

两种豆科作物的种子萌发对 Cd^{2+} 处理的不同响应

张芬琴¹, 金自学²

(1. 河西学院生物系, 甘肃 张掖 734000; 2. 河西学院农业资源与环境科学系, 甘肃 张掖 734000)

摘要: 采用室内试验方法, 研究了绿豆和箭舌豌豆的种子萌发对不同浓度 Cd^{2+} 处理的响应。结果表明, 较低浓度的 Cd^{2+} (低于 50 或 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理对这两种作物的种子发芽率和发芽系数无明显的影响, 但影响其活力指数。较高浓度 (大于 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 Cd^{2+} 处理不仅影响两种作物的种子发芽率和发芽系数, 而且还影响其活力指数, 这与 Cd^{2+} 处理降低蛋白水解酶活性和呼吸速率、增加膜透性等有关。相比之下, 绿豆种子的萌发对 Cd^{2+} 处理的响应较箭舌豌豆的明显, 暗示后者在种子萌发时对 Cd^{2+} 胁迫的忍耐性较强。

关键词: Cd^{2+} 处理; 绿豆; 箭舌豌豆; 种子萌发; 蛋白水解酶; 膜透性

中图分类号: X503. 231 文献标识码: A 文章编号: 1672–2043(2003)06–0660–04

Different Responses of Seed Germination of Two Beans Under Treatment by Cd^{2+}

ZHANG Fen-qin¹, JIN Zi-xue²

(1. Department of Biology, Hexi University, Zhangye 734000, China; 2. Department of Agricultural Resources and Environmental Science Hexi University, Zhangye 734000, China)

Abstract: Different responses of seed germination physiology in mung bean and common vetch towards Cd^{2+} treatment were conducted with an experiment. It has been found that little effects were found for germinating rate, indexes of seed mung bean and common vetch, but vitality index of seeds were done by Cd^{2+} treatment at lower concentration (equal to or lower than 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for mung bean; equal to or lower than 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for common vetch) and germinating rates, indexes and vitality indexes of seeds of mung bean and common vetch were significantly affected by Cd^{2+} treatment at higher concentration. All of the above related to the decreases of proteolytic enzyme activity and respiratory rate and the increase of plasma membrane permeability. Compared with mung bean, there was less effect of Cd^{2+} treatment on the seed germination of common vetch. This may be suggested that the resistance of germinating seed against Cd^{2+} stress be stronger than that of mung bean.

Keywords: Cd^{2+} treatment; mung bean; common vetch; seed germination; proteolytic enzyme activity; plasma membrane permeability

近年来, 虽然国内外已有了一些有关重金属对植物的毒害以及某些重金属在某些蔬菜内积累的报告^[1–3], 但多数研究侧重于重金属对不同种类植物的影响, 而对同一种类的不同品种影响的对比研究则很少有人报告。本研究选取“三废”中较为广泛存在的重金属 Cd 作为重金属污染源, 研究了其对豆科作物中的人类食用小杂粮绿豆 (Mung bean) 和用作饲料的箭舌豌豆 (Common vetch) 种子的萌发以及种子萌发过程中某些生理生化特性的影响。旨在探索 Cd 对同一种类的不同品种的豆科作物生长的影响; 同时, 为农业生产早期预报重金属对作物的毒害效应对已被

Cd 污染的土壤进行品种的选择种植提供理论依据。

1 材料与方法

试验材料为绿豆品种 (*Phaseolus. aures* Roxb. cv VC–3762)、豌豆品种箭舌豌豆 (*Vicia Sativa*)。挑选大小一致且饱满的种子用 0. 1% HgCl_2 表面消毒 5 min, 去离子水充分冲洗后, 在 25 $^{\circ}\text{C} \pm 1$ $^{\circ}\text{C}$ 下分别用 10、50、100、500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd^{2+} (CdCl_2) 浸种 12 h, 25 $^{\circ}\text{C} \pm 1$ $^{\circ}\text{C}$ 催芽, 催芽期间每日用各自的处理液冲洗种子, 以保持处理浓度基本不变和维持一定的湿度, 并记录发芽数 (以露白为准)。以上各处理均重复 3 次, 每重复取种子 50 粒。3 d 后, 取芽, 量取其长度, 按陶嘉玲之法^[4] 计算和测定如下指标: 发芽率 (GR) = $\sum G_i / T \times 100\%$; 发芽指数 (GI) = $\sum G_i / D_i$; 活力指数

收稿日期: 2002–10–23

作者简介: 张芬琴 (1964—), 女, 从事植物生化、植物生理和植物营养的教学与研究工作。E-mail: fenqinzh@163.com

(VI) = S × Σ (Gi/Di), 式中 Gi 为在 t 日的发芽数, Di 为相应的发芽天数, T 为种子总数, S 为幼苗的生长势(芽长度)。蛋白酶活性和游离氨基酸含量的测定,参照朱广廉之法^[5]; 脯氨酸含量的测定,参照张殿忠之法^[6]; 组织电解质外渗率的测定,参照谭常之法^[7]; 蛋白质含量的测定,参照 Read^[8]之法; 呼吸强度的测定,采用小篮子法^[9]。

2 结果与分析

2.1 种子萌发对 Cd²⁺ 处理的响应

由表 1 可见,绿豆和箭舌豌豆的种子萌发对不同浓度的 Cd²⁺ 处理有不同的响应。当浓度较低时,两者

的发芽率、发芽系数均不受 Cd²⁺ 处理的影响,但二者的活力指数则均较其对照的低。与豌豆相比,绿豆的低得更多。随着 Cd²⁺ 处理浓度的增大,绿豆和箭舌豌豆的种子萌发对 Cd²⁺ 处理的响应有所相同。当处理浓度等于和大于 100 μmol · L⁻¹ 时,绿豆种子的各被测指标均随 Cd²⁺ 处理浓度的增加而下降; 与此不同,当 Cd²⁺ 的处理浓度为 100 μmol · L⁻¹ 时,豌豆种子的发芽率和发芽指数与其对照相比无差异,只是活力指数低于对照; 而当 Cd²⁺ 处理浓度大于 100 μmol · L⁻¹ 时,各指标的变化趋势与绿豆种子的相似。二者相比,绿豆种子的各被测指标下降的幅度较大。

表 1 绿豆和豌豆种子的萌发对 Cd²⁺ 处理的响应(Cd²⁺ 处理后的第 4 d)
Table 1 Response of seeds germination with Cd²⁺ treatment (the forth day after Cd²⁺ treatment)

Cd ²⁺ 处理 /μmol · L ⁻¹	发芽率/%		发芽指数		活力指数	
	绿豆	箭舌豌豆	绿豆	箭舌豌豆	绿豆	箭舌豌豆
CK	100(100%)	100(100%)	50(100%)	50(100%)	230(100%)	38.2(100%)
10	100(100%)	99.7 ± 0.7(99.7%)	50(100%)	50(100%)	120(52.6%)	28.8(75.5%)
50	100(100%)	100(100%)	50(100%)	50(100%)	50(100%)	25.7(67.3%)
100	78.0 ± 0.5(78.0%)	100(100%)	27.5(55.0%)	50(100%)	16.50(7.2%)	16.1(16.1%)
500	58.0 ± 0.3(58.0%)	76.7 ± 0.6(76.7%)	20.5(41.0%)	18.6(48.76%)	6.12(2.7%)	1.86(4.9%)
1000	32.05 ± 0.2(32.05%)	59.2 ± 0.3(59.2%)	9.6(19.2%)	11.23(29.4%)	2.63(1.1%)	0.9(2.4%)

注:表中数据是 3 次重复的平均值。

2.2 发芽种子内的蛋白酶活性和蛋白质含量对 Cd²⁺ 处理的响应

如图 1 所示,经不同浓度 Cd²⁺ 处理后的绿豆和箭舌豌豆种子发芽 3 d 时,其中的蛋白酶活性和可溶性蛋白质的含量各有不同的响应。随 Cd²⁺ 处理浓度

的增加,绿豆和箭舌豌豆种子的蛋白酶活性均呈下降趋势,而其中的可溶性蛋白质则呈上升趋势。当处理浓度为 1 000 μmol · L⁻¹ 时,绿豆和豌豆种子的蛋白酶活性分别是其对照的 34.89% 和 63.75%,蛋白质含量分别为其对照的近 2.5 倍和近 2.0 倍。

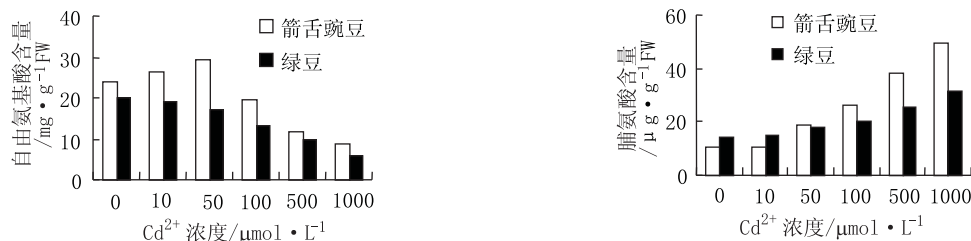
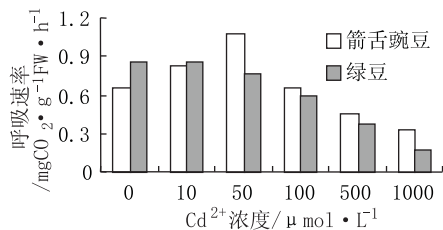


图 1 发芽种子蛋白酶活性和蛋白质含量对 Cd²⁺ 处理的响应
Figure 1 Responses of proteolytic enzyme activity and protein content in germinating seed towards Cd²⁺ treatment

2.3 发芽种子内的自由氨基酸总量和脯氨酸含量对 Cd²⁺ 处理的响应

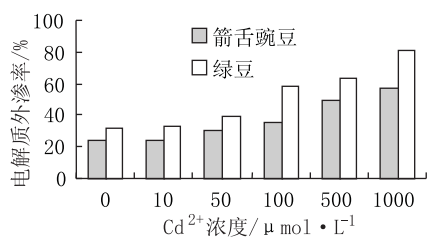
与对照相比,随 Cd²⁺ 处理浓度的增加,发芽种子中的氨基酸总量呈下降、脯氨酸含量呈上升的趋势。当 Cd²⁺ 处理浓度为 1 000 μmol · L⁻¹ 时,绿豆和箭舌豌豆种子的氨基酸总量分别是其对照的 29.61% 和 36.98%、脯氨酸含量分别为其对照的近 2 倍和近 5

倍,见图 2。
2.4 发芽种子的呼吸速率对 Cd²⁺ 处理的响应
随着 Cd²⁺ 处理浓度的增加,发芽种子的呼吸速率降低。相比之下,绿豆种子的下降值较豌豆种子的大,当 Cd²⁺ 处理浓度为 1 000 μmol · L⁻¹ 时,绿豆种子的呼吸速率是其对照的 20%,豌豆种子的是其对照的 50%,见图 3。

图 2 发芽种子自由氨基酸和脯氨酸含量对 Cd^{2+} 处理的响应Figure 2 Responses of free amino and proline content in germinating seed towards Cd^{2+} treatment图 3 种子呼吸速率对 Cd^{2+} 处理的响应Figure 3 Response of respiratory rate of germinating seed towards Cd^{2+} treatment

2.5 发芽种子的质膜透性对 Cd^{2+} 处理的响应

不同浓度 Cd^{2+} 处理绿豆和豌豆的种子, 其质膜透性有不同的响应。如图 4 所示, 随着 Cd^{2+} 处理浓度的升高, 发芽种子的电解质泄漏率增加, 说明质膜的透性增加。当处理浓度为 $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 绿豆和豌豆种子的电解质泄漏率分别是其对照的近 2.5 倍

图 4 种子组织的电解质对 Cd^{2+} 处理的响应Figure 4 Response of tissue of germinating seed towards Cd^{2+} treatment

和 2 倍。

3 讨论

发芽率是作物(植物)子粒生物学特性的经济品质上的重要指标, 它能决定子粒是否适宜于播种、播种量大小以及作其他用途的可能性大小; 发芽势表明出苗的整齐度, 活力指数则反映了种子发芽的质量。在过去的试验中, 发现由于 Cd^{2+} 降低了小麦种子的发芽质量和出苗的整齐度而影响了其幼苗随后的生长^[10]。施农农^[11]的研究发现, 在 Cd 胁迫下, 水稻种

子的发芽力受挫, 生长势削弱, 直至完全失活。本试验结果表明, 较低浓度的 Cd^{2+} 处理虽不影响绿豆、豌豆的发芽率和发芽势, 但降低其发芽种子的活力指数, 这将会影响到随后的幼苗生长。在试验的浓度范围内, 当处理浓度较高时(处理绿豆种子的浓度大于 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、处理豌豆种子的浓度大于 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 两种作物的种子发芽率、发芽系数和活力指数均随 Cd^{2+} 处理浓度的增加而降低, 且绿豆种子的降低幅度较大。该结果暗示, 在种子萌发时期, 箭舌豌豆种子较绿豆种子更能忍耐 Cd^{2+} 的胁迫。

种子萌发时, 胚乳和子叶中贮藏的淀粉、脂肪和蛋白质等大分子化合物, 分别在其水解酶的作用下分解成各种简单的小分子化合物如葡萄糖、甘油和氨基酸等, 因而从不溶解的状态变为可溶的状态并进而运送到正在生长的部位, 再经合成作用形成新细胞的构成成分。在本试验中, 受试材料绿豆和箭舌豌豆均属蛋白质类的种子, 其萌发时种子内的物质转化主要是在蛋白水解酶作用下贮藏蛋白质向氨基酸的转化。本试验发现, Cd^{2+} 处理浓度为 $10 \sim 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 豌豆种子的蛋白酶活性较其对照有所升高。与此同时, 其中的蛋白质含量有所下降、氨基酸总量有所上升。当 Cd^{2+} 的处理浓度大于 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时其表现与此相反。与豌豆种子不同, 绿豆种子内的蛋白酶活性和自由氨基酸的总量均随 Cd^{2+} 处理浓度的增加而降低。由于新细胞建成所需的物质基础短缺, 故种子的进一步发育难以实现。对豌豆种子来说, 虽在 Cd^{2+} 处理浓度较低时其蛋白酶的活性和自由氨基酸总量均有所升高, 但仍未表现出其种子的进一步发育。据本试验的结果, 笔者认为这是由于 Cd^{2+} 处理降低了呼吸作用而使转运同化氨基酸等所需的能量不足所致, 但此时蛋白酶活性的升高是此酶对 Cd^{2+} 处理的应激性表现还是其它什么原因有待进一步探索。

在本试验的条件下, 不论发芽种子内的自由氨基酸总量是升高还是降低, 其中的自由脯氨酸的含量却

都是升高的。脯氨酸是最重要和最有效的有机渗透调节物质,几乎所有的逆境,如干旱、低温、高温、盐渍等都会造成植物体内脯氨酸的累积^[12]。脯氨酸积累对环境胁迫的响应十分迅速,有人曾发现,300 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理下的无花果植株叶片游离脯氨酸含量在 12 h 内增加 10 倍有余,而在 48 h 内增 260 倍,占游离氨基酸总量的 49.5%,烟草的盐适应细胞中脯氨酸占游离氨基酸总量的 80%^[13]。我们的研究也曾发现,20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd^{2+} 处理绿豆幼苗 4 d,其根组织中的脯氨酸含量增加了近 1.5 倍;处理 6 d 时,叶内的脯氨酸含量增加了近 4 倍^[14]。本试验中,1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd^{2+} 处理绿豆、箭舌豌豆种子,在其发芽 3 d 时测得,箭舌豌豆发芽种子内的脯氨酸含量增加了近 5 倍,绿豆的增加了近 2 倍。脯氨酸在抗性中有两个作用,一是作为渗透调节物质,用来保持原生质与环境的渗透平衡;二是保持膜结构的完整性^[12]。在本试验中, Cd^{2+} 处理不同程度的增加了绿豆、箭舌豌豆种子的质膜透性,其中绿豆的膜透性大于箭舌豌豆,这可能与发芽绿豆种子中脯氨酸含量升高的相对幅度较小有关。

4 结论

(1) 较低浓度的 Cd^{2+} 对绿豆和箭舌豌豆种子的发芽数量、出苗整齐度无明显的影响,但影响其发芽后的进一步发育。

(2) 较高浓度的 Cd^{2+} 不仅影响绿豆和箭舌豌豆种子的发芽数量和质量,而且也影响它们的进一步发育。

(3) Cd^{2+} 降低绿豆和箭舌豌豆种子的发芽数量、质量与其降低萌发种子内蛋白水解酶的活性有关,与其增加膜透性致使电解质等胞内物质的外漏有关。

(4) 箭舌豌豆种子萌发时对 Cd^{2+} 胁迫的忍耐性较绿豆种子强些。

参考文献:

- [1] 高圣义,王焕校,吴玉树. 锌污染对蚕豆部分生理生化指标的影响[J]. 中国环境科学, 1992, 12(4): 281 – 284.
- [2] Zhenguo Shen (沈振国), Fenqin Zhang (张芬琴) et al. Toxicity of Copper and Zinc in Seedlings of Mung Bean and inducing Accumulation of Polyamine[J]. *Journal of Plant Nutrition* (植物营养杂志), 1998, 21(6): 1153 – 1162.
- [3] 祁忠占, 彭永康, 宋玖雪, 等. 汞对蔬菜幼苗生长及氧化酶同工酶的影响[J]. 环境科学学报, 1991, 11(3): 370 – 374.
- [4] 陶嘉玲, 郑光华. 种子活性[M]. 北京: 科学出版社, 1991. 109 – 111.
- [5] 朱广廉. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1988, 47 – 53.
- [6] 张殿忠, 等. 测定小麦叶片游离脯氨酸的方法[J]. 植物生理学通讯, 1990, (4): 62 – 66.
- [7] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1985. 67 – 70.
- [8] Read SM, Northcote D H. Minimization of variation in the response to different proteins of the Coomassie Blue G dyebinding assay for protein[J]. *Anal Biochem*, 1981, 116: 53 – 64.
- [9] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 133 – 135.
- [10] 刘吉祥, 等. Cd^{2+} 和 Ni^{2+} 对小麦毒性的比较研究[J]. 农业环境保护, 2001, 20(4): 252 – 253, 260.
- [11] 施农农. 镉胁迫下水稻种子的萌发生长及体内水解酶的活性变化[J]. 农业环境保护, 1999, 18(5): 213 – 216.
- [12] 王 忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 435.
- [13] 余叙文, 等. 植生与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 761.
- [14] Fenqin Zhang (张芬琴), Zhenguo Shen (沈振国) et al. Effect of Cadmium on Autoxidation Rate of Tissue and Inducing Accumulation of Free Proline in Seedlings of Mung Bean[J]. *Journal of Plant Nutrition* (植物营养杂志), 2000, 23 (3): 357 – 368.