

硫酸锌对黑麦草种子萌发的影响

于凤鸣¹, 刘玉艳², 张海荣¹

(1. 河北科技师范学院 生命科技学院, 河北 昌黎 066600; 2. 河北科技师范学院 园艺科技学院, 河北 昌黎 066600)

摘要:研究了不同浓度外源硫酸锌处理对黑麦草种子发芽率、发芽势、蛋白质、还原糖和总糖含量及淀粉酶活力的影响。结果表明: ZnSO_4 处理可以延缓黑麦草种子的萌发, 使其发芽势降低, 使种子萌发整齐度下降; 促进黑麦草种子的 α -淀粉酶活力, 但显著降低淀粉酶总活力; 抑制黑麦草发芽种子中的蛋白质和还原糖含量, 但对总糖含量影响不明显。

关键词:硫酸锌; 黑麦草; 种子萌发

中图分类号: Q 945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)04-0085-04

重金属是环境的主要污染源之一。土壤中的重金属污染和防治一直是国际上研究的难点和热点。目前, 土壤重金属污染的治理技术主要有物理法、化学法和生物法。但是采用物理方法或化学方法治理土壤重金属污染, 不仅成本昂贵, 而且还会破坏土壤结构以及土壤微生物, 造成“二次污染”^[1]。而植物修复技术是一项新兴的绿色生物技术, 可以在不破坏土壤生态环境、保持土壤结构和微生物活性的情况下, 修复被污染的土壤^[2]。

Zn 是植物生长的必需微量元素之一, 也是某些酶的活化剂, 缺 Zn 则植物的株型和生长习性发生改变。但当 Zn 超过一定含量时, 会使植物代谢过程发生紊乱, 生长发育受阻, 甚至导致植物的死亡。而有些植物体内具有某些特定生理机制, 使植物能生存于较高浓度含量的重金属中而不受损害, 这种特性就是植物的耐受性^[3-4]。

目前不同学者已经开展了重金属对多种植物的伤害效应、伤害机理、抗性机理等方面的研究, 发现了在自然物种中存在一些对重金属具有耐性的种类, 并由此筛选出 400 多种重金属富集植物。同时, 由于草坪植物不直接进入人类食物链, 具有较高的经济、生态和美学价值, 所以越来越多的受到植物修复学者的关注。

黑麦草为 1 a 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^[5]。该试验以黑麦草为研究对象, 探讨了重金属 Zn 对其种子萌发及生理的影响。

1 材料与方法

试验于 2009 年 11 月至 2010 年 1 月在河北科技师范学院生命科技学院植物生理生化实验室和园艺科技学院园林实验室进行。

1.1 试验材料

黑麦草(贵宾)种子从国家林业局林木种子公司购买; ZnSO_4 为分析纯试剂。

1.2 试验方法

选取均匀一致饱满的种子, 用 3% 的高锰酸钾溶液消毒 15 min 后, 用自来水冲洗 3 次, 再用蒸馏水冲洗, 将其整齐地排列在铺有 2 层滤纸的培养皿中, 每皿 50 粒, 加入不同浓度的 ZnSO_4 溶液(100、200、400、800 mg/L, 用蒸馏水配制), 对照用蒸馏水培养, 置于 26℃ 恒温培养箱中, 用保鲜膜减少水分的蒸发。3 次重复, 并随时去除坏死种子, 从第 2 天开始每天记录种子萌发数量, 到对照种子不再萌发为止。计算种子发芽率及发芽势。发芽率 = 供试种子的发芽数 / 供试种子数 $\times 100\%$ ^[6]。发芽势: 发芽种子数达到高峰时, 正常发芽种子的总数与供试种子总数的百分比^[7]。

1.3 生理指标的测定

按上述方法置种, 每皿约 1 g 种子。每处理 5 d, 每天取样测定, 3 次重复, 取样时包括萌发种子的胚芽和根。因黑麦草发芽较快, 置种后第 4 天时发芽率已达 90% 以上, 停止试验。

可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法(单位: mg/g)^[8]。还原糖和可溶性总糖含量的测定采用 3,5-二硝基水杨酸法, 以样品中还原糖和总糖的百分含量表示^[8]。淀粉酶活力的测定采用 3,5-二硝基水杨酸法, 以酶作用下麦芽糖的产量来表示淀粉酶活力的大小^[8]。试验数据用 DPS 统计分析软件进行显著性检验(F 检验)。

第一作者简介: 于凤鸣(1966-), 男, 博士, 教授, 现主要从事植物抗性生理的研究工作。E-mail: yfm8371@163.com。

基金项目: 河北省教育厅资助项目(2008445)。

收稿日期: 2010-12-14

2 结果与分析

2.1 Zn 胁迫对黑麦草种子萌发的影响

种子发芽是植物生长发育的起点,较高的发芽势和发芽率是培育壮苗的基础,同时种子的发芽势和发芽率也是检测种子质量好坏的重要指标^[9]。因此,测定了 Zn 胁迫对黑麦草种子发芽率和发芽势的影响。

2.1.1 Zn 胁迫对黑麦草种子发芽率的影响 由表 1 可看出,ZnSO₄ 处理与对照黑麦草种子的发芽趋势基本一致,在置种后种子陆续萌发,发芽率逐渐升高,在置种后第 5 天达到最高。ZnSO₄ 处理对黑麦草种子的发芽率呈现不同程度的抑制作用,且随 ZnSO₄ 浓度的升高,抑制作用增强。其中 800 mg/L 的 ZnSO₄ 处理除置种后第 1 天外,其它各时期的发芽率均显著或极显著低于对照。试验结束时,100、200 和 400 mg/L 处理的黑麦草发芽率与对照无显著差异,800 mg/L 处理的发芽率显著低于对照。

表 1 不同浓度 ZnSO₄ 对黑麦草种子发芽率的影响

| 处理 /mg · L ⁻¹ | 12 月 7 日 | 12 月 8 日 | 12 月 9 日 | 12 月 10 日 | 12 月 11 日 |
|-----------------------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| 0 | 2.67abA | 64.00aA | 82.67aA | 88.67aA | 92.00aA |
| 100 | 2.33abA | 51.33aA | 67.33bAB | 75.33bA | 80.00abA |
| 200 | 2.00abA | 54.00aA | 85.33aA | 88.00aA | 92.67aA |
| 400 | 0.67abA | 22.00bB | 67.33bcAB | 80.67abA | 84.67abA |
| 800 | 0.00bA | 11.33bB | 53.33bdB | 72.67bA | 76.00bA |

注:大、小写字母分别表示差异达 0.01、0.05 显著水平,下同。

2.1.2 Zn 胁迫对黑麦草种子发芽势的影响 由表 2 可看出,不同浓度 ZnSO₄ 处理均降低了黑麦草种子发芽势,且随浓度的升高,抑制作用增强。低浓度(100、200 mg/L)的处理作用不显著,400、800 mg/L 的处理极显著降低了黑麦草种子的发芽势。种子发芽势高,表示种子活力强,发芽整齐,出苗一致。说明高浓度的 Zn 处理影响了黑麦草种子萌发的整齐度。

表 2 不同浓度 ZnSO₄ 处理下黑麦草种子的发芽势

| ZnSO ₄ 浓度 /mg · L ⁻¹ | 0 | 100 | 200 | 400 | 800 |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|
| 发芽势 | 64.00aA | 51.33aA | 54.00aA | 22.00bB | 11.33bB |

2.2 Zn 胁迫对黑麦草种子萌发过程中生理指标的影响

2.2.1 Zn 胁迫对黑麦草种子萌发过程中可溶性蛋白质含量的影响 各处理的黑麦草萌发种子中可溶性蛋白质含量呈先上升后下降的趋势。在第 1 次测定时,各处理的蛋白质含量均低于对照,其中 200、400 和 800 mg/L 处理分别达到显著和极显著水平(表 3)。对照和 800 mg/L 处理的蛋白质含量在置种后第 3 天达到峰值,而 100、200、400 mg/L 处理在置种后第 2 天就已达到了峰值。蛋白质不仅是植物的结构物质和生理活性物质,同时也是植物的重要贮藏物质。种子中的贮藏蛋白质积累在蛋白体中,种子萌发时,不溶性的蛋白体被逐渐分解并最终完全溶解^[10]。随后,蛋白质被分解为游离氨基酸,再合成新的蛋白质,用于新细胞的建成。试验

结果表明,低浓度的 ZnSO₄ 处理使得黑麦草种子中的贮藏蛋白较快地转变为可溶性蛋白,但由于 Zn 处理后抑制了种子的萌发,导致可溶性蛋白在种子内的积累。随着种子的逐渐萌发,到试验后期,各处理的蛋白质含量与对照已无明显差异。

表 3 不同浓度 ZnSO₄ 处理下黑麦草种子的可溶性蛋白质含量

| 处理/mg · L ⁻¹ | 12 月 25 日 | 12 月 26 日 | 12 月 27 日 | 12 月 28 日 |
|-------------------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 0 | 5.0415aA | 7.7319cC | 8.6178aA | 6.7531aA |
| 100 | 4.6694abAB | 8.3595bB | 7.7657abA | 6.2531aA |
| 200 | 4.1157bcAB | 9.1355aA | 7.2687bA | 6.8662aA |
| 400 | 3.5016cB | 8.1644bBC | 7.4628bA | 6.4259aA |
| 800 | 3.5778cB | 6.8016dD | 7.3759bA | 5.9056aA |

2.2.2 Zn 胁迫对黑麦草种子可溶性总糖和还原糖含量的影响 由表 4 可看出,黑麦草种子的可溶性总糖含量均呈下降趋势。置种后第 1 天,各处理的总糖含量与对照差异不显著;但在置种后第 2 天,200、400 mg/L 处理的可溶性总糖含量极显著的高于对照,800 mg/L 处理的可溶性总糖含量极显著的低于对照,100 mg/L 处理与对照差异不显著;置种后第 3 天,除 800 mg/L 处理显著高于对照外,其它处理与对照差异均不显著;置种后第 4 天,200 mg/L 处理显著低于对照,其它处理与对照差异不显著。该试验表明,随着种子的萌发,可溶性总糖含量逐渐降低。ZnSO₄ 处理后,除个别点之外,基本表现出种子发芽速度越快,可溶性总糖下降的就越快。各处理黑麦草种子中的还原糖均呈上升趋势。置种后第 1 天,各处理的还原糖含量均低于对照,差异均达到了极显著水平(表 5)。置种后第 2 天,各处理的还原糖含量仍均低于对照,其中 200、400 mg/L 处理达到显著水平,100、800 mg/L 处理达到极显著水平。在随后的试验中,各处理还原糖含量的上升趋势均大于对照,到试验末期,除 100 mg/L 处理的还原糖含量与对照差异不显著,200、400 和 800 mg/L 处理均极显著的高于对照。产生上述结果的可能原因,一是种子萌发初期,由于大量的多糖在多种酶的作用下转变为还原糖,使种子中还原糖含量上升^[11];二是试验后期,由于对照黑麦草种子萌发迅速,大量的还原糖被种子萌发所利用,而 ZnSO₄ 处理的种子萌发较慢,消耗还原糖的量较少,造成了还原糖的积累。

表 4 不同浓度 ZnSO₄ 处理下黑麦草种子的可溶性总糖含量

| 处理/mg · L ⁻¹ | 12 月 25 日 | 12 月 26 日 | 12 月 27 日 | 12 月 28 日 |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0 | 18.02aA | 14.87cC | 11.35bAB | 7.83abAB |
| 100 | 18.71aA | 14.74cC | 11.15bB | 7.54bcAB |
| 200 | 18.44aA | 16.98aA | 10.71bB | 7.14cB |
| 400 | 17.75aA | 15.68bB | 11.36bAB | 7.54bcAB |
| 800 | 18.52aA | 13.65dD | 12.23aA | 8.37aA |

表5 不同浓度 $ZnSO_4$ 处理下黑麦草种子的还原糖含量 %

| 处理/ $mg \cdot L^{-1}$ | 12月25日 | 12月26日 | 12月27日 | 12月28日 |
|-----------------------|--------|---------|----------|--------|
| 0 | 0.56aA | 1.36aA | 1.48aA | 1.58cC |
| 100 | 0.36cC | 0.89bB | 1.33bC | 1.56cC |
| 200 | 0.32dC | 1.11bAB | 1.40bABC | 1.81bB |
| 400 | 0.18eD | 1.05bAB | 1.46aAB | 2.18aA |
| 800 | 0.46bB | 0.99bB | 1.38bBC | 2.09aA |

2.2.3 Zn胁迫对黑麦草淀粉酶活力的影响 各处理黑麦草种子中的 α -淀粉酶活力呈先升后降的趋势(表6)。置种后第1天,仅有800 mg/L 处理的 α -淀粉酶活力极显著的高于对照。第2天,除800 mg/L 处理差异不显著外,其它各处理均显著的高于对照,其中,100、400 mg/L 处理达到了极显著水平。各处理的峰值与对照无明显差别。到试验末期,800 mg/L 处理的 α -淀粉酶活力极显著的低于对照,其它各处理差异不显著。由表7可看出,整个试验过程中,对照及低浓度 $ZnSO_4$ (100 mg/L)处理淀粉酶总活力表现为先升后降的趋势,其它浓度的处理均表现出下降的趋势。置种后第1天,800 mg/L 处理的淀粉酶总活力极显著低于对照,其它各处理与对照差异不显著。置种后第2天,除100 mg/L 处理与对照差异不显著外,其它各处理极显著低于对照,且随浓度的升高抑制作用越明显。置种后第3天,各处理均极显著低于对照。到试验末期,各处理与对照间已无显著差异。李清芳等发现大豆种子萌发过程中,子叶淀粉酶在发芽初期活性较高,之后活性有所下降^[12],该试验也得到了类似的结果。但 $ZnSO_4$ 处理后,淀粉酶活力下降的试验结果与韩芸等在玉米上获得的结果相矛盾^[13]。综合 $ZnSO_4$ 处理后萌发的黑麦草种子内 α -淀粉酶和淀粉酶总活力的试验结果, $ZnSO_4$ 处理使 α -淀粉酶活力升高,并导致萌发初期淀粉酶总活力的升高。800 mg/L 处理的淀粉酶总活力下降,及以后各测定时期的结果都说明, $ZnSO_4$ 处理后可能通过抑制 β -淀粉酶的活力,使淀粉酶总活力下降,该结论有待进一步验证。

表6 不同浓度 $ZnSO_4$ 处理下黑麦草种子的 α -淀粉酶活力 $mg \cdot g^{-1}FW \cdot min^{-1}$

| 处理/ $mg \cdot L^{-1}$ | 12月25日 | 12月26日 | 12月27日 | 12月28日 |
|-----------------------|---------|-----------|----------|---------|
| 0 | 1.74bA | 14.48cB | 51.39abA | 31.22aA |
| 100 | 1.81bA | 21.11abA | 52.34abA | 27.68aA |
| 200 | 3.94abA | 19.48abAB | 49.49bA | 29.27aA |
| 400 | 1.77bA | 23.07aA | 55.27abA | 28.74aA |
| 800 | 5.23aA | 17.85bcAB | 57.36aA | 11.07bB |

表7 不同浓度 $ZnSO_4$ 处理下黑麦草种子的淀粉酶总活力 $mg \cdot g^{-1}FW \cdot min^{-1}$

| 处理/ $mg \cdot L^{-1}$ | 12月25日 | 12月26日 | 12月27日 | 12月28日 |
|-----------------------|----------|-----------|------------|-----------|
| 0 | 509.94aA | 562.36aA | 457.51aA | 300.98abA |
| 100 | 519.71aA | 545.12aA | 374.68bB | 278.41bA |
| 200 | 520.39aA | 452.55bB | 369.62bB | 341.63aA |
| 400 | 492.72aA | 405.31cBC | 296.86cC | 342.60aA |
| 800 | 373.67bB | 352.17dC | 336.34bcBC | 309.91abA |

3 结论与讨论

$ZnSO_4$ 处理可以延缓黑麦草种子的萌发,使其发芽势降低,降低种子萌发的整齐度。低浓度对发芽率影响不大,高浓度的抑制作用则较明显,且随浓度的升高,抑制作用增强。

黑麦草属淀粉型种子,淀粉酶使淀粉分解,提供幼胚发育所需的能源、碳源和制造新组织的主要原料^[14]。重金属 Zn 通过降低淀粉酶活力抑制黑麦草种子的萌发。Zn 对黑麦草萌发种子的总糖含量影响不大。但在试验前期,经处理种子的还原糖含量显著降低,可能是由于种子的呼吸作用消耗了大量的还原糖,而未被用于种子的萌发。Zn 使黑麦草萌发种子的蛋白质含量下降,从而影响萌发种子中游离氨基酸的含量,使新组织的形成受阻,抑制种子的萌发。尽管 Zn 对黑麦草种子的萌发产生了一定的影响,但种子仍能够萌发。说明黑麦草对重金属 Zn 有一定的耐性,可应用于重金属 Zn 污染的土壤。至于重金属 Zn 对黑麦草生长状态的影响,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 刘磊,肖艳波.土壤重金属污染治理与修复方法研究进展[J].长春工程学院学报(自然科学版),2009,10(1):73-78.
- [2] 王海慧,邹恒福,罗瑛,等.土壤重金属污染及植物修复修复技术[J].中国农学通报,2009,25(11):210-214.
- [3] 王艳,辛士刚,马莲菊,等.蒴藋根和高羊茅对铜、铅吸收及耐受性[J].应用生态学报,2007,18(3):625-630.
- [4] 韦朝阳,陈同斌.重金属污染植物修复技术的研究与应用现状[J].地球科学进展,2002,17(6):833-839.
- [5] 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.
- [6] 张翔,王文国,宗浩.铜尾矿对白车轴草种子萌发和幼苗生长的影响[J].种子,2007,26(6):28-30.
- [7] 李君明,周永健,徐和金,等.不同基因型番茄种子发芽率及发芽势初步研究[J].北方园艺,2002(2):34-35.
- [8] 刘永军,郭守华,杨晓玲.植物生理生化实验[M].北京:中国农业科技出版社,2002:81-82,95-97,126-129.
- [9] 王相琴.协青早 A 含芽谷种发芽率试验[J].湖北农业科学,1999(6):13.
- [10] 李合生.现代植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2006:249-255.
- [11] 杨文钰,关华.种子萌发生理研究进展[J].种子,2002(5):31-32.
- [12] 李清芳,范永红,马成仓.大豆种子萌发过程中蛋白质、脂肪和淀粉含量的变化[J].安徽农业科学,1998,26(4):299-300.
- [13] 韩芸,杜锦,向春阳.硫酸锌、氯化钙溶液浸种对玉米种子萌发的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报,2008,20(4):31-34.
- [14] 刘登义,王友保. Cu、As 对作物种子萌发和幼苗生长影响的研究[J].应用生态学报,2002,13(2):179-182.

矮牵牛耐盐生理特性研究

郭金耀, 杨晓玲

(淮海工学院 海洋学院, 江苏 连云港 222005)

摘要:通过对矮牵牛进行盐胁迫处理,研究其耐盐的主要生理特性。结果表明:矮牵牛细胞膜透性受盐胁迫影响,并且与植株含水量负相关。在氯化钠浓度为 0.4% 时,细胞膜透性最低,植株含水量最高。矮牵牛脯氨酸积累、SOD 活性增强均与盐胁迫程度正相关。脯氨酸可参与细胞渗透调节,SOD 可清除活性氧伤害,都会对细胞膜产生有效保护作用,可能是细胞膜透性降低的重要原因。矮牵牛对 0.4% 的盐度具有耐受性。

关键词:矮牵牛;盐胁迫;SOD;细胞膜透性;脯氨酸含量;相对含水量

中图分类号:S 681.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)04-0088-03

土壤盐分是影响植物生长发育的一种重要环境因子,植物体内几乎所有的主要生理过程都会受到盐胁迫的影响,从而导致植物减产甚至死亡。植物耐盐性是植物多项耐盐生理特性的综合表现,植物耐盐生理特性的研究是探索植物耐盐机理和耐盐能力的基础^[1-2]。不同植物由于其耐盐方式和耐盐机理的不同,其组织或细胞的生理代谢和生化变化也不同,所以会有不同的耐盐生理特性^[3-4]。在耐盐机制中主要方式有渗透调节、离子区隔化、维持膜系统的完整性以及改变代谢类型等^[5-7]。该试验在不同盐度下培养矮牵牛,测定其脯氨酸、细胞膜透性、SOD 活性、相对含水量等生理特性的变化,综合

评价矮牵牛耐盐能力的大小和耐盐机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

矮牵牛植株采于淮海工学院校园。

1.2 试验方法

1.2.1 矮牵牛的盐胁迫培养 选用长势与生物量相对一致的 10 cm 高矮牵牛苗,洗净根系泥土后,栽种于装有 500 g 洗净黄沙的小盆中练苗,共 24 盆。2 d 后分别用含不同浓度 NaCl (0.0%、0.4%、0.8%、1.2%) 的 Hoagland 营养液浇灌黄沙,每盆浇灌 20 mL,6 次重复。盐胁迫矮牵牛 7 d 后,测定分析矮牵牛的生理特性。

1.2.2 测定方法 脯氨酸含量的测定参照茚三酮比色法^[8]。SOD 活性的测定用邻苯三酚自氧化法^[9]。细胞膜透性的测定采用测定外渗电导率的方法,分别测定叶片煮沸前后叶片浸泡液的电导率 C_1 和 C_2 ,然后计算相对电导率。相对电导率(%) = $C_1 / C_2 \times 100\%$ 。相对含水量的测定采用直接干燥法,测定矮牵牛植株干燥前后

第一作者简介:郭金耀(1956-),男,教授,研究方向为植物生理。
E-mail:gyao6688@yahoo.com.cn。

基金项目:淮海工学院自然科学基金资助项目(Z2007036)。

收稿日期:2010-11-26

Effects of $ZnSO_4$ on Seed Germination of *Lolium perenne*

YU Feng-ming¹, LIU Yu-yan², ZHANG Hai-rong¹

(1. College of Life Science and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology, Changli, Hebei 066600; 2. College of Horticulture and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology, Changli, Hebei 066600)

Abstract: The effects of different concentration of external source $ZnSO_4$ on *Lolium perenne* seed germinating capacity, the germinating energy, the protein contents, the reducing sugar and total sugar contents, and the amylase activity were studied. The results showed that $ZnSO_4$ inhibited *Lolium perenne*'s seed germination, reduced the germinating energy, and delayed its germination. Different concentration of $ZnSO_4$ had a certain promoting effect on *Lolium perenne* seed α -amylase, but lowered the total amylase activity, the contents of protein and reducing sugar, but its effect on total sugar content was not obvious.

Key words: $ZnSO_4$; *Lolium perenne*; seed germination