice[J]. J Plant Nutri Soil Sci,2006,169:711-716.
- [5] 张 磊,于燕玲,张 磊. 外源镉胁迫对玉米幼苗光合特性的影响[J]. 华北农学报,2008,23(1):101-104.
- [6] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. J Exp Bot,2002,53(366):1-11.
- [7] 郑世英,王丽燕,张海英. 镉胁迫对两个大豆品种抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 江苏农业科学,2007,34(5):53-55.
- [8] 何俊瑜,任艳芳. 镉胁迫对水稻种子萌发、幼苗生长和淀粉酶活性的影响[J]. 华北农学报,2008,23(增刊):131-134.
- [9] 任安芝,高玉葆. 铅、镉、铬单一和复合污染对青菜种子萌发的生物学效应[J]. 生态学杂志,2000,19(1):19-22.
- [10] 宋玉芳,许华夏,任丽萍,等. 土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 环境科学,2002,23(1):103-107.
- [11] 张志良,瞿 伟. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2003.
- [12] Klapheck S,Zimmer I,Cosse H. Scavenging peroxide in the endosperm of Ricinus communis peroxidase[J]. Plant Cell Physiol,1990,31:1005-1013.
- [13] Nakano Y,Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol,1981,22:867-880.
- [14] Aebi H. Catalase in vitro[J]. Method Enzymol,1984,105:121-126.
- [15] 黄玉山,罗广华. Cd 诱导植物的自由基过氧化损伤[J]. 植物学报,1997,39(6):522-526.
- [16] 张春荣,李 红,夏立江,等. 镉、锌对紫花苜蓿种子萌发及幼苗的影响[J]. 华北农学报,2005,20(1):96-99.
- [17] 何俊瑜,任艳芳,朱 诚,等. 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[J]. 中国水稻科学,2008,22(4):409-414.
- [18] Eun S,Young H S,Lee Y. Cadmium disturbs microtubule organization in the root meristem of Zea mays[J]. Physiol Plantarum,2000,110:357-365.
- [19] Mikami B,Adachi M,Kage T, et al. Structure of raw starch digesting Bacillus cereus beta-amylase complexed with maltose[J]. Biochemistry,1999,38(22):7050-7061.
- [20] 罗立新,孙铁珩,靳月华. 镉胁迫下小麦叶中超氧阴离子自由基的积累[J]. 环境科学学报,1998,18(5):495-499.
- [21] Shah K,Kumar R G,Verma A, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. Plant Science,2001,161:1135-1144.
- [22] 吴旭红. 三个苜蓿品种对镉污染的生理生态反应及抗性比较[J]. 生态环境,2005,14(5):658-661.
- [23] 李 元,王焕校,吴玉树. Cd、Fe 及其复合污染对烟草叶片几项生理指标的影响[J]. 生态学报,1992,12(2):147-154.