

外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜幼苗生长和生理特性的影响

刘丽莉, 冯 涛, 向言词, 肖 璐, 严明理

(湖南科技大学生命科学院, 湖南 湘潭 411201)

摘 要:通过水培试验研究 5、10 mmol·L⁻¹ Ca²⁺对不同水平镉处理下的油菜幼苗生物量、根长、丙二醛(MDA)和 H₂O₂ 含量以及抗氧化酶活性的影响,利用 HPLC 分析外源钙对油菜幼苗镉胁迫下还原型谷胱甘肽(GSH)含量的变化情况。结果表明,镉处理浓度为 150、300、450 μmol·L⁻¹ 时,5 和 10 mmol·L⁻¹ Ca²⁺均能有效增加植株的生物量和根长,5 mmol·L⁻¹ Ca²⁺能显著减少油菜幼苗中 MDA 和过氧化氢(H₂O₂)含量,增强超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和谷胱甘肽转移酶(GST)的活性及 GSH 的含量。镉胁迫浓度为 600 μmol·L⁻¹ 时,施钙后油菜幼苗出现生物量低、MDA 含量高、抗氧化酶活性和 GSH 含量均下降,与 CK 相比差异不显著($P>0.05$)。镉处理浓度≤450 μmol·L⁻¹ 时,5 mmol·L⁻¹ Ca²⁺能明显缓解芥菜型油菜生长和生理所受胁迫,外源钙可作为减轻镉胁迫对油菜毒害的保护剂。

关键词:钙;镉;芥菜型油菜;胁迫;生理效应

中图分类号:Q945.78 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)05-0978-06

Effect of Exogenous Calcium on Seedling Growth and Physiological Characteristics of *Brassica juncea* Under Cadmium Stress

LIU Li-li, FENG Tao, XIANG Yan-ci, XIAO Lu, YAN Ming-li

(College of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effects of exogenous calcium on seedling growth and physiological characteristics of *Brassica juncea* under cadmium stress. Calcium of 5 mmol·L⁻¹ and 10 mmol·L⁻¹ was used to regulate the growth of seedling of *Brassica juncea* under the stress of cadmium of 150, 300, 450 and 600 μmol·L⁻¹ by water cultivation. The changes of the activities of antioxidative enzymes and the content of malondialdehyde(MDA) were determined. The method for determination of reductive glutathione(GSH) was based on high performance liquid chromatography(HPLC). Biomass and root length of *Brassica juncea* were significantly increased under the treatment of 5 and 10 mmol·L⁻¹ calcium. Under the circumstance of 5 mmol·L⁻¹ calcium, contents of MDA and H₂O₂ were decreased effectively, the activities of superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione reductase(GR), glutathione peroxidase(GPX), glutathione S-transferase(GST) and the content of GSH were enhanced under 150, 300 and 450 μmol·L⁻¹ cadmium stress. There were no significant differences between treatment of within calcium and control(without calcium) under the circumstance of 600 μmol·L⁻¹ cadmium, the content of MDA was increased while the biomass, the activities of antioxidative enzymes and the content of GSH were descended. 5 mmol·L⁻¹ calcium could alleviate the stress of 450 μmol·L⁻¹ cadmium and effectively promote the physiological activities of antioxidative enzymes in *Brassica juncea*, as a protective agent for growth of seedling of *Brassica juncea* under the stress of cadmium.

Keywords: calcium; cadmium; *Brassica juncea*; stress; physiological characteristics

镉是环境中对生物毒性最强的重金属元素之一,高浓度镉能抑制植物生长,甚至死亡^[1]。重金属镉进入

土壤后,不仅影响农作物的产量和质量,而且还通过食物链形式影响到人和动物的健康^[2-4]。钙是植物必需的营养元素,对于植物细胞壁和细胞膜的稳定、体内酶的调控、阴阳离子的平衡等具有十分重要作用^[5]。镉在植物体内过量沉积,阻碍了其作为酶辅助因子的金属离子吸收和利用^[6-7],镉通过与某些酶蛋白结合为螯合物,使酶的构型发生变化,影响抗氧化酶的活性并

收稿日期:2008-09-07

基金项目:国家“863”计划资助项目(2005AA219040)

作者简介:刘丽莉(1980—),女,硕士,讲师,主要从事环境生物学方面的研究。E-mail:liulili276@yahoo.com.cn

通讯作者:严明理 E-mail:ymliack@126.com

加剧植物膜脂的过氧化^[8-9],从而抑制植物对营养元素的吸收^[10]。已有研究表明,外源钙可有效缓解镉、铅对拟南芥幼苗生长的毒害^[11],能明显提高植物对重金属的耐受性。玉米根部供钙对缓解镉毒害起重要作用,能减轻镉对根中 ATP 酶活性和叶片中丙二醛含量,但叶片喷施钙对减轻镉毒害无明显效果^[10]。芥菜型油菜是被筛选出具有超积累重金属镉的潜力和特征^[12],可用于镉污染土壤的植物修复^[13]。而严重的镉胁迫对油菜生长和生理产生了明显的抑制效应^[14],大大降低了植物修复重金属镉污染的效率。当前,农作物遭受镉污染的生理生态毒性及其治理措施备受重视,同样增强镉超富集植物的修复效率以减轻土壤重金属的环境污染也被广泛引起关注。有关植物受 Cd 毒害及植物体内缓解 Cd 毒的机理已有研究^[15-16],但外源钙对重金属胁迫下作物幼苗多种生物酶活性以及相互之间的协调作用以缓解其毒害的报道甚少^[17]。本文以芥菜型油菜为材料,研究了外源钙对不同水平镉处理下芥菜型油菜幼苗生长和抗氧化酶活性的影响,为进一步探明修复植物对重金属耐受的生理机制和植物在重金属胁迫下外源钙对植物的解毒机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

芥菜型油菜(*Brassica juncea*)湖南芥菜,来自国家油料作物改良研究湖南分中心。

1.2 试验设计

芥菜型油菜种子用 NaClO 进行表面消毒 10 min,蒸馏水漂洗 3 次后,分别取 100 粒种子加入体积为 15 mL 的不同培养液进行培养。培养液为 1/2 Hoagland 液中分别含 0、150、300、450、600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cd^{2+} ,每一个 Cd^{2+} 浓度又按 0、5、10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 进行处理(分别标记为 CK、T1、T2)。种子在直径 9 cm 的培养皿中发芽,用 3 层滤纸作发芽床,种子之间保持一定的间距,在人工气候箱中培养,光强度 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,昼夜温度 22 $^{\circ}\text{C}/16\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,每隔 24 h 称重用去离子水补充所失水分,以保持浓度恒定。待种子发芽后,每 2 d 更换 1 次培养液,培养 10 d 后各取生长状况一致的油菜幼苗用于试验。每组重复 3 次,数据用 SAS 6.12 软件进行方差分析。

1.3 酶液的提取

取 1 g 叶片于预冷的研钵里,在液氮中研磨成粉末,迅速加入 3 mL 预冷提取液(提取液用 pH 7.5、100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸钾缓冲液配制,其中含有 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

$\text{Na}_2\text{-EDTA}$, 1%(W/V)聚乙烯吡咯烷酮),在 4 $^{\circ}\text{C}$, 12 000 $\times g$ 离心 10 min,上清液用于测定丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和谷胱甘肽转移酶(GST)的活性。

1.4 测定项目和方法

发芽后第 10 d 测量油菜幼苗的生物量和根长。

MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法^[18]。 H_2O_2 测定参照 Cho 和 Park 的方法^[19]。

利用试剂盒(南京建成生物公司提供)测定 SOD、CAT、GR、GPX 和 GST 酶的活性。

反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定还原型谷胱甘肽(GSH)含量^[20]。优化后的色谱条件:UV 检测器, C_{18} 柱(150 $\times$ 4.6 mm, 5 μm),柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$,流动相为甲醇:乙酸盐(pH 5.6)=8:92,流速 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长 285 nm。

2 结果与分析

2.1 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜幼苗生物量和根长的影响

油菜幼苗生物量和根长均随镉处理浓度的增加而逐渐受到抑制(表 1)。在 0~300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理时, T1、T2 处理的油菜生物量和根长均显著高于 CK ($P<0.05$);镉浓度为 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,在 CK、T1 和 T2 中的油菜均出现叶片泛黄、根系粗短,但 T1(5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+})能显著提高油菜生物量和根长($P<0.05$);而镉浓度为 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时油菜出现苗枯萎,根毛发黑, T1、T2 中的油菜生物量和根长均与 CK 表现差异不显著($P>0.05$)。

2.2 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜 MDA 和 H_2O_2 含量的影响

芥菜型油菜 MDA 含量随镉处理浓度增大而呈上升趋势(图 1-A)。当镉浓度为 150、300 和 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, T1 处理的油菜叶片 MDA 含量显著低于 CK 和 T2 ($P<0.05$),说明 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钙较能有效缓解由活性氧积累所引发的脂质过氧化。而镉浓度为 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, T1、T2 处理的油菜 MDA 含量与 CK 相比差异不显著($P>0.05$)。在重金属镉胁迫下,油菜幼苗组织中 H_2O_2 含量也呈显著增加,尤其镉处理浓度为 450、600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,油菜叶片 H_2O_2 含量急剧上升。5 和 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Ca^{2+} 处理均能相应降低镉胁迫下油菜幼苗 H_2O_2 含量,但 T1 比 T2 处理的效果更为明显(图 1-B)。

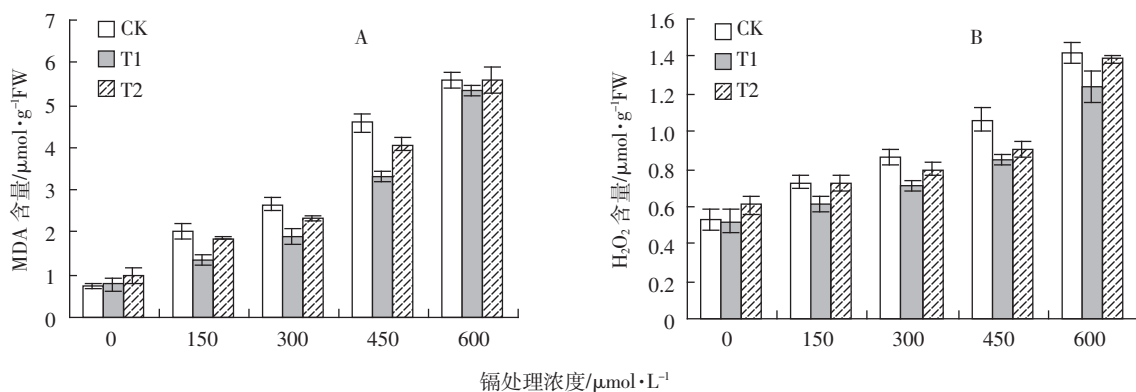
表 1 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜幼苗生物量和根长的影响

Table 1 The growth of seedlings as affected by cadmium stress and Ca^{2+} treatment in *Brassica juncea*

项目		镉处理浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$				
		0	150	300	450	600
生物量/ $\text{mgFW}\cdot\text{株}^{-1}$	CK	87.62 $\pm$ 11.45 ^b	55.07 $\pm$ 2.53 ^b	35.01 $\pm$ 5.82 ^b	17.83 $\pm$ 8.94 ^b	9.21 $\pm$ 0.33 ^a
	T1	112.5 $\pm$ 6.46 ^a	73.27 $\pm$ 4.29 ^a	49.50 $\pm$ 2.76 ^a	20.77 $\pm$ 5.56 ^a	8.87 $\pm$ 2.92 ^a
	T2	117.88 $\pm$ 8.51 ^a	73.92 $\pm$ 5.8 ^a	44.29 $\pm$ 2.41 ^a	17.9 $\pm$ 0.87 ^b	9.39 $\pm$ 0.7 ^a
根长/cm	CK	5.37 $\pm$ 0.95 ^b	2.26 $\pm$ 0.20 ^b	1.54 $\pm$ 0.06 ^c	0.72 $\pm$ 0.09 ^c	0.51 $\pm$ 0.09 ^b
	T1	7.46 $\pm$ 0.17 ^a	3.29 $\pm$ 0.18 ^a	2.75 $\pm$ 0.26 ^a	1.53 $\pm$ 0.13 ^a	0.93 $\pm$ 0.26 ^a
	T2	7.78 $\pm$ 0.37 ^a	3.07 $\pm$ 0.11 ^a	2.35 $\pm$ 0.07 ^b	1.23 $\pm$ 0.08 ^b	0.79 $\pm$ 0.45 ^{ab}

注:具有不同字母上标者为差异显著($P<0.05$)。

Note: Table in the same column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

图 1 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜幼苗 MDA 和 H_2O_2 含量的影响Figure 1 Contents of MDA and H_2O_2 as affected by cadmium stress and Ca^{2+} treatment in *Brassica juncea*

2.3 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜 SOD 和 CAT 活性的影响

SOD 是清除过氧化物的第一个关键酶,其功能是将 $\text{O}_2\cdot$ 歧化为 H_2O_2 ,随后由 CAT 和抗坏血酸过氧化物酶(APX)分解多余的 H_2O_2 [21]。随着镉浓度的增大,油菜幼苗叶片 SOD 活性呈先高后降的趋势(图 2-A)。当镉处理浓度为 150、300、450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T1

中 SOD 活性均显著高于 CK ($P<0.05$);而镉浓度为 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,CK、T1 和 T2 3 处理间差异不显著 ($P>0.05$)。芥菜型油菜镉处理后 CAT 活性值变化趋势与 SOD 相似,亦在一定浓度下出现高峰,而后则下降(图 2-B)。在 150、300 和 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理培养液中,加钙处理的油菜 CAT 活性均显著高于 CK ($P<0.05$)。

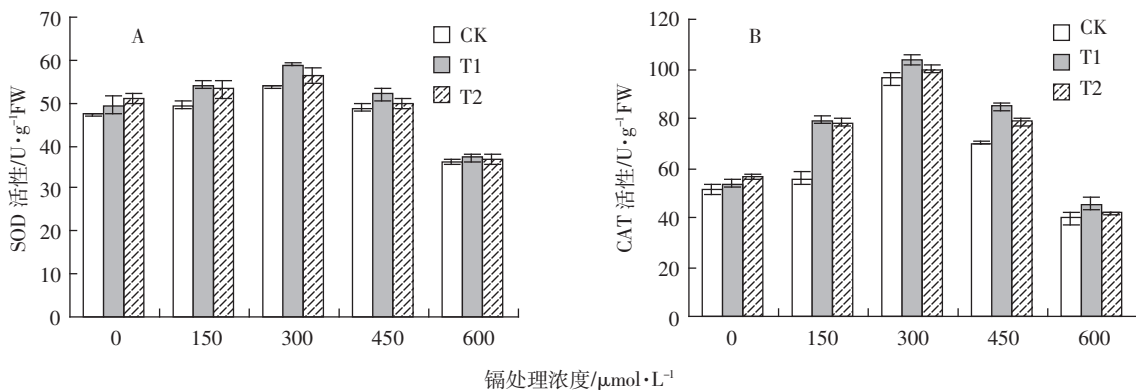


图 2 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜幼苗 SOD、CAT 酶活性的影响

Figure 2 Activities of SOD and CAT as affected by cadmium stress and Ca^{2+} treatment in *Brassica juncea*

2.4 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜 GR、GPX、GST 活性及 GSH 含量的影响

油菜幼苗 GR 活性随镉处理浓度增大而大幅度上升,当镉处理浓度为 $450 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T1 处理的油菜 GR 活性达到最高值,但镉浓度为 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,GR 活性开始下降(图 3-A)。镉浓度为 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, Ca^{2+} 处理的油菜 GR 活性与 CK 相比差异不显著($P>0.05$)。

GPX 是以还原型谷胱甘肽为底物催化分解生物体内的 H_2O_2 ,抵御氧化损坏^[22]。当镉浓度在 $0\sim 450 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,油菜幼苗 GPX 活性呈上升趋势,而镉浓度至 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 GPX 活性下降(图 3-B)。同时镉处理浓度在 $150\sim 450 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,T1 处理的油菜 GPX 活性显著高于 CK、T2($P<0.05$)。

GST 通过催化植物细胞内 GSH 与膜质过氧化物以及 DNA 氧化降解产物等有害代谢物的结合,从而实现细胞解毒功能^[23]。不同浓度镉处理下的油菜幼苗 GST 活性变化趋势也是一个先升后降的过程(见图 3-C)。试验中镉浓度为 150 和 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T1、T2 处理的油菜 GST 活性均显著高于 CK($P<0.05$);而镉浓度为 450 和 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T1 显著高于 CK

($P<0.05$)。

GSH 是植物体内普遍存在的非酶类自由基净化剂,作为植物螯合肽与重金属离子螯合而对植物胁迫起解毒作用^[24]。随镉处理浓度的增加 GSH 含量也随之增大,但镉处理达到一定高浓度时 GSH 含量则开始降低(图 3-D)。当镉浓度为 150、300 和 $450 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T1 处理的 GSH 含量显著高于 CK($P<0.05$);而镉处理浓度为 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T1、T2 处理的 GSH 含量与 CK 差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

植物幼苗对镉胁迫的毒害反应可较好地用来监测所种植土壤的镉污染状况^[1]。高浓度镉的土壤污染严重阻碍了植物的生长,给植株带来了一系列生理效应^[21,25-26]。在拟南芥幼苗阶段,钙离子对镉胁迫有较理想的缓解作用^[11]。在本研究中以芥菜型油菜为材料也获得了类似的结果,说明钙能明显提高植物对镉的耐受性。因此在镉污染土壤的植物修复时,可以施用一定量的可溶性钙来改善植物的生长,提高植物生物量,可以有效修复重金属污染的土壤。

镉胁迫使油菜正常生长发育受到阻碍,地上部茎

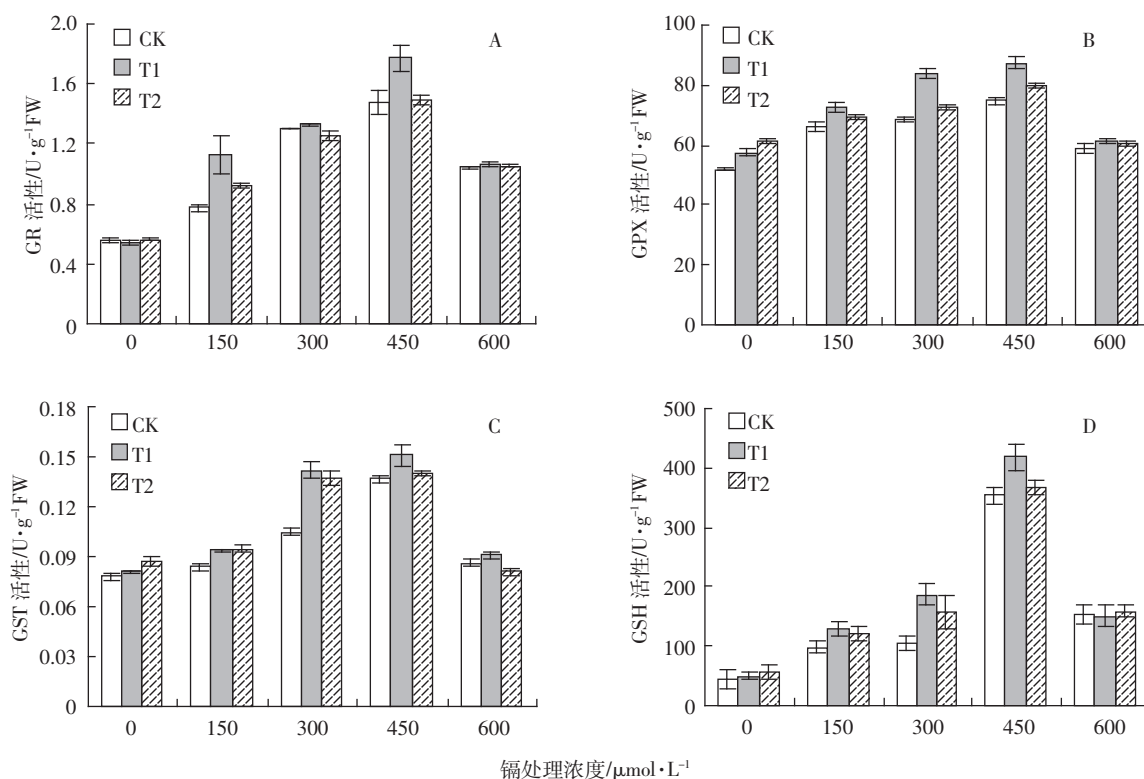


图3 外源钙对镉胁迫下芥菜型油菜幼苗 GR、GPX、GST 酶活性及 GSH 含量的影响

Figure 3 Activities of GR, GPX, GST and contents of GSH as affected by cadmium stress and Ca^{2+} treatment in *Brassica juncea*

叶鲜、干物重下降^[16]。本试验中芥菜型油菜幼苗生物量和根长均随镉浓度的增加而抑制效果增强。当镉处理浓度为 150、300 和 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,油菜生物量分别为对照的 62.85%、39.96%和 20.35%,而加 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钙处理的油菜生物量分别为对照的 83.62%、56.50%和 23.70%,可见在一定浓度镉胁迫中加入适当钙离子能明显缓解油菜幼苗生长所受抑制。当镉处理浓度为 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,钙处理对油菜幼苗生物量与对照相比没有明显差异,说明 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理已超过芥菜型油菜幼苗对镉耐受的临界值,植物很难生存,因而钙的缓解作用不明显。

正常情况下,植物体内 SOD 和 CAT 等酶类清除活性氧的能力较强,可及时清除一些活性氧自由基,从而使活性氧的产生和清除保持一种动态平衡^[22]。本试验表明,随镉胁迫浓度的加大,油菜幼苗 SOD、CAT 活性呈现先升高后降低,清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的能力也随高至低,继而引发膜脂过氧化使得 MDA 含量显著升高。此外,MDA 积累又抑制了 SOD、CAT 的活性^[27],从而使保护酶系统功能降低,加剧膜系统受损。油菜幼苗在 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理时,SOD、CAT 活性达到最高,而此时加钙使油菜幼苗 SOD 和 CAT 活性显著增强,MDA 和 H_2O_2 含量显著减少,说明在一定浓度的镉胁迫下,适量的钙能增强 SOD、CAT 活性,共同防御活性氧或其他过氧化物自由基对细胞膜系统的伤害,保证细胞正常机能。在 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理时,加钙虽能降低 MDA 含量和提高 SOD、CAT 活性,但油菜幼苗的生物量仍很低,根长也明显受抑制,可能机体内积累了较多的活性氧自由基阻碍了幼苗生长。镉处理浓度为 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,油菜幼苗出现 MDA 含量升高,生物量、抗氧化酶活性和 GSH 含量均下降等现象,而 Ca^{2+} 处理(T1 和 T2)与 CK 相比没有明显差异,可能该浓度镉已超过油菜幼苗耐受镉胁迫的“阈值”。

已有研究表明,镉胁迫下的植物谷胱甘肽类抗氧化酶 GR、GST 活性和抗氧化物 GSH 含量能有效衡量植株对镉富集和耐受能力的大小^[22-24]。GPX 活性的增加能消除一些膜坏死脂质过氧化产物,同时 GR 活性能反映 GSH 的存在趋势^[22,28]。本试验研究发现,当镉处理在 150 和 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$ 能使油菜幼苗 GR、GPX 和 GST 的活性以及 GSH 含量明显高于对照;当镉处理浓度为 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$ 作用下的油菜幼苗 GR、GST、GPX 活性和 GSH 含量均出现最高值。表明镉处理浓度的增加对油菜幼

苗所产生的氧化胁迫也增加,并激活了体内抗氧化机制,此时可能 Ca^{2+} 作为信号分子上调 GR 活性^[28],GR 促进 GSSG 还原为 GSH,再通过 GST 催化 GSH 与 Cd^{2+} 螯合起到了解毒作用。另外,由于 Ca^{2+} 和 Cd^{2+} 同是二价离子,可能是两者之间产生交互作用,相互竞争植物细胞壁相同的结合位点,从而缓解了 Cd^{2+} 对幼苗的伤害。

4 结论

0~450 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的镉处理下,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$ 能明显促进芥菜型油菜幼苗的生长,显著降低油菜叶片的 MDA 和 H_2O_2 含量,显著提高 SOD、CAT、GR、GPX 活性和 GSH 含量,从而增强了芥菜型油菜耐受镉的能力。而镉浓度高达 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,外源 Ca^{2+} 的有效作用明显降低,活性氧水平升高,脂质过氧化作用加重,导致植物细胞内生理机理发生紊乱,直接造成细胞膜结构损伤和植株生长阻滞。在一定的镉环境中,适量施钙能明显缓解芥菜型油菜幼苗受镉胁迫的毒害,增强植株活性氧的清除能力和生物膜结构的稳定性。

参考文献:

- [1] Zhou W B, Qiu B S. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae) [J]. *Plant Science*, 2005, 169: 737-745.
- [2] Pereira J G G, Molina S M G, Lea P J, et al. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria Juncea* [J]. *Plant and Soil*, 2002, 239: 123-132.
- [3] Zhang H Y, Jiang Y N, He Z Y, et al. Cadmium accumulation and oxidative burst in garlic (*Allium sativum*) [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2005, 162: 977-984.
- [4] 杜应琼, 何江华, 陈俊坚, 等. 铅、镉和铬在叶类蔬菜中的累积及其生长的影响 [J]. 园艺学报, 2003(30): 51-55.
DU Ying-qiong, HE Jiang-hua, CHEN Jun-jian, et al. Effects of heavy metals of Pb, Cd and Cr on the growth of vegetables and their uptake [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003(30): 51-55.
- [5] Choi Y E, Harada E, Wada M, et al. Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crydals containing cadmium and calcium through trichomes [J]. *Planta*, 2001, 213(1): 45-50.
- [6] 秦天才, 吴玉树, 王海校. 镉、铅及其相互作用对小白菜生理生化特性的影响 [J]. 生态学报, 1994, 14(1): 46-50.
QIN Tian-cai, WU Yu-shu, WANG Hai-xiao. Effect of cadmium, lead and their interactions on the physiological and biochemical characteristics of *Brassica Chinensis* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1994, 14(1): 46-50.
- [7] 陈朝明, 龚惠群, 王凯荣. 对桑叶品质生理生化特性的影响及其机理研究 [J]. 应用生态学报, 1996, 7(40): 417-423.

- CHEN Chao-ming, GONG Hui-qun, WANG Kai-rong. Effect of Cd on quality, physiological and biochemical characteristics of mulberry leaves and its mechanism [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1996, 7(40):417-423.
- [8] Burzynski M. Activity of some enzymes involved in NO_3^- assimilation in cucumber seedlings treated with lead or cadmium[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 1990, 12(2):105-116.
- [9] 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, 12(6):29-31.
- LIU Hai-liang, CUI Shi-ming, LI Qiang, et al. Effects of cadmium on seed germination, seedling growth and oxidase isozymes in crops[J]. *Environmental Science*, 1991, 12(6):29-31.
- [10] 杨居荣, 贺建群, 蒋婉茹. Cd 污染对植物生理生化的影响 [J]. 农业环境保护, 1995, 14(5):193-197.
- YANG Ju-rong, HE Jian-qun, JIANG Wan-ru. Effect of Cd pollution on the physiology and biochemistry of plant[J]. *Agro-Environmental Protection*, 1995, 14(5):193-197.
- [11] Li W Q, Mohammad A K, Shinjiro Y, et al. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Growth Regulation*, 2005, 46:45-50.
- [12] Haag-Kerwer A, Schafer H J, Heiss S, et al. Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis[J]. *Journal of Experiment Botany*, 1999, 50:1827-1835.
- [13] 江海东, 周琴, 李娜, 等. Cd 对油菜幼苗生长发育及生理特性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(1):39-43.
- JIANG Hai-dong, ZHOU Qin, LI Na, et al. Effect of Cd on the growth and physiological characteristics of rape seedlings[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2006, 28(1):39-43.
- [14] Issam N, Wided B A, Nabil B Y, et al. Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* leaves[J]. *Plant Science*, 2006, 170:511-519.
- [15] Meihart H Z. Heavy metal detoxification in higher plants—a review[J]. *Gene*, 1996, 179:21-30.
- [16] 王兴明, 涂俊芳, 李晶, 等. 镉处理对油菜生长和抗氧化酶系统的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(1):102-106.
- WANG Xin-ming, TU Jun-fang, LI Jing, et al. Effects of Cd on rape growth and antioxidant enzyme system[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(1):102-106.
- [17] 汪洪, 周卫, 林葆. 钙对镉胁迫下玉米生长及生理特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(1):78-87.
- WANG Hong, ZHOU Wei, LIN Bao. Effects of Ca on growth and some physiological characteristics of maize under Cd stress [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2001, 7(1):78-87.
- [18] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3):207-210.
- ZHAO Shi-jie, XU Chang-cheng, ZOU Qi, et al. Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues[J]. *Plant Physiology Communications*, 1994, 30(3):207-210.
- [19] Cho U H, Park J O. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings[J]. *Plant Science*, 2000, 156:1-9.
- [20] Krzysztof K, Edward B. Reduced and total glutathione and cysteine profiles of citrus fruit juices using liquid chromatography[J]. *Food Chemistry*, 2007, 106:340-344.
- [21] Sandalio L M, Dalurzo H C, Gomez M, et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52:2115-2126.
- [22] Anna W, Maria S. Influence of repeated acid rain treatment on antioxidative enzyme activities and on lipid peroxidation in cucumber leaves [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 56:198-204.
- [23] Gajewska E, Sklodowska M, Slaba M, et al. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots[J]. *Biologia Plantarum*, 2006, 50(4):653-659.
- [24] Israr M, Sahi S V, Jain J. Cadmium accumulation and antioxidative responses in the *Sesbania drummondii* Callus[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2006, 50:121-127.
- [25] Jiang X J, Luo Y M, Liu Q, et al. Effects of cadmium on nutrient uptake and translocation by Indian Mustard[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, 26:319-324.
- [26] Patrick C, Aurore B, Michel H. Cadmium distribution and microlocalization in oilseed rape (*Brassica napus*) after long-term growth on cadmium-contaminated soil[J]. *Planta*, 2003, 216:939-950.
- [27] Chien H F, Wang J W, Lin C C, et al. Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation[J]. *Plant Growth Regulation*, 2001, 33:205-213.
- [28] 陈贵林, 贾开志. 钙和钙调素拮抗剂对高温胁迫下茄子幼苗抗氧化系统的影响[J]. 中国农业科学, 2005, 38(1):197-202.
- CHEN Gui-lin, JIA Kai-zhi. Effects of calcium and calmodulin antagonist on antioxidant systems of eggplant seedlings under high Temperature stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(1):197-202.