



外源硅对甘蓝镉毒害的缓解机制研究

杨文嘉, 王庆亚, 孙建云*

(南京农业大学 生命科学学院, 南京 210095)

摘要: 通过水培实验, 以耐镉(Cd)性不同的甘蓝品种‘绿丰’(Cd敏感性)和‘牛心’(Cd耐性)为材料, 研究外源硅(Si)对Cd胁迫下甘蓝生长、Cd含量、养分吸收、光合特性和抗氧化酶活性的影响, 以揭示外源硅对甘蓝镉毒害的缓解作用机制。结果表明: (1) 与对照相比, Cd胁迫显著抑制了甘蓝植株的生长, 降低了植株体内营养元素(Mg、Fe、Mn、Cu)的含量以及抗氧化酶[超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化氢酶(CAT)]的活性和叶片的光合效率; 并且显著增加了甘蓝植株内丙二醛(MDA)的含量。(2) 与单独Cd处理相比, 外源Si显著提高了甘蓝植株的生物量、地上部营养元素的含量以及光合参数[净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)及蒸腾速率(T_r)]、荧光参数值[原初光能转化效率(F_v/F_m)、实际光化学效率(Φ_{PSII})、光化学淬灭系数(qP)]、光合色素含量和抗氧化酶活性; 同时显著降低了甘蓝植株内MDA含量及Cd由根系向地上部的转运。研究发现, 在镉胁迫环境下, 外源Si可以通过降低Cd在甘蓝地上部的含量, 提高抗氧化酶活性来降低膜脂过氧化, 促进养分的吸收和转运, 增强光合作用效率, 从而缓解Cd对甘蓝生长的毒害。

关键词: 甘蓝; 镉污染; 硅; 抗氧化系统; 光合作用; 生长

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Alleviation Mechanism of Exogenous Silicon in Cabbages under Cadmium Stress

YANG Wenjia, WANG Qingya, SUN Jianyun*

(College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: We carried out a hydroponic experiment to study the effects of silicon (Si) on the growth, Cd content, nutrient absorption, photosynthetic characteristics and antioxidant enzymes activities of two cabbage (*Brassica oleracea* L.) cultivars with different Cd-tolerances (Cd-tolerant ‘Niuxin’ and Cd-sensitive ‘Lüfeng’) under Cd stress in order to reveal the alleviation mechanism of exogenous Si in cabbage under Cd stress. The results showed that: (1) Under the stress of Cd, the growth, contents of nutrients (Mg, Fe, Mn, Cu), the activities of antioxidant enzymes (SOD, CAT, APX) and photosynthesis efficiency of leaves in plants were decreased significantly, while the malondialdehyde (MDA) content in leaves and roots of cabbages were increased significantly compared with the control. (2) Supply of exogenous Si under Cd stress promoted the biomass of plants, raised the nutrition element contents in shoots and increased

收稿日期: 2018-04-08; 修改稿收到日期: 2018-06-01

基金项目: 国家科技基础性专项(2015FY110500)

作者简介: 杨文嘉(1992—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物营养生理研究。E-mail: 2015116028@njau.edu.cn

* 通信作者: 孙建云, 副教授, 主要从事植物对有毒元素的吸收、缺乏或过量的适应性反应机理及其耐性机理研究。E-mail: sunjianyun@njau.edu.cn

the photosynthetic parameters (P_n , G_s , T_r), fluorescence parameters (F_v/F_m , Φ_{PSII} , qP) and photosynthetic pigment contents. At the same time, MDA contents in plants and the transportation of Cd from roots to shoots were reduced significantly. It is suggested that Si can alleviate toxic effects of Cd by reducing the accumulation of Cd in shoots, increasing the activities of antioxidant enzymes to reduce membrane lipid peroxidation, promoting nutrient absorption and transportation, and enhancing photosynthesis.

Key words: cabbage (*Brassica oleracea* L.); cadmium (Cd) pollution; silicon (Si); antioxidant system; photosynthesis; growth

近年来,随着中国工业化与城市化进程的加快,制革、冶铁等行业迅速发展,随之产生的重金属(镉、铬等)经由废水大量排放到自然环境中,造成土壤重金属污染问题日趋严重。而所有的污染金属元素中,Cd 是一种移动性强、毒性高的重金属元素,它不仅会影响作物的生长发育和品质,还会通过食物链的富集作用危害人体健康,因而备受关注^[1]。目前,Cd 已被世界卫生组织、联合国国际环境规划署、国际劳动卫生重金属委员会等列为优先研究的环境和食品污染物^[2]。据报道,中国已被 Cd 污染的农田面积涉及 11 个省市的 25 个地区,达 2.8×10^5 hm^2 ,进而产生的 Cd 超标农产品每年可达 1 460 万吨^[3]。

当作物体内的 Cd 达到一定浓度时,会产生毒害作用,主要影响其生理代谢,并且能够影响农产品中氨基酸、蛋白质和淀粉等营养物质的含量,同时重金属残留在农产品中,其质量和作物的经济价值必然下滑^[4]。十字花科芸薹属植物中的某些可食用蔬菜品种,对重金属具有超强的吸收积累能力^[5]。其中,甘蓝是中国重要的蔬菜之一,全国各地都有栽培。因此,有效缓解 Cd 对甘蓝生长的毒害和降低其可食用部分 Cd 含量措施的研究显得尤为迫切,但这方面的研究目前还较为匮乏。Si 是土壤中丰度最高的元素,其是否为植物生长所必需的营养元素还有待进一步研究。已有大量研究表明,外源添加适宜浓度的 Si 可显著增强植物抵御生物及非生物胁迫的能力^[1,6-9]。如, Si 能减少盐胁迫下植物中 Na^+ 的含量以减轻离子的毒害^[6]; Si 可通过促进植物生长,局部化和钝化重金属离子,缓解重金属对植物的毒害^[7]; Si 能够显著增强 Cd 胁迫下水稻的抗氧化能力,减轻氧化损伤^[8];也有研究表明,在锰胁迫下,外施 Si 可以提高黄瓜幼苗的光合机构自我保护能力,增强叶片的光合速率^[9]等。这说明 Si 对植物 Cd 毒害有一定的缓解作用。

本实验以 2 个耐 Cd 性不同的甘蓝品种‘绿丰’(Cd 敏感性)和‘牛心’(Cd 耐性)为材料,研究了 Si 对 Cd 毒害下甘蓝某些生理反应的影响,以期明确它在控制 Cd 毒害和减少 Cd 吸收上的潜在作用。

1 材料和方法

1.1 植物培养及处理

根据前期的品种及处理浓度的筛选结果,以甘蓝品种‘牛心’(Cd 耐性)和‘绿丰’(Cd 敏感性)为材料,甘蓝种子经 5% NaClO 消毒 5 min 后,用去离子水反复洗净,25 $^{\circ}\text{C}$ 避光萌发,露白后于 25 $^{\circ}\text{C}$ 蛭石上发芽,正常光照,播种 7 d 后移至装有 5 L 营养液的周转箱中培养。先用 1/4 Hoagland 营养液培养 4 d,再用 1/2 Hoagland 营养液培养 6 d,此后用全营养液培养,每 2 d 更换 1 次营养液,自然光照。经过对比其他文献中的 Cd 浓度并且根据前期的 Cd 浓度筛选实验,发现在 50 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫程度为中度,与较高或较低浓度的 Cd 处理相比,外源 Si 的缓解效果最好,因此本实验选用此 Cd 浓度。幼苗长至五叶一心后,设置 3 组处理:0 (CK)、50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd (Cd)、50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd + 1.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Si (Cd+ Si),每处理重复 3 次。其中,Cd 以 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 形式供给, Si 以 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 形式供给,且营养液 pH 在 6.0 左右。水培营养液为 Hoagland 溶液,其组成为:2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KNO_3 、1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgSO_4 、0.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Fe-EDTA、46 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_3BO_3 、0.32 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CuSO_4 、0.71 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZnSO_4 、11.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MnCl_2 、0.38 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2MoO_4 。幼苗共计处理 12 d 后取样进行相关指标的测定。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 干重 处理结束时,每处理分别取 4 株,并置于 10% EDTA- Na_2 溶液中浸泡 30 min,取出,用去离子水清洗干净,将地上部和根系分开,105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 30 min,70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干植株至恒重,分别称取根系与地上部干重。用抑制率表示植株生长受抑的程度,计算公式如下:

$$\text{抑制率}(\%) = [1 - (\text{处理组干重} / \text{CK 组干重})] \times 100\%$$

1.2.2 Cd 及营养元素含量 准确称取 0.5 g 植物样品,加入硝酸和双氧水混合液($V:V=4:1$)过夜,次日置于消煮炉中消煮,用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP)测定 Cd、Mg、Fe、Mn、Cu 元素含量。

1.2.3 叶绿素含量 叶绿素含量按蔡庆生的方法^[10]。准确称取 0.2 g 叶片鲜样,加入 95%乙醇及石英砂和碳酸镁粉研磨至匀浆,再加 96%的乙醇 10 mL,继续研磨至组织变白,静置 3~5 min。取滤纸置漏斗中,用 96%乙醇湿润,将研磨后的液体及残渣倒入漏斗中,收集置容量瓶中,且将滤纸上的叶绿体色素全部洗入容量瓶中,最后用 96%乙醇定容至 25 mL,摇匀。分别测定 A_{645} 、 A_{663} 。按下列公式计算叶绿素含量:

$$\text{叶绿素 a}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (12.71 A_{663} - 2.59 A_{645}) \times V / 1\,000 W;$$

$$\text{叶绿素 b}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}) = (22.88 A_{645} - 4.67 A_{663}) \times V / 1\,000 W;$$

式中, V 为提取液体积(mL); W 为材料鲜质量(g)。

1.2.4 光合参数 在对甘蓝进行处理的前 1 天起,每隔 2 d 测定 1 次,直至第 12 天。取甘蓝功能叶采用 Li-6400 便携式光合作用测定仪测定净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)及胞间二氧化碳浓度(C_i)。每次测定选择叶片的相同位置,且测定条件一致。

1.2.5 叶绿素荧光参数 取相同叶位采用 Li-6400 便携式光合仪进行测定。将植株充分暗适应,用弱测量光测定初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)及原初光能转化效率(F_v/F_m)。在天气晴朗的上午,持续照射得到稳态荧光(F_s)、光下最大荧光(F_m')、光下最小荧光值(F_0')及激发能捕获效率(F_v'/F_m')。进一步计算光系统 II (PS II) 的实际光化学效率(Φ_{PSII})、光化学淬灭系数(qP)。

1.2.6 MDA 含量 分别准确称取 0.3 g 植物样,置于研钵中加入 1%三氯乙酸(TCA) 3 mL,冰上研磨成匀浆转移至 10 mL 离心管中,12 000 g 离心 15 min。MDA 含量的测定按 Tripathi 等^[11]的方法。取上清液 0.5 mL 于干净试管中加入 1.5 mL 0.5%硫代巴比妥酸(TBA),摇匀后,90 ℃水浴 20 min,冷却至室温,以 10 000 g 离心 5 min,取上清测 532、600、450 nm 处的吸光值。

1.2.7 抗氧化酶活性 取 0.5 g 植物样,加 5 mL 酶提取液($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH7.0 磷酸缓冲液,20 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ EDTA,10% pvp,去离子水),冰浴研

磨,4 ℃冷冻离心(12 000 g, 15~20 min),取上清液作为测定粗酶液。超氧化物歧化酶(SOD)、愈创木酚过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽还原酶(GR)及抗坏血酸过氧化物酶(APX)的测定采用 Ali 等^[12]的方法。

SOD 活性采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化还原法测定;POD 活性采用愈创木酚法测定;GR 活性测定时,取上清液 200 μL ,加入反应液(1.5 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS (pH7.8),0.3 mL 20 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ EDTA- Na_2 , 0.3 mL 5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ GSSG, 0.3 mL 1.5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ NADPH, 450 μL 去离子水),测定 340 nm 处的吸光值。APX 活性测定时,取上清液 50 μL ,加入反应液[1.5 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS (pH7.0),15 μL 100 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ ASA, 30 μL 30% H_2O_2 , 1 405 μL 去离子水],测定 290 nm 处的吸光值。过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用 Ba-tool 等^[13]的方法,取上清液 100 μL ,加入反应液[1.5 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS (pH7.0), 10 μL 30% H_2O_2 , 1 390 μL 去离子水],测定 240 nm 处的吸光值。

1.3 数据分析

用 Office 2010 对实验数据进行处理;使用 SPSS 20.0 对数据进行方差分析,采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性检验($\alpha=0.05$)。利用 Office 2010、Origin 8.0 制作图表。

2 结果与分析

2.1 外源 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗生物量的影响

如图 1 所示,与 CK(对照)相比,Cd 处理(单独 Cd 胁迫)显著降低了 2 品种甘蓝植株的生物量($P<0.05$),敏感性品种‘绿丰’的地上部和根系干重的抑制率分别为 28.4%、28.2%,耐性品种‘牛心’抑制率则分别为 19.9%、21.1%,证实‘绿丰’对 Cd 胁迫更为敏感。与 Cd 处理相比,Cd+Si 处理(外源 Si 与 Cd 同时处理)显著提高了两品种的生物量($P<0.05$),但仍均显著低于对照,品种‘绿丰’的地上部、根系干重的抑制率分别降低了 14.8%、13.8%,品种‘牛心’的抑制率则分别降低了 9.3%、11.3%。以上结果说明 Cd 胁迫显著抑制了甘蓝的生长,Cd 敏感性品种受到抑制更严重;外源 Si 能够显著缓解镉胁迫的伤害,敏感性品种效果更明显。

2.2 外源 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗 Cd 含量及其转运系数的影响

由表 1 来看,与 Cd 处理相比,Cd+Si 处理显著降低了 2 个品种甘蓝地上部的 Cd 含量,却大幅度

显著提高了根系 Cd 含量,‘绿丰’和‘牛心’地上部 Cd 含量分别减少了 17.1%和 20.8%,它们根系 Cd 含量分别增加了 84.7%和 114.1% ($P<0.05$);品种间相比较,Cd 和 Cd+Si 处理的‘绿丰’地上部 Cd 含量均显著高于‘牛心’,而其根系 Cd 含量却均显著低于‘牛心’ ($P<0.05$)。同时,与 Cd 处理相比,Cd+Si 处理显著降低了 2 个品种的 Cd 离子转运系数,且‘牛心’降低的幅度显著高于‘绿丰’ ($P<0.05$);‘绿丰’的 Cd 离子转运系数在 Cd 和 Cd+Si 处理下均显著高于相应的‘牛心’。可见,外源 Si 可以显著降低 Cd 胁迫下甘蓝地上部的 Cd 含量,却显著大幅度提高了甘蓝根系 Cd 含量,致使 Cd 转运系数显著降低,且耐性品种升降幅度更大。

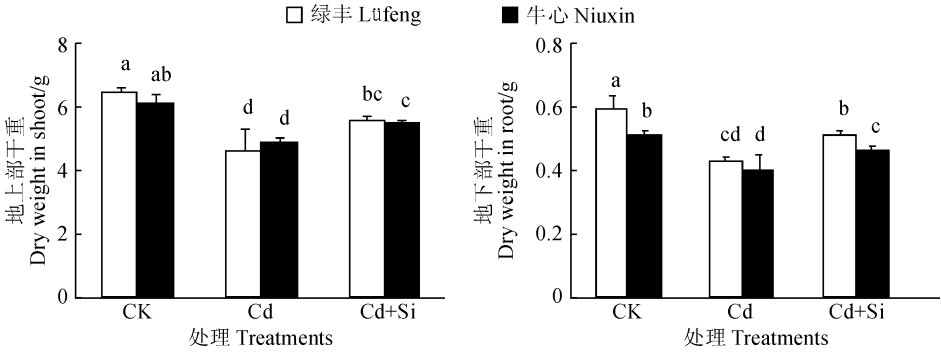
2.3 外源 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗营养元素含量的影响

表 2 显示,与 CK 相比,Cd 处理显著降低了两

品种甘蓝根系 Fe、Mn、Cu 的含量及其地上部 Mg、Fe 和 Mn 的含量,且‘绿丰’的降幅显著高于‘牛心’ ($P<0.05$);与 Cd 处理相比,Cd+Si 处理显著增加了‘绿丰’地上部 Mg、Fe、Cu 的含量和‘牛心’地上部 Mg、Cu 的含量,但仍大多显著低于相应 CK,且品种间差异显著 ($P<0.05$),同时外源硅却对 2 个品种根系营养元素含量基本无显著影响。即 Cd 胁迫降低了甘蓝叶片和根系 Fe、Mn 等元素的含量,外源 Si 能有效缓解这种降低趋势。

2.4 外源 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗光合作用的影响

2.4.1 光合色素含量 由表 3 可知,与 CK 相比,Cd 处理显著降低了 2 个品种甘蓝叶片的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素及类胡萝卜素的含量,且‘绿丰’的降幅显著高于‘牛心’ ($P<0.05$);与 Cd 处理相比,Cd+Si 处理显著提高了两品种叶绿素 a、叶绿素



CK. 对照; Cd. 50 μmol · L⁻¹ Cd; Cd+Si. 50 μmol · L⁻¹ Cd + 1.2 mmol · L⁻¹ Si;不同小写字母表示处理和品种间在 0.05 水平存在显著性差异;下同

图 1 外源 Si 处理对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗生物量的影响

CK. Control; Cd. 50 μmol · L⁻¹ Cd; Cd+Si. 50 μmol · L⁻¹ Cd + 1.2 mmol · L⁻¹ Si; The different normal letters indicate significant difference among cultivars and treatments at 0.05 level. The same as below

Fig.1 Effects of exogenous Si on biomass of cabbage seedlings under Cd stress

表 1 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗地上部、根系的 Cd 含量和 Cd 的转运系数的影响

品种 Variety	处理 Treatment	Cd 含量 Cd concentration/(mg · kg ⁻¹)		转运系数 Translocation factors(TF)
		地上部 Shoot	根系 Root	Cd _{地上部} /Cd _{根系} Cd _{shoot} /Cd _{root}
绿丰 Lüfeng	CK	0d	0d	0d
	Cd	430.2a	754.5d	0.57a
	Cd+Si	356.5b	1 393.3b	0.26c
牛心 Niuxin	CK	0d	0d	0d
	Cd	326.9b	949.1c	0.34b
	Cd+Si	259.0c	2 031.0a	0.12d

注:“0”表示没有检测到;每列中不同字母表示品种和处理间在 0.05 水平上达显著性差异,下同
Note:“0” is not detectable. Different normal letters in each column indicate significant difference among treatments and varieties at 0.05 level,the same as below

表 2 外源 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗地上部和根系内营养元素含量的影响

Table 2 Effects of exogenous Si on nutrient element contents in shoots and roots of cabbage seedlings under Cd stress						
部位	品种 Variety	处理 Treatment	营养元素含量 Nutrient element concentration/(mg · kg ⁻¹)			
			Mg	Fe	Mn	Cu
地上部 Shoots	绿丰 Lüfeng	CK	4 120.5±142.1a	293.9±20.5b	110.9±3.1a	14.2±0.8b
		Cd	3 348.3±66.4cd	178.1±16.2d	82.3±4.7cd	11.9±0.3c
		Cd+Si	3 832.0±212.3b	242.9±13.2c	89.3±1.1bc	13.2±0.9b
	牛心 Niuxin	CK	3 555.6±117.0c	373.0±28.3a	95.0±13.3b	11.0±0.5cd
		Cd	3 067.7±49.2e	280.3±13.1b	76.6±1.2d	10.8±0.2d
		Cd+Si	3 324.7±61.8d	302.7±6.4b	78.3±3.1cd	16.6±0.5a
根系 Roots	绿丰 Lüfeng	CK	3 773.3±431.0b	3 425.0±264.5b	1 885.0±98.8b	165.1±4.0b
		Cd	3 449.3±66.4b	1 759.1±184.2d	543.3±50.5de	100.3±0.1e
		Cd+Si	3 548.8±73.1b	1 601.0±29.9d	476.4±5.2e	112.0±2.6d
	牛心 Niuxin	CK	4 524.1±101.7a	4 272.0±65.7a	2 207.9±289.1a	175.2±7.3a
		Cd	4 712.7±54.0a	2 610.7±92.2c	777.6±103.7cd	127.7±4.5c
		Cd+Si	4 542.7±100.3a	2 476.3±78.6c	811.6±47.4c	121.2±8.3cd

表 3 外源 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗叶片光合色素含量的影响

Table 3 Effects of exogenous Si on photosynthetic pigment contents of cabbage seedlings under Cd stress					
品种 Variety	处理 Treatment	光合色素含量 Photosynthetic pigments concentration/(mg · g ⁻¹)			
		叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 b Chlorophyll b	总叶绿素 Total Chlorophyll	类胡萝卜素 Carotenoid
绿丰 Lüfeng	CK	0.690±0.065a	0.294±0.010a	0.984±0.070a	0.113±0.011a
	Cd	0.389±0.011d	0.132±0.008d	0.521±0.019d	0.080±0.005c
	Cd+Si	0.493±0.010c	0.174±0.018c	0.668±0.026c	0.092±0.004b
牛心 Niuxin	CK	0.705±0.012a	0.284±0.010a	0.995±0.027a	0.093±0.002b
	Cd	0.502±0.023c	0.173±0.006c	0.675±0.029c	0.088±0.003bc
	Cd+Si	0.582±0.010b	0.194±0.006b	0.776±0.005b	0.090±0.001bc

b、总叶绿素及类胡萝卜素(‘牛心’除外)的含量,且‘绿丰’增高的幅度明显高于‘牛心’($P<0.05$)。可见,Cd 胁迫显著降低甘蓝叶片光合色素含量,但在外源 Si 作用下得到有效缓解,且敏感品种升降幅度更大。

2.4.2 光合参数 图 2 显示,在 Cd 处理条件下,2 品种甘蓝叶片 P_n 、 G_s 和 T_r 随着 Cd 处理时间的延长整体呈下降趋势;至 Cd 处理第 12 天,‘绿丰’品种各参数比对照的降幅明显高于‘牛心’($P<0.05$)。在 Cd+Si 处理条件下,2 个品种叶片的 P_n 、 G_s 和 T_r 在整个处理过程中均始终高于同期的 Cd 处理组,但各参数仍明显低于同期对照。与以上参数表现不同,在 Cd 胁迫条件下,2 个品种甘蓝叶片的 C_i 随处理时间的延长呈先降后升的趋势。其中,‘牛心’和‘绿丰’品种叶片 C_i 分别在处理第 3 天和

第 6 天时降至最低值,至处理第 12 天均高于对照水平,但‘绿丰’ C_i 下降和升高的幅度均显著高于同期‘牛心’($P<0.05$)。与 Cd 处理相比,在 Cd+Si 处理后,2 个甘蓝品种的 C_i 随着处理时间的延长,其比对照降低和升高的幅度均有所减小,且品种间差异显著($P<0.05$)。

2.4.3 叶绿素荧光参数 由图 3 可知,与对照相比,随着处理时间的延长,2 个品种甘蓝叶片的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP 在 Cd 处理下均呈下降趋势,至处理第 12 天时‘绿丰’的降幅显著高于‘牛心’($P<0.05$);在 Cd+Si 处理后,2 个甘蓝品种叶片的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP 均始终高于同期 Cd 处理组,且两处理间差异随着处理时间的延长而逐渐增大,品种间差异显著($P<0.05$)。以上结果说明,Cd 胁迫显著降低了甘蓝的叶绿素荧光参数值,而与 Cd 处理相比,

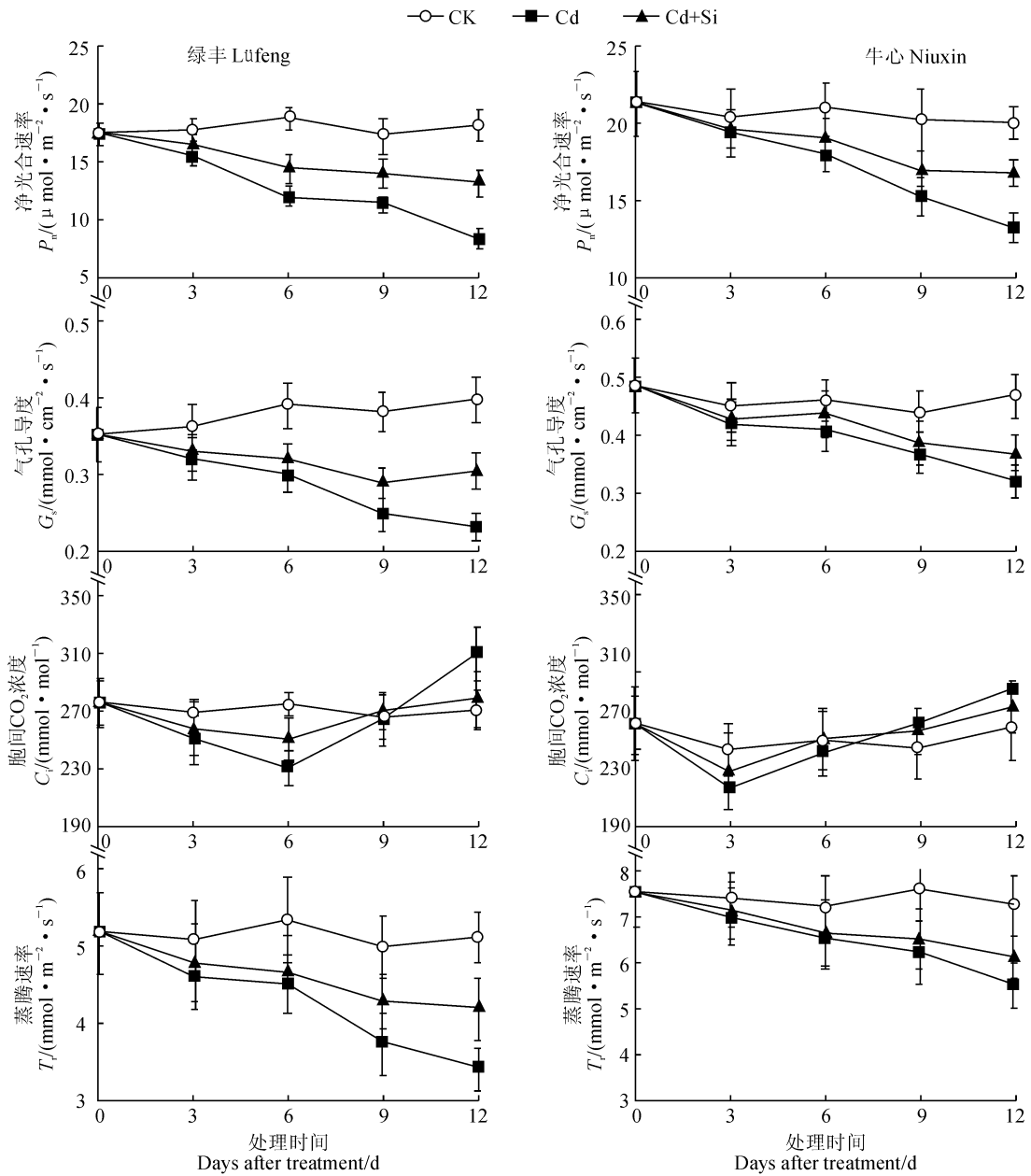


图2 外源外源 Si 处理对 Cd 胁迫下甘蓝品种‘绿丰’(左)和‘牛心’(右)幼苗光合参数的影响

Fig. 2 Effects of exogenous Si on the photosynthetic parameters of cabbage variety ‘Lüfeng’ (left) and ‘Niuxin’ (right) seedlings under Cd stress

外源 Si 显著提高了叶绿素荧光参数值,且趋向于对照水平。

2.5 外源 Si 对 Cd 胁迫下甘蓝幼苗 MDA 含量和抗氧化酶活性的影响

2.5.1 MDA 含量 图 4,A 表明,在单独 Cd 处理下,2 个品种甘蓝叶片和根系内 MDA 的含量均比对照显著增加,且‘绿丰’MDA 含量的增幅显著高于‘牛心’($P<0.05$)。与单独 Cd 处理相比,Cd+Si 处理下 2 甘蓝品种叶片和根系内 MDA 含量均显著降低($P<0.05$),‘绿丰’与‘牛心’叶片 MDA 的含

量分别显著减少了 19.0%和 11.4%,而根系 MDA 含量分别显著减少了 16.1%和 12.4%,且品种间差异显著($P<0.05$)。

2.5.2 SOD 活性 如图 4,B 所示,在 Cd 处理下,2 个品种甘蓝叶片和‘绿丰’根系内 SOD 活性均比对照不同程度降低,且‘绿丰’叶片和根系内 SOD 活性与对照差异达显著水平($P<0.05$),而‘牛心’根系内 SOD 活性却比对照显著升高($P<0.05$)。在 Cd+Si 处理后,2 个品种甘蓝叶片以及‘绿丰’根系内 SOD 活性均比 Cd 处理显著增高,并达到对照水平,

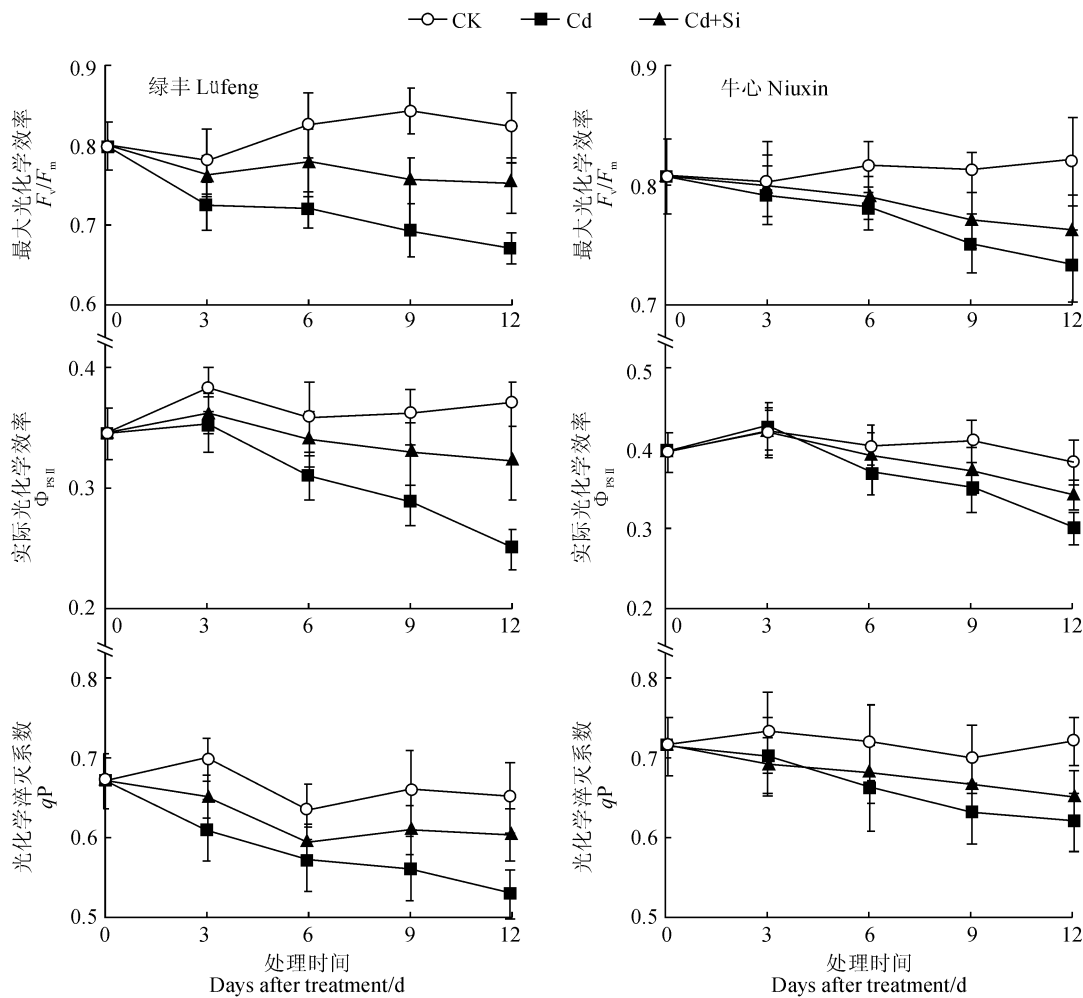


图3 外源 Si 处理对 Cd 胁迫下甘蓝‘绿丰’(左)和‘牛心’(右)幼苗叶绿素荧光参数的影响
Fig. 3 Effects of exogenous Si on the chlorophyll fluorescence parameters of cabbage variety ‘Lüfeng’ (left) and ‘Niuxin’ (right) seedlings under Cd stress

而‘牛心’根系内 SOD 活性却比 Cd 处理显著降低,但其仍显著高于对照($P<0.05$)。

2.5.3 POD 活性 于单独 Cd 处理下,2 个品种甘蓝叶片和牛心根系内 POD 活性均显著比对照升高,且品种‘牛心’升高的幅度又显著高于品种‘绿丰’($P<0.05$);与 Cd 处理相比,Cd+Si 处理甘蓝品种叶片的 POD 活性均无明显变化,而同时品种‘绿丰’根系的 POD 活性显著升高,‘牛心’根系 POD 活性则显著下降,但其活性仍明显高于对照($P<0.05$)。

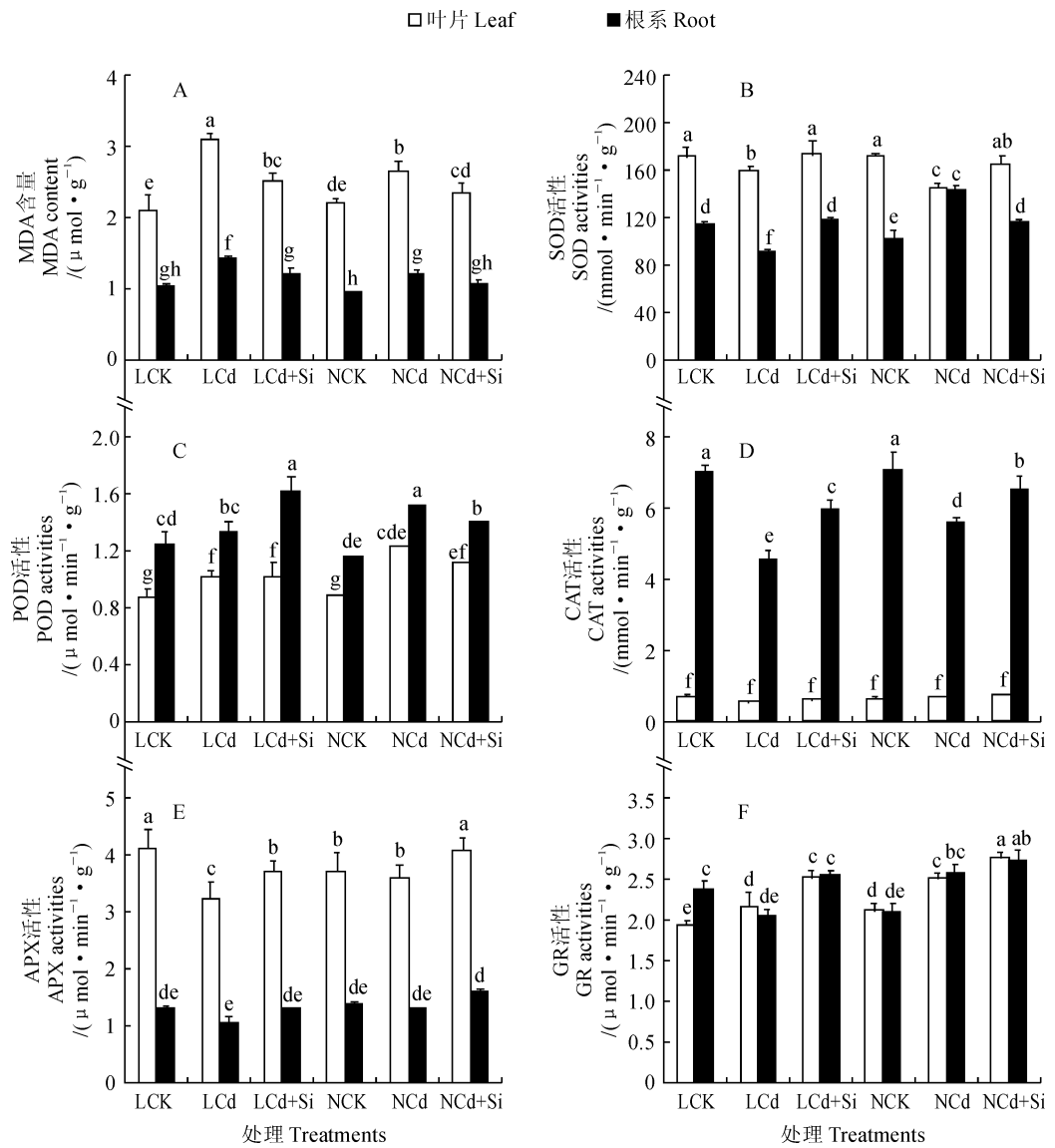
2.5.4 CAT 活性 在单独 Cd 处理下,2 个品种甘蓝(除‘牛心’叶片外)的 CAT 活性均比对照降低,且‘绿丰’降幅更大;与单独 Cd 处理相比,Cd+Si 处理甘蓝品种根系和叶片的 CAT 活性均不同程度升高,且根系升幅达到显著水平($P<0.05$)。

2.5.5 APX 活性 在单独 Cd 胁迫条件下,品种‘绿丰’叶的 APX 活性均比对照显著降低($P<$

0.05),而‘牛心’根叶的 APX 活性却无显著变化。在 Cd+Si 处理后,2 个甘蓝品种根叶的 APX 活性均比 Cd 处理组不同程度升高,且两品种叶片的升幅均达到显著水平,同时它们均达到或显著高于对照水平。

2.5.6 GR 活性 与对照相比,Cd 胁迫下的甘蓝品种 GR 活性除‘绿丰’根系外显著升高($P<0.05$),而‘绿丰’根系 GR 活性则显著降低。在 Cd+Si 处理条件下,2 个甘蓝品种叶片和‘绿丰’根系的 GR 活性均比单独 Cd 处理显著升高($P<0.05$),而‘牛心’根系 GR 活性则无显著变化。

以上结果说明,Cd 胁迫显著降低了甘蓝的 SOD、APX、CAT 的活性,而显著提高了甘蓝根叶中 MDA 含量;与 Cd 处理相比,外源 Si 同时处理后,不同程度地提高了甘蓝的抗氧化酶活性,从而显著降低了叶中 MDA 含量。在整个胁迫过程中,耐性



LCK、Lcd、Lcd+si, ‘绿丰’的3种处理; NCK、Ncd、Ncd+si, ‘牛心’的3种处理

图4 外源Si对Cd胁迫下甘蓝幼苗叶片和根系MDA含量和抗氧化酶活性的影响

LCK, Lcd, Lcd+si. Three treatments of ‘Lüfeng’; NCK, Ncd, Ncd+si. Three treatments of ‘Niuxin’

Fig. 4 Effects of exogenous Si on MDA content and antioxidant enzyme activities in leaves and roots of cabbage seedlings under Cd stress

甘蓝品种抗氧化酶活性和MDA含量的变化幅度更大。

3 讨论

大量研究结果表明,植物在Cd胁迫下体内会发生一系列生理代谢过程的紊乱,直至植物生长受抑,而Si能够缓解Cd毒害对植物生长的抑制作用^[1,6,9]。本实验中,Cd处理显著抑制了甘蓝的生长,而外源Si能够提高甘蓝的生物量,并以外源Si对敏感品种‘绿丰’的缓解效果最为明显。

Si缓解植物毒害的一个重要机制是减少植株

对Cd的吸收和转运,但目前对于其机制的研究还不足^[14]。可能是由于Si和Cd会在植物根系细胞壁和液泡中以复合物形式沉淀下来,从而限制了Cd由根系向地上部的转运^[15]。Cd离子转运系数(TF)表示Cd由根系转运到地上部的能力。本实验结果表明,与单独Cd处理相比,外源Si明显减小了甘蓝Cd离子的TF($P<0.05$),且耐性品种‘牛心’Cd离子的TF下降更为明显($P<0.05$),这与Shi等^[16]以花生为实验材料的研究结果相似。说明Si对甘蓝Cd毒害的缓解作用部分原因是通过减少Cd由根系向地上部的转运,从而降低其地上部的Cd

含量,缓解 Cd 对植株生长的抑制作用。与此同时, Cd 亦能降低植物对营养元素的吸收和转运能力,引起矿质代谢紊乱,导致营养元素间失去平衡,扰乱植物的新陈代谢,从而降低光合效率^[15]。

Mn、Fe、Mg 和 Cu 在光合作用中发挥重要作用;如:Mg 是叶绿素的重要成分^[17],Cd 诱导的 Fe 不足会导致萎黄症的出现^[18]等;因而其含量的不足必然影响光合效率。本实验中,单独 Cd 处理显著降低了 2 个品种甘蓝根系 Fe、Mn、Cu 的含量,同时亦显著降低了其地上部 Mg、Fe、Mn 的含量,并且敏感品种‘绿丰’的降幅显著高于耐性品种‘牛心’($P < 0.05$)。同时,光合色素含量的变化反映了 Cd 胁迫对植物的伤害程度^[19]。本实验中,单独 Cd 处理显著降低了甘蓝叶片光合色素的含量,且‘绿丰’下降的幅度明显高于‘牛心’($P < 0.05$),表明耐性品种‘牛心’在 Cd 胁迫下仍可以保持较高的光合效率。而 Si 可以通过提高植物自身维护光合系统的能力、增加光合色素含量、提高光合效率、增强抵御胁迫的能力来缓解重金属毒害^[15]。Wang^[20]等研究表明,外源 Si 能够缓解 Cd 胁迫下水稻幼苗的生长,改善 Mg、Fe、Zn 的营养,增加叶绿素含量。Farooq 等^[21]发现 Cd 显著降低了水稻对 S、Ca、K、Mg 和 Zn 的吸收和积累,在营养配方中添加 Si 则大大抑制了这种效应。在本实验中,与单独 Cd 处理相比,外源 Si 显著提高了 2 个甘蓝品种地上部的 Mg、Fe、Mn 及 Cu 含量,而且此时两品种光合色素含量亦显著提高($P < 0.05$)。光合色素含量的增加是由于光合色素合成的增加或降解的减少所致^[22]。这些结果表明 Si 可以通过调节 Cd 胁迫下的甘蓝对营养元素的吸收和转运,来影响光合色素的代谢,这可能也是 Si 提高甘蓝光合效率的另一个重要因素。

重金属胁迫能够影响植物的蒸腾速率和气孔开度,进而影响其光合作用^[23]。本实验中,Cd 胁迫下两品种甘蓝的 P_n 、 G_s 和 T_r 均随着处理时间的延长整体呈下降趋势。研究表明, C_i 值可用以判断影响光合作用的因素主要是气孔或非气孔限制。若 C_i 与 P_n 、 G_s 同时下降时,可判为 P_n 下降主要由气孔限制;若 P_n 下降,而 G_s 降低和 C_i 升高,则可判为 P_n 下降由非气孔限制,即叶肉细胞光合活性下降^[24]。本实验中,在 Cd 处理前期,2 个品种的甘蓝叶片 P_n 和 G_s 下降且 C_i 也逐渐降低,说明此时期叶片 P_n 是受气孔限制(主要是 CO_2 供应减少)的影响;随着处理时间的延长,其 P_n 和 G_s 继续下降而 C_i 逐渐升高,表明此时期甘蓝叶片 P_n 下降主要受非气孔限

制(主要是 CO_2 的同化效率下降)的影响。外源 Si 同时处理后,两品种叶片光合参数均趋向于对照水平,表明 Si 可以提高甘蓝的光合效率。

同时,叶绿素荧光变化也反映了植物光合机构的运转状况。其中, F_v/F_m 值的变化表示 PS II 原初光能转换效率能力的大小; Φ_{PSII} 值表示 PS II 的实际光化学效率^[25]。而 qP 值表示 PS II 开放中心的数目及 PS II 原初电子受体 Q_A 的氧化还原状态, qP 值增大,PS II 的电子传递活性升高^[26]; qP 值减小,则 PS II 反应中心的开放比例和参与 CO_2 固定的能量减弱^[27]。本实验中,单独 Cd 处理下,随着处理时间的延长,2 个品种叶片的 F_v/F_m 和 Φ_{PSII} 值呈下降趋势,说明 PS II 的原初光化学效率和从天线色素到 PS II 反应中心的传能效率明显受到 Cd 胁迫的影响,出现光抑制现象^[28],降低了 PS II 反应中心进行光化学反应的效率。另外,在本实验单独 Cd 处理下,2 个品种叶片的 qP 值呈下降趋势,说明其叶片吸收的光化学反应减弱。而外源 Si 同时处理显著抑制了这些负效应,这表明 Si 可以提高 Cd 胁迫甘蓝植株内光化学反应能力、PS II 的原始光能转化率、PS II 的潜在活性以及 PS II 库容量和光合电子传递,从而提高了 Cd 胁迫下甘蓝的光合效率。影响光合作用的另一个重要因素为细胞膜的完整性。

因此, Si 缓解植物 Cd 毒害的另一个途径,即减轻 Cd 诱导产生的氧化胁迫,进而维持膜结构的稳定。MDA 是膜中不饱和脂肪酸分解的产物之一,是膜脂过氧化程度的指示者。本实验中,单独 Cd 处理下,2 个品种甘蓝叶片和根系中 MDA 的含量显著升高,且敏感性品种‘绿丰’中 MDA 含量显著高于耐性品种‘牛心’,而在外源 Si 同时处理后 MDA 含量均显著降低($P < 0.05$)。Srivastava 等^[29]报道 Cd 胁迫显著增加了水稻根系和叶片中 MDA 含量,而添加外源 Si 能显著降低 MDA 含量。这说明外源 Si 在清除过量活性氧(ROS)、保持植物体内氧化还原态的平衡中起了作用。在抗氧化系统中,超氧化物歧化酶(SOD)是植物氧代谢中一种极为重要的酶,它歧化 O_2^- 为 H_2O_2 和 O_2 ,而其他抗氧化酶如 POD、CAT、APX、GR 等负责清除 H_2O_2 ^[1]。本实验中,与对照相比,单独 Cd 处理下的敏感性品种‘绿丰’植株内 SOD 活性显著降低。这可能是 Cd 毒害产生的活性氧自由基数量超过其植株内 SOD 酶的清除能力,也可能因为 Cd 与 Zn、Cu 等元素竞争性结合 SOD 组成的中心基团从而改变 SOD 的空间结构,最终导致其活性降低^[30]。而与此

同时耐性品种‘牛心’植株内 SOD 活性没有变化(叶片)或显著升高(根系),表明其具有较强的歧化 O_2^- 的能力。另外,在 H_2O_2 的清除酶中,‘牛心’的各个酶活性(除叶片 APX 外)均显著高于‘绿丰’,表明其能更好地清除 H_2O_2 。在外源 Si 同时处理后,2 个品种甘蓝植株内具较少的 MDA,意味着 Si 提高了甘蓝清除自由基的能力,甘蓝内抗氧化酶活性的增高也能说明这一点。Si 对 Cd 胁迫下植物抗氧化系统的增强作用已在多种植物中得到证实,如在水稻中,叶面施加纳米 Si 可增强 SOD、POD 和 CAT 活性并导致 GSH 含量升高^[8];在棉花中,施加外源

Si 能够增强根和叶中 SOD、APX、POD 和 CAT 的活性^[31]等。以上结果表明,外源 Si 可以增强 Cd 胁迫下甘蓝体内抗氧化酶活性,有效清除 ROS,降低膜脂过氧化程度,从而保护了膜的完整性。

综上所述,在 Cd 胁迫环境下,外源 Si 首先能够抑制 Cd 由甘蓝根系向地上部的转运,降低 Cd 在地上部的积累;其次能提高相关抗氧化酶活性,减轻细胞膜脂过氧化程度;再次还能促进根系对营养元素的吸收,维持营养元素间的平衡;另外还促进或抑制叶绿素的合成或降解,提高了叶片的光合速率。从而有效缓解了 Cd 胁迫对甘蓝生长的毒害。

参考文献:

[1] LI P, ZHAO C Z, ZHAND Y Q, *et al.* Silicon enhances the tolerance of *Poa annua* to cadmium by inhibiting its absorption and oxidative stress [J]. *Biologia Plantarum*, 2017, **61**(4): 741-750.

[2] 郑国璋. 农业土壤重金属污染研究的理论与实践[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2007.

[3] IKE A, SRIPRANG R, ONO H, *et al.* Bioremediation of cadmium contaminated soil using symbiosis between leguminous plant and recombinant rhizobia with the MTL4 and the PCS genes[J]. *Chemosphere*, 2007, **9**(66): 1 670-1 676.

[4] 王 农, 石 静, 刘春光, 等. 镉对几种粮食作物子粒品质的影响[J]. 农业环境与发展, 2008, **25**(2): 114-115.

WANG N, SHI J, LIU C G, *et al.* Effects of Cadmium on grain quality of several grain crops [J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2008, **25**(2): 114-115.

[5] WONG J W C, LAI K M, SU D S, *et al.* Available ability of heavy metals for *Brassica chinensis* growth in an acidic loamy soil amended with a domestic and an industrial sewage sludge [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2001, **128**: 339- 353.

[6] 刘 媛, 王仕稳, 殷俐娜, 刘 朋, 邓西平. 硅提高黄瓜幼苗抗盐能力的生理机制研究[J]. 西北植物学报, 2014, **34**(5): 988-994.

LIU Y, WANG S W, YIN L N, *et al.* Studies on physiological mechanism of salt resistance improved by Silicon in cucumber [J]. *Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica*, 2014, **34**(5): 988-994.

[7] 房江育, 马雪泷. 硅与植物抗逆性研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, **21**(11): 304-306.

FANG J Y, MA X L. Progress of silicon improving plant resistance to stress[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, **21**(11): 304-306.

[8] WANG S H, WANG F Y, GAO S C. Foliar application with nano-silicon alleviates Cd toxicity in rice seedlings[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, **22**(4): 2 837-2 845.

[9] FENG J P, SHI Q H, WANG X F. Effects of exogenous silicon on photosynthetic capacity and antioxidant enzyme activities in chloroplast of cucumber seedlings under excess manganese [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2009, (1): 40-50.

[10] 蔡庆生. 植物生理学实验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2013.

[11] TRIPATHI D K, SINGH V P, KUMAR D, *et al.* Impact of exogenous silicon addition on chromium uptake, growth, mineral elements, oxidative stress, antioxidant capacity, and leaf and root structures in rice seedlings exposed to hexavalent chromium [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012, **34**(1): 279-289.

[12] ALI S, BAI P, ZENG F, *et al.* The ecotoxicological and interactive effects of chromium and aluminum on growth, oxidative damage and antioxidant enzymes on two barley genotypes differing in Al tolerance [J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2011, **70**(2-3): 185-191.

[13] BATOOL M, ABDULLAH S, ABBAS K. Antioxidant enzymes activity during acute toxicity of chromium and cadmium to *Channa marulius* and *Wallago attu* [J]. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 2014, **51**(4): 1 017-1 023.

[14] 刘彩凤, 史刚荣, 余如刚, 等. 硅缓解植物镉毒害的生理生态机制[J]. 生态学报, 2017, **37**(23): 7 799-7 810.

LIU C F, SHI G R, YU R G, *et al.* Eco-physiological mechanisms of silicon-induced alleviation of cadmium toxicity in plants: a review [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, **37**(23): 7 799-7 810.

[15] TALITHA S P, THAIS S P, CARLA LETICIA FIGUEROA de C S, *et al.* Silicon deposition in roots minimizes the cadmium accumulation and oxidative stress in leaves of cowpea plants [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 2018, **24**(1): 99-114.

[16] SHI G R, CAI Q S, LIU C F, *et al.* Silicon alleviates cadmium toxicity in peanut plants in relation to cadmium distribution and stimulation of antioxidative enzymes [J]. *Plant Growth Regulation*, 2010, (61): 45-52.

[17] KÜPPER H, ŠETLÍK I, SPILLER M, *et al.* Heavy metal-

induced inhibition of photosynthesis; targets in vivo heavy metal chlorophyll formation [J]. *J. Phycol.*, 2002, 38: 429-441.

[18] 孙建云, 沈振国. 镉胁迫对不同甘蓝基因型光合特性和养分吸收的影响[J]. 应用生态学报, 2007, **18**(11): 2 605-2 610. SUN J Y, SHEN Z G. Effects of Cd stress on photosynthetic characteristics and nutrient uptake of cabbages with different Cd-tolerance [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, **18**(11): 2 605-2 610.

[19] MILONE M T, SGHERRI C, CLIJSTERS H, *et al.* Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium [J]. *Environ. Exp. Bot.*, 2003, 50: 265-276.

[20] WANG S H, WANG F Y, GAO S C. Foliar application with nano-silicon alleviates Cd toxicity in rice seedlings [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, **22**(4): 2 837-2 845.

[21] FAROOQ M A, DETTERBECK A, CLEMENS S, *et al.* Silicon-induced reversibility of cadminm toxicity in rice [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, **67**(11): 3 573-3 585.

[22] 庄明浩, 李迎春, 郭子武, 等. 臭氧浓度升高对毛竹叶片光合色素和抗性生理的影响[J]. 生态科学, 2011, **30**(6): 607-612. ZHUANG M H, LI Y C, GUO Z W, *et al.* Effects of elevated ozone concentration on photosynthetic pigment and resistance physiology in leaves of *Phyllostachys edulis* [J]. *Ecological Science*, 2011, **30**(6): 607-612.

[23] WHITE P J, BROWN P H. Plant nutrition for sustainable development and global health [J]. *Annbot-London*, 2010, **105**(7): 1 073-1 080.

[24] 吴雪霞, 朱宗文, 张爱冬, 等. 外源褪黑素对低温胁迫下茄子幼苗生长及其光合作用和抗氧化系统的影响[J]. 西北植物学报, 2017, **37**(12): 2 427-2 434. WU X X, ZHU Z W, ZHANG A D, *et al.* Effects of exogenous melatonin on the growth, photosynthesis and antioxidant system in eggplant (*Solanum melorigena* L.) seedlings under low temperature stress [J]. *Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica*, 2017, **37**(12): 2 427-2 434.

[25] 梁文娟, 艾希珍, 王美玲, 等. 钙对亚适温弱光下黄瓜幼苗Ca~(2+)分布及叶绿素荧光参数的影响[J]. 西北植物学报, 2009, **29**(6): 1 226-1 232. LIANG W J, AI X Z, WANG M L, *et al.* Effects of calcium on leaf cell Cat distribution and chlorophyll fluorescence parameters of cucumber seedlings under suboptimal temperature and low light intensity [J]. *Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica*, 2009, **29**(6): 1 226-1 232.

[26] VAN KOOTEN O, SNEL J F H. The use of chlorophyll nomenclature in plant stress physiology [J]. *Photosynthetic Research*, 1990, 25: 147-150.

[27] 曹 玲, 王庆成, 崔东海. 土壤镉污染对四种阔叶树苗木叶绿素荧光特性和生长的影响[J]. 应用生态学报, 2006, **17**(5): 769-772. CAO L, WANG Q C, CUI D H. Impact of soil cadmium contamination on chlorophyll fluorescence characters and biomass accumulaiton of four broad-leaved tree species seedlings [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, **17**(5): 769-772.

[28] XING W, HUANG W M, LIU G H, *et al.* Effect of excess iron and copper on physiology of aquatic plant *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid [J]. *Environ. Toxicol*, 2010, 25: 103-112.

[29] SRIVASTAVA R K, PANDEY P, PAJPOOT R, *et al.* Exogenous application of calcium and silica alleviates cadmium toxicity by suppressing oxidative damage in rice seedlings [J]. *Protoplasma*, 2015, **252**(4): 959-975.

[30] 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, (8): 171-175. LU H Y, LIU Z H, LÜ G H. Studies on the responses of malondialdehyde, Proline and SOD protective enzymes in leaves of *Phragmites communis* under Cadmium pollution [J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2013, (8): 171-175.

[31] FAROOQ M A, ALI S, GAO S C. Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes; suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 96: 242-249.

(编辑:裴阿卫)