

# 镉对小麦幼苗的生长和生理生化反应的影响

洪仁远\* 杨广笑 刘东华

(天津师范大学生物系, 天津 300074)

蒲长光

(天津市农业科学院, 天津 300192)

## 摘 要

镉对小麦幼苗和根系生长有抑制作用, 尤以对根系的抑制更为显著, 但镉浓度为 5 ppm 时, 有刺激生长的作用。幼苗的脯氨酸和可溶性蛋白质含量随镉浓度的增加而增加, 尤其在高浓度镉下脯氨酸含量剧增, 电解质外渗率也明显增大。镉使胚乳中的  $\alpha$ -淀粉酶活性降低, 这种效应随镉浓度增高而加强, 随幼苗的生长却趋于减弱。镉诱导根的正、负极向过氧化物酶同工酶产生新谱带, 并使原有的一些谱带活性增强。上述结果显示镉使小麦幼苗的细胞结构和功能受到损害, 而小麦幼苗对镉害也表现出一定的适应性保护反应。

**关键词:** 小麦 幼苗 镉 脯氨酸 可溶性蛋白质  $\alpha$ -淀粉酶 电解质外渗率

农田土壤遭受重金属污染以及由此而产生的对农作物和人体健康的威胁, 是当今世界上普遍关注的环境问题。植物的生命活动受环境的调节控制, 当植物受到污染物的严重危害时, 外表会出现明显的受害症状。但是, 在外观症状出现之前, 其体内生理功能已受到破坏, 生理生化过程发生异常变化。本研究以重金属镉为环境胁迫因子, 研究其对小麦幼苗生长和生理功能的影响, 为探讨镉污染的伤害机理和生物监测提供科学依据。

## 材料和方法

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 冬协三号由天津农科院作物所提供, 种子经 20 % 安替福民消毒 15 分钟, 蒸馏水冲净, 然后用含  $\text{Cd}^{2+}$  浓度 (按  $\text{CdCl}_2$  中  $\text{Cd}^{2+}$  计算) 为 0、5、10、20、50 和 100 ppm 的 Knop 培养液浸泡 8 小时, 置于 25~27°C 培养箱中培养幼苗, 每天更换培养液, 光照强度 2500 Lux, 每天光照 14 小时。定期观测外部形态, 分别在第 4 天、第 7 天和第 10 天测定幼苗脯氨酸、可溶性蛋白质含量和胚乳  $\alpha$ -淀粉酶活性, 同时在第 10 天测定幼苗电解质外渗率和过氧化物酶同工酶酶谱。

脯氨酸含量 按西北农业大学 [1] 的方法, 用磺基水杨酸提取样品, 然后加酸性茚三酮显

色,再用甲苯萃取,在520nm波长下比色。

可溶性蛋白质含量 按Lowry等<sup>[9]</sup>的方法测定,牛血清蛋白作标准。

$\alpha$ -淀粉酶活性 根据西北农业大学<sup>[1]</sup>的方法,将酶提取液在70℃下加热15分钟以钝化 $\beta$ -淀粉酶,尔后按 $\alpha$ -淀粉酶水解淀粉生成的麦芽糖,用3,5-二硝基水杨酸试剂测定,以麦芽糖的毫克数表示酶活性。

细胞质膜透性差别 采用电导法,按植物生理实验手册<sup>[2]</sup>中的方法,用DDS-II型电导仪测定电导率,以电解质外渗率表示质膜相对透性。

过氧化物酶同工酶酶谱 采用聚丙烯酰胺盘状凝胶电泳,电泳在冰箱中进行,染色用Liu<sup>[10]</sup>的方法,用CS-930岛津双波长色谱扫描仪扫描。

比色测定均用岛津UV-120-02分光光度计。

## 试验结果

### 一、镉对幼苗生长的影响

图1表明,镉对幼苗的生长具有明显的抑制作用,随着镉浓度的增高,苗高和根长呈明显的递降梯度。但镉浓度为5 ppm时有刺激生长的作用,在幼苗培养期间,根长比对照都有所增长,而苗高仅在第四天比对照株略有增高,以后就变为抑制幼苗生长。图1还表明,幼苗在含镉培养液中生长的时间愈长,受抑制愈严重,如镉浓度为100 ppm时,与对照株比较,根长在第四天是对照的58.2%,第七天和第十天分别是对照株的34.9%和31.5%;而苗高第四天是对照株高的69.2%,第七天和第十天则分别是对照的56.0%和59.5%。上述结果表明,镉对苗高和根系生长有明显的抑制作用,后者尤为显著。

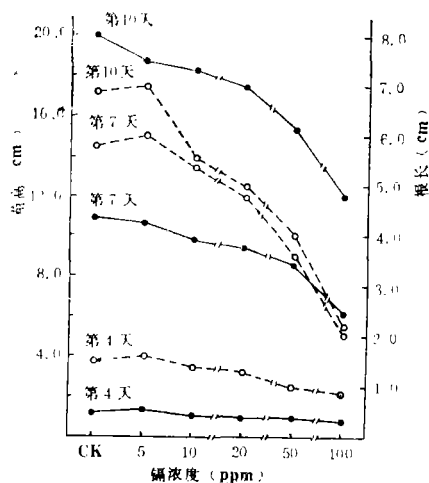


图1 不同浓度镉对幼苗(—)和根系(---)生长的影响

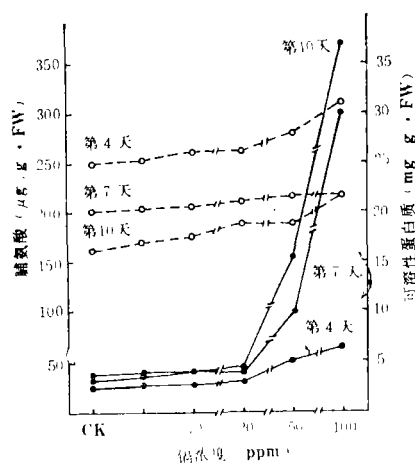


图2 不同浓度镉对幼苗脯氨酸(—)和可溶性蛋白质(---)含量的影响

## 二、脯氨酸含量的变化

幼苗脯氨酸的含量不仅随着镉浓度的增高而增加,而且还随着幼苗的生长而增(加图2)。同时,无论培养天数多长,都是在低浓度镉下(5、10、20ppm)脯氨酸增加较少;而在高浓度镉下(50、100ppm)脯氨酸含量增加较多,尤其在第七天和第十天,脯氨酸含量急剧增高。如镉浓度为20ppm时,与对照株比较,第四天增加17.1%,第七天和第十天分别增加24.1%和17.6%;当镉浓度为100ppm时,与对照株相比,第四天增加164.1%,第七天和第十天则分别增加801.8%和908.1%。

## 三、可溶性蛋白质含量的变化

镉浓度增高时,幼苗的可溶性蛋白质含量也明显增加,与脯氨酸不同的是,随幼苗培养时间的延长,可溶性蛋白质含量明显降低(图2)。

## 四、 $\alpha$ -淀粉酶活性的变化

镉对胚乳 $\alpha$ -淀粉酶活性有明显的抑制作用(图3),其抑制作用随镉浓度的增高而加强,酶活性从第四天到第七天上升达最高值,到第十天又降低。在不同时间里,以第四天的抑制作用最强,以后随着幼苗的生长,其抑制作用趋于减弱。

## 五、电解质外渗率的变化

低浓度镉(5、10、20ppm),对幼苗电解质外渗率的影响不显著,基本无大变化。而在高浓度镉下(50、100ppm),电解质外渗率明显增高(图3),说明高浓度镉使细胞质膜透性差别变大。

## 六、过氧化物酶同工酶的变化

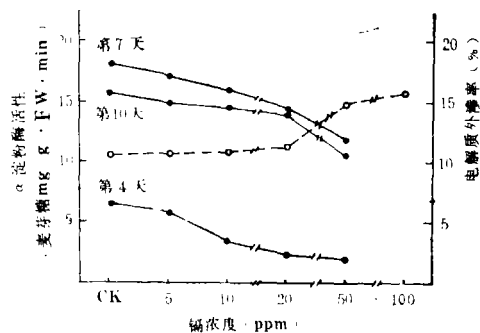


图3 不同浓度镉对 $\alpha$ -淀粉酶活性(——)和幼苗电解质外渗率(---)的影响

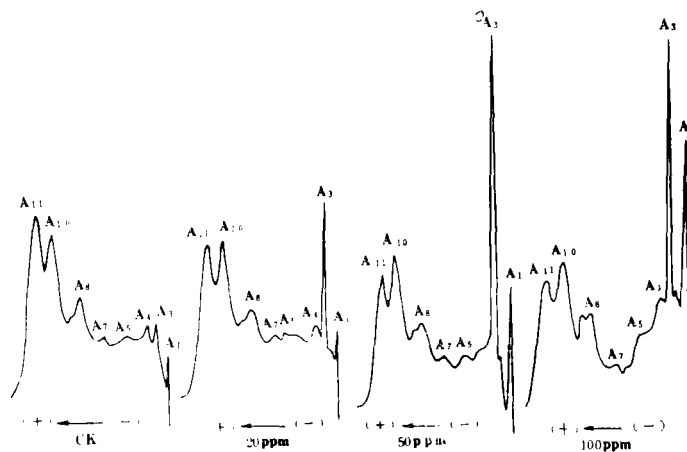


图4 不同浓度镉对根正极向的过氧化物酶同工酶谱的影响

根系正极向同工酶测定结果表明(图4), 从20ppm镉处理开始, 产生一条活性很弱的谱带 $A_2$ , 随着镉浓度的增高, 该谱带的活性又有所增强; 当镉浓度增至100ppm时, 又产生一条新谱带 $A_6$ ; 同时原有谱带 $A_1$ 、 $A_3$ 随培养液中镉浓度增高, 酶活性也明显地依次增强。

根系负极向同工酶在低浓度镉下无明显变化, 而高浓度镉则可诱导产生新的谱带, 在50ppm时产生一条新谱带 $C_{10}$ , 在100ppm时, 又增加一条活性较弱的谱带 $C_4$ (图5)。

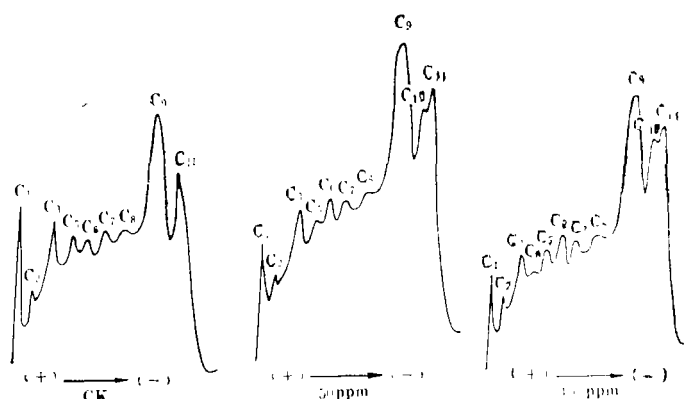


图5 不同浓度镉对根负极向的过氧化物酶同工酶谱的影响

## 讨 论

镉对小麦幼苗和根系生长的抑制作用与环境中的镉含量和植物体对镉的吸收及其在不同器官中的分配积累有关。植物体内镉的含量随环境中镉浓度的增高而增加, 而镉在小麦体内不同器官的积累规律是根>茎叶>果实。在水培条件下, 镉在植物体内积累更为严重, 溶液中的镉被根系吸收后, 首先在根部积累, 阻碍根系生长, 然后转移到其它器官。可见器官中镉含量愈高, 对生长的抑制作用愈大, 说明环境中镉浓度高低及植物体内不同器官的含镉量和幼苗生长之间存在一定的相关性。另外, 由于根系生长严重受抑, 势必影响到对水分和营养物质的吸收, 体内正常生理过程受到干扰, 地上部分的生长也必然受到抑制。

不少研究证明, 在大气污染物、旱、冷和盐等环境胁迫下, 植物体内脯氨酸含量变化很大〔3〕, 它是测定多种逆境胁迫的理想指标。本研究证明, 在重金属镉胁迫下, 植物体内游离脯氨酸含量急剧上升。脯氨酸的增加, 可提高原生质的亲水性, 有助于细胞或组织的持水。受镉害的根系吸水能力明显下降, 而脯氨酸的积累则可以作为根系吸水障碍的补偿, 有着对逆境的适应意义。

与大气氟污染下水稻叶的外渗电导率变化类似〔4〕, 在镉害情况下, 幼苗电解质外渗率明显增高, 这表明镉进入细胞后, 使细胞质膜的结构和功能受到一定破坏, 进而引起一系列生理生化反应, 发生代谢紊乱, 致使植物受到伤害。因此, 电解质外渗率的变化也可作为幼苗受逆境伤害程度的一种指标。

生长在镉污染环境中的许多生物具有一定的适应性, 适应的主要途径是通过体内合成一类能与镉特异结合的蛋白质或多肽, 从而减轻镉毒害〔3〕。植物在低温下可溶性蛋白质含量

的提高,会增加细胞渗透浓度和功能蛋白的数量,有助于维持细胞的正常代谢〔6〕。同样,在重金属镉胁迫下小麦幼苗可溶性蛋白质含量的增加,也有相似的功能,蛋白质结构和功能的调整,可能是小麦幼苗受到镉害的一种生理反应。

酶的化学本质是蛋白质,进入生物体内的游离态镉与功能蛋白质结合,占据酶的活性位点,使之失活,同时镉对酶和蛋白质中硫醇基又有较高的亲合性,导致酶活性的降低。胚乳是禾谷类作物种子贮藏养份的组织, $\alpha$ -淀粉酶活性的下降,必然导致种子萌发和幼苗生长过程中能量转变和物质转化上的障碍,进而影响幼苗的生长发育及形态结构和生理功能。这是镉抑制小麦幼苗生长,表现镉害的原因之一。

同工酶的存在似乎是与植物体内生物化学反应过程的多样性、可变性及其对环境条件的适应性有关。在多种逆境胁迫下,过氧化物酶活性和酶带数往往发生变化。在镉胁迫下,小麦幼苗根系同工酶的一些酶带活性也明显增强,并能诱导产生新的酶带。这是在逆境条件下植物体内生理功能变化的共同特点,是植物对有害环境条件的一种适应性的生理反应,有助于提高植物对抗逆性的代谢调节。关于植物通过过氧化物酶而表现对逆境胁迫的适应机制问题,尚待深入研究。活性氧代谢失调是植物遭受逆境伤害的机理之一,在逆境胁迫下,植物体内产生相对过量的活性氧,进而破坏膜结构。而过氧化物酶是一种保护酶,它与超氧化物歧化酶和过氧化氢酶三者协调一致,作为内源活性氧清除剂,维持活性氧代谢平衡〔7〕。据此我们推测,在重金属镉胁迫下,过氧化物酶活性提高和酶带数的增加,可能与维持植物体内活性氧代谢平衡有关,它可以防止体内过量的活性氧伤害植物,从而使植物能在一定程度上忍耐、减缓或抵抗逆境胁迫。

现在,同工酶分析技术已成为在分子水平上研究生物现象的一项重要手段,其分析方法简单易行,在农业、医学和生物学各领域得到广泛应用。而过氧化物酶是一种普遍存在于植物体中的氧化还原酶,它对各种不良环境的反应十分敏感,植物在 $\text{CO}_2$ 和汞等环境胁迫下,过氧化物酶活性和同工酶谱也发生了某些变化〔8〕。并且酶谱的变化先于形态的变化和分化,这就提供了灵敏的生理生化变化的指标。因此,利用过氧化物酶同工酶分析技术进行环境污染的酶学监测,值得深入研究。

### 参 考 文 献

- 〔1〕 西北农业大学主编:《基础生物化学实验指导》,西安,陕西科学技术出版社,1986: 55—85
- 〔2〕 上海植物生理学会编:《植物生理学实验手册》,上海,上海科学技术出版社,1985: 67—70
- 〔3〕 汤章城:逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义,《植物生理学通讯》,1984 (1):15—21
- 〔4〕 卞咏梅等:大气气污染对某些植物脯氨酸的影响,《植物生理学通讯》,1988 (6):19—21
- 〔5〕 龚雨松等:小麦幼苗根系镉螯合素,《植物生理学报》,16 (1) 1990: 19—25
- 〔6〕 李俊明等:低温下玉米不同耐冷类型自交系的生理生化变化,《华北农学报》,4 (2) 1989:15—19
- 〔7〕 王宝山:生物自由基与植物膜伤害,《植物生理学通讯》,1688 (2): 12—16
- 〔8〕 洪仁远:汞对小麦幼苗生长及酸性磷酸酯酶和过氧化物酶的影响,《农业环境保护》,8(3)1989: 10—12
- 〔9〕 Lowry, D. H. et al.: Protein measurement with Folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 1951(193): 265—275
- 〔10〕 Liu, E.H. A simple method for determining the relative activities of individual peroxidase isozymes in a tissue extract, Anal. Biochem, 1973 (56): 149—154

## Effects of Cadmium on the Growth and Physiological and Biochemical Reactions of Wheat Seedlings

Hong Renyuan    Yang Guangxiao    Liu Donghua

*(Department of Biology, Tianjin Normal University, Tianjin.)*

Pu Changguang

*(Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin)*

### Abstract

With the content of  $\text{Cd}^{2+}$  of 0, 5, 10, 20, 50 and 100 ppm, we grew wheat seedlings in knop nutritive solutions to study their effects on the growth and physiological functions of the wheat seedlings. And we found the effects: Under cadmium stress, both the growth of wheat seedlings and its roots were inhibited, and the inhibitions to the latter were more obvious; but 5 ppm-concentration cadmium could simulate the growth of wheat seedlings (Fig. 1). As the cadmium concentration increased, the proline and soluble protein contents in wheat seedlings also increased, and the proline contents would increase a lot with high cadmium concentration (Fig. 2). With high cadmium concentration, the electrolyte leakage increased obviously (Fig. 3), and this showed that cadmium could injure membrane. Cadmium could inhibit the activities of  $\alpha$ -amylase in endosperm, which intensified as the cadmium concentration increased, and which tended to abate as the wheat seedlings were growing (Fig. 3). Cadmium could induce the anode and cathode peroxidase isoenzyme bands of the roots new enzymatic bands, and also could intensify the activities of some original enzymatic bands (Fig. 4, Fig. 5). All these indicated that the effects of cadmium on the shape and physiological and biochemical functions of wheat seedlings has some relationship with cadmium concentration. Meanwhile, it showed that cadmium could do harm to the structure and functions of the cells in the wheat seedlings. The wheat seedlings had some adaptable protection to cadmium calamities.

**Key words:** Wheat seedlings; Cadmium; Proline; Soluble protein;  $\alpha$ -amylase; Electrolyte leakage; Peroxidase isoenzyme