

重金属 Zn^{2+} 对花椰菜种子的萌发及幼苗生理特性的影响

赵淑玲, 王 瀚, 王让军, 卓平清

(陇南师范高等专科学校 农林技术学院, 甘肃 成县 742500)

摘 要:以花椰菜(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.)种子为试材,研究了在锌胁迫下,对其种子萌发及幼苗生理生化的影响。结果表明:不同浓度 Zn^{2+} (12.5、25.0、50.0、100.0 $mg \cdot L^{-1}$)处理花椰菜种子后,对该植物种子的萌发率影响较小;幼苗受不同浓度 Zn^{2+} 胁迫作用后,根的生长发育影响较大,叶片内叶绿素含量和类胡萝卜素含量呈下降趋势;超氧化物歧化酶(SOD)活性及过氧化物酶(POD)活性呈先降后升的趋势;丙二醛(MDA)含量和脯氨酸(Pro)含量呈上升趋势;根活力呈下降趋势。

关键词: Zn^{2+} 胁迫;花椰菜种子;叶绿素含量;生理生化特征

中图分类号: S 635.304⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2016)18-0001-05

随着工业的快速发展,产生的废水、废气、废渣对环境造成一定的危害,“三废”的排放严重污染了土壤、水体和大气,导致环境恶化,重金属污染产生的危害更大。过量的重金属一旦进入环境,特别是进入土壤就很难予以排除,低量锌对植物的生长有促进作用,超过一定的量会对植物产生毒害,并随食物链在生物体内有有机化的趋势^[1]。锌是自然界中分布较广的重金属元素,也是人体必需的微量元素之一,可以调节酶的活性,影响蛋白质和核酸的合成,对维持和稳定生物膜有重要的作用,但大量的锌会对植物造成危害,影响植物的正常生长,在植物体内超过 50.0 $mg \cdot kg^{-1}$ 时会造成植物中毒^[2]。

花椰菜(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.)属十字花科芸薹属一年生植物,又称花菜、菜花或椰菜花。是常见蔬菜之一,其主要成分有抗癌作用。该试验以花椰菜为试材,用不同浓度 Zn^{2+} 处理花椰菜种子后,观察其对种子的萌发、根的生长情况,叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)含量等生理生化指标的影响,更进一步认识重金属离子对蔬菜生长发育的胁迫机理,并为土壤修复提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试花椰菜种子“荷兰 83”购自兰州润丰种业有限公司;RQH-250 人工培养箱(金坛市医疗仪器厂),5424 冷冻离心机(德国艾本德),SP-723PC 分光光度计(上海光谱仪器有限公司),HS1810-2 纯水机(重庆阿修罗科技发展有限公司),BCD-206TXZF 冰箱(青岛海尔集团公司),XYH-2A 双目解剖镜(上海沪铄电子科技有限公司),HS-6 六孔数显恒温水浴锅(宏华仪器)。其它试剂如茚三酮、愈创木酚等试剂均为分析纯(天津大茂化学试剂厂生产)。

1.2 试验方法

花椰菜种子以 0.1% 的 $KMnO_4$ 溶液消毒 30 s,蒸馏水冲洗 3~5 次,挑去破损、瘪、坏种子,选取籽粒饱满一致、无破损的花椰菜种子均匀播在铺有双层滤纸的培养皿($d=90$ mm)中,每皿 30 粒,期间分别浇施 12.5、25.0、50.0、100.0 $mg \cdot L^{-1}$ (以 Zn^{2+} 浓度计)的溶液,每梯度设置 3 次重复,每日及时补充相应浓度的锌离子溶液,以纯水处理种子为对照。处理温度为 25 $^{\circ}C$,6 d 后测定生理生化指标。

1.3 项目测定

1.3.1 种子萌发测定 种子催芽后 24 h 开始统计。发芽率(%) = 发芽总粒数 / 试验总粒数 $\times 100$ ^[3]。

1.3.2 幼苗根长及根毛变化 从种子胚根长出后开始每天观察,第 5 天后每皿随机抽取 10 株置体式显微镜下观察,并记录主根长度及根毛发生情况。

1.3.3 理化指标含量测定 叶绿素含量、超氧化物歧化

第一作者简介:赵淑玲(1968-),女,甘肃康县人,硕士,副教授,研究方向为植物生理学。E-mail:1109385865@qq.com.

基金项目:陇南师专 2014 年校级科研资助项目(2014LSZK02008);2015 年甘肃省委组织部陇原青年创新人才扶持计划资助项目(2015-13);甘肃省教育厅高等学校科研资助项目(2015B-147)。

收稿日期:2016-04-15

酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性,丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)含量、根活力等指标均参照王学奎^[4]方法测定。SOD活性采用NBT还原法进行测定,根活力活性采用TTC法测定。

1.4 数据分析

试验数据以SPSS 13.0软件进行分析,定量指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜种子萌发率的影响

由图1可以看出,不同浓度 Zn^{2+} 处理花椰菜种子后,随着锌胁迫浓度的增加其萌发率呈下降趋势。但是其下降程度并不明显。在对照组(CK)中,萌发率为89%,但是当胁迫浓度增加到 $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其萌发率降至84%。由此可见, Zn^{2+} 的胁迫对该种子萌发率的影响不大,其主要原因一方面是由于种子萌发时种皮的保护作用使得该离子并不能影响到其萌发。另一方面可能是发芽期间,花椰菜种子对 Zn^{2+} 的吸收作用并不是太强,因此,该重金属离子对萌发过程中酶的活性影响不大。该结果与杨玲等^[5]研究结果相似。

2.2 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜幼苗根长及根毛发育的影响

培养48 h后,对照组与处理组种子都出现萌动迹

象。72 h后对照组与处理组均长出主根,从主根生长的长度、色泽上未见明显差异,但对照组主根均出现细小根毛,而处理组从低浓度到高浓度根毛逐渐减少, $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn^{2+} 胁迫处理组幼苗根部未见根毛发生。处理5 d后,以50、 $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn^{2+} 胁迫处理组主根上根毛稀疏,根尖萎缩(图2、表1)。处理组主根长度与对照组长度有显著差异。表明随 Zn^{2+} 胁迫浓度的增加,花椰菜幼苗根的生长发育受到抑制,且高浓度条件下根毛发生受到了影响。说明高浓度的 Zn^{2+} 胁迫作用会影响该植物的根正常发育,直接影响到对营养物质的吸收。

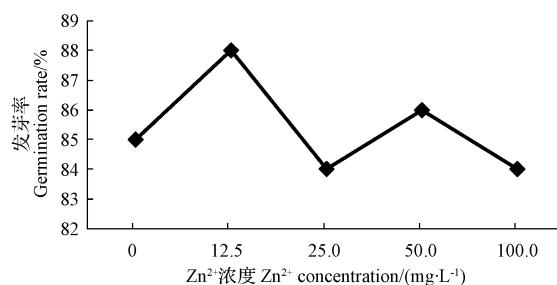


图1 Zn^{2+} 胁迫对种子萌发率的影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on seeds germination rate of *Brassica oleracea* L.



注:1. 纯水处理的对照组(CK);2. Zn^{2+} 浓度 $12.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液处理;3. Zn^{2+} 浓度 $25.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液处理;4. Zn^{2+} 浓度 $50.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液处理;5. Zn^{2+} 浓度 $100.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液处理。

Note:1. Control group;2. The treatment of Zn^{2+} concentration at $12.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;3. The treatment of Zn^{2+} concentration at $25.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;4. The treatment of Zn^{2+} concentration at $50.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;5. The treatment of Zn^{2+} concentration at $100.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

图2 不同 Zn^{2+} 浓度胁迫处理5 d后花椰菜幼苗形态

Fig. 2 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on seedling of *Brassica oleracea* L.

表1 培养5 d后根长及根毛发生情况

Table 1 Growth of roots and formation of hairs after treated for 5 days

Zn^{2+} 浓度 Zn^{2+} concentration /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	根长 Root length /cm	根毛发生 Formation of hairs
0(CK)	5.40 ± 0.2	根毛较多
12.5	4.50 ± 0.3	根毛较多,密集无根毛脱落
25.0	$3.10 \pm 0.2^*$	根毛稀疏,15%根毛脱落
50.0	$1.18 \pm 0.28^*$	根毛稀疏,50%根毛脱落严重,根尖萎缩
100.0	$0.45 \pm 0.05^*$	根毛稀,根毛脱落严重,根尖发黑萎缩

注: * $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$.

2.3 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素和类胡萝卜素是高等植物光合作用过程中主要光合色素和辅助色素,其含量的高低是反映植物光合作用能力和生长的一个重要指标。如表2所示,对照组(CK)叶绿素a含量与叶绿素a+b含量均高于处理组,处理组的叶绿素与类胡萝卜素的含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)随 Zn^{2+} 浓度的增加而降低,呈负相关性,表明随 Zn^{2+} 浓度的增大,叶绿素和类胡萝卜素的合成受到阻碍,从而影响植物的光合作用。

表2 不同浓度 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜幼苗体内
叶绿素及类胡萝卜素含量的影响

Table 2 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on
chlorophyll and carotenoid of *Brassica oleracea* L.

mg · g ⁻¹ FW				
Zn^{2+} 浓度 Zn^{2+} concentration /(mg · L ⁻¹)	叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 b Chlorophyll b	叶绿素 a+b Chlorophyll a+b	类胡萝卜素 Carotenoid
0(CK)	3.33	1.07	4.40	0.68
12.5	3.06	0.74	3.80	0.73
25.0	2.54	1.15	3.70	0.41
50.0	2.17	1.70	3.87	0.50
100.0	1.98	1.29	3.27	0.58

2.4 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

SOD是生物体内重要的抗氧化酶,它具有特殊的生理活性,能清除超氧自由基。它可对抗与阻断因氧自由基对细胞造成的伤害,并及时修复受损细胞复原因自由基造成的对细胞伤害。由图3可以看出,幼苗SOD活性在低浓度12.5 mg · L⁻¹和25.0 mg · L⁻¹时变化不大,波动幅度较小,随 Zn^{2+} 浓度增加,SOD活性先升后降,由此可见,低浓度的 Zn^{2+} 对花椰菜幼苗的SOD活性影响较小,而高浓度的影响较大。当 Zn^{2+} 在浓度50 mg · L⁻¹时,SOD活性达到最高,表明在低浓度范围内,花椰菜幼苗对 Zn^{2+} 有一定的耐受性,在外界环境胁迫下,短时间内活性氧爆发,诱导SOD的合成,增强了SOD活性^[6]。但当重金属离子浓度大,作用时间长时,SOD活性受到抑制。

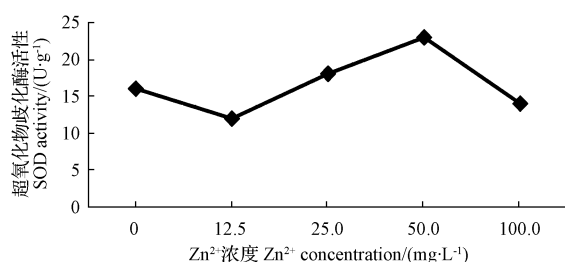


图3 不同 Zn^{2+} 浓度对花椰菜幼苗体内的
超氧化物歧化酶活性的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on
SOD activity of *Brassica oleracea* L.

2.5 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜叶片过氧化物酶(POD)活性的影响

POD主要存在于植物体中,它与植物的呼吸作用、光合作用、生长素的氧化等都有关系。 H_2O_2 是光合作用电子传递过程及反应过程中的产物,过多 H_2O_2 会对细胞造成伤害,POD能清除植物体内过多的 H_2O_2 ,维持体内 H_2O_2 平衡,使细胞正常工作^[7]。

由图4可知,随 Zn^{2+} 胁迫浓度的增高,在50.0 mg · L⁻¹

时POD活性达到峰值,为对照组的5.6倍, Zn^{2+} 胁迫浓度为100.0 mg · L⁻¹时,POD活性急剧下降。表明重金属离子的胁迫会导致POD活性的增强。但高浓度时抑制POD活性。

2.6 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜叶片丙二醛(MDA)含量的影响

丙二醛(MDA)是膜脂氧化的最终分解产物,其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度。MDA从膜上产生的位置释放后,可以与蛋白质、核酸反应,从而丧失功能,还可使纤维素分子间的桥键松弛,或抑制蛋白质的合成。测定MDA含量可以反映细胞膜受伤害的程度^[8]。由图5可以看出,随 Zn^{2+} 浓度增大,MDA含量逐渐增高。

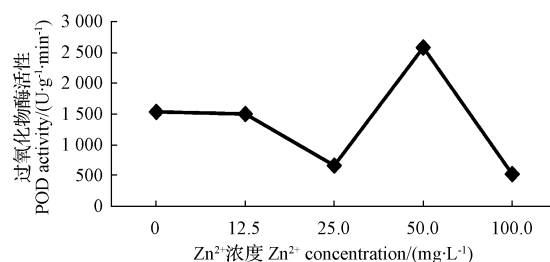


图4 不同浓度 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜
幼苗体内过氧化物酶活性的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on
POD activity of *Brassica oleracea* L.

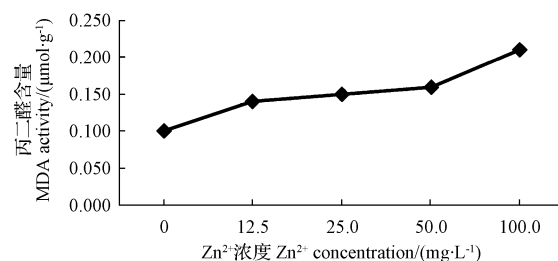


图5 不同 Zn^{2+} 胁迫浓度对花椰菜
幼苗体内的丙二醛含量的影响

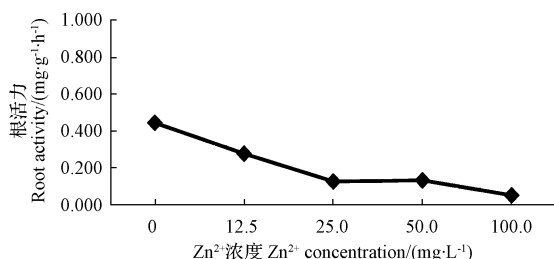
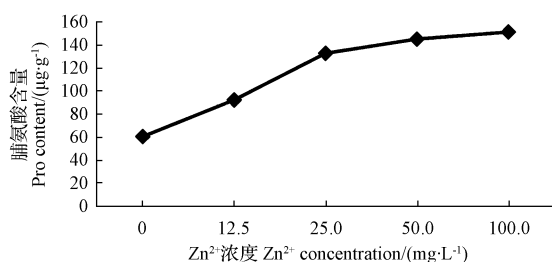
Fig. 5 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on
MDA content of *Brassica oleracea* L.

2.7 不同 Zn^{2+} 胁迫浓度对花椰菜幼苗根活力的影响

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官,根的生长情况和活力水平直接影响地上部的营养状况及产量水平。由图6可以看出,随 Zn^{2+} 胁迫浓度浓度的加大,根活力急剧下降,在100.0 mg · L⁻¹浓度时,根活力只达到对照的7.9%,说明根系受到伤害严重。与曾小飏等^[9]研究结果一致。

2.8 Zn^{2+} 胁迫浓度对花椰菜幼叶中脯氨酸含量的影响

由图7所示,随 Zn^{2+} 浓度的增加,植物体内的脯氨酸含量逐渐增加,在100.0 mg · L⁻¹时达到最高。脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物,脯氨酸含量的增加,体现了植物对外界不利环境的积极响应^[2]。

图6 不同 Zn^{2+} 胁迫浓度对花椰菜幼苗根活力的影响Fig. 6 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on root activity of *Brassica oleracea* L.图7 不同浓度 Zn^{2+} 胁迫对花椰菜幼苗体内脯氨酸含量的影响Fig. 7 Effect of different concentrations of Zn^{2+} stress on proline content of *Brassica oleracea* L.

3 讨论

该研究利用不同浓度 Zn^{2+} 作用于花椰菜种子,研究其萌发及幼苗根系的生长、生理生化特征的变化。研究结果表明,不同浓度 Zn^{2+} 对花椰菜种子的萌发抑制作用较弱,但对花椰菜幼苗的主根生长、根毛的发生、根活力的影响较强,且随着胁迫浓度的增加,相关生理生化特征均出现了下降趋势。表明高浓度的锌对植物主根生长、根毛发生、根活力具有较大影响。这些影响作用直接或间接地影响到了植物根系对水分、矿物质的吸收,进一步影响到了植物光合作用的进行,影响到植物干物质的积累和能量物质的合成。

叶绿素和类胡萝卜素是绿色植物进行光合作用的主要色素和辅助色素,其含量的高低是衡量光合作用能力及植物生长状态的一个重要指标。试验中随 Zn^{2+} 胁迫浓度增加,叶绿素和类胡萝卜素的含量、叶绿素值呈逐渐递减。LAGRIFFOUL 等^[10]、彭鸣等^[11]研究表明,重金属离子能破坏叶绿体结构,随重金属离子浓度的增高,叶绿体的类囊体会出现空泡,基粒片层稀疏、垛叠无序,甚至导致膜系统崩溃。同时 Zn^{2+} 能抑制原叶绿素酸酯还原酶和氨基-g-酮戊酸的合成,使叶绿素含量降低^[12]。据此可推测,随 Zn^{2+} 浓度增高,花椰菜幼苗体内叶绿体结构遭到破坏,光合色素合成减少,从而影响花椰菜的光合作用、生长及发育。

重金属处理植物幼苗会导致植物细胞核、线粒体等细胞器的变形。在试验中,花椰菜幼苗体内随 Zn^{2+} 胁迫浓度的增加,SOD、POD 活性先升高后下降再上升,可能是植物体内的酶协同作用,维持体内活性氧处于较低状态,但在有外来不利环境胁迫下,活性氧数量增加,导致诱导酶活性增强,激发植物对胁迫反应^[6]。

植物在逆境条件下体内会发生一系列的变化应对环境对植物自身的伤害。孙涌栋等^[13]研究表明,低浓度 Zn^{2+} 有利于维持植物细胞膜的完整性,而 Zn^{2+} 浓度在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时,造成细胞膜的结构破坏、导致细胞膜选择通透性差,细胞质中电解质外渗,膜脂过氧化物水平上升,影响植物正常生长。在重金属 Zn^{2+} 的作用下,植物体内 MDA、脯氨酸含量逐渐上升,根活力下降是由于植物受到重金属胁迫后,植物细胞结构发生变化,细胞膜遭到破坏。细胞膜受损后,细胞内的物质外渗,细胞外有害离子进入细胞后导致细胞发生一系列生理生化变化。

综上所述,该试验通过研究重金属锌对花椰菜种子和幼苗的胁迫作用,初步弄清了在重金属胁迫条件下植物对这些不良影响的响应机制,为更加深入地了解其分子机制及未后期土壤污染的治理提供了理论参考。

参考文献

- [1] 江行玉,赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. 应用与环境生物学报,2001(1):92-99.
- [2] 龚红梅,李卫国. 锌对植物的毒害及机理研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(29):14009-14015.
- [3] 王景,王娟,高素萍,等. Pb^{2+} 对紫萼玉簪种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 西南农业学报,2011,24(5):1904-1907.
- [4] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [5] 杨玲,张勇,吴红娇,等. 铅胁迫对早熟禾和狗牙根种子出苗和幼苗生长的影响[J]. 云南农业大学学报,2013,28(3):405-410.
- [6] 陈国维,杨洪琴,陈坤浩. 铅胁迫对构树幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 现代农业科技,2014(14):135-138.
- [7] 马博英. 铅锌诱导的高羊茅叶片过氧化物酶活性变化[J]. 浙江教育学院学报,2008(4):77-81.
- [8] 吴云忠,杨雪莲,孙嘉怡. PEG₆₀₀₀ 胁迫对枳壳种子萌发生理特性的影响[J]. 绿色科技,2015(10):55-58.
- [9] 曾小鹰,李毅,陈冠喜,等. 重金属镍胁迫对麻风树幼苗生理生化特性的影响[J]. 广东化工,2015(21):232-234.
- [10] LAGRIFFOUL A, MOCQUOT B, MENCH M, et al. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll young Maize (*Zea mays* L.)[J]. Plant Soil, 1998, 200(2):241-250.
- [11] 彭鸣,王煥校,吴玉树. 镉诱导的玉米(*Zea mays* L.)幼苗细胞超微结构的变化[J]. 中国环境科学,1991,11(6):426-431.
- [12] 惠俊爱,党志,叶庆生. 镉胁迫对玉米光合特性的影响[J]. 农业环境科学报,2010,29(2):205-210.
- [13] 孙涌栋,罗未蓉,李新峰,等. Zn^{2+} 对黄瓜发芽期生理特性的影响[J]. 生态环境,2008,17(1):307-311.

黄瓜种质资源种子含油量的评价

王瑞奇, 秦智伟, 周秀艳, 辛 明

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:以 35 份不同生态类型的黄瓜种质资源为试材, 利用索式提取法提取黄瓜种子的粗脂肪, 分析黄瓜种子含油量, 为黄瓜种子油相关应用及专用新品种选育奠定基础。结果表明: 黄瓜不同品种之间的种子含油量存在明显的差异, 变幅在 31.03%~40.59%; 其中, 种子含油量最高为华南型品种, 含量是 40.59%; 种子含油量最低为华北型品种, 含量是 31.03%。筛选出含油量 > 38.50% 的品种 4 份, 含油量 < 32.01% 的品种 4 份。

关键词:黄瓜; 种质资源; 种子含油量; 评价

中图分类号:S 642.202.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)18-0005-04

黄瓜种子为富油性种子, 其中含有大量的人体必需脂肪酸, 主要包含油酸、亚油酸、硬脂酸等^[1]。还富含多种人体必需的微量元素, 如 Ca、P、K、Zn、Fe 等^[2], 具有重要的开发利用价值。黄瓜籽油与皮肤接触后, 能够改变皮肤的营养状态, 加快血液循环, 同时能够促进皮肤的氧化还原反应。黄瓜油制成化妆品, 对粉刺、酒刺、老年

斑、雀斑、皮肤粗糙和皮肤皱纹等具有良好的防治功效^[3]。黄瓜油的研制与利用, 能为天然化妆品研发开辟出一条新的道路。此外, 黄瓜籽油可作为绿色食品添加剂^[4], 具有广阔的开发前景。

目前, 国内外已有单一瓜类品种籽油含油量的检测分析。王永艳等^[5]利用微波辅助萃取黄瓜籽油, 最高产率为 43.00%; 以干燥黄瓜籽为原料, 通过索式溶剂萃取法提取黄瓜籽油, 油收率达 40.38%^[6]; 应用超声波协同微波提取黄瓜籽油, 最高产油率为 30.88%^[7]; 然而, 应用超临界 CO₂ 萃取技术提取了黄瓜籽油, 在适宜的条件下黄瓜籽的出油率可达 26%^[8]; 同时, 通过超临界 CO₂ 萃取南瓜籽油, 得率为 30.7%^[9]; 利用超声与溶剂回流提取南瓜籽油, 其最佳超声提取条件下提取率为 50.8%,

第一作者简介:王瑞奇(1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向为黄瓜遗传育种。E-mail: wangruiqi1404@126.com.

责任作者:秦智伟(1957-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为蔬菜遗传育种。E-mail: qzw303@126.com.

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划资助项目(2012BAD02B03); 黑龙江省大宗蔬菜新品种选育资助项目(GA15B103)。

收稿日期:2016-04-15

Effect of Zn²⁺ Stress on Growth and Physiological and Biochemical Characteristics of *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.

ZHAO Shuling, WANG Han, WANG Rangjun, ZHUO Pingqing

(Department of Biology and Chemistry, Longnan Teachers' College, Chengxian, Gansu 742500)

Abstract: With *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L. as test material, the physiological and biochemical response of Zn²⁺ stress to its seeds were studied. The results showed that Zn²⁺ stress exhibited high inhibitory effects on *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L. The plant seeds germination rate decreased with the increase of Zn²⁺ concentration, but there was no obvious change. With the increase of Zn²⁺ concentration, the root length, contents of chlorophyll decreased obviously. The activities of SOD and POD tended to firstly decrease then increased with the increase of Zn²⁺ concentration and the contents of MDA and Pro tended to increase. The root vigor decreased gradually with the increasing of Zn²⁺ concentration.

Keywords: Zn²⁺ stress; *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.; chlorophyll content; physiological and biochemistry characteristics