

锌对铅胁迫下豌豆幼苗生长发育的影响

王立新, 郁建锋, 吕伟, 杜兰芳

(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, 研究了不同浓度锌对铅胁迫下豌豆在种子的萌发与幼苗的生长等方面的影响。结果表明: 低浓度(≤ 50 mg/L)的锌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。当铅浓度为 10 mg/L 时, 10 mg/L 锌对铅的解毒效应最明显。但当铅浓度 ≥ 200 mg/L 时, 200 mg/L 锌则与铅协同迫害豌豆幼苗的生长。

关键词: 锌; 铅; 豌豆; 叶绿素; 过氧化物酶

中图分类号: S 643.304⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)11-0017-04

环境中的重金属以单元素存在的情况是很少的, 大多数情况下是元素之间及重金属与其他污染物联合作用构成的复合污染。由于复合污染下污染物对生物有机体的效应与单一污染物作用存在差异, 因此复合污染研究更能客观体现环境中污染物与生物有机体之间的相互作用规律和机理。随着工农业的发展, 污水灌溉、农药、除草剂等的使用, 将大量的铅(Pb)、锌(Zn)、铬(Cr)、镉(Cd)等重金属带入到环境中, 引起环境的污染。

铅对环境的污染主要来自汽油里添加抗爆剂烷基铅, 随汽油燃烧后的尾气而积存公路两侧百米范围内的土壤中^[1]。另外, 铅字印刷厂、铅冶炼厂、铅采矿场等也是重要的污染源。铅是土壤污染较普遍的元素, 一般进入土壤中的铅极不易溶解, 在土壤中易与有机物结合, 很容易被农作物吸收继而通过食物链危害人体健康。

锌对植物的 SOD、POD、CAT、根系活力、叶绿素等生理指标产生很大的影响。叶志鸿的试验(1990)表明高镉废水引起了宽叶香蒲根系活力降低, 叶片脯氨酸含量增加, 叶片生长期缩短。Foy(1978)认为锌污染造成植物矮化的原因是在植物体内与其他养分起拮抗作用, 抑制了根的生长和分布。

为了缓解重金属的毒害作用, 人们对锌、铅元素在土壤-植物中的转化、对植物的毒害效应等方面做了一定的研究工作^[2,3]。试验从萌发率、植物生长情况、根尖细胞分裂情况等方面研究豌豆幼苗生长过程中锌对铅胁迫的缓解作用, 为保护环境提供试验数据。

1 材料和方法

第一作者简介: 王立新(1974), 女, 实验师, 现从事植物生理研究工作。E-mail: wlx26@tom.com。

通讯作者: 杜兰芳。E-mail: dlfc@csig.edu.cn。

收稿日期: 2008-05-21

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, 在室温(18 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 下浸种 2 h 后, 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)溶液中浸种 22 h, 再移入垫 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硫酸锌(广州化学试剂厂)溶液(浓度分别为 10、20、50、100、200 mg/L)。把培养皿置于强度 2 000 lx, 光照为 12 h/d 的培养室(18 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 中培养, 每隔 24 h 换溶液一次。重复 3 次。

1.3 试验过程

1.3.1 豌豆种子发芽率统计 每天中午 12 时定时观察, 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, 作好数据记录。以平均值表示。

1.3.3 豌豆根尖细胞核和染色体的观察方法 同文献[4]。

1.3.4 叶绿素含量测定 采用丙酮-乙醇混合法提取叶片中的叶绿素, 叶绿素总含量的计算^[5]: $(20.2D_{645} + 8.02D_{663}) \times V / 1000W$ (V 为提取液体积, W 为样品鲜重)。

1.3.5 豌豆幼苗过氧化氢酶的测定 第 15 天, 取锌浓度为 10 mg/L 时不同浓度的铅溶液培养的豌豆幼苗 0.4 g 和铅浓度为 10 mg/L 时不同浓度的锌溶液培养的豌豆幼苗 0.4 g, 采用聚丙烯酰胺垂直凝胶电泳的方法

测定^④,用醋酸联苯胺染色法。以 Vision works LS 进行电泳图谱光密度扫描、光谱定量等自动分析。

2 结果与分析

2.1 锌对铅胁迫下豌豆种子萌发率的影响

由表 1 知,单一铅胁迫下,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%。

加锌处理后,各处理组的发芽势均高于同一浓度下未加锌的发芽势,说明在豌豆种子萌发的早期,锌能缓解铅对豌豆种子萌发的抑制作用,其中锌对铅浓度为 300 mg/L 时的解毒效应尤为显著,使种子的发芽势提高了 22.17%~30.07%。

单一铅胁迫下,各处理组的发芽率也均低于对照。当铅浓度≥20 mg/L 时,随着铅浓度的增加,下降的比例也增大。铅浓度为 300 mg/L 的发芽率比对照降低了 25.95%。

加锌处理后,在锌浓度≤50 mg/L 时,各处理组的发芽率均大于对照。在锌浓度为 10、20、50 mg/L 时,铅浓度为 10、20、50 mg/L 发芽率为 100%、100%、96.67%,分别为各组的最大值。说明铅浓度≤50 mg/L 时,加与铅等浓度的锌有较佳的缓解铅害作用。

当铅浓度为 300 mg/L、锌浓度 200 mg/L 时的最低发芽率(67.72%),是高浓度锌与高浓度铅的共同胁迫所致。

表 1 锌对铅胁迫下豌豆种子萌发状况的影响

锌浓度 /mg·L ⁻¹	铅浓度/mg·L ⁻¹						
	0	10	20	50	100	200	300
发芽势/%							
0	59.40	52.36	57.41	51.93	49.59	42.52	30.46
10	61.07	63.21	61.07	59.87	59.01	60.45	60.53
20	59.02	61.31	61.31	61.51	58.39	58.87	58.06
50	58.60	59.40	59.71	61.00	58.39	59.01	58.39
100	58.29	57.87	60.56	61.01	59.34	57.16	57.00
200	57.22	56.22	57.51	56.97	56.04	54.16	52.63
发芽率/%							
0	95.00	93.33	94.13	93.33	90.00	83.33	69.05
10	100.00	100.00	98.33	98.33	97.16	90.67	88.72
20	98.33	96.67	100.00	93.33	98.33	90.33	88.72
50	95.00	95.00	96.33	96.67	90.33	89.79	87.36
100	93.24	92.37	98.33	92.13	91.58	91.58	86.33
200	92.13	91.27	91.63	91.63	90.00	83.33	67.72

2.2 锌对铅胁迫下豌豆幼苗根长及芽长的影响

表 2 知,单一铅胁迫下,豌豆幼苗根长呈现先升后降的趋势。在铅浓度为 10 mg/L 时,根长相当于对照的 110.9%。当铅浓度至 50 mg/L 时,根长是对照的 63.7%;当铅浓度为 300 mg/L 时,根长最低,相当于对照的 48.7%;说明铅浓度≥50 mg/L 时,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。

加锌处理后,以未加锌作对照。在铅浓度≤50 mg/L、锌浓度≤50 mg/L 时,各处理组的根长均大于对照。在铅浓度 10 mg/L、锌浓度 10 mg/L 时,根长(5.10)为同一组中的最大值,是对照的 119.2%;在铅浓度 20 mg/L、锌浓度 20 mg/L 时,根长(5.50)为同一组中的最大值,是对照的 138.2%;在铅浓度 50 mg/L、锌浓度 50 mg/L 时,根长(3.70)为同一组中的最大值,是对照的 150.4%。说明铅浓度≤50 mg/L 时,加与铅等浓度锌有较佳的缓解铅害作用。

表 2 锌对铅胁迫下豌豆幼苗根长和芽长的影响(120 h)

锌浓度 /mg·L ⁻¹	铅浓度/mg·L ⁻¹						
	0	10	20	50	100	200	300
根长/cm							
0	3.86	4.28	3.98	2.46	2.78	2.14	1.88
10	4.19	5.10	4.48	3.28	2.96	2.16	1.90
20	4.10	5.00	5.50	3.62	2.76	1.90	1.70
50	4.50	4.82	4.10	3.70	2.26	2.12	1.68
100	3.01	3.18	3.74	3.06	2.74	1.60	1.64
200	1.68	4.10	3.52	3.12	2.74	1.32	1.14
芽长/cm							
0	1.88	2.06	2.14	1.02	1.68	1.78	1.02
10	1.96	2.51	1.82	2.10	1.70	1.96	1.32
20	1.78	1.84	2.34	1.72	1.96	1.66	1.92
50	1.74	1.70	1.86	2.10	1.80	1.76	1.62
100	1.76	1.84	1.94	2.02	1.34	1.72	1.62
200	1.18	1.74	1.90	1.98	1.68	1.18	0.84

当铅浓度≥100 mg/L、锌浓度 10 mg/L 时,幼苗根长均略大于未加锌;当锌的浓度再增大时,幼苗根长均小于未加锌;在铅浓度为 300 mg/L、锌浓度 200 mg/L 时,幼苗根长达最低值(1.14),是对照的 60.6%,是高浓度锌与高浓度铅的共同胁迫所致。

在铅浓度≤50 mg/L 时,加锌处理后幼苗芽长的情况与根相似,加等浓度锌能促进芽的生长。当锌浓度为 200 mg/L、铅浓度为 300 mg/L 时,协同抑制芽的生长,此时芽长为对照的 82.4%。对芽的抑制作用小于对根的抑制。

2.3 锌对铅胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响

表 3 锌对铅胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响(15 d)

处理浓度	叶绿素含量	相对叶绿素	处理浓度	叶绿素含量	相对叶绿素
/mg·L ⁻¹	/mg·g ⁻¹	含量/%	/mg·L ⁻¹	/mg·g ⁻¹	含量/%
Zn10 Pb			Pb10 Zn		
0	3.67	100.00	0	3.70	100.00
10	4.20	114.44	10	4.14	111.89
20	4.16	113.35	20	3.50	94.59
50	3.16	86.10	50	3.74	101.08
100	3.72	101.36	100	3.64	98.38
200	3.69	100.52	200	3.60	97.30
300	3.58	97.55			

由表 3 知,当铅浓度≤20 mg/L 时,10 mg/L 的锌促进叶绿素合成;锌浓度为 10 mg/L、铅浓度为 10 mg/L 时,叶绿素含量是最大值,是对照的 114.4%、111.9%。

说明此时锌较好地缓解了铅对叶绿素合成的抑制作用。当锌浓度为 10 mg/L、铅浓度为 50 mg/L 时, 叶绿素含量最小, 是对照的 86. 10%。

2. 4 锌对铅胁迫下豌豆根尖细胞核和染色体的影响

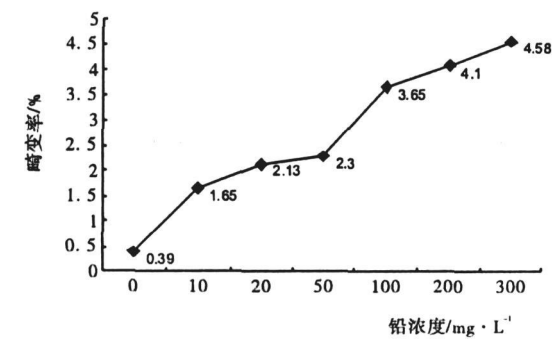


图 1 铅胁迫对豌豆幼苗根尖细胞分裂的影响

表 4 锌(10 mg/L)对铅胁迫下豌豆根尖细胞核和染色体的影响(120h)

铅浓度 /mg · g ⁻¹	镜检细胞 /个	分裂期	细胞核染色体畸变类型和变异细胞数/个			
		细胞数/%	畸形核	微核	不均等分离	总畸变率/%
0	2823	1.91	17	12	1	1.06
10	2978	3.79	6	6	0	0.40
20	2876	3.03	18	7	1	0.90
50	2798	3.90	9	10	2	0.75
100	2930	2.59	16	8	6	1.02
200	3012	1.76	21	11	9	1.36
300	2890	0.73	24	15	6	1.56

由图 1 知, 单一铅胁迫下, 随着铅浓度的增加, 铅对豌豆根尖细胞染色体致畸作用不断增强, 畸变率与铅浓度呈正相关。

由表 4 可知, 铅浓度为 10 ~ 100 mg/L 时加入 10 mg/L 的锌处理后, 各处理组的分裂期细胞数均大于 CK, 而畸变率比 CK 分别降低了 0. 66%、0. 16%、0. 31%、0. 04%。锌浓度为 10 mg/L、铅浓度为 10 mg/L 时, 畸变率(0. 40%)最低, 是 CK 畸变率(1. 06%)的 37. 7%。说明锌缓解了铅对细胞的致畸作用。当铅浓度增至 200 mg/L 时, 畸变率大于 CK, 铅浓度为 300 mg/L 时, 畸变率(1. 56%)是 CK 的 147. 2%, 是锌与铅的共同胁迫所致。

2. 5 锌对铅胁迫下的豌豆过氧化物酶同工酶(POD)的影响

POD 是一种含铁的金属蛋白质, 它能催化过氧化氢氧化酚类的反应, 将 H₂O₂ 分解成 H₂O, 使植物免受毒害, 在植物呼吸代谢中有着重要作用。当植物受到铅等重金属污染时, POD 发生相应的变化。

图 2 是锌(10 mg/L)对不同浓度铅胁迫下豌豆幼苗 POD 影响的图谱。加锌处理后豌豆幼苗 POD 的活性和数量与未加锌相比均有不同。对照组有 4 条酶带, 加锌后除铅浓度为 100 mg/L 时与对照相同, 其余为 5 条, 均

比对照多一条。Vision works LS 对电泳图谱光密度扫描分析, 各酶带的迁移率也发生改变: 加锌后酶带的平均迁移率均大于对照 0. 04 ~ 0. 13, 这是由于比对照多的一条酶带在阳极端形成。预示加锌后 POD 电性发生变化。这和文献[7] 加镉后 POD 活性的增加阳极区高于阴极区相似。

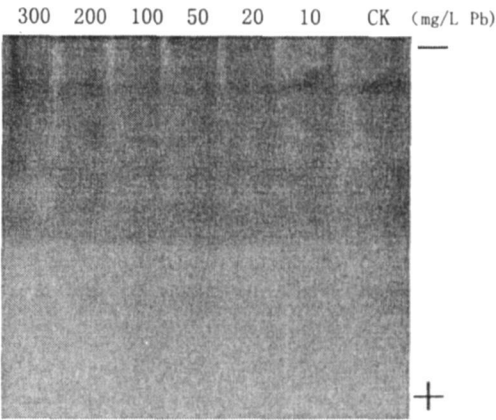


图 2 Zn(10 mg/L)对铅胁迫下豌豆幼苗过氧化物同工酶的影响

表 5 锌(10mg/L)对铅胁迫下豌豆幼苗灰度值的影响

铅浓度/mg · L ⁻¹	0	10	20	50	100	200	300
灰度值	278 699	294 771	264 264	270 607	234 543	281 847	237 836
相对灰度值/%	100.0	105.8	94.8	97.1	84.2	101.1	85.3

灰度值的大小反映了酶含量的多少, 与酶的活性呈正相关。它既反映了酶带的宽容, 又反映了酶带的深浅。由表 5 知, 各处理组与对照相比, 酶带的灰度值均发生了变化。铅浓度为 10 mg/L 时灰度值最大, 是对照的 105. 8%。

不同浓度锌对铅(10 mg/L)胁迫下豌豆幼苗 POD 电泳酶谱的定量等自动分析得出 POD 活性的变化与锌浓度大小密切相关。其中以锌浓度为 10 mg/L 时 POD 活性的增加最大。

所以, 加锌处理后 POD 的活性和数量的改变, 预示锌离子造成了铅胁迫下豌豆幼苗体内生理代谢发生改变。而适量的锌(10 mg/L)使铅(10 mg/L)胁迫下豌豆幼苗体内 POD 活性、数量的适量增加, 而此时与促进豌豆种子萌发率的提高、促进根、茎的增长, 叶绿素合成量是最大值的最佳浓度一致。说明此时体内活性氧代谢系统平衡, 即此时锌对铅害的缓解作用较佳。

3 结果与讨论

高浓度铅胁迫与汞胁迫相似, 诱导细胞产生超量的自由基, 使植株受到氧化胁迫而导致生理代谢紊乱从而影响植物体的生长发育^[3]。稀土元素镧能缓解比镉、汞浓度稍高铅浓度的毒害效应, 以 0. 1 mg/L 镧对 20 mg/L 铅的解毒效应应较佳^{7-8]}。

通过同一锌浓度对不同浓度的铅胁迫组合及不同锌浓度对同一铅浓度胁迫的组合结果显示, 铅浓度 ≤ 50 mg/L 时, 加与铅等浓度锌能提高种子的萌发率, 促进根、芽的生长, 显示了锌对铅的解毒效应。在铅浓度 10 mg/L 加 10 mg/L 锌, 可显著降低铅胁迫下豌豆幼苗根尖细胞的畸变率, 提高叶绿素的含量是锌缓解铅害作用在生理特征的体现。

POD 是生物体内抗氧化酶系统中主要的保护酶之一, 能与植物体内相关酶类有效地清除超氧化物自由基。上述解毒效应与锌激活植物体内的保护性酶 POD 活性密切相关。但试验结果显示, POD 的数量和活性过高与过低一样也会影响植物的正常生长, 所以植物体内活性氧代谢系统的平衡, 是植物体正常生理代谢的基础条件之一。

植物在铅胁迫下, 加入适量锌处理, 能消除铅污染对植物的伤害; 对不同浓度的铅胁迫, 可以通过使用不同浓度的锌处理来达到缓解毒害的最佳效果。因此, 在

植物的生长发育中, 进一步探究锌与重金属元素的关系, 有效地发挥锌对重金属的缓解毒害机理, 是环境日渐恶化的需要。

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] 杨刚, 伍钧, 唐亚. 铅胁迫下植物抗性机制的研究进展[J]. 生态杂志, 2005, 24(12): 1507-1512.
- [3] 张丽, 郁建锋, 杜兰芳. 铅胁迫对豌豆种子的毒害效应[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(34): 10997-11000.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 杜兰芳, 王立新, 许俊, 等. 镉对汞胁迫下豌豆生长发育效应的影响[J]. 科技通报, 2007, 23(5): 61-67.
- [8] 杜兰芳, 郁建锋, 屠云霞. 镉对铅胁迫下豌豆幼苗生长发育的影响[J]. 北方园艺, 2007(12): 14-18.

Effect of Zn on the Complexion and Physiological Property of Pisumsativum Seedlings Under Pb Stress

WANG Li-Xin, YU Jian-feng, LV wei, DU Lan-fang

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

Abstract: The study on the effect of the Zn in different concentration on the germination and growth of pea seed under Pb stress were investigated by water culture method. The results showed that low concentration Zn (≤ 50 mg/L) can stimulate the growth of the pea seedling under the Pb stress, increase the activity of isoenzyme and chlorophyll content of seedling, can remittance the poisoning action of the Pb. When Pb and Zn concentration to be 10 mg/L the effect of the remittance poisoning action was the most. But when the concentration of Pb was more than 200 mg/L and the concentration of the Zn came to 200 mg/L, the Zn cooperate with the Pb to aggravate the poisoning action of the pea seedling.

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

改为半月刊 全年订价不变

《中国蔬菜》2009 年征订启事

邮局订阅代号(邮发代号): 82-131, 订价: 每册 2.4 元, 每月 4.8 元, 全年 57.6 元, 也可直接汇款到本刊编辑部订阅。

地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号《中国蔬菜》编辑部
邮编: 100081

电话: 010-82109550 传真: 010-62148559

E-mail: zgsc@mail.caas.net.cn zgsc9550@126.com

★《中国蔬菜》自 2009 年 1 月起改为半月刊, 全年订价不变

★由农业部主管、中国农业科学院蔬菜花卉研究所主办, 为全国中文核心期刊, 2003 年获第二届国家期刊奖

★一流专家审稿, 优中择优, 打造学术权威

★扩版增容, 缩短论文发表周期, 促进国内外学术交流

★欢迎订阅, 欢迎投稿