

Pb胁迫对马蔺种子萌发 和幼苗根尖细胞有丝分裂的影响

王鸿燕, 黄苏珍^①

[江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014]

摘要: 采用水培法研究了不同浓度 Pb 胁迫对马蔺 [*Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz.] 种子萌发及根尖细胞有丝分裂的影响。结果显示, 在 500 ~ 1 500 mg · L⁻¹ 浓度范围内, 随 Pb 浓度的提高, 马蔺种子的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数及幼苗根尖细胞有丝分裂指数均呈现出逐渐降低的趋势。经 500、1 000 和 1 500 mg · L⁻¹ Pb 胁迫处理后, 种子发芽势分别仅为对照的 52.8%、51.3% 和 47.2%, 种子发芽率分别仅为对照的 55.8%、54.3% 和 46.5%, 种子发芽指数分别比对照降低了 55.1%、56.7% 和 57.8%, 种子活力指数分别比对照降低了 65.4%、72.0% 和 79.2%, 幼苗根尖细胞有丝分裂指数分别降至对照的 28.1%、21.9% 和 13.5%, 且各处理组各指标与对照的差异均达到显著水平 ($P < 0.05$), 但各处理组间的种子发芽势、发芽率、发芽指数及幼苗根尖细胞有丝分裂指数差异均不显著。研究结果表明, Pb 胁迫对马蔺种子萌发及幼苗根尖有丝分裂有显著抑制作用, 但马蔺种子萌发和幼苗根尖有丝分裂对浓度高于 500 mg · L⁻¹ 的 Pb 胁迫反应不敏感。

关键词: 马蔺; Pb 胁迫; 种子萌发; 根尖细胞有丝分裂

中图分类号: Q945.78; X17 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)02-0053-04

Effects of Pb stress on seed germination and root-tip cell mitosis of *Iris lactea* var. *chinensis*

WANG Hong-yan, HUANG Su-zhen^① (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(2): 53-56

Abstract: The effects of Pb stress with different concentrations on seed germination and root-tip cell mitosis of *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz. were studied by water culture method. The results show that within 500 - 1 500 mg · L⁻¹ Pb, the seed germination energy, seed germination rate, seed germination index, seed vigor index and root-tip cell mitosis index of seedling of *I. lactea* var. *chinensis* decrease gradually with the increase of Pb concentration. Under 500, 1 000 and 1 500 mg · L⁻¹ Pb stress condition, the seed germination energy of *I. lactea* var. *chinensis* is 52.8%, 51.3% and 47.2% of that of the control. The seed germination rate is 55.8%, 54.3% and 46.5% of that of the control. The seed germination index decreases 55.1%, 56.7% and 57.8% compared to the control. The seed vigor index decreases 65.4%, 72.0% and 79.2% compared to the control. And the root-tip cell mitosis index is only 28.1%, 21.9% and 13.5% of that of the control. There are significant differences between the indexes of treatment groups and the control ($P < 0.05$), but the indexes among treatment groups are not significantly different except the seed vigor index. It can be concluded that the seed germination and root-tip cell mitosis of *I. lactea* var. *chinensis* are inhibited obviously under Pb stress, but they are not sensitive to the stress when the concentration of Pb is higher than 500 mg · L⁻¹.

Key words: *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz.; Pb stress; seed germination; root-tip cell mitosis

收稿日期: 2008-07-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30771520)

作者简介: 王鸿燕(1984—), 女, 安徽淮北市人, 硕士研究生, 主要从事观赏植物种质资源抗逆性评价研究。

^①通讯作者 E-mail: hsz1959@163.com

铅(Pb)是重金属污染物中危害最严重的元素之一,在常见的具有潜在毒性的重金属元素中,Pb排在第3位^[1]。Pb胁迫影响植物种子的萌发及根尖细胞的有丝分裂,在玉米(*Zea mays* L.)、蚕豆(*Vicia faba* L.)、小白菜(*Brassica chinensis* L.)、大蒜(*Allium sativum* L.)、洋葱(*Allium cepa* L.)及烟草(*Nicotiana tabacum* L.)等植物中已有诸多报道^[2-7]。

马蔺 [*Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz.]为多年生草本植物,具有较高的观赏价值。该种植物不仅抗性强、适应性广、生物量较大,且对Al、Cd、Cu、Pb等多种重金属胁迫均具有较好的抗性^[8-11]。作者通过对不同浓度Pb胁迫条件下马蔺种子萌发和根尖细胞有丝分裂的观察,研究Pb胁迫对马蔺植株形态建成早期生长及根尖细胞行为的影响,旨在探讨马蔺对Pb的耐性机制,为进一步研究与利用Pb耐性植物的种质和基因提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试植物马蔺引种自中国黑龙江,于江苏省·中国科学院植物研究所鸢尾种质圃栽培6a以上,马蔺种子为无性繁殖群体自然结实的籽实。

1.2 方法

1.2.1 种子萌发 于2008年3月参照文献^[12]的方法进行马蔺种子萌发。用体积分数0.5%的NaClO将马蔺种子消毒20 min,自来水冲洗数次后,常温浸种催芽。待种子露白后,挑选大小一致的种子排入铺有吸水纸的培养皿(直径12 cm)中,每个培养皿50粒,在培养皿中分别加入浓度为500、1 000、1 500 mg·L⁻¹的Pb处理液[以Pb(NO₃)₂的形式加入]15 mL,对照则加入15 mL水,每处理设3次重复。将种子置于25℃、相对湿度75%、光照度750 lx的光照培养箱中培养。每天加2 mL相应浓度Pb处理液,对照则加入2 mL水,以保持吸水纸的湿润,每3天更换1次吸水纸,以保持芽床的清洁。以幼根长度约为种子长度的一半作为发芽标准,每日观察并记录发芽种子数。在处理的第4天计算马蔺种子的发芽势,第8天计算马蔺种子的发芽率、发芽指数及活力指数,连续2天没有种子萌发则结束实验。取所有萌发的种子,用毫米刻度尺直接测量幼芽的长度。

1.2.2 根尖细胞有丝分裂观察 将萌发后的马蔺种子砂培,待幼苗长至高约10 cm时,选择株高和大小一致的幼苗置于500 mL培养瓶(8 cm×10 cm)中培养,外用黑色塑料薄膜包裹,以1/2Hoagland营养液预培养1周后,分别换用含500、1 000、1 500 mg·L⁻¹Pb的1/2Hoagland营养液(pH 6.8)培养,Pb以Pb(NO₃)₂的形式加入,对照则用不含Pb的1/2Hoagland营养液培养(pH 6.8),每处理3次重复。处理24 h后取长度为1~2 cm的根尖,按文献^[13]的方法制作染色体临时装片,置于Nikon H550S光学显微镜下观察。每处理观察9 000个以上的细胞,统计细胞有丝分裂指数。

1.3 数据计算和分析方法

按下列公式计算马蔺种子的发芽势、发芽率、发芽指数(GI)和活力指数(VI)^[14]以及根尖细胞有丝分裂指数:发芽势=(前4天种子发芽数/供试种子数)×100%;发芽率=(前8天种子发芽数/供试种子数)×100%; $GI = \sum Gt/Dt$; $VI = GI \times S$ 。式中,Gt为在t日的发芽数,Dt为发芽天数,S为幼苗的生长势(芽长度)^[2]。细胞有丝分裂指数=有丝分裂细胞数/观察细胞总数^[15]。

采用Excel和SPSS软件统计处理实验数据。

2 结果和分析

2.1 Pb胁迫对马蔺种子萌发的影响

2.1.1 对种子发芽势的影响 从发芽势可以看出种子发芽能力和种子出苗的整齐度^[16]。不同浓度Pb胁迫对马蔺种子发芽势的影响见表1。由表1可见,随Pb处理浓度提高,马蔺种子发芽势呈逐渐降低的趋势,经500、1 000、1 500 mg·L⁻¹Pb处理后,马蔺种子的发芽势均显著低于对照($P < 0.05$),分别为对照的52.8%、51.3%和47.2%,说明不同浓度Pb胁迫对马蔺种子发芽势均有一定的抑制作用;而各浓度Pb处理组间马蔺种子发芽势差异不显著,表明马蔺种子对高于500 mg·L⁻¹的Pb胁迫反应不敏感。

2.1.2 对种子发芽率的影响 不同浓度Pb胁迫对马蔺种子发芽率有明显的影响(表1)。经500、1 000、1 500 mg·L⁻¹Pb胁迫处理后,马蔺种子发芽率显著低于对照($P < 0.05$),分别为对照的55.8%、54.3%和46.5%,表现出随Pb处理浓度的提高而逐

渐降低的趋势,但各浓度 Pb 处理组间马蔺种子的发芽率差异不显著,与 Pb 胁迫对马蔺种子发芽势的影响效应基本一致。

2.1.3 对种子发芽指数的影响 经 500、1 000、1 500 mg · L⁻¹ Pb 胁迫处理后,马蔺种子的发芽指数显著低于对照($P < 0.05$)。对照组马蔺种子的发芽指数为 26.3(表 1),而 500、1 000 和 1 500 mg · L⁻¹ Pb 处理组马蔺种子的发芽指数分别比对照降低了 55.1%、56.7% 和 57.8%,表明 500~1 500 mg · L⁻¹ Pb 胁迫处理均能显著降低马蔺种子的发芽指数。但不同浓度 Pb 胁迫处理组间发芽指数差异不显著,

这一结果进一步说明马蔺种子对高于 500 mg · L⁻¹ 的 Pb 胁迫反应不敏感。

2.1.4 对种子活力指数的影响 不同浓度 Pb 胁迫对马蔺种子活力指数的影响见表 1。由表 1 可见,经 500、1 000 和 1 500 mg · L⁻¹ Pb 胁迫处理后,马蔺种子的活力指数逐渐降低,3 个浓度 Pb 处理组的种子活力指数分别比对照降低了 65.4%、72.0% 和 79.2%,显著低于对照($P < 0.05$),且 500 mg · L⁻¹ Pb 处理组与 1 500 mg · L⁻¹ Pb 处理组之间的种子活力指数有显著差异($P < 0.05$),表明高浓度 Pb 胁迫对马蔺种子活力具有更大的伤害作用。

表 1 不同浓度 Pb 胁迫对马蔺种子萌发的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Effect of Pb stress with different concentrations on seed germination of *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Pb 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Pb	发芽势/% Germination energy	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
0(CK)	83.3 ± 0.058a	86.0 ± 0.053a	26.3 ± 0.512a	28.9 ± 2.230a
500	44.0 ± 0.035b	48.0 ± 0.072b	11.8 ± 0.967b	10.0 ± 0.971b
1 000	42.7 ± 0.081b	46.7 ± 0.046b	11.4 ± 0.464b	8.1 ± 0.794bc
1 500	39.3 ± 0.031b	40.0 ± 0.020b	11.1 ± 0.931b	6.0 ± 0.835c

¹⁾ 同列中不同的字母表示差异显著($P < 0.05$) The different letters in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

2.2 Pb 胁迫对马蔺幼苗根尖细胞有丝分裂的影响

不同浓度 Pb 胁迫对马蔺幼苗根尖有丝分裂指数的影响见表 2。由表 2 可见,对照组马蔺幼苗根尖细胞有丝分裂指数为 0.003 10,而经过 500、1 000 和 1 500 mg · L⁻¹ Pb 胁迫处理后,马蔺幼苗根尖细胞有丝分裂指数分别降低至对照的 28.1%、21.9% 和 13.5%,表明不同浓度 Pb 胁迫均影响马蔺幼苗根尖细胞正常的有丝分裂,进而抑制根尖生长。差异显著性分析结果表明,各浓度 Pb 处理组与对照组间根尖细胞有丝分裂指数差异达到显著水平($P < 0.05$),但 3 个处理组间差异不显著,表明马蔺幼苗根尖对不同浓度 Pb 胁迫的反应基本一致。

表 2 不同浓度 Pb 胁迫对马蔺幼苗根尖细胞有丝分裂指数的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 2 Effect of Pb stress with different concentrations on root-tip cell mitosis index of *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz. seedling ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Pb 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Pb	有丝分裂指数 Mitosis index
0(CK)	0.003 10 ± 0.000 65a
500	0.000 87 ± 0.000 17b
1 000	0.000 68 ± 0.000 12b
1 500	0.000 42 ± 0.000 07b

¹⁾ 同列中不同的字母表示差异显著($P < 0.05$) The different letters in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

3 讨 论

上述实验结果表明,500、1 000、1 500 mg · L⁻¹ Pb 胁迫处理均抑制了马蔺种子的发芽势、发芽率、发芽指数及活力指数。这一现象与 Pb 胁迫对烟草、水稻(*Oryza sativa* L.)等作物种子萌发的影响效应一致^[7,17]。在种子萌发过程中,Pb²⁺ 进入细胞内并以可交换的形式置换淀粉酶中的 Ca²⁺,使 Ca²⁺ 与淀粉酶解离,或引起淀粉酶的空间构型改变^[18-20],使淀粉酶活性下降,进而影响种子的萌发。

根尖细胞中处于有丝分裂相的细胞越多,表明根尖生长越快,细胞有丝分裂指数越高。张义贤等^[21]用 0.01 mol · L⁻¹ Pb 处理大麦(*Hordeum vulgare* L.)根尖 24 h,大麦根尖细胞的有丝分裂指数迅速下降。同样,用 500、1 000、1 500 mg · L⁻¹ Pb 处理马蔺根尖,细胞的有丝分裂指数也显著降低。其原因可能是 Pb 干扰了促使细胞越过 G1 期限制点进入 S 期的触发蛋白的合成^[22-23],使细胞滞留在 G1 期而不能进入分裂态,从而阻碍了细胞分裂,导致有丝分裂指数降低;另外,进入细胞内的 Pb²⁺ 还能与带负电的核酸结合,降低 RNA 和 DNA 的活性,引起核

酸裂解并影响细胞有丝分裂过程^[24-25]。

虽然不同浓度 Pb 胁迫均抑制了马蔺种子的萌发及根尖细胞的有丝分裂,但除了种子活力指数在 500 mg · L⁻¹ 与 1 500 mg · L⁻¹ Pb 处理组之间有显著差异外,其他指标在各处理组间的差异均不显著,反映出随 Pb 胁迫浓度的逐渐升高,马蔺种子对高浓度 Pb 胁迫反应不敏感,推测其原因可能与植物细胞壁的屏障作用有关。据报道,Pb 与细胞壁具有高度亲和力^[26];杨居荣等^[27]对 Cd 和 Pb 在黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 和菠菜 (*Spinacia oleracea* L.) 细胞各部分分布进行对比后认为,Pb 沉淀于细胞壁的比例可达 77% ~ 89%;但也有研究表明,Pb 主要存在于马蔺部分根尖细胞的细胞膜上^[11]。细胞壁和细胞膜的这种沉淀作用阻止了过多的 Pb 进入细胞质内,但细胞壁和细胞膜的这种阻隔作用是有限的,当过多的重金属离子进入细胞质中,植物将启动或加强体内的 SOD、POD 和 CAT 等抗氧化系统,甚至会诱导一些特异抗性酶的生成,以清除重金属胁迫产生的自由基,保护细胞免受伤害^[28]。另外,细胞壁、细胞膜及液泡中的蛋白质、糖类等也能结合重金属离子并形成沉淀,降低植物所受的伤害^[28]。有关马蔺种子萌发对高浓度 Pb 胁迫不敏感的机理有待在酶水平及分子水平上进一步深入研究。

参考文献:

[1] 朱海江. 水稻对重金属铅的吸收积累特征及其农艺调控研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2004.

[2] 郑世英, 王丽燕, 商学芳, 等. 铅胁迫对玉米种子萌发及叶片渗透调节物质含量的影响 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(21): 5471 - 5472.

[3] 辛晓芸, 桑楠, 郑国柱. 铅诱发蚕豆根尖细胞的遗传损伤 [J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(6): 400 - 401.

[4] 张杏辉, 曹铭寻. Hg²⁺、Pb²⁺ 对小白菜种子萌发的影响研究 [J]. 广西园艺, 2004, 15(4): 2 - 3.

[5] 高扬, 石秀红, 何正飏, 等. 硝酸铅对大蒜根尖细胞有丝分裂的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(6): 603 - 605.

[6] 高扬, 武法清, 何正飏. 铅对洋葱根尖细胞有丝分裂的影响 [J]. 长春师范学院学报, 2003, 22(2): 57 - 59.

[7] 王树会, 许美玲. 重金属铅胁迫对不同烟草品种种子发芽的影响 [J]. 种子, 2006, 25(8): 27 - 29.

[8] 岳星慧. 浅谈草本花卉在电解铝污染区的应用 [J]. 青海农林科技, 2006(1): 75 - 77.

[9] 原海燕. 鸢尾属 (*Iris* L.) 4 种植物镉 (Cd) 积累、耐性机理及影响因子研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2006.

[10] 张开明, 佟海英, 黄苏珍, 等. Cu 胁迫对黄菖蒲和马蔺 Cu 富集及其他营养元素吸收的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(1): 18 - 22.

[11] Han Y L, Huang S Z, Gu J G, et al. Tolerance and Accumulation of lead by species of *Iris* L. [J]. *Ecotoxicology*, 2008, 17(8): 853 - 859.

[12] 仇硕. 镉 (Cd) 胁迫下黄菖蒲生长、毒害及耐性机理研究 [D]. 南京: 江苏省·中国科学院植物研究所, 2007.

[13] 张贵友, 吴琼. 普通遗传学实验指导 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2003: 3 - 8.

[14] 林振华. 小麦种子成熟度与种子活力的关系 [J]. 种子, 1998(2): 44 - 45.

[15] 江力榕, 陈沁, 刘文轩. 预处理对辣椒根尖细胞染色体切片的影响 [J]. 上海大学学报: 自然科学版, 2005, 11(4): 427 - 430.

[16] 居萍, 刘玉华. 不同处理对 4 种草坪种子发芽的影响 [J]. 江苏林业科技, 2004, 31(4): 29 - 31.

[17] 秦善丰, 铁柏清, 周细红, 等. 铅与镉对棉花和水稻萌发及生长的影响 [J]. 湖南农业大学学报, 2000, 26(3): 205 - 207.

[18] 葛才林, 杨小勇, 孙锦荷, 等. 重金属胁迫对水稻萌发种子淀粉酶活性的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2002, 30(3): 47 - 52.

[19] Mikami B, Adachi M, Kage T, et al. Structure of raw starch-digesting *Bacillus cereus* β -amylase complexed with maltose [J]. *Biochemistry*, 1999, 38(22): 7050 - 7061.

[20] 文允镒, 张志明, 胡蓓. 钙与钙调素 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1989: 63 - 164.

[21] 张义贤. 重金属对大麦 (*Hordeum vulgare*) 毒性的研究 [J]. 环境科学学报, 1997, 17(2): 199 - 205.

[22] Shahin S A, El-Amoodi K H. Induction of numerical chromosome aberrations during DNA synthesis using the fungicides nimrod and rubigan-4 in root tips of *Vicia faba* L. [J]. *Mutation Research*, 1991, 261(3): 169 - 176.

[23] Tomsett A B, Thurman D A. Molecular biology of metal tolerances of plants [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1988, 11: 383 - 394.

[24] Degraeve N. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium [J]. *Mutation Research*, 1981, 86(12): 115 - 135.

[25] Kazantzis G. Mutagenic and carcinogenic effects of cadmium [J]. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 1984, 8(4): 267 - 278.

[26] 杨居荣, 黄翌. 植物对重金属的耐性机理 [J]. 生态学杂志, 1994, 13(6): 20 - 26.

[27] 杨居荣, 鲍子平, 张素芹. 镉、铅在植物细胞内的分布及其可溶性结合形态 [J]. 中国环境科学, 1993, 13(4): 263 - 268.

[28] 王志香, 周光益, 吴仲民, 等. 植物重金属毒害及其抗性机理研究进展 [J]. 河南林业科技, 2007, 27(2): 26 - 28.