



卜庆盼,吴云容,祝世慧,等.水杨酸对硝酸铅胁迫下绿豆种子萌发及幼苗生长的影响[J].黑龙江农业科学,2021(3):23-27.

水杨酸对硝酸铅胁迫下绿豆种子萌发及幼苗生长的影响

卜庆盼,吴云容,祝世慧,陈 阳,齐文靖,宋 凯

(长春师范大学 生命科学学院,吉林 长春 130032)

摘要:为探讨重金属污染对植物的毒害机制,以市售绿豆种子为试验材料,通过不同浓度硝酸铅溶液处理绿豆种子模拟重金属胁迫,探讨水杨酸对重金属胁迫下绿豆种子萌发及幼苗生长的影响。结果表明:随着铅胁迫浓度的增加,绿豆种子的发芽势、发芽率和根长等生理生化指标逐渐降低,根尖细胞在有丝分裂过程中出现了染色体环、染色体桥和微核等异常现象。 $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸铅胁迫能够显著抑制绿豆种子萌发和生长。而 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水杨酸对硝酸铅胁迫下的绿豆种子萌发和生长的抑制均有一定的缓解作用,根尖染色体分裂异常情况减弱。可见水杨酸能增加植物的抗逆性来抵抗环境对其生长的迫害。

关键词:水杨酸;重金属胁迫;绿豆;种子萌发;幼苗生长

随着经济和科学技术的迅猛发展,工业化和城市化进程加快,由此引发的环境问题也变得日益严峻。矿产资源的不合理开采、农药化肥的大量使用、汽车尾气的排放等导致大量重金属进入土壤环境中,其中包括常见的铬、汞、铅、铜等^[1]。重金属毒性很大,可在土壤及生物体内富集,通过影响植物激素和营养物质代谢从而影响植物的正常生长,进而通过食物链影响人类的健康。铅(Pb)是一种灰色重金属,随着铅矿的开采及铅锌冶炼厂的废气、废渣和废水的排放,使铅以多种途径不断地排入环境中。铅离子进入植物体内,会引起植物体一系列生理代谢紊乱,甚至会破坏细胞内的染色体^[2]。

水杨酸(Salicylic Acid, SA),即邻羟基苯甲酸,为广泛存在于高等植物体内的一种简单酚类化合物^[3]。可作为内源性生长调节激素,通过诱导植物产生蛋白、增加渗透调节物质等机制从而增强植物对逆境的抗性^[4-5]。本试验以绿豆种子为材料,采用施加铅和外源 SA 的方法,研究重金属铅对绿豆种子萌发和幼苗生长过程的影响,以及 SA 对铅胁迫下绿豆种子萌发的缓解效应,以

期为深入探讨重金属污染对植物的毒害机制奠定基础,为农作物生长中植物激素的使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料选择普通市售绿豆;硝酸铅、水杨酸、盐酸、无水乙醇、碱性品红、苯酚等常用试剂均为分析纯或生化试剂。

1.2 方法

1.2.1 种子培养 选取饱满、大小均一的绿豆种子,75%酒精消毒后用蒸馏水冲洗3次。配置100,150,200和250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硝酸铅溶液,蒸馏水为对照。用滤纸发芽法浸种催芽,测定不同浓度硝酸铅对绿豆种子萌发和幼苗生长的影响。在直径9 cm培养皿内铺三层滤纸,将消毒种子均匀摆在培养皿中,每皿20粒,每组设置3个重复,25℃恒温培养。每天滴加一定体积的相应溶液于培养皿,保持种子湿润,观察并记录绿豆种子的发芽状况,连续观察7 d。选取铅离子抑制种子萌发和生长影响的最适浓度,分别施以0,10,50,100,150和200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水杨酸协同浸种,检测水杨酸对绿豆种子抗铅胁迫的生理及遗传指标。

1.2.2 测定项目及方法 试验第3天进行发芽势测定,第5天进行胚根胚芽长测定,第7天进行发芽率测定。发芽势(%)=规定时间内种子发芽数/供试粒数 $\times 100$;萌发率(%)=处理种子发芽数/供试粒数 $\times 100$;胚芽长=处理种子胚芽长的累加/处理种子个数;胚根长=处理种子胚根长的累加/处理种子个数。

收稿日期:2020-11-18

基金项目:吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(JJKH 20200825KJ);长春师范大学自然科学基金项目(2016-001, 2019-017)。

第一作者:卜庆盼(1988—),女,博士,讲师,从事植物细胞分子调控等研究。E-mail:buqp444@nenu.edu.cn。

通信作者:宋凯(1979—),男,博士,教授,从事植物细胞分子调控等研究。E-mail:songkai@ccfu.edu.cn。

采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量^[6]；蒽酮比色法测定可溶性糖含量^[7]；采用酸性茚三酮法测定游离脯氨酸含量^[8]；乙醇提取法测叶绿素含量^[9]；硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量^[10]；愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性^[11]。

选取大小均匀的绿豆种子蒸馏水浸泡 24 h 后,置于铺有湿润滤纸的培养皿种培养催芽48 h。用甲醇-冰醋酸(3:1)固定液固定,蒸馏水洗涤后加 1 mol·L⁻¹ 盐酸解离。改良苯酚品红染液进行染色,压片观察根尖细胞分裂相。

1.2.3 数据分析 采用 Sigma Plot 12.5 软件统计处理数据,LSD 多重比较进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 硝酸铅对绿豆种子萌发和幼苗生长的影响

2.1.1 种子萌发 从表 1 可知,在 0~250 mg·L⁻¹ 铅胁迫浓度范围内,随着铅浓度的增加,绿豆种子的萌发和生长受到显著抑制。绿豆的发芽势、发芽率、根长和芽长均呈现下降趋势。其中 100 mg·L⁻¹ 铅胁迫对绿豆的发芽势、发芽率、根长的影响与对照差异不显著;当铅浓度大于 150 mg·L⁻¹ 时,铅胁迫下绿豆种子的发芽势、发芽率、根长均显著低于对照组($P<0.05$)。而铅浓度的增加对绿豆芽长影响不显著。

表 1 硝酸铅对绿豆种子发芽势、发芽率、根长、芽长的影响

硝酸铅浓度/(mg·L ⁻¹)	发芽势/%	发芽率/%	根长/cm	芽长/cm
0	1.00 a	1.00 a	8.12 a	1.55 a
100	0.98 ab	0.98 ab	7.99 ab	1.51 a
150	0.90 b	0.90 b	6.82 b	1.45 a
200	0.88 b	0.88 b	6.38 b	1.45 a
250	0.82 c	0.82 c	6.20 b	1.42 a

注:同列字母不同表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

2.1.2 胚根中营养元素积累 从图 1A 可以看出,随铅浓度的逐渐升高,可溶性糖含量先下降后升高,且差异显著($P<0.05$)。150 mg·L⁻¹ 硝酸铅对可溶性糖含量抑制最为显著,随后可溶性糖逐渐升高。图 1B 显示,可溶性蛋白含量随铅浓度的升高呈先升高后降低的趋势,150 mg·L⁻¹ 硝酸铅明显增加可溶性蛋白含量。脯氨酸含量随着铅浓度的增加而增加(图 1C)。图 1D 表明,在铅

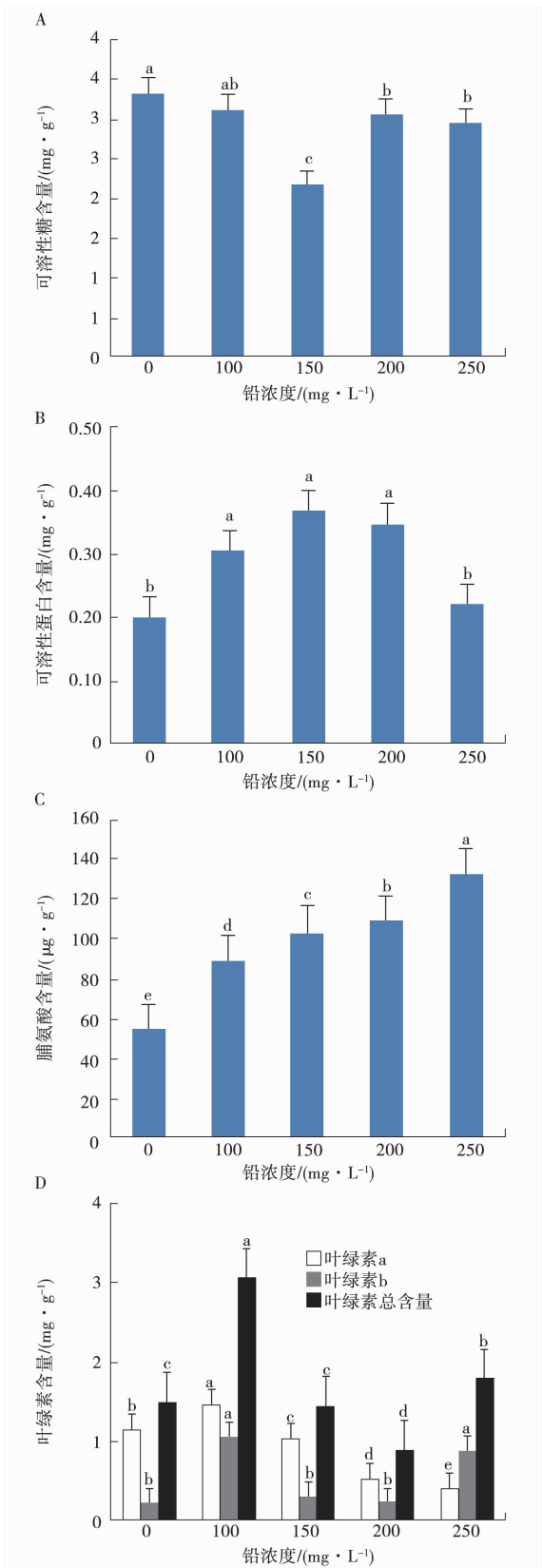


图 1 铅胁迫下可溶性糖(A)、可溶性蛋白(B)、脯氨酸(C)、叶绿素含量(D)的变化

浓度 0~100 mg·L⁻¹时,叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总含量呈上升趋势,当浓度达到 100 mg·L⁻¹时,叶绿素含量达到最高,而后当浓度大于 150 mg·L⁻¹时叶绿素含量随着铅浓度的增加总体呈下降趋势。这说明,低浓度的铅能使叶绿素含量增高,高浓度使叶绿素含量降低,通过自身调节提高自身对铅胁迫的抗逆性。

2.1.3 萌发和生长中的氧化指标 从图 2A 可知,随铅浓度的升高,过氧化物酶的活性先增后降。当浓度在 100 mg·L⁻¹时达到最高,在 150 mg·L⁻¹时又明显下降,由于植物本身的修复机制使过氧化物酶活性恢复,但当浓度过大时,修复机制失去作用,过氧化物酶活性明显下降。图 2B 显示,胚根的 MDA 含量在铅离子浓度为 0~100 mg·L⁻¹时变化不明显;当铅浓度超过为 150 mg·L⁻¹时,MDA 含量显著上升,且 MDA 含量与铅浓度高低呈显著的正相关。由此可见,高浓度的铅处理使绿豆幼苗膜脂过氧化程度加剧,MDA 含量高度积累,膜结构受损程度加深,植株的抗逆境能力减弱。

2.1.4 根尖细胞分裂相 硝酸铅除了影响绿豆生萌发和营养元素吸收外,还会影响其根尖细胞的分裂。如图 3 所示,不同浓度硝酸铅处理后,根尖细胞在有丝分裂过程中出现了染色体环、染色体桥、染色体黏连、多极分裂、微核等不同程度的异常现象。根尖细胞出现较多的微核且其数量随

铅浓度的增大而增加。这些细胞的胞质着色较浅、内含物减少,且细胞核体积缩小,染色质呈部分凝集。当浓度达到 250 mg·L⁻¹时,有较密集的胞质变形、核固缩现象,细胞分裂延缓或停止。

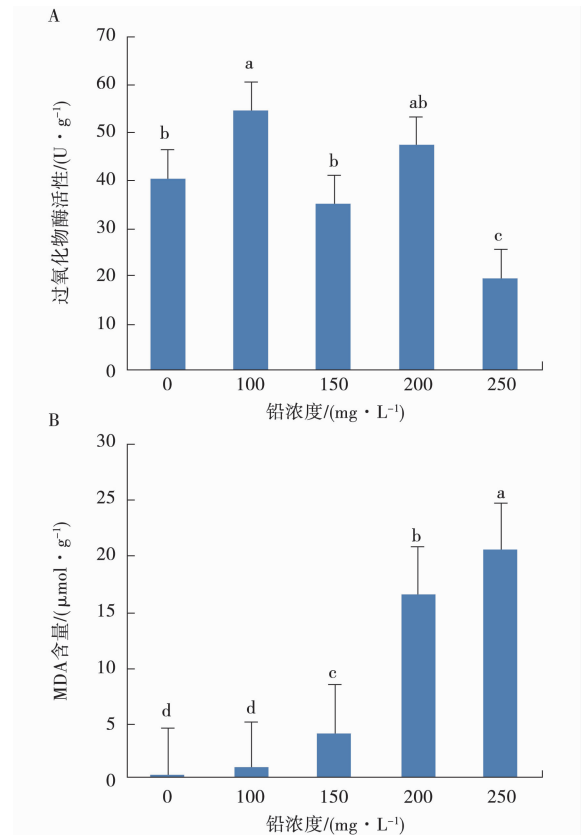


图 2 铅胁迫下对过氧化物酶活性(A)和 MDA 含量(B)的影响

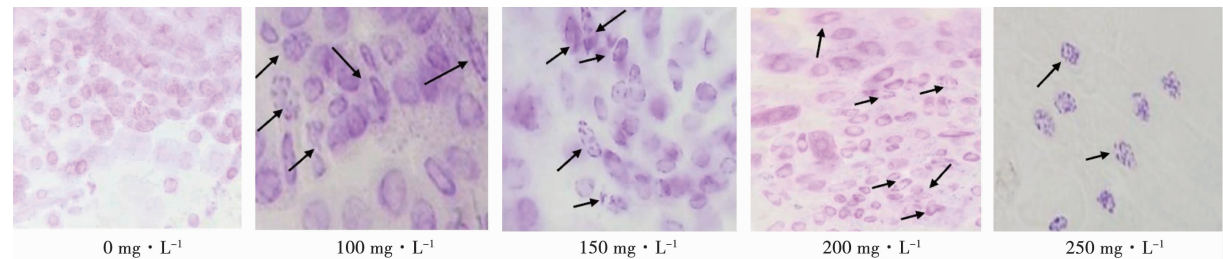


图 3 硝酸铅对绿豆幼苗根尖细胞结构的影响

2.2 水杨酸对硝酸铅胁迫下绿豆种子萌发及幼苗生长的影响

2.2.1 种子萌发 根据上述试验结果,选取 150 mg·L⁻¹硝酸铅作为胁迫组,添加不同浓度的水杨酸,确定水杨酸对硝酸铅胁迫下植物种子萌发及幼苗生长的影响。从表 2 可知,随 SA 浓度的增加,绿豆种子的发芽势、发芽率、根长和芽长均呈现先升高后下降的趋势,但对芽长影响不显

表 2 SA 对铅胁迫下绿豆种子萌发的影响

水杨酸浓度/(mg·L ⁻¹)	发芽势/%	发芽率/%	根长/cm	芽长/cm
0	0.90 b	0.90 b	7.12 b	1.38 a
10	0.97 ab	0.97 ab	8.45 a	1.56 a
50	1.00 a	1.00 a	9.03 a	1.55 a
100	0.97 ab	0.97 ab	8.82 a	1.55 a
150	0.93 b	0.93 b	6.82 b	1.52 a
200	0.80 c	0.80 c	5.91 c	1.38 a

著($P<0.05$)。50 mg·L⁻¹的 SA 对铅胁迫的绿豆种子的发芽势、发芽率、根长有明显的促进作用。说明此浓度下 SA 对重金属铅胁迫下绿豆种子的萌发有较好的解毒作用。

2.2.2 胚根营养元素积累 由图 4 可知,SA 处理后,可溶性糖和叶绿素含量都呈现先上升后下降的趋势,其中10 mg·L⁻¹ SA 和50 mg·L⁻¹ SA 对可溶性糖含量增加效果明显(图 4A),50 mg·L⁻¹ SA 对可溶性蛋白含量和脯氨酸含量影响最为明显(图 4B 和 4C)。随 SA 浓度的增加,叶绿素的含量先增加后下降(图 4D),50 mg·L⁻¹ SA 和 100 mg·L⁻¹ SA 对铅胁迫下绿豆的叶绿素含量影

响较大。高浓度的 SA 对可溶性蛋白、可溶性糖和叶绿素的含量都有明显抑制作用。从图 4C 可知,脯氨酸含量随着水杨酸浓度的增加先减少后增加,50 mg·L⁻¹ 水杨酸对铅胁迫缓解效果极显著。

2.2.3 种子萌发中的氧化指标 由图 5A 可知,SA 处理后过氧化物酶活性呈现出先上升后下降的趋势,其中100 mg·L⁻¹ SA 对过氧化物酶活性的缓解作用最明显,高浓度 SA 对过氧化物酶活性有明显的抑制作用。丙二醛(MDA)含量浓度在 50 mg·L⁻¹ 时,明显抑制了 MDA 的积累(图 5B)。

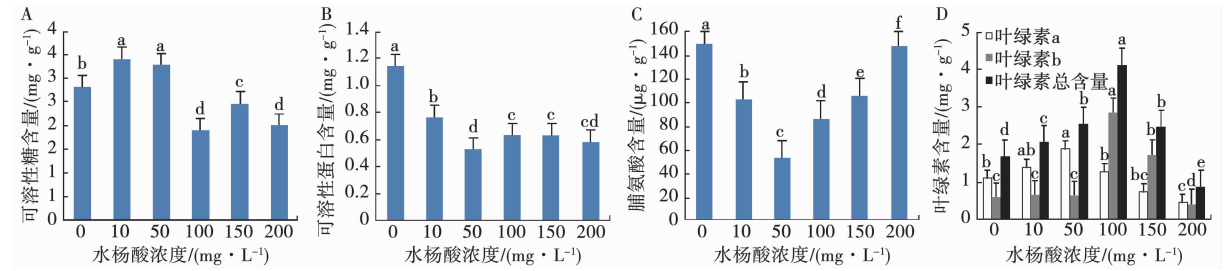


图 4 SA 对硝酸铅胁迫下绿豆中可溶性糖(A)、可溶性蛋白(B)、脯氨酸(C)和叶绿素含量(D)的影响

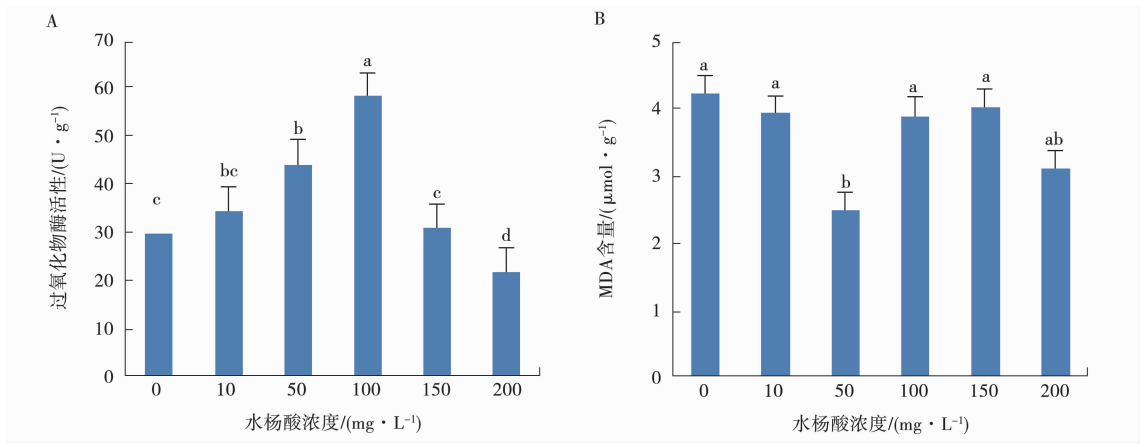


图 5 SA 对铅胁迫下过氧化物酶活性(A)和 MDA 含量(B)的影响

2.2.4 根尖遗传指标 经水杨酸处理的绿豆根尖染色体分裂异常情况均得到缓解。50 mg·L⁻¹ 水杨酸对绿豆幼苗根尖细胞结构破坏的缓解效果

最好。当浓度达到 200 mg·L⁻¹ 时,出现较密集的核变性和细胞凝集现象。图 6 为不同浓度 SA 对铅胁迫下绿豆种子染色体观察情况典型代表。

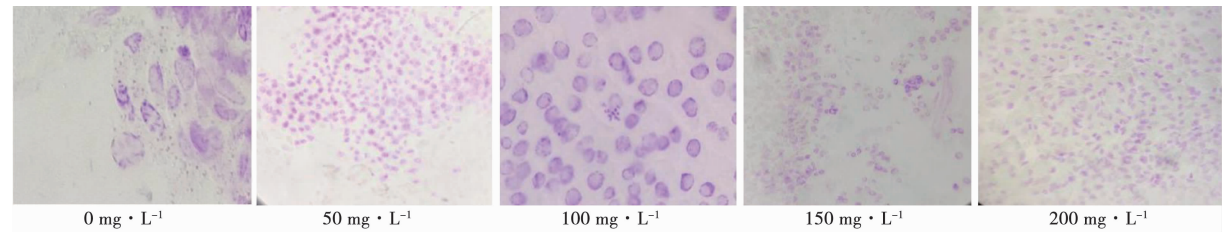


图 6 SA 对铅胁迫下绿豆幼苗根尖细胞结构的影响

3 结论与讨论

植物体内大量积累重金属元素会通过影响植物细胞的分裂、生理生化指标的变化,从而对植物种子的萌发和生长造成毒害作用。而外源 SA 可在一定程度上缓解重金属对植物造成的伤害。该研究利用不同浓度的硝酸铅模拟重金属离子胁迫,探讨了重金属铅对绿豆种子萌发和生长中生长指标、营养元素吸收、氧化损伤及根尖细胞分裂情况的影响,并通过添加不同浓度水杨酸探讨对铅胁迫下绿豆种子萌发的缓解效应。

已有研究证明,SA 增加小麦可溶性糖和果糖的积累^[12],且 SA 可提高铅胁迫下小麦幼苗根系 SOD、PDO 的活性,显著减少了丙二醇含量,从而降低了铅离子胁迫对小麦幼苗根系的毒害^[13]。

本研究发现,150~250 mg·L⁻¹ 的铅胁迫对绿豆种子的发芽势、发芽率和根长有明显的抑制作用。随着铅浓度的增加,绿豆胚根的可溶性糖含量先下降后上升,可溶性蛋白先上升后下降,脯氨酸含量和丙二醛含量呈现出逐渐上升的趋势,产生氧化还原损伤,且对绿豆幼苗根尖细胞染色体影响明显。添加适量浓度的水杨酸 SA,对铅胁迫下绿豆种子的发芽势、发芽率、根长、可溶性蛋白、可溶性糖、叶绿素含量的增加以及过氧化物酶活性的上升都有一定的缓解作用。低浓度的 SA 能够缓解绿豆幼苗中膜脂氧化损伤,根尖细胞染色体异常情况得到恢复。50 mg·L⁻¹ SA 为最佳抗逆浓度,能够增强绿豆植株的抗逆境能力,来抵抗环境对其生长的迫害。但是当水杨酸的浓度过高时,又会对各项指标都有明显的抑制作用。这说明合适的 SA 浓度的选择对缓解重金属对农作

物萌发和生长毒害具有重要意义。本研究为深入了解重金属污染对植物种子的毒害机制奠定了基础,为利用植物激素缓解农作物重金属的毒害作用提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 邵长安,同志坚,白健慧. 外源水杨酸对盐碱胁迫下燕麦抗氧化酶活性的影响[J]. 北方农业学报,2019,47(1):13-17.
- [2] 胡晓琼. 水杨酸对蚕豆重金属镉毒害的影响[D]. 成都:四川师范大学,2007.
- [3] 尹相博,李青,王绍武. 外源物质缓解盐胁迫下植物幼苗生长的研究进展[J]. 黑龙江农业科学,2013(11):147-150.
- [4] 刘林德,姚敦义. 植物激素的概念及其新成员[J]. 生物学报,2002,37(8):18-20.
- [5] Mishra A, Choudhuri M A. Ameliorating effects of salicylic acid on lead and mercury-induced inhibition of germination and early seedling growth of two rice cultivars[J]. Seed Science and Technology, 1997, 25(2):263-270.
- [6] 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.
- [7] 熊庆娥. 植物生理实验指导教程[M]. 成都:四川科技出版社,2003:55-126.
- [8] 王蕊. 铜、镉胁迫对豌豆种子萌发和幼苗生长的影响[D]. 雅安:四川农业大学,2013.
- [9] 张艳丽. Cu、Pb 胁迫对小麦种子萌发及幼苗生长的影响[D]. 成都:四川师范大学,2008.
- [10] 胡晓琼. 水杨酸对蚕豆重金属镉毒害的影响[D]. 成都:四川师范大学,2007.
- [11] 彭海涛,陈炜扬,姜永平. 松花菜对铜胁迫的响应及外源水杨酸和赤霉素对铜毒害的缓解效应[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):149-152.
- [12] 苏雅婧. 外源水杨酸对铅胁迫下小麦幼苗生长及糖代谢的影响[D]. 太原:山西大学,2015.
- [13] 巴青松,宋瑜龙,张兰兰,等. 根施水杨酸对铅胁迫下小麦根系生长发育的影响[J]. 干旱地区农业研究,2019,37(1):208-213.

Effects of Salicylic Acid on Seed Germination and Growth of Mung Bean Under Heavy Metal Stress

BU Qing-pan, WU Yun-rong, ZHU Shi-hui, CHEN Yang, QI Wen-jing, SONG Kai

(College of Bioscience, Changchun Normal University, Changchun 130032, China)

Abstract: In order to explore the toxic mechanism of heavy metal pollution on plants, in this paper, the seeds of mung bean were treated with different concentrations of lead nitrate solution to simulate heavy metal stress, and the effects of salicylic acid (SA) on the germination and seedling growth of mung bean under heavy metal stress were studied. The results showed that with the increase of the concentration of lead nitrate stress, the physiological and biochemical indexes of mung bean seed, such as germination potential, germination rate and root length, decreased gradually. The abnormal phenomena such as chromosome ring, chromosome bridge and micronucleus appeared in root tip cells during mitosis. 150 mg·L⁻¹ lead nitrate could significantly inhibit the germination and growth of mung bean seeds. However, the 50 mg·L⁻¹ SA could alleviate the inhibition of seed germination and growth of mung bean under the stress of lead nitrate, and the abnormal condition of root tip chromosome division was weakened. Salicylic acid could increase the stress resistance of plants to resist the persecution of environment.

Keywords: salicylic acid; heavy metal stress; mung bean seed germination; seedling growth