

外源水杨酸对镉毒害下莴苣种子萌发的缓解效应

任艳芳, 何俊瑜, 黄天兴, 罗辛灵

(贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 重金属 Cd作为毒性较高的环境毒物, 不仅危害植物的生长和发育, 也对人类健康带来严重威胁。水杨酸 (Salicylic acid SA)作为一类新型植物生长调节物质, 在诱导植物抗性方面起重要调节作用。以莴苣笋王一号为试验材料, 研究了不同浓度 SA处理对 Cd胁迫下莴苣种子萌发的效应及其生理机制。结果表明, Cd胁迫条件下, 莴苣种子萌发受到影响, 表现为发芽势、发芽指数、活力指数和根长明显降低。Cd胁迫还可引起氧化胁迫产生, 并造成膜脂过氧化伤害。不同浓度 SA对 Cd胁迫下莴苣种子萌发和幼苗生长的缓解作用不同, 表现为低促高抑效应, 以 0.1 mmol/L的 SA效果最好。SA处理能缓解 Cd对种子萌发和幼苗生长的伤害与植株体内 CAT、APX、SOD和 GPX等抗氧化酶活性变化有关。

关键词: 镉; 水杨酸; 莴苣; 萌发; 抗氧化酶

中图分类号: S636.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2009)增刊-0121-05

Alleviating Effect of Salicylic Acid on the Cadmium Toxicity in Lettuce Seed Germination

REN Yan-fang HE Jun-yu HUANG Tian-xing LUO Xin ling

(College of Agronomy, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Cadmium (Cd) was a highly toxic and persistent environmental poison; its increasing level in soil environment exerted a wide range of adverse effects on plants and even the health of human beings by food chains. Salicylic acid (SA), considered as a hormone-like substance, played an important role in modulation of acclimation responses for plant. The possible effects of SA on lettuce seeds germination and seedlings growth under Cd stress were studied. The results showed that the quality of seed germination and seedling growth were significantly inhibited under Cd stress, especially for root length, vigor index, etc. Moreover, Cd stress could lead to oxide stress and high level of lipid peroxidation. Different concentrations of SA had different roles on seed germination and seedling growth under Cd stress and low concentrations of SA could enhance the germination and seedlings growth, however, high concentration had a inhibition effect. Our results showed the protection role of 0.1 mmol/L SA was best for seed germination and seedling growth, respectively. Alleviating the cadmium toxicity in seed germination and seedling growth by SA was due to modulating the activities of CAT, APX, SOD and GPX.

Key words: Cadmium; SA; Lettuce; Germination; Antioxidant enzyme

随着工农业生产的迅猛发展,“三废”和各种化学物质通过各种途径不断进入环境中,土壤重金属污染越来越严重。镉(Cd)因其在土壤中的高度移动性和对作物的高度毒性是重金属中比较严重的污染物之一^[1]。研究表明 Cd可破坏叶绿体结构,抑制根系活力,抑制气孔开放,还能使植物组织细胞产生活性氧,引起膜脂过氧化,改变活性氧代谢有关酶活性,束缚自由巯基使蛋白变性或失活等,影响植

物正常生理代谢,从而影响植株生长发育和农作物的产量和品质^[2-5]。据不完全统计,因重金属污染而引起的粮食减产每年达 1 000多万 t,被重金属污染的粮食达 1 200万 t,两者合计经济损失至少 200亿元。因此,寻求一种适宜的提高植物抗性,治理重金属污染的方法已经刻不容缓。近年来,水杨酸(SA)功能的研究已经成为生物学最重要、发展最迅速的研究领域之一。研究表明 SA作为信号分子,

收稿日期: 2009-09-27

基金项目: 贵州省自然科学基金(20072058、20072053); 贵州省农业攻关项目(NY20083021)

作者简介: 任艳芳(1976-)女,山西太原人,副教授,理学博士,主要从事植物生理和分子生物学方面的研究。

参与调节植物的许多生理过程,能提高植物对生物和非生物逆境的抗性,如诱导植物系统抗病性,提高植物的抗盐性、抗旱性、抗冷性、抗热性等^[6-9]。近年来,研究也发现 SA在诱导植物抗重金属胁迫方面具有重要作用^[9-11]。目前有关 SA诱导植物重金属抗性的研究大多集中在农作物上,而 SA对莴苣镉毒害的缓解效应尚未见报道。种子萌发和幼苗生长期是植物生命周期的重要阶段,也是对外界环境因子最敏感的时期之一。因此,种子萌发和苗期生长性状常用作评价重金属耐性的重要指标^[12]。本研究以莴苣为试材,探讨外施不同浓度 SA对其种子萌发抗镉性的影响和相关生理机理,为生产实践中利用化学诱抗剂缓解 Cd污染造成的植物伤害和农业生态环境保护提供一定的理论依据与实际意义。

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用的莴苣 (*Lactuca sativa* L. var. *Angusta* ta Irish)品种为笋王一号。

1.2 方法

精选健康饱满的莴苣种子,用 0.2% HCl消毒 2 min,经蒸馏水反复冲洗后,分别置于含有 0.01、0.05、0.10、0.25、0.50、1.00、2.00 mmol/L的 SA水溶液中浸种 12 h后(所对应的处理为 S₀、S₁、S₂、S₃、S₄、S₅、S₆),蒸馏水反复冲洗干净,滤纸擦干。每个培养皿中放置 100粒,以 50 μmol/L CdCl₂来产生胁迫,Cd处理溶液每 12 h更换一次。试验设 2个对照,一个是用蒸馏水处理(CK),一个是用 50 μmol/L的 Cd处理(Cd)。每个处理均设 3次重复,于 18℃的光照培养箱进行萌发培养。培养期间,每天观察和记录种子发芽情况,共培养 7 d。培养结束后测量根长、芽长,统计发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数。并取胚根用于生理指标的测定。

发芽率 (GR)= $\sum G_t/T \times 100\%$
发芽势 (GP)= $G_4/T \times 100\%$
发芽指数 (GI)= $\sum (G_t/D_t)$
活力指数 (VI)= $S \times GI$
式中 G_t为在 t日的发芽数(发芽率为 7日,发芽势为 4日);D为相应的发芽天数;T为种子总数;S为胚根长。

丙二醛 (MDA)含量和超氧化物歧化酶 (SOD)活性测定参考张志良^[13]的方法;愈创木酚过氧化物酶 (GPX)活性测定参考 Klapheck等^[14]的方法;抗坏血酸过氧化物酶 (APX)活性测定参考 Nakano和

Asada^[15]的方法;过氧化氢酶 (CAT)活性测定参考 Aebi^[16]的方法。

1.3 数据分析

所有的数据均为 3次试验的平均值,采用 SPSS19.0统计分析软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 SA对 Cd胁迫下莴苣种子萌发的影响

由图 1结果可知,50 μmol/L Cd胁迫对莴苣种子的萌发具有明显的影响,表现为发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数降至对照的 92.3%、85.9%、85.1%和 27.7%,其中对发芽率的抑制最小,而对活力指数的抑制最明显。不同浓度外源 SA预处理后,50 μmol/L Cd胁迫下莴苣种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数的变化趋势基本一致,即随着 SA浓度的提高呈现为先增加后降低的趋势,比较而言,0.10 mmol/L SA处理缓解 Cd对种子萌发抑制效果最明显,此时种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数提高最多,分别是单 Cd处理的 1.09、1.14、1.14和 2.74倍,但 2 mmol/L的 SA处理中,发芽势、发芽指数和活力指数分别是单镉处理的 90.6%、96.1%和 72.9%(表 1)。

表 1 SA对 Cd胁迫下莴苣种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数的影响
Tab. 1 Effects of different concentrations of SA on germination rate, germination potential, germination index and vigour index of lettuce seeds under Cd stress

处理 Treatment	发芽率 /% Germination rate	发芽势 Germination potential	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigour index
CK	98.3 ^a	90.0 ^a	45.5 ^a	223.9 ^a
Cd	90.7 ^{bc}	77.3 ^{cd}	38.7 ^c	62.1 ^e
S ₀ 01	93.2 ^{ab}	80.7 ^b	39.9 ^{bc}	78.8 ^{de}
S ₀ 05	97.3 ^a	86.2 ^a	42.6 ^a	120.4 ^c
S ₀ 1	98.7 ^a	88.3 ^a	44.3 ^a	169.9 ^b
S ₀ 25	96.7 ^a	85.7 ^a	43.1 ^a	144.3 ^c
S ₀ 5	95.2 ^a	83.3 ^a	41.4 ^b	91.9 ^d
S ₁	90.3 ^{bc}	78.3 ^{cd}	39.1 ^c	71.5 ^e
S ₂	88.0 ^c	70.0 ^d	37.2 ^d	45.3 ^f

注:表中同一列中数字后面所带不同小写字母者表示差异显著性达 0.05

2.2 SA对 Cd胁迫下萌发莴苣种子胚根和胚芽长度的影响

在 Cd胁迫下,萌发莴苣种子的根长受到明显抑制,根部颜色由正常白色变为黄褐色甚至黑色。图 1结果表明,0.01~1.00 mmol/L SA处理后可以不同程度的改善 Cd对根生长的抑制程度,其中以 0.10 mmol/L SA处理的效果最为显著,根长提高至蒸馏水对照的 73.8%,为单 Cd处理的 2.27倍。但

是高浓度 SA(2 mmol/L)处理下反而会使根的生长受到更严重的抑制。与根长相比, SA对 Cd胁迫下萌发莴苣种子芽长的影响较小, 缓解效果较好的 SA处理即 0.1 mmol/L SA也仅能使芽长比单 Cd处理提高 20.5%。

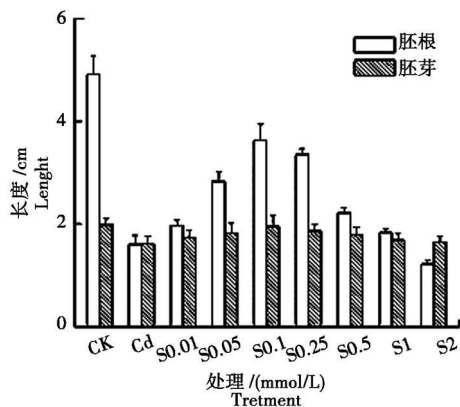


图 1 SA对 Cd胁迫下萌发莴苣胚根长和胚芽长的影响

Fig 1 Effects of SA on radicle length and plumule length of lettuce under Cd stress

2.3 SA对 Cd胁迫下萌发莴苣种子胚根 MDA含量的影响

Cd可以与植物细胞膜脂结合, 提高脂膜的透性, 增加脂膜的氧化程度。MDA是膜脂过氧化的产物, MDA含量的多少与膜脂过氧化程度有关。图 2 结果表明, 50 $\mu\text{mol/L}$ Cd胁迫后, 莴苣胚根中 MDA含量(以鲜质量计)明显提高, 为蒸馏水对照的 3.1倍。0.01~1.00 mmol/L SA处理可以不同程度的降低 MDA含量, 减弱膜脂的过氧化作用, 从而提高植物的抗 Cd伤害能力, 其中以 0.10 mmol/L SA处理效果最显著, MDA含量为单 Cd处理的 44.5%。当 SA处理浓度达到 2.00 mmol/L时不仅不能缓解 Cd的毒害程度, 反而会加重脂膜的氧化。

2.4 SA对 Cd胁迫下萌发莴苣种子胚根抗氧化酶的影响

许多研究表明, 逆境胁迫导致植物体内活性氧的产生和清除失衡, 造成植物体内自由基累积, 对植物产生伤害。SOD属高诱导性金属酶, 能催化 O_2^- 产生 H_2O_2 。GPX是植物体内 H_2O_2 等活性氧的清除酶, 与 SOD协同作用, 具有清除细胞内过多的活性氧和自由基、维持活性氧和自由基代谢平衡、保护植物免受伤害的作用^[3,4]。图 3结果表明, 在 Cd胁迫下, 莴苣胚根中 SOD(以鲜质量计)和 GPX(以鲜质量计)活性明显增加, 分别为水对照中的 1.52倍和 2.31倍。随着外源 SA处理浓度的增加, SOD和 GPX活性均表现为先降低后升高的变化趋势。当外源 SA处理浓度达到 0.10 mmol/L时, SOD和 GPX活性降低幅度最大, 此时 SOD仅为单 Cd处理

的 72.6%, GPX是单 Cd处理的 56.8%, 但仍高于对照。随着 SA浓度的进一步增加, SOD和 GPX活性逐渐增加, 当 SA浓度为 2.00 mmol/L时, SOD和 GPX活性比单 Cd处理增加了 15.6%和 17.7%。

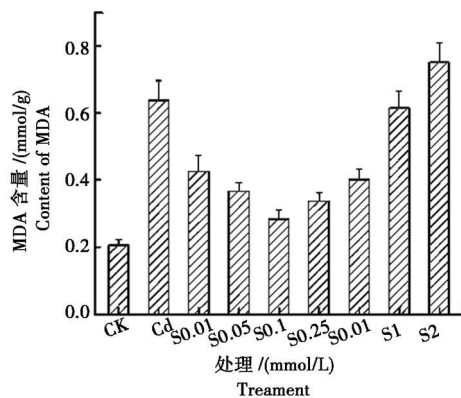


图 2 SA对 Cd胁迫下萌发莴苣胚根中 MDA含量的影响

Fig 2 Effects of SA on content of MDA in radicle of lettuce under Cd stress

CAT是含血色素酶, CAT主要存在于植物过氧化物酶体与乙醛酸循环体中, 是清除 H_2O_2 的主要酶类^[3,4,17]。图 3结果表明, Cd胁迫下, 莴苣胚根中 CAT活性(以鲜质量计)降至水对照的 43.1%。随着外源 SA处理浓度的增加, CAT活性先升后降。当 SA浓度为 0.10 mmol/L时, CAT活性升至最高, 为单 Cd处理的 1.88倍, 但仍低于水对照。当 SA浓度为 2.00 mmol/L时, CAT活性降至最低, 仅为单 Cd处理的 75.4%。APX是另一种广泛分布于植物细胞内的抗氧化酶, 通过 ASA的氧化反应参与 H_2O_2 解毒^[3,10]。图 3结果表明, 在 Cd胁迫下, 莴苣胚根中 APX活性明显降低, 仅为水对照的 29.1%。当以不同浓度外源 SA处理莴苣种子后, 在 Cd胁迫下, APX变化趋势与 CAT基本相同。即随着 SA浓度的增加, APX活性(以鲜质量计)先增加后降低。当 SA浓度为 0.10 mmol/L时, APX活性最高, 为单 Cd处理的 2.56倍, 但仍低于水对照。当 SA浓度为 2 mmol/L时, APX活性降至最低, 仅为单 Cd处理的 74.5%。

3 讨论

种子萌发和幼苗建成是植物生命周期中的关键时期, 种子发芽和幼苗质量好坏直接影响农作物生长和经济效益。Cd不是植物的必需营养元素, 不参与生物的结构和代谢活动, 过量的积累对植物具有明显的毒害作用^[2,4,19]。本研究表明, 50 $\mu\text{mol/L}$ Cd胁迫下显著降低莴苣种子的发芽势、发芽指数和活力指数, 特别是活力指数, 说明 Cd胁迫使莴苣种子

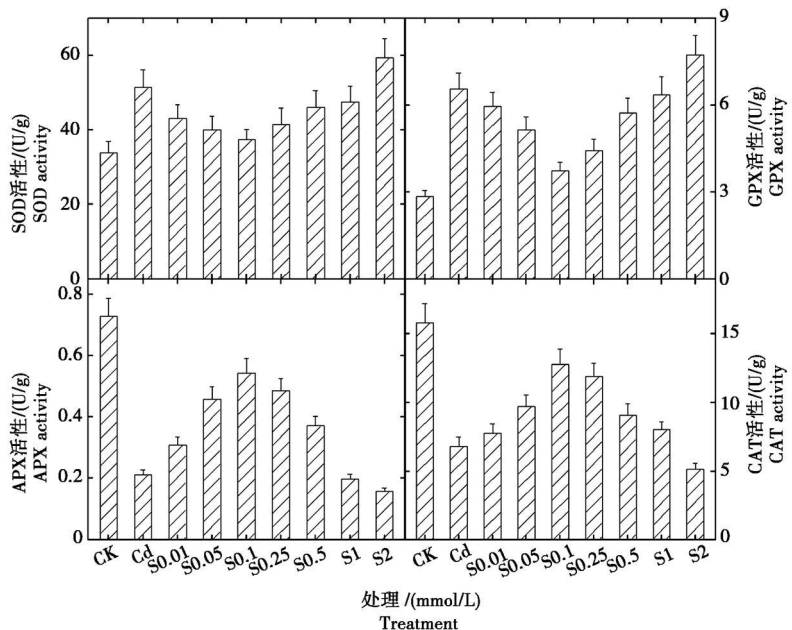


图 3 SA对 Cd胁迫下莴苣胚根中 SOD GPX APX和 CAT活性的影响

Fig 3 Effects of SA on activities of SOD GPX APX and CAT in radicle of lettuce under Cd stress

的萌发质量下降。根系往往是最直接、最严重的受害器官之一,已有研究表明,Cd可以显著抑制根系的伸长生长^[12 18 19]。本研究中 Cd胁迫对芽生长抑制不明显,对根则抑制显著。这与根直接接触重金属、根细胞壁中存在大量交换位点,将重金属离子固定在这些位点上,从而阻止重金属离子进一步向地上部分转移有关^[12 18 19]。SA是一种已被公认的新型植物生长调节物质,能够激活一系列植物抗性防卫反应。已有研究表明 SA对植物抗性的诱导具有浓度效应,表现为“低促高抑^[20 21]”。本研究表明,0.01~1.00 mmol/L SA可以不同程度的缓解 Cd对种子萌发的抑制作用,特别是 SA浓度为 0.10 mmol/L时,效果最显著。说明 SA可以诱导植物产生抗 Cd性。但是当 SA浓度达到 2.00 mmol/L时,不仅不会改善 Cd对莴苣种子萌发的抑制,反而会产生更为严重的毒害效果。这可能是高浓度 SA与 Cd共同作用产生了双重的毒害有关。

重金属能直接或者间接地通过形成活性氧使植物体内产生氧化胁迫,损害细胞的膜系统,而植物对抗重金属毒害的重要机制之一就是通过抗氧化酶系统(主要包括 SOD POD CAT和 APX等)清除其体内的活性氧^[3 4]。在本研究中,Cd胁迫显著降低了 CAT和 APX的活性,干扰了抗氧化系统的正常运转,从而在 H₂O₂不能及时清除,诱导了 MDA含量的迅速增加,这说明氧化胁迫产生,并造成了膜脂过氧化伤害;但 SOD和 GPX活性却增强,SOD和 GPX作为内源活性氧清除剂,在 Cd胁迫下其活性增加,有利于清除植物体内过量的活性氧,保护膜结

构,从而使植物体在一定程度上忍耐、减缓或抵抗 Cd毒害,这可能是莴苣抗 Cd毒害的一种保护措施和细胞免受毒害的一种调节反应,与在水稻等中研究结果一致^[4 17 18]。一定浓度的 SA处理种子后,能够在不同程度上缓解 Cd对莴苣萌发和幼苗生长的抑制作用,特别是 0.10 mmol/L SA溶液浸种后的萌发莴苣胚根中 APX和 CAT活性增加最多,而 SOD和 GPX活性比 Cd胁迫降低幅度最大。Metwally吴伦忠等^[10 22]也证明外施 SA可减轻膜脂过氧化,有助于缓解重金属毒害,增强植物的抗性反应。说明 SA可能通过调节 CAT APX SOD和 GPX活性,来重新建立活性氧的产生与清除之间的平衡,以便及时清除 Cd胁迫诱导产生的活性氧和次生产物 H₂O₂,减轻氧化胁迫程度,增强植株抗氧化能力。但是高浓度的 SA不能缓解 Cd的毒害作用,反而会进一步加重受害的程度。因此 SA对于重金属胁迫的缓解作用与其浓度有关,有关 SA诱导植物重金属抗性其他方面的机理还需进一步深入研究。

参考文献:

[1] 顾继光,林秋奇,胡 韧,等.土壤植物系统中重金属污染的治理途径及其研究展望[J].土壤通报,2005 36(1): 128—133
[2] Saniè di Toppo L, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants[J]. Environ Exp Bot 1999 41: 105—130
[3] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. J Exp Bot 2002 53(366): 1—11.
[4] 何俊瑜,任艳芳,朱 诚,等.镉胁迫对镉敏感水稻突

- 变体活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响 [J]. 生态环境, 2008 17(3): 1004—1008
- [5] 张 磊, 于燕玲, 张 磊, 等. 外源镉胁迫对玉米幼苗光合特性的影响 [J]. 华北农学报, 2008 23(1): 101—104
- [6] Shirasu K, Nakajima H, Rajeshkar K, et al. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signal in the activation of defense mechanisms [J]. Plant Cell, 1997, 9: 261—270
- [7] 冯 峰, 王育鹏, 张 震, 等. 水杨酸通过一氧化氮信号诱导抗氧化防护来提高小麦幼苗根部耐盐性 [J]. 中国农学通报, 2008 24(9): 248—252
- [8] 宋士清, 郭世荣, 尚庆茂, 等. 外源 SA 对盐胁迫下黄瓜幼苗的生理效应 [J]. 园艺学报, 2006 33(1): 68—72
- [9] 谢玉英. 水杨酸与植物抗逆性的关系 [J]. 生物学杂志, 2007 24(4): 11—15
- [10] Mewali V A, Finkemeier J, Georgi M, et al. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings [J]. Plant Physiology, 2003 123: 272—281
- [11] Drazic G, Mahajovic N. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid [J]. Plant Sci, 2005 168: 511—517
- [12] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 等. 土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应 [J]. 环境科学, 2002 23(1): 103—107
- [13] 张志良, 瞿 伟. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003
- [14] Knappeck S, Zimmer J, Cosse H. Scavenging Peroxide in the endosperm of Ricinus communis peroxidase [J]. Plant Cell Physiology, 1990 31: 1005—1013
- [15] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant Cell Physiology, 1981 22: 867—880
- [16] Aebi H. Catalase in vitro [J]. Method Enzymol, 1984 105: 121—126
- [17] 陈 朗, 宋玉芳, 张 薇, 等. 土壤镉污染毒性效应的多指标综合评价 [J]. 环境科学, 2008 29(9): 2606—2612
- [18] 任艳芳, 何俊瑜, 罗辛灵, 等. 镉胁迫对莴苣种子萌发及抗氧化酶系统的影响 [J]. 华北农学报, 2009 24(2): 144—148
- [19] 何俊瑜, 任艳芳, 朱 诚, 等. 镉胁迫对不同水稻品种种子萌发、幼苗生长和淀粉酶活性的影响 [J]. 中国水稻科学, 2008 22(4): 409—414
- [20] 王松华, 储卫红, 周正义, 等. 水杨酸对小麦镉毒害的缓解效应 [J]. 种子, 2005 24(10): 15—17
- [21] 吴安平, 张庭廷, 何 梅, 等. 水杨酸对水华鱼腥藻的化感抑制作用及相关毒理学的初步研究 [J]. 生物学杂志, 2008 25(5): 44—47
- [22] 吴伦忠, 韩瑞红, 莫亿伟, 等. 水杨酸提高水稻幼苗对镉胁迫的抗性 [J]. 华北农学报, 2008 23(增刊): 135—139