

氯苯胁迫对小麦种子发芽和幼苗生长的影响

刘 宛, 宋玉芳, 周启星, 李培军, 孙铁珩, 姚德明

(中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态系统痕量物质生态过程开放实验室, 辽宁 沈阳 110015)

摘 要: 在实验室人工控制条件下研究了不同浓度 1,2,4 - 三氯苯胁迫对小麦种子萌发和幼苗生长的影响。结果表明, 50—250 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 浓度胁迫对小麦种子的发芽率影响甚小, 但延迟小麦种子的出苗速率; 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 浓度胁迫使种子的发芽率降低至 57.9%。在正常条件下, 小麦种子露白后第 4 d α - 淀粉酶活性达到最大值, 第 12 d 以后迅速下降; 在 150—200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 浓度胁迫下, 小麦种子内 α - 淀粉酶活性的峰值下降, 贮藏物质的转化受阻; 幼苗的生长受抑, 干重、鲜重都有一定程度的下降, 受害程度随着 1,2,4 - 三氯苯浓度的增加而加重, 且随着胁迫时间的延长而有所减弱。根部比地上部对 1,2,4 - 三氯苯胁迫较为敏感。

关键词: 氯苯胁迫; 发芽率; 幼苗生长; 小麦

中图分类号: X503.231 文献标识码: A 文章编号: 1000 - 0267(2001)02 - 0065 - 04

Effect of Chlorobenzene – Stress on Seed Germination and Seedling Growth of Wheat

LIU Wan, SONG Yu-fang, ZHOU Qi-xin, LI Pei-jun, SUN Tie-heng, YAO De-ming

(Laboratory of Ecological Processes of Trace Substances in Terrestrial Ecosystems, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110015 China)

Abstract: Effect of different concentrations of trichlorobenzene – stress on seed emergence and seedling growth of wheat was studied. The results indicated that the concentrations with a range of 50—250 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ of trichlorobenzene – stress had no effect on seed germination, but delayed emergence rate. The former was decreased by 57.9% under 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ concentration of trichlorobenzene – stress, however. The highest activity of amylase was measured on the 4th day after seed – emergence of wheat in normal condition but decreased drastically after 12 days. Under 150—200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ different concentrations of trichlorobenzene – stress, the activity of amylase in wheat seeds always decreased significantly, while the transformation of stored substances in seeds was inhibited. Seedlings growth, fresh weight (FW), dry weight (DW) and the ratio of FW/DW decreased to some extent. Damaged – level of wheat seedlings was increased along with the increase of trichlorobenzene concentrations, but was decreased partially with trichlorobenzene – stress time. It has also been found that roots were more sensitive to trichlorobenzene – stress than shoots.

Keywords: trichlorobenzene – stress ; germination rate; seedling growth; wheat

氯苯、1,2 - 二氯苯、1,4 - 二氯苯和 1,2,4 - 三氯苯等作为生产苯胺、染料、农药和医药的重要原料和中间体在工业、农业、医药生产中广泛应用。它们以未经适当处理的废水、垃圾、废气和废渣等多种形式进入环境,造成不同环境介质的污染。该类化合物已被列入美国及欧共体环境保护机构所确定的优先控制污染物黑名单。我国该类化合物污染也相当严重,在沈阳等大城市及其周边地区的土壤及地下水中检测浓度均较高^[1],导致农产品中该类化合物的积

累,因此,研究这些污染物对生态系统可能带来的负面影响及其机理具有重要的理论和现实意义。

由于有机氯类化合物强烈的致癌、致畸、致突变作用^[2],因此,国内外对该类化合物的研究也相当活跃,主要集中研究了它们的生态效应及其在生物,尤其是水生生物体内的富集作用及其引起的毒性毒理机制^[3];对于氯苯类化合物的研究以往大多集中于其理化性质、生物学特性及在水生^[4]、陆生生态系统中^[5]的环境行为,但其对高等植物的生态效应及毒性机理研究甚少。本文初步研究了 1,2,4 - 三氯苯对小麦种子萌发及幼苗生长的影响,以探讨 1,2,4 - 三氯苯胁迫对小麦幼苗的早期影响。

收稿日期: 2000 - 07 - 10

基金项目:国家自然科学基金资助项目(29877028)

作者简介:刘 宛(1963—),女,中国科学院陆地生态过程痕量物质生态过程开放实验室博士,主要从事作物生理、污染生态及毒理学方面研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小麦 (*Triticum aestivum*) 品种为辽春 10 号。1, 2, 4-三氯苯纯度为 99.5%, 购自 Fluka ChemieAG 公司。所用土壤采自中国科学院沈阳生态试验站大豆小区(0—20 cm 耕层), 其有机质含量为 0.93%, 全 N 含量 0.12%。用少量丙酮溶解不同浓度的 1,2,4-三氯苯加水 5 mL 摇匀后直接投配至一定量的土壤中, 混匀;供试小麦种子经 0.1%的 HgCl₂表面消毒 5 min, 去离子水冲洗干净并用滤纸擦干后, 分别播于 0、50、100、150、200、250、300 μg · g⁻¹(风干土壤)的培养皿中发芽, 以蒸馏水和丙酮为对照;在丙酮对照和每一处理中,丙酮的最终浓度为 100 g 土壤中含 0.53 mL。小麦发芽及幼苗生长试验均在 22 ℃下进行。于小麦种子露白后 0、4、8、12、16 d 分别测定 α-淀粉酶活性, 种子及植株的干重、鲜重。每一处理重复 3 次, 所有试验重复 2—3 次。

1.2 测定指标及方法

当对照组种子初生根长达 20 mm 时, 发芽试验结束,以初生根达 5 mm 作为发芽标准^[6]。测定植株干重时, 材料在 105 ℃下烘 15 min(以快速杀死植物细胞), 再在 70 ℃下烘至恒重, 在干燥器里冷却至室温后称重。α-淀粉酶活性根据单位时间内淀粉分解产生的麦芽糖来计算^[7]。

2 结果与分析

2.1 1, 2, 4-三氯苯胁迫对小麦种子发芽率及出苗率的影响

由表 1 可见, 250 μg · g⁻¹ 1, 2, 4-三氯苯胁迫对小麦种子的发芽率影响甚小, 当 1, 2, 4-三氯苯浓度增至 300 μg · g⁻¹时, 其发芽率仅为 57.9%。虽然 250 μg · g⁻¹ 1, 2, 4-三氯苯浓度下小麦总发芽率受到的影响不大,但是明显抑制小麦出苗率, 该浓度 1, 2, 4-三氯苯比 50 μg · g⁻¹ 1,2,4-三氯苯推迟出苗 2 d, 且出苗整齐度亦低于后者(表 1)。说明小麦种子的发芽率受 1, 2, 4-三氯苯浓度(50—250 μg · g⁻¹)影响较小, 但此浓度范围具有延迟小麦种子出苗率的作

表 1 1,2,4-三氯苯胁迫对小麦种子发芽率及出苗率的影响(%)

Table 1 Effects of 1,2,4-trichlorobenzene-stress on seed bud and seedling rates of wheat

指 标	1,2,4-三氯苯浓度/μg · g ⁻¹						
	0	50	100	150	200	250	300
发芽率	95	97.5	95	95	95	97.5	57.9
露白后第2 d出苗率	34.1	18.2	3.5	0	0	0	0
露白后第3 d出苗率	95.9	90.6	64.3	57.1	40.5	30.8	13.3
露白后第4 d出苗率	95.9	95.7	93.3	93.5	79.9	68.1	33.7
露白后第5 d出苗率	95.9	95.7	93.3	93.5	95.1	95.0	45.2

用,且随着 1,2,4-三氯苯浓度的增加而加重。

2.2 1, 2, 4-三氯苯对小麦萌发期间根和芽生长的影响

在小麦种子萌发期间, 50 和 100 μg · g⁻¹ 1, 2, 4-三氯苯已明显影响种子初生根伸长, 种子露白后 1 d, 根的长度分别为对照的 74.9%、66.4%, 地上部生长高度仍为 91.1%—94.6%; 150 μg · g⁻¹ 1, 2, 4-三氯苯下, 根和芽的长度已分别降至对照的 49.8% 和 87.5%(表 2)。说明小麦根部对 1,2,4-三氯苯胁迫的敏感性大于地上部, 亦说明 1,2,4-三氯苯对小麦幼苗的抑制作用随着浓度的增大而加重。随着胁迫时间的延长, 1,2,4-三氯苯对小麦幼苗的抑制作用有所减弱(表 2)。这可能是由于 1,2,4-三氯苯的浓度因微生物降解而降低, 因此其抑制作用减弱, 植株抗性有所增强。

2.3 1, 2, 4-三氯苯对种子内贮藏物质转化及幼苗

生长的影响

图 1 表明, 1, 2, 4-三氯苯胁迫下, 小麦种子内贮藏

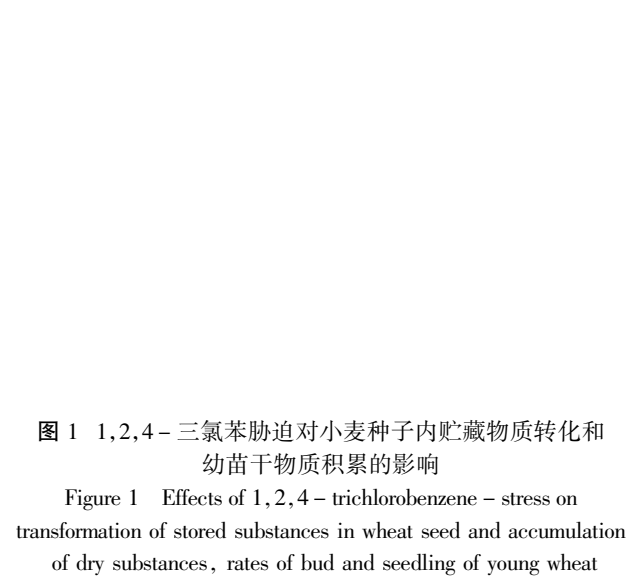


图 1 1,2,4-三氯苯胁迫对小麦种子内贮藏物质转化和幼苗干物质积累的影响
Figure 1 Effects of 1,2,4-trichlorobenzene-stress on transformation of stored substances in wheat seed and accumulation of dry substances, rates of bud and seedling of young wheat

表 2 1,2,4 – 三氯苯胁迫对小麦萌发期间根和芽生长的影响

Table 2 Effects of 1,2,4 – trichlorobenzene – stress on growth of both root and bud during period of wheat sprouting

1,2,4 – 三氯苯浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$		露白后天数/d			
		1	4	8	12
0	根长/cm	2.23(100)	6.17(100)	10.67(100)	14.13(100)
	苗高/cm	0.56(100)	3.84(100)	11.83(100)	13.94(100)
50	根长/cm	1.67(74.9)	5.01(81.2)	9.41(88.2)	12.84(90.9)
	苗高/cm	0.53(94.6)	3.64(94.8)	11.07(93.5)	13.38(96.0)
100	根长/cm	1.48(66.4)	4.29(69.5)	7.73(72.4)	11.60(82.1)
	苗高/cm	0.51(91.1)	3.54(92.2)	11.03(93.2)	13.13(94.2)
150	根长/cm	1.11(49.8)	3.52(57.1)	6.76(63.4)	10.72(75.9)
	苗高/cm	0.49(87.5)	3.38(88.0)	10.61(89.7)	12.56(90.1)
200	根长/cm	0.87(39.0)	3.06(49.6)	5.67(53.1)	9.06(64.1)
	苗高/cm	0.44(78.6)	2.99(77.9)	9.37(79.2)	11.88(85.2)
250	根长/cm	0.68(30.5)	2.42(39.2)	4.84(45.4)	7.31(51.7)
	苗高/cm	0.31(55.4)	2.30(59.9)	7.30(61.7)	8.16(69.0)

注:括号内为相对值。

表 3 不同浓度 1,2,4 – 三氯苯胁迫对小麦不同生理指标的影响

Table 3 Effects of 1,2,4 – trichlorobenzene – stress on various physiological indicators for wheat

指 标	1,2,4 – 三氯苯浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			
	0	100	150	200
α – 淀粉酶活性/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$	27.5	25.0	15.7	12.8
种子内贮藏物质残留量/ $\text{mgDW} \cdot \text{粒}^{-1}$	18.4	19.2	21.5	23.8
单株干重/ $\text{mgDW} \cdot \text{株}^{-1}$	10.7	9.2	7.9	6.2

注: 1,2,4 – 三氯苯处理 4 d 后测定。

藏物质转化受抑制;胁迫强度增加,抑制程度增大(表 3)。种子内贮藏物质除了用于呼吸消耗外,大多转化为幼苗的物质积累。种子露白后不同时间(0、4、8、12 d),测定小麦干重、鲜重的结果表明,不同浓度的 1,2,4 – 三氯苯胁迫下,幼苗鲜重、干重都比对照少(图 1,表 3),而且幼苗地上部的鲜重和干重的降低都比根系小,说明幼苗根系对氯苯胁迫的反应比地上部敏感,与表 2 测定结果一致。另外,从表 4 可以看出,不同 1,2,4 – 三氯苯浓度下,幼苗地上部和根部的鲜重下降慢于干重,说明植株组织并未出现生理缺水,

表 4 1,2,4 – 三氯苯处理对小麦幼苗地上部
及根部鲜重、干重的影响

Table 4 Effects of 1,2,4 – trichlorobenzene – treatment on fresh and dry weights, respectively, of aboveground parts of young wheat seedling				
1,2,4 – 三氯苯 浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	地上部		根部	
	鲜重	干重	鲜重	干重
0	104.7(100)	12.5(100)	92.4(100)	10.7(100)
50	102.1(97.5)	11.7(93.6)	89.9(96.4)	9.9(92.5)
100	92.8(88.6)	10.3(82.4)	79.5(86.0)	8.4(78.4)
150	83.1(79.4)	8.9(71.2)	67.4(73.4)	5.9(55.1)
200	74.2(70.9)	8.5(68.0)	62.0(67.1)	5.4(50.5)
250	68.2(65.1)	8.1(64.8)	55.4(60.0)	4.9(45.8)

注: 1,2,4 – 三氯苯处理第 12 d 后测定。括弧内为相对值。

而植株生长下降可能主要起因于 1,2,4 – 三氯苯对细胞的毒害作用。

2.4 α – 淀粉酶活性的变化

在正常条件下,种子露白时,小麦 α – 淀粉酶活性较低;露白后第 4 d α – 淀粉酶活性达到最大值,第 12 d 以后,因种子内贮藏物质将消耗完毕而迅速下降。用浓度为 $150 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 的 1,2,4 – 三氯苯处理,小麦种子 α – 淀粉酶活性的峰值下降,且一直处于抑制状态(图 2);随着 1,2,4 – 三氯苯胁迫强度的增加, α – 淀粉酶活性降低(表 3)。

图 2 1,2,4 – 三氯苯胁迫下小麦种子淀粉酶活性的变化

Figure 2 Change of activity of amylase in wheat seed under 1,2,4 –
trichlorobenzene – stress

3 讨论

高等植物是生态系统的重要组成部分。近20年来,有不少研究者利用高等植物作为指示生物进行环境风险评价^[8],由植物毒性试验来预测化合物的潜在毒性影响已引起许多国际或国家权威部门的注意^[9]。Gong P.等^[10]研究了矿物油污染胁迫对水芹、萝卜、矮菜豆种子萌发及幼苗生长的影响,结果表明幼苗生长比种子发芽率对矿物油胁迫较为敏感。本文结果表明,在小麦种子萌发期间,50—250 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 1,2,4-三氯苯处理1d后(即露白后1d),种子发芽率仍为95%以上,但初生根的长度仅为对照的74.9%—30.5%;此浓度1,2,4-三氯苯处理12d后,初生根的长度为对照的90.9%—51.7%,地上部及根部干重分别为对照的93.6%—64.8%和92.5%—45.8%。说明在1,2,4-三氯苯胁迫下,种子发芽率是一个相对不敏感的指标,与Gong P.等^[10]研究结果一致,而初生根伸长最为敏感,植株干重亦系较为敏感指标;地上部与根部相比,后者较为敏感,与高吉喜等^[11]研究结果一致。

谷类作物种子中,淀粉含量约占干物重的80%。 α -淀粉酶是分解种子中贮藏淀粉的主要酶类,它在种子开始萌发时出现,有萌发淀粉酶之称。 α -淀粉酶活性强弱与小麦种子萌发速率及其随后的生长发育有密切关系。汤佩松等^[12]研究了氧分压对水稻种子中贮藏物质的转化和器官形成的影响,指出在缺氧胁迫下,种子中贮藏物质的降解明显降低,被降解的贮藏物质用于建成幼苗新器官的转化效率只及有氧条件下的40%左右。本试验结果表明,正常条件下,小麦种子 α -淀粉酶活性较高,且高峰值出现早,出苗快而整齐;但在1,2,4-三氯苯胁迫下,小麦种子贮藏物质的降解受阻,小麦的抑制效应随1,2,4-三氯苯胁迫强度的增加而加重。这一结果与1,2,4-三氯苯污染胁迫对 α -淀粉酶活性的抑制作用相一致(图2),也与1,2,4-三氯苯胁迫下种子出苗推迟和幼苗生长受抑制的现象相一致。说明NaCl胁迫^[13]、淹水胁迫^[12]和1,2,4-三氯苯胁迫抑制种子萌发效应有相似之处。 α -淀粉酶活性降低是种子内贮藏物质转化受阻的主要原因之一。Robertson等^[14]指出,干旱胁迫和外源ABA均能诱导大麦胚或幼苗中 α -淀粉

酶阻遏蛋白的产生,GA又抑制这种阻遏蛋白的形成。1,2,4-三氯苯胁迫下小麦幼苗内是否也产生了 α -淀粉酶的阻遏蛋白,尚待研究。种子内贮藏物质除了淀粉外,还有蛋白质、脂肪和其他碳水化合物;在淀粉分解过程中,又有 β -淀粉酶等其他水解酶类的参与。1,2,4-三氯苯胁迫下小麦体内这些物质和酶类的变化规律如何,有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 张丽珊. 慢速渗滤土地处理系统对沈阳西部城市污水有机污染物净化效果的研究[J]. 应用生态学报, 1992, 3(4): 355—363.
- [2] 胡国臣, 张虹. 氯代有机物的生物处理前景[J]. 上海环境科学, 2000, 19(4): 180—182.
- [3] 徐晓白, 戴树桂, 黄玉瑶. 典型化学污染物在环境中的变化及生态效应[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 55—165.
- [4] Kong F X, W Hu, Y Liu. Molecular structure and biochemical toxicity of four halogeno-benzenes on the unicellular green alga[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 40: 105—111.
- [5] He Y W, et al. Fate of 1,2,4-trichlorobenzene in soil-rice paddy system[J]. *Chemosphere*, 1996, 32(7): 1381—1389.
- [6] ISO(International Organization for Standardization). Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora, Part 2: Effect of chemicals on the emergence and growth of higher plants. ISO 11269-2, 15 December, 1995 (1st edition).
- [7] 山东农学院, 西北农学院. 植物生理学实验指导[M]. 济南: 山东科技出版社, 1980. 33—37.
- [8] OECD(Organization for Economic Cooperation and Development). OECD guidelines for test of chemecals, No.208, Terrestrial Plants, Growth Test, Paris, France, April 1984.
- [9] Fletcher J. Keynote speech: a brief overview of plant toxicity testing. In: J.W.Gorsuch, W.R.Lower, W.Wang, and M.A.Lewis(eds). *Plants for Toxicity Assessment*: 2nd volume. ASTM STP 115, American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 5—11.
- [10] Gong P, Wilke B M, Strozzi E. Higher plant seed germination and early seedling growth test. In: *Proceedings of the international symposium on soil human and environment interactions*. May 4—11, 1997, Nanjing, China.
- [11] 高吉喜, 沈英娃. 中国生态毒理学研究现状[J]. 环境科学研究, 1997, 10(3): 54—58.
- [12] 汤佩松, 等. 植物呼吸及代谢的研究(Ⅲ)[J]. 植物学报, 1959, 8(3): 188—200.
- [13] 章文华, 刘友良. 盐胁迫对大、小麦种子萌发时两种酶活性的影响[J]. 南京农业大学学报, 1991, 14(4): 18—22.
- [14] Robertson M, et al. Induction of α -amylase inhibitor synthesis in barley embryos and young seedlings by abscisic acid and dehydration stress[J]. *Plant Physiol*, 1989, 90: 415—420.