

# Zn 胁迫对黑麦草幼苗生长、生理生化及 Zn 吸收的影响

李文一<sup>1</sup>, 徐卫红<sup>1\*</sup>, 胡小凤<sup>1</sup>, 李仰锐<sup>1</sup>, 刘吉振<sup>1</sup>, 王宏信<sup>1</sup>, 熊治廷<sup>2</sup>

(1. 西南大学资源环境学院, 重庆 400716; 2. 武汉大学资源环境学院, 武汉 430059)

**摘 要:** 采用营养液培养法, 研究了不同 Zn 浓度(0, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 mmol/L) 对黑麦草幼苗生长、过氧化物酶活性、脯氨酸、根系活力及 Zn 吸收的影响。结果表明, 低锌胁迫对黑麦草幼苗生长无抑制, 过度锌胁迫( $Zn \geq 2$  mmol/L) 将降低黑麦草地上部干质量。幼苗叶内游离脯氨酸含量随锌胁迫时间、锌浓度增加而增加。随 Zn 胁迫时间增加幼苗 POD 活性先降后升、根系活力先升后降, 锌处理的植株地上部 POD 活性随锌浓度增加先降低, 然后增加, 而根系活力随锌浓度增加而增加。黑麦草幼苗地上部和根系 Zn 含量随 Zn 浓度的增加而增加, 当 Zn 浓度为 2.00 mmol/L 时, 地上部 Zn 含量最大值为 775.0 mg/kg。

**关键词:** 锌胁迫; 黑麦草; 游离脯氨酸; POD 活性; 根系活力; 锌吸收

中图分类号: R124

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2007)5-0190-05

李文一, 徐卫红, 胡小凤, 等. Zn 胁迫对黑麦草幼苗生长、生理生化及 Zn 吸收的影响[J]. 农业工程学报, 2007, 23(5): 190~194.

Li Wenyi, Xu Weihong, Hu Xiaofeng, et al. Effects of Zinc stress on growth, physiological and biochemical and Zn uptake of Ryegrass (*Lolium perenne* L.) [J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(5): 190~194. (in Chinese with English abstract)

## 0 引 言

随着土壤重金属污染问题越来越突出, 重金属在土壤—植物系统中的迁移转化日益引起了国内外土壤学、植物营养生态学、环境科学、植物生理学等领域的研究者的关注<sup>[1-3]</sup>。在重金属 Cd、Pb、Hg、Zn 等胁迫下, 植物都会逐渐从生物化学或者分子机制上发生改变, 以适应或者忍受重金属胁迫。不同种类的植物或同一种类不同品种的植物对重金属的适应能力和抗性具有明显的差异。重金属超积累植物, 如 *T. caerulescens*, 对其积累的重金属的忍耐和抗性就远远大于其他非超积累植物。黑麦草为 1 年生禾本科单子叶植物, 是中国长江流域种植较普遍的优质牧草和各地常用的优质草坪草。其生长迅速, 生物量大, 再生能力强, 易于种植。有报道显示黑麦草对重金属镉、铜有富集作用<sup>[4,5]</sup>, 但对锌胁迫下黑麦草的耐性、抗性机制, 尤其是重金属胁迫下黑麦草生理指标, 如抗氧化酶、脯氨酸、根系活力等随时间变化的关系报道不多。为此, 采用营养液培养试验方法, 研究不同锌浓度下黑麦草生长, 叶内过氧化物酶、脯氨酸及根系活力、锌吸收和积累随时间的连续变化, 探讨黑麦草对重金属锌的耐性或抗性及其富集机理, 为植物修复土壤重金属锌污染提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试植物为单子叶植物 1 年生黑麦草 (*Lolium perenne* L.), 品种为泰德(由北京绿冠草业公司提供)。培养基质珍珠岩购自重庆上桥保温材料厂, 去离子水清洗至 pH 值为 7.0, 用稀盐酸调整至 pH 值为 6.5, 晾干后放入一次性聚乙烯(PE)塑料杯中。珍珠岩的基本化学成分:  $SiO_2$  (69%~75%),  $Al_2O_3$  (12%~16%),  $Fe_2O_3$  (2%~5%),  $CaO$  (<3%),  $MgO$  (<2%),  $K_2O + Na_2O$  (5%~9%)。

### 1.2 试验设计

营养液培养试验于 2004 年 3 月~2004 年 5 月在原西南农业大学资源环境学院盆栽场内进行。采用无 Zn 的 Hongland 营养液, 设定 0, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 mmol/L 5 个 Zn 浓度处理, 每处理 15 次重复, 测定时每天取 3 次重复。采用一次性 PE 塑料杯, 每杯放珍珠岩 18 g。播种前种子用 2% 的乙醇消毒 20 min, 然后用去离子水洗净, 在 25℃ 恒温箱里催芽, 待种子萌芽时播种, 播种量为每杯 50 粒, 出苗后定株 35 棵, 生长期间每天按珍珠岩失水重补入去离子水, 以保持含水量近于饱和和持水量(以珍珠岩上部干不燥、下部无水为宜)。营养液用 NaOH 调整 pH 值为 6.5 左右, 3~5 d 更换一次营养液。Zn 以  $Zn(NO_3)_2$  (分析纯) 加入, 各处理之间 N 量差异以  $NH_4NO_3$  (分析纯) 平衡。待幼苗长出 3~5 片真叶后(大约 40 d) 加锌, 加 Zn 后每隔 24 h 测定一次植株生物量(地上部、根系干质量)、POD 活性、游离脯氨酸含量、根系活力及 Zn 含量。连续测定 5 d。鲜样在 105℃

收稿日期: 2006-09-12 修订日期: 2007-01-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(20477032)

作者简介: 李文一(1980-), 男, 辽宁台安人, 从事植物营养与生态环境方面研究。重庆 西南大学资源环境学院, 400716。

Email: ouyang\_liwen@163.com

\*通讯作者: 徐卫红, 副教授, 从事植物营养与生态环境研究。重庆 西南大学资源环境学院, 400716。Email: redlx@swau.edu.cn

下杀青 15 min, 60℃ 下烘干至恒重, 测定植株地上部和根系干质量。

### 1.3 测定内容与方法

幼苗地上部及根系 Zn 吸收的测定, 植株干样在研钵中研碎, 用  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  硝化后, 用火焰原子吸收分光光度计测定 Zn 含量<sup>[6]</sup>。幼苗游离脯氨酸活性采用郝再彬方法测定<sup>[7]</sup>。幼苗过氧化物酶活性的测定采用张志良的比色法<sup>[8]</sup>。幼苗根系活力采用 TTC 法测定<sup>[9]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 Zn 浓度对黑麦草幼苗生长的影响

由表 1 可见, 总体上黑麦草幼苗地上部干质量在不同 Zn 浓度、不同时间各处理之间差异均达到极显著水平 ( $F_c = 13.255^{**}$ ,  $n = 15$ ;  $F_t = 66.474^{**}$ ,  $n = 15$ )。由表 1 可以看出, 相同时间, 黑麦草幼苗地上部干质量随浓度先增加后减少, 但不同时间黑麦草幼苗地上部干质量最大的 Zn 浓度不同, 1 d 时以 1.00 mmol/L 地上部干质量最大, 较对照增加 12.7%, 2 d 时以 0.50 mmol/L 地上部干质量最大, 较对照提高 13.5%, 3、4、5 天以 0.25 mmol/L 地上部干质量最大, 分别较对照增

加 7.4%, 10.3%, 11.5%。在 Zn 浓度  $\leq 1.00$  mmol/L 时, 地上部干质量均高于无 Zn 处理, 当 Zn 浓度为 2.00 mmol/L 时, 地上部干质量出现不同程度减少, 连续测定 5 d, 地上部干质量分别较对照降低 0.6%, 2.2%, 1.6%, 1.8%, 6.3%。在相同浓度下, 黑麦草幼苗地上部干质量随时间增加而增加。

从总体上看, 黑麦草幼苗根系干质量在不同 Zn 浓度、不同时间各处理之间差异也达到极显著水平 ( $F_c = 26.931^{**}$ ,  $n = 15$ ;  $F_t = 86.655^{**}$ ,  $n = 15$ )。相同时间内, 黑麦草幼苗根系干质量随浓度增加与地上部一样先增加后降低, 但黑麦草幼苗根系干质量达到最大生物量的浓度均出现在 1.0 mmol/L, 此 Zn 浓度下, 测定 5 d 的根系干重分别较对照增加 18.4%, 18.8%, 30.6%, 13.5%, 22.3%, 且在 2.0 mmol/L Zn 浓度时, 连续处理 5 d 的根系干重都高于对照。在相同浓度下, 黑麦草幼苗根系干重除 0.25 mmol/L 在第 4 d 达到最高, 第 5 d 微降低外, 其余浓度的根系干重随时间增加而增加 (表 1)。各浓度下根系干重最大增量均出现在第 3 d, 以后略有降低。

表 1 不同浓度 Zn 对黑麦草幼苗生物量的影响

Table 1 Effects of different Zinc levels on ryegrass (*Lolium perenne* L.) growth

Zn 浓度 /mmol · L <sup>-1</sup>	每杯地上部干质量/g					每杯根系干质量/g				
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
0	3.103±0.14cd	3.422±0.06bc	3.861±0.11b	3.933±0.17bc	4.215±0.19b	2.301±0.09d	2.326±0.04d	2.456±0.03d	2.983±0.06d	3.092±0.14d
0.25	3.221±0.12c	3.552±0.10b	4.148±0.19a	4.338±0.60a	4.700±0.18a	2.532±0.03b	2.562±0.47b	3.086±0.10b	3.198±0.12b	3.181±0.37c
0.50	3.448±0.19b	3.883±0.03a	4.118±0.03ab	4.208±0.14ab	4.383±0.06b	2.647±0.04ab	2.678±0.25a	3.121±0.02ab	3.337±0.10a	3.414±0.07b
1.00	3.498±0.11a	3.801±0.15bc	3.969±0.07b	4.055±0.10b	4.352±0.08b	2.725±0.06a	2.763±0.01a	3.207±0.07a	3.387±0.08a	3.783±0.07a
2.00	3.052±0.40d	3.347±0.09c	3.800±0.17b	3.863±0.11c	3.949±0.06c	2.416±0.09c	2.457±0.20c	2.914±0.14c	3.031±0.11c	3.301±0.11bc

注: 表中数据为平均值±SD ( $n = 3$ )。

### 2.2 不同 Zn 浓度对黑麦草幼苗游离脯氨酸含量的影响

脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物质, 对维护细胞水分平衡起着重要作用。图 1 表明, 在 5 个 Zn 浓度下

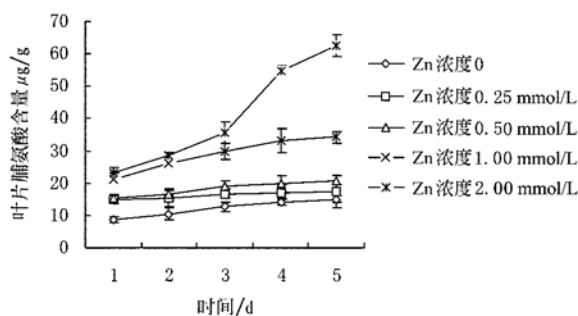


图 1 黑麦草叶片脯氨酸变化

Fig. 1 Contents of proline in ryegrass leaves

黑麦草叶内游离脯氨酸含量都呈现出随时间增加而增加的趋势; 各处理下幼苗脯氨酸积累随 Zn 浓度增加亦增加; 高 Zn 胁迫, 即 2.0 mmol/L 的处理随时间增加脯氨酸含量大幅度升高。

### 2.3 不同 Zn 浓度对黑麦草幼苗过氧化物酶(POD)活性的影响

过氧化物酶的主要作用是清除氧代谢中产生的  $\text{H}_2\text{O}_2$  以及由此产生的有机过氧化物  $\text{ROOH}$ , 因此, POD 在生物体内的抗氧化代谢中起重要作用<sup>[10]</sup>。由图 2 可见, 各加锌处理 POD 活性随着时间的增加总趋势呈现先下降后增加的趋势, 并且 POD 活性随浓度增加而增加 (除了对照处理); 较低 Zn 胁迫 (0.25、0.50 mmol/L) 在前 3 天 POD 活性均低于对照, 而较高胁迫

(1.00、2.00 mmol/L) 高于对照; 除 2.00 mmol/L 处理外, 各浓度 POD 最低出现的时间都在第 3 天, 然后急剧回升。

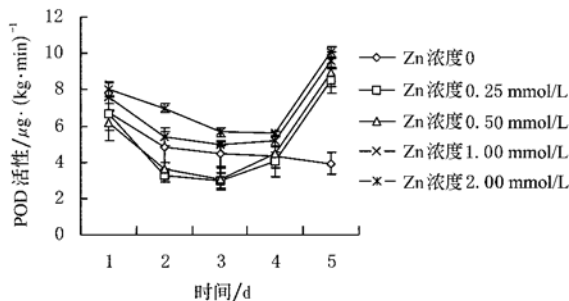


图2 黑麦草幼苗 POD 活性

Fig. 2 Activity of POD in ryegrass leaves

#### 2.4 不同 Zn 浓度对黑麦草幼苗根系活力的影响

由图 3 可见, 在相同时间内黑麦草幼苗, 根系活力随时间表现为先上升后下降的变化; 第 1 d 高锌处理 (1.00、2.00 mmol/L) 根系还原强度明显低于对照, 第 2~4 d, 此 2 个浓度的根系活力高于对照, 但第 5 d 出现了根系活力显著下降的情况。低 Zn 处理 (0.25、0.50 mmol/L) 的根系活力均高于对照处理。

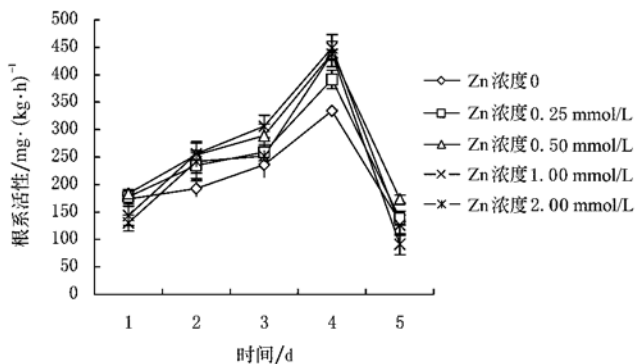


图3 黑麦草幼苗根系活力

Fig. 3 Root system vigor in ryegrass

#### 2.5 不同 Zn 浓度对黑麦草幼苗 Zn 含量的影响

从图 4、5 可以看出, 地上部及根系锌含量随处理浓度增加而增加; 随时间增加, 加锌处理黑麦草幼苗根系锌含量呈先增后减趋势, 根系 Zn 含量最大值在低 Zn 浓度处理 (0.25、0.50 mmol/L) 时出现在第 2 d, 高 Zn 浓度处理 (1.00、2.00 mmol/L) 时出现在第 4 d。地上部锌含量则呈现两种趋势, 高锌胁迫 (1.00、2.00 mmol/L) 下, 黑麦草地上部 Zn 含量随时间而增加; 低锌胁迫 (0.25、0.50 mmol/L) 下, 地上部 Zn 含量随时间增加呈先增后减趋势, 对照 (0 mmol/L) 地上部少量 Zn 可能来自种子。地上部 Zn 含量最大值为 775.0 mg/kg (2.00 mmol/L, 第 5 d)。除了对照外, 黑麦草植株根系 Zn 含

量均高于地上部 Zn 含量。

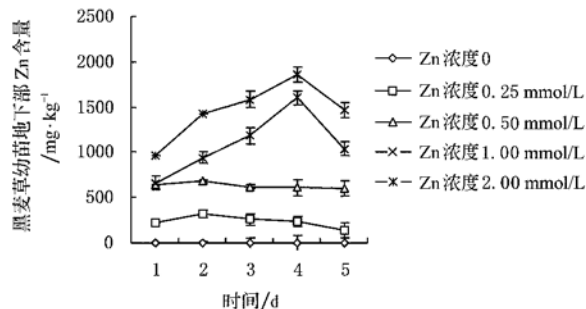


图4 黑麦草幼苗根系 Zn 含量

Fig. 4 Zn contents in ryegrass root

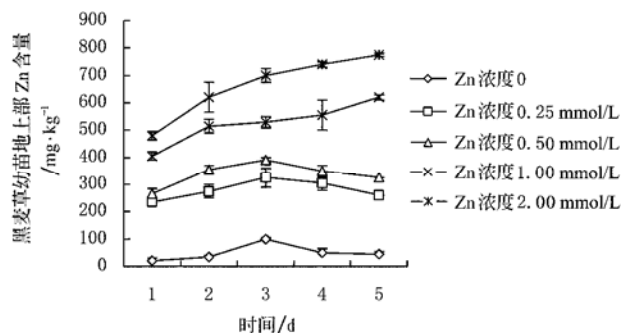


图5 黑麦草幼苗地上部 Zn 含量

Fig. 5 Zn contents in ryegrass shoot

### 3 结论与讨论

不同种类的植物对重金属的适应能力和抗性是不同的<sup>[11]</sup>。黑麦草幼苗生物量在不同锌浓度下差异显著,  $Zn \leq 1.00$  mmol/L 时, Zn 对地上部干重无抑制, 过度锌胁迫 ( $Zn \geq 2.00$  mmol/L), 对地上部生长有影响, 但即使在高锌处理中, 黑麦草根系干质量连续 5 天都高于对照。可见, 黑麦草植株根系对重金属 Zn 有较强的抗性。

植物体内的游离脯氨酸含量的增加是植物对逆境胁迫的一种生理生化反应, 脯氨酸作为细胞质渗透调节物质, 具有稳定生物大分子结构的作用, 游离脯氨酸积累可防止植物细胞结构和功能受损伤或降低伤害程度, 此外, 还具有清除活性氧的功能<sup>[12]</sup>。本试验中, 锌胁迫下黑麦草幼苗地上部游离脯氨酸含量所表现出随浓度、时间递增, 此结果与早前报道<sup>[13, 14]</sup>一致。锌胁迫明显提高了黑麦草植株游离脯氨酸含量, 显示植物体内游离脯氨酸含量的增加是植物对逆境胁迫的一种适应性反应。

黑麦草地上部 POD 活性随锌浓度增加先降低然后而增加, 此结果与锌是一种特殊的重金属元素有关, 即锌既是植物生长发育必须的营养元素, 过量锌又会对植

物产生毒害。因此,无锌和高锌胁迫均提高了黑麦草地上部 POD 活性,该结果与王友保等(2001)、刘登义等(2003)及施国新等(2004)报道基本一致<sup>[15-17]</sup>。而 POD 活性增强,是植物对不利外界环境的适应性反应<sup>[18]</sup>。在 Zn 胁迫下,POD 活性提高进一步说明了黑麦草幼苗对锌胁迫表现出了较强的抗性。

根系活力随 Zn 浓度增加而增大,这与何翠屏等(2003)、张利红等(2005)报道一致<sup>[19,20]</sup>,也与本试验根系干质量随锌浓度变化趋势一致。可见,黑麦草幼苗根系对重金属锌胁迫的耐性是较高的。其中第五天,根系活力呈下降趋势,原因还有待进一步研究。

不同锌浓度及不同时间,植株锌吸收量与分布差异明显。地上部锌及根系含量随浓度增加而增加(图4、5)。随时间的增加,植株地上部锌含量在低锌胁迫(0.25、0.50 mmol/L)时随时间增加呈先升后降,高锌胁迫(1.00、2.00 mmol/L)时地上部 Zn 含量随时间而增加。根系 Zn 含量随加 Zn 处理和随时间均呈先增加后减少,尤其是在高 Zn 下,随处理时间增加,根系 Zn 含量降低,地上部 Zn 含量增加,表明黑麦草根吸收的 Zn 向地上部转移了。但本试验中黑麦草植株中锌主要集中在根系中,原因可能是加锌处理时间仅 5 天,根据笔者的土壤盆栽试验结果<sup>[21]</sup>,Zn 在黑麦草 4 个品种植株中的分布以地上部为主。尽管如此,本研究中,当 Zn 浓度为 2.00 mmol/L 黑麦草植株地上部 Zn 含量最大值已经达到 775.0 mg/kg。可见,黑麦草植株对重金属具有较强的富集能力。

#### [参 考 文 献]

- [1] Liu Y G, Wang X H, Zeng G M. Redistribution of Pb, Zn and Cu fractions in tailing soils treated with different extractants[J]. *Pedosphere*, 2006, 16(3): 312– 318.
- [2] Chen Nengchang, Chen Huaiman. Chemical behavior of cadmium in wheat rhizosphere[J]. *Pedosphere*, 1992, 2(4): 363– 371.
- [3] Zhou D M, Xue Y, Liu X H, et al. Responses of different pakchoi Brassica cultivars to Cu toxicity[J]. *Pedosphere*, 2005, 15(1): 9– 15.
- [4] Hao X Z, Zhou D M, Si Y B. Revegetation of copper mine tailings with ryegrass and willow[J]. *Pedosphere*, 2004, 14(3): 283– 288.
- [5] 廖 敏,黄昌勇.黑麦草生长过程中有机酸对镉毒性的影响[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(1): 109– 112.
- [6] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社,2000: 335– 336.
- [7] 郝再彬,苍 晶,徐 仲.植物生理实验技术[M].哈尔滨:哈尔滨出版社,2002: 188– 189.
- [8] 张志良.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,1990: 154– 155.
- [9] 郝再彬,苍 晶,徐 仲.植物生理实验技术[M].哈尔滨:哈尔滨出版社,2002: 46– 47.
- [10] 王 夔.生命科学中的微量元素(上卷)[M].北京:中国计量出版社,1991, 140– 141.
- [11] Liu Y G, Zhang H Z, Zeng G M, et al. Heavy metal accumulation in plants on Mn mine mailings [J]. *Pedosphere*, 2006, 16(1): 131– 136.
- [12] Smirnoff N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation[J]. *New Phytologist*, 1993, 125(1): 27– 58.
- [13] 曾 青,朱建国,成后龙,等.红壤中镉积累对水稻的生理生态效应[J]. *环境科学学报*, 2003, 23(1): 17– 21.
- [14] 杨双春,刘 玲,潘 一,等.Hg<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>胁迫对玉米生理生态的影响[J]. *辽宁石油化工大学学报*, 2004, 24(3): 62– 65.
- [15] 王友保,刘登义. Cu、As 及其复合污染对小麦生理生态指标的影响[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(5): 773– 776.
- [16] 周红卫,施国新,陈景耀,等. 6-BA 对水花生抗氧化酶系 Hg<sup>2+</sup> 毒害的缓解作用[J]. *生态学报*, 2003, 23(2): 387– 392.
- [17] 朱红霞,杨小勇,葛才林,等.重金属对水稻过氧化物酶同工酶的影响[J]. *核农学报*, 2004, 18(3): 233– 236.
- [18] Camp W V, Capiou K, Montagu M V, et al. Enhancement or oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in Chloroplasts[J]. *Plant Physiol*, 1996, 112(4): 1703– 1714.
- [19] 何翠屏,王慧忠.重金属镉、铅对草坪植物根系代谢和叶绿素水平的影响[J]. *湖北农业科学*, 2003, 5: 60– 63.
- [20] 张利红,李培军,李雪梅,等.镉胁迫对小麦幼苗生长及生理特性的影响[J]. *生态学杂志*, 2005, 24(4): 458– 460.
- [21] 徐卫红,熊治庭,王宏信,等.锌胁迫对重金属富集植物黑麦草养分吸收和锌积累的影响[J]. *水土保持学报*, 2005, 19(4): 32– 35.

## Effects of Zinc stress on growth, physiological and biochemical and Zn uptake of Ryegrass(*Lolium perenne* L.)

Li Wenyi<sup>1</sup>, Xu Weihong<sup>1\*</sup>, Hu Xiaofeng<sup>1</sup>, Li Yangrui<sup>1</sup>, Li Jizhen<sup>1</sup>, Wang Hongxin<sup>1</sup>, Xiong Zhiting<sup>2</sup>

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. College of Resources and Environmental Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** Solution culture experiment was carried out to study the growth, activity of peroxidase(POD), proline content, root system vigor, and Zn uptake under the different Zinc levels(0, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 mmol/L) in ryegrass (*Lolium perenne* L.). The results showed that low Zinc stress did not inhibit the growth of plants, but the shoot dry weights decreased under excessive Zinc stress( $Zn \geq 2$  mmol/L). The free proline content in shoot increased with the increase of time and Zinc level. The changes of POD activity and root system vigor were the parabola trend with the increase of time. The activity of POD in shoot decreased first, and then increased with the increase of Zinc level under Zinc treatment, while the root system vigor increased with the increase of Zinc level. The Zn content in the shoot and root increased with the increase of Zn level. The maximum of shoot Zn contents was 775.0 mg/kg(at 2.0 mmol/L Zn treatment).

**Key words:** Zinc stress; ryegrass (*Lolium perenne* L.); free proline; POD; root system vigor; Zn uptake

### 更正启事

本刊 2007 年第 4 期发表的署名为“赵杰文、呼怀平、邹小波”，题名为“支持向量机在苹果分类的近红外光谱模型中的应用”的论文，因排版工作失误，将文中“图 2 苹果支架”漏印，特向作者及读者致以深深的歉意。现将该图补登如右图所示：

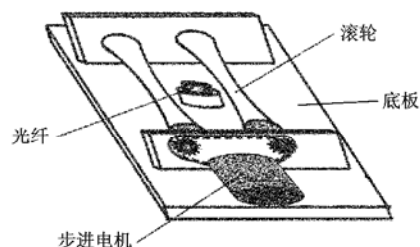


图 2 苹果支架

Fig. 2 Apple brace

(本刊)