

硒对铅胁迫下豌豆幼苗生长发育的影响

郁建锋, 王立新, 张海芸, 黄姗姗, 杜兰芳

(江苏省常熟理工学院 生物系, 江苏 常熟 215500)

摘要: 研究了不同浓度的硒对铅胁迫下的豌豆在种子的萌发、植株的生长、根尖细胞分裂及过氧化物酶的活性等方面的影响。结果表明: 铅浓度 ≤ 100 mg/L、硒浓度 ≤ 10 mg/L 时, 硒促进铅胁迫下豌豆幼苗萌发生长; 铅浓度为 50 mg/L、硒浓度 ≤ 1.0 mg/L 时促进根尖细胞分裂并降低胚根细胞的畸变率, 提高过氧化物酶的活性和叶绿素含量, 缓解了铅的胁迫效应; 当铅浓度达到 200 mg/L、硒浓度为 10.0 mg/L 时, 硒则协同铅发生作用, 加剧对豌豆幼苗的毒害效应。

关键词: 硒; 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(2009)03-0030-04

近年来随着工业的迅速发展, 工业“三废”的超标排放, 使作物赖以生存的土壤、大气、水资源受到严重污染。植物具有一定的耐铅性能^[1], 导致蔬菜产品根、茎、叶、籽实中常含有一定量的铅, 不仅严重影响食品品质, 还直接影响人体健康。

硒是联合国卫生组织确定的人和动物所必需的微量元素, 是一种免疫功能增强剂, 具有抗氧化、抗衰老、增强人畜免疫力等多种生物学功能。硒具有二重性, 在较低的浓度下, 表现出有益的生理效应, 而在较高的浓度下, 则产生毒性作用, 过量时发生中毒现象^[2]。

试验采用模拟重金属铅污染方法, 探讨硒对铅胁迫下豌豆幼苗生长状况的影响, 以期减轻铅害提供一些参考数据。

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, 在室温(18±2)℃下分别用浓度为 0、10、20、50、100、200、300 mg/L 的醋酸铅(上海化学试剂公司)溶液浸种 24 h, 移至垫有 3 层纱布的培养皿中; 在培养皿中分别加入等体积不同浓度的醋酸铅溶液(浸种的浓度)和亚硒酸(上海化学试剂公司)溶液(浓度分别为 0、0.1、0.2、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L)。培养皿置于强度 2 000 lx, 光照为 12 h/d 的条件下培养, 每隔 24 h 换溶液 1 次。重

复 3 次。

1.3 试验过程

豌豆种子发芽率统计: 每天定时观察, 统计豌豆种子的发芽情况, 作好数据记录。

发芽指数、活力指数的计算方法参照文献^[3]。

发芽指数 = $\sum G_t / Dt$ (G_t 为不同时间的发芽量, Dt 为相应的发芽试验天数)。

活力指数 = 发芽指数 × 苗长度(取芽长)。

豌豆根尖细胞核和染色体的观察: 方法同文献^[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测定^[5]。豌豆幼苗过氧化物酶同工酶(POD)的测定: 第 15 天, 取铅为 50 mg/L 时不同浓度的硒处理组, 采用聚丙烯酰胺垂直凝胶电泳的方法测定^[6], 用醋酸联苯胺染色法。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 硒对铅胁迫下豌豆种子萌发的影响

表 1 硒对铅胁迫下豌豆幼苗发芽指数的影响

Table 1 Effect of Se under Pb stress on germination exponent in pea (120 h)

铅浓度 Pb concentration / mg · L ⁻¹	硒浓度 Se concentration/ mg · L ⁻¹						
	0	0.1	0.2	1.0	2.0	5.0	10.0
0	11.50	11.20	11.40	10.76	12.00	12.00	10.50
10	10.22	11.50	10.82	11.00	11.22	11.28	10.43
20	10.84	11.40	10.9	11.00	11.48	11.28	11.09
50	9.80	11.68	11.07	11.48	11.75	11.60	10.79
100	8.57	11.20	11.83	11.43	11.50	13.25	11.30
200	10.60	12.10	11.01	11.35	12.43	11.75	10.43
300	10.11	12.20	11.60	11.60	10.70	10.58	10.05

由表 2 知, 在铅单独作用下, 发芽指数均低于对照; 当铅浓度 ≤ 100 mg/L 时, 加入 ≤ 10 mg/L 的硒, 各处理组发芽指数均大于未加硒的, 说明硒缓解了铅对种子萌发的抑制效应。当铅浓度增至 200~300 mg/L, 加入 10 mg/L

第一作者简介: 郁建锋(1976-), 男, 讲师, 现从事生物生殖学研究。

通讯作者: 杜兰芳(1948-), 女, 教授, 主要从事遗传学研究工作。

基金项目: 植物学重点学科基金资助项目。

收稿日期: 2008-10-21

的硒时,发芽指数均小于同一浓度下未加硒,且铅为 300 mg/L、硒为 10 mg/L 时发芽指数是试验的最低值。

活力指数既反映了种子的萌发,又反映了芽的生长状况。由表 3 知 当铅浓度 ≤ 100 mg/L 时,加入 ≤ 10 mg/L 的硒,各处理组的活力指数均大于同一浓度下未加硒的;同时还呈现了低浓度硒对低浓度的铅缓解效应较佳,而高浓度的硒对高浓度的铅缓解作用较明显的趋势。当铅浓度增至 200~300 mg/L 时,加入 ≤ 5 mg/L 的硒,发芽指数也大于同一浓度下未加硒的,但当加入 10 mg/L 的硒 活力指数均小于未加硒,且铅为 300 mg/L、硒为 10 mg/L 时发芽指数是表中的最低值,说明

表 3 硒对铅(50 mg/L)胁迫下豌豆细胞分裂的影响

Table 3 Effect of Se under Pb(50 mg/L) stress on cell division of pea(72 h)						
Se 浓度 Se concentration / mg · L ⁻¹	镜检细胞数 Watch cells /个	细胞分裂 指数 Cell division/ %	细胞核染色体畸变类型和变异细胞数 畸形核 Abnormal- tynuclei	微核 Micronuclei	不均等分离 Asymmetric segregation	畸变率 Aberration rate/ %
0	2 142	4.48	13	12	7	1.49
0.1	2 140	4.52	15	9	6	1.40
0.2	2 208	4.93	12	8	1	0.95
1.0	2 178	5.78	14	4	1	0.87
2.0	2 101	5.76	21	14	6	1.95
5.0	2 285	4.29	26	21	5	2.27
10.0	2 309	3.16	29	22	7	2.51

2.2 硒对铅胁迫下豌豆根尖细胞核和染色体的影响

由表 3 知,在铅浓度为 50 mg/L 时,加入硒后,细胞分裂指数发生了变化,随着硒浓度的升高,细胞分裂指数呈现先升后降的趋势;在硒浓度 ≤ 2.0 mg/L 时,细胞分裂指数均大于对照,其中以硒为 1.0 mg/L 时,细胞分裂指数最大;当硒浓度增至 5.0 mg/L 时,细胞分裂指数小于对照;当硒浓度为 10.0 mg/L 时,细胞分裂指数最小。

表 4 硒对铅胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响

Table 4 Effect of Se under Pb stress on Chl content of pea (15 d)					
处理浓度 Disposal/ mg · L ⁻¹	叶绿素含量 Chl content/ mg · g ⁻¹ WF	叶绿素相对含量 Chl content Contrast/ %	处理浓度 Disposal / mg · L ⁻¹	叶绿素含量 Chl content/ mg · g ⁻¹ WF	叶绿素相对含量 Chl content Contrast/ %
Pb 50 Se 0	3.86	100.00	Se 1.0 Pb 0	3.94	100.00
0.1	3.87	100.26	10	3.98	101.02
0.2	3.90	101.04	20	4.09	103.81
1.0	4.22	109.32	50	4.23	107.36
2.0	3.88	100.26	100	3.98	101.02
5.0	4.11	106.47	200	3.79	97.18
10.0	3.71	96.11	300	3.69	93.65

2.3 硒对铅胁迫下豌豆幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素作为植物进行光合作用的主要色素,其含量的多少是反映植物叶片光合能力的一个重要指标。由表 4 知,在铅浓度为 50 mg/L 时, ≤ 5.0 mg/L 的硒均提高了幼苗叶绿素的含量,其中硒为 1.0 mg/L 时叶绿素

此时硒协同铅抑制种子的萌发和芽的生长。

表 2 硒对铅胁迫下豌豆幼苗活力指数的影响

Table 2 Effect of Se under Pb stress on germination exponent in pea(120 h)							
铅浓度 Pb concentration / mg · L ⁻¹	硒浓度 Se concentration/ mg · L ⁻¹						
	0	0.1	0.2	1.0	2.0	5.0	10.0
0	10.81	11.65	9.80	13.77	13.44	13.20	11.34
10	11.66	12.98	10.82	12.53	12.48	12.48	11.65
20	12.72	23.47	16.79	18.26	19.18	14.24	13.97
50	10.19	11.56	15.50	11.02	11.99	12.18	11.01
100	10.28	10.64	12.07	14.05	10.81	11.30	11.89
200	10.39	13.55	12.55	10.44	17.40	11.99	10.22
300	10.32	12.44	10.90	12.53	12.41	10.58	9.85

畸变率与细胞分裂指数呈现了负相关性 硒为 1.0 mg/L 时,畸变率最低,比对照低了 0.62%; 硒为 10.0 mg/L 时,畸变率最高,比对照高了 1.02%。

说明低浓度硒对低浓度铅胁迫的根尖有促进细胞分裂、降低细胞核和染色体变异的作用;而硒浓度(10.0 mg/L)较高时,将协同铅(50 mg/L)抑制细胞分裂,并使核变异、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。

含量最大。

在硒浓度为 1.0 mg/L 时,铅浓度 ≤ 100.0 mg/L 时,豌豆幼苗叶绿素含量均大于对照;铅浓度至 200 mg/L 及以上时,叶绿素含量小于对照。

说明低浓度硒对低浓度铅胁迫下幼苗有缓解铅害,

促进叶绿素合成的作用,以硒浓度为 1.0 mg/L 时,缓解效应尤为显著。这是硒缓解铅害作用在生理水平上的效应。

2.4 硒对铅胁迫下豌豆过氧化物酶(POD)的影响

POD 是一种普遍存在于植物中的氧化还原酶,对各种环境胁迫反应敏感,其活性受 H_2O_2 诱导会上升。

表 5 硒对铅(50 mg/L)胁迫下豌豆幼苗过氧化物酶的影响

Table 5 Comparison in Griscent of the isozymes (Pb 50 mg/L)

	硒浓度 Se concentration/ 50 mg · L ⁻¹						
	CK	0.1	0.2	1.0	2.0	5.0	10.0
灰度 Griscent	1 895 317	1 720 058	1 710 257	1 646 432	1 536 581	1 686 483	2 101 306
相对灰度值							
Griscent	100	90.75	90.24	86.87	81.07	86.34	110.86
contrast/ %							

表 5 是不同浓度硒与铅为 50 mg/L 胁迫下各组豌豆幼苗 POD 的灰度值,它既反映了酶带的颜色深浅、宽窄,又反映了酶带活性的变化。铅胁迫使植物体内产生大量过氧化物^[1],从而诱导 POD 活性提高,以减轻植物受到的氧化胁迫。加入硒后 POD 活性低于对照,说明硒可抑制幼苗过氧化作用的剧烈进行。这与陈平等的研究结果相一致^[7],是硒对铅害的缓解效应在生化水平上的反映。在铅浓度为 50 mg/L 时,加入 10 mg/L 硒,POD 为对照的 110.86%,说明此时硒与铅协同催化产生活性氧自由基^[8,9]抑制幼苗生长,这也与此时种子的萌发率低、细胞分裂指数小而畸变率大及叶绿素含量低相吻。

表 6 硒(1.0 mg/L)对铅胁迫下豌豆幼苗过氧化物酶的影响

Table 6 Comparison in Griscent of the isozymes (Se 1.0 mg/L)

	铅浓度 Pb Concentration/ 50 mg · L ⁻¹						
	CK	0.1	0.2	1.0	2.0	5.0	10.0
灰度值 Griscent	1 855 414	1 816 040	1 825 383	1 726 382	1 582 158	2 386 221	2 289 193
相对灰度值							
Griscent	100	97.88	98.38	93.05	85.27	128.61	123.38
contrast/ %							

由表 6 知 当铅浓度 ≤ 100 mg/L 时,各灰度值均小于对照,其中在 100 mg/L 时达到最低,为对照的 85.27%。当铅浓度 ≥ 200 mg/L 时,灰度值均高于对照。说明在硒浓度为 1.0 mg/L 时,铅浓度 ≤ 100 mg/L 时,由于硒的抗氧化作用,减缓铅对幼苗的伤害效应;当铅浓度 ≥ 200 mg/L 时,铅对植物的胁迫作用超过 1.0 mg/L 硒对活性氧自由基清除作用,致使 POD 活性增大。说明抗氧化酶的保护作用是有一定限度的。

综上所述,硒对活性氧自由基清除作用与硒的浓度

密切相关,一定浓度的硒对一定浓度的铅表现为清除活性氧自由基的作用,高浓度的硒表现为催化产生活性氧自由基的作用^[8,9]。

3 讨论

通过硒对铅胁迫下的豌豆在种子的萌发、植株的生长、根尖细胞分裂及生理代谢等方面的研究表明,低浓度的硒能缓解一定浓度的铅毒害,增强植物的抗逆境胁迫能力。如当铅浓度 ≤ 100 mg/L 时, ≤ 1.0 mg/L 硒可促进铅胁迫下豌豆根尖细胞分裂,使种子加速萌发,加快幼苗生长;加入适宜浓度的硒后,硒通过保护叶绿体 ATPase 活性^[10],提高叶片的叶绿素含量,增强植物的光合作用,从而起到解毒效应。

而解毒效应与维持植物体内酶活性平衡密切相关。在铅浓度 ≤ 100 mg/L 时, ≤ 1.0 mg/L 硒使植物体内使活性氧的清除和生成处于相对的低水平平衡状态,内环境的稳定,确保了各种生理活动的正常进行,从而表现出防护作用。但抗氧化酶的保护作用是有一定限度的,当硒浓度大于 5.0 mg/L 时,硒则与铅共同胁迫,致使代谢出现紊乱,各种生命活动受到严重抑制。

所以,农业生产中可用硒做微肥施用,抑制植物吸收铅等重金属,减少它们进入食物链,从而降低铅污染的危害,也可提高植物的含硒量,补充和改善人畜硒营养水平。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 高扬 马子明,何正彪. 硒铅混合液对大蒜根尖有丝分裂的影响[J]. 长春师范学院学报 2004, 23(3): 46-49.
- [3] 慈恩 高明,王子芳,等. 镉对紫花苜蓿种子萌发与幼苗生长的影响研究[J]. 中国生态农业学报 2007, 15(1): 96-98.
- [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液[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] 陈平 余士,陈惠阳. 硒对镉胁迫下水稻幼苗部分生理特性的影响[J]. 仲恺农业技术学院学报 2002, 15(1): 5-9.
- [8] 李莉 秦恩华,张熔,等. 铅胁迫对绿豆苗期生理生化特性的影响及硒缓解作用[J]. 湖北民族学院学报, 2006, 24(1): 94-96.
- [9] 徐辉碧,黄开勋. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 武汉: 华中理工大学出版社, 1994.
- [10] 高扬 马子明,何正彪. 硒铅混合液对大蒜根尖有丝分裂的影响[J]. 长春师范学院学报 2004, 23(3): 46-49.

中国南瓜主要糖类的初步研究

周修任¹, 杨鹏鸣², 李新铮², 李世强¹

(1. 河南科技学院 园林学院 河南 新乡 453003; 2. 河南科技学院 生命科学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 选用 20 个具有代表性的南瓜品系, 通过测量其蔗糖、果糖、葡萄糖、多糖及干物质等的含量, 分析这些性状的变异及相关性。结果表明: 在这 5 种性状中, 变异系数大小依次为葡萄糖(0.364)、蔗糖(0.328)、果糖(0.238)、干物重(0.215)、多糖(0.206)。南瓜干物质与蔗糖、多糖之间的相关系数分别为 0.622、0.491。果糖与葡萄糖、多糖与蔗糖之间的相关系数分别为 0.928 和 0.622, 相关系数均达到显著或极显著水平, 因此构建了相关回归方程。

关键词: 南瓜; 品系; 变异; 相关

中图分类号: S 642.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)03-0033-03

南瓜种植历史悠久, 世界各地栽培广泛, 是人类最早栽培的作物之一。在我国蔬菜史上, 南瓜对救荒救灾, 填补蔬菜淡季市场都起过重要作用^[1]。近年来, 随着研究的持续深入, 南瓜的一些医疗保健功能被陆续揭示出来, 引起许多专家学者的关注。南瓜高 Ca、高 K、低 Na 的特点, 特别适合中老年人和高血压患者, 有利于预防骨质疏松和高血压。南瓜多糖具有非常明显的降糖作用, 同时能激活免疫受体, 提高机体免疫力的功效^[1-7]。

由此可见, 南瓜作为一种健康食品, 具有十分广阔的开发利用前景。但往往口感较差, 因此在南瓜育种中, 很多育种家将重点放在提高南瓜糖含量, 改善口感, 增加干物质含量上。在育种过程中, 要想使南瓜综合性状稳步提高, 必须拥有丰富的南瓜种质资源, 通过选择、改良现有种质资源, 选育出优良自交系或亲本是南瓜育种的关键。在南瓜亲本的选择、改良和杂交育种过程中, 尤其是早期阶段, 需要对大量的样本进行分析。这些性状, 尤其是糖含量等经济性状都是典型的数量性状, 遗传率低。逐个选择费时费工。但是若这些性状与某些简单性状密切相关, 可以用这些简单性状作为指标进行间接选择, 以提高选择的效果。相关遗传的研究在其它作物中较为常见, 在南瓜中则鲜见报道。通过研究南瓜不同糖类之间的相互关系, 旨在探讨其间的相关规律, 为南瓜育种的早代筛选提供科学有效的理论依据。

第一作者简介: 周修任(1971-), 男, 河南上蔡人, 博士, 主要从事植物学教学与科研工作。

基金项目: 河南省科技攻关资助项目(0324070100); 河南科技学院重点科研基金资助项目(0319)。

收稿日期: 2008-10-14

Effect of the Se on the Growth and Development of Pea under the Pb Stress

YU Jian-feng, WANG Li-xin, ZHANG Hai-yun, HUANG Shan-shan, DU Lang-fang

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

Abstract: The study was conducted to investigate the effect of the Se on the growth status, physiological property of *Pisum sativum* seedlings and chlorophyll content under the Pb stress. The results showed, at the concentration of the Pb ≤ 100 mg/L and the Se ≤ 10 mg/L, the *Pisum sativum* seeds germination and the growth status was promoted under the Pb stress. It could promote cell distorting rate, increase the activity of the POD and the chlorophyll content, ameliorate the toxicity effect of the Pb when the concentration of the Pb was ≤ 50 mg/L and the Se was ≤ 1.0 mg/L. It coordinated with the Pb to aggravate the toxicity to *Pisum sativum*. when the concentration of the Pb came to 200 mg/L, the Se came to 10.0 mg/L.

Key words: Se; Pb; *Pisum sativum*; Chlorophyll; POD