

# 铬胁迫下三种基因型小麦萌发和抗氧化酶差异的研究

张黛静<sup>1,2</sup>, 姜丽娜<sup>2</sup>, 邵云<sup>1,2</sup>, 李召虎<sup>1</sup>, 李春喜<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193; 2. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007)

**摘要:**采用3种不同基因型小麦品种(新麦19、矮抗58和豫麦18), 对其进行萌发期不同浓度  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  胁迫处理。研究幼苗的发芽势、发芽率、根长、芽长、叶绿素、根系活力、MDA含量, 以及抗氧化酶的变化。结果表明: 随Cr浓度的增加, 发芽势、发芽率和芽长均基本呈“先升后降”趋势; 同一浓度Cr处理下, 发芽率、发芽势和芽长均表现为新麦19 > 矮抗58 > 豫麦18, 根长为豫麦18 > 新麦19 > 矮抗58; 150 mg/L的Cr胁迫下, 小麦幼芽叶绿素含量、幼根根系活力降低, MDA含量升高; 随Cr浓度的升高, 幼芽SOD、POD活性升高; SOD、POD活性在新麦19中变幅最小。

**关键词:**小麦; 铬; 萌发; 生理活性; 抗氧化酶

**中图分类号:** S512.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2009)06-0069-05

## Differential Responses in Germination and Antioxidant Enzymes of Three Wheat Cultivars to Chromium Stress

ZHANG Dai-jing<sup>1,2</sup>, JIANG Li-na<sup>2</sup>, SHAO Yun<sup>1,2</sup>, LI Zhao-hu<sup>1</sup>, LI Chun-xi<sup>2</sup>

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** Chromium (Cr) effects the growth of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) badly. In this experiment, the effects of Cr toxicity on Chlorophyll content, root activity, malondialdehyde (MDA) content and antioxidative enzymes activity in seedlings were investigated to clarify different Cr resistibility in three wheat cultivars. The results showed: with the increase of Cr concentration, the germination potential, germination percentage, root length and shoot length increased first then declined. Under the same Cr concentration treatment, the characteristics of germination energy, germination percentage and shoot length presented Xinmai 19 > Aikang 58 > Yumai 18 the characteristics of root length presented Yumai 18 > Xinmai 19 > Aikang 58. 150 mg/L chromium treatment, chlorophyll content, root activities inhibited heavy exposed to excess Cr. MDA content, SOD and POD content increased significantly in wheat shoots exposed to excess Cr. The SOD and POD activity also differed for the three cultivars. Cr stress significant promoted SOD and POD content in Yumai 18 than Xinmai 19 and Aikang 58.

**Key words:** Wheat; Chromium; Germination; Physiological activities; Antioxidant enzymes

全球重金属污染问题越来越受到关注。目前, 我国受重金属污染的耕地面积占全国耕地总面积的20%, 每年因土壤污染而损失的粮食产量达1 200万t, 直接经济损失200多亿元人民币<sup>[1]</sup>。其中随着Cr在冶金、金属加工、电镀等工业中的广泛应用, Cr带来的土壤污染问题也日益突出。Cr污染破坏土壤生产性能, 抑制作物生长, 降低产量<sup>[2-4]</sup>。例如, Cr能影响植物的细胞结构, 叶绿素含量随Cr浓度增加

而下降<sup>[5]</sup>。越来越多的证据表明, Cr可以使植物体内活性氧含量增加, 而其清除能力受到抑制, 造成活性氧(ROS)大量积累<sup>[6-8]</sup>。而超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)是主要的ROS酶促清除系统。

小麦是世界范围内种植面积最大、总产量最高的粮食作物之一, 也是我国主要粮食作物。河南省是我国小麦生产第一大省。本试验选用河南的3种

收稿日期: 2009-10-08

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划(2006BAD02A15; 2006BAK02A25)

作者简介: 张黛静(1974-), 女, 河南新乡人, 在读博士, 主要从事小麦逆境生理研究。

通讯作者: 李春喜(1964-), 男, 河南封丘人, 教授, 主要从事小麦栽培生理研究。

主栽小麦品种:矮抗 58、新麦 19 和豫麦 18,研究不同浓度 Cr 胁迫对 3 种基因型小麦萌发、幼芽叶绿素含量、脂质过氧化产物丙二醛(MDA)以及抗氧化酶的影响。探讨不同基因型小麦在 Cr 胁迫下生理活性是否存在差异。以期小麦健康、高产栽培提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料与试剂

供试小麦(*Triticum aestivum* L.)品种:矮抗 58、新麦 19 和豫麦 18。

供试试剂:30 %的 Cr<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 水溶液。

1.2 试验设计

幼苗采用水培方法:依照国家土壤环境质量二级标准(CB15618-1995)规定,设定重金属 Cr 分别设 0(对照,CK),25,50,100,150 mg/L 5 个浓度梯度。各个小麦品种均选取完整、饱满、均一的种子,用 0.1 % HgCl<sub>2</sub> 表面消毒 6 min,去离子水充分冲洗后,腹面朝下整齐摆放在铺有一层滤纸的 12.5 cm 的培养皿中,每皿 100 粒。每皿加入 20 mL 各浓度梯度的重金属 Cr 溶液保持湿润,培养于(25 ±1) °C 全智能人工气候室(HP1000CS-B 型)内,有效光量子密度为 250 μmol/(m<sup>2</sup>·s),光暗周期为 12 h/12 h,昼夜温度为(20 ±1)/(18 ±1) °C,相对湿度为(75 ±5) %。以后每天加 10 mL 蒸馏水保持湿润,每个处理设 3 个重复。小麦籽粒萌发的第 3 天测发芽势,第 7 天测发芽率,同时测定根长、芽长,各项生理指标。

1.3 分析方法

1.3.1 种子活力和形态指标的测定 发芽率、发芽势根据国家种子质量检测标准,培养后第 3 天测发芽势,第 7 天测发芽率。

根长、芽长:每个处理随机抽取 100 株幼苗测其

根长、芽长。以 100 株的平均值计根长、芽长。

1.3.2 小麦生理指标的测定 叶绿素含量的测定采用丙酮-无水乙醇浸提法<sup>[9]</sup>。小麦根系活力测定采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法<sup>[10]</sup>。MDA 含量采用硫代巴比妥酸法<sup>[11]</sup>。

1.3.3 抗氧化酶活性的测定 SOD 活性采用 NBT 光还原法测定<sup>[12]</sup>。POD 活性的测定参照 Cakmak 的方法测定<sup>[13]</sup>。

1.4 结果分析

试验数据均为 3 次重复的平均值,采用 Excel 2007 和 SPSS 15.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 Cr 胁迫对小麦发芽的影响

表 1 显示,在 Cr 作用下,新麦 19 和矮抗 58 籽粒萌发为“低促高抑”的趋势,豫麦 18 则随着 Cr 浓度的增加而降低。高浓度 Cr(150 mg/L)处理下,3 个小麦品种的发芽势均低于对照,差异达到显著或极显著水平。3 个小麦品种的发芽率依次为 CK 的 89.2 %,91.2 %和 66.7 %。3 个小麦品种的发芽率和发芽势与 Cr 浓度间均为极显著负相关(相关系数见表 1)。比较 Cr 处理对不同的 wheat 品种的影响,150 mg/L 的 Cr 浓度下,发芽势、发芽率依次为:新麦 19 > 矮抗 58 > 豫麦 18。

Cr 对小麦幼苗芽长、根长均有抑制作用,且浓度越大抑制作用越强(表 1)。当 Cr 浓度达 150 mg/L 时,矮抗 58、新麦 19 和豫麦 18 幼芽长分别为对照的 62.55 %,61.04 %和 53.4 %,而根长分别为对照的 63.91 %,41.04 %和 24.4 %,说明高浓度的 Cr 对幼根的抑制作用大于对幼芽的抑制。相同浓度 Cr 溶液处理下,新麦 19 受抑作用最小,根长尤为明显。

表 1 Cr 胁迫对 3 个小麦品种萌发的影响及其显著性比较(LSD 法)

Tab.1 Effect of Cr stress on germination and growth and its significance comparison(LSD method) among three varieties				
指标 Indexes	Cr 浓度(mg/L) Cr concentration	矮抗 58 Aikang58	新麦 19 Xinmai 19	豫麦 18 Yumai 18
发芽率 Germination percentage	0	95.33 a	94.33 a	88.00 a
	25	97.00 a	97.33 a	77.60 ab
	50	91.67 ab	96.00 ab	81.00 b
	100	87.33 b	93.67 b	69.30 b
	150	85.00 b	86.00 b	58.60 c
	r	- 0.709 **	- 0.592 *	- 0.743 **
发芽势 Germination energy	0	87.67 ab	86.00 a b	59.67 ac
	25	93.00 a	91.67 a	55.60 ac
	50	86.00 ab	90.67 a	54.50 ab
	100	73.33 bc	82.67 b	48.60 bc
	150	69.00 c	71.67 c	53.00 bc
	r	- 0.818 **	- 0.739 **	- 0.743 **

续表：

指标 Indexes	Cr 浓度 (mg/L) Cr concentration	矮抗 58 Aikang58	新麦 19 Xinmai 19	豫麦 18 Yumai 18
根长 / cm Root length	0	5.43 a	4.59 b	5.83 a
	25	5.20 a	5.70 a	3.11 b
	50	5.02 a	5.39 a	4.15 c
	100	3.62 b	3.17 c	2.32 d
	150	2.23 c	2.93 d	1.42 e
芽长 / cm Shoot length	r	- 0.736 **	- 0.579 **	- 0.981 **
	0	4.90 a	5.05 a	6.37 a
	25	4.54 a	5.51 a	5.67 a
	50	5.28 b	4.63 b	6.02 b
	100	3.43 c	4.18 b	4.60 c
	150	2.99 c	3.16 c	3.74 d
	r	- 0.621 **	- 0.603 **	- 0.957 **

注：表中数据均为平均值，小写字母表示在  $\alpha=0.05$  水平上差异达到显著。  
Note: The data in the table are all mean values. The small letters indicate significance on 0.05 level.

2.2 Cr 胁迫对小麦生理指标的影响

2.2.1 对叶绿素含量的影响 随着 Cr 胁迫浓度的增加,3 种基因型小麦幼芽叶绿素 a (Chla)、叶绿素 b (Chlb) 含量均呈下降趋势(图 1),在 Cr 浓度为 150 mg/L 时叶绿素含量最低,幼芽 Chla 分别为 CK 的 68.4 %、74.1 % 和 85.7 %,Chlb 为 CK 的 47.6 %、72.5 %和 83.0 %;总叶绿素 (Tchl) 为 CK 的 63.7 %、73.7 %和 85.1 %。其中,Chlb 的降幅高于 Chla 和 Tchl,以矮抗 58 的 Chlb 降幅最大。

2.2.2 根系活力的变化 图 1 显示,在小麦幼苗生

长第 7 天,Cr 胁迫对不同基因型小麦根系活力的影响与根长(表 1)相似。新麦 19 在 Cr 为 25 mg/L 时根活上升,矮抗 58 在 50 mg/L 时高于对照,其余处理根活随 Cr 浓度增大而降低,降幅与 Cr 浓度呈正比。当 Cr 为 150 mg/L 时,根活降低到最低。新麦 19、矮抗 58 和豫麦 18 在此浓度的根活分别是对照的 62.4 %、75 %和 77.69 %。经相关与回归分析可知,三种基因型小麦的根系活力与 Cr 浓度呈显著相关关系,相关系数分别为 0.986、0.970 和 0.898。

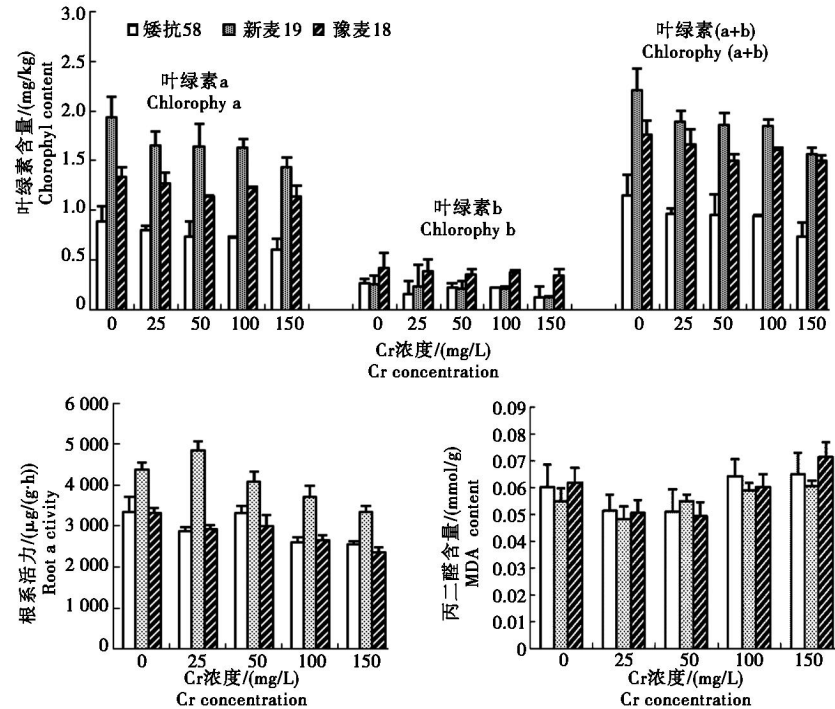


图 1 Cr 胁迫对不同基因型小麦幼苗叶绿素含量、根系活力和 MDA 含量的影响

Fig.1 Effect of chromium on content of chlorophyl and MDA and root activity of wheat seedling

2.2.3 MDA 含量的变化 由图 1 知,Cr 浓度从 0~50 mg/L 幼苗 MDA 含量均有下降的趋势。随着 Cr 浓度的提高 MDA 上升,当 Cr 浓度达到 150 mg/L

时达最高。Cr 胁迫下,MDA 的降幅在小麦不同基因型间差别较大。新麦 19 MDA 含量在 Cr 浓度在 0~50 mg/L 之间为对照的 99.99 %。在 Cr 为 150

mg/L 时,新麦 19 MDA 含量最低,豫麦 18 最高。

### 2.3 Cr 胁迫对小麦抗氧化酶活性的影响

2.3.1 SOD 含量的变化 SOD 是专一清除组织内超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )的,在自由基清除系统中具有重要地位。从图 2 得知,矮抗 58 和豫麦 18 SOD 活性均随 Cr 浓度的增加而上升。在 Cr 为 150 mg/L 时最高。新麦 19 稍有不同,表现为“先降后升”,且其 SOD 活性变化较其他 2 个品种稳定,说明新麦 19 抗氧化能力较强,但品种间差异未达到显著水平。

2.3.2 POD 含量的变化 经过 Cr 处理后,不同基

因型小麦幼叶的 POD 活性与 SOD 不同,随着 Cr 浓度的升高呈上升趋势。CK 中,3 种小麦幼芽的 POD 活性基本相同。随着 Cr 浓度的增加,升高趋势表现出品种差异。其中,新麦 19 的 POD 变幅最小。当 Cr 含量为 150 mg/L 时,其 POD 活性比对照高 15.97%,而豫麦 18 POD 活性在此浓度比对照高 58.36%。矮抗 58 介于二者之间。可见,新麦 19 在 Cr 胁迫下稳定 POD 的能力强于其他 2 个基因型小麦。

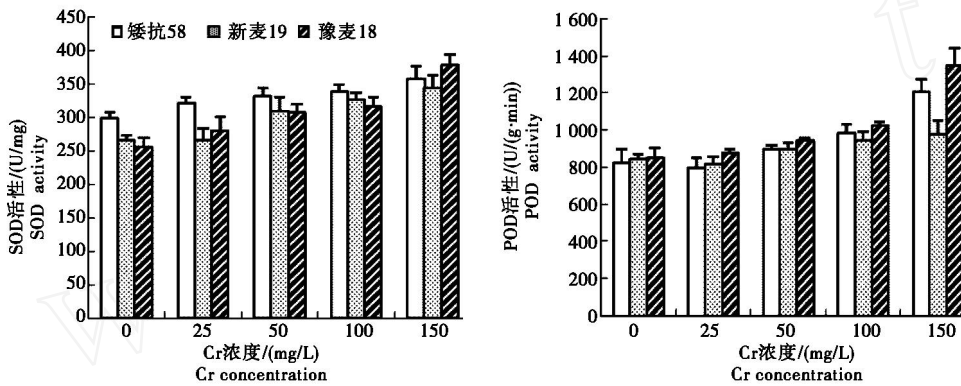


图 2 Cr 胁迫对不同基因型小麦幼苗 SOD、POD 活性的影响

Fig. 2 Effect of chromium on SOD activity and POD activity of wheat seedling

## 3 结论与讨论

### 3.1 Cr 胁迫下小麦形态指标的变化

小麦的萌发是受重金属影响最早的生理过程。本试验表明,在高浓度 Cr 影响下(>50 mg/L),几种小麦的发芽势、发芽率、根长、芽长等指标均降低,表明重金属 Cr 胁迫对小麦的籽粒萌发和幼苗生长有明显的毒害作用,与前人的研究结果一致<sup>[14]</sup>。高浓度 Cr 对幼根的抑制作用最明显,幼根变得短粗而且弯曲,侧根丛生,严重时仅有小的突起而不能继续生长,这样影响根对养分的吸收,从而影响整株植物。植物的根是首先接触到培养液中重金属离子的部位,幼根在 Cr 胁迫进程上早于芽,受胁迫的作用大于芽,从而受害更深。幼芽受到高浓度 Cr 毒害现象也非常明显,表现为失绿、顶端卷曲,叶片萎缩。比较三种不同基因型小麦的形态指标,新麦 19 在高浓度 Cr 的影响下,抗性优于其他品种,矮抗 58 次之,豫麦 18 最弱。

### 3.2 Cr 胁迫下小麦生理指标的变化

Cr 对不同基因型小麦叶绿素含量、MDA、根系活力等生理指标均有影响。其中,随着 Cr 胁迫浓度的增加,三种基因型小麦幼芽叶绿素 a(Chla)、叶绿素 b(Chlb)含量均下降,以 Chlb 降幅最大。根系活力的变化与根长相似。MDA 表现出“先降后升”趋

势。MDA 含量升高说明细胞内代谢失调,自由基积累,膜脂过氧化作用加大<sup>[15,16]</sup>。不同基因型小麦品种在 Cr 处理下表现出的叶绿素含量、根系活力、MDA 含量等,存在同样的品种差异表现,新麦 19 在高浓度的 Cr 环境中,各项指标优于其他品种,而矮抗 58 和豫麦 18 表现次之。

### 3.3 Cr 胁迫下小麦抗氧化酶的变化

当植物遇到逆境胁迫时,体内 ROS 产生加快而清除能力受到抑制,造成 ROS 大量积累。ROS 可以引起膜脂过氧化、蛋白降解以及 DNA 的损伤。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)是植物体内主要的 ROS 酶促清除系统,它们如何有效地清除过量产生的 ROS 并保持其含量的平衡是植物能否顺利度过逆境的关键<sup>[17]</sup>。一般的情况为植物在受到伤害时,会升高抗氧化酶的活性来减轻机体的伤害<sup>[18]</sup>。综合试验结果表明,在 Cr 高浓度胁迫下(150 mg/L),各基因型小麦的 SOD、POD 活性均升高,表明了小麦自身抵抗外界不良环境,降低了活性氧自由基等对质膜的伤害和细胞膜相对透性,从而维持细胞质膜的稳定性和完整性的抵抗能力。但此抵抗能力存在品种间差异,其中新麦 19 升幅较小,说明其收到 Cr 胁迫后,体内 ROS 产生较少,而新麦 18 和矮抗 58 SOD、POD 变化剧烈,说明受到环境影响较大,故产生 SOD、POD 含量增加,以便更好的维

护机体的平衡。

### 参考文献：

- [1] 张玉秀,柴团耀. 植物重金属调节基因的分离和功能[M]. 北京:中国农业出版社,2006:1 - 2.
- [2] Malkoc E,Nuhoglu Y,Abali Y. Cr adsorption by waste a corn of *Quercus ithaburensis* in fixed beds: prediction of breakthrough curves[J]. Chem Eng,2006,119:61 - 68.
- [3] Sandeep K,Joshi U N. Nitrogen metabolism as affected by hexavalent chromium in sorghum(*Sorghum bicolor* L.) [J]. Environmental and Experimental Botany,2008,64(2):135 - 144.
- [4] Adel M,Zayed,Norman T. Chromium in the environment :factors affecting biological remediation[J]. Plant and Soil,2003,249:139 - 156.
- [5] 郭 峰,樊文华. 土壤 Hg、Cr 和 Pb 单一污染对绿豆光合作用的影响[J]. 华北农学报,2009,24(1):26 - 30.
- [6] Nalini P,Chandra P S. Effect of hevy metals  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on growth and metabolism of cabbage[J]. Plant Science,2002,163:753 - 758.
- [7] Sharma D C,Sharma C,Tripathi R D. Phototoxic lesions of chromium in maize[J]. Chemosphere,2003,51(1):63 - 68.
- [8] Valeria S,Marta L,Maria F P, et al. Species-dependent chromium accumulation, lipid peroxidation, and glutathione levels in germinating kiwifruit pollen under Cr (III) and Cr (VI) stress[J]. Chemosphere,2008,73(7):1042 - 1048.
- [9] 张宪政. 植物叶绿素含量测定 - 丙酮乙醇浸提法[M]. 沈阳:辽宁农业出版社,1986(3):26 - 28.
- [10] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2004:39 - 41.
- [11] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社,1999:305 - 306.
- [12] Dhindsa R S,Dhinsa P P,Thorpe T A. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. J Exp Bot,1981(32):193 - 101.
- [13] Cakmak I,Horst W J. Effect of aluminium on lipid peroxidation,super oxide dismutase,catalase and peroxidase activities in root tips of soybean(*Glycine max*) [J]. Physiol Plant,1991(83):463 - 468.
- [14] Vajpayee R D,Tripathi M B,Singh S N. Chromium(VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis,nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. [J]. Chemosphere,2000,41(7):1075 - 1082.
- [15] 汪月霞,孙国荣,王建波,等. NaCl 胁迫下星星草幼苗MDA 含量与膜透性及叶绿素荧光参数之间的关系[J]. 生态学报,2006,26(1):122 - 129.
- [16] 朱为民,丁海东,齐乃敏,等.  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫对番茄幼苗抗坏血酸 - 谷胱甘肽循环代谢的影响[J]. 华北农学报,2005,20(3):50 - 53.
- [17] Cho U H,Seo N H. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation[J]. Plant Sci:2005,168,113 - 120.
- [18] Murzaeva S V. Effect of heavy metals on wheat seedlings :activation of antioxidant enzymes[J]. Applied Biochemistry and Microbiology,2004,1(40):98 - 103.