

不同浓度 Cd 对小白菜生长及抗氧化系统的影响

方学智, 朱祝军, 孙光闻

(浙江大学园艺系, 浙江 杭州 310029)

摘要: 采用温室水培试验方法, 研究了不同浓度 Cd 对小白菜生长、叶绿素含量和叶片中抗氧化系统的影响。结果表明, Cd 浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时促进小白菜生长; Cd 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 抑制小白菜生长; 与对照相比, 0.01 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量增加; Cd 浓度达到 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量显著下降 ($P < 0.05$)。超氧化物歧化酶(SOD)的活性随 Cd 处理浓度的增加而下降; 愈创木酚过氧化物酶(GPOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)在 Cd 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时活性最高; 过氧化氢酶(CAT)在 Cd 浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时活性达到最高; 脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)的活性和抗坏血酸(AsA)、还原型谷胱甘肽(GSH)的含量在 Cd 处理浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最高。

关键词: Cd; 小白菜; 生长; 叶绿素; 抗氧化系统

中图分类号: S131.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2004)05-0877-04

Effects of Different Concentrations of Cadmium on Growth and Antioxidant System in *Brassica Campestris ssp. chinensis*

FANG Xue-zhi, ZHU Zhu-jun, SUN Guang-wen

(Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Effects of different concentrations of cadmium (0.01 , 0.1 , 1 , $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) on growth, chlorophyll content and antioxidant system in *Brassica campestris ssp. chinensis* were studied. Cd below $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ enhanced the growth and chlorophyll content, whereas the growth was seriously inhibited by $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd. SOD activity increased with increasing Cd concentration in growth medium. The activities of GPOD and CAT increased in the treatment of 0.01 and $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, but dropped dramatically in the treatment of $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd. APX, DHAR and GR increased with Cd and AsA and GSH content increased at $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd. There existed dosage effect on growth of *Brassica campestris ssp. chinensis* under Cd stress, Cd increased the growth in low level and prohibited it in high level. *Brassica campestris ssp. chinensis* probably depended on SOD, GPOD, CAT to eliminate ROS (reactive oxygen species) under temperate Cd stress, but might depend on APX, GR, DHAR, AsA and GSH called Halliwell-Asada cycle in chloroplast to relieve damage of ROS under severer stress of Cd.

Keywords: cadmium; *brassica campestris ssp. chinensis*; chlorophyll; antioxidant system

Cd 是一种植物非必需的重金属元素, 较低浓度就能对植物产生毒害^[1]。由于工业采矿和污水、生活垃圾的排放, 土壤中 Cd 污染日趋严重^[2-6]。研究表明, 植物在 Cd 胁迫下产生超氧阴离子自由基、羟自由基等活性氧^[7,8], 能引起细胞脂质过氧化, 破坏光合系统和加速植物衰老^[9]。而植物体内存在酶促与非酶促两类活性氧清除系统^[10,11], 消除活性氧自由基, 降

低其对作物的伤害。试验以小白菜(*Brassica campestris ssp. chinensis*)为材料, 研究不同 Cd 浓度处理小白菜生长和叶绿素的影响, 并探讨了不同 Cd 浓度处理对小白菜两类不同的抗氧化系统在细胞内活性氧清除的影响。

1 材料与方法

试验于 2003 年 4—6 月于浙江大学华家池校区园艺系温室内进行。供试品种为杭州油冬儿。种子消毒后播于以蛭石为基质的育苗盘中, 苗长出 2 片真叶

后移到 10 L 水培箱中用营养液预培养。全营养液配方如下 (pH 6.0): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 3.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, KNO_3 4.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 1.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, MgSO_4 1.0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, MnCl_2 $3.6 \times 10^{-3} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, H_3BO_3 $4.5 \times 10^{-2} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, CuSO_4 $8 \times 10^{-4} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, ZnSO_4 $1.5 \times 10^{-3} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, H_2MoO_4 $9.1 \times 10^{-5} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, EDTA-Fe $9.0 \times 10^{-2} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。培养约 2 周, 等植物长至 4~5 片真叶后选取大小一致、健壮的小苗移至 4 L 的塑料桶中, 每桶 4 株。培养 1 周后用 Cd 进行处理, 处理浓度为 0.01, 0.1, 1 和 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 以不加 Cd 处理为对照, 重复 4 次, 处理内随机排列。9 天后取样。整个试验过程中营养液通气。

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定参照 Giannoplitis 和 Rise 的方法^[12], CAT 的测定按 Angela 的方法^[4], GPOD、APX、DHAR、GR 活性测定同朱祝军^[13]的测定方法。叶绿素、ASA、GSH 含量测定参照文献^[14]。Cd 元素含量用岛津 A-6300 (SHIMAZU) 原子吸收光谱仪测定。

表 1 不同浓度镉处理对小白菜生长的影响

Table 1 Effects of different concentrations of cadmium on plant growth of *Brassica campestris* ssp. *chinensis*

处理/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	地上部鲜重/ $\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$	地上部干重/ $\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$	根鲜重/ $\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$	根干重/ $\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$	地上部 Cd/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
0	38.56 ± 2.27 b	2.75 ± 0.21 a	1.91 ± 0.05 ab	0.28 ± 0.03 ab	0a
0.01	42.2 ± 1.65 a	2.84 ± 0.27 a	2.03 ± 0.13 a	0.29 ± 0.04 ab	0.23b
0.1	39.58 ± 1.62 ab	2.83 ± 0.14 a	1.95 ± 0.03 ab	0.25 ± 0.03 abc	0.43c
1	37.8 ± 2.51 b	2.84 ± 0.03 a	2.35 ± 0.51 a	0.3 ± 0.05 a	1.32d
10	15.89 ± 0.66 c	1.55 ± 0.04 b	1.34 ± 0.59 bc	0.23 ± 0.004 bc	11.54e

注:同一列不同字母表示 0.05 水平差异显著性。下同。

表 2 表明, 0.01 和 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量均比对照增加。当 Cd 处理浓度为 1 和 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量都显著下降 ($P < 0.05$)。

2.3 抗氧化系统

2.3.1 SOD、GPOD 和 CAT 活性

由图 1 可得知, Cd 处理小白菜后, SOD 活性随 Cd 处理浓度的增加而下降, 与对照相比, 0.1、1 和 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理使 SOD 活性显著降低 ($P < 0.05$)。处理后 GPOD 和 CAT 活性比对照增加, 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

2 试验结果

2.1 植株生长及地上部 Cd 含量

0.01 和 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理时小白菜无明显毒害症状, 其中 0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理植株的叶鲜重比对照增加了 9.4%, 达显著水平 ($P < 0.05$); 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理时叶片微黄; 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理小白菜 3 d 后, 老叶开始失绿, 萎缩, 并且伴有坏死斑出现, 新叶发黄, 根系生长缓慢, 地上部鲜重、干重, 根鲜重、干重与对照相比均显著降低 ($P < 0.05$)。由此可知, Cd 对小白菜作用存在剂量产量效应, 在低 Cd 水平 (0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 能促进小白菜生长, 在高 Cd 水平 (10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 可抑制小白菜生长。

由表 1 可知, 地上部 Cd 含量随着处理 Cd 浓度的上升而显著上升, 其中 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的 Cd 上升最为显著, 比 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的上升了 774%。

2.2 叶绿素含量

的处理时 GPOD, 活性增加最大, 比对照增加了 94.6%, 差异显著 ($P < 0.05$)。1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理时,

表 2 不同浓度 Cd 对小白菜叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of different concentrations of cadmium on the content of chlorophyll a and b in leaves of *Brassica campestris* ssp. *chinensis*

处理/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	叶绿素 a/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, FW	叶绿素 b/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, FW
0	2.05 ± 0.05 b	0.68 ± 0.02 a
0.01	2.52 ± 0.24 a	0.85 ± 0.09 a
0.1	2.55 ± 0.16 a	0.86 ± 0.06 b
1	1.69 ± 0.11 c	0.53 ± 0.03 c
10	1.30 ± 0.12 d	0.37 ± 0.04 d

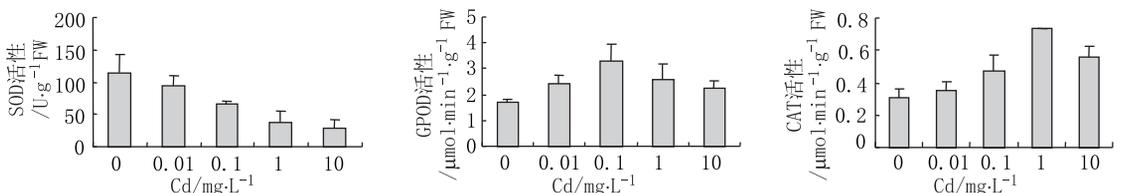


图 1 不同浓度 Cd 对 SOD、GPOD 和 CAT 活性的影响

Figure 1 Effects of different concentrations of cadmium on the activities of SOD, GPOD and CAT in the leaves of *Brassica campestris* ssp. *chinensis*

CAT 活性最高,与对照相比差异显著($P < 0.05$)。

2.3.2 APX、DHAR 和 GR 活性

由图 2 可知,APX 的活性在 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理时上升到最高,比对照增加 224%,达显著水平($P < 0.05$)。1 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理时 APX 活性显著增加($p < 0.05$),但比 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的低。 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理时 DHAR 活性比对照增加 179% ($P < 0.05$)。DHAR 和 GR 活性在 Cd 处理为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最高。

2.3.3 GSH 和 AsA 含量

由图 3 可知,Cd 处理后 AsA 与 GSH 含量随处理浓度的增加而增加。二者的含量均在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理时达到最大,其中 AsA 为对照的 177%,GSH 比对

照增加 176%,均达显著水平($P < 0.05$)。

3 讨论

Cd 是一种植物非必需的元素,在植物内累积到一定程度就可能产生毒害作用,使作物生长变缓,生物产量降低^[15,16]。Cd 对作物的影响存在剂量效应,低浓度的 Cd 处理能够促进作物生长^[17,19]。本试验结果表明,当 Cd 浓度小于 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对小白菜的生长有一定的促进作用, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理对小白菜生长影响不明显,当 Cd 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,能显著抑制小白菜的生长。虽然在镉浓度小于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对小白菜生长影响不明显,但用 0.1 与 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd

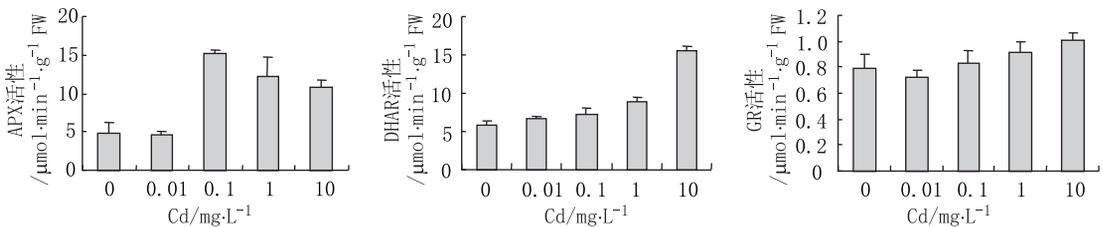


图 2 不同浓度 Cd 处理对 APX、DHAR 和 GR 活性的影响

Figure 2 Effects of different concentrations of cadmium on the activities of APX, DHAR and GR in the leaves of *Brassica campestris* ssp. *chinensis*

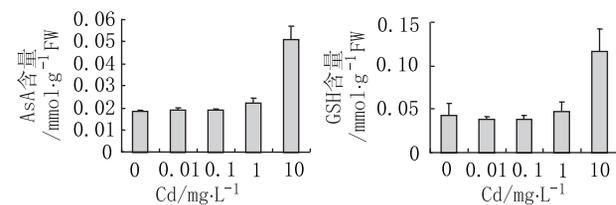


图 3 不同浓度 Cd 对叶片 AsA 和 GSH 含量的影响

Figure 3 Effects of different concentrations of cadmium on the contents of AsA and GSH in the leaves of *Brassica campestris* ssp. *chinensis*

处理时植株地上部 Cd 含量分别达到了 $0.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与 $1.32 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,足以对人体健康产生危害^[18]。 0.01 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理后叶绿素含量上升,这可能与低浓度 Cd 刺激细胞生长有关。Cd 浓度达到 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,叶绿素含量迅速下降,可能由于 Cd 抑制原叶绿素酸酯还原酶活性有关^[19]。

Cd 胁迫在植物细胞内产生一系列活性氧自由基,而植物为保护自身免于受到伤害,形成了内源的保护系统,包括抗氧化酶类与非酶抗氧化剂。抗氧化酶类主要包括 SOD、GPOD、CAT、APX、DHAR、GR 等。SOD 是重要的活性氧防御酶,它催化反应 $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$,从而在活性氧清除系统中起到核心作用,CAT 则催化 H_2O_2 分解成水和氧,GPOD 催化

H_2O_2 与酚类的反应,形成 H_2O 。

本试验中,Cd 处理小白菜后,SOD 活性下降。SOD 活性下降,可能是 Cd 胁迫下使 SOD 催化中心或酶结构受到了破坏,也有可能是 Cd 胁迫下一些二价的金属离子的吸收减少,不利于有效酶结构形成^[20],亦可能阻碍了 SOD 同工酶的形成,具体机理尚须进一步研究。在 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理时,SOD 活性显著下降,CAT、GPOD 活性显著上升。但随着 Cd 处理浓度的增加,二者活性下降,在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时降到最低,说明在低 Cd 浓度时 CAT、GPOD 对 Cd 的胁迫下产生的活性氧起到有效的清除作用,而高浓度 Cd 对 CAT、GPOD 的活性产生了抑制。

在叶绿体中,超氧化物歧化酶(SOD)可以将 O_2^- 歧化成 H_2O_2 和 O_2 ,由于叶绿体中缺少过氧化氢酶(CAT),因此在叶绿体中, H_2O_2 主要靠依赖于抗坏血酸的 APX 及相应的抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环系统完成(Halliwell-Asada 途径),植物在一定的低温、干旱、缺镁、重金属胁迫下,依赖于抗坏血酸的 H_2O_2 清除酶的活性增加。本试验中,在 Cd 处理达到 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 GR、DHAR 的活性和 AsA、GSH 的含量上升到最高,而 CAT、GPOD 活性受到了抑制。这说明在高 Cd 浓度处理下,Halliwell-Asada 途径可能成为小白菜细胞内主要的活性氧清除方式。

参考文献:

- [1] Wagner G J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health[J]. *Advanced in Agronomy*, 1993, 51: 173 – 212.
- [2] Ernst W H O, Nielsens H J M. Life – cycle phases of zinc and cadmium resistant ecotype of *Silene vulgaris* in risk assessment of polymetallic mine soils[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 107: 329 – 338.
- [3] Lombi E, Zhao F J. Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*[J]. *New Phytologist*, 2000, 145: 11 – 20.
- [4] Angela P Vitòria, Peter J Lea. Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues[J]. *Phytochemistry*, 2001, 57: 701 – 710.
- [5] 廖自基. 微量元素的环境化学及生物效应[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1993. 299 – 302.
- [6] 吴燕玉, 陈 涛, 等. 沈阳张士灌区 Cd 污染生态研究[J]. *生态学报*, 1989, 9(1): 21 – 26.
- [7] Yeon – ok Kim, Masakazu Hara, Toru Kubot. Response of an Active – Oxygen scavenging system to cadmium in cadmium – tolerant cell of carrot[J]. *Plant Biotechnology*, 2001, 18: 39 – 43.
- [8] Kavita Shah, Titambhara G, Kumar, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation activities or antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. *Plant Science*, 2001, 161: 1135 – 1141.
- [9] Pereira G H G, Molina S M G. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria*[J]. *Plant and Soil*, 2002, 239: 123 – 132.
- [10] 罗立新, 等. 镉胁迫对小麦叶片细胞膜脂过氧化物的影响[J]. *中国环境科学*, 1998, 18(1): 72 – 75.
- [11] Maria Adelaide Iannelli, abrizio Pietrini, Lucia Fiore. Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* plants[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2002, 40: 977 – 982.
- [12] Giannopolitis C N, Rice S K. Superoxide dismutase: Occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiol*, 1977, 59: 315 – 318.
- [13] 朱祝军, 喻景权. 氮素形态和光照对烟草对生长和 H_2O_2 清除酶的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 1998, 4(4): 379 – 385.
- [14] 王晓峰, 陈建勋. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002.
- [15] 张国平, 邬飞波. 不同镉水平下大麦幼苗生长和镉养分吸收的品种间差异[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(12): 1595 – 1599.
- [16] Moral R, Gomez I. Effect of cadmium on nutrient distribution, yield and growth of tomato grown in soilless culture[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1994, 17(6): 953 – 962.
- [17] Greger M, Lindberg S. Effect of Cd^{2+} and EDTA on young sugar beets (*beta vulgaris*) I. Cd^{2+} uptake and sugar accumulation[J]. *Physiol Plant*, 1986, 66: 69 – 74.
- [18] GB238 – 84, 食品中镉允许标准[S].
- [19] 李 元. 镉、铁及其复合污染对烟草叶片几项生理指标的影响[J]. *生态学报*, 1992, 12(2): 147 – 153.
- [20] Lagriffoul, Mocquot, Mench. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants[J]. *Plant Soil*, 1998, 200(2): 241 – 250.