

# 汞毒性对草木樨(*Melilotus officinalis*) 幼苗基因型的差异性抑制研究

王钰婧<sup>1</sup>, 李 伟<sup>1</sup>, 张艳红<sup>1</sup>, 李翠兰<sup>2</sup>, 张秋华<sup>1</sup>, 段毅豪<sup>1</sup>

(1.山西大学环境与资源学院, 山西 太原 030006; 2.山西大学生命科学与技术学院, 山西 太原 030006)

**摘 要:**采用水平淀粉凝胶电泳技术对草木樨(*Melilotus officinalis*)的磷酸葡萄糖异构酶(*Pgi*)和苹果酸酶(*Me*)进行了基因频率分析。所研究的草木樨种群具有较高的多态性( $A=3.0$ ,  $H_o=0.346\sim 0.401$ ),将草木樨种子暴露于  $HgCl_2$  溶液( $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),萌发后测量各幼苗的上、下胚轴长度以及测定其基因型,判定各基因型与上、下胚轴长度的关系。ANOVA 分析表明,对照组中 *Me*-AA 基因型幼苗具有下胚轴生长优势,*Me*-AA 基因型个体的下胚轴长度( $35.20\text{ mm}\pm 4.63\text{ mm}$ )显著大于以下各基因型个体的下胚轴长度:*Me*-AB( $22.84\text{ mm}\pm 1.34\text{ mm}$ ),*Me*-BB( $22.82\text{ mm}\pm 0.68\text{ mm}$ )和 *Me*-BC( $20.00\text{ mm}\pm 1.21\text{ mm}$ )。  $HgCl_2$  急性暴露对 *Me* 各基因型下胚轴的抑制作用呈现均一性。在 *Pgi* 基因座,草木樨对照组中各基因型的生长不存在差异,但在  $HgCl_2$  急性暴露下,*Pgi*-AC 基因型幼苗的下胚轴长度( $19.75\text{ mm}\pm 0.73\text{ mm}$ )显著大于 *Pgi*-BB 基因型的下胚轴长度( $14.67\text{ mm}\pm 1.04\text{ mm}$ ),表明 *Pgi*-AC 基因型个体对  $HgCl_2$  的耐受性更强。等位酶分析技术可用来确定植物的种群遗传结构对生长或重金属的耐受性关系,这种关系的确立对遗传育种、生态修复具有潜在的应用价值。

**关键词:**草木樨;等位酶;基因型;汞毒性;上胚轴;下胚轴

中图分类号:X503.233 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2010)01-0060-06

## Differential Inhabitation of Mercury Toxicity to Seedlings of Sweet Clover(*Melilotus officinalis*) Genotypes

WANG Yu-jing<sup>1</sup>, LI Wei<sup>1</sup>, ZHANG Yan-hong<sup>1</sup>, LI Cui-lan<sup>2</sup>, ZHANG Qiu-hua<sup>1</sup>, DUAN Yi-hao<sup>1</sup>

(1.School of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2.School of Biological Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

**Abstract:** The horizontal starch gel electrophoresis was used to examine the polymorphic allozymes of phosphoglucose isomerase(*Pgi*) and malic enzyme(*Me*) in sweet clover(*Melilotus officinalis*). The samples showed relatively high polymorphism at the loci( $A=3.0$ ,  $H_o=0.346\sim 0.401$ ), good for allozyme analysis. The seeds of sweet clover were acutely exposed to  $HgCl_2$  ( $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) for germination. The allozyme genotypes of each seedling were determined and the length of epicotyls and hypocotyls were measured to explore the relationship relationships between the allozyme genotypes and tolerance to  $HgCl_2$ . ANOVA showed the results as follows. At *Me* locus the seedlings of *Me*-AA genotype showed growth vigor, as demonstrated by longer hypocotyls of *Me*-AA( $35.20\text{ mm}\pm 4.63\text{ mm}$ ) than that of *Me*-AB( $22.84\text{ mm}\pm 1.34\text{ mm}$ ), *Me*-BB( $22.82\text{ mm}\pm 0.68\text{ mm}$ ) and *Me*-BC( $20.00\text{ mm}\pm 1.21\text{ mm}$ ). The exposure to  $HgCl_2$  resulted in uniform inhibition among all genotypes at *Me*. At *Pgi* locus the ANOVA results exhibited no difference in both epicotyl and hypocotyl growth among the genotypes in control group. However BB( $14.67\text{ mm}\pm 1.04\text{ mm}$ ), suggesting that *Pgi*-AC genotype is more resistant to  $HgCl_2$ . These results demonstrates the usefulness of allozyme analysis in determining the relationships of plant population genetic structure to growth and/or resistance to mercury, which is potentially applicable to genetic breeding and breeding, as well as ecological rehabilitation. It is suggested to include genetic diversity indices like allozyme polymorphism into the assessment of environmental quality.

**Keywords:** *Melilotus adans*; allozyme; genotype; mercury toxicity; epicotyls; hypocotyls

收稿日期:2009-05-20

基金项目:山西省留学人员科技活动项目(2009);国家自然科学基金(20177012);山西省基础研究项目(2006011015)

作者简介:王钰婧(1985—),女,硕士研究生,研究方向为环境生物学。

通讯作者:段毅豪 E-mail:duany@sxu.edu.cn

汞污染对植物的危害作用是环境生物学研究的主要课题之一。汞可在生物体内积累,同时还可能通过对敏感个体的选择作用,影响植物种群的遗传多样性<sup>[1-3]</sup>。关于环境污染物的耐受性与等位酶的基因型频率的关系研究,主要集中在动物实验方面<sup>[4-6]</sup>,所涉及的生物包括鱼类、虾类和其他底栖生物。结果发现一些动物种群对污染物的耐受性和个体的基因型存在显著相关。关于植物基因型对环境污染物耐受性的差异性,目前研究还不多<sup>[7]</sup>。

重金属可以抑制植物种子萌发和幼苗生长,对 Hg、Cd、Co、Cu、Pb 和 Zn 对小麦和黄瓜幼苗生长影响的研究发现,Hg 对种子萌发率、胚芽鞘、胚轴长度的抑制作用最强<sup>[8]</sup>。氯化汞对腰豆(*Phaseolus vulgaris*)幼苗生长也存在抑制作用,其机制可能是通过影响顶端分生组织分裂,进而增加木糖葡聚糖降解,减缓上下胚轴伸长<sup>[9]</sup>,同时也会对黄瓜幼苗造成氧化胁迫<sup>[10]</sup>。

草木樨(*Melilotus officinalis*)是一种优良牧草,种植广泛。本文使用草木樨为实验材料,检测草木樨幼苗在正常条件下的生长过程中,其不同等位酶基因型个体的胚轴生长是否存在显著差异性,并且检测氯化汞暴露是否可以选择性地抑制不同等位酶基因型胚轴的生长。本研究假设:①正常条件下,草木樨幼苗在生长过程中,其不同个体间上、下胚轴长度存在显著性差异,而且这种差异与个体的基因型有关,即:某些基因型的上胚轴或下胚轴的平均长度显著大于其他某个或某些基因型的胚轴长度;②氯化汞暴露可以选择性地抑制不同等位酶基因型的胚轴生长,使某个或某些基因型的受抑制程度大于其他某个或某些基因型的受抑制程度。

基于以上假设,本文使用等位酶分析方法,首先研究了正常条件下不同基因型草木樨幼苗的上、下胚轴长度以及二者比值是否存在显著性差异;其次研究了氯化汞( $\text{HgCl}_2$ )急性暴露对草木樨不同等位酶基因型幼苗胚轴生长的影响,探索这种选择性抑制作用的种群遗传学和生态毒理学意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 种子萌发和暴露实验

草木樨种子采自山西关帝山八道沟( $\text{E}111^\circ22'\sim111^\circ33'$ ,  $\text{N}37^\circ45'\sim37^\circ55'$ )。选取籽粒均匀饱满的草木樨种子,用自来水和蒸馏水冲洗,再用 75% 的酒精浸泡 1 min 消毒,然后用蒸馏水冲洗干净后再在蒸馏水中浸泡 12 h,温度 15 ℃。将底部铺有双层滤纸的培养皿中分别加入 0、5、10、20、30、40、50、60  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  8 个

浓度的  $\text{HgCl}_2$  溶液,每皿加 5 mL。然后每皿均匀放置 10 粒草木樨种子,每组设 3 个重复。将各培养皿置于人工气候箱(25 ℃,光照 12  $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ ,光照度 2 014 lx),培养皿加盖保湿。以后每天在各培养皿中加入对应溶液 0.5 mL,维持水分。6 d 后测量每株幼苗胚轴长度,计算各浓度组中平均上、下胚轴长度平均值,将与对照组相比胚轴长度降低 50% 左右的组作为中间组,将其  $\text{HgCl}_2$  浓度作为正式实验暴露浓度。根据以上实验结果,中间暴露浓度确定为 30  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在此浓度下,分别处理草木樨种子 700 粒,其中对照组(蒸馏水)200 粒,暴露组 500 粒。6 d 后,分别测量各幼苗胚轴长度,并确定每株的等位酶基因型。

### 1.2 等位酶分析

采用水平切片淀粉凝胶电泳技术进行等位酶分析<sup>[4,11]</sup>。淀粉凝胶质量浓度为 12.5%,电泳缓冲液为  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$  (0.05  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 7.8),电泳缓冲液与凝胶缓冲液摩尔浓度之比为 9:1。分析的多态性酶包括:磷酸葡萄糖异构酶(PGI, EC 5.3.1.9)和苹果酸酶(ME, EC 1.1.1.40)。

将草木樨幼苗的上胚轴或下胚轴置于预冷的 20  $\mu\text{L}$  双蒸水内冰浴下匀浆,浸入 3 mm×9 mm 滤纸芯作为上样品。然后在 4 ℃冰箱内恒压(11  $\text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$ )电泳 2.5 h,水平切片后用特异性染色方法进行染色。酶谱判读时,同一基因座泳动最快的带记为 A,以后依次记为 B、C 等。

用 BIOSYS- II 软件计算对照组和暴露组各等位基因频率、哈-温(H-W)平衡适合度、平均杂合度(H)等。用 SPSS11.5 软件分别对对照组和暴露组中各基因型的上胚轴长度、下胚轴长度和二者之比进行方差分析,若基因型组之间存在差异,则使用 Bonferroni 多重检验确定存在显著差异的组别。

## 2 结果

$\text{HgCl}_2$  暴露对草木樨幼苗生长有抑制作用。通过测量 8 个浓度梯度下草木樨幼苗的上、下胚轴长度,可分别绘出剂量-毒性效应曲线。在浓度值为 30  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,胚轴长度平均减少 50% 左右。在此浓度下,累积毒力效应为一拐点,是评价毒力效应的一个重要参考值。所以,本研究首先选择了可以将上、下胚轴生长抑制 50% 的汞浓度作为暴露浓度,研究此浓度下是否存在基因型与胚轴长度的关联。

### 2.1 草木樨种群遗传结构分析

草木樨对照组和暴露组的等位基因频率、哈-温

(H-W)平衡适合度、杂合度( $H$ )见表 1。草木樨  $Pgi$  和  $Me$  基因座在本实验种群中均具有多态性, 均有 3 个等位基因。 $\chi^2$ -检验表明  $Pgi$  基因座的基因型频率偏离哈-温(H-W)平衡预期值见表 1。草木樨种群  $Pgi$  和  $Me$  基因座上的多态性程度较高(表 2), 体现在较高的平均每个基因座的等位基因数( $A=3.0$ )、平均观察杂合度( $H_o=0.346\sim 0.401$ )和平均期望杂合度( $H_e=0.359\sim 0.417$ ), 说明该草木樨种群有较高的杂合性, 适合于种群遗传学研究。

表 1 草木樨等位基因频率、哈-温平衡预期值卡方检验(H-W)、杂合度( $H$ )

Table 1 Allele frequency, chi-square tests for Hardy-Weinberg expectations of genotype frequencies, heterozygosity( $H$ ) in samples of sweet clover(*Melilotus officinalis*)

| 基因座位             | <i>Pgi</i> |         | <i>Me</i> |       |
|------------------|------------|---------|-----------|-------|
|                  | 对照组        | 暴露组     | 对照组       | 暴露组   |
| N                | (192)      | (492)   | (190)     | (492) |
| A                | 0.096      | 0.088   | 0.161     | 0.184 |
| B                | 0.174      | 0.147   | 0.750     | 0.797 |
| C                | 0.729      | 0.764   | 0.089     | 0.019 |
| H-W <sup>b</sup> | 10.18*     | 23.09** | 10.74*    | 6.37  |
| $H^c$            | 0.35       | 0.34    | 0.45      | 0.35  |

注: a. 括号内的值为样本大小; b. 基因型频率的哈-温平衡预测值的卡方检验值(\* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ); c. 杂合度的直接观察值。

2.2 草木樨对照组中各基因型胚轴长度分布

草木樨在  $Pgi$  基因座上有 3 个等位基因, 共 6 个基因型。根据 ANOVA 检验结果, 在对照组中  $Pgi$  各等位酶基因型组别之间, 下、上胚轴长度没有发现显著差异。同时, 使用 ANOVA 检验对照组中  $Pgi$  各基因型组别之间的下/上胚轴长度比值, 观察到有显著差异( $F=2.48$ ;  $df=5$ ;  $P=0.033$ ), 但 Bonferroni 多重检验却没

表 2 草木樨对照组和暴露组在 2 个多态基因座上的遗传多样性  
Table 2 Genetic variability at two polymorphic loci in control and exposure samples of sweet clover (*Melilotus officinalis*) exposed to mercuric chloride

| 样本  | 平均每个基因座位的样本大小 | 平均每个基因座位的等位基因数 | 平均杂合度        |              |
|-----|---------------|----------------|--------------|--------------|
|     |               |                | 直接观察值        | 哈-温平衡预期值**   |
| 对照组 | 191.0(1.0)    | 3.0(0.0)       | 0.401(0.047) | 0.417(0.012) |
| 暴露组 | 492.0(0.0)    | 3.0(0.0)       | 0.346(0.008) | 0.359(0.028) |

注: 括号内的值为标准误差; \* 当最常见的等位基因频率小于 95% 时, 即为多态基因座位; \*\* 无偏差估计(Nei, 1978)。

有发现成对组别之间有显著性差异( $P>0.05$ , 表 3)。

草木樨在  $Me$  基因座上有 3 个等位基因, 共 4 个基因型。观察对照组中各基因型的下胚轴长度发现, 在  $Me$  基因座(表 4), 对照组中不同基因型的下胚轴长度存在显著差异 (ANOVA,  $F=5.50$ ;  $df=4$ ;  $P=0.00$ ), 且 Bonferroni 检验表明  $Me$ -AA 基因型个体的下胚轴长度(35.20 mm $\pm$ 4.63 mm)显著大于以下各基因型的下胚轴长度:  $Me$ -AB (22.84 mm $\pm$ 1.34 mm),  $Me$ -BB (22.82 mm $\pm$ 0.68 mm) 和  $Me$ -BC (20.00 mm $\pm$ 1.21 mm)。且对照组中不同基因型的下/上胚轴长度比值存在显著差异 (ANOVA 检验,  $F=4.83$ ;  $df=4$ ;  $P=0.001$ ), Bonferroni 检验表明  $Me$ -AA 基因型个体的下/上胚轴长度比值(4.00 $\pm$ 0.92)显著大于以下各基因型的相应比值:  $Me$ -AB(2.24 $\pm$ 0.16),  $Me$ -BB(2.27 $\pm$ 0.11) 和  $Me$ -BC(1.87 $\pm$ 0.17)。

2.3 HgCl<sub>2</sub> 急性暴露对草木樨幼苗胚轴生长的影响

对照组和暴露组中, 草木樨不同基因型的下、上胚轴长度及二者比值见表 3 至表 6。表中数据表明, HgCl<sub>2</sub> 暴露后, 草木樨在  $Pgi$  基因座的下胚轴长度由对照组的 (22.52 mm $\pm$ 0.59 mm) 减少到暴露组的 (18.10 mm $\pm$ 0.29 mm), 上胚轴长度由对照组的(11.36

表 3 草木樨对照组在  $Pgi$  基因座各基因型上、下胚轴程度和二者比值的 ANOVA 分析

Table 3 ANOVA of the average length of epicotyl, hypocotyl and hypocotyl/epicoty in control group of sweet clover(*Melilotus officinalis*) at locus *Pgi*

| 基因座位                | <i>Pgi</i>                      |                    |                    |                    |                    |                    | 平均值                |
|---------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                     | <i>Pgi</i> -AA                  | <i>Pgi</i> -AB     | <i>Pgi</i> -AC     | <i>Pgi</i> -BB     | <i>Pgi</i> -BC     | <i>Pgi</i> -CC     |                    |
| 下胚轴长(mm $\pm$ SE)   | 24.33( $\pm$ 1.20)              | 22.63( $\pm$ 2.61) | 19.00( $\pm$ 1.55) | 19.64( $\pm$ 2.27) | 23.11( $\pm$ 1.21) | 23.29( $\pm$ 0.82) | 22.52( $\pm$ 0.59) |
| $F$ 检验              | $F=1.43$ ; $df=5$ ; $P=0.22$    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| 上胚轴长(mm $\pm$ SE)   | 16.00( $\pm$ 2.52)              | 9.75( $\pm$ 1.26)  | 12.48( $\pm$ 0.67) | 12.00( $\pm$ 1.20) | 10.86( $\pm$ 0.59) | 11.22( $\pm$ 0.32) | 11.36( $\pm$ 0.25) |
| $F$ 检验              | $F=2.18$ ; $df=5$ ; $P=0.059$   |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| 下/上胚轴长比值( $\pm$ SE) | 1.63( $\pm$ 0.33)               | 2.86( $\pm$ 0.69)  | 1.59( $\pm$ 0.15)  | 1.87( $\pm$ 0.30)  | 2.37( $\pm$ 0.18)  | 2.31( $\pm$ 0.11)  | 2.22( $\pm$ 0.09)  |
| $F$ 检验              | $F=2.48$ ; $df=5$ ; $P=0.033^*$ |                    |                    |                    |                    |                    |                    |

注: \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; Bonferroni 多重检验中标有不同字母的组之间有显著差异, 如 a 和 b 之间有显著差异( $P<0.05$ )。下同。

表 4 草木樨对照组在 *Me* 基因座各基因型上、下胚轴程度和二者比值的 ANOVA 分析

Table 4 ANOVA of the length of epicotyl, hypocotyl and hypocotyl/epicoty in control group of sweet clover(*Melilotus officinalis*) at locus *Me*

| 基因座位          | <i>Me</i>                                        |               |               |               | 平均值          |
|---------------|--------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
|               | <i>Me</i> -AA                                    | <i>Me</i> -AB | <i>Me</i> -BB | <i>Me</i> -BC |              |
| 下胚轴长(mm±SE)   | 35.20(±4.63)a                                    | 22.84(±1.34)b | 22.82(±0.68)b | 20.00(±1.21)b | 22.52(±0.57) |
| <i>F</i> 检验   | <i>F</i> =5.50; <i>df</i> =4; <i>P</i> = 0.00**  |               |               |               |              |
| 上胚轴长(mm±SE)   | 9.80(±1.46)                                      | 11.00(±0.44)  | 11.31(±0.35)  | 12.03(±0.69)  | 11.36(±0.25) |
| <i>F</i> 检验   | <i>F</i> =1.40; <i>df</i> =4; <i>P</i> = 0.23    |               |               |               |              |
| 下/上胚轴长比值(±SE) | 4.00(±0.92)a                                     | 2.24(±0.16)b  | 2.27(±0.11)b  | 1.87(±0.17)b  | 2.22(±0.09)  |
| <i>F</i> 检验   | <i>F</i> = 4.83; <i>df</i> =4; <i>P</i> =0.001** |               |               |               |              |

mm±0.25 mm)减少到暴露组的(9.72 mm ±0.14 mm)。说明 HgCl<sub>2</sub> 在 30 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下对草木樨的下、上胚轴生长均有抑制作用。同时注意到,下/上胚轴长度比值由对照组的(2.22±0.09)减少到暴露组的(2.06±0.05),说明 HgCl<sub>2</sub> 急性暴露对下胚轴生长的抑制作用比对上胚轴生长的抑制作用更强。

在 *Pgi* 基因座,暴露组中不同基因型的下胚轴长度存在显著差异 (ANOVA 检验, *F*=2.62;*df*=5;*P*=0.024),且 Bonferroni 检验表明 *Pgi*-AC 基因型个体的下胚轴长度(19.75 mm±0.73 mm)显著大于 *Pgi*-BB 基因型个体的下胚轴长度(14.67 mm±1.04 mm)(表 5)。且暴露组中不同基因型的下/上胚轴长度比值也存在显著差异(ANOVA 检验, *F*=3.81;*df*=5;*P*=0.002),Bonferroni 检验表明 *Pgi*-AC 基因型个体的下/上胚轴长度比值(2.40±0.13)显著大于 *Pgi*-BB 基因型个体的相应比值(1.59±0.15)以及 *Pgi*-BC 基因型个体的下/上胚轴长度比值(1.84±0.08)。

在 *Me* 基因座(表 6),暴露组中不同基因型的下胚轴长度存在显著差异(ANOVA 检验, *F*=8.01;*df*=3;*P*=0.00),Bonferroni 检验表明 *Me*-BB 基因型个体的下胚轴长度(17.15 mm±0.31 mm)显著小于 *Me*-AA 基因型个体的下胚轴长度(23.15 mm±2.48 mm)和 *Me*-AB 基因型个体的下胚轴长度(19.56 mm±0.60 mm)。且暴露组中不同基因型的下/上胚轴长度比值存在显

著差异 (ANOVA, *F*=10.22;*df*=3;*P*=0.00),Bonferroni 检验表明 *Me*-BB 基因型个体的下/上胚轴长度比值(1.89±0.05)显著小于 *Me*-AA 基因型个体的下/上胚轴长度比值(3.01±0.42)和 *Me*-AB 基因型个体的相应比值(2.31±0.10)。

使用 ANOVA 分析暴露组中各等位酶基因型组别之间差异,发现在 *Pgi* 和 *Me* 基因座各基因型上胚轴长不存在差异(*P*>0.05,表 5,表 6)。

### 3 讨论

种群遗传结构组成和种群适应性有密切关系,利用种群遗传结构变化可作为种群对环境胁迫的相应指标<sup>[1-2]</sup>。在草木樨种群中,*Pgi* 和 *Me* 基因座具有很高的多态性和杂合性(表 2),且这两个多态基因座的酶稳定性高、活性强、酶谱分辨率明显。这说明草木樨是研究酶多态性与环境毒性因子之间关系的理想物种。在种群遗传特征分析方面,*Me* 基因座的基因型频率符合哈-温(H-W)平衡预期值,但 *Pgi* 的基因型频率显著偏离哈-温平衡预期值(表 1),这种偏离可能与草木樨的繁殖方式、自然选择、生态环境条件等适应性特征有关<sup>[12-13]</sup>。

3.1 草木樨 *Me*-AA 基因型幼苗具有下胚轴生长优势

本文结果表明,在正常条件下,在不同的 *Me* 基因型中,草木樨幼苗下胚轴长度的分布并非呈现随机

表 5 草木樨暴露组在 *Pgi* 基因座各基因型上、下胚轴程度和二者比值的 ANOVA 分析

Table 5 ANOVA of the length of epicotyl, hypocotyl and hypocotyl/epicoty in control group of sweet clover(*Melilotus officinalis*) at locus *Pgi*

| 基因座位          | <i>Pgi</i>                                       |                |                |                |                |                | 平均值          |
|---------------|--------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------|
|               | <i>Pgi</i> -AA                                   | <i>Pgi</i> -AB | <i>Pgi</i> -AC | <i>Pgi</i> -BB | <i>Pgi</i> -BC | <i>Pgi</i> -CC |              |
| 下胚轴长(mm±SE)   | 13.00(±3.00)                                     | 19.50(±1.43)   | 19.75(±0.73)a  | 14.67(±1.04)b  | 17.71(±0.60)   | 18.04(±0.39)   | 18.10(±0.29) |
| <i>F</i> 检验   | <i>F</i> =2.62; <i>df</i> =5; <i>P</i> =0.024*   |                |                |                |                |                |              |
| 上胚轴长(mm±SE)   | 6.50(±4.50)                                      | 9.35(±0.62)    | 9.25(±0.43)    | 9.90(±0.64)    | 10.22(±0.32)   | 9.72(±0.18)    | 9.72(±0.14)  |
| <i>F</i> 检验   | <i>F</i> =1.18; <i>df</i> =5; <i>P</i> = 0.32    |                |                |                |                |                |              |
| 下/上胚轴长比值(±SE) | 3.23(±1.77)                                      | 2.30(±0.23)    | 2.40(±0.13)a   | 1.59(±0.15)b   | 1.84(±0.08)b   | 2.06(±0.06)    | 2.06(±0.05)  |
| <i>F</i> 检验   | <i>F</i> = 3.81; <i>df</i> =5; <i>P</i> =0.002** |                |                |                |                |                |              |

表 6 草木樨暴露组在 *Me* 基因座各基因型上、下胚轴程度和二者比值的 ANOVA 分析Table 6 ANOVA of the length of epicotyl, hypocotyl and hypocotyl/epicotyl in control group of sweet clover(*Melilotus officinalis*) at locus *Me*

| 基因座位          | <i>Me</i>     |               |                                                 |               | 平均值          |
|---------------|---------------|---------------|-------------------------------------------------|---------------|--------------|
|               | <i>Me</i> -AA | <i>Me</i> -AB | <i>Me</i> -BB                                   | <i>Me</i> -BC |              |
| 下胚轴长(mm±SE)   | 23.15(±2.48)a | 19.56(±0.60)a | 17.15(±0.31)b                                   | 17.89(±1.63)  | 18.10(±0.29) |
| <i>F</i> 检验   |               |               | <i>F</i> =8.01; <i>df</i> =3; <i>p</i> = 0.00** |               |              |
| 上胚轴长(mm±SE)   | 9.08(±1.02)   | 9.45(±0.25)   | 9.93(±0.18)                                     | 8.95(±0.64)   | 9.72(±0.14)  |
| <i>F</i> 检验   |               |               | <i>F</i> =1.40; <i>df</i> =3; <i>P</i> = 0.24   |               |              |
| 下/上胚轴长比值(±SE) | 3.01(±0.42)a  | 2.31(±0.10)a  | 1.89(±0.05)b                                    | 2.11(±0.21)   | 2.06(±0.05)  |
| <i>F</i> 检验   |               |               | <i>F</i> =10.22; <i>df</i> =3; <i>P</i> =0.00** |               |              |

状态,而是某些基因型幼苗下胚轴的生长速度要显著大于其他基因型。例如,*Me*-AA 基因型幼苗下胚轴的生长速度最快,6 d 平均长度为(35.20 mm±4.63 mm);而*Me*-BC 基因型仅为(20.00 mm±1.21 mm)。由于*Me*-AA 为纯合体,通过育种手段增加*Me*-AA 基因型和*Me*-A 等位基因在种群中的频率,则有可能获得具有快速生长的优势草木樨种群。

### 3.2 高浓度 HgCl<sub>2</sub> 急性暴露对 *Me* 基因座各基因型下胚轴的抑制作用均一

在 *Me* 基因座,对照组和暴露组的 *Me*-AA 基因型个体的下胚轴长度均显著大于 *Me*-AB、*Me*-BB 和 *Me*-BC 基因型个体的下胚轴长度。这说明在 HgCl<sub>2</sub> 高浓度的急性暴露条件下,各基因型下胚轴的生长受到的抑制作用均一。在正常条件下生长速度快的基因型,在受到暴露后仍然保持了其生长优势。也可以说, HgCl<sub>2</sub>(30 mg·L<sup>-1</sup>)的暴露浓度没能消除各 *Me* 基因型生长速度的差异(表 4,表 6)。

### 3.3 HgCl<sub>2</sub> 急性暴露对草木樨 *Pgi* 基因型幼苗生长存在差异性抑制作用

在 *Pgi* 基因座,对照组的草木樨种子萌发后,幼苗的上、下胚轴长度在 *Pgi* 各基因型之间均没有明显差异,说明在正常条件下,二者不存在关联。但是暴露于高浓度 HgCl<sub>2</sub>(30 mg·L<sup>-1</sup>)后,*Pgi*-AC 基因型的下胚轴长度(19.75 mm±0.73 mm)显著大于 *Pgi*-BB 基因型的下胚轴长度(14.67 mm±1.04 mm, *P*<0.05)(表 5),表明 *Pgi*-AC 基因型个体对 HgCl<sub>2</sub> 抗性作用更强,而 *Pgi*-BB 基因型个体的抗性作用较弱。若通过育种手段淘汰 *Pgi*-BB 基因型的个体植株,增加 *Pgi*-A 和 *Pgi*-C 等位基因频率,则有可能获得具有汞污染抗性的草木樨种群,用于土壤修复。

### 3.4 等位酶基因型频率作为育种指标和环境标记物的潜在意义

在正常条件下,草木樨幼苗胚轴长度的个体差

异是一种正常现象,幼苗生长快的个体具有优势性状。开发具有生长或耐受性状的基因型标记,对改善草木樨种群结构,培育快速生长耐受性种群,有着潜在的应用价值,等位酶分析也可以作为备选生物标记物<sup>[14-15]</sup>。同时,遗传变异程度高的种群对环境变化往往表现出更高的适应能力,因此种群多样性指标(如等位酶多态性)应该包括在环境质量评价体系中。

在生态遗传毒理学领域,以往的研究主要使用动物(钩虾、蝗虫、小型鱼类等)作为研究材料,确定等位酶基因型与个体生理生化特性或污染耐受性的关系,如耗氧量、生长速率、致死性等,获得系列显著关联关系,其意义在参考文献中均有阐述<sup>[1-4]</sup>。现在将研究对象扩展到植物,发现在一些植物中,等位酶频率可能与种群抗污染作用相关联<sup>[14]</sup>,下一步需要进一步研究其灵敏性、稳定性和特异性。

### 参考文献:

- [1] Duan Y H, Guttman S I, Oris J T, et al. Genotype and toxicity relationships among *Hyalella azteca*: I. Acute exposure to metals or low pH[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 2000, 19(5):1414-1421.
- [2] Duan Y H, Guttman S I, Oris J T, et al. Genotype and toxicity relationships among *Hyalella azteca*: II. Acute exposure to fluoranthene-contaminated sediment[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 2000, 19(5):1422-1426.
- [3] Duan Y H, Guttman S I, Oris J T, et al. Differential survivorship among allozyme genotypes of *Hyalella azteca* exposed to cadmium, zinc or low pH[J]. *Aquatic Toxicology*, 2001, 54:15-28.
- [4] 李翠兰,段毅豪,卢芙蓉,等.敌百虫对中华稻蝗磷酸葡萄糖异构酶基因型的致死性差异研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(2): 381-383.  
LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Differential mortality among the *Oxya chinensis* genotypes at glucose-6-phosphate isomerase by trichlorphon[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(2): 381-383.
- [5] 李翠兰,段毅豪,卢芙蓉,等.中华稻蝗等位酶基因型与阿维菌素急性死亡率差异研究[J]. 遗传学报, 2004, 31(11):1241-1247.  
LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Differential acute mor-

- talities among the allozyme genotypes of *Oxya chinensis* by pesticide avermectin[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(11):1241-1247.
- [6] 卢芙蓉, 李翠兰, 段毅豪, 等. 马拉硫磷对中华稻蝗种群遗传机构的作用[J]. 遗传, 2004, 26(5):663-668.
- LU Fu-ping, LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, et al. Impacts of malathion on population genetic structure of *Oxya chinensis*[J]. *Hereditas*, 2004, 26(5):663-668.
- [7] 张春荣, 夏立江, 杜相革. 镉对紫花苜蓿种子萌发的影响[J]. 中国农学通报, 2004(5):253-255.
- ZHANG Chun-rong, XIA Li-jiang, DU Xiang-ge. Effect of cadmium germination of *Medicago sativa* seeds[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2004(5):253-255.
- [8] Munzuroglu, Geckil. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, 43(2):203-213.
- [9] Mor Ilza R, Gokani Sonal J, Chanda Sumitra V. Effect of mercury toxicity on hypocotyl elongation and cell wall loosening in *Phaseolus seedlings* [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2002, 25(4):843-860.
- [10] Cargnelutti D, Tabaldi L A, Spanevello R M, et al. Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings[J]. *Chemosphere*, 2006, 65(6):999-1006.
- [11] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- WANG Zhong-ren. Plant allozyme analysis[M]. Beijing: Science Press, 1998.
- [12] 肖艳琴, 李翠兰, 张秋华, 等. 镉暴露对钩虾葡萄糖异构酶基因型的致死性差异研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(2):309-311.
- XIAO Yan-qin, LI Cui-lan, ZHANG Qiu-hua, et al. Differential mortality among the *Gammarus spetulus* Genotypes at glucose-6-phosphate isomerase by cadmium exposure[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(2):309-311.
- [13] 张艳红, 肖艳琴, 李翠兰, 等. 钩虾等位酶基因型对马拉硫磷致死性响应研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6):2447-2451.
- ZHANG Yan-hong, XIAO Yan-qin, LI Cui-lan, et al. Lethal responses among allozyme genotypes of *Gammarus pulex* to acute exposure to malathion[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(6):2447-2451.
- [14] 张艳红, 李翠兰, 肖艳琴, 等. 氯化汞毒性对紫花苜蓿幼苗基因型的差异性抑制研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2008, 31(SL):152-155.
- ZHANG Yan-hong, LI Cui-lan, XIAO Yan-qin, et al. Study on mercuric chloride on genetic differential inhibition of seedlings in *Medicago sativa*[J]. *Journal of Shanxi University* (Natural Science Edition), 2008, 31(SL):152-155.
- [15] 刘晶玉, 李翠兰, 段毅豪, 等. 中华稻蝗等位酶基因型与辛硫磷急性死亡率差异研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6):2377-2381.
- LIU Jing-yu, LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, et al. Mortality differences among the *Oxya chinensis* genotypes at glucose-6-phosphate isomerase by trichlorphon [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(6):2377-2381.

## 欢迎订阅 2010 年《农业环境与发展》

《农业环境与发展》创刊于 1984 年,农业部主管、农业部环境保护科研监测所与中国农业生态环境保护协会联合主办的国家级综合指导类科技期刊,为中国农业核心期刊。传播农业可持续发展新思想、新观点、新方略,倡导农业生产、农民生活、农村生态协调发展理念,多视角、多层次、多学科地反映食品安全与健康、资源开发与利用、环境污染与防治、农业清洁生产与农村循环经济等热点问题,直接面向农业、环保、食品、能源、卫生等领域的科研、教学、生产、管理、技术推广人员与大众读者。同时,《农业环境与发展》将在重要版面上宣传各地农业环境保护成就。欢迎大家踊跃投稿,欢迎刊登广告。

《农业环境与发展》为双月刊,大 16 开,96 页,逢双月 25 日出版,刊号 ISSN 1005-4944, CN 12-1233/S, 全国发行,各地邮电局(所)均可订阅,邮发代号 6-40,2010 年每册定价 12.00 元,全年 72.00 元。有漏订者可直接与编辑部联系订阅。本刊现有过刊合订本,需订购者请与本刊编辑部联系。

编辑部地址:天津市南开区复康路 31 号

邮政编码:300191

电话:022-23006206

电子信箱:caed@vip.163.com

传真:022-23006209

网址:www.aed.org.cn