

# 镉胁迫对石竹种子萌发·叶片叶绿素及同工酶的影响

金研铭<sup>1</sup>, 葛冬梅<sup>2</sup>, 赵国禹<sup>1</sup>, 尹秀成<sup>3</sup>, 于楠楠<sup>3</sup>, 王尊<sup>1</sup>, 徐惠风<sup>1\*</sup> (1. 吉林农业大学园艺学院, 吉林长春 130118; 2. 长春市二道区园林管理处, 吉林长春 130031; 3. 深圳市鲁班建设监理有限公司, 广东深圳 518040)

**摘要** [目的] 研究重金属镉胁迫对石竹种子萌发、叶绿素及同工酶的影响。[方法] 镉胁迫设 5 个处理 (0、0.5、5.0、10.0、50.0 mg/L), 对石竹种子浸泡后测定其发芽率; 对新鲜石竹浸泡后测定其叶绿素含量和同工酶。[结果] 低浓度的镉对石竹的生长有促进作用, 其中镉为 5.0 mg/L 时的发芽势比对照高 15.83%; 高浓度的镉抑制其生长, 对根的抑制作用大于芽。随着处理时间的推移和镉浓度的增加, 石竹叶绿素含量在减小, 镉为 5.0 mg/L 处理 20 d 时, 镉浓度与时间相关系数为 -0.789; 在同一处理时间内, 镉浓度与叶绿素均呈显著负相关。镉胁迫下对石竹叶 POD 的影响主要表现为个别酶带 Rf 值的改变、酶带数的下降和活性的增加。[结论] 重金属镉对石竹的酶活性产生影响, 使其对镉胁迫产生了相对适应性。

**关键词** 石竹; 种子萌发; 叶绿素; 镉胁迫; 同工酶

**中图分类号** S685.99 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)25-11972-02

## Effect of Cadmium Stress on the Seed Germination, Leaf Chlorophyll and Isozyme of *Dianthus caryophyllus*

JIN Yan-ming et al (College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract** [Objective] The study aimed to investigate the effect of heavy metal cadmium stress on the seed germination, leaf chlorophyll and isozyme of *Dianthus caryophyllus*. [Method] The cadmium stress was set up by 5 concn. treatments at 0, 0.5, 5.0, 10.0, 50.0 mg/L to soak *D. caryophyllus* seeds and fresh leaves resp., the seed germination energy, leaf chlorophyll and isozyme were determined. [Result] The low concn. of cadmium had some promotion on the growth of *D. caryophyllus* and the germination energy in seeds treated by 5.0 mg/L cadmium was 15.83% higher than control. The high concn. of cadmium had suppression to the growth of *D. caryophyllus* with greater suppression to bud than to root. Along with the process of treating time and the increase of the cadmium concn., the chlorophyll content of *D. caryophyllus* was reduced. When *D. caryophyllus* leaves were treated by 5.0 mg/L cadmium for 20 d, the cadmium concn. showed a negative correlation to time, with correlation coefficient of -0.789. In the same treating time, the cadmium concn. showed significant negative correlation with chlorophyll content. The effects of cadmium stress on POD activity of *D. caryophyllus* were mainly on the change of individual enzyme belt Rf value, the drop of enzyme band number, and the increase of enzyme activeness. [Conclusion] The heavy metal cadmium had some effect on the enzyme activeness of *D. caryophyllus*, which made *D. caryophyllus* produce the relative adaptability to cadmium stress.

**Key words** *Dianthus caryophyllus*; Seed germination; Chlorophyll; Cadmium stress; Isozyme

石竹 (*Dianthus chinensis* L.) 为石竹科石竹属草本花卉, 茎平滑无毛, 单一或数个; 叶披针形或线状披针形, 平展或稍下倾, 生向阳丘陵坡地、干山坡、山坡林缘灌丛间、疏林下、火烧迹地、草甸及碱性草原<sup>[1]</sup>, 是具有很高观赏价值的地被园林应用植物。镉在土壤中具有高度的移动性和累积性, 所以被视为最具危害性的重金属污染元素之一<sup>[2]</sup>。目前, 有关重金属毒害及抗性研究报道主要集中在农作物上<sup>[3]</sup>, 而关于园林植物在重金属镉胁迫下生理生态响应及耐性机理的研究报道很少。笔者研究不同浓度重金属镉对石竹种子萌发、叶绿素及同工酶的影响, 旨在为今后园林生态学的发展奠定一定的理论基础。

## 1 材料和方法

**1.1 供试材料** 将供试种子铺在白纸上, 弃去杂质及有虫蚀或成熟度较低的种子, 用 5% 的次氯酸钠溶液浸泡 10 min, 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。野外采集新鲜的、没有病虫害的石竹植株。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 试验设计。** 试验设 5 个处理, 即对照 (CK)、处理 1、处理 2、处理 3、处理 4, 浓度分别为 0、0.5、5.0、10.0、50.0 mg/L, 每处理 3 次重复。

**1.2.2 种子萌发试验。** 选取直径为 9 cm 的培养皿, 皿内以

双层滤纸为发芽床, 将配好的镉溶液置于培养皿中, 至滤纸饱和为止。每日用称重法加水恒重, 在保持溶液镉离子质量浓度恒定条件下进行发芽试验。每皿均匀放入 30 粒石竹种子, 定期称量每皿 30 发芽粒种子的吸水量, 记录种子的萌发数 (胚根与种子、胚芽长度达到种子一半, 就认为种子已经发芽)。GZ-025 型全自动光照培养箱中温度为 (20 ± 1) °C, 光照时间为 16 D/8 N。期间每隔 48 h 记录 1 次, 第 4 天统计发芽势、第 10 天统计发芽率, 并计算发芽指数和活力指数。

**1.2.3 同工酶、叶绿素测定。** 将采集的新鲜石竹分别浸泡于“1.2.1”不同浓度的镉溶液中, 测定石竹同工酶、叶绿素含量的变化, 测定方法参考文献 [4-5]。

## 2 结果与分析

**2.1 不同处理对石竹种子萌发、芽及幼根生长的影响** 从表 1 可以看出, 处理 2 发芽势比 CK 高 15.83%, 而其他处理均低于 CK, 从发芽率上看, 处理 1、2 均超过 CK, 分别高 1.22%、1.58%, 而处理 4 下降 88.50%。分析结果表明, 镉浓度与发芽势呈负相关, 相关系数为 -0.748 ( $P < 0.05$ ); 镉浓度与发芽率呈负相关, 相关系数为 -0.797, 说明低浓度的镉有促进发芽的作用, 高低浓度的镉抑制发芽。浓度越大则抑制作用越强<sup>[6]</sup>。

处理 2 发芽指数比 CK 高 37.32%, 超过其他处理, 发芽指数与浓度呈负相关, 相关系数为 -0.786 ( $P < 0.05$ ), 说明处理 2 芽促进浓度也就是安全浓度阈值; 从根长来看, 处理 2 浓度是促进根生长的最大浓度, 根长与浓度呈极显著负相关, 相关系数为 -0.984 ( $P < 0.05$ ,  $r_{0.05} = 0.811$ ;  $R_{0.01} = 0.917$ ); 处理 3 促进芽的生长最明显, 芽长与镉浓度呈负相

**基金项目** 吉林省农业开发办公室资助项目; 吉林省教育厅重点攻关项目; 长春市科技局星火专家大院项目。

**作者简介** 金研铭 (1962 - ), 男, 吉林吉林人, 在读博士, 副教授, 从事园林植物生理生态的研究。\* 通讯作者。

**收稿日期** 2009-04-28

关,相关系数为 -0.717;说明芽比根抗镉污染;从根活力指数上看,处理 2 是最大适应浓度,其根活力指数超过 CK 53.82%,最大污染浓度为处理 4,其根活力指数比 CK 低

82.38%。说明低浓度镉促进根系和芽的生长,高浓度的镉抑制根系和芽的生长,芽较根具有耐受镉污染性。

表 1 不同质量浓度镉处理下石竹种子的萌发

Table 1 The germination of *Dianthus chinensis* L. seeds under different mass concentration of cadmium

处理	发芽势//%	发芽率//%	50%种子发芽天数//d	发芽指数	根长//cm	芽长//cm	活力指数
Treatment	Germination energy	Germination percentage	Day of 50% seeds germinating	Germination index	Root length	Bud length	Energy index
CK	27.80	82.20	4	4.167	3.0	2.0	20.83
1	24.50	83.20	4	4.178	3.0	2.3	21.61
2	32.20	83.50	4	5.722	3.2	2.4	32.04
3	12.58	20.21	>10	3.210	2.8	3.0	18.61
4	9.70	9.45	>10	1.933	0.7	1.2	3.67

2.2 不同处理对石竹形态及叶片叶绿素含量的影响 试验前期镉对香石竹外部形态并无较大影响,试验后期对香石竹略有影响,处理 3、4 的植株叶片变黄,但整个试验阶段香石竹的长势正常,没有死株。说明石竹对镉有较强的适应能力。

由图 1 可知,随着时间的推移不同处理叶绿素变化趋势基本一样,由于镉浓度对叶绿素的变化影响不大,导致在性状和形态上变化也不大。在第 5 天时处理 2 叶绿素含量最大,比对照增加 9.45%,处理 4 最小,比对照减少 25.61%;第 10 天时处理 2 最大,比对照增加 4.50%,处理 4 最小,比对照减少 29.67%;第 15 天时处理 2 最大,比对照增加 4.33%,处理 4 最小,比对照减少 46.25%;第 20 天处理 2 最大,比对照增加 2.60%,处理 4 最小,比对照减少 32.10%。从时间上看,随着时间的推移,浓度增大的同时其对叶绿素含量的影响也在增大,其中处理 2 在第 20 天时镉浓度与时间相关系数为 -0.789 (<r=0.811),呈负相关;第 5、10、15、20 天的镉浓度与叶绿素含量的相关系数分别为 -0.805、-0.965、-0.789、-0.945, (P<0.05, r<sub>0.05</sub>=0.811; R<sub>0.01</sub>=0.917),均呈显著负相关。说明随着浓度的增加叶绿素含量在减小。这可能与镉取代了叶片中 Fe<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 等元素,抑制了叶绿素前体的合成,破坏了叶绿体微结构有关<sup>[7]</sup>。

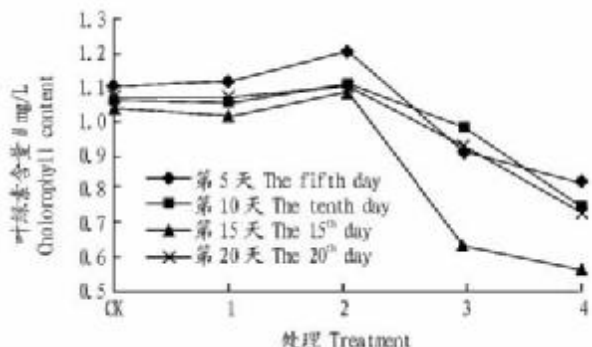
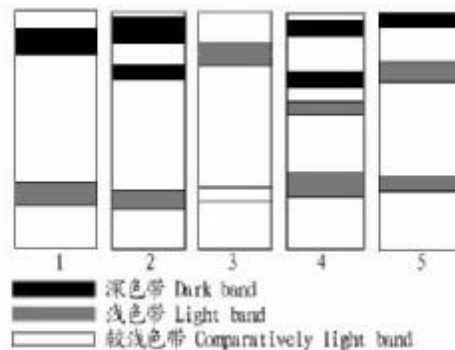


图 1 不同处理对石竹叶绿素含量的影响

Fig. 1 The effects of different treatments on the content of chlorophyll in *Dianthus chinensis* L.

2.3 不同处理对石竹过氧化物酶同工酶的影响 经聚丙烯酰胺凝胶电泳表明(图 2),不同镉浓度处理的石竹试材在酶带数量、相对迁移率(Rf)等方面均有较大差异。由图 2 可知,从酶带数量上看,在 5 个不同处理试材的过氧化物酶同工酶中,试材间的酶带在 7 个位置上的表现不同,在酶带的

活性宽窄等方面也存在差异。其中 3、4、5 号的酶带与 1 号酶带均表现出一定的差异。2 号酶带与 3 号酶带的差异较小。说明某些酶带在镉胁迫下与对照组(1 号)有差别,并且在不同浓度下情况也不一致,这种酶谱带的变化说明了镉胁迫对植物基因活性是有影响的。过氧化物酶同工酶不同谱带的差异表明了控制过氧化物酶同工酶合成的基因活性的差异。



注:1~5 分别为对照(CK)、处理 1、2、3、4。

Note:1-5 stand for control (CK), treatments 1,2,3 and 4 resp.

图 2 试材过氧化物酶同工酶谱型

Fig. 2 The spectrum types of PPO isozymes in test materials

3 讨论

(1) 研究结果表明,低浓度的镉促进芽的生长,高浓度抑制其生长,对根的抑制大于芽。当镉浓度为 50.0 mg/L 时(处理 4),石竹种子的胚根刚突破种皮伸长约 1~2 mm 即变黄色,停止生长。低浓度促进芽的生长。张春荣等认为,高浓度抑制其生长可能与种子结构和镉的作用特点有关<sup>[8]</sup>。其一,种子吸胀萌动时,胚根快速吸水伸长并最先突破种皮,这时根在镉的积累上及在受胁迫的时间上大于芽,从而表现为胁迫较重;其二,镉进入植物体后,大多数积累在根的生长部位,根细胞壁中存在大量交换位点,能将重金属离子固定在这些位点上,进而迫害细胞内染色体和核仁。张春荣等的研究还发现植物耐镉性强弱同镉胁迫下植物体内形成的重金属结合蛋白有关<sup>[8]</sup>。

(2) 在试验的第 20 天,成熟石竹植株未死亡,但从生理机制上已经出现了胁迫,镉对石竹毒害受时间和浓度的制约,与杨双春等的研究一致<sup>[9]</sup>。镉随时间的增长而积累过多时,对石竹产生毒害,使植株叶绿素失绿,叶绿素含量下降。镉对叶绿素生物合成的抑制早于对光合作用功能的抑制。

(下转第 11987 页)

**2.4 棉花产量及产量构成** 从表 5 的产量结果可以看出, 喷施液体地膜的处理与裸地对照相比, 籽棉产量都有所提高, 其中喷施 ZNFF-6 液体地膜处理的籽棉产量与裸地对照相比增产 6.6%, 差异经方差分析达到了显著水平; 喷施 ZNFF-6 液体地膜与燕新液体地膜处理的籽棉产量甚至高于塑

料地膜覆盖的处理, 但差异未达显著水平。喷施液体地膜对单铃重和衣分影响不大, 只有塑料地膜覆盖处理衣分偏低; 单株铃数塑料地膜覆盖处理和裸地对照都偏低, 喷施液体地膜各处理单株铃数增加 1.4~1.7 个。

表 5 不同处理棉花产量及产量构成

Table 5 Yield and yield components of cotton under each treatment

处理	单株铃数	单铃重//g	衣分//%	实收籽棉产量//kg/hm <sup>2</sup>	皮棉产量//kg/hm <sup>2</sup>
Treatment	Number of bolls per plant	Boll weight	Lint percentage	Seed cotton yield	Lint yield
ZNFF-6	12.7	5.4	40.5	3 529.5 a	1 429.5
燕新 Yanxin	12.8	5.3	40.8	3 499.5 ab	1 428.0
塑膜 Plastic film	11.1	5.4	39.9	3 412.5 ab	1 362.0
满地宝 Mandibao	12.5	5.3	40.5	3 379.5 ab	1 368.0
裸地 Naked land	11.1	5.3	40.5	3 310.5 b	1 341.0

注: 表中同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

Note: Different small letters in the same column mean significant difference at 0.05 level.

### 3 结论与讨论

(1) 液体地膜具有明显的保水效果, 尤其是在出现少量降雨的情况下, 塑料地膜阻止了雨水在小行间的下渗, 而液体地膜则使小行间土壤水分含量增加, 在整个棉花苗期都表现出较强的保水作用。

(2) 液体地膜有一定的增温作用, 在棉花苗期使 5 cm 土壤温度较裸地对照增加 1.0 °C 左右, 但其增温效果不如塑料地膜, 塑料地膜与裸地对照相比, 增温幅度在 2.2 °C。进入现蕾期棉花开始封垄后, 无论是塑料地膜还是液体地膜, 都逐渐失去了增温作用。

(3) 塑料地膜覆盖对棉花的促早作用明显, 首先是使棉花出苗时间缩短, 棉花苗期生长加快, 在 7 月 15 日前其各项生育指标均高于裸地对照与喷施液体地膜的处理, 但与早发

伴随的往往是棉花的早衰。从 7 月 15 日进入盛花期以后, 喷施液体地膜处理的棉花各项生育指标开始超过塑料地膜覆盖的处理, 具有明显的后发优势, 致使最终产量与塑料地膜覆盖处理持平, 除喷施 ZNFF-6 液体地膜处理的籽棉产量显著高于裸地对照外, 其他各处理之间的产量水平差异不明显。

(4) 液体地膜具有一定的应用价值, 但其产品性能仍需要进一步完善, 其用量与使用方法也需进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 孙孝贵, 刘文江, 甘润伟. 新疆棉田残膜危害及其治理对策[J]. 中国棉花, 2005, 33 (2): 7-8.
- [2] 赵静, 赵伟. 地膜覆盖存在的问题及对策[J]. 河南农业, 2006 (2): 49.
- [3] 杨青华, 韩锦峰, 刘华山, 等. 液体地膜对棉花生长发育的影响[J]. 华北农学报, 2003, 18 (1): 47-49.
- [4] 张宪政, 陈凤玉, 王荣富. 植物生理实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学出版社, 1994: 135-142.
- [5] 张治安, 张美善, 蔚荣海. 叶绿素色素的定量测定[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 43-45.
- [6] 赵雨云, 郭晓贤. Cr 胁迫对茄子种子发芽和幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2008 (9): 8-9.
- [7] PENG L, PARDEE A B. Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction[J]. Science, 1992, 257: 967-971.
- [8] 张春荣, 李红, 夏立江, 等. 镉、锌对紫花苜蓿种子萌发及幼苗的影响[J]. 华北农学报, 2005, 20 (1): 96-99.
- [9] 杨双春, 张洪林. 镉胁迫对玉米生理特性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14 (1): 57-59.
- [10] 杨丹慧. 重金属离子对高等植物光合膜结构与功能的影响[J]. 植物学通报, 1991, 8 (8): 26-29.
- [11] MO C H, WU Q T, ZHOU Y P, et al. A preliminary study on the effect of municipal sludge on crop seed germination and seedling growth[J]. Chin J Appl Ecol, 1997, 8 (6): 645-649.
- [12] 李宏. NaCl 胁迫对菜豆过氧化物酶同工酶谱带的影响[J]. 渝大学学报: 自然科学版, 1998, 15 (1): 33-37.

(上接第 11973 页)

叶绿素含量降低的另一个原因是由于重金属离子引起叶绿素酶活性的升高<sup>[10]</sup>。镉在植株体内随时间积累, 对植株体的伤害逐渐显现。低浓度重金属对植物生长的促进作用可能是对最初伤害的一种保护反应<sup>[11]</sup>。

(3) 关于胁迫环境下过氧化物酶同工酶活性的改变仅见盐胁迫对冬小麦叶、菜豆过氧化物酶同工酶的影响<sup>[12]</sup>, 试验结果表明, 镉环境下对石竹叶过氧化物酶的影响主要表现为个别酶带 Rf 值的改变、酶带数的下降和活性的增加。说明重金属镉能对石竹的酶活性产生影响, 石竹对镉胁迫产生了相对适应。

#### 参考文献

- [1] 傅沛云. 东北植物检索表[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 152.
- [2] 王真辉, 林位夫. 农田土壤重金属污染及其生物修复技术[J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2002, 30 (4): 386-393.
- [3] 慈恩, 高明, 王子芳, 等. 紫花苜蓿种子萌发与幼苗生长的影响研究