

镉胁迫对碱蓬种子萌发及幼苗生长的影响

王新新^{1,2}, 吴亮², 朱生凤³, 赵林¹, 安伟², 陈宇^{1,2}

(1. 天津大学环境科学与工程学院, 天津 300072; 2. 中海石油环保服务有限公司, 天津 300452; 3. 中国海洋石油总公司, 北京 100010)

摘要:为探究镉(Cd)污染对盐碱湿地植被的毒性效应,以盐碱湿地典型植物碱蓬为供试植物,采用溶液培养方法研究了 0~300 mg·L⁻¹ 镉胁迫下碱蓬种子萌发特征及幼苗生长特征。结果表明,3 mg·L⁻¹ 镉胁迫显著提高发芽势、发芽指数、根冠比、幼茎直径、根系直径并降低根系长度($P<0.05$),10 mg·L⁻¹ 镉胁迫显著提高活力指数、幼茎重量、根系重量并降低根系活力($P<0.05$),30 mg·L⁻¹ 镉胁迫显著提高发芽率和幼茎长度($P<0.05$)。主成分分析结果表明,在第一主成分上碱蓬种子发芽势具有最高的载荷,说明发芽势可以很好地反映镉胁迫下碱蓬的生长状态。碱蓬种子发芽势可以作为一种潜在的生物标志物,在盐碱湿地镉污染监测或表征中具有较大的应用潜力。

关键词:主成分分析;发芽势;盐碱湿地;生物标志物

中图分类号:X503.233 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)02-0238-06 doi:10.11654/jaes.2013.02.005

Effects of Cadmium Stress on Seed Germination and Seedling Growth of *Suaeda glauca*

WANG Xin-xin^{1,2}, WU Liang², ZHU Sheng-feng³, ZHAO Lin¹, AN Wei², CHEN Yu^{1,2}

(1.School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2.China Offshore Environmental Service Co. Ltd., Tianjin 300452, China; 3. China National Offshore Oil Corporation, Beijing 100010, China)

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of cadmium(Cd) on the plants growth in saline-alkaline wetland. As a typical plant grown in such wetland, *Suaeda glauca* was chosen for this investigation. The seed germination and seedling growth properties of *Suaeda glauca* exposed to Hoagland's solution with Cd concentration of 0, 1 mg·L⁻¹, 3 mg·L⁻¹, 10 mg·L⁻¹, 30 mg·L⁻¹, 100 mg·L⁻¹ and 300 mg·L⁻¹ were analyzed. Cd concentration of 3 mg·L⁻¹ significantly enhanced germination potential, germination index, root/shoot ratio, shoot diameter and root diameter; Cd concentration of 10 mg·L⁻¹ significantly enhanced vigor index, shoot weight and root weight; Cd concentration of 30 mg·L⁻¹ significantly enhanced germination and shoot length; Cd concentration of 3 mg·L⁻¹ and 10 mg·L⁻¹ significantly decreased root length and root activity respectively ($P<0.05$). Principal component analysis showed seed germination potential got highest loading score at the first principal component, indicating this factor was effective to reflect the growth state of *Suaeda glauca* under Cd stress. Therefore seed germination potential of *Suaeda glauca* might serve as potential biomarker, which was helpful to the monitor or evaluation of Cd pollution in saline-alkaline wetland.

Keywords: principal component analysis; seed germination potential; saline-alkaline wetland; biomarker

随着人类活动的增强,含有重金属污染物的工农业废水和废弃物被大量排放到环境中,对湿地等环境造成了严重污染。湿地是一种由水陆交互作用形成的特殊的自然环境形态,具有调节气候、涵养水源和净化污染物等重要的生态功能,被誉为“地球之肾”^[1-3]。

然而,湿地正遭受越来越严重的重金属污染。XIAO等^[4]在海河下游湿地中检出了铜、镍、铅和锌等重金属污染物。ALAM等^[5]在孟加拉国 Bhaluka 地区甚至发现 67%的湿地水体中的镉含量和 87%的湿地水体中的铅含量不符合世界卫生组织饮用水标准。在重金属污染物中,镉污染分布较为广泛,在污染湿地的土壤和水体样品中常常检出^[6-7]。镉的生物毒性较强,可干扰植物光合作用、抑制植物生长代谢^[8-9],从而破坏湿地植被,干扰湿地生态系统的正常运行,但关于镉对湿地植物影响的研究报道并不多见。

收稿日期:2012-06-08

基金项目:中国海洋石油总公司科技项目(CNOOC-KJ 125 ZDXM 00 000 00 NFCY 2011-04)

作者简介:王新新(1983—),男,博士,主要从事环境微生物学和生态毒理学研究。E-mail:wangxx200899@163.com

碱蓬(*Suaeda glauca*)是一种典型的湿地植物,常在盐碱湿地环境中形成优势种群,是盐碱湿地生态系统的重要组成部分^[10-11]。目前,关于碱蓬(*Suaeda salsa*)等耐盐湿地植物的重金属富集特性研究较多^[12-14]。而关于盐碱湿地典型植物对重金属的耐受性,特别是碱蓬在镉胁迫下的生长情况罕见研究报道。

本研究采用 CdCl_2 溶液培养方法对盐碱湿地典型植物碱蓬进行镉胁迫,对碱蓬在镉胁迫下的形态学和生理学参数进行分析,以期了解镉胁迫对碱蓬生长状态的影响,并为采用该植物监测盐碱湿地重金属污染提供科学依据和数据参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

CdCl_2 试剂购于天津市津科精细化工研究所。碱蓬(*Suaeda glauca*)种子于2011年11月采集于天津市大港区($38^{\circ}42'10''\text{N}$, $117^{\circ}29'26''\text{E}$),自然晾干后 4°C 保存。

1.2 试验处理

选取颗粒饱满、大小均匀并且无病虫害的碱蓬种子,采用0.4%的 KNO_3 溶液浸泡6h以打破种子休眠^[15]。蒸馏水洗涤数次以去除 KNO_3 残余,吸干种子表面水分,置于铺有双层滤纸的无菌培养皿内进行试验。每处理均设置3次重复,每培养皿30粒种子。

以 Hoagland 溶液为基础培养液,补充 NaCl 至1%浓度,调节 pH 值至8.0,以模拟盐碱环境。每培养皿20 mL 培养液,采用重量法每日补充蒸馏水,以弥补蒸发损失。根据地表水环境质量标准(GB 3838—2002)和相关文献^[16]确定镉胁迫浓度为0~300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别添加 CdCl_2 溶液至终浓度为0、1、3、10、30、100、300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温避光培养,每2d更换1次含 CdCl_2 的新鲜培养液。

以芽长超过3mm为发芽指标,每24h统计种子发芽率,计算发芽势、发芽指数和活力指数。其中发芽指数计算公式为 $GI = \sum (G_t/D_t)$ (D_t 为发芽天数, G_t 为逐日发芽率),活力指数计算公式为 $VI = GI \times W$ (W 为幼苗重量)。8d后终止培养,采集碱蓬幼苗,蒸馏水洗涤数次以去除 CdCl_2 残余。用不锈钢刀片将植株分为幼茎和根系两部分,吸干表面水分,测定其重量。分别对碱蓬幼茎和根系进行图像扫描,设置黑白二值图像模式、600 dpi 分辨率、100%比例尺,保存为tif格式文件。用 Rootedge 2.3b 软件分析碱蓬幼茎和根系的长度和平均直径等形态特征^[17]。根系活力采用氯化三苯

基四氮唑(TTC)方法进行测定,用其还原强度表示根系活力^[18]。

1.3 统计分析

采用 SPSS v13.0 软件对所得数据进行方差分析和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫对碱蓬种子萌发的影响

镉胁迫对碱蓬种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数的影响如图1所示。镉浓度为0时,碱蓬种子发芽率随时间推移逐渐增高,8d的发芽率为 $21.1\% \pm 1.9\%$,与1~10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫的碱蓬种子发芽率没有显著差异($P>0.05$)。随着镉胁迫浓度的增加,碱蓬种子发芽率显著增高,100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下的发芽率最高达到 $43.3\% \pm 5.8\%$,然而更高浓度300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下的发芽率却降至 $32.2\% \pm 6.9\%$ 。发芽势、发芽指数和活力指数的变化趋势与发芽率相类似。3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫显著提高发芽势和发芽指数,10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫显著提高活力指数($P<0.05$),而最高浓度的300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫则显著降低了发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数($P<0.05$)。这4个指标整体上表现出先升高后降低的变化规律。

2.2 镉胁迫对碱蓬幼苗生长的影响

镉胁迫对碱蓬幼茎生长和根冠比的影响如图2所示。镉浓度为0时,碱蓬幼茎长度为 $(23.1 \pm 3.5)\text{mm}$,与1~10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下的碱蓬幼茎长度没有显著差异($P>0.05$);30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫下的碱蓬幼茎长度却显著升高至 $(40.0 \pm 1.8)\text{mm}$ 。镉浓度为0时,碱蓬幼茎直径 $(0.6 \pm 0.1)\text{mm}$;除3~10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫之外,其他浓度镉胁迫的幼茎直径没有显著差异($P>0.05$)。碱蓬幼茎重量的变化趋势与长度相类似,呈现出先升高后降低的规律。镉浓度为0时,碱蓬幼苗的根冠比为 (0.13 ± 0.02) ;除3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫之外,其他浓度镉胁迫的根冠比没有显著差异($P>0.05$)。

镉胁迫对碱蓬幼茎根系特征的影响如图3所示。0~1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫的根系长度维持在18mm左右,3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫显著降低了根系长度($P<0.05$)。0~1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫的根系直径维持在0.3mm左右,3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫显著增大了根系直径($P<0.05$)。根系重量与发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、幼茎长度和幼茎重量的变化规律较为类似,但300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫的根系重量并未显著降低($P>0.05$)。镉浓度为0时,根系活力为 $(2.4 \pm 0.3)\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,与1~3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫

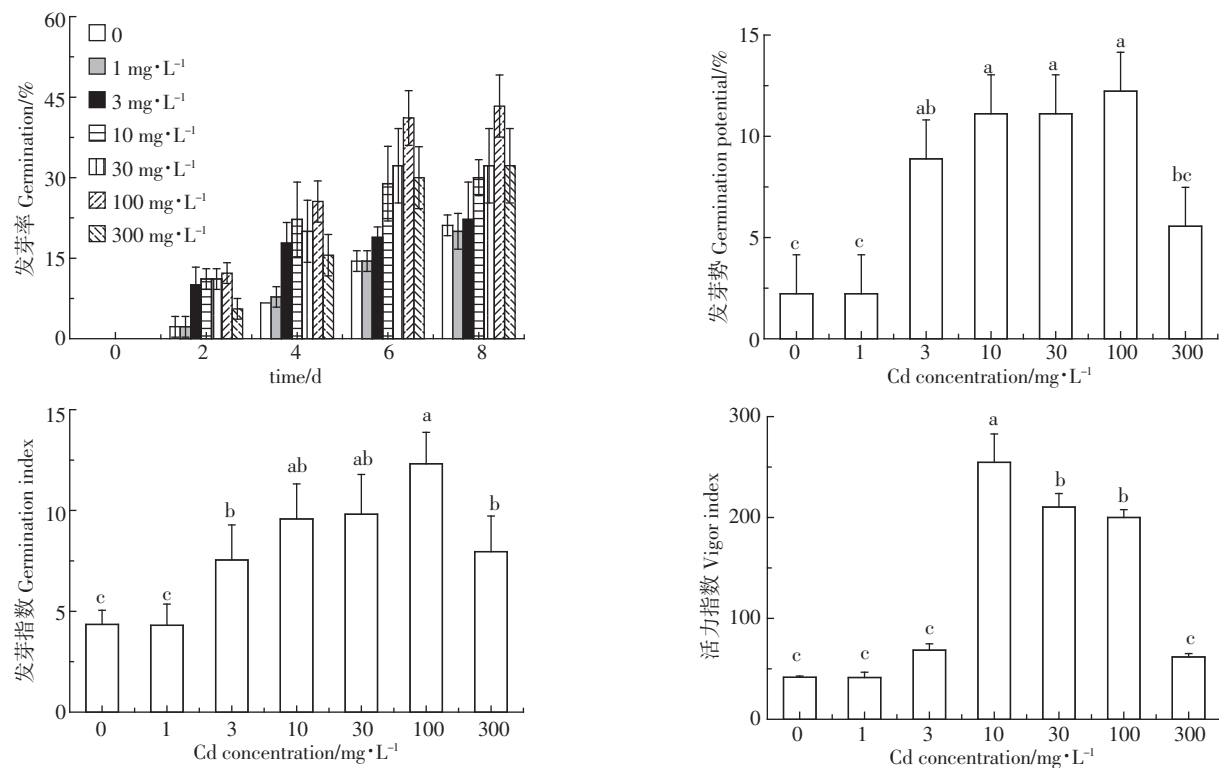


图1 重金属镉对碱蓬种子萌发特征的影响

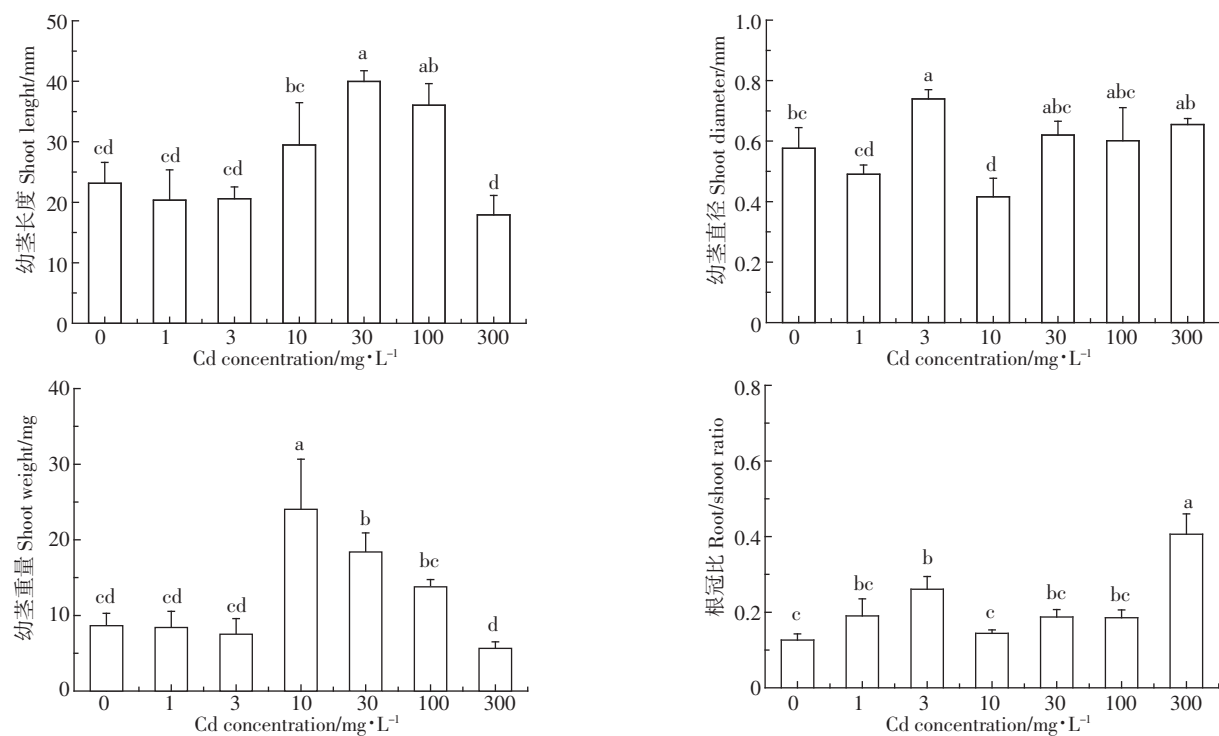
Figure 1 Effect of Cd on the germination property of *Suaeda glauca*

图2 重金属镉对碱蓬幼茎生长和根冠比的影响

Figure 2 Effect of Cd on the shoot property and the root/shoot ratio of *Suaeda glauca*

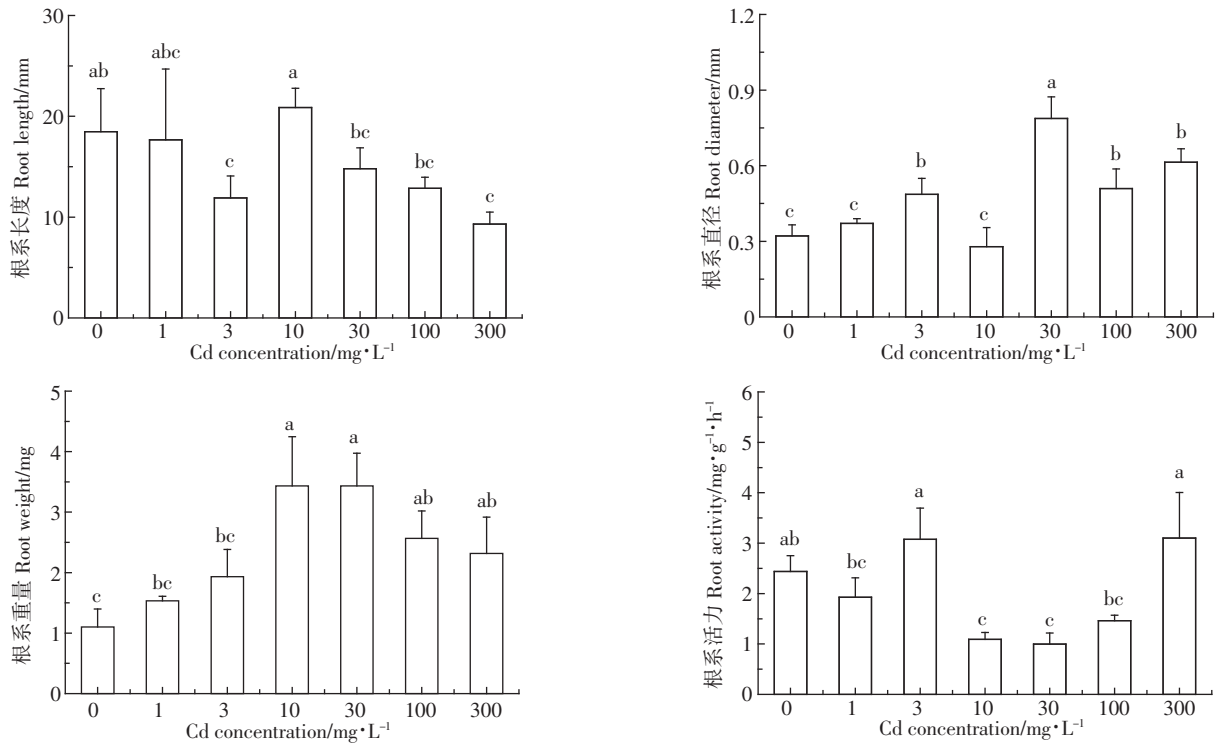


图3 重金属镉对碱蓬幼苗根系特征的影响

Figure 3 Effect of Cd on the root property of *Suaeda glauca*

迫的根系活力没有显著差异($P>0.05$), $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 镉胁迫则显著降低了根系活力($P<0.05$)。

采用主成分分析方法将获得的碱蓬发芽率等 12 个测试指标转化为几个综合变量(主成分),以综合反映镉胁迫下的碱蓬生长状态,结果如图 4 所示。提取的前 2 个主成分的累积方差贡献率达 75.3%,其中第一主成分(PC1)和第二主成分(PC2)分别解释变量方差的 48.0%和 27.3%。在 12 个测试指标中,发芽势位于最右端,在第一主成分上载荷最高,与第一主成分

紧密相关;根系长度在第二主成分上的载荷绝对值最高,与第二主成分紧密相关。这说明发芽势和根系长度可以很好地解释镉胁迫下的碱蓬生长特性。

3 讨论

地表水环境质量标准(GB 3838—2002)中 V 类水体限定镉浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,本研究采用超标 3 万倍的 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 镉浓度处理碱蓬种子,发现发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、幼茎长度和幼茎重量均呈现出低浓度诱导而高浓度抑制的变化规律(图 1、图 3),均与已有的文献报道一致^[19]。尽管关于该现象的机制目前仍不十分清楚,但是部分研究指出,这种现象可能与低浓度重金属诱导活性氧自由基的产生有关^[20-21]。低浓度重金属可以诱导植物产生超氧阴离子和羟自由基等活性氧自由基,诱导某些基因表达,加速植物代谢过程,从而在宏观上促进植物的生长^[22-23]。然而随着重金属浓度的增大,活性氧自由基的产生进一步增多,严重干扰了抗氧化酶等保护性酶的活性,打破细胞氧化还原平衡,造成代谢紊乱,从而表现为植物生长的抑制。

对 12 个测试指标的 21 组数据进行主成分分析,结果发现碱蓬种子发芽势在第一主成分上呈现最高

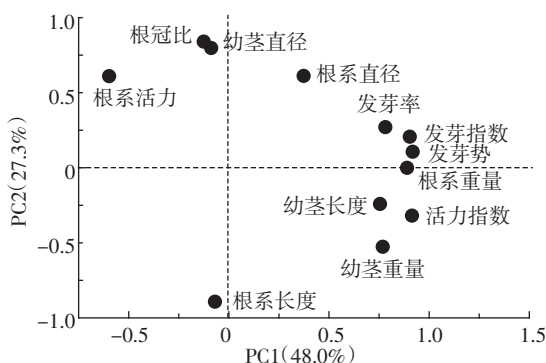


图4 碱蓬 12 个测试指标的主成分分析

Figure 4 Principal component analyses of 12 factors of *Suaeda glauca*

的载荷值,并且根系长度在第二主成分上呈现最高的绝对载荷值,说明它们可以在一定程度上指示镉胁迫。然而由于第二主成分仅解释了总方差变异的27.3%,远低于第一主成分的48.0%,相对于根系长度,发芽势更能体现镉对碱蓬的胁迫效应。碱蓬种子发芽势对镉胁迫较为敏感,这与其他植物对镉胁迫的响应并不一致。Liu等^[24]对镉胁迫下拟南芥的基因表达情况进行分析,结果发现拟南芥atMSH2等DNA错配修复基因表达量在低浓度镉下明显升高,可作为检测镉污染的生物标志物。Chen等^[25]对镉胁迫下小麦种子的萌发和生长情况进行了分析,结果发现种子萌发率与镉浓度相关性不大,而小麦分蘖数是指示镉胁迫的敏感指标。Liu等^[26]对镉胁迫下金银花的生长状况进行分析,结果发现金银花叶绿素含量在低浓度镉作用下明显提高,因此可以作为镉胁迫的生物标志物。由此可见,不同植物指示镉污染的生物标志物并不一致。植物种类与其生存的自然环境紧密相关,碱蓬是盐碱湿地特有的优势种群^[10-11],因此碱蓬发芽势可以作为一种潜在的生物标志物,在盐碱湿地镉污染监测或表征中具有较大的应用潜力。

生物标志物往往对污染胁迫具有很好地响应,然而本研究中并不是所有处理的发芽势均有显著差异,例如 $3\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫处理的碱蓬发芽势差异并不显著(图1),说明碱蓬发芽势对该浓度范围内的镉胁迫并不敏感。这可能是由于镉污染浓度较高,镉对植物的促进作用进入了一个“平台期”,在该范围内碱蓬发芽势难以指示镉污染程度。然而 $1\sim 3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫之间碱蓬发芽势显著提高($P<0.05$),说明碱蓬发芽势对较低浓度范围内的镉胁迫具有较好地响应,这可能与低浓度重金属对植物萌发的促进效应有关。因此在较低的($1\sim 3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)镉浓度范围内,碱蓬发芽势对镉污染有较好的指示作用。通过中国知网、ISI Web of Knowledge、Engineering Village 和 ProQuest 数据库进行检索,本研究是关于盐碱湿地典型植物碱蓬镉胁迫的首次报道。

4 结论

(1) $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉胁迫即可显著提高碱蓬种子发芽势、发芽指数、根冠比、幼茎直径、根系直径并降低根系长度($P<0.05$)。

(2)碱蓬种子发芽势对低浓度镉胁迫较为敏感,可能作为一种潜在的生物标志物,在盐碱湿地镉污染监测或表征中具有较大的应用潜力。

参考文献:

- [1] LIU D, WU X, CHANG J, et al. Constructed wetlands as biofuel production systems[J]. *Nature Climate Change*, 2012, 2(3):190-194.
- [2] Adekola O, Mitchell G. The Niger Delta wetlands: Threats to ecosystem services, their importance to dependent communities and possible management measures[J]. *International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services & Management*, 2011, 7(1):50-68.
- [3] Maltby E, Acreman M C. Ecosystem services of wetlands: Pathfinder for a new paradigm[J]. *Hydrological Sciences Journal*, 2011, 56(8):1341-1359.
- [4] XIAO R, BAI J, WANG Q, et al. Assessment of heavy metal contamination of wetland soils from a typical aquatic - terrestrial ecotone in Haihe River Basin, North China[J]. *Clean - Soil, Air, Water*, 2011, 39(7):612-618.
- [5] Alam M Z, Alim P, Al-Harbi N A, et al. Contamination status of arsenic, lead, and cadmium of different wetland waters[J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2011, 93(10):1934-1945.
- [6] Vande Moortel A M K, Du Laing G, De Pauw N, et al. Distribution and mobilization of pollutants in the sediment of a constructed floating wetland used for treatment of combined sewer overflow events[J]. *Water Environment Research*, 2011, 83(5):427-439.
- [7] Nasir U P, Harikumar P S. Ecotoxicity and ecosystem health of a Ramsar wetland system of India [J]. *Journal of Environmental Protection*, 2011, 2(6):710-719.
- [8] Gallego S M, Pena L B, Barcia R A, et al. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 83:33-46.
- [9] WAN L, ZHANG H. Cadmium toxicity: Effects on cytoskeleton, vesicular trafficking and cell wall construction[J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2012, 7(3):345-348.
- [10] KE C Q, ZHANG D, WANG F Q, et al. Analyzing coastal wetland change in the Yancheng National Nature Reserve, China[J]. *Regional Environmental Change*, 2011, 11(1):161-173.
- [11] WANG Z Y, XIN Y Z, GAO D M, et al. Microbial community characteristics in a degraded wetland of the Yellow River Delta[J]. *Pedosphere*, 2010, 20(4):466-478.
- [12] 刘宇, 孟范平, 姚瑞华, 等. 碱蓬幼苗对 Pb、Cd、Cu、Zn 耐受性及富集能力[J]. *环境科学与技术*, 2009, 32(12):55-59.
LIU Yu, MENG Fan-ping, YAO Rui-hua, et al. Tolerance and accumulation of Pb, Cd, Cu, Zn by *Suaeda salsa* seedlings[J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 32(12):55-59.
- [13] 刘晓光, 缪锦来, 李光友, 等. 天津市清静黄河河口岸翅碱蓬的重金属富集特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2006, 12(1):25-29.
LIU Xiao-guang, MIAO Jin-lai, LI Guang-you, et al. Cumulative properties of heavy metals by *Suaeda heteroptera* on estuary banks of river Qingjinghuanghe in Tianjin[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006, 12(1):25-29.
- [14] 袁华茂, 李学刚, 李 宁, 等. 碱蓬(*Suaeda salsa*)对胶州湾滨海湿地重金属的富集与迁移作用[J]. *海洋与湖沼*, 2011, 42(5):676-683.

- YUAN Hua-mao, LI Xue-gang, LI Ning, et al. Accumulation and transportation of heavy metals by *Suaeda salsa* in the northeastern coastal wetland of the Jiaozhou bay[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, 42(5):676-683.
- [15] LI W, LIU X, AJMAL KHAN M, et al. The effect of plant growth regulators, nitric oxide, nitrate, nitrite and light on the germination of dimorphic seeds of *Suaeda salsa* under saline conditions[J]. *Journal of Plant Research*, 2005, 118(3):207-214.
- [16] Singh P K, Tewari R K. Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of *Brassica juncea* L. plants[J]. *Journal of Environmental Biology*, 2003, 24(1):107-112.
- [17] Kaspar T C, Ewing R P. ROOTEDGE:Software for measuring root length from desktop scanner images[J]. *Agronomy Journal*, 1997, 89(6):932-940.
- [18] Clemensson-Lindell A. Triphenyltetrazolium chloride as an indicator of fine-root vitality and environmental stress in coniferous forest stands: Applications and limitations[J]. *Plant and Soil*, 1994, 159(2):297-300.
- [19] 刘 垚, 张 薇, 刘鸣达. 镉-苯并(a)芘单一及复合污染对小麦种子萌发的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(2):265-269.
- LIU Yao, ZHANG Wei, LIU Ming-da. Effect of cadmium-benzo(a)pyrene single and combined pollution on wheat seed germination[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(2):265-269.
- [20] Rodr Guez-Serrano M, Romero-Puertas M C, Pazmi O D M, et al. Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: Cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(1):229-243.
- [21] Sharma S S, Dietz K J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance[J]. *Trends in Plant Science*, 2009, 14(1):43-50.
- [22] Yamaguchi H, Fukuoka H, Arao T, et al. Gene expression analysis in cadmium-stressed roots of a low cadmium-accumulating solanaceous plant, *Solanum torvum*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(2):423-437.
- [23] Woo S, Yum S, Park H S, et al. Effects of heavy metals on antioxidants and stress-responsive gene expression in Javanese medaka(*Oryzias javanicus*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, 149(3):289-299.
- [24] LIU W, ZHOU Q, LI P, et al. DNA mismatch repair related gene expression as potential biomarkers to assess cadmium exposure in *Arabidopsis* seedlings[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 167(1-3):1007-1013.
- [25] CHEN Z S, ZHANG H Y, GUO W, et al. Cadmium stress on wheat morphology: Germination and growth[J]. *Advanced Materials Research*, 2011, 356-360:1075-1078.
- [26] LIU Z, CHEN W, HE X. Cadmium-induced changes in growth and antioxidative mechanisms of a medicine plant (*Lonicera japonica* Thunb.)[J]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011, 5(8):1411-1417.