

镉胁迫对葡萄砧木 5BB 和 99R 组培苗生长的影响

李小红^{1,2,3}, 李辉信³, 王 栋³, 王 鹏¹, 吕中伟¹, 陶建敏^{2*}

(1. 河南省农业科学院 园艺研究所, 河南 郑州 450002; 2. 南京农业大学 园艺学院, 江苏 南京 210095;

3. 南京农业大学 资源与环境科学学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 利用组织培养技术, 研究了不同质量浓度镉(Cd)(0、1、3、5 mg/L)对 2 个葡萄砧木品种(5BB 和 99R)的生长特性及 Cd 积累规律的影响。结果表明, 随着 Cd 质量浓度的增加, 2 个葡萄砧木品种的生物量、株高、根系长度和表面积均呈现下降的趋势, 且 99R 的下降幅度明显高于 5BB。随着 Cd 质量浓度的增加, 2 个葡萄砧木品种 Cd 含量明显增加, 在试验设置的 Cd 质量浓度条件下, 5BB 地上部和根系 Cd 含量均低于 99R。2 个葡萄砧木品种对 Cd 胁迫的反应虽然总体趋势一致, 但 5BB 的生物量、株高和根系形态指标的下降幅度明显低于 99R, 表明 5BB 比 99R 具有较强的耐 Cd 特性。

关键词: 葡萄砧木; 组培苗; 镉; 生物量

中图分类号: S663.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)03-0092-04

Effect of Cadmium Stress on Growth Characteristics of Two Tissue Cultured Grapevine Rootstocks 5BB and 99R

LI Xiao-hong^{1,2,3}, LI Hui-xin³, WANG Dong³, WANG Peng¹,

LÜ Zhong-wei¹, TAO Jian-min^{2*}

(1. Institute of Horticulture, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

3. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The experiment was carried out to study the growth characteristics and regular of cadmium (Cd) accumulation in roots and shoots by using tissue-cultured grapevine rootstocks (5BB and 99R) under Cd spiked at 0, 1, 3, 5 mg/L. The results showed that biomass, plant height, root length and surface area of two grapevine rootstocks decreased with the increase of Cd concentration in culture medium, and their effect on 99R was more significant than on 5BB. The Cd content in grapevine seedling increased significantly with the increase of Cd concentration in culture medium, and its content in roots and shoots of 5BB was lower than in 99R. The decreased ranges of biomass, plant height and root morphological parameters of 5BB under Cd treatments were much smaller than those of 99R, indicating that 5BB had a higher ability to tolerate Cd stress than 99R.

Key words: grapevine rootstock; tissue cultured plantlet; cadmium; growth biomass

重金属污染及其在土壤—植物体系的迁移已引起了人们的广泛关注, 它不但对植物的生长发育造成危害, 更严重的是, 它可以通过土壤—植物途径进入食物链并大量累积危害人类健康。Cd 是毒性最强的重金属元素之一, 其在地表环境中的释放和运

移十分活跃, 同时是土壤—植物系统迁移较为活跃的元素, 因而对动物和人类具有较大的毒性^[1]。研究表明, 在土壤—植物系统中, 植物对重金属的累积能力和生物毒性不仅与重金属的种类和数量、土壤的类型和土壤环境有关, 还与作物的品种或基因型

收稿日期: 2012-10-08

基金项目: 国家 948 项目(2011-G28); 江苏省农业科技自主创新资金项目[CX(10)110]; 江苏省农业资源开发局项目(2012-kj59)

作者简介: 李小红(1979-), 女, 河南许昌人, 助理研究员, 博士, 主要从事果树生理方面的研究。E-mail: nkylxh@126.com

* 通讯作者: 陶建敏(1964-), 男, 浙江武义人, 教授, 博士, 主要从事果树生理和分子生物学方面的研究。E-mail: tjm266@sina.com

密切相关。同一植物的不同品种对土壤中重金属元素吸收与积累也存在有明显的差异^[2-3]。因此,选育对重金属吸收量少的作物品种已成为减少重金属进入食物链并保证食品安全的重要措施之一。

果品生产中的重金属污染主要来源于污灌、垃圾和污泥施用以及化肥和农药的过量使用^[4-5]。许多果园土壤有机质含量下降,微生物数量减少,一些果园土壤还出现了重金属累积^[6-7]。土壤一旦被重金属污染就很难去除,再加上果树均为多年生植物,使得果园土壤重金属污染的治理更加困难。目前对果树重金属的研究较少,有关果树砧木方面的研究更是少有报道,杜连彩^[8]在盆栽条件下,研究了平邑甜茶和八棱海棠 2 个苹果砧木在铅胁迫下对苹果幼苗生长以及生理生化方面的影响,结果表明,平邑甜茶在减轻铅的危害方面能起到较大的作用。因此,利用不同砧木吸收和累积重金属能力的差异,在土壤 Cd 污染的果树种植区,选择 Cd 低累积的果树嫁接苗可能是降低果品 Cd 含量、提高果品品质的有效途径。目前,关于不同葡萄砧木对 Cd 累积和耐性的差异尚未见报道。本研究在前面试验的基础上以田间生长表现较好并且果实 Cd 吸收量存在差异的 5BB 和 99R 2 种葡萄砧木为材料,在组织培养条件下研究了 Cd 胁迫对葡萄砧木地上部生长及根系形态指标的影响,旨在进一步明确 Cd 在不同葡萄砧木品种中累积和分配规律的差异,为实现绿色和无公害葡萄生产提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

无菌苗的获得:99R 和 5BB 新梢采自南京农业大学沧浪门葡萄园,取嫩梢 1~3 节,去除叶片,剪成 3 cm 左右带单芽的茎段,流水冲洗 2~4 h,70%乙醇浸 10 s,转入 0.1%升汞溶液(含 0.05%吐温和 2%NaClO)灭菌 4 min,无菌水冲洗 3~4 次;剪成 1 cm 左右带腋芽茎段接入初代培养基(3/4MS+6-BA 2.0 mg/L)上培养;30 d 后转入增殖培养基(3/4MS+6-BA 0.5 mg/L+GA₃ 0.4 mg/L),20 d 后取带叶单芽转接入生根培养基(3/4MS+IBA 0.4 mg/L),30 d 后建立无菌苗系^[9]。

培养基均添加蔗糖 30 g/L,琼脂 6.5 g/L,pH 值 6.2 左右。在生根培养基中加入 CdCl₂ 溶液使其 Cd²⁺ 质量浓度分别为 0(CK)、1、3、5 mg/L。以每瓶 50 mL 分装,每个处理各 30 瓶,在 121 °C 条件下灭菌 20 min 后,按常规接种;培养温度(25±2) °C,光周期为 12 h 光照/12 h 黑暗,光照强度 1 000 lx,培养 5 周

后开始采样。

1.2 测定项目和方法

将组培苗从瓶中取出,自来水冲洗干净,用剪刀将根系和地上部分开,用游标卡尺量取株高,然后用去离子水进一步清洗。吸水纸吸干表面水分,分别称鲜质量。用根系分析仪(Winrhizo LA1600)进行扫描,测定根系生长状况。样品经 105 °C 杀青 30 min,80 °C 烘干至恒定质量后称其干质量。

植株样品的消化参照鲁如坤^[10]的方法,采用 HNO₃-HClO₄(4:1,V/V)混合酸消化。称取粉碎的植株样品 2 g 左右,置于 100 mL 高脚烧杯中,加入 10 mL 混合酸,冷消化过夜,次日,将烧杯置于电热板上,170 °C 砂浴消化,并不断滴加混合酸,至溶液颜色变为无色并冒白烟后,再继续蒸发至剩余体积 2 mL 左右,冷却,定容至 25 mL 容量瓶,植株样品 Cd 含量采用火焰原子吸收分光光谱仪测定。消化和测定中所用试剂均为 GR 级。

1.3 统计分析

对测定结果计算平均值和标准差,统计检验采用 SPSS 13.0 软件,显著性差异水平为 $P \leq 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 Cd 胁迫对 2 个葡萄砧木品种组培苗生物量的影响

2 个葡萄砧木品种组培苗地上部分干质量均随着培养基中 Cd 质量浓度的升高而显著降低(图 1A),且品种间表现出明显的差异。Cd 质量浓度为 1 mg/L 时,5BB 的地上部干质量比对照降低了 9.8%,5 mg/L 时下降幅度最大,比对照降低了 38.8%,而 99R 的地上部干质量则相应比对照降低了 12.9%和 42.2%。

2 个葡萄砧木品种组培苗地下部分干质量表现出与地上部干质量一致的变化趋势,随着 Cd 质量浓度的增加不断降低(图 1B)。在 Cd 质量浓度为 1 mg/L 时,5BB 和 99R 的地下部干质量分别比对照降低了 12.8%和 17.0%。在 Cd 质量浓度为 5 mg/L 时,5BB 和 99R 的地下部干质量分别比对照降低了 53.4%和 58.8%。另外,无论是在对照还是 Cd 处理条件下,5BB 的地上部干质量均显著高于 99R;而二者地下部干质量在对照处理中无显著差异,在外加 Cd 处理条件下则表现出显著差异,5BB 显著高于 99R。5BB 地上和地下生物量的下降幅度均明显低于 99R,这说明 99R 比 5BB 对 Cd 更敏感。

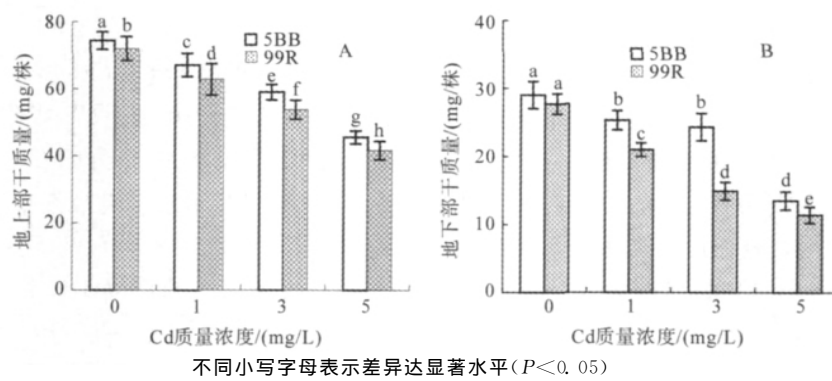


图 1 Cd 处理对 2 个葡萄砧木品种组培苗干质量的影响

2.2 Cd 胁迫对 2 个葡萄砧木品种组培苗株高和根系生长状况的影响

从表 1 可以看出,与对照相比,Cd 对葡萄砧木组培苗生长产生明显的毒害效应。随着 Cd 质量浓度的增加,葡萄砧木组培苗的株高、根长和表面积呈现降低的趋势。在低质量浓度(1 mg/L) Cd 处理下,5BB 的株高与对照无显著差异,而 99R 则显著低于对照,下降了 16.1%,这说明 99R 比 5BB 对 Cd 敏感,在 Cd 质量浓度低时生长便受到明显抑制。在 Cd 质量浓度为 5 mg/L 时,5BB 的株高、根长和表面积分别比对照降低了 42.0%、59.5%和 62.0%,99R 则相应降低了 43.5%、77.5%和 77.4%,均与对照差异显著。另外,在所有处理条件下,5BB 的株高均显著高于 99R,而两者的根系长度和表面积在对照、Cd 1 mg/L 处理时

无显著差异,在 Cd 质量浓度为 3、5 mg/L 时差异显著,5BB 高于 99R。

然而,2 个品种的根系平均直径在 Cd 处理下表现出不一致的趋势,5BB 在低质量浓度 Cd 处理时有所增加,比对照升高了 10.3%;99R 则随 Cd 质量浓度的升高而显著下降;Cd 质量浓度为 5 mg/L 时下降幅度最大,5BB 和 99R 分别比对照的下降了 74.9%和 84.5%。另外,在试验设置的 Cd 处理浓度下,2 个品种根系平均直径均与对照差异显著,并且 2 个品种间存在显著差异,在相同 Cd 处理浓度下,5BB 显著高于 99R。结果表明,本试验中 Cd 处理的毒性较大,Cd 质量浓度达到 1 mg/L 时葡萄砧木组培苗根系生长即受到明显损害,但 5BB 受到的影响相对较 99R 小,其株高和根系长度下降幅度均明显低于 99R。

表 1 Cd 处理对 2 个葡萄砧木品种组培苗株高和根系生长状况的影响

Cd 质量浓度/(mg/L)	砧木品种	株高/cm	根长/cm	平均直径/mm	根系表面积/cm ²
0(CK)	5BB	6.60±0.26a	14.98±0.72a	140.37±9.64b	50.06±2.39a
	99R	4.53±0.15c	14.73±0.26a	113.01±7.76c	46.27±3.87a
1	5BB	6.41±0.34a	11.42±0.91b	154.88±10.61a	35.88±2.87b
	99R	3.80±0.19d	10.68±0.39bc	85.08±2.01d	35.55±3.01b
3	5BB	5.00±0.10b	10.26±0.06c	60.35±5.41e	33.54±1.21b
	99R	3.56±0.06d	7.13±0.75d	49.12±2.19f	24.07±2.51c
5	5BB	3.83±0.15d	6.06±0.13e	35.22±2.98g	19.03±1.74d
	99R	2.56±0.07e	3.32±0.06f	17.49±1.84h	10.44±0.93e

注:同列中不同字母表示差异显著(P<0.05),下同。

2.3 Cd 胁迫对 2 个葡萄砧木品种组培苗 Cd 含量的影响

从表 2 可以看出,在试验设置的 Cd 处理浓度下,2 个品种葡萄植株地上部 Cd 含量均小于根系 Cd 含量,根部 Cd 含量为 0.17~4.51 mg/kg,约是地上部 Cd 含量的 2~5 倍。葡萄植株根系的 Cd 含量随培养基中 Cd 质量浓度升高而显著增加,并且所有 Cd 处理水平下,5BB 根系 Cd 含量均显著低于 99R。

通过分析 2 个品种地上部 Cd 含量的变化可以看出,随着 Cd 质量浓度的增加,2 个品种地上部 Cd 含量均呈增加趋势。不同的是,在低质量浓度 Cd 处理下,2 个品种中 Cd 含量差异不显著。随着 Cd 质量浓度的升高,2 个品种间地上部 Cd 含量的差异均达到显著水平,在 Cd 质量浓度 5 mg/L 时 5BB 地上部 Cd 含量达到最大(0.85 mg/kg),比在 Cd 质量浓度 1 mg/L 时升高了 269.6%,而 99R 相应升高了 284.0%。

表2 Cd 处理对 2 个葡萄砧木品种组培苗 Cd 含量的影响

Cd 质量 浓度/(mg/L)	砧木 品种	地下部 Cd 含量/ (mg/kg)	地上部 Cd 含量/ (mg/kg)
0(CK)	5BB	0.17±0.02g	0.09±0.01f
	99R	0.21±0.02g	0.12±0.01f
1	5BB	0.62±0.17f	0.23±0.12e
	99R	0.90±0.22e	0.25±0.17e
3	5BB	1.67±0.82d	0.34±0.03d
	99R	2.16±1.25c	0.48±0.22c
5	5BB	3.65±3.36b	0.85±0.14b
	99R	4.51±1.04a	0.96±0.31a

3 结论与讨论

3.1 讨论

本研究结果表明,低质量浓度 Cd 即抑制葡萄砧木组培苗的生长,表现为生物量的减少、株高的降低和根系生长受损。随着 Cd 质量浓度的增加,葡萄幼苗的株高和生物量均呈下降趋势,这说明 Cd 进入植物组织中并累积到一定程度,从而对植株生长造成了严重的抑制。有关 Cd 对植物根系的毒害,有研究认为,Cd 能够损伤根尖细胞核仁,抑制核糖核酸酶活性,改变 RNA 合成;抑制硝酸还原酶活性,减少根部对硝酸盐的吸收及向地上部运转;抑制根部 Fe^{3+} 还原酶活性,引起 Fe^{2+} 亏缺^[11]。秦天才等^[12]采用溶液培养的方法,研究了不同质量浓度 Cd、Pb 对小白菜根系生理生态的影响,结果表明:培养液中 Cd 质量浓度超过 0.1 mg/L 时,侧根数目减少,根的分枝程度降低,根系生物量和体积下降,根系生长发育受阻,根系不发达。本试验中,葡萄砧木根系对 Cd 的反应比较敏感,随着 Cd 质量浓度的升高,根系各指标显著降低,在 Cd 质量浓度为 5 mg/L 时,2 个品种根系生长严重受损,根系长度、平均直径和表面积各指标降到最低。这与陈瑛等^[13]在小白菜上的研究结果一致。

本试验中不同 Cd 处理下 2 个葡萄砧木品种组培苗 Cd 含量差异明显。随着 Cd 质量浓度的增加,2 个葡萄砧木品种组培苗根系和茎叶 Cd 含量表现出一致的增加趋势,在 Cd 质量浓度 5 mg/L 时达到最高值。2 个葡萄砧木品种组培苗对 Cd 的累积趋势尽管一致,但 2 个品种表现出明显的差异,5BB 地上和地下部的 Cd 含量均明显低于 99R。研究表明,不同植物种类对土壤中重金属元素的吸收和累积有很大的差别,即存在有物种间差异^[14-15]。同一植物的不同品种对土壤中重金属元素吸收与累积也存在有明显的差异。孙建云等^[16]研究发现,不同品种甘蓝在对 Cd 的吸收和累积方面存在着显著差异,这与本试验的研究结果一致。本试验结果表明,5BB 比 99R 具有较强的耐 Cd 能力,2 个品种在各种生理指标上所表现的差异性与其耐性基本一致,2 个品种耐 Cd 能力的差异与 Cd

在地上部的累积机制有关,也可能与葡萄植株体内存在其他解 Cd 毒害机制有关,关于不同葡萄砧木对 Cd 毒害具体的解毒机制还需要进一步研究。

3.2 结论

在 Cd 胁迫条件下,2 个葡萄砧木品种组培苗生物量和根系生长状况存在明显的差异。2 个不同葡萄砧木品种对 Cd 胁迫的反应虽然总体趋势一致,但 5BB 的生物量、株高和根系形态指标的下降幅度明显低于 99R,表明 5BB 比 99R 具有较强的耐 Cd 特性。随着 Cd 质量浓度的增加,2 个葡萄砧木品种组培苗 Cd 含量明显增加。在 Cd 胁迫条件下不同葡萄砧木品种组培苗对 Cd 的吸收和积累存在差异,99R 根系和茎叶中均比 5BB 积累较多的 Cd。

参考文献:

- [1] Chaney R L, Reeves P G, Ryan J A, *et al.* An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods to phytoextract Cd from contaminated soils to prevent soil Cd risks [J]. *Biomaterials*, 2004, 17: 549-553.
- [2] 姚会敏, 杜婷婷, 苏德纯. 不同品种芸薹属蔬菜吸收累积镉的差异[J]. *中国农学通报*, 2006, 22(1): 291-294.
- [3] 黄运湘, 廖柏寒, 王志坤, 等. 不同大豆品种镉毒害效应及耐镉差异性[J]. *湖南农业大学学报*, 2008, 34(5): 519-524.
- [4] 高太忠, 李景印. 土壤重金属污染研究与治理现状[J]. *土壤与环境*, 1999, 8(2): 137-140.
- [5] Peryea F J. Heavy metal contamination in deciduous tree fruit orchards: Implications for mineral nutrient management [J]. *Acta Hort*, 2001, 564: 31-39.
- [6] Magalhaes M J, Sequeira E M, Lucas M D. Copper and zinc in vineyards of central Portugal [J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 1985, 26: 1-17.
- [7] 张连忠, 路克国, 王宏伟, 等. 重金属和生物有机肥对苹果根区土壤微生物的影响[J]. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 92-95.
- [8] 杜连彩. 铅对苹果砧木平邑甜茶、八棱海棠的毒害机理及耐性比较研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2006.
- [9] 陶建敏, 章镇, 林惠莲, 等. 葡萄无菌苗体系建立试验初探[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2003, (2): 16-18.
- [10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [11] di Toppi L S, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants [J]. *Environ Exp Bot*, 1999, 41: 105-130.
- [12] 秦天才, 吴玉树, 王焕校, 等. 镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J]. *生态学报*, 1998, 18(3): 320-325.
- [13] 陈瑛, 李延强, 杨肖娥. 镉对不同基因型小白菜根系生长特性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(1): 170-176.
- [14] 杨居荣, 贺建群, 黄翌, 等. 农作物镉耐性的种内和种间差异 I. 种间差[J]. *应用生态学报*, 1994, 5(2): 192-196.
- [15] 杨居荣, 贺建群, 黄翌, 等. 农作物镉耐性的种内和种间差异 II. 种内差[J]. *应用生态学报*, 1995, 6(增): 132-136.
- [16] 孙建云, 王桂萍, 沈振国. 不同基因型甘蓝对镉胁迫的响应[J]. *南京农业大学学报*, 2005, 28(4): 40-44.