

镉胁迫对玉米幼苗抗氧化系统及光合作用的影响

黄 辉, 李 升, 郭娇丽

(天津师范大学化学与生命科学学院生物系, 天津 300387)

摘 要:采用水培方法,在玉米幼苗进入三叶期后向培养液中加入不同浓度氯化镉(0 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),胁迫不同时间(5、10、15 d)后对幼苗进行各项指标检测。结果表明,低浓度(10^{-6} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)及中浓度(10^{-5} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)镉胁迫对幼苗生长均有较强刺激作用,而中浓度胁迫对地上部分作用更明显;低浓度镉胁迫对根部及叶片抗氧化酶(SOD、POD、CAT 及 ASA-POD)活性影响较小,只是根部 POD、ASA-POD 活性明显升高,而中浓度胁迫对除 SOD 外其他抗氧化酶活性均有显著促进作用;MDA 含量均未有显著升高,可见根部及叶片未受到氧化损伤;两种浓度胁迫下, F_v/F_m' 虽下降,净光合速率有所升高。高浓度镉(10^{-4} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)胁迫下幼苗生长几乎停止;根部 SOD 及 CAT 活性升高,而 POD 和 ASA-POD 被明显抑制,叶片中 CAT、POD 及 ASA-POD 活性显著升高;根部受到显著氧化损伤;各项光合参数(F_v/F_m 、 F_v'/F_m' 和净光合速率)均显著降低。

关键词:镉;玉米;抗氧化酶;丙二醛;叶绿素荧光参数

中图分类号:Q945.78 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2010)02-0211-05

The Influence of Cadmium(Cd^{2+}) to the Antioxidant System and Photosynthesis of Seedling of *Zea mays* L.

HUANG Hui, LI Sheng, GUO Jiao-li

(Department of Biology, College of Chemistry and Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China)

Abstract: The influence of Cd^{2+} to the antioxidant system and photosynthesis of maize (*Zea mays* L.) was studied systematically. Seedlings were cultivated in Hoagland liquid medium, and in the three-leave-period were treated with different concentrations of CdCl_2 (0 , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). After 5, 10 and 15 days of stress, physiological parameters of seedlings were measured. In the stress of low (10^{-6} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and middle (10^{-5} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) concentration, the growth of seedlings was promoted obviously whereas that of parts above the earth more notably in the stress of 10^{-5} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; In the stress of 10^{-6} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the activities of POD and ASA-POD in root increased and activities of other anti-oxidant enzymes changed little; However, the stress of middle concentration made activities of anti-oxidant enzymes increase obviously except SOD; The content of MDA was not high compared with control, which showed that seedlings were not hurt by oxidation; F_v/F_m' decreased and the net photosynthetic rate rose. In the concentration of 10^{-4} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the seedlings almost did not grow; The activities of SOD and CAT in root increased and those of POD and ASA-POD were inhibited seriously, and the activities of CAT, POD and ASA-POD in leave increased sharply; Root was hurt oxidately; Photosynthetic parameters (F_v/F_m , F_v'/F_m' and net photosynthetic rate) decreased notably.

Keywords: cadmium; *Zea mays*; antioxidant enzyme; MDA; parameters of chlorophyll fluorescence

镉(Cd)是生命体非必需元素,其化合物中,氯化镉(CdCl_2)毒性最强。采矿、冶炼等多种产业会造成环境镉污染,近年来随着我国工业的快速发展,土壤、水体中镉污染已成为很多地区面临的主要环境污染形式。2003 年统计显示,我国约有 1.3×10^4 hm^2 耕地受到

镉污染,涉及 11 个省市的 25 个地区^[1]。镉可以通过食物链进入人体,造成病害,如“痛痛病”。目前,镉被公认为仅次于黄曲霉毒素和砷(As)的主要食品污染物。植物修复技术,即利用植物对重金属化合物的吸收、富集和转化能力把土壤、水体和大气中残存的重金属污染物吸收、富集到植物体内,然后收获植物,通过焚烧等方法回收重金属,由此减少进入土壤或水体中重金属的含量,实现环境修复的目标,具有广阔应用前景^[2-3]。而研究植物在重金属胁迫环境中生长发育、生理生化特征无疑是这项技术重要理论基础。玉米是我

收稿日期:2009-09-09

基金项目:天津师范大学博士启动基金(5RL034);国家自然科学基金(30570101)

作者简介:黄 辉(1976—),男,天津人,博士,副教授,主要从事植物生物化学和光合作用方面研究。E-mail:hippoh@sina.com.cn

国北方广泛种植的作物品种,对多种环境因子的胁迫均表现出较强的抗性,属 C4 植物,生长迅速,生物量大,在植物修复方面具有很强的应用潜力,是广泛用于重金属污染研究的重要农作物^[4]。本试验以玉米为实验材料,研究其三叶期幼苗在镉胁迫下生长过程中,光合作用及抗氧化酶活性变化情况,为植物修复提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物培养及胁迫

供试玉米(*Zea mays* L.)种子为景白鲜 2 号(原名为津鲜二号,天津市景城园艺科技有限公司生产)。种子经 NaClO 消毒,萌发露白后,用 1/2 Hoagland 营养液进行水培,3 d 后换为全营养液再培养 5 d,待其进入三叶期后进行胁迫:选取长势一致的幼苗,分为 4 组,每组 25~30 棵,各组营养液中分别含 0(对照), 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} mol·L⁻¹ 氯化镉(CdCl₂),每 3 d 换一次营养液。培养条件:最大光照强度 1 500 μmol·m⁻²·s⁻¹,昼夜温度为(25±2)/(15±2)℃,相对湿度(50±5)%。以上各组简称为对照(CK)、 10^{-6} 、 10^{-5} 和 10^{-4} 组。在胁迫 5、10、15 d 后分别进行各项指标检测。

1.2 形态指标测定

胁迫第 5、10 和 15 d,随机选取对照及每个处理组的 10 株幼苗,称取其根部及地上部分鲜重。

1.3 抗氧化酶活性及丙二醛(MDA)含量测定

选取第 3 片真叶,差速离心法提取其中可溶性酶[提取液:氯化镁(MgCl₂)10 mmol·L⁻¹,巯基乙醇 20 mmol·L⁻¹,乙二胺四乙酸二钠(EDTA)1.0 mmol·L⁻¹,甘油 8%(V:V),三羟甲基氨基甲烷(Tris)50 mmol·L⁻¹,pH 7.8]。超氧化物歧化酶(SOD)活性测定使用核黄素-NBT 法;过氧化物酶(POD)采用愈创木酚法;过氧化氢酶(CAT)采用 H₂O₂-紫外比色法;抗坏血酸过氧化物酶(ASA-POD)活性测定采用抗坏血酸-H₂O₂ 紫外比色法^[5-6]。

差速离心法提取[提取液:三氯乙酸(TCA)10%(W:V),EDTA 1.5 mmol·L⁻¹]第 3 片真叶中丙二醛,使用硫代巴比妥酸(TBA)法测定其含量^[7]。

1.4 光合作用参数测定

光合参数使用光合仪(LI-6400 Photosystem)及其荧光装置测定。选取第 3 片真叶,擦净后用叶夹夹住中部,设定测量光强度为 1(<0.1 μmol·m⁻²·s⁻¹),饱和光强度为 7(8 000 μmol·m⁻²·s⁻¹),测定 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m ,然后将植株在 500 μmol·m⁻²·s⁻¹ 光下光活化 1 h,设定

饱和光强度为 7,测定得到光适应后的最大荧光(F_m'),关闭活化光,再施加远红光以测量光适应的 F_o' 。

光系统 II 最大光化学量子产量

$$(F_v/F_m) = (F_m - F_o)/F_m$$

光系统 II 光化学的有效量子产量

$$(F_v'/F_m') = (F_m' - F_o')/F_m'$$

1.5 统计分析方法及作图

采用 SPSS version 10.0 统计软件进行统计分析,作图使用 Sigmaplot 8.0 作图软件。

2 结果

2.1 生长状况

10^{-6} 和 10^{-5} mol·L⁻¹ 镉处理对玉米幼苗根部和地上部分生长有明显促进作用,处理 10 d 时,鲜重均明显高于对照,而 10^{-6} mol·L⁻¹ 镉处理对地上部分促进作用更加显著; 10^{-4} mol·L⁻¹ 处理组使幼苗生长基本停滞(图 1)。

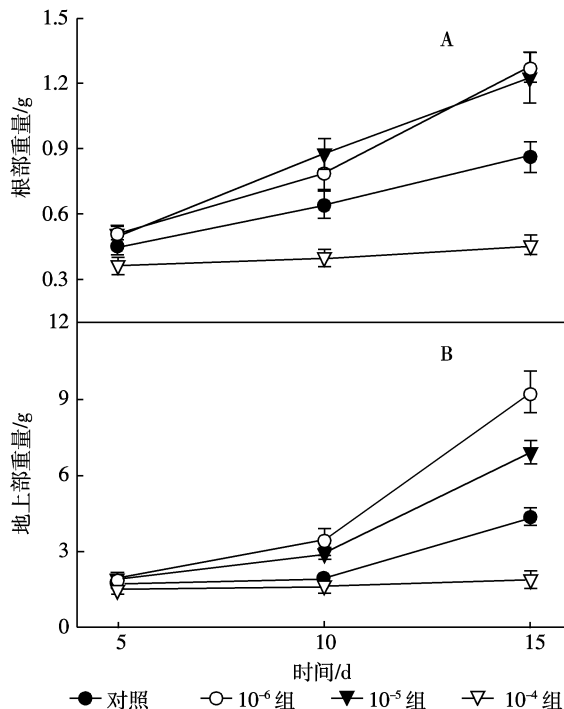


图 1 镉对玉米幼苗根部(A)及地上部分(B)鲜重的影响

Figure 1 Effects of Cd on fresh weight in root (A) and part above the earth (B) of maize seedling

2.2 抗氧化酶活性

2.2.1 根部抗氧化酶活性

如图 2 所示,镉处理对根部各抗氧化酶活性影响显著,但呈现出不同趋势: 10^{-6} 和 10^{-5} 组根部 SOD 活性变化不大,而 10^{-4} 组 5 d 时 SOD 活性下降,随后上升,10 d 后明显高于对照; 10^{-6} 和 10^{-5} 组根部 POD 活

性明显升高,而 10^{-4} 组则被显著抑制; 10^{-5} 和 10^{-4} 组CAT活性依次明显升高,而 10^{-6} 组该酶活性几乎无影响; 10^{-6} 和 10^{-5} 组10 d时ASA-POD活性显著升高,15 d后则与对照无显著差异,而 10^{-4} 组该酶活性被明显抑制。

2.2.2 叶片抗氧化酶活性

如图3所示,10 d时,随处理浓度升高,SOD活性被抑制程度依次加大,随后 10^{-6} 和 10^{-4} 组活性升高,15 d时与对照已无显著差异; 10^{-5} 和 10^{-4} 组POD活性明显升高,处理浓度越高,促进作用越明显;镉胁迫10

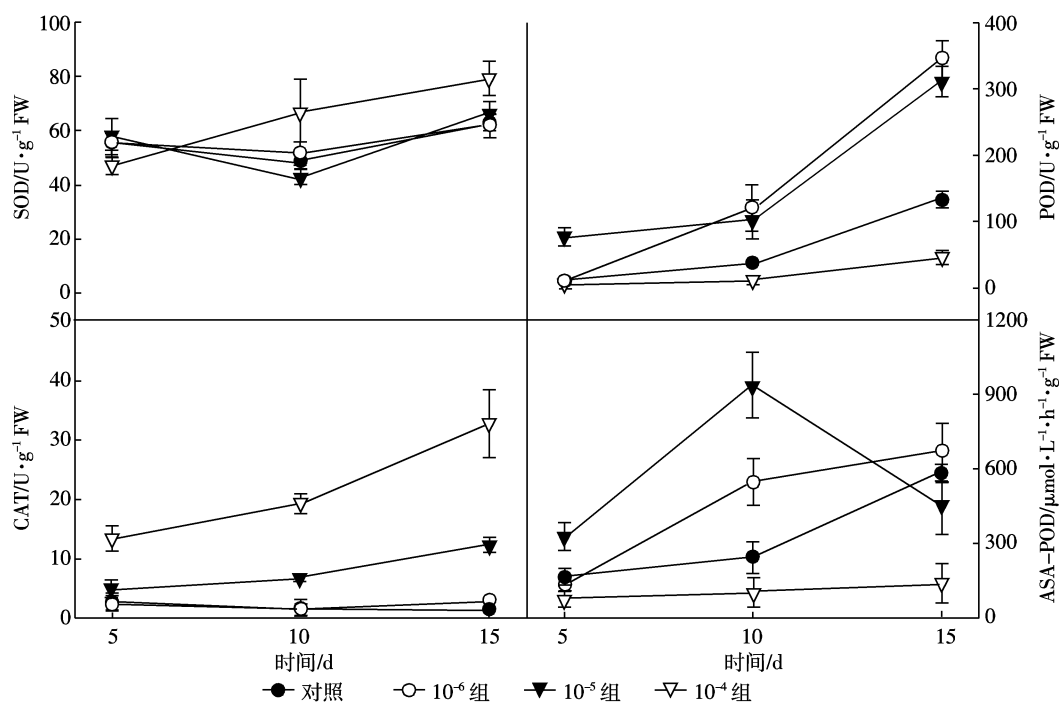


图2 镉对玉米幼苗根部抗氧化酶活性的影响

Figure 2 Effects of Cd on the activities of anti-oxidant enzymes in maize seedling root

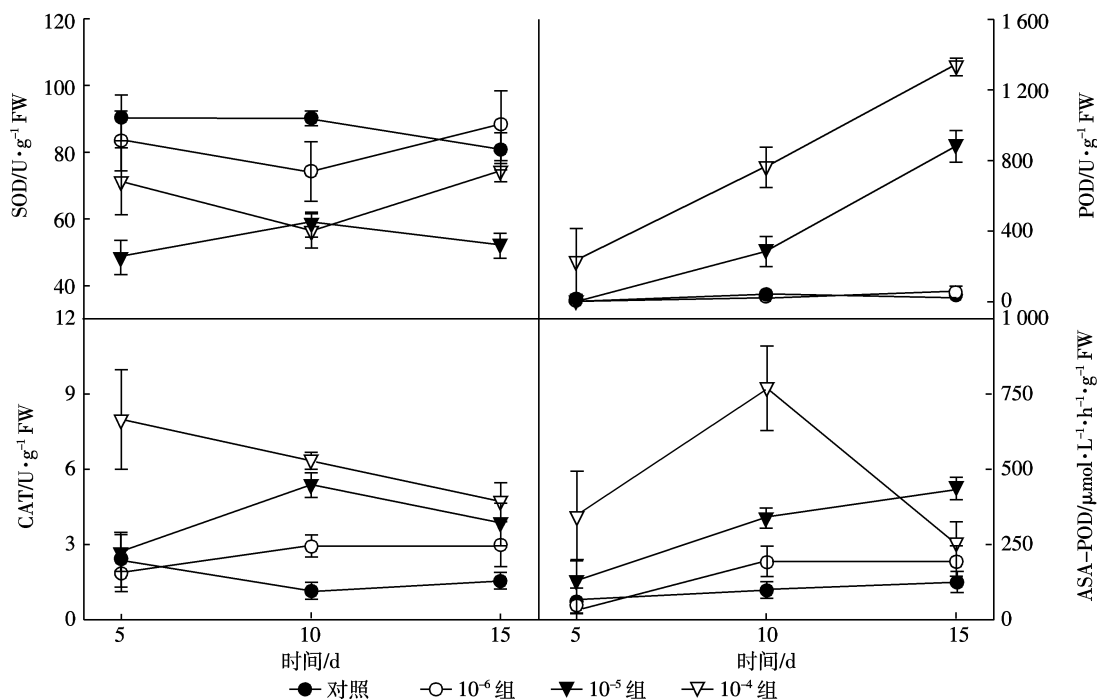


图3 镉对玉米幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

Figure 3 Effects of Cd on the activities of anti-oxidant enzymes in maize seedling leaf

d 后叶片 CAT 活性随处理浓度提高而升高; 处理前 10 d, 随处理浓度升高, ASA-POD 活性依次显著升高, 随后, 10⁻⁴ 组活性下降, 15 d 时与对照已无显著差异。

2.3 丙二醛含量

图 4 为镉对根部及叶片丙二醛含量影响, 处理 10 d 时, 根部 MDA 含量随镉处理浓度升高依次显著上升, 而 15 d 后 10⁻⁶ 和 10⁻⁵ 组 MDA 含量低于对照, 10⁻⁴ 组 MDA 含量在处理过程中均明显高于对照; 处理 5 d 时各组叶片 MDA 含量均低于对照, 10 d 时 10⁻⁵ 和 10⁻⁴ 组 MDA 含量明显高于对照, 而 15 d 时, 随处理浓度升高, MDA 含量依次上升, 但差异不显著。

2.4 光合参数

2.4.1 *Fv/Fm*

如表 1 所示, 处理 5 d 时各组 *Fv/Fm* 明显低于对照, 10 d 后 10⁻⁶ 和 10⁻⁵ 组与对照无显著差异, 而 10⁻⁴ 组一直明显低于对照。

2.4.2 *Fv'/Fm'*

5 d 时 10⁻⁶ 组 *Fv'/Fm'* 明显升高, 而 10 d 后, 10⁻⁶ 和 10⁻⁵ 组该指标明显低于对照, 10⁻⁴ 组处理过程中该指标被显著抑制。

2.4.3 净光合速率

由表 1 可知, 5 d 时各处理组净光合速率均明显高于对照, 10 d 时 10⁻⁶ 组与对照基本一致, 而 10⁻⁵ 和 10⁻⁴ 组明显降低, 15 d 时 10⁻⁶ 和 10⁻⁵ 组该指标明显高于对照, 而 10⁻⁴ 组则继续下降。

3 讨论

超富集植物在生物修复中有广阔应用前景, 对于镉, 目前被广泛接受的超富集植物定义为: 茎叶中镉百分含量超过 0.01% (W/W)^[8]。根据此定义, 玉米可作为镉超富集植物^[9], 因此本试验选择玉米为镉胁迫试验材料。镉对植物的影响是多方面的: 镉可以影响根

表 1 镉对玉米幼苗光合参数
(*Fv/Fm*, *Fv'/Fm'* 和净光合速率) 的影响
Table 1 Effects of Cd on the photosynthetic parameters (*Fv/Fm*, *Fv'/Fm'* and net photosynthetic rate) of maize seedling

	<i>Fv/Fm</i>			
	对照	10 ⁻⁶ 组	10 ⁻⁵ 组	10 ⁻⁴ 组
5 d	0.802±0.002 a	0.772±0.011 b	0.764±0.018 b	0.736±0.023 c
10 d	0.791±0.006 a	0.783±0.018 a	0.756±0.042 a	0.735±0.016 b
15 d	0.790±0.003 a	0.788±0.012 a	0.775±0.013 a	0.732±0.018 b
	<i>Fv'/Fm'</i>			
	对照	10 ⁻⁶ 组	10 ⁻⁵ 组	10 ⁻⁴ 组
5 d	0.569±0.011 a	0.599±0.003 b	0.572±0.005 a	0.529±0.004 c
10 d	0.599±0.002 a	0.580±0.008 b	0.586±0.004 b	0.511±0.004 c
15 d	0.632±0.002 a	0.589±0.004 b	0.616±0.002 c	0.494±0.005 d
	净光合速率 /mg·cm ⁻² ·s ⁻¹			
	对照	10 ⁻⁶ 组	10 ⁻⁵ 组	10 ⁻⁴ 组
5 d	6.727±0.307 a	8.000±0.552 b	8.160±0.520 b	8.963±0.690 c
10 d	7.650±0.374 a	6.557±1.460 a	3.883±0.404 b	4.620±0.075 c
15 d	10.900±0.265 a	11.367±0.058 b	11.767±0.058 b	3.283±0.067 c

部元素吸收, 抑制细胞分裂, 致使染色体畸变, 破坏植物超微结构等^[10-11]。同时, 植物也演化出多种抗镉机制: 抑制吸收; 对进入细胞的镉实施区域化; 以沉淀或螯合的方式解毒; 诱导热休克蛋白表达防止蛋白变性等^[12-13]。而光合和抗氧化机制一直是重金属胁迫研究的热点问题。

镉对玉米幼苗的生长表现出“低促高抑”的特点, 这也是重金属对植物生长影响的普遍规律。低浓度 (10⁻⁶ mol·L⁻¹) 和中浓度 (10⁻⁵ mol·L⁻¹) 镉胁迫明显促进其生长, 前者对地上部分的促进作用更明显; 而中浓度在胁迫初期对根部促进作用更明显, 10 d 后, 其生长速度慢于低浓度组, 可能是由于镉主要积累于根部, 随着镉的积累, 中浓度组根部镉含量超过植物耐

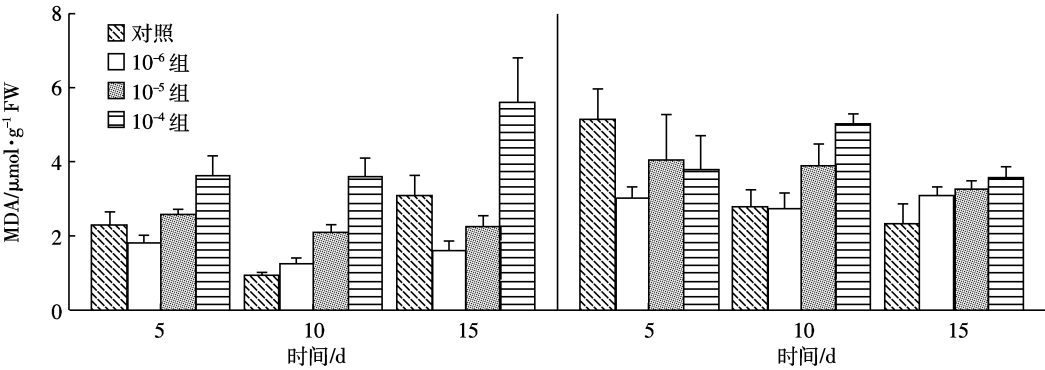


图 4 镉对玉米幼苗根部(左)及叶片(右)丙二醛含量的影响

Figure 4 Effects of Cd on the contents of malondialdehyde(MDA)in maize seedling root(left)and leaf(right)

受阈值,开始对生长表现出抑制作用所致。高浓度($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)镉胁迫使玉米幼苗生长几乎停止。镉对光合作用的影响与幼苗的生长状况密切相关,试验结果显示,光合作用光反应对镉胁迫更加敏感,低浓度胁迫即会导致相关指标($F_v/F_m, F_v'/F_m'$)下降,而净光合速率在低浓度及中浓度胁迫下表现为明显升高,可能是由于光反应的产物处于过剩状态,因此光反应效率下调在一定程度内不会抑制 CO_2 的固定。净光合速率的升高是幼苗生长促进的重要因素,高浓度下,对光合作用的抑制使得生长近乎停止。

抗氧化系统是植物重要保护机制,包括抗氧化酶和小分子物质(抗坏血酸,谷胱甘肽等)。以往抗氧化体系研究的重点为SOD、POD及CAT抗氧化酶体系,而和抗坏血酸相关的体系研究得较少^[14-15]。本试验结果显示,镉胁迫对幼苗根部及叶片抗氧化酶活性有显著影响。SOD和CAT对镉胁迫的耐受能力最强,在高浓度胁迫组的根部两个酶活性仍表现为明显升高,而POD和ASA-POD则被明显抑制。另外,由于镉主要积累于根部,高浓度组POD和ASA-POD活性变化趋势为根部抑制、叶片促进,中浓度组根部及高浓度组叶片ASA-POD活性表现出很强的时间相关性,处理前期活性明显升高,随后急速下降,可见该酶活性对镉积累非常敏感。总体来说,低浓度胁迫对抗氧化酶活性影响最小,中浓度对酶活性影响主要表现为促进。低浓度镉胁迫由于镉积累量小,依靠区域化、螯合等手段可限制其作用,因此抗氧化系统虽未动用,细胞未造成氧化损伤;而中浓度胁迫,依靠抗氧化机制的协同作用完全可清除镉积累造成的氧化胁迫,因此细胞亦未造成明显的氧化损伤,这也是光合作用得以正常进行的重要因素之一。高浓度胁迫下,根部抗氧化酶活性促进与抑制作用并存,抗氧化酶间的协同被打破,根部细胞受到明显的氧化伤害。

总之,玉米幼苗表现出较强的抗镉胁迫能力,加之其符合镉超富集植物标准,且生长迅速,生物量大,因此可作为镉污染生物修复的候选植物。

参考文献:

- [1] 杜应琼,何江华,陈俊坚,等. 铅、镉和铬在叶类蔬菜中的积累及其生长的影响[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 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(1): 51-55.
- [2] McGrath S P, Zhao F J, Lombi E. Phytoremediation of metals, metalloids and radionuclides[J]. *Adv Agron*, 2002, 75: 1-56.
- [3] Salt D E, Prince R C, Pickering I J, et al. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard[J]. *Plant Physiol*, 1995, 109: 1427-1433.
- [4] Liu D H, Wang M, Zou J H, et al. Uptake and accumulation of cadmium and some nutrient ions by roots and shoots of maize (*Zea mays* L.) [J]. *Pak J Bot*, 2006, 38(3): 701-709.
- [5] González A, Steffen K L, Lynch J P. Light and excess manganese implications for oxidative stress in common bean[J]. *Plant Physiol*, 1998, 118: 493-504.
- [6] Anderson J V, Chevone J V, Hess J L. Seasonal variation in the antioxidant system of eastern white pine needles: Evidence for thermal dependence[J]. *Plant Physiol*, 1992, 98: 501-508.
- [7] 黄辉,童雷,苗芃,等. 铬污染地区芦苇(*Phragmites australis* L.)生理特征分析[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1273-1276.
HUANG Hui, TONG Lei, MIAO Peng, et al. Physiological characteristics of *Phragmites australis* L. growing in chromium polluted area [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(4): 1273-1276.
- [8] Baker A J M, McGrath S P, Reeves R D, et al. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils[C]//Terry, N., Bañuelos, G. (Eds.) Phytoremediation of contaminated soil and water. Lewis Publishers. Boca Raton, 2000: 85-107.
- [9] Wang M, Zou J H, Duan X C, et al. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Biore Tech*, 2007, 98: 82-88.
- [10] Liu D H, Jiang W S, Li M X. Effects of Cd^{2+} on root growth and cell division of *Allium cepa* [J]. *Acta Sci Circumstantiae*, 1992, 12: 439-446.
- [11] Shah K, Dubey R S. Effect of cadmium on RNA level as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedlings[J]. *Plant Physiol Biochem*, 1995, 33: 577-584.
- [12] Salt D E, Blaylock M, Kumar P B A N, et al. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants[J]. *Bio Technology*, 1995, 13: 468-474.
- [13] Ma J F, Hiradate S, Matsumoto H. High aluminum resistance in buckwheat II. Oxalic acid detoxifies aluminum internally[J]. *Plant Physiol*, 1998, 117: 753-759.
- [14] 刘俊,廖柏寒,周航,等. 镉胁迫对大豆花荚期生理生态的影响[J]. 生态环境学报, 2009, 18(1): 176-182.
LIU Jun, LIAO Bo-han, ZHOU Hang, et al. Effects of Cd^{2+} on the physiological and biochemical properties of *Glycine max* in flowering-podding phase[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(1): 176-182.
- [15] 金海燕,奚涛,时唯伟,等. 镉胁迫对矮生四季豆种子萌发和幼苗生长发育的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(1): 119-124.
JIN Hai-yan, XI Tao, SHI Wei-wei, et al. Effects of cadmium stress on seed germination and seedling growth of dwarf beans[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(1): 119-124.