

黑麦草对土壤中 Pb 的富集作用及耐受性研究

姚 婧, 王友保, 李文良, 陈家龙, 张俊生

(安徽师范大学 生命科学学院, 安徽 芜湖 241000)

摘 要: 通过土培实验研究了在单一因素影响下, 不同浓度的 Pb 对黑麦草种子萌发及幼苗生长的影响, 同时测定了其抗性生理指标的改变以及地上部分和根系对 Pb 的富集作用。实验结果表明, 低浓度的 Pb ($< 500 \text{ mg/kg}$) 单一污染时, 对黑麦草种子萌发及幼苗生长有促进作用。高浓度时有显著的抑制作用, 且随着浓度的升高 ($500 \sim 2\,000 \text{ mg/kg}$), 抑制作用和毒害作用都加强, 各项指标均出现显著降低。同时, 随 Pb 浓度增加, 丙二醛 (MDA) 和可溶性糖含量显著增加, 呈极显著正相关。叶片光合色素含量先增后减, 呈负相关。黑麦草对 Pb 有一定的富集能力, 当 Pb 浓度为 500 mg/kg 时, 地上部分相对累计量达到最大。

关键词: Pb 污染土壤; 黑麦草; 种子萌发; 幼苗生长

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2008)02-0017-05

中图分类号: X171.5

A Study on Pb Accumulation and Tolerance of *Lolium Perenne* L. in Soil

YAO Jing, WANG You-bao, LI Wei-liang, CHEN Jia-long, ZHANG Jun-sheng

(College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu, Anhui 241000, China)

Abstract: The experiment with specially treated soil aimed to study the effects of different concentrations of Pb on seed germination and seedling growth, and to analyze the change of eco-physiological index and Pb contents in aboveground part and roots of *Lolium perenne*. Results showed that at the lower concentration of Pb ($< 500 \text{ mg/kg}$), seed germination and seedling growth of *Lolium perenne* were improved observably, but at the higher concentration of Pb ($500 \sim 2\,000 \text{ mg/kg}$), seed germination and seedling growth were restrained distinctly. The restraining effect was intensified with the increase in Pb concentration. Meanwhile, MDA and soluble monosaccharose contents were increased with the increase in Pb concentration. Chlorophyll content of leaves appeared to increase at the beginning stage and then decreased. *Lolium perenne* had some of enrichment capability. When Pb concentration was 500 mg/kg , relative accumulation of the aboveground part reached its maximum.

Keywords: Pb contaminated soil; *Lolium perenne*; seed germination; seedling growth

随着工业化、城市化、农业现代化的发展, 重金属的需求量日益增大, 导致矿山大量开采。大量暴露的重金属元素经过各种途径进入土壤, 造成环境污染, 威胁人类健康, 影响人类生活质量。其中 Pb 是重金属污染中比较重要的一种。含 Pb 污染物通过污水灌溉, 污泥利用, 农药化肥的施用, 大气沉降等途径沉积到土壤中, 造成严重的土壤污染^[1]。更为严重的是, Pb 会通过食物链富集进入人体, 对人体造成危害。人们迫切需要找到一种方法来治理土壤中 Pb 污染。植物修复以其技术和经济上的双重优势, 成为治理土壤污染的首选方法^[2-4]。选用一些具有一定重金属耐性, 可以在污染土壤中成功生长的植物, 进

行重金属污染地的植物修复(如农田杂草和草坪草), 这样既可以修复土壤, 又可避免污染物通过食物链传递, 具有重要的生态意义和经济价值^[5]。

黑麦草是中国长江流域种植较为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。目前, 有关重金属胁迫对黑麦草及其它草坪草生长及生理影响方面的研究已经开展, 但系统研究 Pb 对黑麦草的伤害及黑麦草对 Pb 的耐性及其修复 Pb 污染土壤能力的报道很少^[6-9]。本文以黑麦草为材料研究了不同浓度的 Pb 对黑麦草种子的萌发和幼苗生长的影响, 旨在揭示 Pb 对黑麦草的伤害及黑麦草对 Pb 的耐性机制及其修复潜

收稿日期: 2007-02-06

修回日期: 2007-11-26

资助项目: 国家自然科学基金(30470270); 安徽省教育厅自然科学基金重点项目(2006KJ059A); 安徽省高校生物环境与生态安全省级重点实验室基金; 安徽省重要生物资源保护与利用研究省级重点实验室基金; 安徽省高校骨干教师基金资助项目

作者简介: 姚婧(1984-), 女(汉族), 安徽省石台县人, 硕士研究生, 主要从事污染生态学方面研究。E-mail: yaojing2004007@163.com。

通讯作者: 王友保(1974-), 男(汉族), 安徽省肥西县人, 博士, 副教授, 主要从事环境生物学与污染生态学方面研究。E-mail: wybzl@tom.com。

力,为 Pb 污染土壤的植物修复筛选适宜物种提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料与 设计

1.1.1 实验材料 供试草坪草为黑麦草(蓝天堂),购于安徽省畜牧技术推广总站草业中心。供试土壤为芜湖安徽师范大学后山园田土。土壤基本理化性

质(见表 1),均按土壤农化常规分析方法测定^[10-11](测量 3 次取平均值,下同)。

1.1.2 实验设计 将供试土壤过 100 目筛后按 200 g 每份进行称量,放入事先已经标记好的底部无孔的小花盆中,Pb(NO₃)₂ 以水溶液的形式均匀拌入土壤中,以不加 Pb(NO₃)₂ 为对照(CK),处理组 Pb²⁺ 浓度分别为 100, 200, 500, 1 000 与 2 000 mg/kg。每个花盆 30 粒黑麦草种子,实验设 3 组重复。

表 1 供试土样的基本理化性质

项目	酸碱度 pH	有机质含量/ (g·kg ⁻¹)	全氮含量/ (g·kg ⁻¹)	全磷含量/ (g·kg ⁻¹)	电导率 EC	全钾含量/ (g·kg ⁻¹)	速效钾含量/ (mg·kg ⁻¹)	全 Pb 含量/ (mg·kg ⁻¹)
含量	5.91±0.7	14.06±2.3	0.24±0.1	1.53±0.4	2.05±1.0	7.89±1.9	198.0±37.5	21.7±3.1

注:表中数据为 mean±SE;相同字母表示各处理间在 0.05 水平差异不显著,下同。

1.2 测试指标和 方法

1.2.1 种子萌发数与幼苗生长状况的观察和测量 将供试种子放在白纸上,选取个体均匀发育完好的黑麦草种子,用 0.5% 的 NaClO 溶液泡 10 min 进行消毒,先用自来水冲洗数次,再用蒸馏水冲洗 3 次,用滤纸将水吸干播种于处理好的土壤中。在 25 ℃(±1 ℃),叶表面光强不低于 40 μmol/(m²·s),每天光照 15 h 培养。种子萌发 24 h 后,每天定时观察,第 4 d 统计发芽势、第 7 d 统计发芽率,连续 15 d 观察记录其发芽情况,直至对照组种子的发芽率不再变化为止,并计算发芽指数。计算公式如下

发芽率(%) = 7 d 发芽的种子数/供试试验种子数 × 100%

发芽势(%) = 4 d 发芽种子数/供试试验种子数 × 100%

发芽指数 $G_i = \sum(G_i/D_i)$

式中: G_i ——发芽指数; G_i —— t 时间内的发芽数; D_i ——相应的发芽天数。

从对照组中种子的发芽数目不再增加时起,20 d 观察幼苗生长状况,测定幼苗总鲜重、株高、最长根长、平均根长、茎叶鲜重、根鲜重,并计算耐性指数。耐性指数 = 各处理组根系长度/对照组根系长度^[12]。所测得的数据均为各重复组的平均值。

1.2.2 叶片光合色素含量、丙二醛(MDA)含量及可溶性糖含量测定 取鲜叶 0.25 g,采用分光光度法^[13],用 95% 乙醇研磨提取后,测定 665, 649 nm, 470 nm 处吸光值,并计算叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素含量;按硫代巴比妥酸(TBA)法^[13]测定 MDA 含量;采用蒽酮比色法^[13]测定可溶性糖含量。

1.2.3 样品消化及测定 采用湿法消化法测定^[14]。将取好的植株用蒸馏水洗涤,滤纸吸干。先在 105 ℃

杀青 0.5 h,然后于 70 ℃烘干至恒重,磨碎后用浓 HNO₃—浓 H₂SO₄—HClO₄(8:1:1)联合消化,用原子吸收/火焰发射分光光度计测定 Pb 含量。测定结果以占干重表示(mg/kg)。

1.2.4 数据分析方法 实验数据用 Microsoft Excel2003 和 SPSS13.0 统计软件进行相关性和差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 Pb 污染对黑麦草种子萌发的影响

研究实验记录不同 Pb 浓度处理土壤中的黑麦草种子的萌发情况。计算得出了种子发芽率,发芽势以及发芽指数(如表 2)。

实验结果表明,黑麦草的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数总体上随 Pb 处理浓度升高呈先上升后下降的趋势。在 Pb 浓度为 100~200 mg/kg 时,黑麦草的发芽势及发芽指数与对照相比有明显升高。在 200 mg/kg 时,分别比对照高出 17.9%, 16.7% ($P < 0.05$)。随着 Pb 浓度的继续升高,黑麦草的发芽受到抑止,当 Pb 浓度为 1 000 mg/kg 和 2 000 mg/kg 时对黑麦草发芽的抑制作用明显,在 Pb 浓度为 2 000 mg/kg 较同组对照相比发芽率、发芽势以及发芽指数分别为下降了 27.0%, 86.2% 与 33.3% ($P < 0.05$)。受 Pb 影响程度为:发芽势 > 发芽指数 > 发芽率。由此可见,Pb 浓度的升高对黑麦草的种子萌发有明显的低促高抑作用。发芽率、发芽势以及发芽指数与 Pb 浓度之间呈极显著的负相关,分别为 -0.936, -0.925 与 -0.848。高浓度 Pb 胁迫下,植物体内 SOD 活性降低,种子萌发期间的呼吸代谢过程产生的超氧自由基大量累积,致使膜结构功能受损,细胞衰老和死亡。这可能是种子萌发率降低的原因之一^[15]。

2.2 Pb 污染对黑麦草幼苗生长的影响

表 3 中列出了黑麦草幼苗生长状况比较。结果表明, 黑麦草的总鲜重、茎叶鲜重、根鲜重以及株高、根长受 Pb 污染的影响均比较明显, 低浓度 Pb 处理的土壤对黑麦草幼苗的生长有促进作用, 当 Pb 浓度为 100 mg/kg 时, 黑麦草总鲜重、茎叶鲜重、最长根长、平均根长分别比对照高出了 14.8%, 11.1%, 71.7% 及 19.4% ($P < 0.05$)。

当 Pb 浓度为 200 mg/kg 时, 黑麦草的最长根长出现了峰值, 比对照组株高增加 97.0%。

随着 Pb 浓度的继续升高黑麦草幼苗的生长逐渐受到抑止, 当 Pb 浓度达到 2 000 mg/kg 时, 各项指标分别比对照降低了 52.2%, 61.1%, 33.3%, 39.1%, 82.8% 及 88.9% ($P < 0.05$), 总鲜重、茎叶鲜重、根鲜重、株高、最长根长、平均根长与 Pb 浓度的相关系数分别为 -0.954, -0.963, -0.552, -0.766, -0.799, -0.900。根系耐性指数变化趋势同生长指标相似, 与 Pb 浓度的相关系数为 -0.903, 呈极显著负相关。根系耐性指数能反映植物对重金属的耐受能力。当耐性指数 > 0.5 时, 说明该植物对重金属有较强的耐性; 当耐性指数 < 0.5 时, 表明重金属对这种植物毒害作用明显。本研究中黑麦草耐性指数在 Pb 浓度 ≤ 500 mg/kg 时均大于 0.5, 说明黑麦草对较低浓度 Pb 有一定耐性, 但当 Pb 浓度达到 1 000 mg/kg 时, 根系耐性指数急剧下降为 0.2, 说

明这种耐性有一定限度, 在高于该浓度情况下, 黑麦草受到抑制作用明显, 难以正常生长。

2.3 Pb 污染对叶片光合色素含量的影响

不同浓度 Pb 处理黑麦草叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量如图 1 所示。由图 1 可见, 当 Pb 浓度 < 200 mg/kg 时, 叶绿素 a, b 以及类胡萝卜素的含量均略有升高, 比对照多出了 39.1%, 63.4% 及 25.4% ($P < 0.05$)。

随着 Pb 浓度的增大, 当浓度 $> 1 000$ mg/kg 时, 叶绿素 a, b 以及类胡萝卜素的含量下降显著。当 Pb 浓度达到 2 000 mg/kg 时, 叶绿素 a, b 以及类胡萝卜素的含量与对照相比分别下降了 34.4%, 46.4% 及 35.5% ($P < 0.05$)。叶绿素 a, b 含量与 Pb 浓度相关系数为 -0.788, -0.708, 呈极显著负相关。类胡萝卜素的含量与 Pb 浓度相关系数为 -0.498, 呈显著负相关。该现象可能是因为低浓度 Pb 进入植物体内使叶绿体酶活性增强, 致使叶绿素合成加快, 有利于植物的各种生命活动, 对植物不会造成明显伤害, 反而对其生长发育有一定的促进作用。然而, 随着 Pb 浓度的增加, 叶绿体酶活性被抑制, 叶绿素分解加快。同时由于 Pb 局部积累较多, 与叶绿体中蛋白质上 -SH 结合或取代其中 Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} 致使叶绿素蛋白中心离子组成发生变化而失活。叶绿素含量减少影响了植物的光合作用, 阻碍了植物的正常生长发育^[16]。

表 2 不同浓度 Pb 处理对黑麦草种子萌发的影响

项目	Pb 浓度/(mg·kg ⁻¹)					
	0	100	200	500	1 000	2 000
发芽率/%	88.3±0.67 ab	92.3±0.38a	94.3±0.57a	86.5±0.29 bc	84.5±1.04c	64.5±1.32d
发芽势/%	68.7±0.88b	79.7±0.33a	81.0±1.15a	72.3±1.20b	63.3±3.28c	9.5±0.46d
发芽指数/%	18.6±0.30c	20.4±0.27b	21.7±0.66a	19.8±0.12b	18.2±0.12bc	12.4±0.57d

表 3 不同浓度 Pb 处理对黑麦草生长的影响

项目	Pb 浓度/(mg·kg ⁻¹)					
	0	100	200	500	1 000	2 000
总鲜重/g	2.3±0.01	2.7±0.04a	2.6±0.08a	2.3±0.11b	1.8±0.03c	1.1±0.02d
茎叶鲜重/g	1.8±0.07 bc	2.0±0.05a	2.0±0.05 ab	1.8±0.03c	1.3±0.05d	0.7±0.03e
根鲜重/g	0.3±0.07 ab	0.4±0.07a	0.4±0.06a	0.3±0.11 ab	0.3±0.03 ab	0.2±0.04b
株高/cm	28.4±1.93a	27.2±1.08a	24.3±0.67 ab	20.0±0.65b	20.9±0.54b	17.3±0.21c
最长根长/cm	9.9±0.90d	17.0±0.19b	19.5±0.35a	12.7±1.52c	4.1±0.78e	1.7±0.22e
平均根长/cm	7.2±0.44b	8.6±0.26a	8.6±0.64a	6.5±0.58b	1.7±0.26c	0.8±0.08c
耐性指数	1.0±0.00b	1.2±0.04a	1.2±0.09a	0.9±0.08b	0.2±0.04c	0.1±0.01c

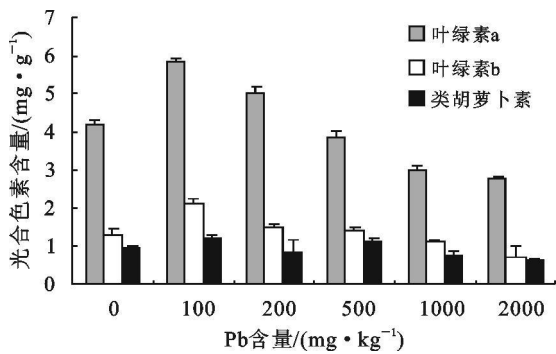


图 1 Pb 污染对黑麦草叶片色素含量的影响
($n=3$, 均数±标准误)

丙二醛(malondialdehyde MDA)是膜脂过氧化作用的重要产物之一,它可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联,形成不溶性的化合物(脂褐素)沉积,干扰细胞的正常生命活动。它通常被利用作为脂质过氧化指标,表示细胞膜过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。植物为了适应逆境条件,也会主动积累一些可溶性糖,降低渗透势和冰点,以适应外界环境条件的变化^[17]。黑麦草叶片的 MDA 和可溶性糖含量随 Pb 浓度增加出现了逐渐升高的趋势(图 2),呈极显著正相关,相关系数分别为 0.931 和 0.964。低浓度 Pb 处理(100~200 mg/kg)时 MDA 和可溶性糖含量与对照相比略微下降,但未达到显著水平。当 Pb 浓度 > 1 000 mg/kg 时,MDA 和可溶性糖含量与对照相比均有显著升高。在 Pb 污染胁迫下,MDA 在植物体内积累,使植物器官膜脂过氧化作用增强,造成膜透性增大,降低了植株的抗逆能力。Pb 处理黑麦草可溶性糖含量增加的原因可能是叶片内不溶性糖降解成低分子量可溶性糖以及光合产物运输受阻的结果,也可能是葡萄糖酶、蔗糖酶活性异常所致^[16-18]。

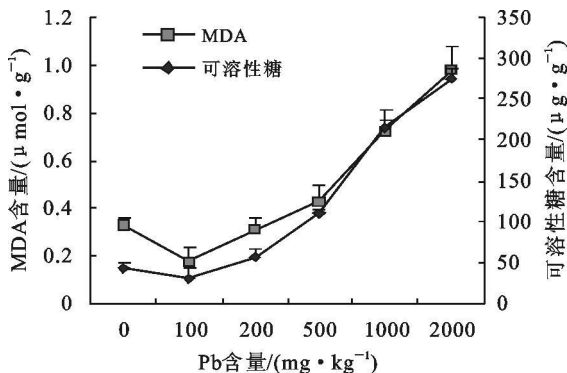


图 2 Pb 处理对黑麦草 MDA 及可溶性糖含量的影响 ($n=3$, 均数±标准误)

2.4 黑麦草地上部分与根系中 Pb 的富集

实验最后通过对烘干的样品进行消化,可以利用应用原子吸收/火焰发射分光光度计测得黑麦草植株体内的 Pb 浓度(如表 4)。由表 4 可知随着 Pb 浓度

的增加,地上部分和根中 Pb 的积累也呈上升趋势,在最高浓度时,黑麦草地上部分和根中 Pb 含量分别是低浓度 100 mg/kg 的 9.8, 11.3 倍。并且,黑麦草根对 Pb 的吸收大于地上部分。植物重金属积累能力是决定该植物修复能力的重要因素。植物地上部分生物量与地上部分金属浓度的乘积即为金属累积量^[19]。本研究中,在 Pb 浓度为 100, 500 与 2 000 mg/kg 时,黑麦草地上部分 Pb 相对累积量都高于 50%,说明黑麦草对土壤中 Pb 有较好的清除能力,一定程度上具有修复 Pb 污染土壤能力。

表 4 Pb 处理下黑麦草地上部分和根系中 Pb 含量

Pb 浓度/ (mg · kg ⁻¹)	地上部 Pb/ (mg · kg ⁻¹)	根 Pb/ (mg · kg ⁻¹)	地上部分相对 累积量
0	2.4±1.27d	16.5±3.16d	0.7±0.33a
100	12.5±1.46c	83.3±10.10c	0.5±0.23a
200	18.1±1.62c	140.6±18.91b	0.3±0.14a
500	32.4±4.94bc	263.6±6.38b	0.7±0.24a
1 000	46.1±12.46b	701.2±103.34a	0.3±0.12a
2 000	122.5±8.16a	942.9±198.50a	0.5±0.21a

3 结论

低浓度 Pb (< 500 mg/kg) 对黑麦草生理代谢的伤害较小,且对其种子萌发及幼苗生长有一定的促进作用。高浓度 Pb (> 1000 mg/kg) 使植物器官膜脂过氧化作用增强,植株体内 MDA 含量增加。同时光合色素受到破坏,大大降低了植物光合作用水平,加速组织、细胞衰老,甚至死亡,严重阻碍了植物的正常生长发育。另外黑麦草生理活动紊乱,使其体内可溶性糖含量增高,这也可能是幼苗对重金属胁迫环境的一种生理反应。黑麦草地上部分和根系中 Pb 含量随着 Pb 浓度的增加也呈上升趋势,并且根部 Pb 含量大于地上部分 Pb 含量。根系直接暴露在 Pb 污染环境中,受 Pb 抑制程度大于地上部分,生物量下降显著。虽然地上部分 Pb 含量小于根系,但其生物量较大,仍能积累一定量的重金属。本次研究表明,黑麦草对 Pb 胁迫有一定的耐性,并且对土壤中 Pb 有较好的清除作用,在修复 Pb 污染土壤的过程中应用前景良好。

[参 考 文 献]

- [1] 伍钧,孟晓霞,李昆. 铅污染土壤的植物修复研究进展[J]. 土壤, 2005, 37(3): 258—264.
- [2] WANG Haiyan, SUN Xiangyang. Studies on heavy metal pollution in soil—plant system: A review [J]. Forestry Studies in China, 2003, 5(1): 55—62.
- [3] Baker A J M, McGrath S P, et al. The possibility of in

- situ heavy metal decontamination of polluted soil using crops of metal accumulating plants. *Resource, Conservation and Recycling*, 1994, 11: 41—49.
- [4] LIU Yunguo, ZHANG Huizhi, ZENG Guangming, et al. Heavy metal accumulation in plants on Mn mine tailings [J]. *Pedosphere*, 2006, 16(1): 131—136.
- [5] 魏树和, 周启星, 刘睿. 重金属污染土壤修复中杂草资源的利用[J]. *自然资源学报*, 2005, 20(3): 432—440.
- [6] 多立安, 高玉葆, 赵树兰. 重金属递进胁迫对黑麦草初期生长的影响[J]. *植物研究*, 2006, 26(1): 117—122.
- [7] DUO Lian, ZHAO Shulan, GAO Yubao. Heavy metal control in domestic rubbish by source screening and suitability of nutrient elements as turfgrass medium [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2005, 12(1): 1—4.
- [8] 王慧忠, 张新全, 何翠屏. Pb 对匍匐翦股颖根系超氧化物歧化酶活性的影响[J]. *农村环境科学学报*, 2006, 25(3): 644—647.
- [9] 王艳, 辛士刚, 马莲菊, 等. 翦股颖和高羊茅对铜、铅吸收及耐受性[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(3): 625—630.
- [10] 土壤环境容量协作组. 中国主要类型土壤 Cd, Pb, Cu 和 As 的主要生态学指标和临界含量[J]. *环境科学*, 1991, 12(4): 12—19.
- [11] 南京农学院主编. 土壤农化分析[M]. 北京: 农业出版社, 1980: 119—121.
- [12] 田胜尼, 刘登义, 彭少麟, 等. 香根草和鹅观草对 Cu, Pb, Zn 及其复合重金属的耐性研究[J]. *生物学杂志*, 2004, 21(3): 15—19.
- [13] 陈建勋. 植物生理实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002: 119—129.
- [14] 郭水良, 黄朝表, 边媛, 等. 金华市郊杂草对土壤重金属元素的吸收与富集作用(I): 6 种重金属在杂草和土壤中的含量分析[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2002, 3(1): 22—29.
- [15] 刘明美, 李建农, 沈益新. Pb²⁺ 污染对多花黑麦草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *草业科学*, 2007, 24(1): 52—54.
- [16] 严密, 王立成, 杨红飞, 等. 铅对光头稗幼苗生长的影响及其抗性生理研究[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2006, 24(5): 419—424.
- [17] 邵云, 李春喜, 李向力, 等. 灌浆期 Cd, Cu, Zn 胁迫对小麦旗叶生理活性的影响[J]. *西北农业学报*, 2006, 15(4): 108—111.
- [18] 丁海东, 齐乃敏, 朱为民, 等. 镉、锌胁迫对番茄幼苗生长及其脯氨酸与谷光甘肽含量的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2006, 14(2): 53—55.
- [19] 李华, 骆永明, 宋静. 不同铜水平下海洲香薷的生理特性和铜积累研究[J]. *土壤*, 2002(4): 225—228.