

镉胁迫对萝卜幼苗生长及相关生理指标的影响

刘思妹, 朱 毅, 郝 睿, 蒋 岚

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要:以“盛丰”白萝卜种子为试材,采用水培法,研究了不同浓度镉胁迫对萝卜幼苗生长及相关生理指标的影响,以期为萝卜幼苗镉的耐受性及植物修复作用提供理论依据。结果表明:镉胁迫下,萝卜幼苗根、茎、叶生长受到抑制,其中根、茎受到影响最为严重;丙二醛(MDA)含量、可溶性蛋白质含量、过氧化氢酶(CAT)活性及过氧化物酶(POD)活性均随处理浓度的增加而增加;抗氧化活性随镉浓度的升高而降低。

关键词:镉;白萝卜;幼苗;生长;生理指标

中图分类号:S 631.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)04-0013-05

近年来随着工业“三废”的排放及含镉肥料的大量施用,使我国土壤镉污染日趋严重^[1]。在重金属污染物中,镉具有较高的生物毒性^[2]。镉在土壤中富集之后,被植物所吸收,不仅危害农作物的生长,影响粮食产量和品质,而且会通过食物链进入人体,对人体健康造成很大危害^[3]。国内不少学者对镉胁迫萝卜幼苗根、茎、叶的保护酶系统的影响^[4-6]及萝卜根系对镉的富集作用^[7]进行了重点研究,而对萝卜幼苗整体在镉胁迫下的生长及相关生理指标的变化研究比较少。该试验旨在了解在白萝卜幼苗生长发育过程中,镉对其发芽、生长及相关生理指标的影响,从而为研究萝卜幼苗镉的耐受性及植物修复作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料“盛丰”白萝卜种子购自北京京研盛丰种苗研究所;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、DTT、PVP、过氧化氢、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、愈创木酚、氯化钠、氯化镉等试剂均为分析纯(北京畅华志诚有限公司);考马斯亮兰试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 选用种皮新鲜、富有光泽、籽粒大的新种子,剔除虫蛀、破残、畸形、腐霉、特瘪、成熟度不够等

不易发芽的种子,将种子先用蒸馏水淘洗 2 遍,在蒸馏水中室温条件下浸泡 4 h。

1.2.2 试验设计 设置 Cd²⁺ 胁迫浓度水溶液为 0.5 mmol/L(56.21 mg/kg)、1.0 mmol/L(112.41 mg/kg)、1.5 mmol/L(168.62 mg/kg),以不添加 Cd²⁺ 为对照(CK)。调 pH 5.8,装入方盘,使液面刚好没过穴盘,在 22 cm×32 cm 的苗盘(穴盘+方盘)上铺 4 层纱布,铺满种子(每盘 200 粒),使萝卜种子可以充分接触到 Cd²⁺ 液。避光催芽 3 d^[9],每 8 h 浇灌 1 次。3 d 后恢复光照(光照强度 5.6×10⁶ lx,光照时间 12 h/d,温度 26℃/20℃(12 h/12h),相对湿度 70%~80%^[9])。在 Cd²⁺ 胁迫的 1、2、3 d 上午 10 时,观察不同浓度 Cd²⁺ 胁迫的萝卜种子的发芽势,以出现明显胚芽鞘和胚根为发芽标准^[10]。胁迫处理的 3、5 d,分别取样对其叶长、叶宽、根长、茎长进行测量;胁迫处理 3、5、7 d 取样对其相关生理指标进行测定。

1.3 项目测定

1.3.1 种子发芽势计算 种子发芽初期,即 1、2、3 d 内正常发芽的种子占种子总数的百分率^[10]。

1.3.2 形态指标的测量 用直尺测量出萝卜幼苗 3、5、7 d 的叶长、叶宽、根长、茎长。

1.3.3 生理指标的测定 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[11],单位 μmol/g;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定^[11],酶活以 1 min 增加 1 个酶活计算,单位为 U·min⁻¹·g⁻¹;过氧化氢酶(CAT)活性的测定参考曹建康等^[11]的方法;总蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法;总抗氧化能力用 FRAP 法^[12],利用南京建成生物有限公司试剂盒测总抗氧化能力(T-AOC)。

1.4 数据分析

所有试验数据均采用 Excel 软件及 SPSS 20 软件进行统计分析。

第一作者简介:刘思妹(1991-),女,硕士研究生,研究方向为食品工程。E-mail:liusimei@cau.edu.cn

责任作者:朱毅(1973-),女,博士,副教授,现主要从事果蔬采后保鲜与生物活性物质功效研究等工作。E-mail:zhuyi_cau@126.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31101263)。

收稿日期:2013-11-22

2 结果与分析

2.1 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜种子发芽势的影响

发芽势可以说明种子的发芽能力和种子出苗的整齐度^[13]。由表 1 可知,随着 Cd²⁺ 胁迫浓度的不断升高,萝卜种子发芽势有下降的趋势,但不同浓度处理的发芽势与对照的发芽势相比无显著性差异,说明镉胁迫对种子萌发的影响并不显著。

表 1 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜种子发芽势的影响

Table 1 Effect of different Cd²⁺ stresses on seed germination energy %

发芽天数 Days of germination/d	0(CK)	0.5	1.0	1.5
1	88±0.010 ^a	87±0.055 ^a	87±0.043 ^a	86±0.058 ^a
2	94±0.017 ^a	93±0.032 ^a	91±0.010 ^a	90±0.058 ^a
3	96±0.020 ^a	94±0.031 ^a	93±0.021 ^a	93±0.015 ^a

注:数据用 3 次重复的均值±标准差形式表示;同一行中数据的不同字母上标代表数据间有显著差异(P<0.05),下同。

Note: Values represent the mean±standard deviation of triplicate test. Values in the same column with different letter mean significant difference(P<0.05). The same below.

2.2 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗生长的影响

2.2.1 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗根系伸长的影响

在重金属胁迫下,植物根系最先受到伤害^[2]。由图 1 可知,Cd²⁺ 胁迫下萝卜幼苗根系的伸长受到明显抑制;无论是 Cd²⁺ 处理后的 3 d 还是 5 d,萝卜幼苗的根长都随着处理浓度的增加而减少。0.5、1.0、1.5 mmol/L Cd²⁺ 胁迫 3 d,萝卜幼苗根系长度分别是对照植株的 23%、11%、9%;胁迫 5 d,萝卜幼苗根系长度分别是对照植株的 23%、13%、11%。

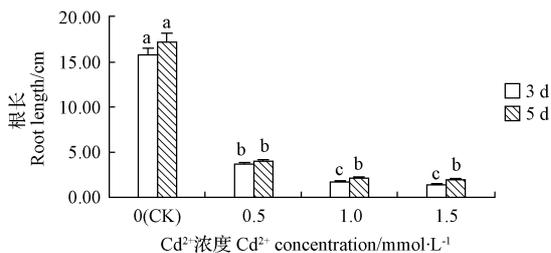


图 1 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗根系伸长的影响

Fig. 1 Effect of different Cd²⁺ stresses on root length of radish seedling

2.2.2 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗茎长的影响

由图 2 可知,各浓度 Cd²⁺ 胁迫下萝卜幼苗茎长与对照相比差异显著;随着 Cd²⁺ 胁迫浓度的提高,萝卜幼苗茎的生长受到明显抑制;Cd²⁺ 胁迫浓度为 0.5、1.0、1.5 mmol/L 处理 3 d,萝卜幼苗茎长分别是对照植株的 49%、32%、26%;胁迫处理 5 d,萝卜幼苗茎长分别是对照植株的 58%、35%、27%。

2.2.3 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗叶长及叶宽的影响

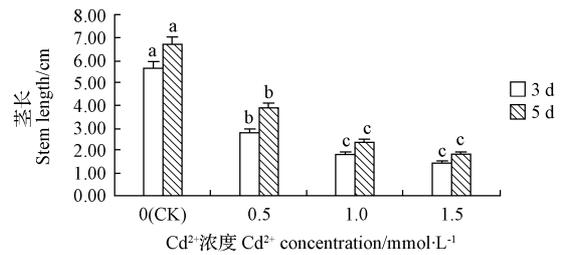


图 2 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗茎伸长的影响

Fig. 2 Effect of different Cd²⁺ stresses on stem length of radish seedling

响 由图 3、4 可知,Cd²⁺ 胁迫处理下萝卜幼苗叶的生长受到显著抑制;不论是萝卜幼苗的叶长还是叶宽,都随着处理浓度的增加而减少。0.5、1.0、1.5 mmol/L Cd²⁺ 处理 3 d,萝卜幼苗叶长分别是对照植株的 72%、64%、60%;萝卜幼苗叶宽分别是对照植株的 71%、65%、64%。处理 5 d,萝卜幼苗叶长分别是对照植株的 75%、66%、60%;萝卜幼苗叶宽分别是对照植株的 74%、70%、70%。

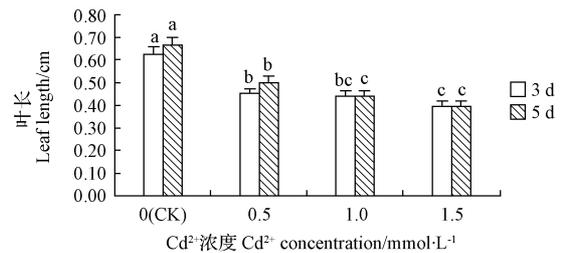


图 3 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗叶长的影响

Fig. 3 Effect of different Cd²⁺ stresses on leaf length of radish seedling

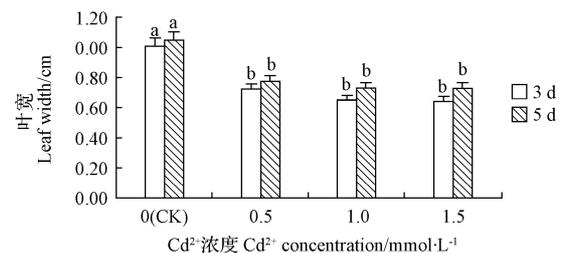


图 4 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗叶宽的影响

Fig. 4 Effect of different Cd²⁺ stresses on the leaf width of radish seedling

2.3 不同浓度 Cd²⁺ 胁迫对萝卜幼苗 MDA 含量的影响

植物在受到逆境胁迫时,体内细胞的活性氧平衡受到破坏^[14],因而引起膜脂过氧化,使细胞膜受到损伤。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的主要产物^[14-16],其含量的变化通常作为反映逆境胁迫下植物膜脂过氧化程度的参数。由图 5 可知,随着 Cd²⁺ 处理浓度的增加及处理时

间的延长,植物体内 MDA 含量与对照相比较都有不同程度的增加,其中在 3 d 和 5 d 时 Cd^{2+} 浓度为 0.5 mmol/L 及 1.0 mmol/L 处理与对照相比差异不显著。7 d 时,浓度为 1.0 mmol/L 及 1.5 mmol/L 处理与对照相比有显著性差异。由此可以看出,低浓度短时间 Cd^{2+} 胁迫,萝卜幼苗膜脂过氧化并不严重,而长时间及高浓度 Cd^{2+} 胁迫会导致萝卜幼苗的膜脂过氧化程度加重。

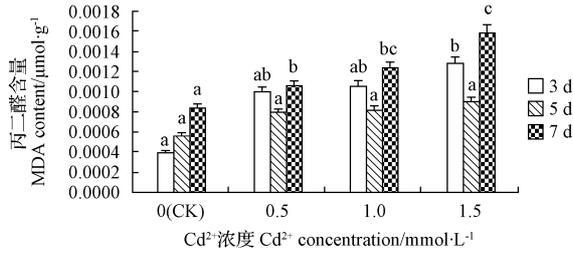


图 5 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗 MDA 含量的影响
Fig.5 Effect of different Cd^{2+} stresses on MDA content of radish seedling

2.4 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗 POD 活性的影响

过氧化物酶(POD)的主要作用就是清除植物体内氧化代谢产生的 H_2O_2 [6],是植物保护酶系统的重要保护酶之一。由图 6 可知,随着 Cd^{2+} 胁迫的开始,萝卜幼苗体内 POD 活性逐渐增强。胁迫第 3 天时,各处理 POD 活性均有所上升,但与对照差异不显著。胁迫第 5 天时, Cd^{2+} 浓度为 1.0 mmol/L 及 1.5 mmol/L 的处理与对照相比 POD 活性显著升高。胁迫第 7 天时,各处理与对照相比 POD 活性显著增强。表明 Cd^{2+} 胁迫处理诱导了萝卜幼苗体内 POD 活性增强。

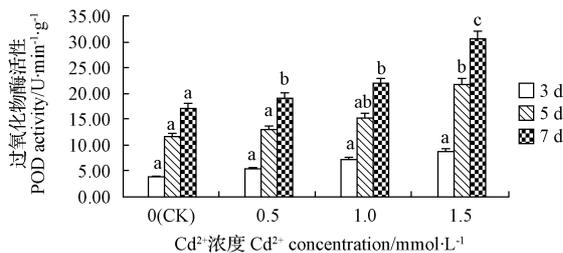


图 6 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗 POD 活性的影响
Fig.6 Effect of different Cd^{2+} stresses on POD activity of radish seedling

2.5 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗 CAT 活性的影响

过氧化氢酶(CAT)是活性氧清除酶系统的重要保护酶之一[17]。CAT 与其它保护酶一起可以有效阻止高浓度氧的积累,防止膜脂过氧化作用[18]。由图 7 可知,随着 Cd^{2+} 浓度的增加,萝卜幼苗体内 CAT 活性逐渐增强。低浓度处理组 0.5 mmol/L 与对照相比,差异并不

显著。1.0 mmol/L 及 1.5 mmol/L 处理与对照相比差异显著,CAT 活性显著增强。由此表明,低浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗体内 CAT 活性影响较小,高浓度 Cd^{2+} 胁迫诱导萝卜幼苗体内 CAT 活性增强。

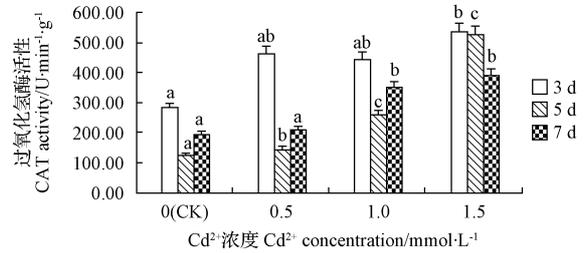


图 7 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗 CAT 活性的影响
Fig.7 Effect of different Cd^{2+} stresses on CAT activity of radish seedling

2.6 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗抗氧化活性(T-AOC)的影响

植物体内存在着清除活性氧的抗氧化系统,是植物体本身的一种防御机制[19]。在正常情况下植物体内活性氧的产生与清除处于动态平衡状态,当植物受到逆境胁迫时,这种平衡被打破,因此植物体抗氧化活性的变化可以显示出植物体受逆境胁迫的影响情况。由图 8 可知,随着处理组 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加,萝卜幼苗总抗氧化活性逐渐降低。各处理与对照相比总抗氧化活性均显著下降。由此说明 Cd^{2+} 胁迫对植物抗氧化系统有毒害作用。

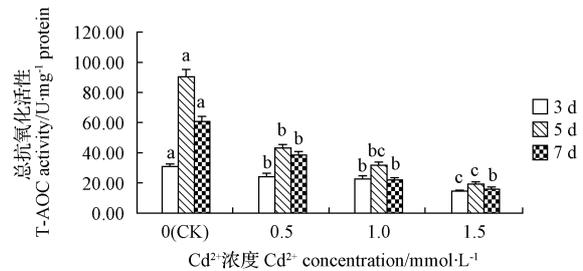


图 8 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗抗氧化活性的影响
Fig.8 Effect of different Cd^{2+} stresses on T-AOC activity of radish seedling

2.7 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗可溶性蛋白质含量的影响

蛋白质是生物机体生理生化活动所必须的物质,在受到外界胁迫时会产生各种不同的响应[20]。蛋白质含量的变化能够有效反映植物的代谢及合成情况,是衡量植物总代谢水平的重要指标[21]。由图 9 可知,随着 Cd^{2+} 胁迫的开始及时间的延长,各处理与对照相比,蛋白质含量都有不同程度的增加。短时间及低浓度 Cd^{2+} 处理与对照相比,差异并不显著。处理 7 d 时,

1.0 mmol/L及 1.5 mmol/L 的处理与对照相比,蛋白质含量显著增加。因此,说明 Cd^{2+} 能够诱导植物可溶性蛋白质含量的增加。

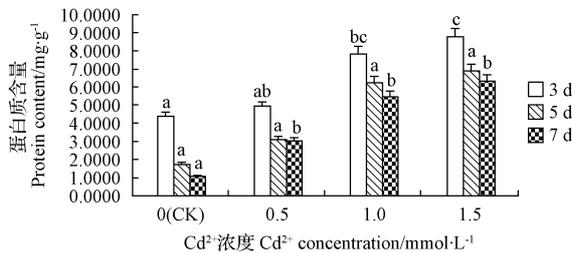


图9 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗可溶性蛋白质含量的影响
Fig. 9 Effect of different Cd^{2+} stresses on soluble protein content of radish seedling

3 讨论与结论

镉胁迫对萝卜幼苗的生长有重要影响。采用不同浓度的镉处理萝卜幼苗,其根长、茎长、叶长、叶宽与对照植株相比均有显著差异。随着 Cd^{2+} 浓度的增加,萝卜幼苗的根长、茎长、叶长、叶宽的生长明显受到抑制。其中,萝卜幼苗根系及茎的伸长在镉胁迫下受到抑制最为严重。不同镉浓度处理的萝卜发芽势与对照相比,差异并不显著,说明镉对萝卜发芽的影响较小。

该试验通过对 POD、CAT、T-AOC 活性及 MDA、可溶性蛋白质含量的测定表明, Cd^{2+} 胁迫对萝卜幼苗不同生理指标影响不同。镉胁迫能够迫使植物发生膜脂过氧化,影响植株正常的生长。植物体内丙二醛含量可以反映出细胞膜系统的受害程度^[16]。随着 Cd^{2+} 胁迫浓度的升高,各处理的 MDA 含量都高于对照,但呈现出高浓度差异显著,低浓度差异不显著的缓慢上升趋势。由此可见, Cd^{2+} 对萝卜幼苗膜系统的损伤并不是很严重,说明萝卜幼苗对 Cd^{2+} 具有较强耐受性。植物体内的保护酶在植物受到逆境胁迫时,能够清除体内过量活性氧,维持活性氧代谢平衡,使植物一定程度上能够抗逆境胁迫^[6]。随着 Cd^{2+} 处理浓度的升高,POD 及 CAT 活性都呈现上升趋势,并且在高浓度长时间胁迫下,POD 及 CAT 活性显著增强以维护植物体内活性氧平衡。抗氧化系统是植物体内重要的防御体系,总抗氧化活性的变化可以反映出植物体在受到逆境胁迫时,机体防御体系的状况。该试验表明,随着 Cd^{2+} 浓度的升高,萝卜幼苗总抗氧化能力显著下降。说明虽然 Cd^{2+} 能够诱导 POD 及 CAT 活性的增强,但同时对于植物抗氧化体系具有毒害作用。

植物体内可溶性蛋白质含量增加,可能是植物耐重金属胁迫的一种解毒机理, Cd^{2+} 能够诱导植物产生 Cd^{2+} 结合蛋白,降低 Cd^{2+} 对植物的毒害作用^[22]。同时可溶性蛋白质含量增加,可以增加细胞渗透物质浓度及

功能蛋白数量,以维持植物细胞的正常代谢^[23]。随着 Cd^{2+} 浓度的升高,萝卜幼苗体内可溶性蛋白质含量逐渐升高。受到高浓度 Cd^{2+} 长时间胁迫时,可溶性蛋白质含量显著上升,说明萝卜幼苗具有一定的抗镉胁迫能力。

参考文献

[1] 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(3):360-365.
 [2] 郑爱珍,刘传平,沈振国. 镉对白菜、青菜生长的影响[J]. 北方园艺,2005(2):42-43.
 [3] 张亚丽,沈其荣,姜洋. 有机肥料对镉污染土壤的改良效应[J]. 土壤学报,2001(2):212-218.
 [4] 刘海亮,崔世民,李强,等. 镉对作物种子萌发、幼苗生长及氧化酶同工酶的影响[J]. 环境科学,1991(6):29-31.
 [5] 汤春芳,刘云国,曾光明,等. 镉胁迫对萝卜幼苗活性氧产生、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物生理与分子生物学报,2004(4):469-474.
 [6] 叶亚新,金璇,陈佳佳,等. 镉胁迫下萝卜幼苗根、茎、叶保护酶活性的比较[J]. 江苏农业科学,2008(3):131-135.
 [7] 陈英旭,林琦,陆芳,等. 萝卜根系对环境重金属铅、镉富集的修复作用[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2000(1):63-68.
 [8] 邱宇婷,蒋岚,朱毅,等. 镉胁迫下萝卜幼苗的硫代葡萄糖苷含量变化研究[J]. 安徽农业科学,2012(6):3490-3493.
 [9] 张琼. 镉对几种常见蔬菜种子萌发影响的研究[J]. 农业环境科学学报,2006(S2):480-486.
 [10] 曹建康,姜微波,赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京:中国轻工业出版社,2007:176.
 [11] 赵功玲,由宏,郝睿,等. 萝卜苗中异硫氰酸盐的动态变化及体外抗氧化活性[J]. 食品科学,2011(13):102-105.
 [12] 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(4):29-31.
 [13] 刘孟刚,刘会超,姚连芳,等. 镉胁迫对银条开花期生理生态的影响[J]. 北方园艺,2010(4):8-11.
 [14] 朱广慧,唐蓉,高莉,等. 镉、铜胁迫对路易斯安娜鸚尾生理生化的影响[J]. 北方园艺,2011(24):84-86.
 [15] 李燕子,赵运林,董萌,等. 镉胁迫对萎蒿生理生化的影响及富集特征研究[J]. 北方园艺,2012(10):72-76.
 [16] 於丙军,刘友良. 盐胁迫对一年生盐生野大豆幼苗活性氧代谢的影响[J]. 西北植物学报,2003(1):18-22.
 [17] 田小磊,吴晓岚,张蜀秋,等. γ -氨基酸在高等植物逆境反应中的作用[J]. 生命科学,2002(4):215-219.
 [18] 尹永强,胡建斌,邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. 中国农学通报,2007(1):105-110.
 [19] 孙静. NaCl 对小麦离体叶片过氧化物酶活性及蛋白质含量的影响[J]. 山东农业科学,2009(1):55-57.
 [20] 张士秀,谷勋刚,张自立. 镉、钼对小麦和油菜幼苗可溶性蛋白质含量变化的影响[J]. 江西农业学报,2010(1):30-32.
 [21] Bartolf M, Brennan E. Partial characterization of a cadmium-binding protein from the roots of cadmium treated tomato[J]. Plant Physiology,1980(66):411-438.
 [22] 李兆君,马国瑞,徐建民,等. 植物适应重金属 Cd 胁迫的生理及分子生物学机理[J]. 土壤通报,2004(2):234-238.