

外源添加物对白芍根中 Cd 积累量的影响

王 博

(浙江中医药大学公共科研平台, 浙江 杭州 310053)

摘要: 通过人工模拟 Cd 污染土壤, 探究在不同 Cd 浓度和处理时间下白芍根部 Cd 积累的特性, 以及通过添加水杨酸、脱落酸、锌和硅等外源添加物, 对白芍根部 Cd 含量的影响。结果表明, 随着土壤中 Cd 浓度的上升, 根部 Cd 积累量显著上升。水杨酸和脱落酸处理不会降低根部 Cd 含量, 高浓度的锌和硅降低了植株根部 Cd 含量。

关键词: 白芍; 镉; 水杨酸; 脱落酸; 外源添加物

中图分类号: S567.9

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2017)06-0015-05

[doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.06.006](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2017.06.006)

Effects of Exogenous Additives on the Accumulation of Cd in the Roots of *Paeonia lactiflora*

WANG Bo

(Public Scientific Research Platform, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou Zhejiang 310053, China)

Abstract: The Cd accumulation in roots of *Paeonia lactiflora* Pall are studied by simulation of Cd polluted soil in different concentrations and treatment time. It is researched that the exogenous substances, including salicylic acid, abscisic acid, zinc and silicon, influenced on Cd accumulation in roots of *Paeonia lactiflora* Pall. The result shows that the Cd content at roots have a significant improvement with the increasing of Cd content in soil. Among 4 Exogenous additives, the SA and the ABA can not cause the reduce of Cd in roots, the high concentration of the zinc and silicon can reduce the Cd concentration in roots.

Key words: *P. lactiflora* Pall; Cadmium; Salicylic acid; Abscisic acid; Exogenous additives

白芍为毛茛科植物, 其入药部位根具有敛阴养血, 收汗缓中、柔肝止痛、平抑肝阳之功效。近年来随着诸如白芍总苷胶囊等一系列中成药的开发和问世, 应用范围愈加广泛。但中药安全性也不容忽视, 尤其重金属污染是目前研究的重点, 《中国药典》专门对白芍中重金属 Cd 限量标准做了

严格规定^[1]。Cd 是环境中广泛存在且具有潜在毒害作用的重金属污染物之一, 易于被植物吸收积累^[2-3]。若以 Cd 污染的白芍入药, 会在人体内积累并对人体健康造成严重威胁, 例如导致钙代谢失调、肾功能损伤等。有研究表明, 一些外源物质能够有效改善重金属胁迫下植物的生长发育状

收稿日期: 2017-02-27

基金项目: 浙江中医药大学校级科研项目(2015ZY33)。

作者简介: 王 博 (1989—), 男, 甘肃酒泉人, 硕士, 助理实验师, 主要从事生物化学与分子生物学。E-mail: 824419396@qq.com。

3 结论

含葡萄糖培养基在高温灭菌后, 葡萄糖部分异构化成果糖, 部分聚合成聚合糖。pH 主要影响葡萄糖的异构化, 糖浓度主要影响葡萄糖的聚合。糖分的变化会影响丙氨酸菌体对糖的利用速度, 从而影响发酵速率; 而 pH 在 5.5 或以下时可有效防止葡萄糖的异构化。综上, 含葡萄糖培养基灭菌时, 最好将 pH 调至 5.5 或以下, 以减少不利于

菌体利用的糖的产生。

参考文献:

- [1] 阚振荣, 王彦芳. 蔗糖抗菌作用的研究[J]. 食品与发酵工业, 1998, 23(5): 43-46.
- [2] 仪 宏, 王丽丽, 冯慧勇, 等. 含葡萄糖培养基高温灭菌变色及其防范措施的研究[J]. 酿酒, 2003, 30(2): 42-43.

(本文责编: 郑丹丹)

况, 并可能降低植物内重金属含量^[4-5]。但这些研究主要集中在水稻、小麦等农作物以及拟南芥等模式植物, 采用中草药为材料来探究如何降低 Cd 积累方面的研究未见报道。笔者以白芍为研究对象, 在模拟 Cd 超标土壤中探究白芍的 Cd 吸收特性, 然后分别添加外源水杨酸、脱落酸、 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 和 Na_2SiO_3 , 经不同时间处理后, 通过原子吸收光谱测定白芍根部 Cd 积累量, 探索外源物质对白芍中 Cd 积累量的影响, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试设备与材料

主要仪器为微波消解仪 (CEM-MARS)、原子吸收光谱仪 (AA-7000)、分析天平。主要试剂为水杨酸、脱落酸、 Na_2SiO_3 、 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $CdCl_2$ 。实验材料为白芍苗 (购买于众协药材种苗种植基地)。

1.2 实验方法

1.2.1 白芍植株培育 将购买的白芍幼苗移栽在盛放营养土的花盆中, 每隔 5 d 浇水 1 次, 在温室中培养 120 d 后选取长势良好且大小均一的植株用于实验。

1.2.2 样品处理 土壤自然风干后磨碎, 过 2 mm 筛, 将过筛土壤放入干净的花盆中, 每盆装 7 kg。准确称量 $CdCl_2$ 固体, 配制成 Cd 浓度分别为 25、50 mg/kg 的土壤基质。加入 Cd 后进行 30 d 的土壤老化, 使土壤中各种形态的 Cd 浓度达到稳定。在土壤老化过程中, 向土壤浇灌超纯水至土壤含水量为 60%, 当土壤风干至干透后, 重复以上过程 4 次。

选取白芍植株分别移栽在未经 Cd 处理的对照组土壤中及 Cd 浓度为 25、50 mg/kg 的土壤中, 每组处理 3 次重复, 每 5 d 浇水 1 次。在处理 15、30 d 时, 分别采集白芍植株根部测定 Cd^{2+} 含量。

1.2.3 样品 Cd 含量测定 剪取白芍根部样品烘至恒重, 打成细粉过 40 目筛。准确称取不同处理的粉末样品 2 g 置于四氟乙烯消解罐中, 加硝酸 10 mL 和双氧水 2 mL 浸泡过夜, 次日转移于微波消解仪内进行消解, 消解完成后继续缓慢加热浓缩至 3 mL 左右, 冷却后加入超纯水定容至 25 mL。将获得的澄清样品存储于 4 °C 冰箱, 利用石墨炉—原子吸收分光光度计测定 Cd 含量。特征波长为 228.8 nm^[6-7], 其中原子吸收法仪器参数为波长 228.8 nm、狭缝 0.7 nm、灯电流 10 mA、干燥温度 110 °C/30 s、灰化温度 950 °C/20 s、原子化温度

1 600 °C/5 s。

1.2.4 外源物质处理对 Cd 积累的影响研究 选取白芍植株种植在含 Cd 浓度为 25 mg/kg 的土壤中, 同时在土壤中分别添加不同浓度的外源物质, 15 d 后测定根部重金属 Cd 含量。不同外源物质处理方法详见表 1^[8-9]。

表 1 不同外源添加物处理浓度

处理	添加浓度/(mg/kg)		
	I	II	III
水杨酸(SA)	10	50	100
脱落酸(ABA)	50	100	150
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (Zn)	50	100	200
Na_2SiO_3 (Si)	500	1 000	2 000

1.2.5 数据处理 利用 SPSS 软件中 ANOVA 方差分析评价不同处理间差异的显著性, 采用 excel 作图。

2 结果与分析

2.1 Cd 胁迫下白芍根部 Cd 的积累

配制 10 ug/L 的 Cd 标准溶液, 按照不同浓度进行稀释, 以进样浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线, 获得线性方程为 $A=0.006 1C+0.000 5$, 相关系数 r 为 0.999 3。测定处理组和实验组白芍中 Cd 积累量, 结果表明(表 2), 植株在正常土壤中培养 15、30 d 后, 其根部 Cd 含量分别为 0.09 ± 0.03 、 0.07 ± 0.01 mg/kg, 符合中国药典中规定的 Cd 限量标准($Cd \leq 0.3$ mg/kg)。随着 Cd 处理浓度的增加, 植株根部 Cd 积累量显著增加($p < 0.05$), 但处理时间对镉积累的影响并不显著(图 1)。

表 2 不同处理下植株根部镉含量

处理浓度/(mg/kg)	Cd 积累量/(mg/kg)	
	15/d	30/d
0	0.09 ± 0.03	0.07 ± 0.01
25	7.42 ± 0.99	6.72 ± 0.69
50	11.11 ± 0.80	13.13 ± 0.39

2.2 不同外源物质处理下根的 Cd 含量

选取 Cd 浓度为 25 mg/kg 和 15 d 的处理条件, 在处理之初同时分别添加不同浓度的水杨酸(SA)、脱落酸(ABA)、 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 和 Na_2SiO_3 。通过图 2 可以看出, 水杨酸和低浓度的脱落酸处理对根部 Cd 的积累几乎没有影响, 而 100 mg/kg 的脱落酸反而增加了 Cd 含量($p < 0.05$); 200 mg/kg 的 Zn 和

2 000 mg/kg 的 Si 处理下根部 Cd 含量较对照组显著下降($p < 0.05$)。

3 小结与讨论

对白芍 Cd 吸附特性的初步探究发现, 当土壤中加入 Cd 后, Cd 会被植株吸收富集, 并且根部的 Cd 积累量随着浓度增加而增加, 但并没有随着处理时间的增加有明显上升的趋势。不同浓度的外源水杨酸(SA)对白芍根部 Cd 积累量无显著影响; 脱落酸(ABA)没有降低植株根部的 Cd 积累量, 甚至在 100 mg/kg 的处理下, 根部 Cd 含量反而上升。这可能是由于它改变了 Cd 在植株不同部位的分布情况, 减少了 Cd 向地上部分的转运, 最终导致根部 Cd 含量反而升高。外源添加 Zn 可以降低白芍根部 Cd 含量, 即 Zn 对 Cd 的吸收表现出拮抗作用, 高浓度的 Si 降低了植株根部 Cd 含量。

目前中草药重金属污染现象日趋严重, Cd 作为生物毒性极强的重金属元素, 通过食物链会在人体内富集并带来严重危害^[10]。土壤是中草药重金属污染的主要来源之一, 因此通过模拟土壤重金属 Cd 超标探索白芍的 Cd 吸附特性, 并通过添加外源物质探究是否会降低 Cd 积累量, 可为今后降低白芍 Cd 积累提供一定的理论基础。由于白芍

以根作为入药部位, 因此本研究仅对根部重金属积累量做了探究。重金属积累和转运规律与温度、土壤 pH 等环境因子均有关, 为了更好的模拟室外种植环境, 本研究除定期补充水分外其余培养条件均不作任何人工干预。

已有研究表明, Cd 会阻碍植物生长, 引起氧化胁迫^[11], 对植物体内酶活性^[12]、气孔开闭和营养吸收^[13]、光合作用效率^[14]和基因组稳定性^[15]均有影响。根系可通过被动吸收中的阳离子交换完成对 Cd 的吸收, Cd 在根表面吸附时间越长结合成不可逆大分子的比例就越高, 吸收量也就越大。但之前研究 Cd 积累量和时间的关系时, 分别是以 1 h 和 24 h 作为短时间和长时间去衡量的。本研究中, Cd 处理时间较长, 可能达到了植物生长可耐受范围内的饱和量。为了更好的适应环境, 降低 Cd 含量, 通过调节体内某些生理生化反应来加强自身的 Cd 胁迫作用。

水杨酸作为植物生理和代谢过程中的重要调节因子, 能在调节植物 Cd 胁迫方面发挥重要作用^[16-17]。有报道表明, SA 介导植物对 Cd 的吸收有不确定性, SA 可能通过与 Cd 结合形成复合物, 使 Cd 钝化或刺激植物整合肽与 Cd 结合来缓解 Cd

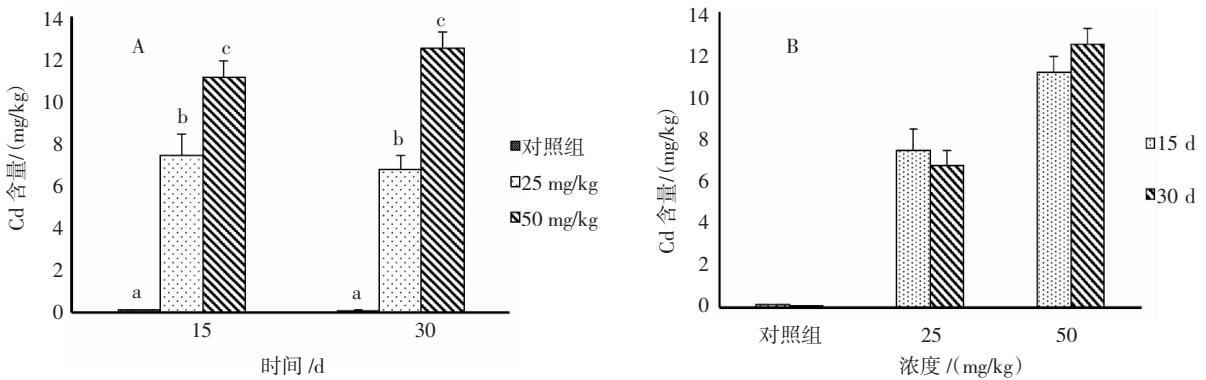


图 1 不同浓度及时间处理下白芍根部 Cd 含量

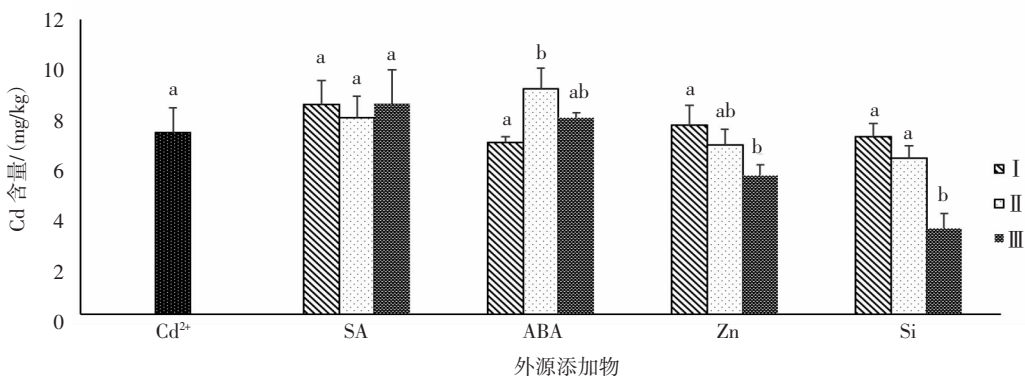


图 2 不同浓度外源物质对植株根部 Cd 积累量的影响

对植物的毒害^[18]。此外 SA 可能会促进 Cd 在细胞壁中的积累而减少它在细胞质中的积累,从而降低 Cd 对植物的毒害性。根据以上机理推测, SA 可能通过促进一系列生理反应促进 Cd 形成复合物并以此降低 Cd 对植株的毒害性^[19],但并没有降低植株对 Cd 的吸收。脱落酸作为一种抗胁迫激素在植物抗逆生理反应中发挥重要作用。有研究表明,当植物受到 Cd 胁迫后,脱落酸会通过影响植物对镉的吸收或转运增强其 Cd 耐受性,例如它能降低水稻对 Cd 的吸收^[5],或者改变 Cd 在不结球白菜不同部位的分布^[20]。目前针对 Zn 和 Cd 互作机理还没有一致的结论,即二者之间可能存在拮抗作用,也可能存在协同作用^[21]。外源添加 Zn 会降低 Cd 的吸收,可能是由于细胞膜上载体蛋白会优先转运锌,当大量锌与载体蛋白结合后,使之与 Cd 结合概率减少^[22-23]。Si 可以缓解水稻、小麦等的 Cd 毒害,减少植物地上部分和根中的 Cd 含量。对于 Si 抑制 Cd 吸收的机理有不同观点,一是认为 Si 作用于土壤影响土壤中 Cd 形态从而减少有效态 Cd 量^[24],另有观点认为它直接作用于植物,通过影响植物的生理生化过程降低对 Cd 的吸收^[25]。

参考文献:

- [1] 权春梅,曹帅,刘耀武. 四大产地白芍中重金属含量的测定[J]. 黑河学院学报, 2014, 5(4): 120-122.
- [2] SANDALIO L M, DALURZO H C, GÓMEZ M, *et al.* Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(364): 2115-2126.
- [3] HASSAN M J, ZHANG G S G. Influence of cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activity in rice cultivars with different grain cadmium accumulation [J]. Journal of Plant Nutrition, 2005, 28(7): 1259-1270.
- [4] GORDANA DRAZIC, NEVENA MIHAILOVIC. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid[J]. Plant Science, 2005, 168(2): 511-517.
- [5] 孙仲秧. 外源脱落酸缓解水稻 Cd 毒害的生理机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [6] 权春梅,曹帅,张霄翔. 白芍中重金属含量的测定[J]. 长春工业大学学报, 2014(3): 251-254.
- [7] 曹帅,王文建,权春梅,等. 芍药与土壤中重金属含量相关性研究—以亳芍药为例[J]. 文山学院学报, 2016, 29(3): 11-14.
- [8] 杨晖,赵鹏,张龙,等. 外源添加物降低 Cd 胁迫下香菇体内 Cd 含量及对酶活性的影响[J]. 核农学报, 2015, 29(1): 183-191.
- [9] 陈翠芳,钟继洪,李淑仪,等. 施硅对白菜体内镉的分布及其吸收迁移的影响[J]. 环境科学与技术, 2008, 31(7): 89-92.
- [10] VERBRUGGEN N, HERMANS C, SCHAT H. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(3): 364-72.
- [11] CHO U H, SEO N H. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*, exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation[J]. Plant Science, 2005, 168(1): 113-120.
- [12] 肖清铁,王经源,郑新宇,等. 水稻根系响应镉胁迫的蛋白质差异表达[J]. 生态学报, 2015, 35(24): 8276-8283.
- [13] DONG J, WU F, ZHANG G. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). [J]. Chemosphere, 2006, 64(10): 1659-66.
- [14] PARMAR P, KUMARI N, SHARMA V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress[J]. Botanical Studies, 2013, 54(1): 2757-2770.
- [15] 何俊瑜,任艳芳,王阳阳,等. Cd 对小麦根尖细胞的遗传损伤效应[J]. 生态环境学报, 2009, 18(3): 830-834.
- [16] KAWANO T, BOUTEAU F. Crosstalk between intracellular and extracellular salicylic acid signaling events leading to long-distance spread of signals[J]. Plant Cell Reports, 2013, 32(7): 1125-1138.
- [17] HOOYKAAS P J, HALL M A, LIBBENGA K R. Biochemistry and molecular biology of plant hormones [M]. Elsevier, 1999.
- [18] DRAZIC G, MIHAILOVIC N. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid[J]. Plant Science, 2005, 168(2): 511-517.
- [19] BAI X, DONG Y, KONG J, *et al.* Effects of application of salicylic acid alleviates cadmium toxicity in perennial ryegrass[J]. Plant Growth Regulation, 2015, 75(3): 695-706.
- [20] 钱海胜,陈亚华,王桂萍,等. Cd 在不结球白菜中的积累及外源脱落酸对 Cd 积累的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(4): 61-65.
- [21] 原海燕,黄苏珍,郭智,等. 锌对 Cd 胁迫下马蔺生长、Cd 积累及生理抗性的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(9): 2111-2116.
- [22] SASAKI A, YAMA J N, MA J F. Overexpression of OsHMA3 enhances Cd tolerance and expression of Zn

青花菜绿雄 60 小孢子单核靠边期与花蕾外部形态特征研究

朱惠霞, 陶兴林, 胡立敏, 刘明霞

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以青花菜 F₁ 代杂种绿雄 60 为材料, 研究了青花菜小孢子单核靠边期花蕾的特征。结果表明, 通过整枝可以得到发育整齐的青花菜小孢子花蕾, 当花蕾长度为 3.70~4.70 mm 时, 单核靠边期小孢子比例最高, 此时花蕾为绿色, 花药黄绿色, 花瓣/花药为 0.83~1.00。以上指标可以作为青花菜小孢子取样的参考指标。

关键词: 青花菜; 绿雄60; 花蕾长度; 小孢子; 单核靠边期

中图分类号: S635.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)06-0019-03

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2017.06.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2017.06.007)

Studies on the Characteristic of Mid-late Uninucleate Stage of Lüxiong 60 *Brassica oleracea* L.

ZHU Huixia, TAO Xinglin, HU Limin, LIU Mingxia

(Institute of Vegetables, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: Lüxiong 60 of *Brassica oleracea* L as the experimental material, the characteristics of mid-late uninucleate stage of microspore bud side is researched. The result shows that the training can get a neat microspore bud development, when the bud length is 3.70 ~ 4.70 mm, mononuclear side has the highest percentage of microspore stage, the buds of green, anthers yellow-green, petals/anther ratio is 0.83 ~ 1.00. These indicators can be a reference index of broccoli microspore sampling, provide the basis for accurate sampling.

Key words: *Brassica oleracea* L.; Lüxiong 60; Flower buds; Microspore; Mid-late uninucleate stage

近 30 年来, 我国许多单位开展了青花菜小孢子培养技术研究, 对影响小孢子出胚的主要因素如材料的基因型、花蕾取样时期、培养基成份、预处理方式等方面进行了大量研究^[1-4], 建立了小孢子培养技术体系。大量研究认为, 适合青花菜小孢子培养的适合时期是单核靠边期, 且单核靠边期小孢子占 70% 以上时, 才有可能获得成

功^[5-6]。但不同基因型的供体植株间小孢子培养最佳时期也不同, 且在大批量的小孢子培养过程中, 通过镜检进行取样则费时费力, 因此, 在培养前对花蕾的形态指标与小孢子发育时期的对应关系进行研究显得尤为重要。我们以青花菜绿雄 60 为研究材料, 在花球膨大过程中进行了 2~3 次整枝, 以期得到发育同步性一致的花蕾, 并观察

收稿日期: 2017-05-02

基金项目: 甘肃省自然科学基金(1506RJZA196)、甘肃省农业科学院中青年创新基金(2016GAAS47)、农业部园艺作物生物学与种质创制西北地区科学观测试验站项目(2015-A2621-620321-G1203-066)部分内容。

作者简介: 朱惠霞(1979—), 女, 甘肃民勤人, 助理研究员, 主要从事蔬菜遗传育种工作。联系电话: (0931)7754992。E-mail: zhuhuixia@gasagr.ac.cn。

transporter genes in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(20): 6013-6021.

[23] LI S L, WANG H X, WU Y S. Antagonistic effects of zinc on cadmium in water hyacinth[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 1990, 10(2): 249-254.

[24] 陈晓婷, 王 果, 梁志超, 等. 钙镁磷肥和硅肥对

Cd、Pb、Zn 污染土壤上小白菜生长和元素吸收的影响[J]. 福建农林大学学报: 自然版, 2002, 31(1): 109-112.

[25] 高柳青, 杨树杰. 硅对小麦吸收镉的影响及其生理效应[J]. 中国农学通报, 2004, 20(5): 246-246.

(本文责编: 陈 伟)