

镉胁迫对莴苣幼苗生长及抗氧化酶系统的影响

任艳芳, 何俊瑜, 刘畅, 罗辛灵, 黄天兴

贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025

摘要:以笋王一号 (*Lactuca sativa* L. *sativa* var. *Angustata* Irish. cv Sunwang NO.1) 为材料, 通过营养液水培试验, 研究了不同浓度的 Cd 胁迫对莴苣幼苗生长和抗氧化酶的影响。试验结果表明: 10~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd^{2+} 对幼苗株高、根长、叶面积和叶数的增加具有明显的抑制作用, 且随着浓度的增加抑制程度加重, 但低浓度的 Cd^{2+} ($1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 却产生了一定的促进作用; 幼苗根、叶中 MDA 含量和 G-POD、叶中 SOD 活性随着 Cd 处理浓度的增加明显增加, 但根中的 SOD 在 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 胁迫下明显低于对照, 同时, $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 对根和叶片中的 APX 和 CAT 活性有一定的激活效应, 以后随着 Cd 处理浓度的提高表现为抑制效应, 且随着 Cd 浓度的增加抑制效应逐渐增强。

关键词: 镉; 莴苣; 幼苗生长; 抗氧化酶

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906 (2009) 02-0494-04

镉(Cd)是环境中最具危害性的重金属元素之一, 随着采矿业的发展和工业“三废”的排放, Cd随即进入环境而在水体和土壤中富集, 农业上污水灌溉、污泥和磷肥的施用等, 使农田土壤Cd污染更加严重^[1]。Cd具有较强的毒性, 且易被作物吸收利用, 环境中过量的Cd不仅对作物生长、发育产生不良影响, 而且会通过食物链传递, 对人和动物健康构成威胁。Cd污染问题已成为威胁土壤生态安全和制约农业可持续发展的重要因素^[1-4]。前人对Cd在自然界的迁移、转化规律及对某些作物生理生化影响等方面进行了研究^[5-6]。近年来, 国内外有大量关于重金属污染对植物毒害的报道, 国内外学者就Cd对小麦、水稻、玉米、大豆、白菜等的生长发育、生理生化等的影响进行了大量的研究。研究表明Cd能抑制植物光合作用和蒸腾作用, 干扰植物的代谢过程, 加速植物的衰老, 降低产量等^[7-10]。莴苣*Lactuca sativa* L. *sativa* var. *Angustata* Irish是菊科, 莴苣属, 一、二年生草本植物。因质地脆嫩, 口感鲜嫩清香, 颇受人们喜爱。但是随着Cd污染土壤面积的增加, 莴苣的生长也受到了严重的威胁。有关Cd对莴苣生长和生理指标影响的研究报道尚少。本研究以莴苣为材料, 通过水培试验研究不同浓度Cd胁迫对莴苣幼苗生长和生理指标的影响, 为Cd对莴苣伤害、选育抗性品种及农业生产中早期诊断莴苣Cd污染提供一些理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用的莴苣*Lactuca sativa* L. *sativa* var. *Angustata* Irish品种为笋王一号。

1.2 实验设计与处理

选取健康饱满的种子, 经消毒、浸种催芽后, 将发芽的种子播于装有营养土的育苗钵中, 在温室内存苗。待幼苗长到4~5片叶时(4片真叶展平时), 选整齐一致的幼苗定植于装有 Hoagland 营养液的塑料桶中进行水培, 每个桶培养20株苗。预培养7d后更换为含不同浓度Cd的营养液开始处理。Cd处理水平为: 1、5、10、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 以纯 Hoagland 营养液为对照, 培养期间每天给营养液通气, 各处理均设3次重复。Cd胁迫培养后第6天取样测定幼苗地上部和地下部的主要形态指标(株高、根长、叶面积、叶数)和部分生理指标(SOD、GPX、APX、CAT和MDA)。丙二醛(MDA)含量测定参考张志良^[11]的方法; 愈创木酚过氧化物酶(GPX)活性测定参考 Klapheck 等的方法^[12]; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参考 Nakano 和 Asada 的方法^[13]; 过氧化氢酶(CAT)活性测定参考 Aebi 的方法^[14]。

1.3 数据分析

所有的数据均为3次重复的平均值, 采用 SPSS10.0 统计分析软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 Cd胁迫对莴苣幼苗形态指标的影响

莴苣幼苗受Cd毒害后最先在植株根部表现出来, 随后是地上部分。在含不同Cd溶液中培养6d后测定了其形态指标。由图1A可以看出, $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Cd处理对根长的增加有一定的促进作用, 但未达到显著水平, 随着Cd胁迫浓度的增加, 各处理中莴苣幼苗的根长逐渐降低, $5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、

基金项目: 贵州省科技攻关项目(NY20083021); 贵州省自然科学基金项目(20072058); 贵州大学人才基金项目(X060036)

作者简介: 任艳芳(1976年生), 女, 副教授, 博士, 主要从事植物生理与分子生物学方面的研究。E-mail: gzdx2006@126.com

收稿日期: 2008-12-28

50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Cd处理下, 幼苗根长分别是对照的86.51%、75.44%、66.52%和53.04%。由图1B和图1C可以看出, 不同浓度的Cd处理中, 莴苣幼苗株高和叶面积的变化趋势与株高的基本一致, 即1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Cd处理促进了根长和叶面积的生长, 而随着Cd处理浓度的增加, 幼苗根长和叶面积的生长受到不同程度的抑制, 表现出逐渐降低的趋势。而叶数的测定结果(图1D)表明, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Cd处理中, 叶数变化与对照相比并不明显。当Cd处理浓度为50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 叶数明显低于对照。可见, 较高浓度Cd胁迫下, 莴苣幼苗的生长受到了不同程度的抑制。

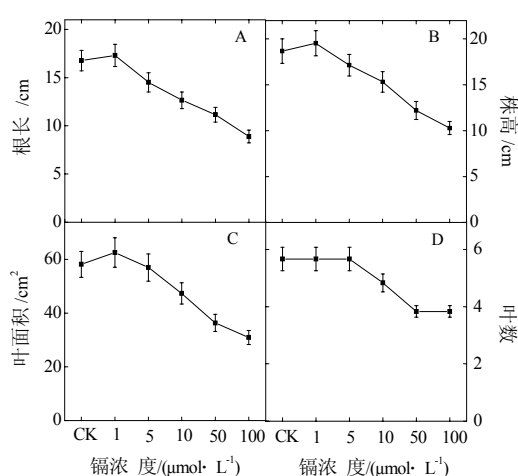


图1 Cd胁迫对莴苣幼苗根长(A)、株高(B)、叶面积(C)、叶数(D)的影响

Fig. 1 Effects of Cd stress on lettuce seedlings root length (A), plant height (B), leaf area (C) and the amount of leaf (D)

2.2 Cd胁迫对萌发莴苣幼苗中MDA含量的影响

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的产物, 能与蛋白质、核酸、氨基酸等物质交联, 形成不溶性化合物, 从而干扰细胞正常的生命活动, 影响植物的生长发育, 故MDA常用来表示植物对逆境条件反应的强弱^[8]。图2表明, 当Cd²⁺浓度高于5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, MDA的含量急剧上升, Cd²⁺浓度上升至100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 其含量为对照的2.48倍。叶中MDA含量的变化趋势与根中相似。相比之下, 在不同浓度的Cd²⁺胁迫下, 莴苣幼苗根中MDA含量的增加明显高于叶中。这说明Cd²⁺胁迫对根细胞产生了更严重的伤害作用。

2.3 Cd胁迫对萌发莴苣幼苗中抗氧化酶活性的影响

SOD、G-POD、CAT、APX是植物体内清除活性氧的重要酶类。SOD是活性氧清除反应中的一个重要的抗氧化酶, 对于清除氧自由基, 防止氧自由

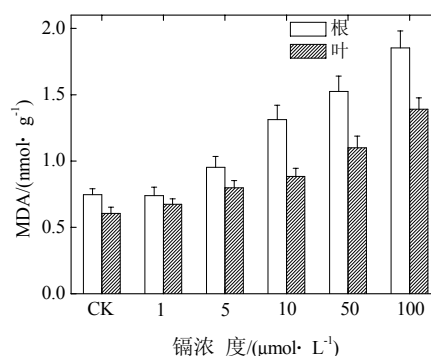


图2 Cd胁迫对萌发莴苣幼苗中MDA含量的影响

Fig. 2 Effects of Cd stress on MDA content of lettuce seedlings

基破坏细胞的组成、结构和功能, 保护细胞免受氧化损伤具有十分重要的作用。由图3A可以看出, 叶片的SOD活性首先随Cd浓度的提高呈现先明显增加, 在10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺下达到最高, 然后随着处理浓度的提高而降低, 在100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺处理下, 叶中的SOD仍高于对照, 但与对照无明显差异。根中的SOD活性变化与叶中基本相似, 但在100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺处理下, 根中SOD活性明显低于对照。

已有研究表明G-POD因在逆境胁迫中被激活的程度最大, 且持续时间最长, 在逆境胁迫中起关键作用, 故有建议用G-POD活性变化的水平作为反映污染胁迫的灵敏指标^[15]。从试验结果看, 根中的G-POD活性显著高于叶片, 根中的POD活性随Cd浓度的提高而显著增加。叶片的POD活性随Cd浓度的增加呈现先增后减的趋势, 在50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 叶片POD活性最高; 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 叶片POD活性下降, 但仍显著高于对照(图3B)。

CAT和APX都是消除H₂O₂的主要酶类。图3C显示, Cd胁迫下叶片和根中的CAT酶活性受到明显抑制。1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd处理对CAT表现出微弱的促进效应。各处理中, 叶中CAT活性明显高于根中, 与对照相比, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Cd处理中, 根中APX活性分别是对照的82.65%、66.60%、55.67%和39.14%, 叶中CAT活性分别是对照的85.52%、73.75%、64.63%和51.47%, 可见Cd胁迫下, 叶中CAT活性降低幅度大于根中。不同浓度Cd胁迫下根和叶中APX活性的变化与CAT活性的变化趋势相似(图3D)。

3 讨论

镉作为一种植物非必需的元素, 不仅会使植物生长发育受阻, 产量品质下降, 还会通过食物链进入人体, 危害人类的健康。实验结果表明, Cd对植物生长的影响存在剂量效应。低浓度Cd(1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对植株生长显示有一定的促进作用。在高于1

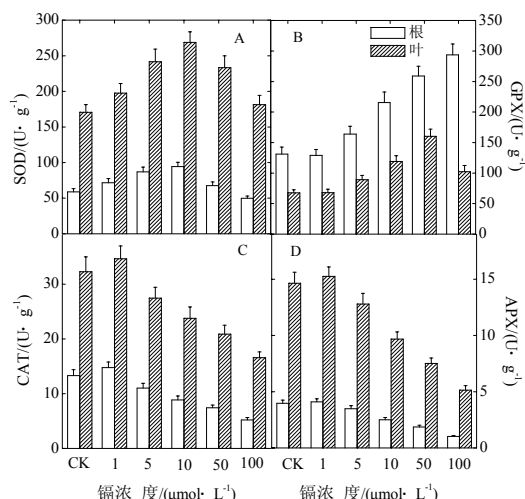


图3 Cd胁迫对萌发莴苣幼苗中SOD、G-POD、APX、CAT活性的影响

Fig. 3 Effects of Cd stress on activities of SOD, G-POD, APX and CAT of lettuce seedlings

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd处理下,随着Cd处理浓度的升高,根和叶的生长都表现出明显的抑制作用。这与在水稻^[10]、小白菜^[9]的研究结果一致。Cd对植物的生长产生抑制的原因有很多。研究认为可能是 Cd^{2+} 进入植物体后,大多积累在根的生长部位,主要破坏细胞核内染色体和核仁^[16]。随着植株体内 Cd^{2+} 含量的增加,对染色体和核仁的破坏加重,这是抑制根伸长的主要原因。Ouzounidou等^[17]研究发现Cd处理降低小麦地上部分Fe、Mg、Ca和K的含量,认为这间接导致地上部分生长减少和叶绿素含量及光合作用的抑制。在本试验中,我们也观察到,当Cd浓度大于 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时植株叶片偏黄色,新展开的叶片变小变窄。而这一现象随着Cd浓度的增加更趋明显,当Cd浓度达到 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 叶片几乎全部失绿,叶脉间呈透明状,有些植株开始萎蔫,从茎中部开始变黄,变褐,甚至干枯。

细胞膜作为植物调节和控制细胞内外物质运输和交换的重要结构,其稳定性是细胞进行正常生理功能的基础。MDA是膜脂过氧化的重要产物,可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联,形成不溶性化合物沉积,干扰细胞的正常生命活动^[7]。本试验中, $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd时,MDA含量与对照无显著差异,说明Cd未对细胞膜造成过多损害,这可能是由于保护酶系统在发挥作用,维持了细胞膜结构和功能的完整性;当Cd浓度为 $5\sim 100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,MDA含量显著增加,说明莴苣细胞膜结构损伤,细胞膜结构完整性被破坏。

不良环境诱发生物代谢过程产生的自由基对植物膜有伤害作用,但生物体自身的保护酶系统能

清除自由基,减轻危害^[6]。SOD、G-POD、APX和CAT共同组成植物体内的活性氧清除系统,共同作用能把 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 转化成 H_2O 和 O_2 ,从而有效阻止 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的积累,抑制高活性的OH等的形成,限制这些自由基对膜脂过氧化的启动^[18]。本试验中,SOD活性的增高表明了保护能力的启动和增强,但在 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd浓度下,SOD活性又明显下降。可能是Cd胁迫下,由于过量Cd的吸收影响了SOD的合成。根和叶中的G-POD活性随着Cd处理浓度的增加逐渐升高,其原因可能是植物体内Cd达到一定浓度时,膜脂过氧化作用增强,而使体内过氧化物浓度增加,即增加了G-POD的底物浓度,从而使G-POD活性上升^[19]。CAT、APX活性随Cd浓度变化规律显示,低Cd浓度处理,CAT、APX活性增强,对Cd胁迫产生的活性氧起到了有效的清除作用;而高浓度Cd对CAT、APX活性产生了明显的抑制作用。可能是由于高 Cd^{2+} 胁迫下,Cd干扰了其分子结构或改变了其空间结构,或 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 在植物体内的积累速度快于APX和CAT的清除速度,导致活性氧的产生与清除之间的平衡被破坏,植物清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 能力的下降,活性氧持续积累,加剧了膜脂的过氧化^[20],也可能是 Cd^{2+} 在引起膜脂过氧化的同时, Cd^{2+} 和膜蛋白的巯基(-SH)交联,或直接抑制膜中的一些关键酶,如 H^+ -ATP酶的活性等^[2]。但其确切的原因还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 黄勇,郭庆荣,任海,等.珠江三角洲典型地区蔬菜重金属污染现状研究-以中山市和东莞市为例[J].生态环境,2005,14(4):559-561. HUANG Yong, GUO Qingrong, REN Hai, et al. Investigation of heavy metal pollution in vegetables in the Pearl River delta: A case study of Zhongshan and Dongguan[J]. Ecology and Environment, 2005, 14(4): 559-561.
- [2] SHAH K, KUMAR R G, VERMA A, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. Plant Science, 2001, 161: 1135-1144.
- [3] 曹会聪,王金达,任慧敏,等.土壤镉暴露对玉米和大豆的生态毒性评估[J].环境科学学报,2007,27(2):298-303. CAO Huicong, WANG Jinda, REN Huimin, et al. Ecotoxicity assessment of cadmium in soil to maize (*Zea mays*) and soybean (*Glycine max*) [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2007, 27(2): 298-303.
- [4] CLEMENSTE R, WALKER D J, ROIG A, et al. Heavy metal bioavailability in a soil affected by mineral sulphides contamination following the mine spillage at Aznalcollar (Spain) [J]. Biodegradation, 2003, 14(3): 199-205.
- [5] 徐正浩,沈国军,诸常青,等.植物镉忍耐的分子机理[J].应用生态学报,2006,17(6):1112-1116. XU Zhenghao, SHEN Guojun, ZHU Changqing, et al. Molecular mechanisms of plant resistance to cadmium toxicity [J]. Chinese Jour-

- nal of Applied Ecology, 2006, 17(6): 1112-1116.
- [6] HALL J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(366): 1-11.
- [7] 李子芳, 刘惠芬, 熊肖霞, 等. 镉胁迫对小麦种子萌发幼苗生长及生理生化特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 17-20.
- LI Zhifang, LIU Huifen, XIONG Xiaoxia, et al. Effect of cadmium on seed germination, seedling development and physiological and biochemical characteristics of wheat[J]. Journal of Agro-environmental Science, 2005, 24(S): 17-20.
- [8] 黄运湘, 廖柏寒, 肖浪涛, 等. 镉处理对大豆幼苗生长及激素含量的影响[J]. 环境科学, 2006, 27(7): 1398-1401.
- HUANG Yunxiang, LIAO Baihan, XIAO Langtao, et al. Effects of Cd²⁺ on seedling growth and phytohormone contents of *Glycine max*[J]. Environmental Science, 2006, 27(7): 1398-1401.
- [9] 于方明, 仇荣亮, 汤叶涛, 等. Cd 对小白菜生长及氮素代谢的影响研究[J]. 环境科学, 2008, 29(2): 506-511.
- YU Fangming, QIU Rongliang, TANG Yetao, et al. Effects of cadmium on the growth and nitrogen metabolism in *Brassica chinensis*[J]. Environmental Science, 2008, 29(2): 506-511.
- [10] 周晓红, 王国祥, 冯冰冰. 光照对菹草 (*Potamogeton crispus*) 幼苗生长发育和光合荧光特性的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(4): 1342-1347.
- ZHOU Xiaohong, WANG Guoxiang, FENG Bingbing. Influence of the growth and photosynthetic characteristics of *Potamogeton crispus* in light[J]. Ecology and Environment, 2008, 17(4): 1342-1347.
- [11] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 59-62.
- ZHANG Zhiliang. Plant Physiological Experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 1990: 59-62.
- [12] KLAPHECK S, ZIMMER I, COSSSE H. Scavenging peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* peroxidase[J]. Plant Cell and Physiology, 1990, 31: 1005-1013.
- [13] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell and Physiology, 1981, 22: 867-880.
- [14] AEBI H. Catalase in vitro[J]. Methods in Enzymology, 1984, 105: 121-126.
- [15] 马文丽, 金小弟, 王转花. 镉处理对乌麦种子萌发幼苗生长及抗氧化酶的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(1): 55-59.
- MA Wenli, JIN Xiaodi, WANG Zhuanhua. Effects of cadmium on seed germination, growth of seedling and antioxidant enzymes of rye and wheat[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2004, 23(1): 55-59.
- [16] 何俊瑜, 任艳芳, 朱诚, 等. 镉胁迫对镉敏感水稻突变体活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(3): 1004-1008.
- HE Junyu, REN Yanfang, ZHU Cheng, et al. Effects of cadmium stress on reactive oxygen species metabolism and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings[J]. Ecology and Environment, 2008, 17(3): 1004-1008.
- [17] OUZOUNIDOU G M, MOUSTAKAS E P. Physiological and ultrastructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L) leaves[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1997, 32(2): 154-160.
- [18] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 等. Cd、Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响[J]. 生态学报, 1997, 17(5): 488-492.
- YAN Chongling, HONG Yetang, FU Shunzhen, et al. Effect of Cd, Pb stress on scavenging system of activated oxygen in leaves of tobacco[J]. Acta Ecologica Sinica, 1997, 17(5): 488-492.
- [19] 汪洪, 赵士诚, 夏文建, 等. 不同浓度镉胁迫对玉米幼苗光合作用、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(1): 36-42.
- WANG Hong, ZHAO Shicheng, XIA Wenjian, et al. Effect of cadmium stress on photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) seedlings[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14(1): 36-42.
- [20] 吴旭红. 三个苜蓿品种对镉污染的生理生态反应及抗性比较[J]. 生态环境, 2005, 14(5): 658-661.
- WU Xuhong. Comparison of the resistance of three varieties of alfalfa to cadmium stress[J]. Ecology and Environment, 2005, 14(5): 658-661.

Effects of Cd stress on seedling growth and activities in antioxidant enzymes of lettuce

Ren Yanfang, He Junyu, Liu Chang, Luo Xingling, Huang Tianxing

College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: Effects of cadmium at different concentrations on seedling growth and activities in antioxidant enzymes of lettuce cultivar, Sunwang No. 1, were studied after solution culture. It was shown that plant height, root length, leaf area and the amount of leaf were inhibited seriously by Cd at 10~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, but were promoted by Cd at 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. The content of MDA and activities of SOD and G-POD in roots and leaves increased gradually during increasing of Cd concentration. However, activities of SOD in roots decreased significantly when Cd was at 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd can stimulate activities of CAT and APX in roots and leaves, however, the activities turned to be restrained and the effects increased gradually.

Key words: Cd; lettuce; seedling growth; antioxidant enzymes