

Zn²⁺与干旱交叉胁迫对当归种子萌发和幼苗生理特性的影响

叶文斌

(陇南师范高等专科学校 农林技术学院, 成县 742500)

摘要: 以甘肃道地中药材当归 (*Angelica sinensis*) 为对象, 通过室内砂培方法, 研究不同浓度 (10⁻⁶、10⁻⁴ 和 10⁻³ mol·L⁻¹) Zn²⁺ 和不同浓度 (5%、10%、15%、20% 和 30%) PEG 模拟干旱胁迫对当归种子萌发、幼苗生长、渗透调节物质积累和活性氧代谢的影响。结果表明, 低浓度 Zn²⁺ 和 PEG 能显著促进当归种子萌发和幼苗生长; 随着干旱胁迫的加剧和 Zn²⁺ 浓度的提高, 种子萌发率显著降低, 幼苗生长受阻, 叶片 O₂⁻ 产生速率和 H₂O₂ 含量明显增加, SOD、POD、CAT 和 APX 活性先升后降; 高浓度 Zn²⁺ 和 PEG 处理下 GSH 和 AsA 含量明显降低, 幼苗叶片中 Pro、可溶性糖和 MDA 含量随 Zn²⁺ 和 PEG 浓度升高而升高。

关键词: Zn²⁺; PEG; 当归; 渗透调节物质; 活性氧代谢

中图分类号: Q945; S567.5

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)02-0305-05

Effect of Zn²⁺ and drought on seed germination and seedling physiological characters of *Angelica sinensis*

YE Wenbin

(School of Agriculture and Forestry Technology, Longnan Teachers College, Chenxian 742500)

Abstract: A sand culture experiment was conducted to study the effects of Zn²⁺ at different concentrations (10⁻⁶, 10⁻⁴ and 10⁻³ mol·L⁻¹) and PEG-6000 (5%, 10%, 15%, 20% and 30%) on seed germination, seedling growth, osmotic accumulation, and active oxygen metabolism of *Angelica sinensis*, an authentic Chinese herbal from Gansu. The results showed that a low concentration of Zn²⁺ and PEG significantly enhanced seed germination and seedling growth. With the increasing Zn²⁺ and PEG concentrations, the germination percentage significantly decreased and the seedling growth was significantly inhibited. At the same time, the leaf O₂⁻ production rate and H₂O₂ content dramatically increased and the activities of superoxide dismutase, peroxidase, catalase, and ascorbate peroxidase decreased after an initial increase. The contents of glutathione and ascorbic acid in the leaf decreased markedly, while the leaf proline, soluble sugar, and malonaldehyde contents had a significant increase with an increase of the concentrations of Zn²⁺ and PEG.

Key words: Zn²⁺; PEG; *Angelica sinensis*; osmotic; active oxygen metabolism

Zn 是植物生长必需的微量元素, 参与植物的新陈代谢过程^[1]。早期相关的研究主要集中于 Zn 在植物体内的吸收、分布、累积以及缺 Zn 导致的危害^[3-6], 近年来 Zn 对植物的毒害作用及其机制的研究也逐渐增多^[7-8], 过量的 Zn²⁺ 扰乱了原有的植物体内离子平衡系统, 造成抗氧化系统代谢过程的紊乱^[9-11], 进而致使作物减产^[3]。种子萌发是影响植物一生的主要阶段, 近年来对种子逆境萌发和生活策

略的研究越来越多^[13-14]。当归 (*Angelica sinensis*) 在甘肃产量占全国总产量的 70%, 无论是质量或数量, 堪称全国第一^[12], 而陇南地区, 是大量栽培当归的主产区之一, 近年来随着陇南铅锌矿产经济的迅猛发展, 锌污染造成土壤中锌含量过高, 对甘肃道地中药材当归的品质产生了严重的影响。为了揭示当归抵抗锌胁迫的内在机理, 研究土壤中重金属锌对当归的影响行为和揭示特殊生境植物的当归种

收稿日期: 2014-12-22

基金项目: 甘肃省中青年基金 (3YSO61-A25-030), 甘肃省教育厅项目 (0928B-1) 和陇南师范高等专科学校重点项目 (2014LSZK01001) 共同资助。

作者简介: 叶文斌, 讲师。E-mail: yewenbinbest@sohu.com

子萌发特性和种群更新机制,对培育和保护耐盐抗旱的当归植物资源具有重要意义,也对科学种植当归,提高产量和品质具有实际指导意义。

1 材料与方

1.1 材料

当归种子购自甘肃省陇南市西和县,用 $ZnCl_2$ 和蒸馏水配制成 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 和 10^{-3} $mol \cdot L^{-1}$ 的 Zn^{2+} 培养液,用 PEG(聚乙二醇,分子量为 6000)配制 5%、10%、15%、20% 和 30% 的溶液。

1.2 方法

1.2.1 种子萌发测定 在培养皿(直径 12 cm)的底部铺上 2 张滤纸,各培养皿准确加入 2 mL $10^{-6} \sim 10^{-3}$ $mol \cdot L^{-1}$ 的 Zn^{2+} 培养液与 2 mL 5%~30% 的 PEG 培养液进行早盐交叉胁迫处理(如: 10^{-6} $mol \cdot L^{-1}$ Zn^{2+} +5%PEG、 10^{-6} $mol \cdot L^{-1}$ Zn^{2+} +10%PEG、 10^{-6} $mol \cdot L^{-1}$ Zn^{2+} +15%PEG 依次进行早盐交叉胁迫组合 10^{-3} $mol \cdot L^{-1}$ Zn^{2+} +30%PEG),均匀点播经 0.1% $HgCl_2$ 消毒并浸种 4 h 后的当归种子 100 粒,重复 3 次,以蒸馏水培养为对照(CK),置入 25℃ 的光照培养箱中,每天光照 12 h,3 d 后开始记录萌发种子数,计算种子的萌发率、萌发指数,并测定初生胚根及下胚轴长度^[15-16],种子萌发率和种子萌发指数计算参照 Leather 和 Einhellig^[17]的方法。

1.2.2 幼苗生长测定 参照叶文斌等^[15-16]的方法在 250 mL 的小烧杯底部铺 2 张滤纸,以消毒和高温灭菌的砂作为培养基质,每杯培养 50 株当归幼苗,5 次重复,用上述两者组合的方法加入 2 mL 各浓度 Zn^{2+} 与 2 mL 不同浓度的 PEG 培养液,以蒸馏水为对照,定时补以相对应的 Zn^{2+} 和 PEG 培养液和蒸馏水,用保鲜膜将烧杯封口,防止水分蒸发影响浓度。将烧杯置于恒温 25℃、12 h·d⁻¹ 的光照培养箱中培

养。第 15 天用直尺测定受体作物幼苗的根长、苗高。将根与苗分开,用“排水法”^[15]测定根的体积后,置于 105℃ 的烘箱中杀青 30 min,在调至 75℃ 烘至恒重,称其每 30 株的苗干重和根干重。

1.2.3 渗透调节物质含量和抗氧化系统活性的测定 培养第 15 天后取健康生长当归幼苗植株顶部第 2 和第 3 片全展叶测定可溶性糖含量、游离脯氨酸的含量和丙二醛含量^[19];依据文献测定超氧阴离子 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率^[20]和 H_2O_2 ^[21]含量;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性及谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(AsA)含量的测定^[19]。

1.3 数据统计与分析

数据用 SPSS17.0 软件统计分析,用单因素方差分析结合多重比较进行显著性检验,不同小写字母表示显著性差异 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 Zn^{2+} 和 PEG 模拟干旱胁迫对当归种子萌发的影响

在 22 ± 1 ℃、湿度 $40\% \pm 2\%$ 的条件下,测得保润剂溶液重量变化如下。

由图 1 可知,随着 PEG 浓度的提高,当归种子的萌发率、萌发指数、初生胚根长和下胚轴长都在逐渐降低。在不同浓度的 PEG 和 $10^{-6} \sim 10^{-4}$ $mol \cdot L^{-1}$ Zn^{2+} 浓度交叉胁迫下,当归种子的萌发率、萌发指数、初生胚根长和下胚轴长都有不同程度的升高;在不同浓度的 PEG 和 10^{-3} $mol \cdot L^{-1}$ Zn^{2+} 处理浓度下,当归种子的萌发率、萌发指数和初生胚根长都有不同程度的升高,表明低浓度的 Zn^{2+} 处理能有效地减轻干旱胁迫对当归种子的萌发和初生生长。

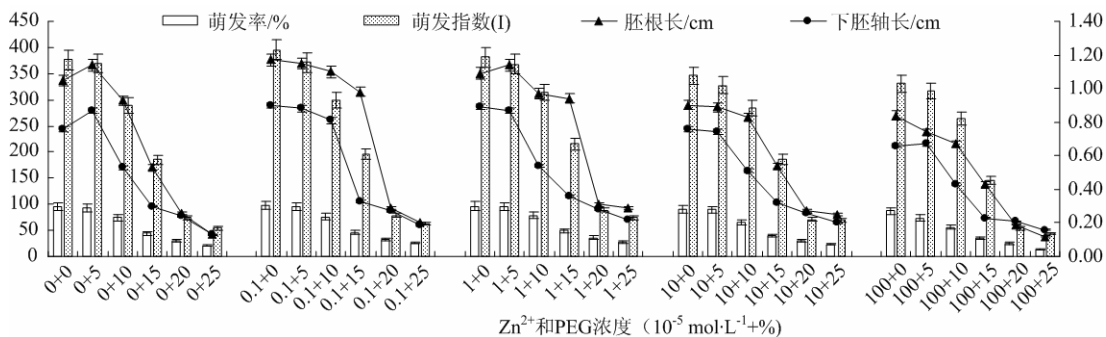


图 1 Zn^{2+} 和 PEG 模拟干旱胁迫对当归种子萌发的影响

Figure 1 Influence on the seed germination of *Angelica sinensis* with simulated drought stress

2.2 Zn^{2+} 和 PEG 模拟干旱胁迫对当归幼苗生长影响

由图 2 可以得知当归植物幼苗的根长、苗高、

根体积、根干重和苗干重在 PEG 和 Zn^{2+} 交互胁迫的处理下表现出了不同的效应,当归幼苗生长生物测

定指标在低浓度 Zn²⁺ (10⁻⁶~10⁻⁵ mol·L⁻¹) 下为促进作用, 随着 Zn²⁺处理浓度的逐渐升高 (10⁻⁴~10⁻³ mol·L⁻¹) 为表现为抑制作用。说明低浓度 Zn²⁺能促进当归幼苗的生物量积累, 而浓度过大会引起当归幼苗生长受限, 使生物量积累减弱, 这也表明低浓度 Zn²⁺可以打破干旱胁迫对当归幼苗的生长和生物量积累的抑制响应, 提高当归幼苗在较为干旱环境中的适应性, 增强当归幼苗在生长过程中的生物量积累。

2.3 Zn²⁺和 PEG 模拟干旱胁迫对当归幼苗中渗透调节物质、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率的影响

由图 3 可以看出, 当归幼苗随 PEG 浓度的升高, 植物体内可溶性糖、丙二醛、游离脯氨酸、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率除 5% 之外, 其他 PEG 浓度与对照相比均有所升高。随着 Zn²⁺和 PEG 浓度交互胁迫

的强度增加, 当归幼苗植株体内所考察的指标也随胁迫的升高逐渐呈现出先降低后升高的趋势, Zn²⁺浓度在 10⁻⁶~10⁻⁵ mol·L⁻¹ 时当归幼苗植株体内的可溶性糖、丙二醛、游离脯氨酸、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率均低于无 Zn²⁺的胁迫作用; 当当归在 Zn²⁺浓度为 10⁻⁴~10⁻³ mol·L⁻¹ 时, 体内可溶性糖、丙二醛、游离脯氨酸、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率急剧升高, 这说明高浓度的 Zn²⁺胁迫会随着 PEG 模拟干旱刺激当归幼苗产生较多的可溶性糖、脯氨酸和引发叶片中 H₂O₂ 含量的积累, 促使植株释放过量的 O₂⁻。结果表明, 低浓度 Zn²⁺可以打破干旱条件对当归幼苗的生长限制, 而高浓度的 Zn²⁺胁迫对于干旱条件下当归的生长和生物量的积累没有好处, 反而会产生双重的胁迫。

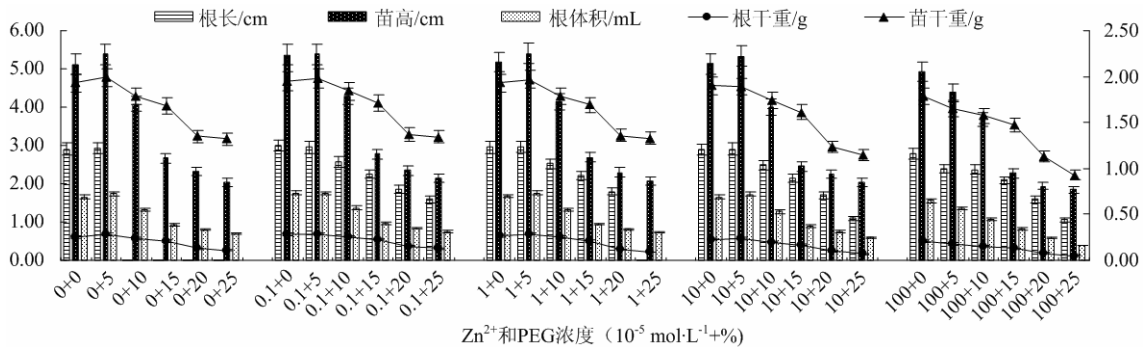


图 2 Zn²⁺和 PEG 模拟干旱胁迫对当归幼苗生长的影响

Figure 2 Influence on the seedling growth of *Angelica sinensis* with simulated drought stress

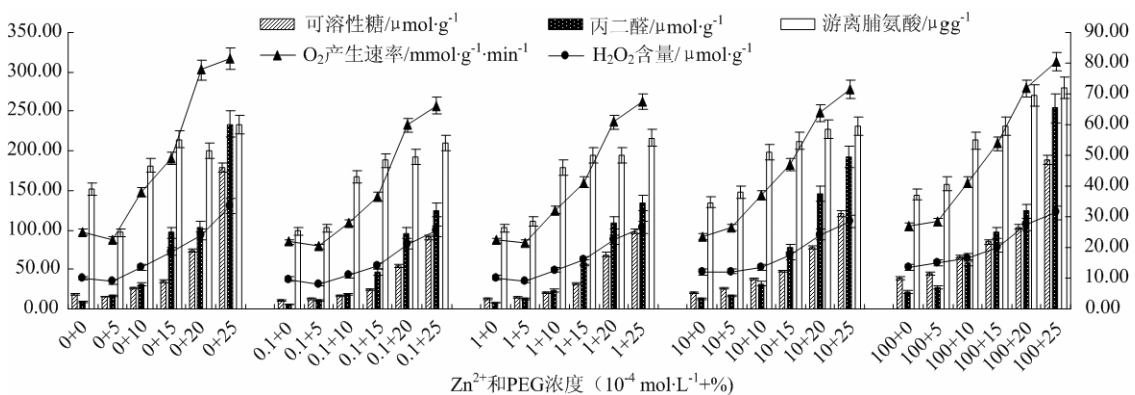


图 3 Zn²⁺和 PEG 模拟干旱胁迫对当归幼苗中渗透调节物质、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率的影响

Figure 3 Influence on the contents osmotica, H₂O₂ and O₂⁻ of *Angelica sinensis* with simulated drought stress

2.4 Zn²⁺和 PEG 模拟干旱胁迫对当归幼苗中 SOD、POD 和 CAT、APX 活性和 GSH、AsA 含量影响

由图 4 可知, PEG 干旱胁迫对当归幼苗叶片中 SOD、POD、CAT 和 APX 活性都表现出明显的

影响, 随着 PEG 浓度的增加, SOD、POD、CAT 和 APX 活性都逐渐表现为先升高后降低的趋势, 在 PEG 浓度为 5% 时当归幼苗表现出对几种酶活性的应激升高作用, 在高浓度干旱处理下对其活性表现出降低趋势; GSH 含量也表现为先升高后降低的趋

势, AsA 含量变化不大。当 Zn^{2+} 和 PEG 干旱胁迫交互作用时, 当 Zn^{2+} 处理浓度为较低的 $10^{-6} \sim 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 当归幼苗叶片中 SOD、POD、CAT、APX 活性和 GSH 含量都与单纯干旱胁迫相比表现出明显的升高, 而且随着 PEG 浓度的增加这 5 种指标都逐渐表现为先升高后降低的趋势, AsA 含量在 Zn^{2+} 为 $10^{-6} \sim 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度处理与干旱交互胁迫作用变化不大, 但在 $10^{-4} \sim 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理与干旱

交互胁迫作用下 AsA 含量急剧降低。这也说明, AsA 含量在 Zn^{2+} 和干旱交互胁迫在浓度的依赖性上具有显著的影响。总之, 适度的 Zn^{2+} 不但可以促进当归幼苗提高自身生理代谢活动, 而且可以增强在干旱胁迫环境中当归幼苗的生活力, 帮助当归植物在高旱条件下打破干旱胁迫影响, 提高当归幼苗的抗旱能力。

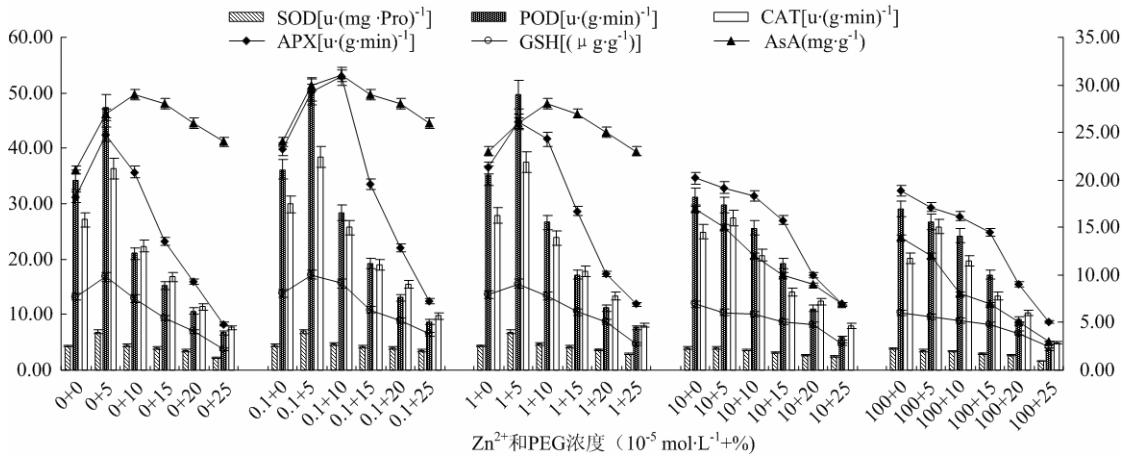


图 4 Zn^{2+} 和 PEG 模拟干旱胁迫对当归幼苗中 SOD、POD、CAT、APX 活性和 GSH 和 AsA 含量的影响

Figure 4 Influence on the SOD, POD, CAT and APX activities and the contents of GSH, AsA of *Angelica sinensis* with simulated drought stress

3 小结与讨论

生物量是当归对 Zn^{2+} 和 PEG 模拟干旱交互胁迫响应的综合反映, 也是检验当归植株生长情况直接体现。本研究表明, 随着 Zn^{2+} 胁迫强度的增加, 在较高浓度时当归种子的萌发率、萌发指数、初生胚根长和下胚轴长都在逐渐降低, 当归植物幼苗的根长、苗高、根体积、根干重和苗干重也表现出强烈浓度效应, 但在低浓度 10^{-6} 和 $10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时在不同 PEG 模拟干旱条件处理下当归的种子萌发、幼苗生长都表现出积极的促进作用, 说明低浓度的 Zn^{2+} 在一定程度上会解除干旱环境对当归幼苗的伤害提高当归幼苗的耐旱性。

在当归遭受干旱胁迫时, 活性氧会大量积累并造成膜脂过氧化, 叶片中 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率升高, 刺激渗透调节能力和维持离子的相对均衡而适应干旱条件, 引起当归植物胞质中积累可溶性糖、脯氨酸和 MDA 等物质来维持细胞的渗透平衡, 增强环境的适应能力。在 Zn^{2+} 浓度较低时, 当归幼苗植株体内的可溶性糖、丙二醛、游离脯氨酸、 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率均低于无 Zn^{2+} 的胁迫作用, 这也说明低浓度的 Zn^{2+} 会主动适应外界干旱的环境条

件, 使幼苗在生长和发育上尽量减轻外界逆境的影响; 当归在 Zn^{2+} 浓度较高时, 体内可溶性糖、丙二醛、游离脯氨酸、 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率就会急剧升高, 胁迫会随着 PEG 模拟干旱刺激当归幼苗发生膜脂过氧化作用使膜透性改变, 叶片中 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率也会急剧升高, 可能在当归体内大量积聚最终分解产物丙二醛 (MDA), 同时对膜和细胞造成一定的伤害, 抑制植物的生长和生物量的积累。

通过积累有机溶质进行渗透调节是植物响应盐碱和干旱胁迫的重要机制, 不同植物在萌发期的耐盐性不同, 低浓度的盐胁迫能促进一些植物种子萌发, 高浓度的盐胁迫对种子萌发有明显抑制作用^[22]。微量的 Zn^{2+} 被当归种子和幼苗吸收后, 促进干旱胁迫条件下种子的萌发, 提高萌发势, 同时有可能结合到植物体内的有关酶活性基团上面, 刺激植物的生理活性, 提高生活力和对干旱环境的抗性。过量的 Zn^{2+} 进入植物体内, 与某些酶的非活性基团结合或取代其他元素使其变性^[17-18]; 打破了植物自身的防御平衡, 导致细胞 DNA 等大分子物质损伤, 甚至造成细胞死亡^[19-20]; 较高浓度 Zn^{2+} 造成当归体内 SOD、POD、CAT 及 APX 酶活性比的不

平衡,引起生理生化过程紊乱,并最终导致对当归的伤害,而且还会破坏膜的功能和抑制当归植物的酶活性,导致体内活性氧增多,启动膜质过氧化,从而破坏膜的结构,影响到对干旱胁迫的拮抗作用。当当归幼苗在干旱逐渐增强的条件下,体内氧化产物积累到一定水平时,保护性酶活性就受到抑制,不能有效清除当归体内产生的自由基和大量 H₂O₂,使其内部 O₂⁻的增加大于保护性酶清除 O₂⁻的速度,这样 O₂⁻大量积累会使植物受害逐渐加重,而低浓度或适量 Zn²⁺就会促进 SOD、POD、CAT 和 APX 酶的活性,增强对自由基、H₂O₂ 和 O₂⁻的清除能力。当归体内由抗氧化酶和还原性小分子物质如 AsA、GSH 等组成的抗氧化系统在减轻干旱胁迫伤害中发挥着重要作用,共同保护当归植物免受活性氧伤害,当高浓度的旱盐交互胁迫下,AsA 和 GSH 含量急剧下降可能是 APX 活性提高后在清除 H₂O₂ 的过程中消耗的结果,这些都与植物在长期的进化过程中已形成的一系列耐 Zn 和抗旱的机制有关。

因此,研究土壤中锌对于干旱条件下当归生长的影响行为,对干预干旱条件下特殊经济中药材的生产和品质的提高,为科学种植与栽培当归具有现实的农业指导意义,同时对预防锌在当归种植环境中的毒理效应具有重要的理论意义。

参考文献:

- [1] Ramesh S A, Choimes S, Schachtman D P. Over-expression of an Arabidopsis zinc transporter in hordeum vulgare increases short-term zinc uptake after zinc deprivation and seed zinc content [J]. *Plant Mol Biol*, 2004, 54 (3): 373-385.
- [2] 领敏华, 张继封, 领建明, 等. 锌对青花菜叶片光合特性的影响[J]. *兰州大学学报: 自然科学版*, 2008, 44(5): 35-39.
- [3] Zheng N, Wang Q, Zhang X, et al. Population health risk due to dietary intake of heavy metals in the industrial area of Huludao city, China [J]. *Sci Total Environ*, 2007, 387 (1/3): 96-104.
- [4] Küpper H, Zhao F J, McGrath S P. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Physiol*, 1999, 119(1): 305-312.
- [5] Cakmak I, Kalayc M, Ekiz H, et al. Zinc deficiency as a practical problem in plant and human nutrition in Turkey: ANATO-science for stability project [J]. *Field Crop Res*, 1999, 60(1): 175-188.
- [6] Kochian L V. Zinc absorption from hydroponic solutions by plant roots [J]. *Dev Plant Soil Sci*, 1993, 55: 45-45.
- [7] Rout G R, Das P. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc [J]. *Agronomie*, 2003, 23(1): 3-11.
- [8] Brune A, Urbach W, Dietz K J. Compartmentation and transport of zinc in barley primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance [J]. *Plant Cell Environ*, 2006, 17(2): 153-162.
- [9] Raboy V, Dickinson D B. Effect of phosphorus and zinc nutrition on soybean seed phytic acid and zinc [J]. *Plant Physiol*, 1984, 75(4): 1094-1098.
- [10] Kalyanaraman S, Sivagurunathan P. Effect of zinc on some important macro and micro elements in black gram leaves [J]. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 1994, 25(13/14): 2247-2259.
- [11] Wang C, Zhang S H, Wang P F, et al. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings [J]. *Chemosphere*, 2009, 75(11): 1468-1476.
- [12] 赵庆芳, 刘靓, 李巧峡, 等. 15 种植物水提液对当归根腐病抑制活性的初步筛选 [J]. *西北师范大学学报: 自然科学版*, 2012, 48(2): 66-69.
- [13] Schmidhalter U, Oertli J J. Germination and seedling growth of carrots under salinity and moisture stress [J]. *Plant and Soil*, 1991, 132: 243-251.
- [14] 鱼小军, 王彦荣, 龙瑞军. 光照、盐分和埋深对无芒隐子草和条叶车前种子萌发的影响 [J]. *生态学杂志*, 2006, 25(4): 395-398.
- [15] 叶文斌, 樊亮. 党参和黄芪种植地土壤水浸液对蚕豆化感作用研究种子 [J]. *广东农业科学*, 2013, 48(6): 18-21; 28.
- [16] 叶文斌, 樊亮, 贡汉伯. Pb²⁺对甘肃纹党种子萌发和幼苗生理特性的影响 [J]. *西北农业学报*, 2012, 21(12): 142-148.
- [17] Leather G R and Einhellig F A. Bioassays in the study of allelopathy [M]// Putnam A R, Tang C S, eds. *The Science of Allelopathy*. New York: John Wiley & Sons, 1986: 133-145.
- [18] Michel B E, Kaufmann M R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000 [J]. *Plant Physiology*, 1973, 51(5): 914-916.
- [19] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. *现代植物生理学实验指南* [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 95-96; 303; 305; 127.
- [20] Küpper H, Küpper F, Spiller M. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants [J]. *Photosynth Res*, 1998, 58(2): 123-133.
- [21] Gichner T, Patková Z, Száková J, et al. Toxicity and DNA damage in tobacco and potato plants growing on soil polluted with heavy metals [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2006, 65(3): 420-426.
- [22] Ma H Y, Liang Z W, Kong X J, et al. Effects of salinity, temperature and their interaction on the germination percentage and seedling growth of *Leymus chinensis* (Trin) Tzve [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(10): 4710-4717.