

杨丽娟,顾地周,栾志慧,等. 钙对铅胁迫下玉米根尖的解毒效应[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):75-77.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.023

钙对铅胁迫下玉米根尖的解毒效应

杨丽娟¹, 顾地周¹, 栾志慧¹, 郭志欣¹, 蔡丽艳², 陈美芙¹, 吴培¹, 张峰¹

(1. 通化师范学院生命科学学院, 吉林通化 134002; 2. 吉林省林业调查规划院, 吉林长春 130022)

摘要:以通单 248 玉米种子为试验材料,研究钙对铅胁迫下玉米根尖的解毒效应。首先用硝酸铅水溶液对玉米根尖细胞染毒,确定 0.05 g/L 硝酸铅水溶液对玉米根尖细胞的染毒作用显著;再用不同浓度的硝酸钙水溶液分别与 0.05 g/L 硝酸铅水溶液混合,以复合物处理玉米根尖,进行为期 4、5、6、7 d 的试验,观察玉米根尖细胞有丝分裂指数、染色体畸变率、微核率。结果显示:钙在 0.1 ~ 1.0 g/L 范围内能缓解铅的毒性,有利于玉米根尖细胞有丝分裂的进行;但当钙的浓度超过 1.0 g/L 时反而增加了铅的毒性效应。

关键词:有丝分裂指数;染色体畸变;微核率;玉米;钙;铅;解毒;根尖

中图分类号: Q948.116 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0075-02

随着我国工业化和经济化水平的日益提高,许多重金属含量也接近临界值或超标^[1]。其中铅是一种毒性很大的重要污染重金属,广泛存在于生存环境中,不仅影响作物的产量和质量^[2-3],而且影响了人类健康^[4-5]。钙是土壤中最丰富的元素之一,是植物生长发育的必需元素,参与大多数细胞生理代谢活动,适量的钙有助于植物生长。目前,张英慧等已经研究了某些重金属对植物的影响,但关于钙对铅胁迫下玉米根尖细胞的解毒作用还未见报道^[6-8]。本研究探讨了不同浓度的硝酸钙对硝酸铅胁迫下玉米根尖的解毒效应,旨在为农业中钙盐的使用、土壤净化以及提高植物抗性提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用玉米种子为通单 248。

1.2 试验方法

首先用 5 组浓度 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 水溶液(0.01、0.03、0.05、0.08、0.10 g/L Pb^{2+})浸种、培养,取根尖压片,观察有丝分裂指数、染色体畸变率、微核率,研究不同浓度硝酸铅水溶液对玉米根尖细胞染毒效果,得出当浓度为 0.05 g/L Pb^{2+} 时对玉米根尖细胞的染毒作用显著。

选取籽粒饱满、大小均一、无损伤的玉米种子,冲洗、滤干、消毒后置于蒸馏水中浸种 24 h,使种子吸水膨胀。取培养皿,底层铺垫 2 层滤纸,用配制好的 5 组浓度药品(0.05 g/L Pb^{2+} + 0.1 g/L Ca^{2+} 、0.05 g/L Pb^{2+} + 0.5 g/L Ca^{2+} 、0.05 g/L Pb^{2+} + 1.0 g/L Ca^{2+} 、0.05 g/L Pb^{2+} + 2.5 g/L Ca^{2+} 、0.05 g/L Pb^{2+} + 5.0 g/L Ca^{2+})完全浸湿种子,将浸泡后的玉米种子铺在滤纸上,种子上铺 2 层纱布,早晚各换 1 次供试药品溶液,同时设置蒸馏水、0.05 g/L 硝酸铅 2 组对照组,每个浓度设 3 次重复。于 25 °C 培养使种子发芽,随即选取培养 4、5、6、7 d

的发芽种子,切取根尖 5 ~ 10 mm,用蒸馏水冲洗数次,再用卡诺固定液室温固定 20 ~ 24 h,加入 0.1 mol/L 盐酸解离 12 min,至根尖呈乳白半透明状时取出;滴加适量改良石炭酸品红染液染色 2 ~ 3 h,常规压片后镜检并拍照。

1.3 数据统计与分析

每个试验组观察 3 个根尖,每个根尖观察约 1 000 个细胞,使所观察的细胞总数在 3 000 个以上,利用中科组织细胞分析诊断图文报告系统进行细胞计数。统计玉米根尖细胞的有丝分裂数、染色体畸变数、微核数,并计算细胞有丝分裂指数、染色体畸变百分率、微核千分率。参考杜荣骞的方法对所得数据进行分析^[9],利用 Office 办公软件 Excel 2003,通过 *t* 检验检测不同试验组与对照组之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 铅、钙复合物对玉米根尖细胞有丝分裂的影响

由表 1 可知:与铅对照组相比,铅、钙复合物的各处理组均降低了玉米根尖细胞有丝分裂指数,其中 0.05 g/L Pb^{2+} + 1.0 g/L Ca^{2+} 处理组在处理 7 d 时与蒸馏水对照组的畸变率相近,因此认为 0.05 g/L Pb^{2+} + 1.0 g/L Ca^{2+} 处理组具有很好的去除铅毒害的作用。

2.2 铅、钙复合物对玉米根尖细胞染色体畸变率的影响

由表 2 可知:与铅对照组相比,铅、钙复合物的各处理均降低了玉米根尖细胞染色体的畸变率,其中 0.05 g/L Pb^{2+} + 1.0 g/L Ca^{2+} 处理 6 ~ 7 d 时与蒸馏水对照组的畸变率相近,因此认为 0.05 g/L Pb^{2+} + 1.0 g/L Ca^{2+} 处理组具有很好的去除铅毒害的作用;0.05 g/L Pb^{2+} + 0.1 g/L Ca^{2+} 处理下的畸变率与对照相比显著;0.05 g/L Pb^{2+} + 0.5 ~ 5.0 g/L Ca^{2+} 处理组的畸变率与铅对照相比达到极显著水平;虽然 0.05 g/L Pb^{2+} + 2.5 ~ 5.0 g/L Ca^{2+} 处理组与铅对照相比降低了染色体的畸变率,甚至部分低于蒸馏水处理组,但是并不能说该处理组具备去除铅毒害的作用,原因在于染色体的畸变率与有丝分裂指数存在一定关系。

2.3 铅、钙复合物对玉米根尖细胞微核率的影响

由表 3 可知:与铅对照组相比,铅、钙复合物各个处理组

收稿日期:2014-11-26

项目基金:吉林省教育厅科研项目(编号:2009270)。

作者简介:杨丽娟(1965—),女,吉林通化人,硕士,副教授,主要从事植物细胞生物学研究。E-mail:thpgjw@163.com。

表 1 不同染毒处理对玉米根尖细胞有丝分裂指数的影响

铅、钙水溶液浓度	不同处理时间的有丝分裂指数(%)			
	4 d	5 d	6 d	7 d
0	16.47 ± 0.17 **	16.03 ± 0.173 **	14.98 ± 1.47 **	12.74 ± 0.62 **
0.05 g/L Pb ²⁺	12.13 ± 0.23	10.74 ± 0.65	10.24 ± 0.82	11.02 ± 0.72
0.05 g/L Pb ²⁺ + 0.1 g/L Ca ²⁺	9.83 ± 0.39	10.29 ± 3.64	10.63 ± 0.54	10.72 ± 0.23
0.05 g/L Pb ²⁺ + 0.5 g/L Ca ²⁺	10.42 ± 0.45	10.97 ± 0.96 *	11.13 ± 0.89 *	11.38 ± 0.57 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 1.0 g/L Ca ²⁺	11.55 ± 0.37 *	10.17 ± 0.17 **	11.70 ± 0.12 **	12.05 ± 0.47 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 2.5 g/L Ca ²⁺	9.18 ± 0.41 **	9.20 ± 0.31 **	8.04 ± 0.28 **	7.01 ± 0.46 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 5.0 g/L Ca ²⁺	5.18 ± 0.37 **	6.56 ± 0.63 **	5.29 ± 0.19 **	4.96 ± 0.29 **

注：“**”“*”分别表示各处理组与单独铅处理组比较差异极显著($P < 0.01$)、显著($P < 0.05$)。表 2、表 3 同。

表 2 不同染毒处理对玉米根尖细胞染色体畸变率的影响

铅、钙水溶液浓度	不同处理时间的染色体畸变率(%)			
	4 d	5 d	6 d	7 d
0	3.27 ± 0.89 **	3.79 ± 0.83 **	4.03 ± 0.47 **	4.58 ± 0.61 **
0.05 g/L Pb ²⁺	12.03 ± 0.65	14.07 ± 1.33	15.25 ± 0.26	16.06 ± 1.35
0.05 g/L Pb ²⁺ + 0.1 g/L Ca ²⁺	10.33 ± 1.86 *	12.00 ± 1.73 *	12.67 ± 0.88 *	14.00 ± 0.58 *
0.05 g/L Pb ²⁺ + 0.5 g/L Ca ²⁺	8.00 ± 0.53 **	7.33 ± 1.45 **	9.00 ± 0.58 **	10.33 ± 0.33 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 1.0 g/L Ca ²⁺	4.67 ± 0.33 **	6.00 ± 2.00 **	4.33 ± 0.33 **	4.66 ± 1.33 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 2.5 g/L Ca ²⁺	3.33 ± 1.86 **	2.67 ± 0.67 **	2.33 ± 0.33 **	2.00 ± 1.15 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 5.0 g/L Ca ²⁺	2.00 ± 0.00 **	1.67 ± 0.33 **	1.33 ± 0.67 **	0.33 ± 0.33 **

表 3 不同染毒处理对玉米根尖细胞微核率的影响

铅、钙水溶液浓度 (g/L)	不同处理时间的微核率(‰)			
	4 d	5 d	6 d	7 d
0	1.59 ± 0.46 **	2.17 ± 0.62 **	2.47 ± 0.32 **	3.14 ± 0.86 **
0.05 g/L Pb ²⁺	12.57 ± 0.79	14.96 ± 1.23	16.95 ± 0.93	17.37 ± 0.83
0.05 g/L Pb ²⁺ + 0.1 g/L Ca ²⁺	12.23 ± 0.73	14.12 ± 0.57	15.07 ± 1.26	16.77 ± 0.49 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 0.5 g/L Ca ²⁺	4.98 ± 0.29 *	6.07 ± 0.62 *	7.73 ± 0.89 *	8.98 ± 0.61 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 1.0 g/L Ca ²⁺	2.36 ± 0.74 **	2.49 ± 1.03 **	2.70 ± 0.72 **	3.97 ± 0.24 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 2.5 g/L Ca ²⁺	2.47 ± 0.29 **	2.36 ± 0.76 **	2.07 ± 1.02 **	1.75 ± 0.33 **
0.05 g/L Pb ²⁺ + 5.0 g/L Ca ²⁺	1.36 ± 0.53 **	1.27 ± 0.33 **	1.08 ± 0.46 **	2.02 ± 0.84 **

都降低了玉米根尖细胞染色体的微核率,0.05 g/L Pb²⁺ + 0.1 g/L Ca²⁺ 处理 4、5、6 d 与对照差异不显著,处理 7 d 差异极显著;0.05 g/L Pb²⁺ + 0.5 g/L Ca²⁺ 处理 4、5、6 d 与对照达显著差异,处理 7 d 微核率差异十分显著;0.05 g/L Pb²⁺ + 1.0 g/L Ca²⁺ 处理组微核率与对照相比差异均极显著,与蒸馏水处理组相比微核率相近,因此认为 0.05 g/L Pb²⁺ + 1.0 g/L Ca²⁺ 处理组具有很好的去除铅毒害的作用;0.05 g/L Pb²⁺ + 2.5 ~ 5.0 g/L Ca²⁺ 处理组微核率与铅对照相比差异极显著,低于硝酸铅水溶液对照组,且部分低于蒸馏水对照组,但是由于染色体的微核率与染色体分裂指数有一定关系,因此并不能说明此处理组有很好的去除铅毒害的作用。

3 讨论

近年来,重金属污染越来越严重,存在范围也较广,人们也越来越关注重金属对植物根尖细胞的影响。本试验研究了铅、钙处理对玉米根尖细胞的毒性效应,试验研究表明:铅、钙复合物浓度在 0.05 g/L Pb²⁺ + 1.0 g/L Ca²⁺ 时,根尖细胞有丝分裂指数、染色体畸变率、微核指数与蒸馏水处理组接近,说明此时能有效抑制并消除铅的中毒状态;但钙的浓度继续增大,反而加重“植物中毒”效应,抑制玉米根尖生长,虽然降低了染色体的畸变率和微核率,但并不能说明有去毒害作用^[10]。

当前,许多报道已经显示高浓度 Ca²⁺ 对细胞具有毒害作用^[11-12]。宋松泉等的试验表明,Ca²⁺ 能够减少 Cd²⁺ 对种子活力和幼苗生长的抑制或消除作用^[13]。而邢树平等在研究

Ca²⁺ 对小麦根长生长影响时发现,低浓度培养液中小麦根尖生长良好,高浓度培养液中则受到抑制^[14]。本研究的钙、铅复合物对玉米根尖的影响与上述研究相似,但与张英慧研究的铅、钙及其复合物对蚕豆有丝分裂的影响^[6] 略有不符。本试验染色体滞后现象是分裂期前期进入中期时,落后的染色体未到赤道板,可能是铅破坏了纺锤丝的功能或形成,也可能是干扰了染色体某些自身的运动规律而使染色体不能及时达到赤道面^[7,15],而张英慧试验研究中发生的染色体滞后是分裂期中期进入后期时染色体断裂发生滞后^[6],这可能与试验材料种类及所用溶液浓度范围的不同相关。

铅是一种重金属污染物,进入植物细胞后可能抑制某些蛋白的形成,延长细胞周期,使细胞分裂受阻,继而使染色体出现非正常形态。钙是一种廉价的调节剂,植物的必需元素,提高钙的含量可以减少土壤对铅的吸收,从而降低铅的毒害,但钙含量过多又增加植物毒害作用,因此要合理使用。通过本试验笔者观察到了钙可能对重金属起到解毒的效果,但本试验只在细胞学这一方面进行了简单的检测,并不说明钙对重金属具备解毒效应,需要多方面大量的试验去证明。因此,深入研究钙对重金属的解毒作用,对提高植物抗性、充分利用和改造被重金属污染的土壤并保护环境,以及农耕、土壤净化等都具有重要意义。

参考文献:

[1] 肖承坤. 我国铅污染现状分析[R]. 北京:中国环境科学学会,2007.

杨亚珍, 张建民, 向雪, 等. 印度梨形孢对马铃薯产量品质和相关生理指标的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(5): 77–79.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.024

印度梨形孢对马铃薯产量品质和相关生理指标的影响

杨亚珍¹, 张建民², 向雪¹, 余成胜¹, 董社琴¹

(1. 长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434025; 2. 长江大学农学院, 湖北荆州 434025)

摘要: 设置 4 个试验组, CK 为不施任何肥料的空白对照组, A 组在幼苗期施用印度梨形孢 (*Piriformospora indica*) 菌剂, B 组在马铃薯块茎形成期施用印度梨形孢菌剂, C 组在马铃薯苗期、块茎形成期分阶段施用印度梨形孢菌剂, 探讨印度梨形孢对马铃薯生长和块茎品质的影响结果表明, 苗期、块茎形成期分阶段追施印度梨形孢菌肥可以促进马铃薯生长, 最终提高马铃薯产量。苗期和块茎形成期追施印度梨形孢菌肥, 马铃薯产量、大中薯率、淀粉含量、还原性糖含量均高于对照。施了印度梨形孢菌肥的马铃薯叶绿素含量、蛋白质含量均显著高于对照。印度梨形孢可以作为生物改良因子, 在农业生产中发挥重要作用。

关键词: 印度梨形孢; 马铃薯; 叶绿素; 产量; 品质; 生理指标

中图分类号: S532.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0077-03

蔬菜地长期过量施用化肥, 不仅会对蔬菜造成危害, 还会妨碍蔬菜对其他营养元素的吸收, 引起缺素症。因此, 蔬菜地应最大限度地施用有机肥或其他生物肥料, 代替化学肥料, 减少化学肥料残留。印度梨形孢 (*Piriformospora indica*) 是根部内生真菌, 可促进植物生长, 改善作物品质, 提高植物抗逆性, 应用前景广阔^[1]。印度梨形孢是近年发现的一种植物根部内生菌, 据报道, 印度梨形孢寄生范围广泛, 在单子叶植物、双子叶植物中均可定殖。据统计, 到目前为止约有 150 种植物可以与印度梨形孢共生, 包括农业、园艺业、药用植物和重要的经济作物^[2]。印度梨形孢的菌丝可以定殖于植物根系表面、根系表皮细胞和细胞间隙, 形成典型的梨形厚垣孢子, 能在作物根系定殖存活很长时间^[3-4]。印度梨形孢通过促进植

物对营养元素的吸收来促进植物生长并提高大麦、小麦等粮食作物产量, 提高大麦、拟南芥等植物的抗旱、抗盐能力^[5]。目前国内对印度梨形孢的研究主要集中在该菌对植物促生作用及机理方面。研究表明, 接入印度梨形孢的中国小白菜植株地上与地下部分的鲜质量和干质量与对照相比均有显著提高, 侧根数量也明显多于对照, 且能提高小白菜的抗旱性。王凤让等发现, 印度梨形孢能在番茄上定殖并促进番茄侧根形成, 促进植株生长并提高果实产量, 在正常供磷、低磷条件下, 印度梨形孢能促进番茄对磷的吸收, 增加植株体内磷含量, 提高植株对低磷逆境的抵抗能力^[6]。陈佑源指出, 印度梨形孢可促进作物生长, 改善油菜菜籽品质^[7]。我国马铃薯产量位居世界首位, 但马铃薯平均单产、品质均较低, 远不及荷兰、英国、美国、法国等国。本研究探讨印度梨形孢对马铃薯生长和块茎品质的影响, 旨在为马铃薯高产高质栽培以及菌肥开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

印度梨形孢菌种由长江大学生命科学学院提供。马铃薯

收稿日期: 2014-07-14

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(编号: 201203032); 湖北省生物菌肥工程技术研究中心项目(编号: GCZX2012042)。

作者简介: 杨亚珍(1973—), 女, 陕西西安人, 讲师, 主要从事微生物资源开发利用研究。E-mail: yyangyazhen@163.com。

通信作者: 张建民, 副教授, 主要从事植物抗虫基因工程研究。E-mail: zhanjianii@aliyun.com。

[2] 林凡华, 陈海博, 白军. 土壤环境中重金属污染危害的研究[J]. 环境科学与管理, 2007, 32(7): 74–76.

[3] Koeppe D E. Lead; Understanding the minimal toxic of lead in plants [M]//Lepp N M. Effect of heavy metal pollution on plants. London: App Sci Pub, 1981: 55–57.

[4] 郑师章, 吴千红, 王海波, 等. 普通生态学——原理、方法和应用[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1994.

[5] 张正洁, 李东红, 许增贵. 我国铅污染现状、原因及对策[J]. 环境保护科学, 2005, 31(4): 41–42, 47.

[6] 张英慧. 铅、钙及其复合物对蚕豆有丝分裂的影响[D]. 成都: 四川师范大学, 2005.

[7] 曹德菊, 汤斌. 铅、镉及其复合污染对蚕豆根尖细胞的诱变效应[J]. 激光生物学报, 2004, 13(4): 302–305.

[8] 陈金峰, 胡斌杰, 韩艳霞, 等. 钙对铜胁迫下大豆种子的解毒作用

[J]. 大豆科学, 2008, 27(6): 1072–1075.

[9] 杜荣骞. 生物统计学[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2009.

[10] Serres F J. Chemical mutagens[M]. London: Pergmon Press, 1986.

[11] 陈健, 宋松泉, 傅家瑞. 钙对玉米种子活力的作用[J]. 种子, 1995(1): 1–4.

[12] 李雯, 杨小波, 韩淑梅. 钙和温度对几种蔬菜种子萌芽率影响的研究[J]. 海南师范学院学报: 自然科学版, 2001, 14(2): 7–9.

[13] 宋松泉, 简伟军, 傅家瑞. Cd^{2+} 对玉米种子活力的影响及 Ca^{2+} 的拮抗作用[J]. 应用与环境生物学报, 1997, 3(1): 1–5.

[14] 邢树平, 李兴国, 张宪省, 等. Ca^{2+} 对小麦种根及其根毛生长发育的影响[J]. 植物学通报, 1998, 15(2): 42–46.

[15] 钱晓薇. 重铬酸钾对蚕豆根尖细胞致畸效应的研究[J]. 遗传, 2004, 26(3): 337–342.