

镧对铅胁迫下豌豆幼苗生长发育的影响

杜兰芳, 郁建锋, 屠云霞

(常熟理工学院 生物系, 江苏 常熟 215500)

摘要:以豌豆为试验材料, 采用水培方法研究了不同浓度镧对铅胁迫下的豌豆在种子萌发与生长的影响。结果显示: 镧浓度 ≤ 0.8 mg/L 时促进种子萌发, 镧浓度为 1.2 mg/L 时抑制种子的萌发; 低浓度(≤ 0.4 mg/L)的镧能够促进铅胁迫下豌豆幼苗的生长, 提高过氧化物酶(POD)的活性和叶绿素含量, 缓解铅的毒害效应; 但随着镧浓度的增大, 镧对铅的缓解作用逐渐消失; 当铅浓度大于 200 mg/L、镧浓度为 1.2 mg/L 时, 镧则协同铅发生作用, 加剧对豌豆幼苗的毒害效应。

关键词: 镧; 铅; 豌豆; 过氧化物酶; 叶绿素

中图分类号: S 643.304⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)12-0014-05

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 , 约占耕地总面积 1/5^[1]。铅是环境污染的首要元素之一。其对环境的污染主要来源于工业废物、废水、生活垃圾及汽车排放的尾气等。铅进入土壤后不易被降解, 很容易被农作物吸收继而通过食物链危害人体健康。

镧(Lanthanum, La)作为稀土元素之一, 在有机体中含量很少, 但对生命活动具有重要的调节作用。低浓度镧对低浓度 Cd 胁迫能激活植物体内大量的保护性酶^[2], 提高植物抵抗逆境胁迫的能力, 使植物在一定的逆境范围内仍能生长发育。试验探讨了镧对铅胁迫下豌豆幼苗生长状况和生理特性的影响, 试图为缓解重金属离子的毒害作用, 为保护环境提供一些参考数据。

1 材料和方法

1.1 生物样品

豌豆(*Pisum sativum* L.), 购于常熟市种子站。

1.2 样品预处理

挑选大小均匀, 形状饱满的豌豆种子, 每组选取 30 粒, 置于质量浓度为 0、10、20、50、100、200、300 mg/L 的醋酸铅(广州化学试剂厂)溶液中, 在室温(18℃)下浸种 24 h 后, 移入垫 3 层纱布的培养皿(90 mm)中培养。在培养皿中分别加入等体积不同浓度的醋酸铅溶液和氧化镧(广州化学试剂厂)溶液(浓度分别为 0、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.2 mg/L)。把培养皿置于光照强度 2 000 lx, 光照时间为 12 h/d 的培养室中培养, 每隔 24 h 换溶液 1 次。重复 3 次。

1.3 试验过程

1.3.1 豌豆种子发芽率统计 在豌豆幼苗培养 120 h 后, 统计豌豆种子的发芽情况, 作好数据记录。发芽势、发芽率的计算方法: 发芽势 = 前 4 d 内正常发芽的种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$; 发芽率 = 前 7 d 内正常发芽的种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$ 。

1.3.2 豌豆幼苗根长与芽长的测定 在豌豆幼苗培养 120 h 后, 于每个浓度组合的培养皿中随机取出 10 株样品进行测量, 以平均值表示, 作好记录。

1.3.3 豌豆根尖细胞显微镜观察 方法同文献[3]。

1.3.4 叶绿素含量测定 采用丙酮-乙醇混合法提取叶片中叶绿素, 叶绿素总含量计算^[4]: $(20.2 D_{645} + 8.02 D_{663}) \times V / 1000W$ (V 为提取液体积, W 为样品鲜重)。

1.3.5 豌豆幼苗过氧化物酶的测定 第 15 天, 取铅为 20 mg/L 时不同浓度的镧处理组, 采用聚丙烯酰胺垂直凝胶电泳的方法测定, 用醋酸联苯胺染色法, 方法按参考文献[5]。以 Vision works LS 进行电泳图谱光密度扫描、谱定量等自动分析。

2 结果与分析

2.1 镧对铅胁迫下豌豆种子萌发的影响

由表 1 知, 铅单独作用下, 各处理组的发芽势均低于对照。显示了铅对豌豆种子萌发的抑制作用, 且随着铅浓度的增加抑制作用亦逐渐加强。铅浓度为 300 mg/L 的发芽势比对照降低了 28.94%。

加镧处理后, 各处理组的发芽势均高于同一浓度下未加镧的发芽势, 说明在豌豆种子萌发的早期, 镧能缓解铅对豌豆种子萌发的毒害效应, 其中镧对铅浓度为 300 mg/L 时的解毒效应尤为显著, 使种子的发芽势提高了 22.58%~33.19%。

由表 2 知, 在铅单独作用下, 各处理组的发芽率与发芽势一致, 均低于对照; 且随着铅浓度的增加, 下降的

第一作者简介: 杜兰芳(1948-), 女, 江苏省人, 教授, 从事遗传学研究。E-mail: dlfcslg@csu.edu.cn

收稿日期: 2007-09-23

比例也增大。铅浓度为 300 mg/L 的发芽率比对照降低了 25.95%。

表 1 镉对铅胁迫下豌豆种子发芽势的影响 %

铅浓度 / mg · L ⁻¹	镉浓度/ mg · L ⁻¹						
	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.2
0	59.40	61.53	62.59	62.59	62.59	60.47	58.34
10	52.36	61.53	58.34	59.40	61.53	61.53	57.29
20	57.41	63.65	61.53	59.40	61.53	62.59	57.29
50	51.93	61.53	61.53	61.53	62.59	60.47	58.34
100	49.59	60.47	62.59	63.65	63.65	61.53	57.29
200	42.52	61.53	59.40	60.47	61.53	62.59	56.22
300	30.46	62.59	62.59	63.65	59.40	60.47	53.04

表 2 镉对铅胁迫下豌豆种子发芽率的影响

铅浓度 / mg · L ⁻¹	镉浓度/ mg · L ⁻¹						
	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.2
0	95.00	96.67	100.00	93.33	98.33	95.00	92.31
10	93.33	96.67	93.33	95.00	96.67	98.33	90.63
20	94.13	100.00	96.67	95.00	98.33	98.33	91.67
50	93.33	98.33	95.00	98.33	98.33	100.00	91.67
100	90.00	95.00	96.67	98.33	98.33	91.67	87.72
200	83.33	84.79	81.87	83.33	87.72	83.33	83.33
300	69.05	70.24	70.24	71.43	70.24	69.05	66.67

加镉处理后,在镉浓度≤0.8 mg/L 时,能提高各铅浓度胁迫下豌豆种子的发芽率;在镉浓度至 1.2 mg/L 时,各处理组的发芽率均低于未加镉。说明此浓度的镉对铅的缓解毒害效应逐渐减弱;而铅浓度为 300 mg/L、镉浓度 1.2 mg/L 时的最低发芽率,是高浓度镉与高浓度铅的共同胁迫所致。

2.2 镉对铅胁迫下豌豆根、芽生长的影响

由表 3 可知,铅单独作用下,随着铅浓度的增加,豌豆幼苗根长呈现先升后降的趋势。当铅浓度为 10 mg/L 时,根长相当于对照的 106.6%。当铅浓度为 200 mg/L 时,根长为最低,相当于对照的 39.1%。说明铅对豌豆幼苗根的生长有抑制作用;这种抑制作用随着铅浓度的增加而增大。

加镉处理后,铅浓度≤50 mg/L 时,0.05 mg/L 的镉能减弱铅对豌豆幼苗根生长的抑制作用,促进根的生长,加镉处理幼苗根的长度是未加镉的 142.9%~169.0%。铅浓度为 200 mg/L、300 mg/L 时,0.2 mg/L 的镉能促进幼苗根的生长,根的长度是未加镉的 155.9%、140.9%。当铅浓度≥50 mg/L 时,镉浓度为 1.2 mg/L 时,豌豆幼苗根长均低于未加镉。说明 0.05 mg/L 的镉对低浓度的铅胁迫幼苗根的生长有缓解作用;铅浓度稍高时,适当提高镉浓度,也能缓解铅害作用,促进幼苗根的生长。

由表 3 知,加镉浓度≤0.4 mg/L 处理后,镉能减弱铅对豌豆幼苗芽生长的抑制作用,促进芽的生长;镉浓度至 0.8 mg/L 时,各铅浓度胁迫下豌豆幼苗芽长均低于未加镉。此时镉不仅无缓解铅害作用,反而协同铅抑制豌豆幼苗芽的生长。当镉浓度为 1.2 mg/L、铅浓度为

300 mg/L 时,协同抑制作用尤为显著,此时芽长仅为对照的 74.2%。

表 3 镉对铅胁迫下豌豆幼苗根长、芽长的影响

铅浓度 / mg · L ⁻¹	镉浓度/ mg · L ⁻¹						
	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.2
根长/ cm							
0	3.02	3.82	3.70	4.58	3.36	2.88	3.28
10	3.22	4.60	3.76	3.58	4.02	3.40	3.78
20	2.90	4.90	4.08	2.68	4.66	3.30	3.50
50	2.18	3.62	1.96	3.04	2.74	2.60	1.54
100	1.60	2.00	1.78	1.78	2.24	2.08	1.30
200	1.18	1.80	1.60	1.84	1.48	1.52	1.12
300	1.32	1.32	1.48	1.86	1.48	1.50	1.24
芽长/ cm							
0	1.06	1.42	1.46	1.72	1.50	1.20	1.36
10	1.52	1.56	1.60	1.48	1.68	1.32	1.39
20	1.50	2.06	1.54	1.66	1.70	1.24	1.26
50	1.50	1.56	1.48	1.80	1.74	1.24	1.25
100	1.48	1.62	1.40	1.66	1.78	1.26	1.24
200	1.36	1.64	1.44	1.80	1.68	1.34	1.26
300	1.32	1.36	1.78	1.74	1.60	1.18	0.98

注:处理时间 120h。

2.3 镉对铅胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响

光合作用是植物生长的重要能量来源和物质基础,叶绿素作为植物进行光合作用的主要色素,其含量的多少对光合速率有直接的影响^[9],是反映植物叶片光合能力的一个重要指标。由表 4、图 1 可知,在铅浓度为 20 mg/L 时,≤0.4 mg/L 镉均提高了幼苗叶绿素含量,其中镉浓度为 0.1 mg/L 时,叶绿素含量最大,是对照的 108.90%。由图 2 知,在镉浓度为 0.1 mg/L、铅浓度≤20 mg/L 时,幼苗叶绿素含量均大于对照。铅浓度至 50 mg/L 时,幼苗叶绿素含量小于对照。说明低浓度镉对低浓度铅胁迫下幼苗有促进叶绿素合成作用,以镉浓度为 0.1 mg/L 时尤为显著。

表 4 镉对铅胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响

处理浓度 / mg · L ⁻¹	叶绿素含量 / mg · g ⁻¹	相对叶绿素 含量/ %	处理浓度 / mg · L ⁻¹	叶绿素含量 / mg · g ⁻¹	相对叶绿素 含量/ %
pH20La_0	3.82	100.00	La0.1Pb_0	3.94	100.00
0.05	3.87	101.31	10	4.01	101.78
0.1	4.16	108.90	20	4.15	105.33
0.2	3.83	100.20	50	3.88	98.48
0.4	4.03	105.49	100	3.91	99.24
0.8	3.77	98.69	200	3.75	95.18
1.2	3.67	96.07	300	3.64	92.39

注:处理时间 15 d。

2.4 镉对铅胁迫下豌豆根尖细胞核和染色体的影响

由表 5 知,在铅浓度为 20 mg/L 时,分裂期细胞数发生了变化。随着镉浓度的升高,分裂期细胞数呈现先逐渐增加又逐渐降低的趋势。在镉浓度≤0.2 mg/L 时,分裂期细胞数均大于对照,其中镉浓度为 0.1 mg/L 时,分裂期细胞数最多。当镉浓度至 0.4 mg/L 时,分裂期细胞数低于对照,随着镉浓度的升高,分裂期细胞数

越低。

畸变率与分裂期细胞数呈现了负相关关系, 镉浓度为 0.1 mg/L 时畸变率最低, 比对照低了 0.84%。镉浓度为 1.2 mg/L 时畸变率最高, 比对照高了 1.68%。说明低浓度镉对低浓度铅胁迫的根尖有促进细胞分裂、降

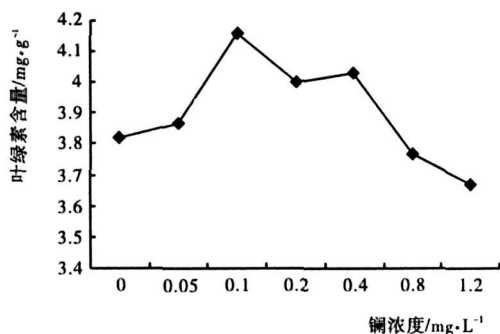


图1 镉对铅(20 mg/L)胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响

低细胞核和染色体变异的作用; 而镉浓度(1.2 mg/L)较高时, 将协同铅(20 mg/L)抑制细胞分裂 并使核变异、使在分裂期的染色体出现游离、不均等分离、衰退等畸变的毒害现象。

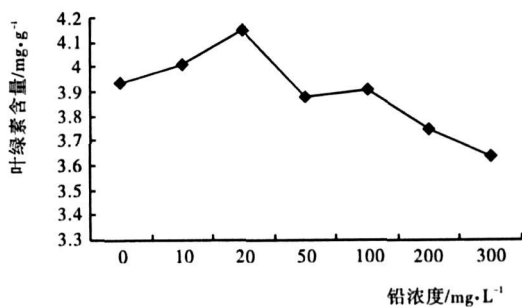


图2 镉(0.1 mg/L)对铅胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响

表5 镉对铅(20mg/L)胁迫下豌豆细胞分裂的影响

镉浓度 / mg · L ⁻¹	镜检细胞 / 个	分裂期细 胞数/ %	细胞核染色体畸变类型和变异细胞数/ 个			
			畸形核	微核	不均等离	畸变率/ %
0	2 113	4.69	14	11	9	1.61
0.05	2 105	4.89	9	9	5	1.09
0.1	2 208	5.43	8	8	1	0.77
0.2	2 301	5.13	15	13	2	1.30
0.4	2 117	4.60	26	15	5	2.17
0.8	2 354	3.91	32	26	4	2.63
1.2	2 308	3.81	39	29	8	3.29

注: 处理时间 72 h。

2.5 镉对铅胁迫下豌豆幼苗过氧化物酶(POD)同工酶的影响

酶带颜色的深浅不同, 反映了酶活性的变化。图 3 是不同浓度镉对 20 mg/L 铅胁迫下豌豆幼苗 POD 图谱。不同浓度镉处理下的豌豆幼苗 POD 活性和数量与未加镉相比均有不同。镉为 0.2 mg/L 时, 酶带颜色最深, 随着镉浓度增加酶带的颜色逐渐变淡。

图 4 为凝胶成象分析系统对电泳酶谱进行光密度扫描得曲线图象, 成象分析系统自动定位在各酶带区域得酶带的迁移率和相应的灰度值。图 4 知, 各个处理组酶带的平均迁移率均小于对照, 小于 0.04~0.30。预示加镉后, 酶带相应往阴极区靠拢。对照组有 6 条酶带, 加镉后, 镉浓度为 0.2 mg/L 时, 比对照多 1 条, 其余均 ≤6 条。镉浓度为 0.8 mg/L、1.2 mg/L 时, 酶带数比对照少 2 条。

灰度值是曲线峰值的积分, 它反映了酶的总量。它既反映了酶带宽窄, 又反映了酶带的深浅。由图 3 可知 各处理组与对照相比, 酶带相应灰度值发生了较大变化。镉浓度 ≤0.4 mg/L 各处理组的灰度值均大于对照, 是对照的 112.05%~153.28%; 镉浓度为 0.2 mg/L

时灰度值最大; 镉浓度为 0.8 mg/L、1.2 mg/L 时, 灰度值明显小于对照, 仅是对照的 18.09%、16.64%。

所以, 加镉处理后 POD 的活性和数量的改变, 预示 La 离子造成了铅胁迫下豌豆幼苗内生理代谢发生改变; 在铅浓度为 20 mg/L、镉浓度为 0.2 mg/L 时, POD 的活性和数量达到最大值。与此时豌豆种子发芽势、萌发率较低, 根、茎的长度及叶绿素含量均相对较低相吻, 说明此时幼苗体内活性氧代谢系统的不平衡, 氧胁迫抑制了幼苗正常的生理代谢。即此时镉对铅害的缓解作用欠佳。

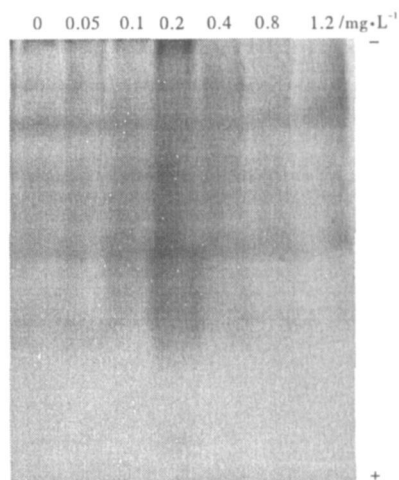


图3 镉对铅(20mg/L)胁迫下豌豆幼苗过氧化物酶同工酶影响/ 15 d

3 讨论

在复合污染研究中, 稀土元素镉对重金属毒害有一

定的缓解作用。在种子萌发时 0.1 mg/L 镧能提高镉 (≤ 80 mg/L) 胁迫下豌豆种子的萌发率; 以镧浓度为 0.02 mg/L 时对低浓度汞 (0.5、10.0 mg/L 时) 胁迫下豌豆萌发时的解毒效应最佳^[8]。与镧对镉、汞稍不同, 在

试验浓度内加镧后, 镧浓度 ≤ 0.8 mg/L 时, 能提高各铅浓度胁迫下豌豆种子的发芽率。说明在豌豆种子萌发期, 镧能缓解比镉、汞浓度稍高的铅浓度对豌豆种子萌发的毒害效应。

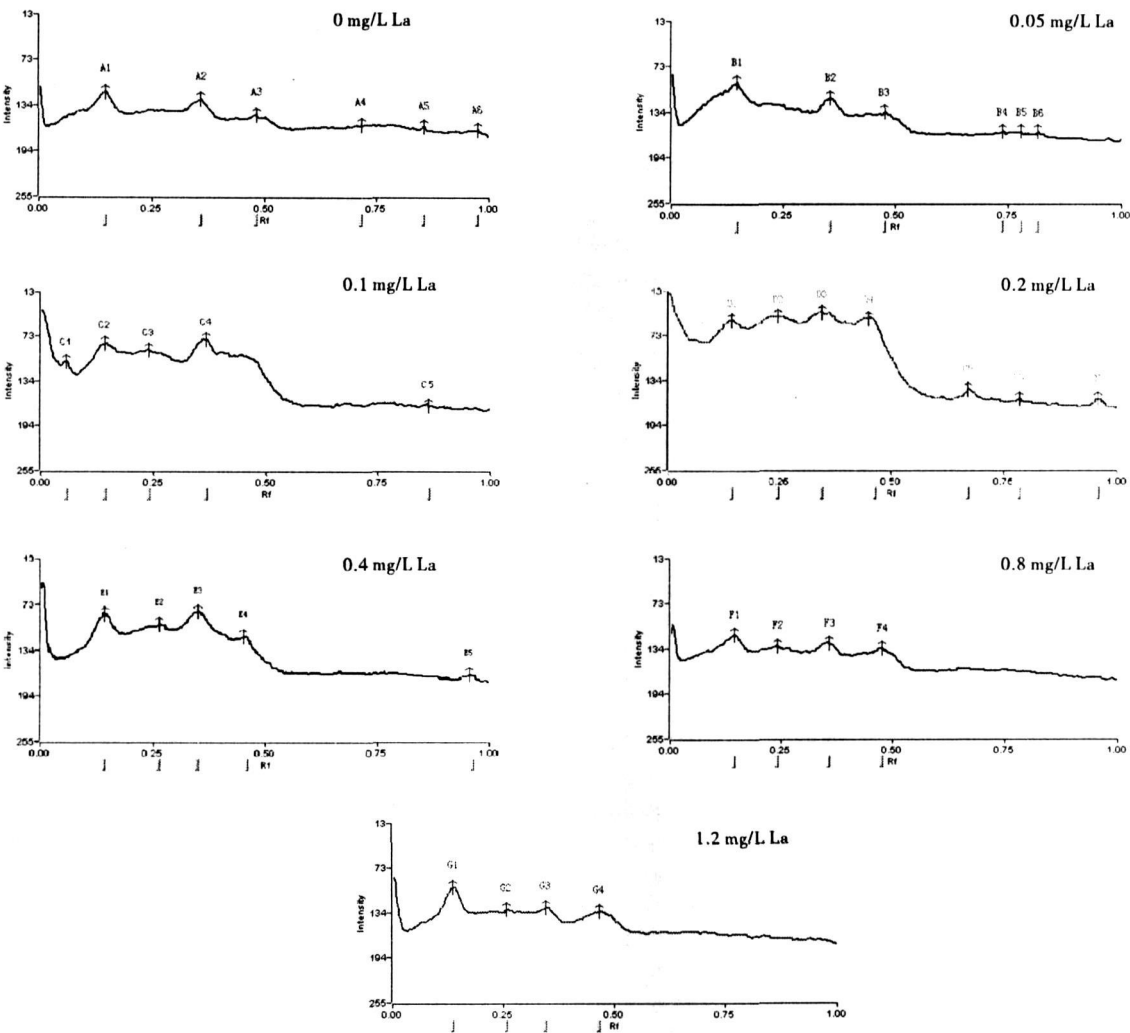


图 4 豌豆幼苗过氧化物同工酶谱曲线图

通过同一镧浓度对不同浓度的铅胁迫组合及不同镧浓度对同一铅浓度胁迫的组合结果显示, 均以镧浓度为 0.1 mg/L 时根尖细胞的畸变率最低、幼苗叶绿素含量最多, 显示了镧对铅的解毒效应。

上述解毒效应与镧激活植物体内的大量的保护性酶 POD 活性密切相关。POD 是生物体内抗氧化酶系统中主要的保护酶之一, 能与机体内相关酶类, 有效地清除超氧化物自由基。铅胁迫使幼苗体内产生了强氧化性物质 (H_2O_2 等), 激活了幼苗体内的保护机制, 合成较多的 POD 分解这些有毒物质。

加镧后强化了这种激活作用, 促使生物体快速、大量合成 POD, 在镧浓度为 0.2 mg/L 时, 激活了生物体内

尚存的全部自我修复机制, POD 的数量、活性达到最大值, 分解铅胁迫产生的强氧化性物质, 与此时豌豆种子发芽势、萌发率较低, 根、茎的长度及叶绿素含量均相对较低相吻, 说明此时幼苗体内活性氧代谢系统的不平衡, 氧胁迫抑制了幼苗正常的生理代谢。

当镧的浓度增大至 0.8 mg/L 时, 毒害程度超出自身的抵御能力时, 酶蛋白从转录、翻译、到最终合成过程, 都受到严重阻碍。酶的空间结构遭到破坏, POD 活性急速下降。酶带的分离是以酶分子的电性不同为基础的, 而酶带发生差异, 酶带平均迁移率、POD 在阳极区酶带趋于减少, 这可能与酶分子的大小有关; 这种基因模式的差异, 可能是金属离子与 DNA 的有关阴离子基

团的结合,使DNA分子的性质发生变化而造成。

参考文献

- [1] 郭伯生. 稀土农用前景广阔[J]. 中小企业科技, 2006(1): 14-15.
- [2] 郑世英, 王丽燕, 商学芳, 等. Cd^{2+} 胁迫对玉米抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 江苏农业科学, 2007(1): 36-38.
- [3] 杜兰芳, 顾志良, 钟华, 等. 等离子体浸没 N^+ 注入对豌豆胚芽细胞的诱变效应[J]. 遗传, 2000, 22(6): 398-400.
- [4] 张宪政. 植物叶绿素含量测定丙酮乙醇混合法[J]. 辽宁学报, 1986(3): 26-28.

- [5] 上海植物生理学会编. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 480-484.
- [6] 李六林, 杨佩芳, 田彩芳. 新红星苹果不同枝类叶片中叶绿素含量的变化[J]. 果树科学, 1999, 16(1): 78-80.
- [7] 杜兰芳, 王立新, 张艳. 镉对镉胁迫下豌豆幼苗生长状况和生理特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2007(7): 6716-6718, 6720.
- [8] 司克媛, 梁桂露, 李荔, 等. 氯化汞染毒小鼠肝脏及卵巢中 LDH 和 EST 同工酶酶谱的分析[J]. 西北师范大学学报, 2002, 38(4): 62-65.

Effect of the La on the Growth and Development of Pea Under the Pb Stress

DU Lan-fang, YU Jian-feng, TU Yun-xia

(Department of Biological, Changshu College, Changshu, Jiangsu 215500, China)

Abstract: In this paper, the effect of the La in different concentration on the germination and growth of pea seed under Pb stress were investigated by water culture method. The results showed, at the concentration of the La ≤ 0.8 mg/L, it promoted the seed germination. While the concentration was increased to 1.2 mg/L, the seed germination was inhibited. The low concentration La (≤ 0.4 mg/L) could stimulate the growth of the pea seedling under the Pb stress, increase the activity of isoenzyme and chlorophyll content of seedling, could remittance the poisoning action of the Pb, but with the advancement of the concentration of the La, the antagonistic action of the La to the Pb fade away. When the concentration of Pb was more than 200 mg/L and the concentration of the La came to 1.2 mg/L, the La cooperate with the Pb to aggravate the poisoning action of the pea seedling.

Key words: La; Pb; Pea; POD; Chlorophyll

第一步: 嫁接前防病

嫁接前 1~2 d 对砧木苗及茄子接穗仔细喷一遍药, 如猝枯净 20 g 加普力克 20 mL 加福施壮 15 mL 兑水 15 kg。可有效防止疫病、菌核病、茎枯病等病害的发生和流行。

第二步: 嫁接前后的遮荫

嫁接前应在嫁接场地或苗床的上方覆盖遮阳网或草帘子遮荫。从嫁接开始到嫁接后 8 d 内苗床见散射光。尤其是在刚嫁接后中午到育苗棚察看, 遮阳网或草帘子是否被风刮跑, 以避免苗子遭受强烈光线直射。8 d 后, 视嫁接伤口愈合情况, 可在每天中午前后遮荫早晚见光, 并且逐渐加长苗子见光时间。待苗子成活后, 应适当加强练苗。

第三步: 嫁接时期要适宜

当砧木 6~7 叶一心时即可进行嫁接, 从老茄子棵上选取接穗时, 注意要选择半木质化、无病健壮、粗细和砧木相当的枝条。

第四步: 嫁接夹消毒

嫁接小夹在嫁接前要用高浓度的恶霉灵 20 mL 兑水 2.5 kg 浸

泡 20 h, 或用开水闷烫半小时备用。提醒菜农朋友最好选择用圆口小夹, 禁止使用橡皮筋套或缠膜代替小夹, 否则嫁接伤口处透气性差, 易滋生病菌, 在接口处潜伏; 再加上高温、高湿等不良环境条件, 为定植后植株茎秆髓部黑心和死枝埋下后患。

第五步: 嫁接前, 砧木苗适当控水

砧木苗在嫁接前要处于略缺水状态, 这样切口处汁液粘稠利于嫁接苗成活。嫁接后再浇水, 砧木和接穗之间汁液流动更快, 更有利于嫁接伤口的愈合。

第六步: 切口要顶紧

嫁接时要选用新剃须刀片, 砧木苗切口要劈深 1~1.5 cm, 接穗要削成 30° 的楔形, 切面长度在 1~1.5 cm。接着将接穗插入砧木切口, 此时最关键的一点要注意, 摁住接穗再轻轻向砧木切口最低部用力一顶, 这样接口粘结更紧, 更有利于提高苗子成活率。

第七步: 嫁接后边浇边罩膜

嫁接好后的苗子有专人负责摆放在苗床上, 每摆完一趟, 即用爱多收 7500 倍液浇透营养杯, 然后接着

罩上膜。

第八步: 通风

通风是苗子嫁接后至至关重要的一个环节。注意苗床所用覆膜, 要两块膜左右对接, 这样便于从苗床顶部放风, 切记不要从苗床底部放风。若苗床温度高达 40℃ 以上时, 建议嫁接后的第 2 天即可放小风。

千万不要为了保证空气湿度, 四五天不通风, 这样易引起嫁接口水烂, 而且幼苗因高温蒸发量过大而容易失水过急闪死接穗。通风不及时苗床温度过高, 也是造成成活率低的主要原因之一, 所以要适当通风, 苗床温度最好掌握在 28~35℃。

第九步: 撤膜后的管理

嫁接后 7 d 左右利用早晨或傍晚时间撤下苗床覆膜。此时要及时喷药防病, 可用金灰露 25 g、恶霉灵 15 mL、鲜胺脂 1 粒兑水 15 kg 均匀喷雾。

茄子嫁接苗一般在嫁接后 8 d 内其成活率高低已成定局, 望菜农朋友谨记以上要点, 相信你的嫁接工作会更加成功。



提高茄子苗嫁接成活率九步走