

锌胁迫对汉麻光合特性及叶绿素荧光参数的影响

保琦蓓¹, 唐寅², 田光明² (1. 宁波检验检疫科学技术研究院, 浙江宁波 315100; 2. 浙江大学环境与资源学院, 浙江杭州 31000)

摘要 [目的]研究汉麻在重金属锌胁迫下的光合特性及叶绿素荧光参数的响应。[方法]通过温室水培试验,研究不同浓度锌胁迫对汉麻光合特性及叶绿素荧光参数的影响。[结果]与 2 $\mu\text{mol/L}$ 锌浓度处理(CK)相比,缺锌 0 $\mu\text{mol/L}$ 和高浓度锌处理(50、100、200 $\mu\text{mol/L}$)的汉麻,其叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素均下降,叶绿素 a 减少速率最快;高锌处理随着锌浓度的增加,净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)呈下降趋势,胞间二氧化碳浓度(C_i)缓慢上升。胁迫 40 d 后,高锌处理的 PSII 原初光能转化效率(F_v/F_m)、实际光量子产量(Y)、光化学淬灭系数(q_P)、光合电子传递速率(ETR)随锌浓度的升高呈下降趋势,非光化学荧光淬灭系数(NPQ)在 200 $\mu\text{mol/L}$ 锌浓度水平下胁迫 10 d 后取得最大值,而后随时间延长而迅速衰减,叶绿素 b 与非光化学荧光淬灭机制对汉麻的光合作用起重要保护作用。[结论]锌对汉麻光合机制有明显的影响,缺锌和高浓度锌对汉麻光合代谢过程有抑制和损害。

关键词 锌胁迫;汉麻;光合速率;荧光特性

中图分类号 S563 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)28-0085-04

Effects of Zinc Stress on Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence Characteristics of *Cannabis sativa* L.

BAO Qi-bei¹, TANG Yin², TIAN Guang-ming² (1. Ningbo Academy of Science & Technology for Inspection & Quarantine, Ningbo, Zhejiang 315100; 2. College of Environmental & Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029)

Abstract [Objective] The aim was to investigate the effects of zinc stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of *Cannabis sativa*. [Method] The effects of different concentrations of zinc on the photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of *C. sativa* were studied with a solution culture. [Result] The results showed that with the increase of zinc concentration, the levels of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids decreased, and the reduction orate of chlorophylls was the fastest compared with 2 μmol zinc treatment(CK). For the plants under zinc stress, net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r) and stomatal conductance (G_s) showed a downward tendency as the concentration of Zn increased, while intercellular CO_2 concentration (C_i) increased. During the stress process, (F_v/F_m), actual quantum yield (Y), photochemical quenching coefficient (q_P), and electron transport rate (ETR) decreased. The non-photochemical quenching coefficient (NPQ) reached its maximum value at zinc level of 200 $\mu\text{mol/L}$ on the 10th day, and then rapidly decay over time. The zinc tolerance of *C. sativa* was related to the protection mechanism of chlorophyll b and non-photochemical quenching coefficient. [Conclusion] Zinc had significant effects on photosynthetic mechanism of *C. sativa*. The process of photosynthesis and metabolism was inhibited and damaged under zinc deficiency and high concentration of zinc.

Key words Zinc stress; *Cannabis sativa* L.; Photosynthetic rate; Fluorescence characteristic

锌作为植物必需的营养元素之一,也是一种重金属污染元素。近年来,关于锌对植物的毒害与植物耐锌机制已有大量研究,主要集中于对细胞超微结构、遗传物质、生理功能、生长发育等的影响^[1-3]。其中,光合作用是最重要的同化过程,并为植物的生长发育提供物质基础。关于锌胁迫对光合作用的影响研究较多,都反映出高浓度锌对光合作用有显著的抑制作用,同时缺锌也能引起植物生长发育受阻,但具体的机制仍不清楚^[4-6]。研究表明,麻类作物对重金属有较强的耐性和富集能力,汉麻属于四氢大麻酚含量低于 0.3% 的工业大麻,我国将工业大麻称为汉麻。汉麻属大麻属大麻科大麻种的一年生草本植物,具有生物量大、抗逆性强、生长速度快、易种植管理等优良特性,对低浓度污染区域实施植物修复具有广泛的应用前景^[7-9]。

目前对锌胁迫与植物光合作用的关系研究主要集中在非耐性植物方面,如粮食作物、果树等食用作物^[10-11],而对大生物量的纺织类作物汉麻的研究鲜见报道。笔者研究不同锌胁迫水平条件下汉麻光合特性和叶绿素荧光参数的变化,以期探讨汉麻的锌耐性机理及推动锌污染环境的植物修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试汉麻种子为汉麻的改良品种“云麻一号”,由云南汉麻产业投资控股有限公司提供。

1.2 试验设计 挑选子粒饱满的汉麻种子用超纯水冲洗干净,然后用超纯水浸泡 12 h,置于垫有双层纱布的 10 目筛子中萌发,温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 左右,萌发过程中保持纱布湿润。约 7~8 d 后待其长出 2 片真叶时,选择健壮、长势一致的汉麻幼苗于 2015 年 5 月 28 日转移至 10 L 塑料箱内,先用 1/2 Hoagland(加锌)营养液进行培养,并保持曝气防烂,光照 12 h/d,光照强度为 5 000 lx,温度控制在 25~30 $^{\circ}\text{C}$ 。培养 5 d 后,6 月 2 日用全 Hoagland 营养液(未加锌)进行锌处理,将 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 加入营养液中,设置 5 个 Zn^{2+} 浓度梯度:0、2、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$,其中 0 为缺锌组,2 $\mu\text{mol/L}$ 为适锌组(1 倍 Hoagland 营养液的含 Zn^{2+} 为 2 $\mu\text{mol/L}$) [对照(CK)],50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 为高锌组^[12]。每处理 3 次重复,每个重复放置 20 株汉麻植株。在锌胁迫的第 40 天分别测定根茎叶的生物量、叶绿素含量及光合参数,在 10 和 40 d 测定叶绿素荧光参数。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 生物量的测定。在 7 月 12 日取出植株,根系先用 5 mmol/L CaCl_2 洗脱,再用去离子水冲洗干净,滤纸吸干,测定各处理每株的株高、根长,然后将地上和根鲜样置于 105 $^{\circ}\text{C}$ 下杀青 15 min,于 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘至恒重,两者干重之和即为生物量。

基金项目 浙江省自然科学基金项目(LQ13B070003);国家质检总局科技计划项目(2014IK178)。

作者简介 保琦蓓(1982-),女,贵州普安人,高级工程师,博士,从事环境中重金属迁移转化研究。

收稿日期 2016-08-17

1.3.2 光合参数的测定。处理 40 d 后,于 9:30 ~ 11:00 用 Li-6400 型便携式光合作用仪(美国 Li-Cor 公司)测定汉麻完全展开叶的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间二氧化碳浓度(C_i)、蒸腾速率(Tr)。光量子密度通量为 $1\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

1.3.3 叶绿素荧光参数的测定。叶绿素荧光参数采用叶绿素荧光成像仪(德国 WALZ 公司的 Imaging-PAM Chlorophyll II Fluorometer)进行测定。测定时间分别在 6 月 12 日和 7 月 12 日的上午,测定前将活体植株暗适应 30 min,选取最上部大小适宜的完全展开叶,在软件的 Kinetics 窗口检测各叶绿素荧光参数的动力学变化曲线,相应的数据可直接从 Report 窗口导出^[13]。相关的叶绿素荧光参数分别包括 PSII 原初光能转化效率(F_v/F_m), ϕ_{psII} 实际产量(Y)、光化学荧光猝灭系数(qP)、非光化学荧光猝灭系数(NPQ)和光合电子传递速率(ETR)。以上每项重复测定 3 次。

1.3.4 叶绿素含量的测定。取新鲜植株叶片 0.2 g 去掉中脉并剪碎放入研钵中(取样部位为顶端第 2 和第 3 片完全展开叶),加入少量石英砂和 3 mL 80% 丙酮,研成匀浆后用 7 mL 丙酮冲洗干净转移到离心管,在 4 000 r/min 下离心 10 min,取上清液倒入比色皿中,以 80% 丙酮为空白对照,分别在波长 665、649、470 nm 下测定吸光度^[14]。根据公式(1)、(2)、(3)计算叶绿素浓度。

$$C_a = 12.21A_{663} - 2.81A_{646} \quad (1)$$

$$C_b = 20.13A_{646} - 5.03A_{663} \quad (2)$$

$$C_{x,c} = (1000A_{470} - 3.27Ca - 104Cb)/229 \quad (3)$$

$$\text{叶绿素含量} = (\text{色素浓度提取液体积} \times \text{稀释倍数}) / \text{样品鲜重} (\text{mg/g}) \quad (4)$$

式中, C_a 、 C_b 、 $C_{x,c}$ 分别为叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素的浓度,mg/g; A_{470} 、 A_{663} 和 A_{646} 分别为叶绿素溶液在 470、663 和 646 nm 的吸光度。

1.4 数据统计 试验数据采用 Microsoft Excel、SPSS 17.0 软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 锌胁迫对汉麻生长的影响 由表 1 可知,锌胁迫 40 d 后,0 和 200 $\mu\text{mol/L}$ 锌处理的茎长、生物量均显著低于其他处理,这表明缺锌和高锌对汉麻的生长均有抑制作用。锌对汉麻地上部分的生长抑制作用相对大于根部,低浓度的锌处理对汉麻根的生长有刺激作用,50 $\mu\text{mol/L}$ 处理的根长最长,达 14.63 cm 随着锌浓度继续增加,汉麻根长反而减小。0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 处理的汉麻生物量与 CK 相比分别下降了 70.04%、15.29%、31.32%、58.99%。缺锌胁迫处理的根系数比 CK 明显减少,须根几乎消失,叶片失绿严重;而高锌处理的根部颜色灰暗,叶片发黄,出现灰色的坏死斑点。高锌胁迫下随着锌浓度的升高,锌对汉麻生长的抑制作用逐渐增大。

表 1 锌胁迫对汉麻生长的影响

Table 1 Effects of zinc stress on growth of *C. sativa*

锌浓度 Zinc concentration// $\mu\text{mol/L}$	茎长 Stem length//cm	根长 Root length//cm	生物量 Biomass//g
0	15.37 ± 3.78 e	8.13 ± 1.94 b	8.62 ± 2.34 e
2(CK)	47.96 ± 6.14 a	13.76 ± 3.17 a	28.67 ± 3.51 a
50	44.04 ± 4.29 b	14.63 ± 1.68 a	24.37 ± 2.93 b
100	33.10 ± 5.43 c	9.63 ± 2.29 b	19.76 ± 2.87 c
200	20.26 ± 4.08 d	7.67 ± 1.67 b	11.80 ± 1.92 d

注:同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Difference letters in the same column stand for significant difference($P < 0.05$).

2.2 锌胁迫对汉麻叶绿素含量的影响 由表 2 可知,缺锌胁迫会显著降低汉麻叶中叶绿素含量,而高锌组随着锌浓度的增加,叶绿素含量随之降低。与 CK 相比,缺锌组的叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量相应下降了 64.84%、60.86%、43.88%。与 CK 相比,高锌处理(50、100、200 $\mu\text{mol/L}$)的叶绿素 a 含量分别下降了 29.59%、46.56%、58.63%,叶绿素 b 含量分别下降了 12.80%、36.79%、51.46%,类胡萝卜素含量分别下降了 11.36%、27.63%、31.09%。0 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ 锌浓度处理的叶绿素 a/b 分别为 1.32、1.47、1.14、1.24、1.25。

植物叶片中的叶绿素含量降低是高浓度锌胁迫最常见的症状之一,原因是一方面高浓度锌抑制了合成叶绿素必需元素 Mg 和 Fe 等的吸收,使叶绿素合成受阻^[15-17];另一方面,高浓度锌会改变叶绿素的结构,从而影响其正常功能。该试验结果表明,缺锌和 50 $\mu\text{mol/L}$ 以上锌浓度胁迫都会明显降低叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素的含量,这可能是由

于汉麻的自我保护机制,与汉麻的耐锌性有一定关系。

2.3 锌胁迫对汉麻光合气体交换参数的影响 由表 3 可知,试验结果表明,试验结果,缺锌和高锌胁迫都会显著影响汉麻叶片的光合速率,各处理的 P_n 、 Tr 、 G_s 、 C_i 差异显著($P < 0.05$)。高锌处理的 P_n 、 Tr 、 G_s 随着锌浓度的增加呈下降趋势, C_i 随着锌浓度的增加呈现上升趋势。锌胁迫 40 d 后,当锌浓度为 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 时,与 CK 相比, P_n 分别下降了 50.81%、17.72%、36.24%、55.62%, Tr 分别下降了 40.35%、19.30%、28.35%、52.56%, G_s 分别下降 46.72%、14.81%、34.07%、58.52%, C_i 分别上升了 32.69%、4.62%、6.92%、18.85%。

导致植物光合作用下降的因子包括气孔限制和非气孔限制, C_i 与 G_s 的变化趋势是判断限制类型的基本依据^[17-19]。在胁迫 40 d 后,锌处理的 P_n 、 G_s 持续下降,但 C_i 显著上升。这表明光合下降的主要因素是非气孔限制,叶绿素含量和叶绿素荧光参数证明了这一点。

表 2 锌胁迫对汉麻叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of zinc stress on chlorophyll content of *C. sativa*

锌浓度 Zinc concentration $\mu\text{mol/L}$	叶绿素 a 含量 Content of chlorophyll a mg/g	叶绿素 b 含量 Content of chlorophyll b mg/g	类胡萝卜素含量 Content of carotenoid mg/g
0	0.759 0 \pm 0.090 4 eE	0.573 3 \pm 0.017 4 eE	1.024 7 \pm 0.147 7 dD
2 (CK)	2.159 0 \pm 0.140 4 aA	1.464 7 \pm 0.107 4 aA	1.825 9 \pm 0.345 7 aA
50	1.520 1 \pm 0.226 3 bB	1.277 2 \pm 0.042 5 bB	1.618 4 \pm 0.176 3 bB
100	1.153 7 \pm 0.149 0 cC	0.925 7 \pm 0.020 3 cC	1.321 4 \pm 0.141 2 cC
200	0.893 2 \pm 0.087 4 dD	0.710 9 \pm 0.016 2 dD	1.258 2 \pm 0.120 1 cC

注: 同列不同小写和大写字母分别表示差异达到显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$)。

Note: Different lowercases and capital letters in the same column stand for significant ($P < 0.05$) and extremely significant difference ($P < 0.01$).

表 3 锌胁迫对汉麻叶片气体交换参数的影响

Table 3 Effects of zinc stress on gas exchange parameters of the leaves of *C. sativa*

锌浓度 Zinc concentration $\mu\text{mol/L}$	净光合速率 (P_n) Net photosynthetic rate $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	蒸腾速率 (T_r) Transpiration rate $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	气孔导度 (G_s) Stomatal conductance $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	胞间二氧化碳浓度 (C_i) Intercellular carbon dioxide concentration $\mu\text{L/L}$
0	7.346 \pm 0.125 d	1.338 \pm 0.050 d	0.072 \pm 0.002 d	345 \pm 5.156 5 a
2 (CK)	14.933 \pm 0.203 a	2.243 \pm 0.072 a	0.135 \pm 0.003 a	260 \pm 4.156 5 e
50	12.287 \pm 0.203 b	1.810 \pm 0.036 b	0.115 \pm 0.003 b	272 \pm 2.516 7 d
100	9.521 \pm 0.480 c	1.607 \pm 0.065 c	0.089 \pm 0.001 c	278 \pm 5.032 6 c
200	6.627 \pm 0.253 e	1.064 \pm 0.041 e	0.056 \pm 0.003 e	309 \pm 3.145 8 b

注: 同列不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column stand for significant difference ($P < 0.05$).

2.4 锌胁迫对汉麻叶绿素荧光参数的影响

2.4.1 对 PSII 原初光能转化效率 (F_v/F_m) 的影响。从图 1 可见, 胁迫 10 d 后, 各处理 F_v/F_m 的差异相对较小, 50 $\mu\text{mol/L}$ 锌处理的 F_v/F_m 值最高, 缺锌和 100、200 $\mu\text{mol/L}$ 锌处理的 F_v/F_m 较低。锌胁迫 40 d 后, 各处理的差异明显, 200 $\mu\text{mol/L}$ 锌胁迫处理的 F_v/F_m 降低极为明显, 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 锌胁迫处理的 F_v/F_m 比 CK 分别下降了 27.01%、8.01%、30.20%、41.90%。

2.4.2 对实际光量子产量 (Y) 的影响。 Y 反映 PSII 反应中心在有部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率, 该值越大则 PSII 光能转化率越高, 其 PSII 活性越强。从图 2 可见, 在锌胁迫 10 d 后, 随着锌浓度的增大, 实际 Yield 逐渐增大, 50 $\mu\text{mol/L}$ 处到达峰后缓慢减小。锌胁迫 40 d 后缺锌处理的 Y 显著减少, 与 CK 相比, 随着锌浓度的增大, Yield 值呈下降趋势。

2.4.3 对光化学猝灭系数 (qP) 的影响。 qP 表示叶绿素荧光的光化学猝灭, 反映 PSII 天然色素捕获光能用于光化学电子传递的份额。从图 3 可见, qP 的变化趋势与 Y 的变化趋势相近, 处理 40 d 后在 2 $\mu\text{mol/L}$ 处出现峰值, 而后随着锌浓度的增加而迅速降低。

2.4.4 对非光化学猝灭系数 (NPQ) 的影响。 NPQ 反映 PSII 天线色素吸收的光能中不能用于光化学电子传递而以热能的形式耗散掉的部分。从图 4 可见, 在锌胁迫 10 d 后, 锌浓度从 0 $\mu\text{mol/L}$ 上升到 2 $\mu\text{mol/L}$ 时, NPQ 下降; 锌浓度从 2 $\mu\text{mol/L}$ 上升到 200 $\mu\text{mol/L}$ 时, NPQ 迅速上升。胁迫 40 d 后, 随着锌浓度的增加, NPQ 总体呈降低趋势, 其中锌浓度 2 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ 时, NPQ 上升, 说明植物的非光化学淬灭效率

增加, 而后急剧下降, 说明光化学保护机制已经受到严重损伤。

2.4.5 对光合电子传递速率 (ETR) 的影响。 ETR 代表光合量子传递效率。 ETR 与 F_v/F_m 的变化趋势相近。从图 5 可见, 胁迫 10 d 后 ETR 无显著变化, 胁迫 40 d 后, 与 CK 相比, 缺锌处理和高锌处理的 ETR 显著下降。

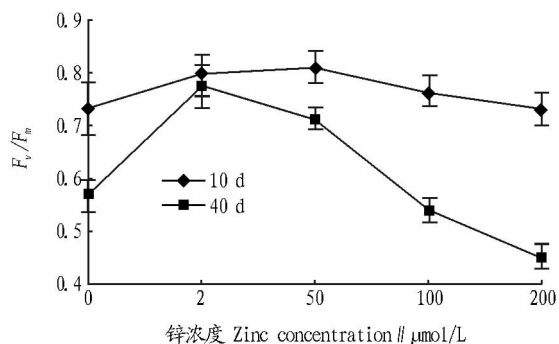


图 1 不同锌浓度胁迫处理对汉麻 PSII 最大原初光能转化效率 (F_v/F_m) 的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of zinc stress on F_v/F_m of *C. sativa*

3 结论与讨论

(1) 缺锌或高锌胁迫会引起汉麻叶片叶绿素含量、部分光合气体交换参数和叶绿素荧光参数下降, 表明锌对汉麻光合机制存在明显影响。 P_n 下降的原因主要是非气孔限制因素, 这表明缺锌和高浓度锌处理下汉麻光合代谢过程都受到抑制和损害, 高锌比缺锌的影响更严重。高浓度锌胁迫下, 3 种光合色素的减少速率从大到小依次为叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素, 这可能是牺牲类胡萝卜素而保护叶绿素的一种

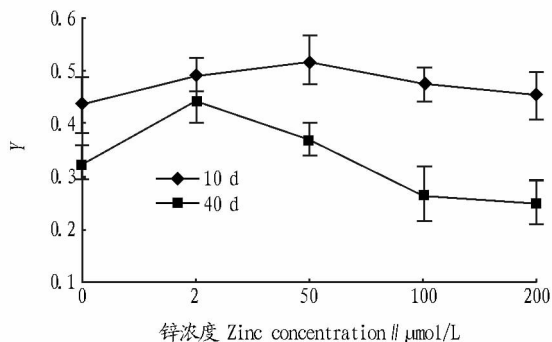


图2 不同锌浓度胁迫处理对汉麻实际光量子产量(Y)的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of zinc stress on Yield of *C. sativa*

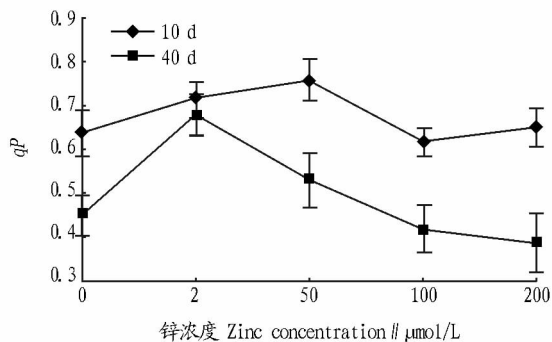


图3 不同锌浓度胁迫处理对汉麻光化学猝灭系数(qP)的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of zinc stress on qP of *C. sativa*

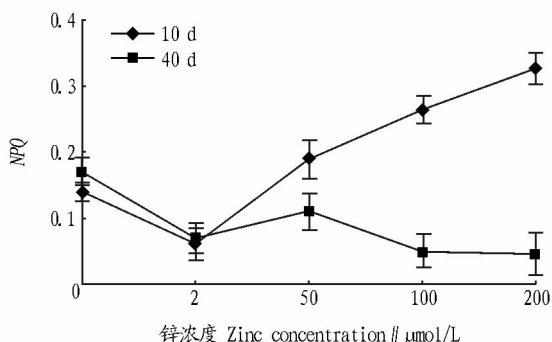


图4 不同锌浓度胁迫处理对汉麻非光化学荧光猝灭系数(NPQ)的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of zinc stress on NPQ of *C. sativa*

自我保护机制,从而减少锌胁迫对光合作用的影响。

(2) PSII是光合作用重要部位,也是探讨重金属对植物胁迫的重要位点。Linger等^[15]研究表明,重金属胁迫能降低PSII的活性。该研究结果表明,缺锌或高锌处理对PSII活性都有显著的抑制作用, F_v/F_m 和ETR明显降低。在正常生理状态下, F_v/F_m 变化较小,但植物受到胁迫后, F_v/F_m 下降,因此,它也是植物生长环境良好与否的一个重要参数,并可在植物受到胁迫较短的时间内指示出锌对光合作用的抑制^[20]。起初qP显著降低,NPQ显著增加,表明这时PSII原初光化学反应受胁迫损伤并不大,叶片通过有效的热耗散机制

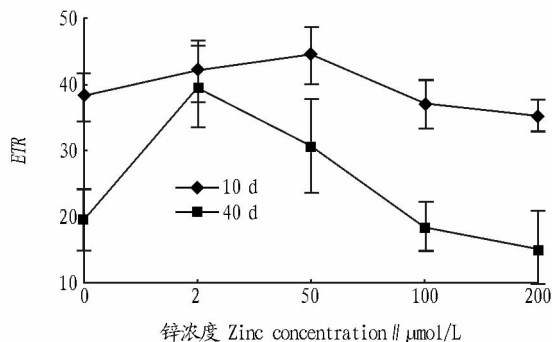


图5 不同锌浓度胁迫处理对汉麻光合电子传递速率(ETR)的影响

Fig.5 Effects of different concentrations of zinc stress on ETR of *C. sativa*

来保护PSII。但随着高浓度锌胁迫时间的延长,NPQ反而减少,其他荧光参数都出现显著的下降,表明此时PSII原初光化学反应已受到严重伤害。在此过程中,非光化学荧光猝灭保护机制发挥显著的效果,这可能与汉麻的锌耐性有一定关联。今后将进一步研究锌胁迫下植物超微结构的变化对光合作用的影响。

参考文献

- [1] 陈玉真. 土壤锌对植物的毒害效应及临界值研究[D]. 福州:福建农林大学,2011.
- [2] 徐卫红,熊治庭,王宏信,等. 锌胁迫对重金属富集植物黑麦草养分吸收和锌积累的影响[J]. 水土保持学报,2005(4):32-35.
- [3] 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.
- [4] JIANG H M, YANG J C, ZHANG J F. Effects of external phosphorus on the cell ultrastructure and the chlorophyll content of maize under cadmium and zinc stress[J]. Environmental pollution,2007,147:750-756.
- [5] BALAKRISHNAN K, RAIENDRAN C, KULANDAIVELU G. Differential responses of iron, magnesium, and zinc deficiency on pigment composition, nutrient content, and photosynthetic activity in tropical fruit crops[J]. Photosynthetica,2001,38(3):477-479.
- [6] CHEN W R, YANG X E, HE Z L, et al. Differential changes in photosynthetic capacity, 77 K chlorophyll fluorescence and chloroplast ultrastructure between Zn - efficient and Zn - inefficient rice genotypes (*Oryza sativa*) under low zinc stress[J]. Physiologia plantarum,2008,132:89-101.
- [7] 梁淑敏,许艳萍,陈裕,等. 工业大麻对重金属污染土壤的治理研究进展[J]. 生态学报,2013,33(5):1347-1356.
- [8] CITTERIO S, SANTAGOSTINO A, FUMAGALLI P, et al. Heavy metal tolerance and accumulation of Cd, Cr and Ni by *Cannabis sativa* L. [J]. Plant & soil,2003,256(2):243-252.
- [9] 史刚荣. 耐重金属胁迫的能源植物筛选及其适应性研究[D]. 南京:南京农业大学,2009.
- [10] 龚红梅,沈野. 植物对重金属耐性机理的研究进展[J]. 西北植物学报,2010(3):633-644.
- [11] WANG H, JIN J Y. Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency [J]. Photosynthetica,2005,43:591-596.
- [12] 韦丹丹. 重金属胁迫下植物促生菌对大麻(*Cannabis sativa* L.)生长调控的研究[D]. 南京:南京农业大学,2012.
- [13] 刘劲松,石辉,李秧秧. 镉胁迫对黄瓜幼苗光合和叶绿素荧光特性的影响[J]. 水土保持研究,2011,18(5):187-190.
- [14] 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,2007:44-47.
- [15] LINGER P, OSTWALD A, HAENSLER J. *Cannabis sativa* L. growing on heavy metal contaminated soil: Growth, cadmium uptake and photosynthesis[J]. Biologia plantarum,2005,49(4):567-576.

96 h 为未名玫瑰种子的最佳处理时间和处理浓度。

表 1 不同浓度秋水仙素和不同处理时间对未名玫瑰诱变效果的影响

Table 1 Effects of different time and concentrations of colchicine solutions on induction of Weiming Meigui grape

处理 Treatment	浓度 Concentration %	时间 Time h	成活率 Survival rate %	变异率 Mutation rate//%	四倍体率 Tetraploid rate//%
①	0.4	48	22.77 a	1.17 f	0.80 gh
②	0.4	72	16.80 c	2.70 e	1.24 g
③	0.4	96	16.29 c	5.63 bc	4.80 bc
④	0.5	48	19.33 b	3.52 e	1.65 fg
⑤	0.5	72	13.13 d	4.73 cd	3.74 de
⑥	0.5	96	11.33 e	6.37 b	5.12 ab
⑦	0.6	48	16.90 c	4.50 d	2.15 f
⑧	0.6	72	12.97 d	5.76 b	3.13 e
⑨	0.6	96	10.70 f	7.63 a	5.62 a
R(成活率)Range (survival rate)	5.12	6.87			
R(变异率) Range (mutation rate)	2.78	3.48			
R(四倍体率)Range (tetraploidrate)	1.62	3.65			

注:同列不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著。

Note: Different lowercases in the same column indicated significant difference at 0.05 level.

3 结论与讨论

陈俊等^[7]用 0.6% 的秋水仙素溶液在种子胚根长 0.5、1.0、1.3 cm 时进行处理,结果发现,种子萌发后胚根长为 1.0 cm 时诱导效果较好。该研究发现,当胚根长小于 0.5 cm 时耐药性较弱,种子根部褐化死亡;当胚根长 1.0 cm 时,其耐药性大大增强,根部褐化死亡的数量较少。这与陈俊等^[7]的研究结果一致。因此,在选材时尽量用胚根长约 1.0 cm 进行处理。

常金华等^[8]、杨晓明等^[9]对染色体数目、气孔特征和花粉粒特性等与倍性有关的性状进行了鉴定,结果表明,这些方法操作复杂,且难度较大。倍性分析仪为植物染色体倍性的研究提供了一条便捷的途径,鉴定快速方便,且准确性较高^[10]。笔者采用倍性分析仪分析细胞倍性,这与马爱红等^[2]采用的方法相同,通过对诱变植株 DNA 含量变化进行鉴定,在短时间内可检测成千上万个细胞,除检测速度快外,还可检测生长点和叶片等非生长点部位,结果可靠全面,并

具有一定的代表性。对于未名玫瑰种子,0.5% 的秋水仙素处理 96 h 为最佳处理时间和处理浓度。

参考文献

- [1] 贺普超. 葡萄学[M]. 北京:中国农业出版社,1999.
- [2] 马爱红,范培格,孙建设,等. 四倍体葡萄诱导技术的研究[J]. 中国农业科学,2005,38(8):1645-1651.
- [3] DERMEN H. Colchicoidity in grapes[J]. The journal of heredity, 1954,45(4):159-172.
- [4] 罗耀武,乔子靖,朱子英,等. 人工诱变获得四倍体玫瑰香葡萄的研究[J]. 园艺学报,1997,24(2):125-128.
- [5] 张淑爱,齐与枢,魏宝发,等. 用秋水仙素诱导葡萄试管苗获得多倍体[J]. 中国果树,1989(3):28-30,45.
- [6] 卢炳芝,李佩芬,于向荣,等. 诱变葡萄体细胞胚获得同质四倍体植株的研究[J]. 果树科学,1997,14(3):145-148.
- [7] 陈俊,李登科,李太宝,等. 诱导葡萄多倍体研究[J]. 果树科学,1995,12(3):151-155.
- [8] 常金华,任清,罗耀武. 人工诱变四倍体玫瑰香葡萄的倍性鉴定[J]. 核农学报,2003,17(3):221-224.
- [9] 杨晓明,王翠玲. 葡萄多倍体诱导及其特征特性研究[J]. 甘肃农业大学学报,2005,12(6):741-474.
- [10] 张俊娥,刘继红,邓秀新. 采用倍性分析仪鉴定柑橘愈伤组织的遗传变异[J]. 遗传学报,2003,30(2):169-174.

(上接第 88 页)

- [16] FENG J, SHI Q, WANG X, et al. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. [J]. Scientia horticulturae, 2010, 123: 521-530.
- [17] PRASAD S M, SINGH J B, RAJ L C, et al. Metal-induced inhibition of photosynthetic electron transport chain of the cyanobacterium *Nostoc mus-*

- corum* [J]. FEMS microbiology letters, 1991, 82: 95-100.
- [18] FARQUHAR G D, SHARKEY T D. Stomatal conductance and photosynthesis [J]. Annual review of plant physiology, 1982, 33: 317-345.
- [19] SHAMA P N, TRIPATHI A, BISHT S S. Zinc requirement for stomatal opening in cauliflower [J]. Plant physiology, 1995, 107: 751-756.
- [20] KRAUSE G H, WEIS E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics [J]. Annual review of plant physiology and plant molecular biology, 2010, 42: 313-349.