

doi:10.11937/bfyy.20181846

不同重金属胁迫对绿豆种子萌发和 幼苗部分生理指标的影响

齐文靖, 于 晗, 张佳慧, 张萌祺, 徐盛世, 崔 月

(长春师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130032)

摘 要:以洮南绿豆种子为试材,采用不同浓度硝酸亚汞、硝酸铅和氯化铜溶液单一处理绿豆种子,探究了重金属离子胁迫对绿豆萌发过程中生理指标、可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响,以期为进一步了解重金属对农作物萌发和生长的毒害机制提供参考依据。结果表明:3种重金属离子溶液胁迫均能抑制绿豆幼苗根和茎的生长,其中氯化铜、硝酸亚汞胁迫的影响较为显著。另外,绿豆种子在经重金属离子溶液胁迫后,幼苗全株的可溶性糖含量明显增加。其中当硝酸亚汞和硝酸铅浓度分别达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,绿豆幼苗的可溶性糖含量达到最大值。此外,硝酸铅胁迫促进绿豆幼苗内可溶性蛋白质的积累,而硝酸亚汞和氯化铜胁迫对可溶性蛋白质含量没有明显影响。

关键词:重金属;种子萌发;可溶性糖;可溶性蛋白质;绿豆

中图分类号:S 522 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)21-0001-05

随着中国的综合实力日益增强,国家的工业化、城市化以及农业现代化水平迅猛发展,有毒重金属以多种形态和多种方式进入土壤中对农作物的生存环境产生严重污染。已有研究表明,铜(Cu)、铅(Pb)、镉(Cd)、锌(Zn)、钴(Co)和汞(Hg)等重金属污染严重影响植物的生长发育和代谢^[1]。重金属离子抑制农作物细胞的分裂和伸长以及多种酶的活性,导致光合作用和呼吸作用降低,最终导致农作物产量和品质降低^[2]。

绿豆具有较高的经济价值和生态效益,绿豆幼苗的生长受到多方面综合因素的影响,其中土壤成分中的重金属离子含量对绿豆生长有显著的

影响^[3]。已有研究表明,不同浓度的亚汞离子和铅离子单一处理对绿豆生长具有抑制作用^[4]。植物细胞内可溶性糖对植物的渗透平衡和蛋白质的稳定具有重要作用,植物体内可溶性糖的含量越高,其抗性越强^[5]。在重金属胁迫下合果芋叶片内的可溶性蛋白质和可溶性糖含量均受到抑制^[6]。然而,关于不同重金属离子胁迫对绿豆萌发的指标以及其幼苗内可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响缺乏系统的比较和评价。

该研究利用不同浓度的铜(Cu^{2+})、铅(Pb^{2+})和汞(Hg^{+})离子单一处理绿豆种子,探讨其对绿豆的萌发、可溶性糖及可溶性蛋白质含量的影响,以期深入了解土壤中不同重金属污染对绿豆生长的毒害机理提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试绿豆为市面销售的普通洮南绿豆。

药品与设备:硝酸亚汞(分析纯)、硝酸铅(分

第一作者简介:齐文靖(1985-),女,河北保定人,博士,讲师,现主要从事植物生理分子调控等研究工作。E-mail: qwj-wxs.2008@163.com.

基金项目:吉林省教育厅“十三五”科学技术资助项目(JJKH20170656KJ);长春师范大学自然科学基金资助项目(2015-001);2017年吉林省大学生创新创业训练计划资助项目(201710205074)。

收稿日期:2018-06-27

析纯)、氯化铜(分析纯)、葡萄糖(分析纯)、标准蛋白(BSA)、考马斯亮蓝 G-250、磷酸氢二钠(分析纯)、磷酸二氢钠(分析纯)。分光光度计(UV-1600B, 上海美谱达)、恒温水浴锅(HH-8, 万合仪器)、离心机(CTK48, 湖南湘仪)、光照培养箱(PGX-250B, 松朗仪器)等。

1.2 试验方法

选取籽粒饱满的绿豆, 用 5% 次氯酸钠溶液消毒 5 min, 然后用蒸馏水冲洗 3 次。取直径 9 cm 的培养皿内铺 3 层滤纸, 分别加入 10 mL 蒸馏水(对照)、50、150、300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度硝酸亚汞、硝酸铅和氯化铜的处理溶液, 将 20 颗消毒过的绿豆种子均匀摆在培养皿中, 每组设置 3 次重复。将培养皿放入光照恒温培养箱(25 $^{\circ}\text{C}$, 60% 湿度)。连续培养 7 d, 期间每天更换盒内滤纸, 并详细记录种子的发芽情况。发芽第 7 天测量绿豆幼苗的根长、茎长、干质量和鲜质量。

1.3 项目测定

发芽势及发芽率的测定: 发芽势(%) = 第 3 天供试种子的发芽数/供试种子总数 $\times 100$, 发芽率(%) = 第 7 天供试种子的发芽数/供试种子总数 $\times 100$ 。

采用蒽酮法测定可溶性糖含量^[7]。采用考马斯亮蓝染色法测定可溶性蛋白质含量^[8]。

1.4 数据分析

利用 Graphpad 6 软件对 3 次独立试验统计结果进行差异显著性分析。*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ****, $P < 0.0001$ 。

2 结果与分析

2.1 重金属离子胁迫对绿豆萌发的影响

2.1.1 重金属离子胁迫对绿豆种子的发芽势和发芽率的影响

种子的发芽势和发芽率可以反映种子的萌发状态。从图 1A 可以看出, 随着重金属离子浓度的升高, 各离子胁迫组的绿豆发芽势较对照均有所下降, 但各重金属离子对绿豆的发芽势抑制均不十分明显。重金属铜离子对绿豆发芽势的抑制程度较其它各组离子稍严重。从图 1B 可以看出, 各重金属离子胁迫组的绿豆发芽率均低于对照组, 但各重金属离子对绿豆发芽率的抑制均不明显。

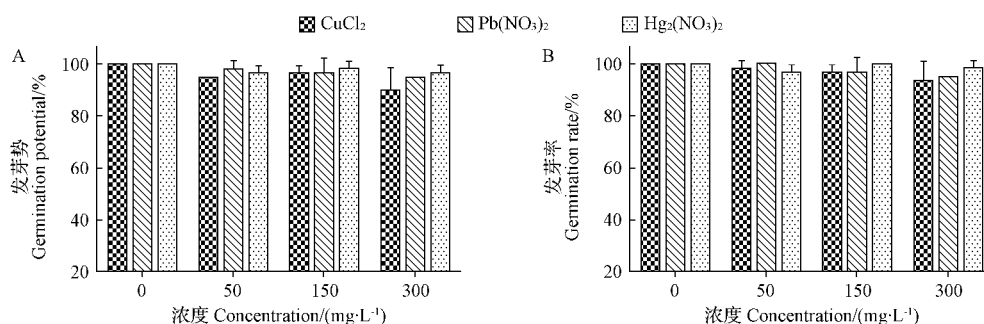


图 1 重金属离子胁迫对绿豆发芽势和发芽率的影响

Fig. 1 Effects of heavy metal ion stress on the germination potential and germination rate of green bean

2.1.2 重金属离子胁迫对绿豆幼苗根和茎的生长影响

从图 2A 可以看出, 重金属亚汞离子浓度达到 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 绿豆幼苗的根长显著高于对照。当浓度达到 300 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 绿豆的根长又明显降低。推测低浓度亚汞离子胁迫可能激活了种子的抗逆反应从而促进幼苗根的生长, 而高浓

度亚汞离子胁迫导致幼苗根的生长受到抑制。铜离子和铅离子胁迫处理后, 绿豆幼苗的根长均低于对照, 同时表现出随处理浓度的提高而显著降低的趋势。综上所述, 3 种重金属离子对绿豆幼苗的根长均具有一定的抑制作用, 其中铜离子的抑制作用最为明显, 其次是铅离子和亚汞离子。

从图 2B 可以看出, 在重金属亚汞、铜、铅离

子的胁迫作用下绿豆幼苗的茎长均低于对照。其中亚汞离子胁迫对绿豆幼苗茎的生长抑制作用最为显著。低浓度铅离子和铜离子($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)处理对绿豆幼苗茎的生长抑制作用不明显。随着

铅离子和铜离子浓度的升高,绿豆幼苗的茎长明显缩短。综上所述,3种重金属离子胁迫下绿豆幼苗茎的生长均受到了抑制,其中亚汞离子的抑制作用最明显。

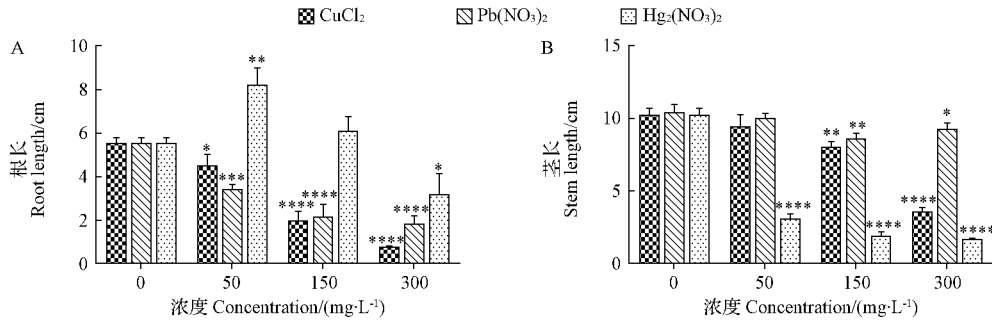


图 2 重金属离子胁迫对绿豆幼苗根和茎生长的影响

Fig. 2 Effects of heavy metal ion stress on the root and stem growth of green bean seedlings

2.2 重金属离子胁迫对绿豆幼苗生物量的影响

由图 3A 可知,在重金属亚汞、铜和铅离子的胁迫作用下绿豆幼苗的鲜质量均低于对照。随着亚汞离子浓度的增加,绿豆幼苗的鲜质量逐渐降低。当亚汞离子浓度达到 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,绿豆幼苗的鲜质量明显降低。在铅离子和铜离子的胁迫下,绿豆幼苗的鲜质量较对照皆有下降,且当铅离子和铜离子浓度达到 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,绿豆幼苗的鲜质量明显降低。随着铅离子和铜离子浓度

的增大,绿豆幼苗的鲜质量又有所增加。

重金属亚汞离子和铜离子胁迫对绿豆的干质量没有明显的影响。重金属铅离子胁迫下,绿豆幼苗的干质量随着铅离子浓度的升高而增加,当铅离子达到 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,绿豆幼苗的干质量达到最大值(图 3B)。推测铅离子胁迫可能激活了幼苗的抗逆反应,使蛋白质合成增多,而高浓度胁迫又导致绿豆生长受到抑制。

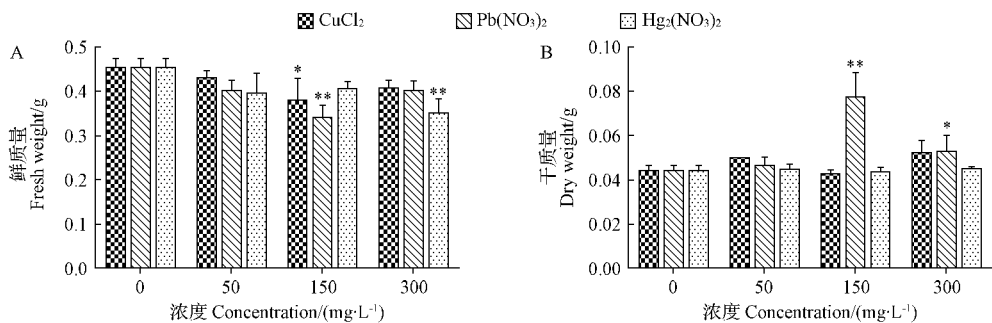


图 3 重金属离子胁迫对绿豆幼苗生物量的影响

Fig. 3 Effects of heavy metal ion stress on the biomass of green bean seedlings

2.3 重金属离子胁迫促进绿豆幼苗可溶性糖和可溶性蛋白质含量的积累

绿豆被重金属胁迫后最显著的反应是可溶性碳水化合物的改变。从图 4A 可看出,在重金属

亚汞离子、铅离子和铜离子的作用下,绿豆幼苗的可溶性糖含量与对照相比均明显增加。当亚汞离子浓度到达 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,绿豆幼苗的可溶性糖含量达到最大值。随着亚汞离子浓度的升高,绿

豆幼苗的可溶性糖含量又逐渐下降,但仍高于对照。重金属铅离子胁迫下绿豆幼苗的可溶性糖含量显著增加,且当铅离子浓度达到 $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,绿豆幼苗的可溶性糖含量达到最大值。低浓度重金属铜离子胁迫下,绿豆幼苗的可溶性糖含量没有明显的变化。当浓度达到 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,绿豆幼苗的可溶性糖含量明显增加。由以上结果可以看出,重金属离子对绿豆幼苗可溶性糖的积累均有明显的促进作用,但不同重金属离子对于绿豆幼苗可溶性糖含量的影响程度不一样。

植物体内的可溶性蛋白质大都是参与了各种

代谢的酶类,其含量的变化是了解植物总代谢的重要指标之一。从图4B可以看出,重金属亚汞离子和铜离子浓度胁迫对绿豆幼苗可溶性蛋白质含量的影响不明显。然而,绿豆幼苗的可溶性蛋白质含量随着铅离子浓度的升高而逐渐增加。当浓度达到 150 、 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,绿豆的可溶性蛋白质含量与对照相比显著增加。综上所述,重金属离子对绿豆幼苗体内可溶性蛋白质含量的影响程度不一样,而且不同浓度的重金属离子对绿豆幼苗可溶性蛋白质含量的影响也不一致。

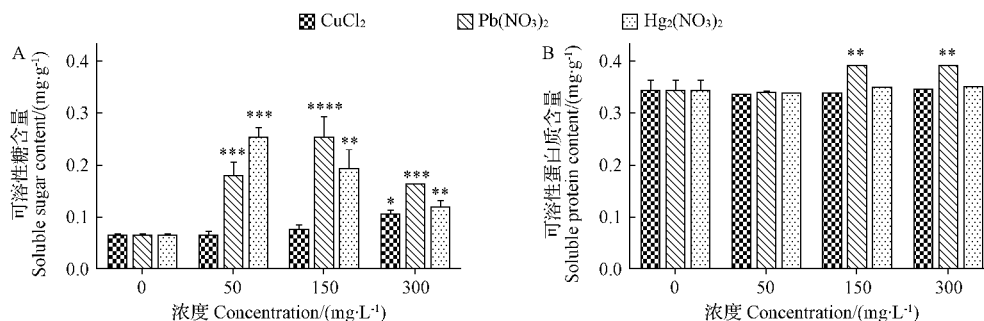


图4 重金属离子胁迫对绿豆幼苗生理指标的影响

Fig. 4 Effects of heavy metal ion stress on physiological indices of green bean seedlings

3 结论与讨论

该研究利用不同浓度的3种重金属离子胁迫绿豆,通过检测绿豆种子萌发及幼苗可溶性蛋白质和可溶性糖含量的变化来探讨重金属离子的毒害作用。结果表明,3种重金属离子溶液胁迫均能抑制绿豆种子萌发以及幼苗根和茎的生长。绿豆种子经重金属离子溶液胁迫后,可溶性糖和可溶性蛋白质含量均明显增加。

已有研究表明,逆境条件下生长的植物体内可溶性蛋白质和可溶性糖含量会发生一定变化,从而进一步影响植物细胞的渗透调节^[9]。已有研究表明,铜离子和亚汞离子胁迫处理绿豆幼苗,植株内可溶性总蛋白质的含量总体呈上升趋势^[10-11]。该研究发现在浓度为 $150\sim 300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 铅离子胁迫下,植物体内可溶性蛋白质含量较对照组升高。然而,铜离子和亚汞离子胁迫并没有导致绿豆幼苗可溶性糖含量的增

加,这可能与所选的胁迫浓度较低有关。该研究发现 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 亚汞离子胁迫组中绿豆幼苗的可溶性糖含量显著增加,随着离子浓度的增大,可溶性糖含量又明显降低。然而,在铅离子胁迫下,绿豆幼苗的可溶性糖含量在 $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到峰值,随后随着铅离子浓度的增加又有所降低。铜离子胁迫组中绿豆幼苗的可溶性糖含量与铜离子浓度呈正相关。由此可以看出,不同重金属离子对绿豆幼苗中可溶性糖的积累作用具有多样性。已有研究发现,豆科植物的发芽率、发芽势、发芽指数均与铜离子和铬离子浓度呈极显著负相关^[12-13],该研究也得到了同样的结论。前人研究发现,铅离子、锌离子和亚汞离子在低浓度时能够促进莠麦和燕麦种子的萌发和主根的生长,而高浓度则抑制其萌发^[14-15]。该研究发现不同浓度亚汞离子对绿豆幼苗根生长也呈现“低浓度促进、高浓度抑制”的现象。由此可以看出,重金属对农作物危害的机理或途径具有复杂性和多样性,有待于综合多个指标进一步分析。该研究内容为进

一步了解重金属对农作物萌发和生长的毒害机制提供了参考依据,同时为缓解重金属离子的毒害效应奠定了基础。

参考文献

- [1] 廖自基. 微量元素的环境化学及生物效应[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992: 383-520.
- [2] 夏吉林, 姜贝贝, 余婷, 等. 重金属铜、锌、铅胁迫对长鬃蓼部分抗性生理指标的影响[J]. 湖北农业科学, 2016(11): 2751-2754.
- [3] 赵吉平, 王彩萍, 侯小峰, 等. 论绿豆的经济价值及产业化开发利用[J]. 农业科技通讯, 2016(5): 9-10.
- [4] 郭锋, 樊文华. Hg、Cr 和 Pb 污染对绿豆种子萌发及幼苗生长发育的影响[J]. 种子, 2008(9): 34-37.
- [5] 朱政, 蒋家月, 江昌俊, 等. 低温胁迫对茶树叶片 SOD、可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(1): 24-26.
- [6] 张家洋. 重金属及盐胁迫对绿金合果芋生理特性的影响[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(4): 601-608.
- [7] 李文砚, 韦持章, 孔方南, 等. 萘酚法测定木奶果果实中可溶性糖含量的研究[J]. 中国园艺文摘, 2015, 31(12): 7-8.
- [8] 焦洁. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定苜蓿中可溶性蛋白含量[J]. 农业工程技术, 2016, 36(17): 33-34.
- [9] 魏学玲. 重金属铅胁迫对小麦种子萌发及幼苗生理生化特性的影响[D]. 兰州: 西北师范大学, 2010.
- [10] 何晓良. 铅胁迫对几种草本中药生理生化特性影响的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013.
- [11] 刘飞, 曾小鹰. 汞胁迫对向日葵种子萌发和幼苗可溶性蛋白含量的影响[J]. 安徽农学通报, 2017, 23(21): 23-24.
- [12] 高菲菲. Cu、Zn、Cd、Pb 对三种豆科植物生长的影响及其吸附性能的研究[D]. 沈阳: 东北大学, 2008.
- [13] 张琼, 陈晓燕, 陈梅, 等. 镉对绿豆幼苗生长影响的研究[J]. 漳州师范学院学报(自然科学版), 2006, 4(1): 106-111.
- [14] 王海青. 铅锌汞三种重金属对莜麦生理毒性的研究[D]. 太原: 山西大学, 2014.
- [15] 郭小强, 毛宁. 汞离子对燕麦种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 甘肃农业, 2013(22): 50-52.

Effects of Heavy Metal Ions Stress on Seed Germination and Seedling Physiological Indices of Green Bean

QI Wenjing, YU Han, ZHANG Jiahui, ZHANG Mengqi, XU Shengshi, CUI Yue
(Department of Bioscience, Changchun Normal University, Changchun, Jilin 130032)

Abstract: In order to explore the toxic mechanism of heavy metals stress on the germination and growth of crops, the green bean seeds were used as materials, the seed germination and seedling physiological indices of green bean were compared and analyzed under different concentrations of $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and CuCl_2 treatment. The results showed that the stress of three heavy metal ions could inhibit the growth of root and stem of green bean seedlings, especially the CuCl_2 and $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ stress. However, the soluble sugar content of green bean seeds increased significantly under the heavy metal ions stress. Under the stress of $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ and $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, the accumulation of soluble sugar got to the peak. Moreover, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ stress promoted the accumulation of soluble protein in germinated green bean, rather than $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ and CuCl_2 stress.

Keywords: heavy metal ions; seed germination; soluble sugar; soluble protein; green bean