

不同甘蓝型油菜幼苗期对 Ag^+ 和 Pb^{2+} 的耐性研究

甘露¹, 朱玉梅², 何麒¹, 余龙江¹, 栗茂腾¹

(1. 华中科技大学生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430070; 2. 山东医学高等专科学校现代教育技术中心, 山东 临沂 276000)

摘要: 采用室内培养方法, 对 9 个甘蓝型油菜进行了重金属 Ag^+ 和 Pb^{2+} 耐受梯度实验。结果表明, 秦油 7 号、湘油 15 及 2N43 表现出较强的耐性。进一步实验证明甘蓝型油菜对重金属的耐受程度和 MDA 的含量呈现显著的负相关。此外, 根中重金属的含量在耐受程度较强的秦油 7 号中的含量超过耐受程度较差的 Jan-95。本研究可为今后筛选耐受重金属的油菜品种作出有益探索。

关键词: 重金属; 幼苗期; 甘蓝型油菜; 耐性

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)02-0477-05

Tolerance of Ag^+ and Pb^{2+} on the Seedling Stage of Different *Brassica napus*

GAN Lu¹, ZHU Yu-mei², HE Qi¹, YU Long-jiang¹, LI Mao-teng¹

(1. College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430070, China; 2. Modern Education Centre, Shandong Medical College, Linyi 276000, China)

Abstract: Soil contamination with heavy metals caused by industrial activities, have grown to a serious problem in many regions of the world. Selecting the plants with high tolerance to heavy metals has led to a surge of interest, recently. The experiments were conducted on the tolerance of nine cultivars of *B. napus* by using different Ag^+ and Pb^{2+} gradient. The results revealed that the relatively lower concentration of Ag^+ and Pb^{2+} can increase the growth of root and hypocotyl, in which only the cultivar of Qinyou 7, Xiangyou 15 and 2N43 exhibited relatively strong tolerance at high concentration of Ag^+ and Pb^{2+} . MDA content was negatively correlated with the heavy metal tolerance degree. In addition, the heavy metal content in the root of Qinyou 7 was obviously higher than that of Jan-95, indicating that Qinyou 7 had strong tolerance to Pb^{2+} than that of Jan-95. The experiment provided a basis for further screening *B. napus* cultivar with special tolerant ability to heavy metal.

Keywords: heavy metal; seedling stage; *B. napus*; tolerance

土壤和水受到有毒有机物和无机物的污染, 将对环境和人类健康产生重大影响。在无机污染物中, 重金属由于不能被微生物降解和在土壤中难于移动, 使治理污染土壤变得十分困难, 一直是污染治理中的热点和难点。在治理过程中, 物理方法费时费工, 化学方法又会造成二次污染, 因此筛选对重金属耐受能力高以及具有富集和超富集能力的植物成为目前较新的修复途径之一^[1,2]。有些植物, 由于体内某些特殊的生理机制, 使这些植物能生存于高含量重金属环境中而不受损害, 这种特性就是植物的耐受性^[3,4]。在野外矿

床分布调查的基础上, 我国境内发现了能富集 Cu、Mn、Cd、Pb、Zn 等重金属和有毒非金属 As 的超积累植物, 并对其耐性和超积累特性进行了详细研究^[5]。同时, 人们对一些具有特殊生物性能但还达不到“超积累植物标准”^[6]的耐性植物也产生了极大兴趣。

十字花科植物中的一些品种, 特别是一些可食用十字花科蔬菜品种对重金属有超强的耐受能力和吸收能力^[7-9], 但吸收了大量重金属离子的蔬菜对人类的食用是有害的。甘蓝型油菜是十字花科中最为重要的油料作物之一, 提供了我国 60% 的食用油, 和十字花科其他蔬菜相比, 甘蓝型油菜具有很强的营养优势^[10], 研究表明, 重金属污染物中, 最直接的受害部位首先是植物的根系^[11], 并且重金属离子在甘蓝型油菜中主要积累在根和茎中^[12], 因此, 筛选到对重金属具有较高耐性的甘蓝型油菜品种, 可以实现在重金属含量高

收稿日期: 2007-04-09

基金项目: 国家博士后基金项目 (2004035016); 华中科技大学人才引进基金项目

作者简介: 甘露 (1986—), 男, 湖北麻城人, 在读研究生, 研究方向为植物分子生态学。

通讯作者: 栗茂腾 E-mail: limao teng426@163.com

的地区进行种植,从而实现生态效应和经济效益的双丰收。本实验通过对不同甘蓝型油菜品种(系)在重金属银、铅胁迫下的根和下胚轴生长情况进行研究,为今后筛选具有较高耐受性的油菜品种作出有益探索。

1 材料与方法

1.1 试验材料

9个甘蓝型油菜品种(系),其基因组组成为AACC($2n=38$),即2N43,2N45,Jan-95,SE046,华双3号,湘油13,湘油15,秦油2号,秦油7号,所有实验材料由华中农业大学油菜遗传育种研究室提供。

1.2 实验方法

1.2.1 幼苗培养

对醋酸铅($\text{Pb}(\text{Ac})_2$)和硝酸银(AgNO_3)分别设计0.01、0.1、1、10、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 5个浓度梯度,每组均有3次平行,每一组均用阿夫道宁营养液做为空白对照。在阿夫道宁营养液(NH_4NO_3 0.240 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, MgSO_4 0.500 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.100 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, NaH_2PO_4 0.100 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, KCl 0.150 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CaCl_2 0.360 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 中加入相应的 $\text{Pb}(\text{Ac})_2$ 和 AgNO_3 配制浓度为100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液,然后用阿夫道宁营养液将其稀释到所需的浓度。

在铺有含不同浓度重金属离子的阿夫道宁营养液浸湿滤纸的平皿内放入40粒种子,然后将其放入24℃的培养箱内恒温培养,每天固定光照8h,使其发芽,4d后测量并记录幼苗的根和下胚轴的长度。

1.2.2 丙二醛(MDA)含量测定

将全株植物剪碎,在1g材料中加入2mL10%TCA和少量石英砂,研磨至匀浆,再加入8mLTCA进一步研磨,匀浆在4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10min。吸取离心的上清液2mL(对照加2mL蒸馏水),加入2mL

0.6% TBA 溶液,沸水浴上反应15min,迅速冷却后再离心,取上清液分别测定532、600和450nm波长下的吸光度^[13]。

1.2.3 甘蓝型油菜根中重金属离子含量测定

将秦油7号和Jan-95生长到1cm左右的根(本研究只处理了 Pb^{2+} 浓度为10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的种子的根),用去离子水多次冲洗,以确保附着在根表面的重金属离子去除完全,按离根尖的距离将根分割成不同的小段,即0~2.5mm,2.51~5.0mm,5.0~10mm,10~15mm,一直到90~95mm共20份,每段取样100个,用等离子体质谱仪(ICP/MS)测定不同根段内的 Pb^{2+} 离子含量。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 Pb^{2+} 和 Ag^+ 对甘蓝型油菜苗期生长的影响

图1和图2分别为不同浓度 Pb^{2+} 处理的9个甘蓝型品系根和下胚轴的长度比较。可以看出较低浓度的 Pb^{2+} 处理对根生长有一定的促进作用,而在高浓度的 Pb^{2+} 处理情况下,大多数的甘蓝型油菜品系根的生长均受到一定的抑制,但少数油菜品种,如秦油7号、湘油15等品种则表现出了较强的耐受能力。下胚轴的生长趋势和根类似,但高浓度的 Pb^{2+} 处理对下胚轴的生长没有明显的抑制作用。

图3和图4分别显示的是不同浓度 Ag^+ 根及下胚轴的生长后9个甘蓝型油菜根和下胚轴的长度比较。同 Pb^{2+} 处理结果类似,较低浓度的 Ag^+ 处理对其根及下胚轴的生长有一定的促进作用,高浓度的 Ag^+ 处理使多数品系的油菜的根和下胚轴的生长均受到一定的抑制。和 Pb^{2+} 处理不同的是,除秦油7号和2N43外,100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Ag^+ 处理完全抑制了甘蓝型油菜根及下胚轴的生长,这说明 Ag^+ 对甘蓝型油菜的毒性更强。

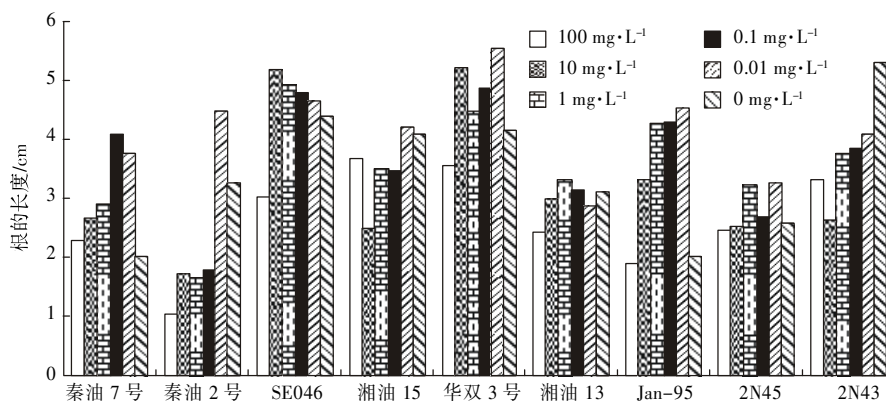
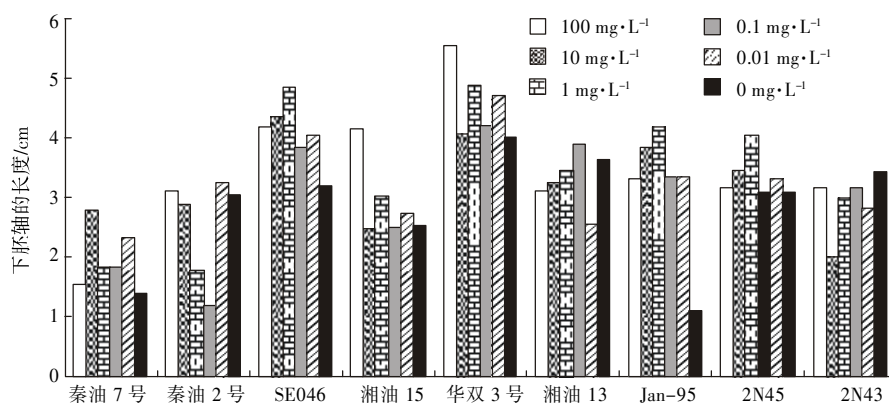
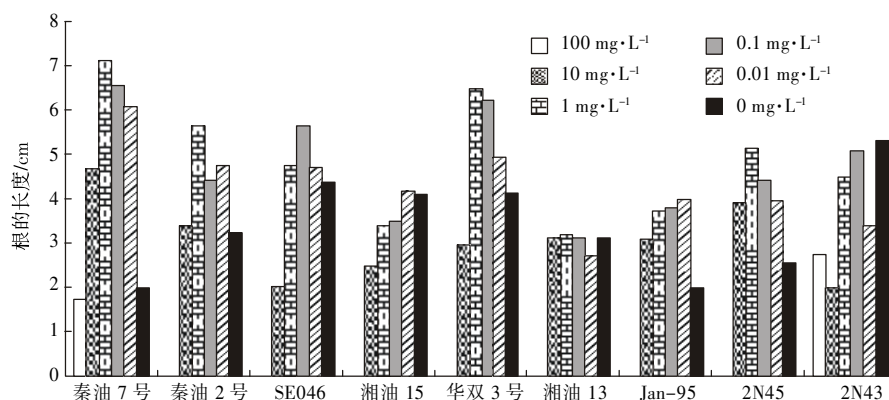
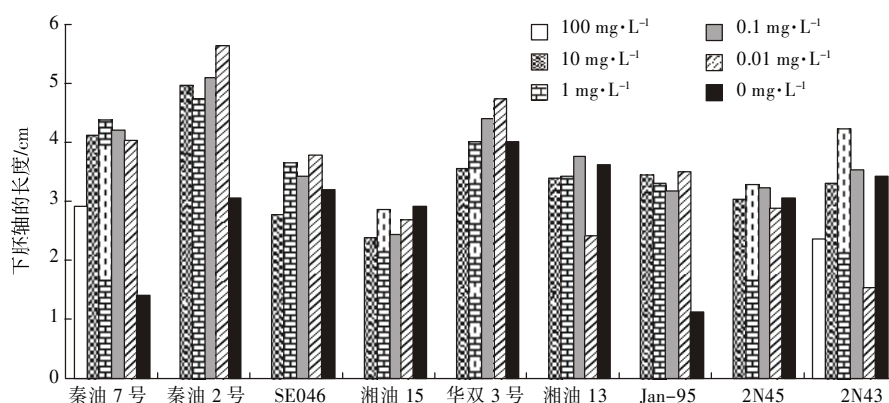


图1 不同浓度 Pb^{2+} 处理下9种品系油菜根的长度比较

Figure 1 The comparison on root lengths of nine *B. napus* under different concentrations of Pb^{2+}

图 2 不同浓度 Pb^{2+} 处理下 9 种品系油菜下胚轴的长度比较Figure 2 The comparison of hypocotyl length of nine *B. napus* under different concentrations of Pb^{2+} 图 3 不同浓度 Ag^+ 处理下 9 种品系油菜根的长度比较Figure 3 The comparison of root length of nine *B. napus* under different concentrations of Ag^+ 图 4 不同浓度 Ag^+ 处理下 9 种品系油菜下胚轴的长度比较Figure 4 The comparison of hypocotyl length of nine *B. napus* under different concentrations of Ag^+

2.2 不同甘蓝型油菜品种的 MDA 差异

为了探明 MDA 和重金属处理对甘蓝型油菜伤害之间关系,本文对两种重金属离子表现出较高抗性的秦油 7 号和较低抗性 Jan-95 进行了 MDA 测定。结果表明,随着外源施加重金属离子浓度的增加,MDA

的含量均呈现增加的趋势,但秦油 7 号材料的 MDA 的上升趋势相对比较平缓,抗性较差的 Jan-95 材料的 MDA 的增加趋势则更加明显(图 5)。从图 5 还可以看出, Ag^+ 处理的甘蓝型油菜中的 MDA 含量较 Pb^{2+} 处理高,这也说明 Ag^+ 对甘蓝型油菜的影响更大。

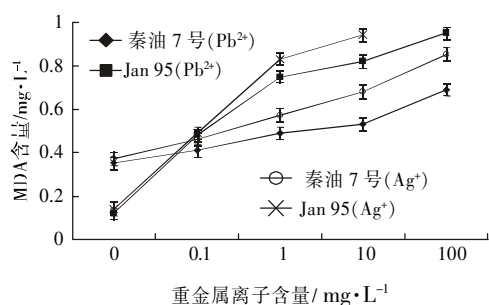


图 5 Ag^+ 和 Pb^{2+} 处理后两种甘蓝型油菜的 MDA 的变化趋势

Figure 5 The content of MDA of two *B. napus* under different concentrations of Ag^+ and Pb^{2+}

注:在 Ag^+ 浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 Jan-95 没有得到幼苗。

Note: No seedlings were obtained at $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of Ag^+

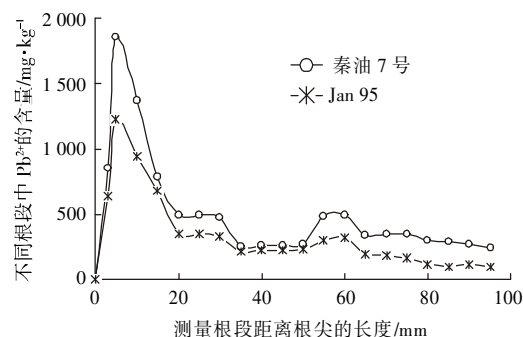


图 6 距离根尖不同根段中 Pb^{2+} 的浓度

Figure 6 The concentrations of Pb^{2+} in different sections of the root

2.3 甘蓝型油菜不同根段中的金属离子浓度的差异

本实验只选择了对 Pb^{2+} 具有较高耐性的秦油 7 号和较低耐性 Jan-95 的根进行了对比研究。图 6 显示的是秦油 7 号和 Jan-95 的根不同部位的 Pb^{2+} 的浓度分布情况。从图 6 可以看出,秦油 7 号和 Jan-95 根中 Pb^{2+} 的累积规律比较一致,都是在离根尖 $2.5 \sim 15 \text{ mm}$ 的范围内 Pb^{2+} 的浓度较高,根毛区以后的部位中的 Pb^{2+} 浓度逐渐降低或保持在一定的浓度,由此可以推测 $2.5 \sim 15 \text{ mm}$ 的范围是根吸收 Pb^{2+} 的主要部位。从图 2 可知,秦油 7 号对金属 Pb^{2+} 的吸收能力强于 Jan-95,因此在根中的积累也相对较多,结合 MDA 的含量和外部形态特征,秦油 7 号对重金属表现出较强的耐性。

3 讨论

环境中过量的重金属对植物是一种胁迫因素,会对植物细胞膜系统、光合系统、酶系统等造成伤害,从而抑制植物的正常生长,最终导致植物的死亡^[14],但是仍有少数植物可以在高浓度的重金属环境中生长并表现出高的重金属耐性。刘秀梅等^[15]研究表明,羽

叶鬼针草和酸模表现出对 Pb^{2+} 较强的耐性。田胜尼等^[11]研究表明,香根草对重金属有较强的耐性,他认为在重金属污染土壤的植物修复及尾矿废弃地的植被重建中可优先作为选择的材料。王激清等^[16]研究表明油菜和印度芥菜均可活化吸收土壤中难溶态的镉,苏德纯等^[17]研究表明油菜溪口花籽有较强的耐 Cd^{2+} 特性,是一种较好的适合在我国生长的可用于修复 Cd^{2+} 污染土壤的超累积植物种质资源。柯文山等^[18]研究了十字花科芸薹属 5 种植物对 Pb^{2+} 的吸收和富集,发现鲁白 15 的根系耐性指数高,是具有潜在修复铅污染的植物。因此,通过对不同品种甘蓝型油菜对重金属的胁迫筛选,有可能筛选到对重金属有较强耐性的品种,从而为土壤修复提供一定的借鉴。重金属离子对植物体的影响呈现出一定特点,代天飞等^[19]研究表明油菜根部的重金属与土壤中的活性态重金属均呈负相关关系。刘燕等^[20]研究表明在重金属多因子胁迫下,随着重金属浓度的增加,处理时间的延长,油菜种子的发芽势、萌发率、根系长度均有下降趋势。本研究也表明,在高浓度 Pb^{2+} 和 Ag^+ 处理条件下,甘蓝型油菜幼苗的根和下胚轴均会受到抑制,在 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Ag^+ 处理时,多数甘蓝型油菜的生长完全受到抑制。另外,刘霞等^[7]研究表明 Cd^{2+} 对油菜的毒害作用大于 Pb^{2+} , Cd^{2+} 对油菜产量有强烈抑制作用,而 Pb^{2+} 对油菜产量有一定刺激作用。

植物细胞膜系统是植物细胞和外界环境进行物质交换和信息传递的界面和屏障,其稳定性是细胞进行正常生理功能的基础。重金属胁迫可导致植物细胞膜透性的严重破坏,使细胞膜透性增加。植物器官在遭受伤害时,往往发生膜脂过氧化作用。MDA 是膜脂过氧化的最终分解产物,其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度。当植物处于逆境条件下细胞膜的反应最为敏感,重金属胁迫后的植物,由于膜脂过氧化而使细胞膜遭受损伤,细胞膜中不饱和脂肪酸被降解,脂肪酸指数下降,MDA 含量增加,细胞膜的结构和生理功能遭到破坏^[21, 22]。孔祥生等^[23]用不同浓度的 Cd^{2+} 处理玉米幼苗,叶片浸提液的相对电导率、MDA 含量随镉浓度的增大而加大,说明在镉胁迫下,玉米叶片质膜的组成和完整性遭到破坏。王世强等^[24]研究表明,过高含量的重金属能引起植物体内抗逆性保护物质脯氨酸大量增加、膜过氧化产物 MDA 的增加,从而导致植物体生物量减少。刘雪云等^[25]研究表明,天蓝苜蓿叶片 MDA 含量随 Cd^{2+} 浓度的增大而升高,高浓度 Cd^{2+} 胁迫使 MDA 在植物体内大量积累。本研究表明,

对重金属耐性较强的秦油 7 号的 MDA 含量明显低于耐性较低的 Jan-95, 因此 MDA 含量的变化可以作为植物对重金属耐性的间接指标。

参考文献:

- [1] Chaney R L, Li Y M, Angle J S, et al. Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems [C]. Approaches and progress.// Terry N and Bacuclos G. S. eds. Phytoremediation of Trace Elements. Ann Arbor Press, Miami, USA.1999.
- [2] 罗春玲, 沈振国. 植物对重金属的吸收和分布[J]. 植物学通报, 2003, 20(1): 59-66.
- [3] 李锋民, 熊治廷, 郑振华. 7 种高等植物对 Pb 的耐性及其生物蓄积研究[J]. 农业环境保护, 1999, 1(6): 246-250.
- [4] 王庆仁, 崔岩山, 董艺婷. 植物修复—重金属污染土壤整治有效途径[J]. 生态学报, 2001, 21(2): 326-331.
- [5] 韩志萍, 胡正海. 芦竹对不同重金属耐性的研究[J]. 应用生态学报, 2005, 16(1): 161-165.
- [6] Baker A J M, Brooks R R, Pease A J, et al. Studies on copper and cobalt tolerance in three closet related tax a with in the genus *Silene* L. (Caryphllaceae) from Zaire[J]. *Plant Soil*, 1983, 73: 377-385.
- [7] 刘 霞, 刘树庆, 唐兆宏. 河北主要土壤中 Cd、Pb 形态与油菜有效性的关系[J]. 生态学报, 2002, 22(10): 1688-1694.
- [8] Ebbs S D, Kochian L V. Toxicity of zinc and copper to *Brassica* species: Implications for phytoremediation[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1997, 26(3): 776-781.
- [9] Wong J W C, Lai K M. Available ability of heavy metals for *Brassica chinensis* growth in an acidic loamy soil amended with a domestic and an industrial sewage sludge[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2001, 128: 339-353.
- [10] 傅廷栋. 杂交油菜的育种与利用[M]. 湖北: 湖北科学技术出版社, 2000.
- [11] 田胜尼, 刘登义, 彭少麟, 等. 香根草和鹅观草对 Cu、Pb、Zn 及其复合重金属的耐性研究[J]. 生物学杂志, 2004, 21(3): 15-20.
- [12] Zhu Y L, Elizabeth A H. Cadmium tolerance and accumulation in Indian mustard is enhanced by overexpressing γ -glutamylcysteine synthetase [J]. *Plant Physiol*, 1999, 121: 1169-1177.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [14] Branquinho C, Brown D H. The cellular location of Cu in lichens and its effects on membrane integrity and chlorophyll fluorescence[J]. *Environ Experim Bot*, 1997, 38: 165-197.
- [15] 刘秀梅, 聂俊华, 王庆仁. 6 种植物对 Pb 的吸收与耐性研究[J]. 植物生态学报, 2002, 26(5): 533-537.
- [16] 王激清, 张宝悦, 苏德纯. 修复镉污染土壤的油菜品种的筛选及吸收累积特征研究—高积累镉油菜对土壤中难溶态镉的活化及吸收研究(II)[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2005, 21(2): 35-40.
- [17] 苏德纯, 黄焕忠. 油菜作为超累积植物修复镉污染土壤的潜力[J]. 中国环境科学, 2002, 22(1): 48-51.
- [18] 柯文山, 陈建军, 黄邦全, 等. 十字花科芸薹属 5 种植物对 Pb 的吸收和富集[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2004, 26(3): 36-39.
- [19] 代天飞, 王昌全, 李 冰, 等. 油菜各部位对土壤中活性态重金属的累积特征分析[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(增刊): 471-475.
- [20] 刘 燕, 蒋光霞, 高喜明. 重金属多因子对油菜种子萌发的影响[J]. 贵阳学院学报, 2006, 1(1): 03-06.
- [21] 王启明, 马原松, 吴诗光. 干旱胁迫对不同生育期大豆叶片质膜透性的影响[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(9): 1587-1588.
- [22] 郝福顺, 陈 珈. 植物细胞膜 NADPH 氧化酶的研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(S1): 3-12.
- [23] 孔祥生, 郭秀璞, 张妙霞. 镉胁迫对玉米幼苗生长及生理生化的影响[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(2): 111-113.
- [24] 王世强, 王佩香, 王德青. 石灰炉渣废弃物重金属对植物生长的影响[J]. 中国农学通报, 2006, 22(6): 387-390.
- [25] 刘雪云, 陈明林, 杨 艳, 等. 镉胁迫下天蓝苜蓿的生理生态响应[J]. 中国草地学报, 2007, 29(2): 45-50.