

彭昌琴,徐玲玲,陈兴银,等.丛枝菌根真菌对镉胁迫下凤仙花生理特征的影响[J].江苏农业科学,2019,47(14):186-188.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.14.043

丛枝菌根真菌对镉胁迫下凤仙花生理特征的影响

彭昌琴,徐玲玲,陈兴银,杨 鹏,韩淑梅,关 萍

(贵州大学生命科学学院,贵州贵阳 550025)

摘要:采用盆栽方法,用 50、100、150、200、250、300 mg/kg 这 5 种浓度的镉液处理凤仙花种子,研究丛枝菌根(AM)真菌对镉胁迫下凤仙花生理特征的影响。结果表明,AM 真菌能入侵凤仙花的根部,且接种 AM 真菌的凤仙花对不同浓度镉胁迫的生理响应程度不同,随镉胁迫浓度的增加,凤仙花超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性均呈先升后降再升的趋势,过氧化氢酶(CAT)活性呈先降后升的趋势,丙二醛(MDA)含量总体呈上升趋势;接种 AM 真菌时,凤仙花 SOD、POD、CAT 活性均在镉胁迫浓度为 300 mg/kg 时达到最大,分别为 98.84、100.87、31.33 U/(g·min),MDA 含量相对最高,为 16.84 $\mu\text{mol/g}$;在 200~300 mg/kg 较高浓度镉胁迫处理下,接种 AM 真菌处理的凤仙花抗氧化酶活性高于无 AM 菌处理的,MDA 含量低于无 AM 菌处理的。在镉胁迫下,凤仙花与 AM 真菌共同作用可提高其抗氧化酶活性、降低膜脂过氧化,促进凤仙花对重金属镉的吸收。

关键词:镉胁迫;丛枝菌根(AM);凤仙花;生理指标;抗氧化酶;MDA 含量

中图分类号: Q945.78;S681.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)14-0186-03

近年来,我国由于工矿业与农业等人为活动而导致的土壤环境污染背景值增高,使得耕地土壤环境污染问题突出^[1]。近期颁布的《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国南方土壤污染较北方严重,且土壤重金属污染中镉(Cd)污染程度位居首位,其污染超标率达 7%^[2],重金属镉污染已严重影响植物的正常生长和人类健康^[3-4]。土壤中的镉元素具有极强的生物迁移性,易被植物吸收和积累,还可随着生物链危及人类健康和生存,因此,有关土壤镉污染的毒害效应已经越来越引起人们的关注^[5],对被重金属镉污染的土壤治理问题急待解决。有研究表明,镉对植物的毒害主要体现在抑制植株生长、影响植物开花、降低植株对逆境的抗性^[6-8]。凤仙花(*Impatiens balsamina* L.)为凤仙花科凤仙花属 1 年生草本花卉,生存力和适应性很强。目前,凤仙花在重金属胁迫方面的研究多集中在 Pb、Cd、Zn 方面。有研究发现,凤仙花在高浓度 Pb、Zn 胁迫下生长受到一定影响,但能正常完成生活史,说明凤仙花对 Pb、Zn 具有较强的耐性^[9]。

丛枝菌根(arbuscular mycorrhizae, AM)真菌是一类可以和陆地上 80% 以上植物建立共生关系的微生物,可增强植物对土壤中养分尤其是难移动养分的吸收^[10-12]。Feng 等研究表明,接种 AM 真菌可促进玉米生长,增加玉米植株对磷的吸收,使根可溶性糖含量提高^[13];接种 AM 真菌的棉花其耐盐能力得到一定程度增强^[14]。目前,接种 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花生理抗性的研究鲜见报道。本试验以凤仙花为材料,探究接种 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花生理指标的影响,为重

金属污染的植物修复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

凤仙花种子,购买于山东临沂沃花木卉园;供试土壤,购买于江苏徐州江园园艺绿植之家;氯化镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$),分析纯,购买于贵阳市赛兰博生物试剂公司。AM 菌种为摩西球囊霉,由贵州大学生理实验室提供。

1.2 试验方法

试验在贵州大学生物技术实验室进行,试验时间为 3—6 月,采用盆栽方法。挑选大小一致的凤仙花种子,用 0.5% 高锰酸钾消毒 3~5 min,蒸馏水反复冲洗干净;取口径为 21 cm 的塑料盆,放置于托盘上以防止镉溶液渗出,盆内铺上 1 层滤纸,向每个盆中放入 500 g 等量基质,基质由经高温灭菌、尼龙筛过筛的营养土分别与灭菌(无 AM 真菌)、不灭菌的 AM 菌剂土按比例 10:1 混匀制成;将等量、浓度分别为 50、100、150、200、250、300 mg/kg 的 Cd^{2+} 溶液加入塑料盆中,以加入等量蒸馏水为空白对照;将凤仙花种子播种在土壤里,每盆 20 粒,重复 3 次;用少许土掩盖种子以促进发芽,每隔 1~2 d 浇 1 次等量的蒸馏水。

1.3 AM 侵染的检测

凤仙花培养 3 个月,用蒸馏水将凤仙花根部清洗干净,置于离心管中;向离心管中加入 10% NaOH 溶液,水浴锅中 90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 6~10 min;用蒸馏水清洗 5~6 次,再向离心管中加入 30% H_2O_2 溶液,水浴加热直至根部完全漂白;蒸馏水冲洗干净,用宝晶红染色 5 min,再清洗干净,并制成临时玻片,在 OLYMPUS 光学显微镜下观察并拍照,考察菌根侵染情况。

1.4 生理指标的测定

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性分别采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法、愈创木酚法、紫外吸收法测定^[15-17];丙二醛(MDA)含量采用硫代巴

收稿日期:2018-03-09

基金项目:贵州省社会发展攻关项目(编号:201303137)。

作者简介:彭昌琴(1992—),女,贵州毕节人,硕士研究生,从事植物学研究。E-mail:2802952356@qq.com。

通信作者:关 萍,博士,教授,从事植物学、分子生物学及植物生物技术研究。E-mail:guanp@163.com。

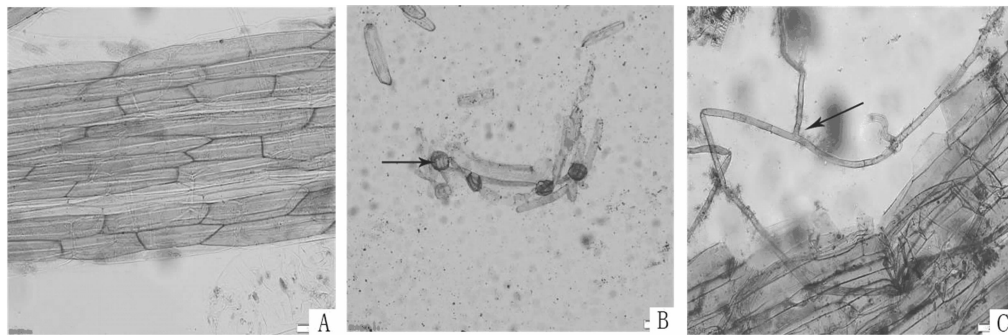
比妥酸法测定^[15]。

1.5 数据统计分析

采样 Excel 2010 软件对试验数据进行统计处理,采用 Adobe Photoshop 软件对图片进行裁剪。

2 结果与分析

2.1 AM 真菌在凤仙花根部的形态



A—无 AM 真菌处理的凤仙花根细胞(40×); B—接种 AM 真菌的凤仙花根部形成囊泡结构(40×);
C—接种 AM 真菌的凤仙花根部形成丛枝结构(80×)

图1 AM 真菌侵染凤仙花根部情况

2.2 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花抗氧化酶活性的影响

2.2.1 SOD 活性 SOD 是生物体中清除氧自由基的重要酶之一,可保护生物膜、防止生物膜脂过氧化,其活性大小与逆境生长下植物的抗逆性强弱密切相关^[18]。由图 2 可知,无 AM 真菌处理下,随镉溶液浓度的增加,凤仙花 SOD 活性呈先降后升的趋势,50 mg/kg 镉胁迫时凤仙花的 SOD 活性相对最小,为 30.22 U/(g·min),300 mg/kg 镉胁迫时达到最大,为 98.84 U/(g·min);接种 AM 真菌处理时,随使用镉浓度的增加,凤仙花 SOD 活性呈先升后降再升的趋势,镉浓度为 0 mg/kg (CK) 处理时相对最小,为 33.83 U/(g·min),300 mg/kg 镉胁迫时达到最大,为 113.50 U/(g·min);接种 AM 真菌处理的凤仙花 SOD 活性整体高于无菌处理的,说明接种 AM 真菌可提高凤仙花的 SOD 活性。

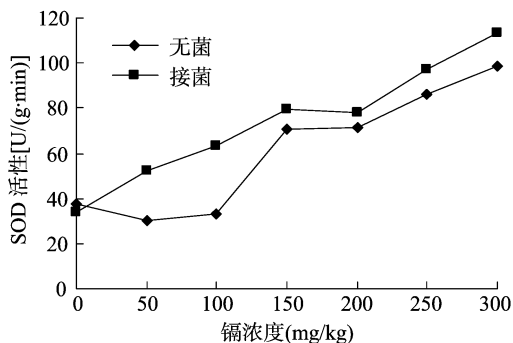


图2 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花 SOD 活性的影响

2.2.2 POD 活性 POD 的作用主要是将过氧化氢分解成 H₂O 等物质,以减轻过氧化氢对植物体的伤害,POD 活性应激性变化可反映逆境胁迫下植物受伤害的程度^[19]。由图 3 可知,无 AM 真菌处理下,0、50、100、150、200、250、300 mg/kg 镉胁迫处理的凤仙花的 POD 活性分别为 28.93、35.40、35.72、40.53、68.00、72.67、68.86 U/(g·min),呈先升后降的趋势,经镉胁迫处理的凤仙花的 POD 活性均高于对照;接

种 AM 真菌容易从比较幼嫩的根部侵入植物体内,尤其是根冠及根尖分生区,也有从根毛区侵入的。由图 1 可知,没有接种 AM 真菌的凤仙花根部细胞排列紧密,且细胞内没有囊泡、丛枝结构等存在(图 1-A);接种 AM 真菌初期,AM 真菌开始萌发,在凤仙花根部形成泡囊结构(图 1-B),后继续萌发成菌丝,形成丛枝结构(图 1-C),这也说明真菌已入侵到凤仙花根部内。

种 AM 真菌处理时,随使用镉浓度的增加,凤仙花 POD 活性呈先升后降再升的趋势,除 0、50 mg/kg 镉胁迫处理的凤仙花 POD 活性低于无菌处理的外,其他浓度镉胁迫处理的凤仙花的 POD 活性均高于无菌处理,说明接种 AM 真菌可提高凤仙花对镉的吸收;接种 AM 真菌处理下,镉浓度为 0 mg/kg 时凤仙花 POD 活性最小,为 21.2 U/(g·min),300 mg/kg 镉胁迫时凤仙花 POD 活性达到最大,为 100.87 U/(g·min)。

2.2.3 CAT 活性 CAT 主要存在于过氧化物酶体、线粒体和细胞质等处,是植物细胞内一个重要的抗氧化酶,主要功能是清除细胞内过量的过氧化氢,将其分解为 H₂O 等物质^[18]。由图 4 可知,无 AM 真菌处理下,随使用镉浓度的增加,凤仙花 CAT 活性整体呈上升趋势,50 mg/kg 镉胁迫时凤仙花 CAT 活性相对最小,为 10.97 U/(g·min),300 mg/kg 镉胁迫时达到最大,为 22.72 U/(g·min);接种 AM 真菌处理时,随使用镉浓度的增加,凤仙花 CAT 活性呈先降后升趋势,镉浓度为 0、50、150 mg/kg 时凤仙花 CAT 活性接低于无菌处理的,且相互间相差不大,说明 AM 真菌在低浓度镉胁迫时作用不明显,而在镉浓度为 200、250、300 mg/kg 时接菌处理的凤仙花的 CAT 活性明显高于无菌处理,说明 AM 真菌在高浓度镉胁迫作用下,可促进凤仙花对重金属镉的吸收。

2.3 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花 MDA 含量的影响

MDA 是植物膜脂过氧化的重要产物,是衡量细胞膜受损的重要指标^[20]。由图 5 可知,无论接种 AM 真菌与否,随使用镉浓度的增加,凤仙花 MDA 含量总体呈上升趋势,且接种 AM 真菌处理的均低于无菌处理,说明 AM 真菌在一定程度上可减轻镉对凤仙花的伤害;无菌处理下,凤仙花 MDA 含量在 0 mg/kg 镉胁迫时相对最小,为 6.89 μmol/g,在镉浓度为 300 mg/kg 时相对最大,为 16.84 μmol/g;接菌处理时,0、50、100、150、200、250、300 mg/kg 镉胁迫处理的凤仙花 MDA 含量分别为 5.36、5.33、5.56、7.52、8.68、9.01、10.03 μmol/g,镉浓度为 0~100 mg/kg 时凤仙花 MDA 含量相差不大。

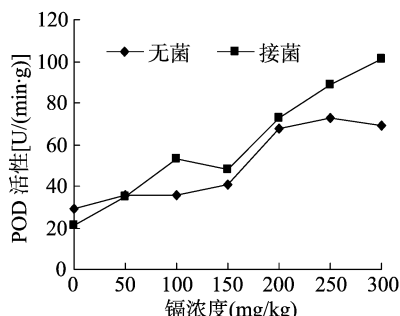


图3 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花 POD 活性的影响

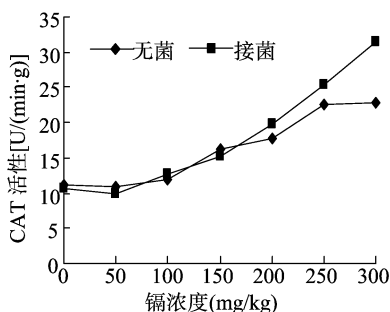


图4 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花 CAT 活性的影响

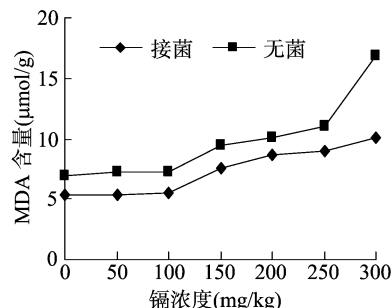


图5 AM 真菌对镉胁迫下凤仙花 MDA 含量的影响

3 结论与讨论

重金属对植物来说是一种逆境胁迫,在逆境中,植物会启动一系列防御机制来抵抗或者减轻逆境对自身的伤害。植物在良好的生长环境中,体内产生的自由基含量很少,可通过植物自身的抗氧化系统及时清除以维持自由基的相对平衡^[21];植物在恶劣的环境中会产生大量自由基,此时自身的保护系统无法及时清除,多余的活性氧自由基就会对植物造成毒害作用,阻碍植物生长和代谢。研究发现,丛枝菌根(AM)真菌通过提高宿主植物抗氧化酶活性来清除重金属毒害产生的自由基,减少膜脂过氧化,调节细胞正常的渗透压,进而提高宿主植物的耐受性^[22]。本研究中,接种 AM 真菌条件下,凤仙花超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性均随使用镉浓度的增加而多有明显上升,抗氧化酶系统的活性相比无菌处理呈现不同程度的增加趋势,镉胁迫浓度为 300 mg/kg 时达到最大,分别为 98.84、100.87、31.33 U/(g·min),说明在重金属胁迫下,AM 真菌能提高抗氧化酶的活性以增强对活性氧的清除能力,从而达到减轻植物受伤害的目的^[23];接种 AM 真菌的凤仙花,其 MDA 含量随使用镉浓度的增加而增大,但与无菌处理相比,凤仙花 MDA 含量明显低于未接菌处理的,说明 AM 真菌可降低膜脂过氧化作用,减少重金属由根部向地上部的积累,也有可能 AM 真菌和重金属形成络合物,不利于重金属穿过细胞膜,从而减轻了对细胞膜的伤害^[24]。

参考文献:

- [1] 孙亚莉,刘红梅,徐庆国. 镉胁迫对不同水稻品种苗期光合特性与生理生化特性的影响[J]. 华北农学报,2017,32(4):176-181.
- [2] 环境保护部,国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[R/OL]. [2018-02-01]. http://www.gov.cn/foot/2014-04/17/content_2661768.htm.
- [3] 薛永,王苑妮,姚泉洪,等. 植物对土壤重金属抗性的研究进展[J]. 生态环境学报,2014,23(3):528-534.
- [4] Singh A, Prasad S M. Remediation of heavy metal contaminated ecosystem: an overview on technology advancement[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2015, 12(1): 353-366.
- [5] 廖芳芳,付文婷,韩世玉,等. 镉胁迫对不同品种辣椒种子萌发的影响[J]. 辣椒杂志,2016,14(2):27-30.
- [6] 陈昌徐,陆志强,郑文教. 白骨壤幼苗对镉胁迫的生长及生理生态响应[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2015,54(4):485-492.
- [7] 张文娥,潘学军,李慧. 镉胁迫大花美人蕉的生长及光合特性[J]. 贵州农业科学,2015,43(3):31-36.
- [8] 王静,张侠,陈世华,等. 芦苇幼苗对 NaCl 胁迫和镉胁迫的生理响应[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):327-330.
- [9] 姜成,申晓慧,李春丰,等. 凤仙花幼苗对重金属铅和锌的抗性研究[J]. 北方园艺,2012(20):53-55.
- [10] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. 2nd ed. London: Academic Press, 2010.
- [11] Chandrasekaran M, Boughattas S, Hu S, et al. A meta-analysis of Arbuscular mycorrhizal effects on plants grown under salt stress[J]. Mycorrhiza, 2014, 24(8):611-625.
- [12] George E, Marschner H, Jakobsen I. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 1995, 15(3/4):257-270.
- [13] Feng G, Zhang F S, Li X L, et al. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots[J]. Mycorrhiza, 2002, 12(4):185-190.
- [14] 冯固,张福锁. 丛枝菌根真菌对棉花耐盐性的影响研究[J]. 中国生态农业学报,2003,11(2):27-30.
- [15] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,2006.
- [16] 张志良,瞿伟菁,李小方. 植物生理学实验指导[M]. 4版. 北京:高等教育出版社,2009:181-182.
- [17] 王娅玲,李维峰,杜华波,等. 铅胁迫对咖啡幼苗叶绿素含量及抗氧化酶活性的影响[J]. 贵州农业科学,2014,42(2):56-58.
- [18] 韦朝阳,陈同斌. 重金属污染植物修复技术的研究与应用现状[J]. 地球科学进展,2002,17(6):833-839.
- [19] 任安芝,高玉葆,刘爽. 青菜幼苗体内几种保护酶的活性对 Pb、Cd、Cr 胁迫的反应研究[J]. 应用生态学报,2002,13(4):510-512.
- [20] 陆海燕,刘志辉,吕光辉. 镉污染下芦苇叶片丙二醛、脯氨酸及 SOD 保护酶反应研究[J]. 干旱区资源与环境,2013,27(8):171-175.
- [21] 李翠,李恩永. 逆境胁迫对植物氧化还原系统的影响及其生理意义[J]. 德宏师范高等专科学校学报,2011(1):113-115.
- [22] 江玲,杨芸,徐卫红,等. 黑麦草-丛枝菌根对不同番茄品种抗氧化酶活性、镉积累及化学形态的影响[J]. 环境科学,2014,35(6):2349-2357.
- [23] 林双双,孙向伟,王晓娟,等. AM 真菌提高宿主植物耐受重金属胁迫的生理机制[J]. 草业科学,2013,30(3):365-374.
- [24] 杨慧,肖家欣,杨安娜,等. 五种丛枝菌根真菌对枳实生苗耐锌污染的影响[J]. 生态学杂志,2011,30(1):93-97.