

铅和镉胁迫对黄瓜种子萌发期间的毒害效应

林梅, 王湘平

(福建农林大学 测试中心, 福建 福州 350002)

摘 要:以津研四号黄瓜为材料, 研究 0.5、1.5、2.5、4.0 mmol/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 0.5、1.0、1.5、2.0 mmol/L CdCl_2 处理对其种子萌发期间的毒害效应。结果表明: 与对照(去离子水处理)相比, 随着 Pb、Cd 浓度的增高, 黄瓜胚根及胚芽生长受到的抑制显著加大; 同一浓度的 Pb、Cd 处理, 胚根生长受到的抑制作用较胚芽更为明显; Pb、Cd 胁迫 7 d 后, 黄瓜幼苗平均长度、平均鲜重及子叶中叶绿素含量随 Pb、Cd 浓度的增大而明显降低; 透射电镜观察表明, Pb、Cd 处理 4 d 后, 幼苗根尖细胞超微结构变化异常明显, 主要表现为细胞间隙增大、核染色质外溢、线粒体数量和脊突明显减少直至消失, 细胞内部各细胞器膜系统结构严重破坏直至解体消失, 细胞壁部分断裂, 细胞结构解体, 由镉引起的毒害效应较铅更为严重。

关 键 词: 黄瓜种子; 铅; 镉; 毒害; 超微结构

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2012)01-0041-06

Poison effect of Pb and Cd stress on cucumber seeds during the course of germination

LIN Mei, WANG Xiang-ping

(Test Centre, Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: "Number four jinyan" seeds were chosen to study the poison effect of 0.5, 1.5, 2.5, 4.0 mmol/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mmol/L CdCl_2 on cucumber seeds during the course of germination. The results showed compared to the CK, the inhibition on growth of radicle and germ significantly increased with increasing concentration of Pb and Cd. The growth of the radicle was more significantly inhibited by Pb and Cd stress. After seven days of stress, the average length, fresh weight of seedling and the chlorophyll content of cotyledons obviously decreased with the increase of the concentration of Pb and Cd. The result observed through transmission electron microscope showed ultrastructural changes of root tip cells of seedling were unusually apparent after four days of stress, which were characterized by cell gap increasing, chromatin spilling, reducing and eventually disappearing of the mitochondria and crest. Inside the cells, the membrane structure of each organelle was severely damaged until disintegrated and disappeared. The cell wall was partly fractured and the cell structure was collapsed. The poisoning effect caused by Cd was more serious than that caused by Pb under the same experimental conditions.

Key words: cucumber seeds; Pb; Cd; poison; ultrastructure

Pb 和 Cd 均为植物非必需元素, 进入植物体内的 Pb 和 Cd 通常会通过影响植物光合作用、呼吸作用、核酸代谢等而引起不同程度的细胞内膜系统解体、种子萌发障碍、幼苗及植株的生长发育延缓乃至死亡^[1-6]。笔者用不同浓度的 Pb、Cd 溶液处理萌

发中的黄瓜种子, 观察种子胚根、胚芽的长势, 测定幼苗长度、鲜重及叶绿素含量等, 运用透射电镜观察幼苗根尖细胞超微结构的变化, 旨在明确 Pb、Cd 的毒害效应, 以为植物重金属污染诊断、毒害缓解、耐受力研究等提供参考。

收稿日期: 2011-09-06

基金项目: 福建农林大学青年教师基金项目(05A11)

作者简介: 林梅(1974—), 女, 福建福州人, 硕士, 实验师, 主要从事植物保护研究, linmeiplum@sina.com

1 材料与方法

1.1 材料

津研四号黄瓜种子(福州闽皇种业有限公司出品); $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 均为分析纯。

1.2 方法

挑选大小均匀、饱满的黄瓜种子,于室温下浸种 5 h 后,置于垫有 8 层纱布、直径为 9 cm 的培养皿中,每皿 30 粒。培养皿分别加入浓度为 0.5、1.5、2.5、4.0 mmol/L 的 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液和浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0 mmol/L 的 CdCl_2 溶液,每皿约 30 mL,每处理均设 3 个重复,去离子水作对照。将培养皿置于 24 °C、每天光照 12 h 的条件下培养。每隔 48 h 补充处理液 1 次至纱布饱和。

1.3 观测项目

黄瓜种子培养 24 h 后,每天观测记录胚根、胚芽生长状况。培养 4 d 后,取幼苗根尖组织,经过戊二醛、锇酸固定、乙醇脱水、环氧树脂包埋,超薄切片机切片并染色后,用 JEM1010 透射电镜观察根尖细胞超微结构并拍照。7 d 后测定幼苗的平均

长度及鲜重、叶绿素含量^[7]。

2 结果与分析

2.1 Pb 和 Cd 处理对黄瓜种子胚根及胚芽生长的影响

与对照相比,Pb、Cd 处理对黄瓜胚根生长均有明显的抑制作用,Pb、Cd 的浓度越大,对胚根生长的抑制作用越强。表 1 表明,用 2.5 mmol/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 处理 5 d 后,胚根完全停止生长,而用 4.0 mmol/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 处理 4 d 后,胚根就已经完全停止生长。Cd 对胚根生长的抑制作用较 Pb 更强,1.0、1.5、2.0 mmol/L CdCl_2 处理对胚根生长均有较强的抑制作用,处理 3 d 后胚根均完全停止生长。

与对照相比,Pb、Cd 处理对胚芽生长亦有明显的抑制作用,Pb、Cd 的浓度越大,对胚芽生长的抑制作用越强。Cd 对胚芽生长的抑制作用较 Pb 更强,1.0、1.5、2.0 mmol/L CdCl_2 处理对胚芽生长均有较强的抑制作用,处理 4 d 后胚芽几乎停止生长。

表 1 Pb 和 Cd 处理后的黄瓜种子胚根及胚芽长

Table 1 The growth condition of radicle and germ of cucumber seeds treated with Pb and Cd

处理液	浓度/ (mmol·L ⁻¹)	胚根长/cm							胚芽长/cm						
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	0.5	0.2	1.0	2.0	3.5	4.8	7.0	9.0	0	0	1.8	3.8	5.7	8.8	12.0
	1.5	0.2	0.7	1.5	2.4	2.6	3.0	3.2	0	0	1.4	2.8	4.5	7.0	8.0
	2.5	0.3	0.6	1.0	1.5	1.6	1.6	1.6	0	0	0.7	1.8	3.5	5.0	5.7
	4.0	0.1	0.4	0.5	0.7	0.7	0.7	0.7	0	0	0.5	0.8	2.0	3.2	3.5
CdCl_2	0.5	0.2	0.9	1.5	2.0	2.2	3.0	3.5	0	0	1.3	2.6	3.2	4.0	5.0
	1.0	0.2	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	0.6	1.0	1.3	2.0	2.5
	1.5	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0	0.6	0.8	1.0	1.4	1.5
	2.0	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0	0.4	0.7	0.9	1.0	1.0
CK		0.3	1.8	3.0	6.0	8.0	11.0	13.0	0	0	2.0	4.5	7.5	10.0	14.0

2.2 Pb 和 Cd 处理对黄瓜幼苗长及鲜重的影响

与对照相比,培养 7 d 后,所有 Pb 和 Cd 处理的黄瓜幼苗平均长度及鲜重差异极显著(表 2),差异显著性随 Pb、Cd 浓度的增高而明显加大,其中 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 浓度处理两两之间均存在极显著差异。

在幼苗长度上,0.5、1.0、1.5 mmol/L CdCl_2 处理两两之间存在极显著差异;在幼苗鲜重上,0.5 mmol/L CdCl_2 处理与 1.0、1.5、2.0 mmol/L CdCl_2 处理间均形成极其显著差异,但后 3 个处理两两间无显著差异。

表 2 Pb 和 Cd 处理 7 d 后的黄瓜幼苗长度及鲜重

Table 2 The average length and fresh weight of cucumber seedling after stressed by different Pb and Cd concentration seven days

处理液	浓度/(mmol·L ⁻¹)	幼苗长/cm	幼苗鲜重/g
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	0.5	22.53 bB	0.297 bB
	1.5	12.33 cC	0.262 cC
	2.5	7.90 eD	0.189 eD
	4.0	4.33 fE	0.124 fE
CdCl_2	0.5	8.60 dD	0.230 dC
	1.0	3.27 gF	0.108 fgE
	1.5	1.83 hG	0.103 fgE
	2.0	1.33 hG	0.087 gE
CK		29.63 aA	0.353 aA

值得注意的是, 1.0、1.5、2.0 mmol/L CdCl₂ 处理在幼苗长度上与所有浓度 Pb(NO₃)₂ 处理间均形成极显著差异; 在幼苗鲜重上则与 0.5、1.5、2.5 mmol/L Pb(NO₃)₂ 处理间存在极显著差异。说明 Pb 和 Cd 处理结果存在显著差异, 即 Cd 明显较 Pb 表现出更强的生长抑制作用。

2.3 Pb 和 Cd 处理对黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

与对照相比, 经不同浓度 Pb(NO₃)₂ 和 CdCl₂ 处理 7 d 后, 幼苗中叶绿素 a 含量均显著降低(表 3), 这与薛艳等^[3]、王林等^[4]的研究结果一致, 其中 2.5 mmol/L Pb(NO₃)₂ 和 0.5 mmol/L CdCl₂ 处理结果相

当, 未形成明显差异。各处理对叶绿素 b 含量的影响小于对叶绿素 a 含量的影响, 个别处理甚至未影响到其含量, 这与叶绿素 b 较叶绿素 a 不敏感, 尤其在处理浓度较低时, 不易受到破坏而解体有关。叶绿素总量为叶绿素 a 与叶绿素 b 含量之和^[7], 除 0.5 mmol/L Pb(NO₃)₂ 外, 其余各处理均与对照形成极显著差异, 但 2.5 mmol/L Pb(NO₃)₂ 和 0.5 mmol/L CdCl₂、1 mmol/L CdCl₂ 和 1.5 mmol/L CdCl₂ 处理间并无明显差异。表 3 还表明, 由 Cd 造成的叶绿素含量下降较 Pb 更为明显。

表 3 Pb 和 Cd 处理 7 d 后的黄瓜幼苗子叶中叶绿素含量

Table 3 The chlorophyll content of cotyledons of cucumber seedling after stressed by different Pb and concentration seven days

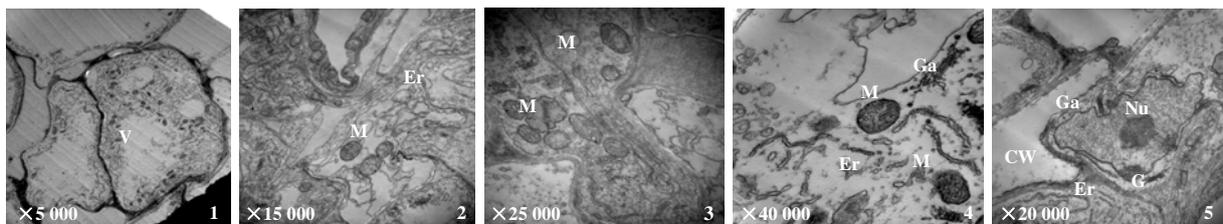
处理液	浓度/(mmol·L ⁻¹)	叶绿素 a 含量	叶绿素 b 含量	叶绿素总量
Pb(NO ₃) ₂	0.5	533.02 bB	144.33 bB	677.35 bAB
	1.5	502.31 cC	162.07 aA	664.38 bB
	2.5	470.01 dD	104.72 eD	574.73 cC
	4.0	344.24 eE	99.58 fDE	443.82 dD
CdCl ₂	0.5	451.54 dD	112.25 dC	563.79 cC
	1.0	302.69 fF	76.33 hF	379.02 eE
	1.5	268.20 gG	94.14 gE	362.34 eE
	2.0	118.64 hH	57.02 iG	175.66 fF
CK		566.39 aA	138.02 cB	704.41 aA

2.4 Pb 和 Cd 处理的黄瓜幼苗根尖细胞超微结构的变化

培养 7 d 后, 对照处理的黄瓜幼苗根部细长, 主根明显, 主根旁侧须根繁多、细长, 幼茎部长而挺拔, 子叶深绿, 颜色均匀。受损伤严重幼苗根部粗短, 须根短、稀少或无, 幼茎部短而弯曲, 子叶浅黄至黄, 其上不规则分布有浅绿色斑块。

图 1 所示为对照处理黄瓜根尖细胞正常超微结

构。正常根尖细胞排列紧密(图 1-1); 细胞质丰富, 线粒体、内质网数量多, 分布均匀而整齐(图 1-2、3); 线粒体双膜结构完整, 呈规则的卵圆形, 脊突明显, 单膜结构的高尔基体明显存在于细胞质中, 数量较多(图 1-4); 细胞壁结构坚实, 细胞核大, 双膜结构完整且核膜间隙均一, 核质分布均匀, 核内存在有 2~3 个核仁, 核仁着色深(图 1-5)。



CW 细胞壁; N 细胞核; Nu 核仁; M 线粒体; Er 内质网; Ga 高尔基体; V 液泡。

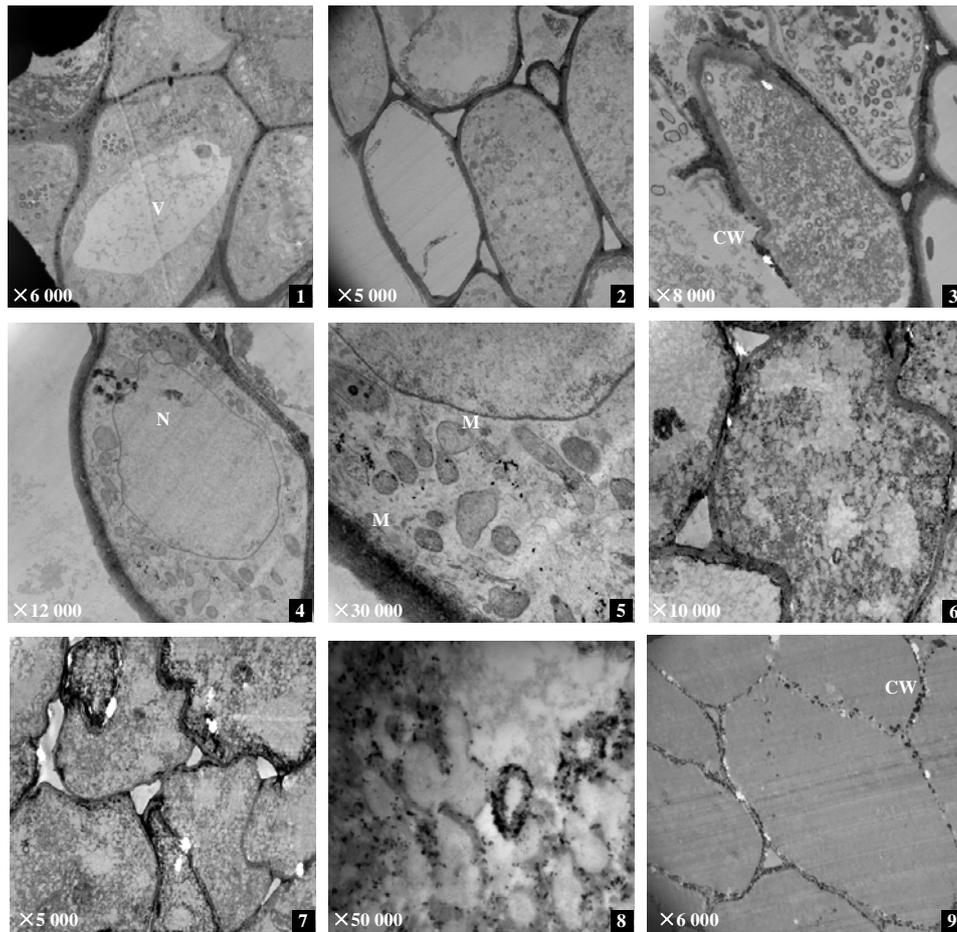
图 1 黄瓜幼苗正常根尖细胞结构

Fig. 1 The normal ultrastructure of root tip cells of cucumber seedling treated with CK

图2-1至图2-5为受1.5 mmol/L $Pb(NO_3)_2$ 胁迫4 d的根尖细胞超微结构。可见细胞内液泡膨胀,细胞间隙增大(图2-1、图2-2);细胞壁部分解体,细胞质呈一定程度凝结,出现一定程度的质壁分离(图2-3);核质稀疏,着色浅(图2-4);高尔基体等单膜结构细胞器基本解体消失,细胞质中残存少许内质网,线粒体变形呈多种形态,不规则且凌乱,

脊突不明显(图2-5)。

图2-6至图2-9为受4 mmol/L $Pb(NO_3)_2$ 胁迫4 d的根尖细胞超微结构。可见细胞严重扭曲变形,细胞间隙进一步扩大(图2-6、图2-7);细胞质内各细胞器膜结构完全破坏,细胞壁断裂严重,各细胞器乃至整个细胞结构完全解体(图2-8、图2-9)。



CW 细胞壁; N 细胞核; M 线粒体; V 液泡。

图2 受 $Pb(NO_3)_2$ 胁迫的黄瓜幼苗根尖细胞结构

Fig. 2 The ultrastructure of root tip cells of cucumber seedling treated with different Pb concentration

图3-1至图3-6为受0.5 mmol/L $CdCl_2$ 胁迫4 d的根尖细胞超微结构。可见细胞变形,液泡膨胀,细胞液泡化并出现一定程度的质壁分离(图3-1、图3-2、图3-3);核质稀疏不均匀(图3-4);线粒体拉长或膨胀,脊突减少且不明显,胞质中内质网数量减少,高尔基体膜结构破坏并消失(图3-5、图3-6),印证了关伟等^[5]的“与细胞中其他细胞器相比,高尔

基体是镉离子胁迫后最早消失的细胞器”的结论。

图3-7至图3-9为受2 mmol/L $CdCl_2$ 胁迫4 d的根尖细胞超微结构。可见细胞液泡化严重,各细胞器膜结构均解体消失,细胞严重扭曲变形,细胞间隙进一步扩大,核膜解体,核破裂,核质外溢,细胞核仅存残迹(图3-7、图3-8、图3-9)。

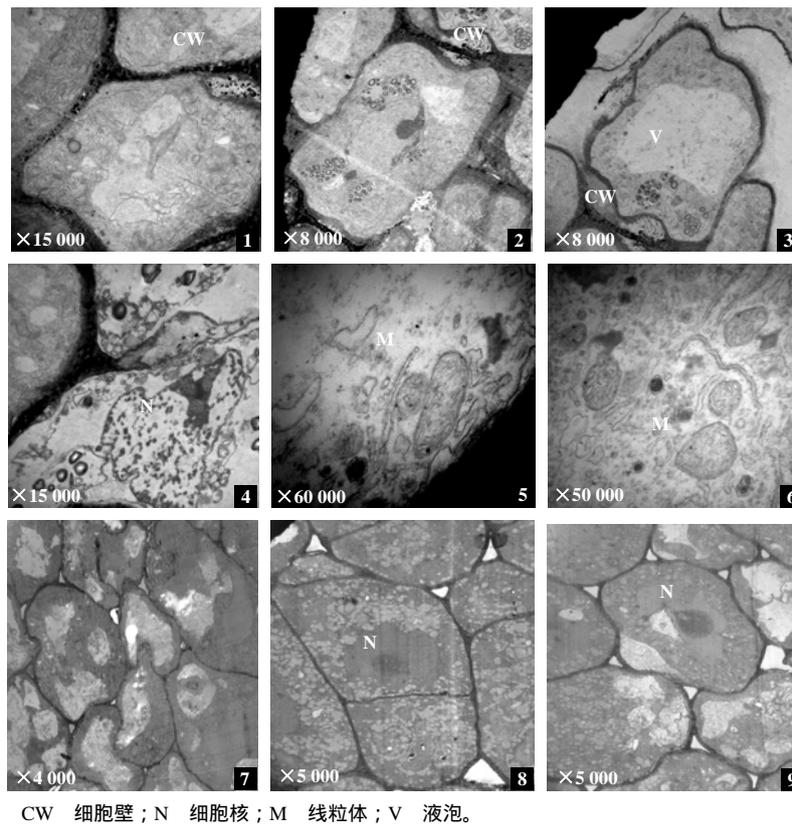
图 3 受 CdCl_2 胁迫的黄瓜幼苗根尖细胞结构

Fig. 3 The ultrastructure of root tip cells of cucumber seedling treated with different Cd concentration

3 讨论

Pb、Cd 对植物的毒害机理十分复杂。莫文红等^[8]、刘东华等^[9]认为,造成幼苗分裂旺盛的根系发育障碍的原因,可能与 Pb、Cd 能导致染色体断裂、畸变、黏连、液化以及可通过影响钙调蛋白(CaM)参与纺锤丝微管蛋白的组装拆卸,从而使细胞分裂周期延长,阻止细胞分裂有关。当 Pb、Cd 达到一定浓度时,可能严重损伤根尖核仁,抑制 RNA 的合成,从而导致根停止生长。针对幼苗中叶绿素含量的下降,薛艳等^[3]研究认为有可能是 Pb、Cd 通过破坏叶绿体生物膜结构及叶绿素合成过程中相应的酶的活性,从而影响植物光合作用的正常进行。而受害细胞超微结构异常的原因,结合曹莹等^[10]对玉米的研究,认为可能是当植物细胞受 Pb、Cd 胁迫时,其选择透过性机能受损,透性增大,使细胞内一些可溶性物质外渗,破坏了细胞内酶及代谢作用原有的区域性,直至细胞超微结构瓦解。

笔者研究发现,在同一浓度下,由 Cd 引起的毒害效应较 Pb 更为严重,其机制仍不十分明朗。这是否与植物受 Cd 胁迫时,对其吸收和转运能力较 Pb 差,或植物本身对 Pb 有较好的耐受力有关,需进一步通过分子生物学手段加以明确。

参考文献:

- [1] 任艳芳,何俊瑜,张冲,等. 铅胁迫对莴苣种子萌发和部分生理代谢的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(4): 740-744.
- [2] 邱清华,邓绍云,黄娟,等. 铅胁迫对十字花科种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(18): 175-179.
- [3] 薛艳,王超,王沛芳,等. 镉和铅对芦蒿和黄花水龙根系可溶性糖含量和叶片中叶绿素含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(25): 11933-11934, 11954.
- [4] 王林,史衍玺. 镉、铅及其复合污染对辣椒生理生化特性的影响[J]. 山东农业大学学报, 2005, 36(1): 107-112.
- [5] 关伟,张金珠,王占全,等. 镉胁迫对桃树根尖细胞超微结构的影响[J]. 北京农学院学报, 2010, 25(3): 18-20.
- [6] 苏金为,王湘平. 镉诱导的茶苗核酸代谢与细胞超微结构变化研究[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(2): 87-90.
- [7] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 67-70.
- [8] 莫文红,李懋学. 镉离子对蚕豆根尖细胞分裂的影响[J]. 植物学通报, 1992, 9(3): 30-34.
- [9] 刘东华,蒋悟生. 镉对洋葱根生长和细胞分裂的影响[J]. 环境科学学报, 1992, 12(4): 439-446.
- [10] 曹莹,黄瑞冬,曹志强. 铅胁迫对玉米生理生化特性的影响[J]. 玉米科学, 2005, 13(3): 61-64.

责任编辑: 罗慧敏