

Cr、Pb单一及其复合胁迫对小麦生理生化的影响

徐澜¹,杨锦忠²,安伟³,杜天庆⁴

(¹山西忻州师范学院生物系,山西忻州 034000;²青岛农业大学,山东青岛 266109

³山西农业科学院玉米研究所,山西忻州 034000;⁴山西农业大学农学院,山西太谷 030801)

摘要:阐明在污染条件下小麦对重金属胁迫的反应,为农田小麦重金属污染的监测和综合治理提供理论依据。根据等毒性原理设计,对小麦幼苗施以0.25 mmol/L铬、0.8 mmol/L铅单一及其复合污染胁迫。结果表明,引起叶绿素含量减少,气孔阻力增大,叶片渗透势下降,根与叶组织质膜透性变大,叶片可溶性蛋白质含量减少,同时,0.25 mmol/L铬或0.8 mmol/L铅胁迫造成根系活力下降。叶绿素含量和组织电导率对复合污染胁迫更敏感,是复合污染胁迫监测的首选指标。

关键词:小麦幼苗;铬铅;复合污染胁迫;生理生化

中图分类号:S154.4

文献标志码:A

论文编号:2009-2363

Influences of Chromium and Lead Multiple Stresses on Physiological and Biochemical Character of Wheat

Xu Lan¹, Yang Jinzhong², An Wei³, Du Tianqing⁴

(¹Xinzhou Teachers University, Xinzhou Shanxi 034000;

²Qingdao Agriculture University, Qingdao Shandong, 266109;

³Maize Research Institute, Xinzhou Shanxi 034000; ⁴Shanxi Agriculture University, Taigu Shanxi 030801)

Abstract: The coexisting and independent stress effects were studied of two heavy metals of Cr and Pb on the physiological and biochemical characters of wheat seedlings. The results showed that: stresses of 0.25 mmol/L Cr or 0.8 mmol/L Pb resulted in that wheat chlorophyll content and soluble protein content went down, stomatal resistance up, leaf osmotic potential down, root and leaf solute leakage up. However, Cr or Pb caused root vigor to go down. chlorophyll content and conductivity were first index which is more sensitive to multiple stresses.

Key words: wheat seedlings; Cr and Pb; combined pollution stress; physiological and biochemical character

0 引言

环境问题是世界四大难题之一,土壤污染是其重要组成部分^[1-2]。在中国特别是在在能源重化工基地的山西省,由于工业污水灌溉、污泥施用引起的农田土壤污染问题日益严重,随着污水进入农田的重金属又随作物生产过程中的物质循环进入人与家畜的食物链,成为影响人类健康的一大危险因素^[3-4]。小麦和玉米作为中国北方的主要粮食和饲料作物,在一些地区已受到环境中重金属的污染:太原郊区工业污水灌区的农田有害物质的含量超出了国际与国内的农田标准,并对粮食卫生品质产生了危害^[5-6]。虽然近一、二年已引起

国家的重视和环境科学工作者的重视,但是,遗憾的是尚未引起直接从事农田作物生产科学工作者的重视,自然也引不起作物栽培工作者从事抗污染栽培的思考。为此,研究农田重金属污染对小麦生长发育的影响,不仅对当前及未来农业的可持续发展具有直接的应用价值,而且也现代作物科学的发展开辟新径。

笔者应用污染生态学和生态毒理学原理与方法,以小麦为材料,采用黄土性褐土土柱栽培、溶液培养、发芽毒理试验等方法,以山西省乃至全国污染严重、毒性较大的Cr、Pb为供试重金属元素,研究了Cr、Pb单一及其复合胁迫对小麦生理生化的影响,从生理生化特

基金项目:山西省归国留学人员科研资助项目(96086)。

第一作者简介:徐澜,女,1975年出生,硕士,讲师,研究方向为作物高产栽培与遗传育种。通信地址:034000 山西省忻州市忻州师范学院生物系。
Tel: 0350-3048252, E-mail: tinchenliang@yahoo.com.cn。

收稿日期:2009-11-11,修回日期:2009-12-07。

征阐明在污染条件下小麦对重金属胁迫的反应,为农田小麦重金属污染的监测和综合治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

田间试验于2005年在山西农业大学试验田进行,室内试验在山西农业大学农学院实验室进行。

1.2 试验材料

冬小麦品种为95-120,由山西农业大学小麦研究室供种。供试重金属元素为铅、铬,铬以重铬酸钠的形态加入。

1.3 材料培养与试验设计

种子消毒后在沙床上育苗,苗高达5 cm时选取生长一致的植株,小心去掉胚乳,移植至容积为1000 mL的塑料盆中,用Hoagland完全培养液进行培养。每盆50株小麦,植株用泡沫塑料板固定,每天定时用气泵通气,根据需要补充蒸馏水维持盆内液面高度。植株进入三叶期后,更换培养液,然后一次性进行重金属污染胁迫处理,以10株为取样单位进行植株生理生化指标的测定。

试验设对照(CK)、铅(Pb)、铬(Cr)和铅铬二元胁迫(Pb∩Cr)4个处理,重复3次。铅、铬两种重金属离子的胁迫浓度根据等毒性原理设计,分别为Pb 0.8 mmol/L、Cr 0.25 mmol/L。

1.4 测定项目与方法

叶绿素含量测定:采用的丙酮乙醇混合液法^[7]。

气孔阻力测定:采用英国Delta-T Devices LTD的AP4气孔计进行原位直接测定。

渗透势测定:分次采集植物样品,-20℃速冻存储后一次性测定。消融后榨取汁液,直接采用美国生产的VIESCOR HR-33T露点微伏计测定并读数^[8]。

根系活力测定:TTC还原法^[7]。

可溶性蛋白质含量测定:用Folin-酚试剂法。

质膜透性测定:电导法。

1.5 数据的统计分析方法

1.5.1 常规分析方法 使用SAS软件和EXCEL软件进行数据整理、分析与绘图。

1.5.2 重金属复合污染胁迫条件下互作分类方法 两个胁迫因子之间的互作对其中一个胁迫因子具有3种作用方式:强化、弱化与诱导,归纳出联合作用的4个大类型:正反型、同差型、零差型、同等型。

2 结果与分析

2.1 铬胁迫对小麦生理生化性状的影响

2.1.1 叶绿素 铬胁迫引起小麦叶绿素总量与叶绿素b含量减小,并呈现随胁迫浓度升高而加剧的趋势。在2 mmol/L铬胁迫条件下,叶绿素总量比对照降低31%。铬胁迫还引起叶绿素比值增大(表1)。

表1 铬胁迫9天对小麦叶绿素含量等的影响

Cr 离子浓度/(mmol/L)	叶绿素 a/(mg/g)	叶绿素 b/(mg/g)	叶绿素 a+b/(mg/g)	叶绿素 a/b
0	0.77	0.84	1.61	0.91
0.1	0.75	0.69	1.45	1.09
0.3	0.76	0.79	1.55	0.96
0.5	0.76	0.75	1.51	1.02
1	0.57	0.58	1.15	0.99
2	0.93	0.17	1.11	5.35
4	—	—	—	—

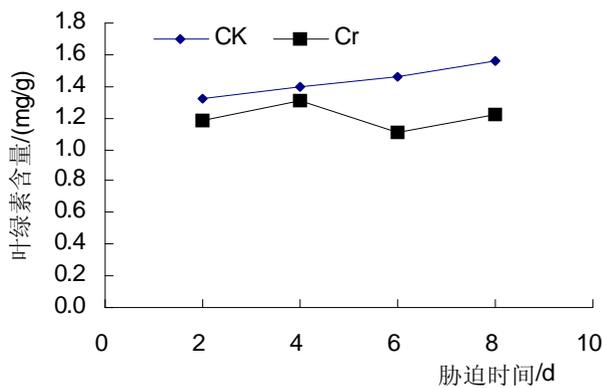


图1 0.25 mmol/L 铬胁迫下小麦幼苗叶绿素总量的动态变化

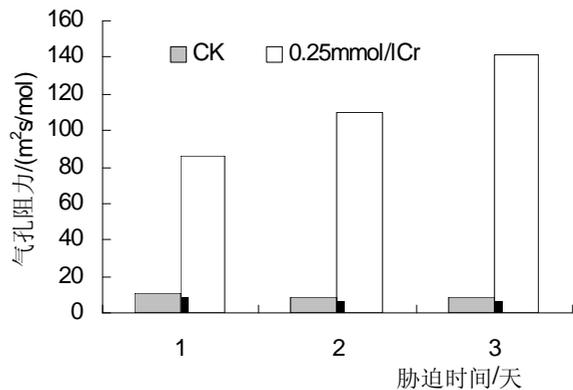


图2 铬胁迫条件下小麦气孔阻力的动态变化

在 0.25 mmol/L 铬胁迫下,叶绿素总量动态表现为,早期稍许下降,从第6天开始大幅度下降(图1)。

2.1.2 气孔阻力 气孔阻力在 0.25 mmol/L 铬胁迫条件下的动态变化表明,铬胁迫严重阻碍了二氧化碳进入细胞,而且这种影响随时间而不断加重(图2)。

2.1.3 渗透势 图3表明,Cr胁迫(0.25 mmol/L)引起叶组织渗透势降低,胁迫6天后,降幅逐渐增加。实验中曾观察到高浓度Cr胁迫首先引起老叶萎蔫,继而青枯,全株出现失水症状,这表明水分的吸收与运输遇到严重障碍,叶组织渗透势降低是对缺水的适应性

调节。

2.1.4 电导率 铬胁迫对小麦细胞膜造成严重损伤。因为即使在最低浓度 0.1 mmol/L 铬胁迫下,叶组织电导率就开始明显增加,而且随浓度升高而直线上升($r=0.9923^{**}$),在 2 mmol/L 铬胁迫下,电导率比对照在 10 倍(图4)。

0.25 mmol/L Cr胁迫同时增大了叶片和根系的电导率,对根系的影响在胁迫后4天内明显大于对叶片的影响,但第8天时叶片电导率与对照差异突然增大,说明叶片反应滞后于根系(图5)。

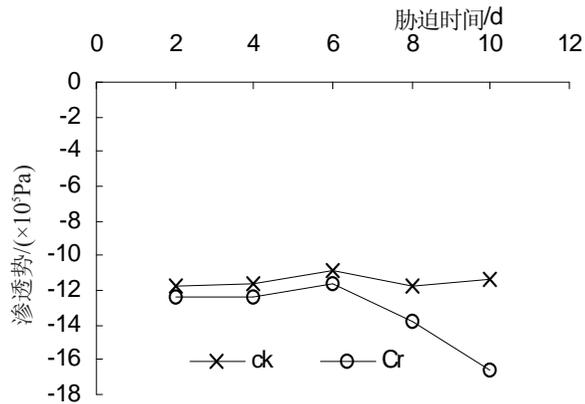


图3 0.25 mmol/L 铬胁迫下小麦叶组织渗透势的动态变化

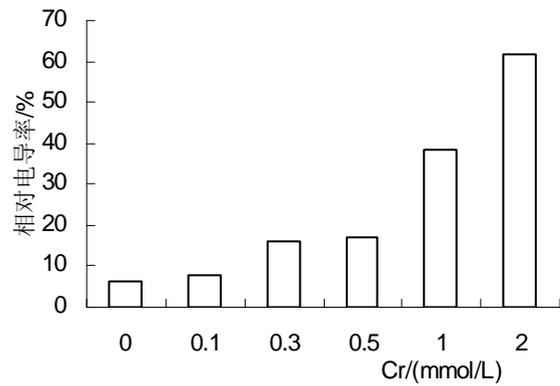


图4 铬胁迫9天对小麦质膜透性的影响

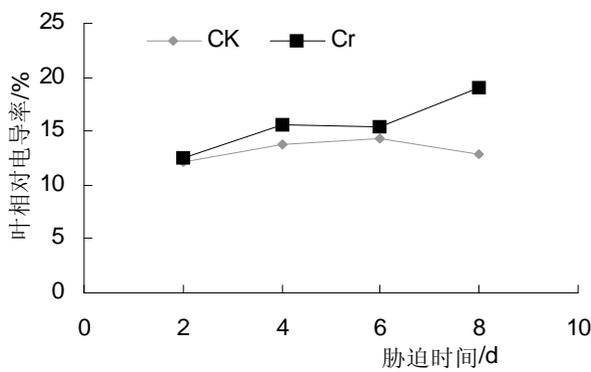


图5 0.25 mmol/L 铬胁迫条件下小麦叶与根组织电导率的动态变化

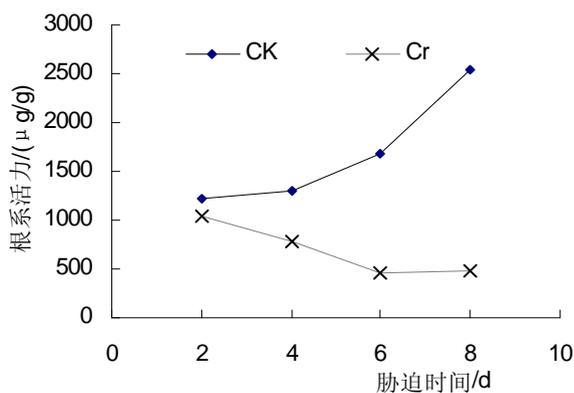
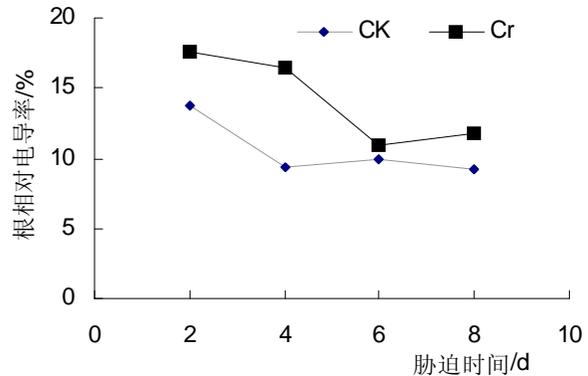


图6 0.25 mmol/L 铬胁迫下小麦幼苗根系活力的动态变化

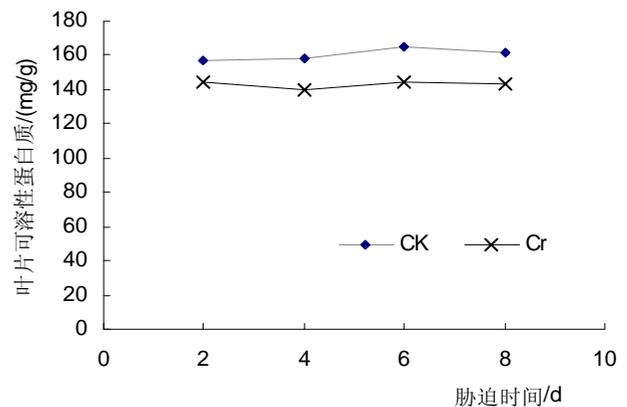


图7 0.25 mmol/L 铬胁迫下小麦叶片蛋白质的动态变化

2.1.5 根系活力 Cr胁迫(0.25 mmol/L)严重影响根系活力状况,从胁迫第2天就已经明显低于对照,以后与对照差距越来越大,到第8天时已降至对照得1/5不足。对照的根系活力随时间而升高,而Cr胁迫处理的根系活力却正好与对照相反(图6)。

2.1.6 可溶性蛋白质 Cr胁迫(0.25 mmol/L)降低了叶片可溶性蛋白质含量,从胁迫第二天开始就低于对照,并以基本一致的降幅继续下去(图7)。

2.2 铅胁迫对小麦生理生化性状的影响

2.2.1 叶绿素 从表2中看出,铅胁迫引起小麦叶绿素a、b和总量下降,在低浓度范围内,随着浓度升高,叶绿素的降低有加刷的趋势。但从4 mmol/L 铅胁迫开始,叶绿素含量反而比2 mmol/L 铅胁迫的高,这一现象是由于叶绿素含量以鲜重计,而此时高浓度处理的植株濒临死亡,含水量很低造成的假象。从1 mmol/L 铅胁迫开始,叶绿素比值与对照相比,明显增大。

表2 铅胁迫9天对小麦叶绿素含量等的影响

Pb离子浓度/(mmol/L)	叶绿素 a/(mg/g)	叶绿素 b/(mg/g)	叶绿素 a+b/(mg/g)	叶绿素 a/b
0	0.77	0.84	1.61	0.91
0.25	0.65	0.76	1.41	0.86
0.5	0.76	0.82	1.58	0.92
1	0.46	0.39	0.84	1.18
2	0.31	0.25	0.56	1.24
4	0.55	0.50	1.05	1.10
8	0.59	0.46	1.05	1.27

在0.8 mmol/L 铅胁迫条件下,叶绿素总量表现出随时间延续而直线下降的趋势(图8)。

2.2.2 气孔阻力 从图9看出,小麦叶片气孔阻力因铅胁迫(0.8 mmol/L)而明显增大,超过对照5倍以上,说明叶片气体交换特别是二氧化碳进入细胞严重受阻。

2.2.3 渗透势 图10表明,Pb胁迫(0.8 mmol/L)引起叶组织渗透势降低,胁迫第6天,就开始出现比较明显的降低,实验中曾观察到高浓度Pb胁迫条件下叶尖首先萎蔫,最晚伸出的叶片表现更明显。叶组织渗透势变化表明发生了渗透调节。

2.2.4 电导率 铅胁迫在较高浓度(大于等于1 mmol/L)条件下,叶片电导率明显升高,浓度越大升幅越大,细胞膜受损越严重(图11)。在0.8 mmol/L 铅胁迫条件

下,叶组织电导率从第2天就已经明显高于对照,根系电导率有相同的情况,但与对照的差异有缩小的趋势(图12)。

电导率动态表明,铅胁迫(0.8 mmol/L)明显增加了叶片电导率,而且在胁迫第8天增幅更剧烈。对根系电导率的影响则不同,胁迫第2~4天远远超过对照,但以后逐渐趋近于对照水平。

2.2.5 根系活力 Pb胁迫(0.8 mmol/L)明显降低了小麦幼苗的根系活力,从第2天开始就出现较大的降低幅度,而且这种状态一直继续下去(图13)。

2.2.6 可溶性蛋白质 Pb胁迫(0.8 mmol/L)引起叶片可溶性蛋白质含量下降,从胁迫第二天开始就一直低于对照(图14)。

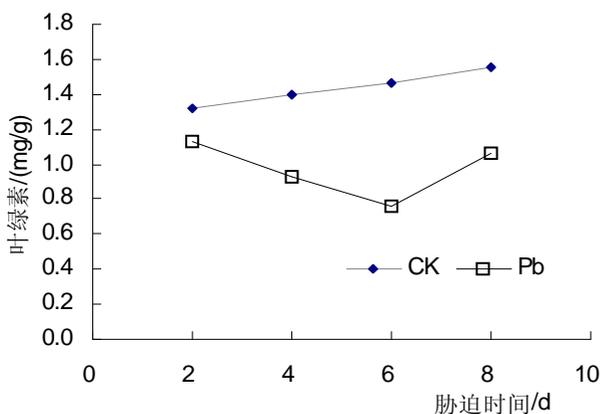


图8 0.8 mmol/L 铅胁迫下小麦幼苗叶绿素总量的动态变化

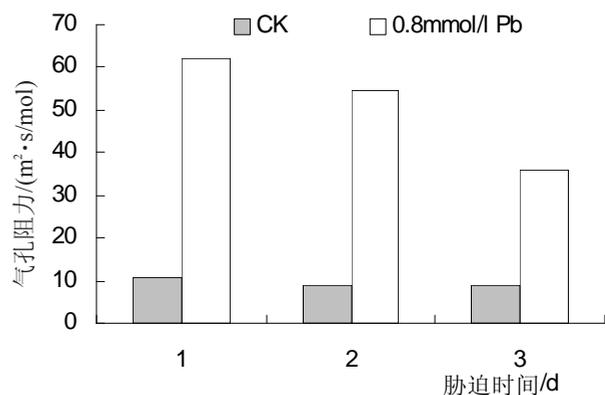


图9 0.8 mmol/L 铅胁迫下小麦气孔阻力的动态变化

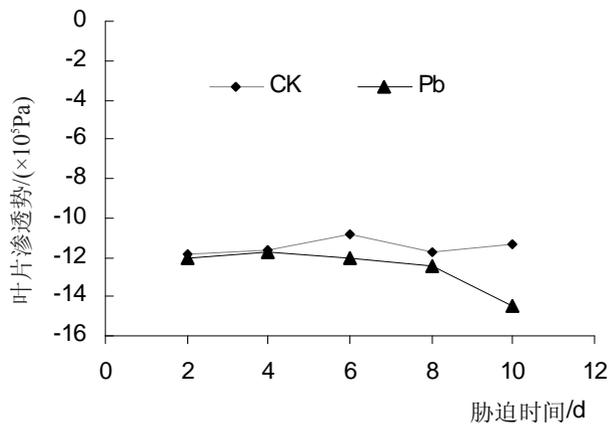


图 10 0.8 mmol/L 铅胁迫下小麦叶组织渗透势的动态变化

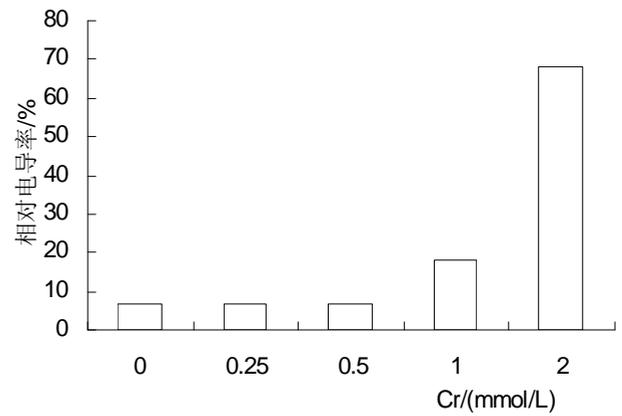


图 11 铅胁迫9天对小麦叶片质膜透性的影响

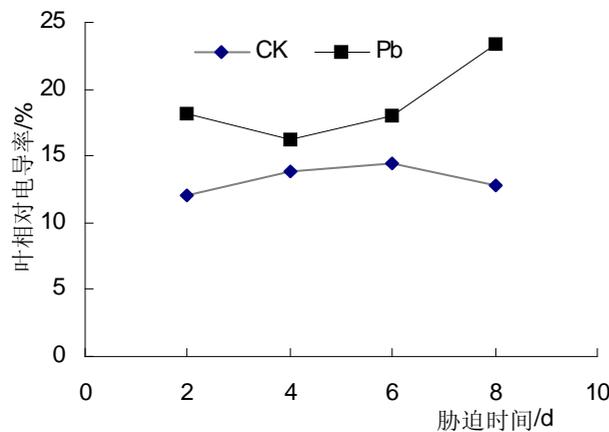


图 12 0.8mmol/L 铅胁迫条件下小麦叶与根组织电导率的动态变化

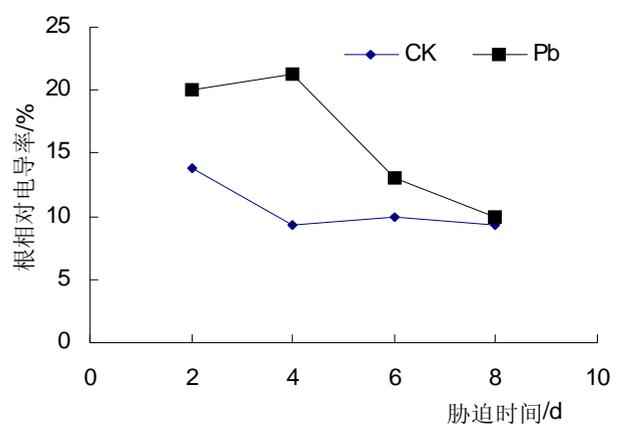


图 12 0.8mmol/L 铅胁迫条件下小麦叶与根组织电导率的动态变化

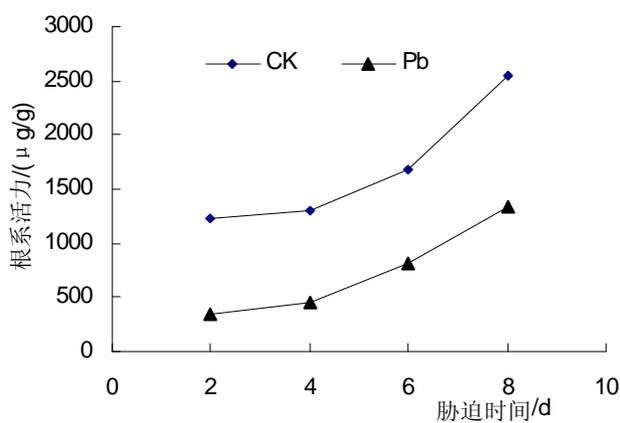


图 13 0.8 mmol/L 铅胁迫下小麦幼苗根系活力的动态变化

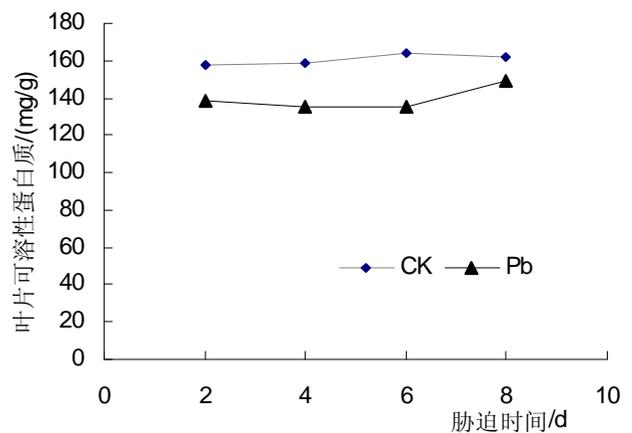


图 14 0.8 mmol/L 铅胁迫下小麦叶片蛋白质的动态变化

2.3 铬铅复合(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)胁迫对小麦幼苗生理性状的影响

2.3.1 叶绿素 铬和铅复合胁迫(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)与单一胁迫一样,降低了小麦幼苗叶绿素总量,这两种重金属的互作以负值为主,与单独作用方向相同,属于第1类互作。说明铬和铅共存,彼此增强

了对方的抑制作用,即互相以协同方式发生影响,加剧了叶绿素总量的降低,最终出现了联合作用大于单独作用之和的结局(表3和图15)。

叶绿素b对铬和铅复合胁迫的反应与叶绿素总量完全一致,但叶绿素a的反应却有所不同,两种重金属的互作全部为第1类互作。

表3 铬铅复合(0.25 mmol/L Cr + 0.8 mmol/L Pb)胁迫对小麦幼苗叶绿素含量的互作值

胁迫时间/天	叶绿素 a/(mg/g)	叶绿素 b/(mg/g)	叶绿素 a+b/(mg/g)	叶绿素 a/b
2	-0.03	-0.04	-0.05	0.15
4	-0.14	-0.06	-0.19	0.02
6	-0.03	0.05	0.02	-0.38
8	-0.2	-0.16	-0.36	-0.06

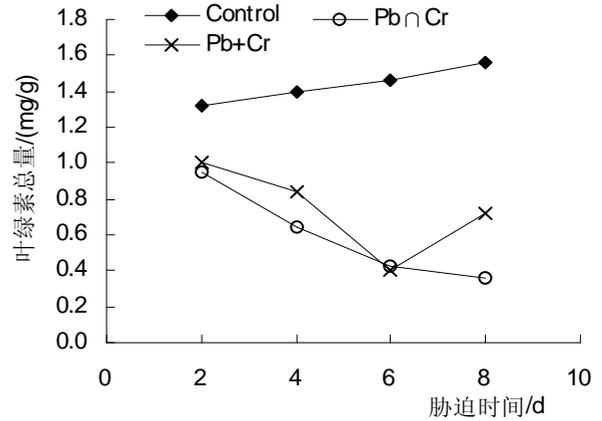
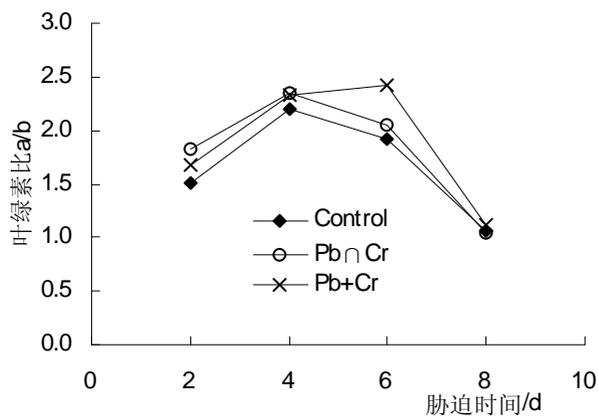


图15 铬铅复合(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)胁迫对小麦叶片叶绿素的互动动态

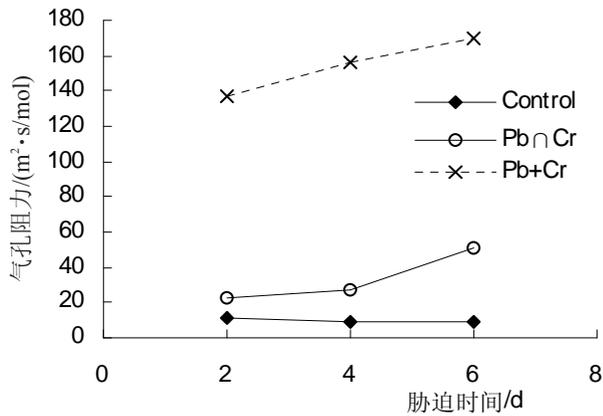


图16 铬铅复合胁迫对小麦叶片气孔阻力的互动动态

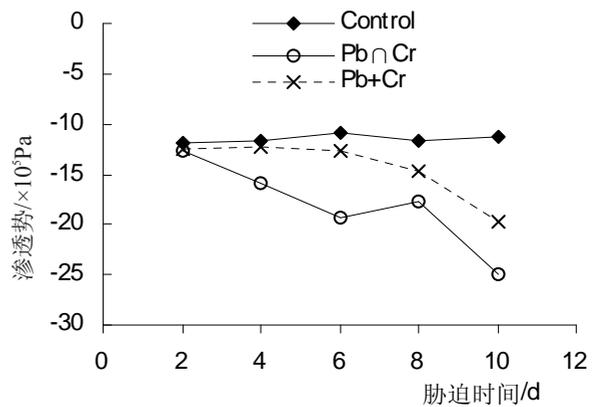


图17 铬铅复合胁迫对小麦叶片渗透势的互动动态

2.3.2 气孔阻力 铬和铅复合胁迫(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)虽然与各自单一胁迫一样,具有增大小麦幼苗叶片气孔阻力的作用,但作用幅度不仅小于二者单独作用之和,而且在大多数情况下小于其中一种重金属的单独作用,这是由于铬和铅之间存在巨大第2

类互动而造成(表4和图16)。

2.3.3 渗透势 铬和铅复合胁迫(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)降低了小麦幼苗叶片的渗透势,而且降低幅度远远超过了单独作用之和,产生这一现象的原因是,这两种重金属之间有很大的第1类互作(表4和

表4 铬铅复合(0.25 mmol/L Cr + 0.8 mmol/L Pb)胁迫对小麦气孔阻力、渗透势、电导率和根活力的互作值

胁迫时间/天	气孔阻力/(m ² ·s/mol)	渗透势/Pa	叶电导率/%	根电导率/%	根活力/(μg/g)
2	-115.2	-2.0×10 ⁴	1.01	-2.75	202.4
4	-129.4	-3.7×10 ⁵	-1.44	0.90	423.5
6	-118.7	-6.7×10 ⁵	6.72	15.29	705.5
8	—	-3.1×10 ⁵	4.44	22.64	961.9
10	—	-5.3×10 ⁵	—	—	—

图17)。两种重金属互相强化了对方的作用。

2.3.4 相对电导率 铬和铅复合胁迫(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)和单一胁迫一样,增大了小麦幼苗叶片的相对电导率。这两种重金属之间的互作以第1类为主,强化了彼此的胁迫效应,只是在第4天出现了较小的第2类互作。根系的相对电导率的反应与叶片的情形相似,也表现出铬和铅的互作仍以第1类为主

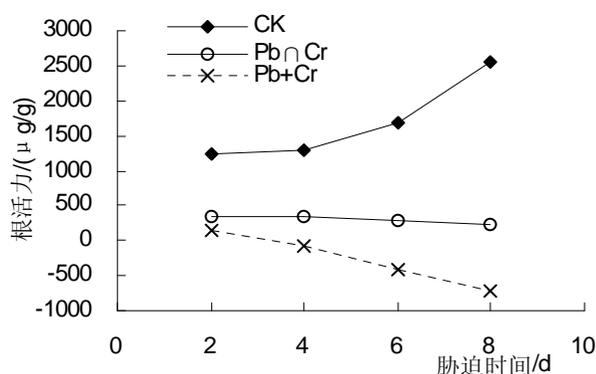


图18 铬铅复合胁迫对小麦根系活力的互动动态

2.3.6 可溶性蛋白质 铬和铅复合胁迫(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)虽然减少了小麦幼苗叶组织中可溶性蛋白质的含量,但降低幅度小于单独作用之和,甚至还小于单一胁迫的情形。这是由于这两种重金属之间有很大的第2类互作造成的(表5和图19)。

表5 铬铅复合(0.25 mmol/L Cr + 0.8 mmol/L Pb)胁迫对小麦幼苗叶片蛋白质的互作值

胁迫时间/天	2	4	6	8
蛋白质/(mg/g)	24.9	36.7	29.9	17.7

3 讨论

(1)笔者以50%抑制率所对应的重金属元素摩尔浓度比较不同重金属元素毒性大小,但有些研究使用质量浓度^[9],由于毒性重金属离子在植株体内发生反应是以离子形式进行的,所以使用摩尔浓度似乎更合理一些。

(2)铬铅单一和复合污染胁迫降低了叶绿素含量,铬和铅通过什么方式影响叶绿素含量的原因仍然不明确。杜天庆等^[10]观察到铬铅单一污染胁迫时POD同功酶的消长变化不同,暗示着它们的伤害机理不同。

4 结论

(1)无论铬铅单一或复合污染胁迫都抑制了小麦的植株生长,实验中观察到出叶速度降低,开花延迟等发育进度变慢的现象。

的趋势(表4)。

2.3.5 根系活力 铬和铅复合胁迫(0.25 mmol/L Cr+0.8 mmol/L Pb)对小麦幼苗根系活力产生了抑制作用,胁迫时间越长,抑制作用越强烈。由于两种重金属之间存在第2类互作,抵消了一部分抑制作用,从而导致了联合作用小于单独作用之和的结果(表4和图18)。

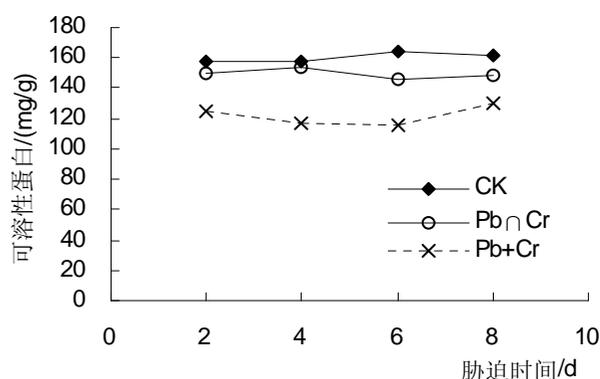


图19 铬铅复合胁迫对小麦叶片蛋白质的互动动态

(2)有毒重金属元素在植株的根系、茎叶和籽粒中积累,造成根系与叶片质膜透性增大,根系活力下降,叶片叶绿素减少、气孔阻力增大、可溶性蛋白含量和渗透势下降。

(3)植株生长是一个物质与能量积蓄的生理过程,物质生产是生长与发育的基础,光合作用对物质生产起决定性作用^[11-12]。笔者研究表明,铬铅污染胁迫造成叶绿素含量下降、气孔阻力增高,这势必造成光合生产下降,使植株生长失去了强大的物质支撑,最终使根系和冠部的生长量,特别是光合面积下降,光合面积的减少又引发了后续的光合生产降低,如此造成恶性循环,这是生长发育受阻的直接原因。

(4)气孔阻力、组织电导率、组织渗透势、根系活力、叶片的叶绿素含量和可溶性蛋白质含量可以作为有毒重金属离子单一或复合污染胁迫对小麦伤害的生理监测指标。结合与重金属单一污染胁迫的单独作用之和进行比较,上述指标中叶绿素含量和组织电导率对复合污染胁迫更敏感,是复合污染胁迫监测的首选指标。

参考文献

- [1] Wang Wuncheng. Literature review on higher plants for toxicity testing[J]. Water, Air and Soil pollution,1991,59:381-400.
- [2] U.S. Environmental Protection Agency. Seed germination/root elongation toxicity impact tests[M]. EG-12. Office of Toxic Substances, Washington D.C,1982.

- [3] 贾棚. 小麦抗重金属污染栽培研究[J]. 山西农业科学:1999,27(1):12-14.
- [4] 任安芝,高玉葆. 铅、镉、铬单一和复合污染对青菜种子萌发的生物学效应[J]. 生态学杂志:2000,19(01):19-22.
- [5] 王存宝,宁安荣,常晓冰,等. 太原市汾河流域五大粮食作物污染监测评价[J]. 农业环境科学学报,1993(05):11-13.
- [6] 郭翠花,王爱英. 太原市耕作土壤和作物中Cd的污染分析[J]. 农业环境保护,2000,19(1):41-42.
- [7] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,1990: 88,154,257.
- [8] VALLEE B I. Biochemical effects of mercury, cadmium, and lead [J]. Annual Rev Biochemical,1972,41:91-128.
- [9] 林春野. Cd、Zn 和 NaCl 影响油菜、小麦发芽生理毒性的试验[J]. 环境保护,1996(04):22-23.
- [10] 杜天庆,杨锦忠,郝建平,等. Cd、Pb、Cr 三元胁迫对小麦幼苗生理生化特性的影响[J]. 生态学报,2009,29(8):4475-4482.
- [11] STOBART A K, GRIFFITHS W T, AMEEN-BUKHARI I, et al. The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley[J]. Physic Plant,1985,63:293-298.
- [12] 王建林,徐正进,冯永祥,等. 作物超高产栽培与株型育种的光合作用基础—以水稻为例[J]. 中国农学通报,2004,20(5):130-133.