

壳低聚糖浸种对镉胁迫下小白菜幼苗 部分生理生化特性的影响

肖 丽^{1,2}, 匡银近³, 覃彩芹^{3,4}

(1. 孝感学院 生命科学技术学院, 湖北 孝感 432000; 2. 湖北大学 生命科学学院, 湖北 武汉 430062;

3. 孝感学院 天然多糖研究室, 湖北 孝感 432000; 4. 武汉大学 生物质资源化学与环境生物技术湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430072)

摘 要:分别以 0、10、50、100、150、200 及 300 mg/L 7 种浓度的壳低聚糖溶液对小白菜种子浸种 24 h, 培养箱培养 7 d 后, 选长势一致幼苗移栽于 1.5 kg 重的基质中, 1 kg 基质含浓度为 2.5 mmol/L 的 Cd^{2+} 溶液 20 mL, 15 d 后测定各项生理指标, 研究壳低聚糖对镉胁迫下小白菜幼苗生长的影响。结果表明:经壳低聚糖浸种处理后, 与对照相比, SOD、POD 和 CAT 活性增大; 根系活力、可溶性糖含量和叶绿素含量升高; MDA 含量和叶片相对电导率降低。因此, 适宜浓度壳低聚糖浸种处理可增强小白菜幼苗的抗重金属镉毒害性, 且以 150~200 mg/L 壳低聚糖浸种处理的缓解镉毒害效果最明显。

关键词:壳低聚糖; 镉胁迫; 小白菜; 生理生化特性

中图分类号:S 634.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)17-0027-04

20 世纪以来, 随着全球工业化和城市化的发展, 无论发达国家还是发展中国家, 都相继出现了菜地土壤重金属累积与污染问题^[1]。马往校等^[2]通过对西安郊区 9 种蔬菜的取样检测发现, 由于污水灌溉、交通污染以及工业区与菜地的直接接壤, 致使蔬菜中铅的超标率为 48.0%, 最高超标 6.91 倍; 铬和镉的污染在个别蔬菜中, 超标率分别为 4.0% 和 2.0%, 最高超标分别为 5.20 倍和 1.32 倍。当植物体积累积镉含量达到一定程度时, 植物就会表现出生长迟缓、植株矮小、退绿、降低植物产品的产量和质量等毒害症状^[3-7]。重金属被土壤作物吸收后, 通过食物链的传递和富集, 最终危害人体健康^[8]。

壳聚糖名称为 β -(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖, 是自然资源丰富的甲壳素部分脱乙酰化的产物, 也是自然界中唯一的碱性多糖^[9]。壳聚糖来源广泛, 具有良好的生物相容性, 无毒、无害、可生物降解, 是典型的环境友好高分子材料, 自 20 世纪 70 年代起, 对壳聚糖的研究十分活跃, 已被广泛应用于食品、医药、环境、化工等领域^[10-11]。壳聚糖及其衍生物在抵御植物逆境胁迫方面的作用和机理逐渐成为人们研究的重点。大量研究表明, 壳聚糖及其衍生物可以诱导植物产生广谱抗

性^[12], 能够缓解低温胁迫^[13]、盐胁迫^[14]及干旱胁迫^[15]等对植物的伤害, 但壳低聚糖能否有效缓解重金属对蔬菜的毒害报道尚且较少。该试验旨在讨论壳低聚糖能否提高蔬菜幼苗的抗重金属胁迫能力, 以为大田蔬菜抗重金属污染栽培提供参考, 评价壳低聚糖在蔬菜无公害生产及保障菜篮子安全中的应用价值^[16]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试小白菜 (*Brassica rapa chinensis*) “青茯苓”种子由孝感市种子公司提供。壳低聚糖 (Mw 1000-3000) 由湖北工程学院生物质资源化学与环境生物技术湖北省重点实验室提供。

1.2 试验方法

选取发育充实、饱满的小白菜种子经 0.1% 升汞消毒 10 min, 冲洗 3~4 次, 先用不同浓度的壳低聚糖溶液浸种 24 h, 试验设壳低聚糖溶液浓度为 0、10、50、100、150、200 和 300 mg/L 共 7 个处理, 然后将种子播于铺有 2 层滤纸的培养皿 (直径 9 cm) 中, 每皿 100 粒。各处理 3 次重复。放置于恒温箱内 (25 ± 1) °C 萌发, 待 7 d 后挑选长势一致的幼苗进行移栽。

每盆基质重 1.5 kg, 1 kg 基质中含 20 mL 浓度为 2.5 mmol/L 的 Cd^{2+} 溶液, 每盆移栽 40 株小白菜幼苗, 共 7 个处理, 3 次重复, 以蒸馏水处理作为 CK。每天定时用喷雾器补水, 保持基质含水率在 28%~30% 之间。盆栽 15 d 后取样测定各项生理指标。

第一作者简介:肖丽 (1987-), 女, 湖北黄冈人, 在读硕士, 研究方向为农业资源利用。E-mail: xiaolixgu@163.com.

责任作者:覃彩芹 (1965-), 男, 湖北赤壁人, 博士, 教授, 现主要从事天然多糖应用方面的研究工作。E-mail: qincq@sohu.com.

收稿日期:2012-05-17

1.3 项目测定

SOD 采用 NBT 光化还原法测定^[17], POD 采用愈创木酚氧化法测定^[17], CAT 采用紫外分光光度法测定^[17], MDA 采用硫代巴比妥酸(TBA)反应法测定^[17], 可溶性糖采用蒽酮法测定^[18], 根系活力采用 TTC 法测定^[18], 叶绿素含量由 SPAD-502 叶绿素含量测定仪测定, 相对电导率由 DDS211 电导仪测定。

1.4 数据分析

所有数据采用 Microsoft Excel 和 SPSS 18.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 壳低聚糖对镉胁迫下小白菜幼苗 3 种保护酶活性的影响

目前 SOD 被公认为植物抗氧化系统中重要的酶类, 是植物抗氧化系统的第一道防线^[17]。由表 1 可知, 单独重金属镉胁迫下, 小白菜幼苗的 SOD 活性最低。经壳低聚糖浸种处理后, 其 SOD 活性变化趋势为先增后降, 分别比对照提高 78.14%、112.37%、127.88%、156.22%、166.75%和 81.10%。小白菜幼苗 SOD 活性在壳低聚糖浓度为 100、150、200 mg/L 时与对照差异极显著。

POD 在植物体中分布广泛, 是植物体内重要的代谢酶, 它与光合作用、呼吸作用等都有关系, 能催化 H_2O_2 氧化酶类的反应, 使植物免受毒害。由表 1 可知, 经壳低聚糖浸种处理后, 小白菜幼苗 POD 活性分别比对照提高 19.53%、97.67%、112.09%、124.65%、133.02%和 116.74%。在壳低聚糖浸种浓度为 50~300 mg/L 时, 小白菜幼苗 POD 活性分别与对照差异极显著。

表 1 壳低聚糖对镉胁迫下白菜幼苗 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

Table 1 Effect of oligochitosan on SOD, POD and CAT activities in Chinese cabbage leaves under the stress of cadmium

壳低聚糖浓度 Concentration of chito- oligosaccharide / mg · L ⁻¹	SOD 活性 Activity of SOD / U · g ⁻¹	POD 活性 Activity of POD / U · g ⁻¹ · min ⁻¹	CAT 活性 Activity of CAT / U · g ⁻¹ · min ⁻¹
CK	143.57 B c	215 B b	10.02 D d
10	255.76 AB bc	257 B b	11.04 CD d
50	304.90 AB abc	425 A a	13.15 BCD cd
100	327.17 A abc	456 A a	15.74 AB abc
150	367.86 A ab	483 A a	17.79 A ab
200	382.98 A a	501 A a	18.88 A a
300	260.00 AB abc	466 A a	14.71 ABC bc

注: 小写字母代表在 0.05 水平下比较, 差异显著。大写字母代表在 0.01 水平下比较, 差异极显著。下同。

由表 1 可知, 壳低聚糖浸种处理会影响小白菜幼苗 CAT 活性。当浸种浓度在 100 mg/L 以上时, 小白菜幼

苗 CAT 活性分别与对照具有极显著差异, 比对照提高 57.09%、77.54%、88.42%和 46.81%; 当浸种浓度为较低浓度 10 mg/L 和 50 mg/L 时, 小白菜幼苗 CAT 活性与对照存在显著差异。由此可见, 壳低聚糖浸种处理可以提高重金属镉胁迫下 SOD、POD、CAT 酶的活性, 在一定的处理浓度时效果最好。

2.2 壳低聚糖对镉胁迫下小白菜幼苗叶片叶绿素含量、可溶性糖含量和根系活力的影响

逆境条件会明显增加植物体内的可溶性糖含量, 因而可以把可溶性糖常作为植物抗逆性的指标。由表 2 可知, 小白菜幼苗可溶性糖含量在 150、200 mg/L 浸种处理浓度时与对照差异极显著, 分别比对照提高 114.94%和 137.93%。

植物叶片叶绿素含量与光合作用密切相关, 叶绿素是植物进行光合作用的色素, 叶绿素含量的高低在一定程度上可以反映光合作用水平, 如果叶绿素含量降低就会导致光合作用减弱, 最终影响光合产量。由表 2 可知, 单独重金属镉胁迫下, 小白菜幼苗叶绿素含量最低。经壳低聚糖浸种处理后, 分别比对照提高 4.60%、17.89%、18.62%、19.55%、20.05%和 15.96%。壳低聚糖浸种浓度在 50~200 mg/L 时, 小白菜幼苗叶绿素含量分别与对照存在显著差异。

根系是植物的重要器官, 根系活力直接影响植物个体的生长发育、营养水平和产量品质。研究表明, 重金属胁迫可危害植物根系, 造成根系生理代谢失调, 进而生长受到抑制^[19]。由表 2 可知, 经壳低聚糖浸种处理后, 小白菜幼苗根系活力分别比对照提高 18.18%、45.45%、63.64%、81.82%、109.09%和 36.36%。浸种浓度在 50~300 mg/L 时, 小白菜幼苗根系活力与对照差异极显著。由此可见, 壳低聚糖浸种处理缓解了重金属镉对植物根系的毒害, 使根系最大限度的生长。

表 2 壳低聚糖对镉胁迫下小白菜幼苗叶片叶绿素含量、可溶性糖含量和根系活力的影响

Table 2 Effect of oligochitosan on chlorophyll content, soluble sugar content and root activity in chinese cabbage under the stress of cadmium

壳低聚糖浓度 Concentration of chito-oligosaccharide/ mg · L ⁻¹	可溶性糖含量 Content of soluble sugar/ %	根系活力 Activity of root / mg · g ⁻¹ · h ⁻¹	叶绿素 SPAD 值 Chlorophyll of SPAD
CK	0.87 B b	0.11 E e	30.02 A c
10	0.91 B b	0.13 DE de	31.40 A bc
50	1.38 B ab	0.16 CD cd	35.39 A ab
100	1.73 B ab	0.18 BC bc	35.61 A ab
150	1.87 AB a	0.20 B b	35.89 A ab
200	2.07 A a	0.23 A a	36.04 A a
300	1.55 B ab	0.15 CD cd	34.81 A ab

2.3 壳低聚糖对镉胁迫下白菜幼苗叶片相对电导率和MDA含量的影响

丙二醛(MDA)是膜质过氧化的产物,它的积累会加剧膜脂过氧化,表示细胞膜脂过氧化程度和植物衰老指标以及对逆境条件反应的强弱,其含量的变化能够反映逆境下植物受到伤害程度。细胞膜的透性影响细胞内部分电解质、有机物外渗。测定质膜透性最常用的方法是测定组织外渗液的电导率变化,外渗液电导率增大,说明膜的透性增大,质膜受损的程度就越大^[18]。由表3可知,经壳低聚糖浸种处理后,小白菜幼苗相对电导率和MDA含量都有所降低。相对电导率较对照降低22.22%、43.06%、44.44%、55.56%、62.50%和47.22%;MDA含量较对照降低14.42%、18.98%、30.92%、34.05%、38.03%和28.51%。壳低聚糖浸种浓度为200 mg/L时,相对电导率和MDA含量与对照存在显著差异。

表3 壳低聚糖对镉胁迫下白菜幼苗叶片相对电导率和MDA含量的影响

Table 3 Effect of oligochitosan on electric conductivity and content of MDA in Chinese cabbage leaves under the stress of cadmium

壳低聚糖浓度 Concentration of chito-oligosaccharide/mg · L ⁻¹	MDA含量 Content of MDA /μmol · g ⁻¹	相对电导率 Relative conductivity/%
CK	0.72 A b	15.33 A a
10	0.56 A b	13.12 A ab
50	0.41 A b	12.42 A ab
100	0.40 A b	10.59 A b
150	0.32 A a	10.11 A b
200	0.27 A a	9.50 A b
300	0.38 A ab	10.96 A b

3 结论与讨论

镉是植物生长的非必需元素,植物根系吸收过量的镉并将其运输到植株的各个器官,会导致植物体内多种代谢活动发生变化,最终抑制植物生长。该试验结果表明,壳低聚糖浸种能够明显缓解小白菜幼苗的镉毒害,其主要原因在于镉胁迫过程中小白菜幼苗根系活力提高;维持了较高的过氧化物酶活性;可溶性糖含量增加;MDA含量的积累较少;叶片相对电导率降低,说明与对照相比,壳低聚糖处理的小白菜幼苗体内自由基含量较少,减轻了细胞膜的过氧化作用,维持了膜的稳定性,提高了细胞的抗逆性,保证了细胞生理生化过程能够正常进行,最终有效地提高小白菜幼苗的抗重金属能力。

只有适宜浓度的壳低聚糖浸种才能明显缓解小白菜幼苗的镉毒害。当壳低聚糖浸种浓度为150、200 mg/L

时,小白菜幼苗的SOD、POD、CAT活性、可溶性糖含量、根系活力、叶绿素含量、MDA含量和叶片相对电导率分别与对照差异显著。该试验为壳低聚糖在抗重金属镉方面的研究提供理论基础和实践意义,但对壳低聚糖在抗重金属方面的应用还需深层次的研究。

参考文献

- [1] 曾希柏,李莲芳,梅旭荣. 中国蔬菜土壤的重金属含量及来源分析[J]. 中国农业科学,2007,40(11):2507-2517.
- [2] 马往校,段敏,李岚. 西安市蔬菜重金属污染调查[J]. 西北园艺,1999(6):34-35.
- [3] 曾咏梅,毛昆明,李永梅. 土壤中镉污染的危害及其防治对策[J]. 云南农业大学学报,2005,20(3):360-365.
- [4] 顾颖刚. 镉胁迫对杨树无性系植株生长发育及部分生理特性影响的研究[D]. 天津:天津师范大学,2008.
- [5] Moral R, Gomez I, Navarro Pedreno J, et al. Effect of cadmium on nutrient distribution, yield and growth of tomato grown in soil less culture[J]. Journal of Plant Nutrition, 1994, 17(6):953-962.
- [6] Lakahamn K C, Virinder K G, Surinder K S. Effect of cadmium on enzyme of nitrogen metabolism in pea seedling[J]. Phytochemistry, 1992, 31(2):395-400.
- [7] 秦天才,吴玉树,王焕校,等. 镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J]. 生态学报,1998,18(3):320-325.
- [8] 乔靖华. 土壤-蔬菜系统中重金属的迁移[D]. 西安:西安科技大学,2011.
- [9] 魏新林,夏文水. 甲壳低聚糖的生理活性研究[J]. 中国药理学通报,2003,19(6):164-167.
- [10] Bergera J, Reista M, Mayera J M, et al. Structure and interactions in covalently and ionically cross-linked chitosan hydrogels for biomedical applications[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2004, 57(1):19-34.
- [11] Wu L Q, Lee K Y, Wang X, et al. Chitosan-mediated and spatially selective electrodeposition of nanoscale particles[J]. Langmuir, 2005, 21:3641-3646.
- [12] 张文清. 不同分子量壳聚糖的制备及诱导植物抗性反应的研究[D]. 上海:华东理工大学,2003.
- [13] 吕晓露,寿森炎,廖芳宾. 极多产对冷胁迫后黄瓜幼苗恢复生长的影响[J]. 北方园艺,2007(8):3-6.
- [14] 刘桂智. 壳聚糖对日光温室黄瓜抗盐及生长发育状况的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2007.
- [15] 李艳. 壳聚糖诱导油菜抗旱性及其机理的初步研究[D]. 北京:北京林业大学,2008.
- [16] 黄铭洪. 环境污染与生态恢复[M]. 北京:科学出版社,2003.
- [17] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1990:1-269.
- [18] 李合生,孙群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:1-278.
- [17] 张小莉. 拟南芥 CEO₂ 基因功能的分子遗传学分析[D]. 郑州:河南大学,2008.
- [18] 中国科学院上海植物生理研究所,上海植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社,1999.
- [19] 张凌. Se⁴⁺ 对 Cd²⁺ 胁迫下玉米胚根生理特性的影响[D]. 成都:四川师范大学,2009.

不同嫁接方法对美国山核桃成活率及苗木生长比较研究

李淑芳^{1,2}, 杨建华¹, 范志远³, 习学良³, 邹伟烈³

(1. 云南省林业科学院 漾濞核桃研究院, 云南 漾濞 672500; 2. 西南林业大学, 云南 昆明 650204;

3. 云南省林业科学院, 云南 昆明 650204)

摘要:以美国核桃 1、2 a 生苗为试材, 研究比较了劈切和腹接 2 种嫁接方法对美国山核桃苗嫁接成活率及其生长状况的影响。结果表明: 不同年龄的苗木应采用不同的嫁接方法, 1 a 生美国山核桃砧木苗直径较小, 采用腹接法比劈接法成活率高, 2 a 生砧木苗则应采用劈接法成活率高, 达到 89.3%。2 种嫁接方法苗木高生长差异达到了极显著水平, 但直径生长差异不显著。砧木直径和接穗生长高有极强的线性回归关系 ($P < 0.01$)。

关键词:美国山核桃; 嫁接; 成活率; 苗木生长

中图分类号:S 664.104⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)17-0030-03

美国山核桃(*Carya illinoensis*)又名长山核桃、薄壳山核桃, 是原产美国和墨西哥北部的重要经济树种, 它既是果用、油用、材用树种, 又是庭园绿化树种^[1]。云南省是我国的美国山核桃主产区之一, 近年来, 美国山核桃作为云南省的主要经济林木, 发展迅速, 生产上对美国山核桃良种苗的需求越来越大, 供需矛盾十分突

出^[2]。美国山核桃苗木生产中主要采用本砧嫁接育苗, 即用美国山核桃种子育出的苗木做砧木^[3]。实生繁殖的幼苗为直根系苗, 主根非常发达, 侧根较少, 其地下部份生长量远远大于地上部分^[4], 以致大多数播种当年的幼苗达不到嫁接要求的直径, 一般砧木苗培育周期为 1~2 a, 目前主要采用劈接和单芽枝腹接 2 种嫁接方法。生产中嫁接苗成活率较低, 且品质良莠不齐, 商品性能差, 严重影响美国山核桃产业的发展。美国山核桃砧木苗培育已经有一套成熟的技术, 而嫁接管理技术一直是生产上技术难点。针对美国山核桃存在嫁接成活率低的情况, 该试验主要探究不同嫁接方法对嫁接成活及嫁接后苗木长势的差异, 比较不同嫁接方法的优劣, 旨在解决美国山核桃嫁接成活率低的问题, 为美国山核桃嫁

第一作者简介:李淑芳(1981-), 女, 四川犍为人, 在读硕士, 现主要从事经济林培育及栽培技术等研究工作。

责任作者:范志远(1965-), 男, 湖南隆回人, 硕士, 研究员, 现主要从事于果育种及栽培技术研究工作。

基金项目:云南省科技计划资助项目(2009BB002)。

收稿日期:2012-05-16

Influence of Oligochitosan on Some Physiological and Biochemical Characteristics of Chinese Cabbage under the Stress of Cadmium

XIAO Li^{1,2}, KUANG Yin-jin³, QIN Cai-qin^{3,4}

(1. College of Life Science and Technology, Xiaogan University, Xiaogan, Hubei 432000; 2. College of Life Science, Hubei University, Wuhan, Hubei 430062; 3. Laboratory of Natural Polysaccharides, Xiaogan University, Xiaogan, Hubei 432000; 4. Key Laboratory of Biomass-Resource Chemistry and Environmental Biotechnology of Hubei, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430072)

Abstract: The seed of Chinese cabbage were treated with 0, 10, 50, 100, 150, 200 and 300 mg/L of oligochitosan for 24 h, exposed to matrix that include 20 mL 2.5 mmol/L Cd²⁺ solution of the 1.5 kg matrix potted plants for 7 days and then determined each index after 15 days the effects of oligochitosan on the stress of cadmium activity. The results showed that compared with the control, the activities of three protective enzymes, such as superoxide SOD, POD and CAT increased; root activity, the content of soluble sugar and chlorophyll content rised; while the MDA content and leaf relative electrical conductivity decreased in the leave of treated plants. The concentration of oligochitosan at 150 to 200 mg/L showed the most effective result.

Key words: oligochitosan; cadmium stress; Chinese cabbage physiological and biochemical characteristics